

Respiratoriske tilpasninger til iltsvind hos vanddyr

Introduktion

Dyr, der lever i vand, har helt specielle problemer, når det gælder deres iltforsyning. Vand indeholder ved mætning kun ca. 9 mg O₂ pr liter i modsætning til atmosfærisk luft, der indeholder 280 mg pr liter. I vandøkosystemer er der mange iltforbrugende processer, som på grund af den lave opløselighed af ilt i vand ofte bevirker dårlige iltforhold for vandlevende dyr. Desuden er diffusionshastigheden for ilt i vand ca. 300.000 gange langsommere end i luft.

Vanddyr har udviklet forskellige strategier til at imødegå problemer med iltforsyning og iltsvind: Nogle dyr flygter (hvis det er muligt) fra områder med iltsvind. Andre har ånderør (eks. dyndfluens larve, "rottehalet"), der som snorkler stikker op i frisk luft. Endelig er der mange dyr, der anvender hæmoglobin og andre iltbindende proteiner, der forbedrer evnen til at optage ilt fra omgivelserne og øger blodets transportkapacitet for ilt. Mange dyr med hæmoglobin (specielt fisk) er i stand til at ændre på hæmoglobinet bindingsevne, således at bindingsevnen øges ved iltsvind i det omgivende vand.

I denne øvelse måler vi iltforbruget af forskellige vandlevende dyr ved forskellige iltkoncentrationer. Iltforbruget måles ved at opbevare dyrene i en lukket beholder, hvori de selv bruger ilten. *Faldet* i iltindholdet over en tidsperiode er således et mål for dyrenes respiration. Den *gennemsnitlige iltkoncentration* i samme periode bruges som et mål for den aktuelle iltkoncentration.

Dyrenes evne til at optage ilt fra omgivelserne undersøges ved at afsætte deres respiration som funktion af iltkoncentrationen.

Hypotese 1: Dyr med hæmoglobin må forventes at kunne bibeholde en normal respiration ved lavere iltkoncentrationer end dyr uden hæmoglobin.

Hypotese 2: Dyr med hæmoglobin, der har stor iltbindingsevne, må forventes at kunne bibeholde en normal respiration ved lavere iltkoncentrationer end dyr med hæmoglobin, der har en lavere iltbindingsevne.

Hypotese 3: Fisk der har været udsat for iltsvind gennem længere tid (flere dage) må forventes at kunne bibeholde en normal respiration ved lavere iltkoncentrationer end fisk, der *ikke* har været udsat for iltsvind (hvorfor?).

Materialer

1. Koniske glaskolber med stor munding i størrelser, der passer til de dyr, der skal undersøges.
2. Magnetomrører og magnet (det er nødvendigt med omrøring i kolben af hensyn til iltelektrodens funktion).

-
3. Itelektrode og forstærker med skriverudgang. Itelektroden skal være monteret i en prop, der passer til munden på forsøgskolberne.
 4. Skriver til registrering af iltkoncentrationen som funktion af tiden.
 5. Dataopsamlingsudstyr (kan undværes - se venligst noterne).
 6. Termobad (hvis eksperimentet skal foregå ved temperaturer forskellige fra stuetemperatur).
 7. Forsøgsdyr (skal inden forsøget være akklimatiseret til den temperatur, hvor forsøget skal udføres):
 - Fisk (f.eks. guldfisk, slørhaler, hundestejler)
 - Myggelarver: f.eks. røde dansemyggelarver (Chironimus), som har hæmoglobin og Chorétra larver (uden hæmoglobin) - fås i akvarieforretninger.
 - Muslinger: f.eks. blåmuslinger, hjertemuslinger, dammuslinger)
 - Krebsdyr: f.eks. ferskvandstanglopper, dafnier, rejer.
 - Orme: f.eks. Tubifex (som har hæmoglobin med en meget høj iltbindingsevne) - fås i akvarieforretninger.

Fremgangs- måde

1. Itelektroden klargøres og kalibreres. Iltmåleren forbindes til skriveren og evt. til dataopsamlingsudstyret.
2. Forsøgskolben fyldes med iltmættet vand (gennembobling med en akvariepumpe)
3. Forsøgsdyret placeres i glaskolben, og magnetomrøreren startes (hvis dyrene ikke svømmer frit rundt er det vigtigt at de ikke forstyrres af den roterende magnet - brug evt. en meget lille magnet). Proppen med itelektroden sættes på, således at der ikke er luftbobler i kolben. Ved at sætte en dissektionsnål i klemme mellem prop og munding kan de sidste luftbobler slippes ud samtidig med, at proppen presses på plads.
4. Start skriver samt dataopsamling og lad forsøget køre til en passende lav iltkoncentration. Der er stor forskel på, hvor lave iltkoncentrationer de forskellige dyr kan tåle: Tubifex, Chironimus og blåmuslinger kan tåle iltfrie forhold i korte perioder, mens fisk får problemer ved 1-4 mg ilt/L afhængig af art og temperatur. Sørg for at stoppe forsøget inden fiskene får svært ved at holde balancen.
5. Vej dyret/dyrene og noter vådvægten.
6. Mål mængden af vand i kolben (pkt. 5 og 6 er kun nødvendige, hvis man vil sammenligne respirationen for forskellige dyr).

