

METODIKA ODBĚRU A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ FYTOPLANKTONU STOJATÝCH VOD



J. Komárková

Říjen 2006



1. Úvod

1.1 Princip metody

Fytoplankton hraje významnou roli v primární produkci vodních ekosystémů, protože je ve volné vodě jediným producentem organické hmoty tvořící základ potravního řetězce a zdrojem kyslíku, vznikajícího při fotosyntetickém procesu. Převádí živiny, rozpuštěné ve vodě do organické formy a umožňuje jejich ukládání do usazenin při sedimentaci.

V příznivých podmínkách se fytoplankton velmi rychle množí (doba obratu může být i kratší než 1 den). V případě vysoké koncentrace živin a při dostatku světla vytváří nadprodukce (vegetační zbarvení, zákaly, vodní květy), které negativně ovlivňují kvalitu vody. Při zpracování takové vody na pitnou se mění chuťové a pachové vlastnosti upravené vody, v rekreačních oblastech je znemožněno koupání, protože některé druhy sinic a obrněnek produkují zdraví nebezpečné toxiny. Kontrola této významné složky biocenóz vodních nádrží je proto velmi důležitá.

Metodika, tj. způsob odběru a zpracování vzorků, vyčíslení výsledků a zpracování výsledků, je návodem, jak dosáhnout dat srovnatelných v rámci sledování jedné nádrže, v rámci srovnání nádrží mezi sebou a v dlouhodobém sledování ke stanovení trendů, kterými se biocenózy řídí. Je tedy jednotná a co nejobektivnější.

Zde navržené postupy odběrů a zpracování vzorků fytoplanktonu odpovídají požadavkům na kvalitu získaných údajů. Výsledky mohou být srovnány s referenčními společenstvy podle požadavků EN 15110 v rámci programů monitoringu pro Rámcovou směrnici o vodní politice (2000/06/ES). Metodika rozšiřuje stávající normu ČSN 75 77 12 Jakost vod - Biologický rozbor - Stanovení biosestonu o stanovení biomasy fytoplanktonu metodou počítání organismů v sedimentačních komůrkách a o počítačové zpracování údajů do formy biologické hmotnosti jednotlivých druhů i celého společenstva. Základem jsou údaje získané při počítání buněk fytoplanktonu pro účely odhadu četnosti, doplněné některými zpřesňujícími měřeními. Výsledky umožní dostatečně přesnou představu o biomase jednotlivých druhů, jejich podílu na dominanci, o zdroji potravy pro zooplankton i o biomase druhů, vytvářejících nebezpečné toxiny.

Zdůvodnění změny: Jednotlivé buňky fytoplanktonu jsou na rozdíl např. od zooplanktonu, v objemu velmi různorodé. Objemy buněk leží řádově mezi 10^{-1} (*Synechococcus*, pikoplankton) až $10^6 \mu\text{m}^3$ (*Ceratium*). Srovnání počtů je tedy velmi zavádějící a získaná čísla nelze přepočítat na žádné jiné veličiny. Výpočetním programem zjistíme biomasu (čerstvou váhu) celkovou, jednotlivých druhů, taxonomických skupin, velikostních skupin atd. Komplexní vyhodnocení zároveň umožní i použití abundancí druhů k výpočtu jakýchkoli koeficientů, které jsou doporučeny k hodnocení. Hodnocení fytoplanktonu z dat o biomase je již obsaženo v normách severovýchodních států (Švédsko, Finsko, Dánsko), Německa, Holandska, Rakouska a Maďarska.

1.2 Odborné termíny

Fytoplankton: je společenstvo fotosyntetizujících organismů, žijící ve volné vodě nebo mezi rostlinami v litorálu nádrží a řek. Je tvořeno mikroskopickými řasami a sinicemi (cyanobaktériemi), které se ve vodě pasivně vznášejí. Je přítomen ve všech povrchových vodách přirozeného původu.

2. ZÁKLADNÍ POMŮCKY

2.1 Terénní pomůcky

- Loď s pohonem
- Plovací vesty, holínky, příslušné oblečení, rukavice + ostatní vybavení k zajištění bezpečnosti práce
- GPS přístroj
- Hloubková měřicí sonda pro měření teploty vody, kyslíku a koncentrace chlorofylu a
- Secchiho deska se značenými hloubkami
- Odběrová hadice (trubice - sonda) 5 m
- Friedingerův nebo Van Dornův hlubinný sběrač
- Planktonní síť s oky 10 μm (NYTAL)
- Odběrový barel 30 l
- 1 l odměrka (plastová)
- Vzorkovnice:
 - 1 x skleněná zabroušená láhev nebo jiná neprodyšně uzavíratelná 100-200 ml,
 - 1 x 0.5 l PET láhev na živý kvalitativní vzorek (případně 1l PET láhev na vzorek pro stanovení chlorofylu)
 - 1 – 2 x 100 ml PE vzorkovnice na živý zahuštěný vzorek
 - 1 – 2 x 100 ml PE vzorkovnice na formalinový vzorek
- Lugolův roztok (10 g KI se rozpustí ve 20 ml H_2O a přidá se 5 g kryst. j. Po rozpuštění se smísí s 50 ml 10% kys. octové).
- Formalín 40%
- Pipety
- Chladicí box

2.2 Laboratorní pomůcky

- Kvalitní binokulární mikroskop (objektivy 10x, 20x, 40x, imerse 100x, případně s fluorescenční lampou, sadou filtrů a 1 objektivem 40x pro fluorescenci) a okuláry 10x + 10x s okulárním měřítkem, nebo 20x + 20x s okulárním měřítkem
- Podložní a krycí skla
- Pipety PE nebo skleněné Pasteurovy pipety s větším otvorem
- Obrácený mikroskop s objektivy 10x, 20x a 40- nebo 60x a s okuláry 10x + 10x s okulárním měřítkem, nebo 20x + 20x s okulárním měřítkem
- Sada válcových Utermöhlových komůrek o různém objemu, vyrobených z plexitové trubky
- Velká krycí skla (24 x 24 mm nebo větší) na dno a přikrytí komůrek
- Vazelína
- Profesionálně vyrobené komůrky (alternativa)
- Technický líh na čištění komůrek
- Počítadlo s co možná nejvyšším počtem záznamových míst (např. Hematologic Adder SH-30, Leukomat SH96/24),
- Sirnatan sodný (nasycený roztok) pro případné odbarvení vzorku
- Zatemněná nádoba se zvlhčeným prostředím, podložkami pro komůrky a víkem
- Kalkulačka nebo počítač s příslušným programem (např. FYTO-N HBU AVČR)
- Determinační literatura

3. VZORKOVÁNÍ

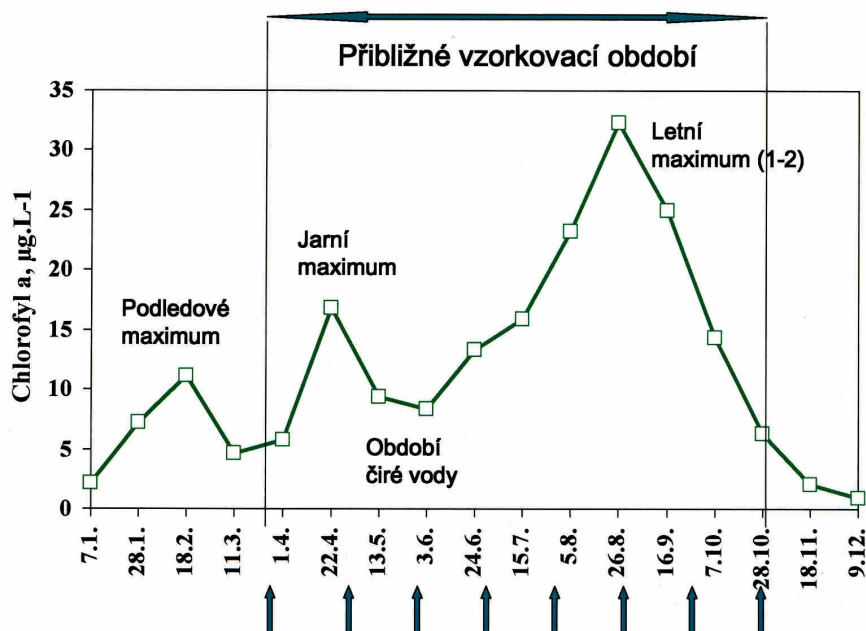
3.1 Vzorkovací období

Roční průběh změn biomasy fytoplanktonu u mezotrofní nebo eutrofní nádrže je zobrazen na obr.1 spolu s termíny vzorkování pro monitoring (šipky v dolní části obrázku).