Resultat- behandling

- a. Hældningen på $[O_2]$ -tid kurven er et mål for dyrenes respiration (iltforbrug). Denne beregnes ved enten at måle direkte på kurven fra skrивeren eller ved at læse de opsamlede data ind i et regneark og foretage beregningerne her (se venligst noterne).
For at beregne respiration direkte fra skriverpapiret deles kurven op i passende liniestykker (stykker svarende til iltændringer på 0,2 mg ilt/L vil ofte være passende). Gennem hvert kurvestykke tegnes den bedste rette linie med en gennemsigtig lineal. Hældningskoefficienten for denne linie beregnes på sædvanlig vis:
[Install Equation Editor and double-click here to view equation.](#) 1
- b. Respirationen pr gram vådvægt beregnes med formelen:
[Install Equation Editor and double-click here to view equation.](#) 2
hvor: V = rumfang af vandet (liter) og m = dyrets vådvægt (gram)
Resultaterne indføres i skema 1 (skemaet forlænges efter behov).
- c. Afsæt respirationen eller hældningen som funktion af iltkoncentrationen på millimeterpapir og tegn på fri hånd en blød tilpasset kurve gennem punkterne (de enkelte punkter skal *ikke* forbindes)
- d. Ved hvilken iltkoncentration begynder respirationen at falde? Indfør denne "kritiske" iltkoncentration i skema 2.
- e. Hvad er årsagen til at dyrenes respiration falder, når iltindholdet i omgivelserne når under en vis værdi?
- f. Diskutér dine resultater på baggrund af de hypoteser, der blev opstillet i introduktionsafsnittet.
- g. Fisk er i stand til at øge og mindske iltbindingsevnen for deres hæmoglobin. Hvorfor vælger fisk mon ikke en strategi hvor de hele tiden har hæmoglobin med størst mulig iltbindingsevne? (Tip: hæmoglobin skal jo ikke alene kunne indfange og binde ilt, men også kunne afgive det til de celler, der skal bruge ilten).

Resultatskema 1:

Iltkoncentra- tion	Hældning	Respiration	Iltkoncentra- tion	Hældning	Respiration

Resultatskema 2:

Dyr + evt. bemærkninger om tilpasninger	Temperatur	Kritisk iltkoncentration

Noter

Baggrundslitteratur:

1. P.M. Jonasson: Esrom Sø - Danmarks største ferskvandsbassin. Naturens Verden, 1974, s. 216-224. Beskriver respiratoriske tilpasninger hos myggelarver. Artiklen er refereret i Biologisk Forskning A5, s.67-76.
2. M.L. Glass o.a.: Fisk og iltmangel nær de danske kyster. Naturens Verden 1987, s. 111-117.
3. Roy Weber: Respiratoriske blodpigmenter hos dyr. Naturens verden (1989), s. 278-288.
4. Roy Weber o.a.: Functional adaptations in hemoglobins from ectothermic vertebrates. Ann. Rev. Physiol. (1988) 50, 161-179

Dataopsamling:

På målemodul til skolens iltelektrode er der måske en seriel (RS-232) dataudgang, som gør det muligt forbinde målemodul til en computer. Fra computeren kan man så sende kommandoer til målemodul og modtage måledata ved hjælp af et dataopsamlingsprogram. Spørg datavejlederen om de muligheder, der findes på din skole.

Hvis målemodul *ikke* har en RS-232 dataudgang, vil man normalt kunne få adgang til det analoge spændingssignal, som målemodul bruger f.eks. til et viserinstrument. Det er ofte muligt at finde spændingssignalet på en skriverudgang på målemodul. Se i den tekniske manual til iltelektroden og målemodul.

Det analoge signal skal omsættes til et digitalt signal, som computeren kan aflæse. Omsætningen sker vha. en A/D-konverter. En god og billig løsning er at købe et digitalt multimeter med seriel udgang til en computer. Müller & Sørensen sælger et sådant for ca. kr. 1200 (METEX 4650) med et tilhørende (simpelt) dataopsamlingsprogram. Husk at få leveret det specielle kabel til at forbinde METEX 4650 med en computers COM-port.