Vzorky se odebírají 1x měsíčně v bezledovém období - od března do října, t.j. 8 odběrů. Doporučuje se zařadit odběry do druhé poloviny měsíce, čímž lze většinou zachytit stadium čiré vody.

Odběry by se měly provádět dopoledne ve stejnou hodinu, protože v letních měsících vykazují eutrofní nádrže značné diurnální změny. V nádržích s vysokou biomasou a nízkou alkalinitou se v odpoledních hodinách mění pH až o 2 stupně a koncentrace chlorofylu se snižuje o několik %.

Obr. 1. Třinásobné odběry na nádrži Římov, průměrný průběh za 15 let (1985-2000). Hydrobiologický ústav AV ČR, Biologické centrum České Budějovice



3.2 Postup při výběru odběrových míst

Stojaté vody se dělí na stratifikované (hluboké přehradní nádrže a umělá a přirozená jezera) a nestratifikované, tj. trvale promíchávané (mělká jezera a mělké přehradní nádrže, rybníky).

3.2.1 Vertikální rozdělení fytoplanktonu

Stratifikované nádrže v mírném pásu jsou dimiktické, tj. v průběhu roku vytvářejí dvě období vertikální stratifikace: zimní v době zamrznutí, kdy je v epilimniu voda chladnější než v hloubce a letní, kdy je na hladině voda teplá a vytváří se metalimnetická vrstva, ve které při rozdílu 1 m hloubky klesne teplota alespoň o 1 °C a která tak odděluje hypolimnion od epilimnia. Epilimnion se samostatně promíchává vlivem povrchového větru a denními teplotními změnami. V osvětlené (eufotické vrstvě) se odehrává fotosyntetický proces a to je oblast, kterou musíme ovzorkovat. V průběhu roku a v různých nádržích může být eufotická

vrstva tenčí, než je vrstva promíchávaná ($z_{eu} < z_{epi}$). V tom případě odebíráme promíchávanou vrstvu (hloubku zjistíme z vertikální teplotní stratifikace, měřené před odběrem fytoplanktonu). V případě, že $z_{eu} > z_{epi}$, odebereme celou osvětlenou vrstvu (hloubku zjistíme z údaje o průhlednosti: $z_{eu} = z_{secchi} * 1,7$). Pokud je osvětlená vrstva hlubší než promíchávaná, může dojít k vývinu metalimnetického maxima fytoplanktonu. Zjistíme ho z údajů hloubkové měřicí sondy podle koncentrace chlorofylu *a*.

Pak odebíráme sloupec po 1 m od hladiny až do tohoto maxima hlubinným sběračem. Ze vzorku metalimnetického maxima uchováme malý vzorek živý pro stanovení taxonomického složení hlubinného fytoplanktonu. Protože se v tomto případě jedná většinou o čisté vody a abychom dosáhli minimální hodnoty průměru, odebereme vzorky hlubinnou lahví pouze na místě největší hloubky (u bóje) a ještě jednou na vhodně zvoleném místě transektu.

V mělkých, nestratifikovaných nádržích odebíráme celý sloupec bez jemného bahna na povrchu dna.

3.2.2 Horizontální rozdělení fytoplanktonu

Odběry vzorků pro biologické a chemické rozbory a fyzikální měření musí být koordinovány časově i prostorově, aby bylo možno jednotlivá data a výsledky stanovení vzájemně porovnat a případně provést analýzu vztahů. Vzorek na stanovení počtů buněk a biomasy se odebírá ze stejné směsi částečných vzorků jako vzorek pro stanovení chlorofylu *a*, případně ostatních pigmentů. Protože fytoplankton je společenstvo velkého množství mikroskopických organizmů, předpokládáme, že je v prostředí více méně homogenně rozptýlen a postačí tedy k analýze pouze jeden směsný vzorek z jednoho odběru. Podle velikosti nádrže se odebírá na 1-2 místech nebo profilech.

Místa odběrů na **stratifikované nádrži** mohou odpovídat místům odběrů na zooplankton, na těchto místech však odebíráme směsný vzorek z vymezeného transektu. Na místě největší hloubky, avšak neovlivněném odtokem, zvolíme už na trvalo transekt určením dvou bodů na břehu., V nepřítomnosti metalimnetického maxima, což je ve většině případů, odebereme na tomto transektu několikrát vodu planktonní hadicí (trubicí) a odebrané podíly smísíme v barelu. Počet odběrových míst posoudíme podle velikosti nádrže. Vzdálenost míst by měla být asi 50 m. Vzorky pro stanovení fytoplanktonu, chlorofylu, případně i jiné vzorky (např. BSK₅) se odeberou po promísení barelu. Některé nádrže mají dvě výrazně odlišné části (přítokovou a jezerní). U takových nádrží se doporučuje odebrat ještě vzorek z odlišné části nádrže (většinou z přítokové zóny).

Mělké, nestratifikované nádrže > 50 ha odebíráme planktonní hadicí (trubicí) na stejných místech, jako zooplankton, nebo stanovíme podobný transekt, jako u nádrží hlubokých. **U mělkých nádrží jezerního typu** s povrchovým odtokem či bezodtokých je vhodné vedle vzorku z místa s největší hloubkou odebrat další 2 vzorky z místa s průměrnou hloubkou a v příbřežní oblasti a vytvořit tak směsný vzorek. Protože je sloupec většinou dobře promíchán, můžeme vodu nabrat i některým hlubinným sběračem, nebo šikmo položenou odběrovou sondou (hadicí). V případě **rybníků** vedeme transekt od nejhlubšího místa (loviště) směrem do středu. Odebíráme obdobně jako zooplankton na 3 místech a vytvoříme směsný vzorek.

3.3 Vlastní odběr vzorku

Při prvním odběru vymežíme odběrový profil a zaměříme body, určující odběrový transekt. Další odběrové místo určíme u nádrží, jejichž části se v kvalitě vody podstatně liší, a to u přehradních nádrží většinou u přítoku - v prvé třetině vzdutí za oblastí vratného proudu. Zde se doporučuje odebrat síťový vzorek (síť 10 μ m) a též zooplankton, chlorofyl a vzorek pro chemické složení vody. Z rozdílu odběrů na přehradních nádržích lze vyčíst změny složení biot od začátku vzdutí k jezerní části, účinnost přehradní nádrže v zadržování živin a přísun inokula řas a sinic.

Pokud možno místa označíme bójkami, nebo zaměříme pomocí GPS. Odběrová místa se však mohou v průběhu sezóny měnit podle vzestupu a poklesu hladiny.

Na místě odběru změříme základní fyzikální data, vertikální zonaci teploty a určíme hloubku epilimnia. Dále změříme průhlednost v m s použitím Secchiho desky a vypočítáme hloubku eufotické (trofogenní) vrstvy. Pokud je eufotická vrstva hlubší než epilimnion, zjistíme pomocí hloubkové měřicí sondy, zda se pod míchanou vrstvou nerozvinulo metalimnetické maximum. Podle výsledků zvolíme buď délku odběrové hadice a odebereme vzorky podél transektu, nebo odebíráme vzorky hlubinným sběračem po 1 m až do hloubky metalimnetického maxima. Protože se v tomto případě jedná většinou o čisté vody, postačí odebrat vzorky hlubinnou lahví pouze na místě největší hloubky (u bóje) a ještě jednou na vhodně zvoleném místě transektu (tj. odebrat 2x vertikální vzorek), abychom dosáhli minimální hodnoty průměru. Odebrané vzorky smísíme v odběrovém barelu. Několikalitrový směsný vzorek promícháme a oddělíme z něho živý vzorek na kvalitativní rozbor a stanovení chlorofylu (1 l PET láhev) a vzorek na stanovení biomasy fytoplanktonu. Vzorkovnici plníme do 4/5, přidáme Lugolův roztok do zbarvení středně silného čaje a uzavřeme neprodyšným závěrem.

Fytoplankton tak přetrvá beze změny objemu období mezi odběrem a zpracováním. Při delším skladování mimo lednici je zapotřebí označit značkou výšku hladiny vzorku, a v případě vyschnutí vzorek doplnit destilovanou vodou. Žluté zbarvení nesmí zmizet, podle potřeby je třeba vzorky dofixovat. Doporučuje se zpracování do 3 měsíců a skladování na tmavém místě.