Det tyske firma CONRAD forhandler det samme multimeter, blot under navnet VOLTcraft M-4650 CR (Best.-Nr. 1261 10-55 (ca. 1.000 kr.), interfacekabel: 1301 25-55 (ca. 75 kr.)) og har desuden et lækkert WINDOWS-baseret dataopsamlingsprogram til dette multimeter (PP-mess, Best.-Nr. 1304 00-55 (ca. 250 kr.)). Den danske forhandler for CONRAD er DANOMAN electronic, Tøndervej 26, 6780 Skærbæk, tlf. 7475 1636.

Har man (lærer/elev) mod på selv at sammensætte elektroniske komponenter, har fa. CONRAD et særdeles interessant A/D-konvertermodul (8 kanaler, 10 bit opløsning, ca. 200 målinger/sekund). Fås som byggesæt til ca. 350 kr., Best.-Nr. 9797 67-55 eller færdigsamlet for ca. 400 kr., Best.-Nr. 9801 7055. Modul kables direkte til en COM-port på computeren.

I alle tilfælde skal der findes eller udvikles et dataopsamlingsprogram, som kan modtage og lagre måledata. Hvis de opsamlede data skal resultatbehandles i et regneark, skal programmet kunne gemme måledata i en tekstfil i .CSV format, dvs. værdier adskilt med , (komma). Vær opmærksom på, at decimaltegnet i talværdier skal være . (punktum).

Resultatbehandling i regneark:

Tekstfilen med måledata i .CSV format skal importeres i regnearksprogram, som din skole bruger. Processen er lidt forskellig fra program til program; spørg din datavejleder. Resultatet af dataimporten skal være, at der i regnearket findes to talsøjler: én med tidspunkter for iltmålingerne og én med selve iltmålingerne. De to søjler med henholdsvis tidspunkter og iltkoncentrationer kan opfattes som en række (X,Y) talsæt, der beskriver kurven for iltkoncentration som funktion af tiden. *Hældningskoefficienten* for denne kurve er et mål for respirationen og kan beregnes ved at udføre regressionsanalyse på disse talsæt. Hældningskoefficienten er givet ved formelen:

Install Equation Editor and double-
click here to view equation.

3

hvor N er antallet af talsæt i regressionsanalysen.

På disketten ligger en regnearksfil, der viser resultatbehandling af et forsøg med en slørhale. Filen findes i *QuattroPro* format (RESPIRAT.WQ1), i *Lotus 1-2-3* format (RESPIRAT.WK1) og i *Microsoft Excel* format (RESPIRAT.XLS). Der er også en "rå" datafil (RESPIRAT.CSV), som man kan øve sig på.

Hele talsættet består af knap 800 sæt måledata. I eksemplet er der foretaget regressionsanalyse på 30 talsæt ad gangen på den måde, at "analyserammen" forskydes ét talsæt efter hver analyse. Herved fås ca. 700 sammenhørende værdier for respiration og iltkoncentration (den gennemsnitlige iltkoncentration i et analyseinterval).

Med regnearket kan der tegnes grafer, der viser iltkoncentrationen som funktion af tiden og respiration som funktion af iltkoncentrationen (se figurer herunder).

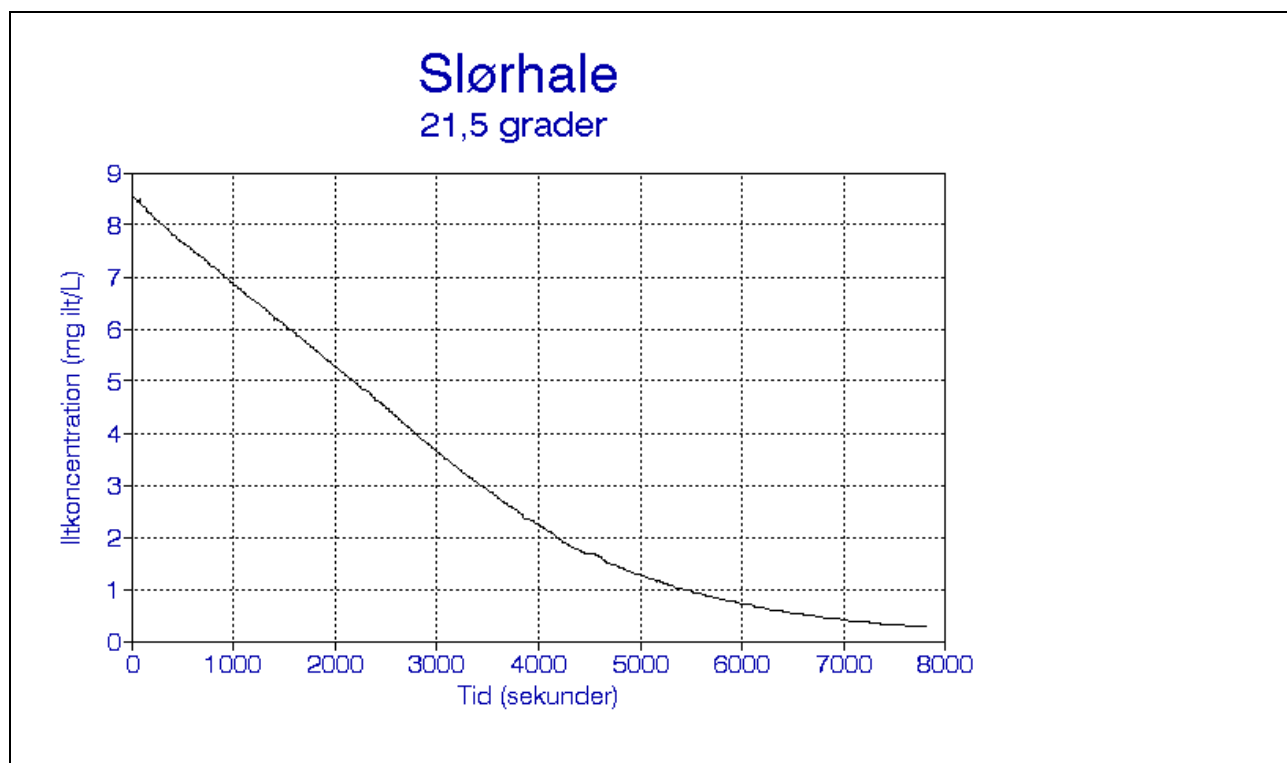


Figure 1: Iltkoncentration som funktion af tiden.

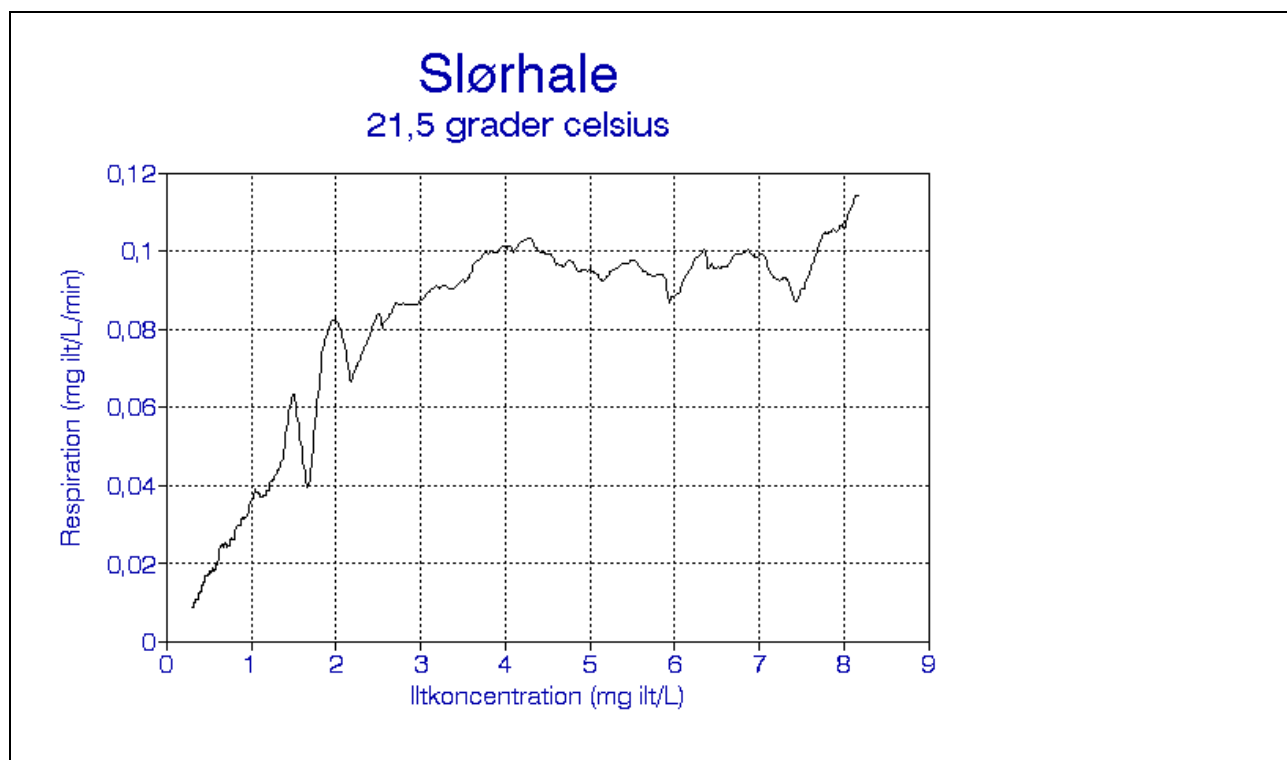


Figure 2: Respiration som funktion af iltkoncentration.