Pro kvalitativní zpracování fytoplanktonu (určení vzorků) odebereme ještě zahuštěný vzorek síťového planktonu. Přes planktonní síťku s oky 10 μm NYTAL nebo přes sítko s vložkou z tohoto materiálu přelijeme zbytek vody ze směsného vzorku, zahuštěný seston vypláchneme vodou do PE vzorkovnice, část ponecháme živou a část nafixujeme formalinem na koncentraci přibližně 1,5% (asi 4 ml 40% formalinu do 100 ml vody).

Odebíráme-li další vzorek z přehrady v první třetině vzdutí, odebíráme podle okolností několikrát z několika míst náhodně vybraných. Ze směsného vzorku odebereme živý vzorek na chlorofyl a chemismus a zbytek přelijeme přes planktonku (síť 10 μm). Suspenzi rozdělíme na živý a formalinový vzorek, který ihned nafixujeme.

Živé vzorky převážíme v terénní chladničce a zpracujeme je co nejdříve.

4. ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

4.1 Zpracování živých vzorků - kvalitativní zpracování

Čerstvý, mírně zahuštěný vzorek prohlédneme co nejdříve a pod kvalitním binokulárním mikroskopem určíme druhy (hlavně dominantní a bičikovce), případně je proměříme. Pokud si nejsme jisti, pořídíme fotodokumentaci a druhy zakreslíme a změříme. Nezahuštěný vzorek odcentrifugujeme a prohlédneme pod přímým mikroskopem, pro determinaci rozsivek případně připravíme vypálené vzorky, které určíme pod imerzí (viz Metodika odběru a zpracování vzorků fytoobentosu stojatých vod). K určení použijeme determinační literaturu, databáze a jiný srovnávací materiál.

4.2 Zpracování konzervovaných vzorků - kvantitativní zpracování

Princip: Biomasa fytoplanktonu se stanovuje metodou počítání organizmů v sedimentačních komůrkách. Vzorek vody fixovaný Lugolovým roztokem se nechá sedimentovat v Utermöhlových komůrkách. Po dokonalé sedimentaci se zjistí počty buněk jednotlivých druhů, případně jejich velikostních frakcí na obráceném mikroskopu ve vhodném objemu vzorku.

Biomasa jednotlivých druhů se vypočítá násobením počtů průměrným objemem buněk (biovolume). Ten se zjistí proměřením buněk a výpočtem objemu podle vzorců pro podobné geometrické tvary.

Připravíme si vhodné komůrky: Váleček namázneme vazelínou a přilepíme na čisté podložní sklo tak, aby dno neprotékalo. Výška komůrky odpovídá koncentraci sedimentovaných řas na jejím dně. V zorném poli by mělo být asi 20 - 30 objektů. Pokud máme údaj o koncentraci chlorofylu *a*, můžeme zhruba zvolit výšku komůrky podle následující tabulky 1.

Tab. 1: Koncentrace chlorofylu *a* ve vodě a vhodná výška sedimentačního sloupce pro počítání.

Konc. chl <i>a</i> , $\mu\text{g.l}^{-1}$	>80	>30	>10	>2	<2
Výška komůrky, mm	2	5	20	40	100

Výšku komůrky je nutno snížit, obsahuje-li voda mnoho nerostných částic nebo detritu. Vzorek nafilovaný Lugolovým roztokem dobře protřepeme, komůrky naplníme, uzavřeme krycím sklem bez bubliny a uložíme na podložky do zatemněné krabice s vlhkým ovzduším, ale v pokojové teplotě. Komůrky musí ležet vodorovně. Seston necháme sedimentovat přes noc, pro nízké komůrky do 1 cm postačí několik hodin.

4.2.1 Počítání organismů

Komůrku prohlédneme pod malým zvětšením a zjistíme, zda jsou řasy na dně rovnoměrně rozděleny a zda jsme zvolili správnou výšku komůrky. Pokud je rozdělení objektů nerovnoměrné, nebo je jejich počet nevhodný, naložíme novou komůrku. Řasy propočítáváme v celých zorných polích pod objektivem 40x - 60x, okulárem 10x - 20x, opatřeným měřicí stupnicí. Propočítáme tolik polí, abychom dosáhli 400 napočítaných jedinců dominantního druhu, případně skupiny druhů. Následující vzorec je pro velikost výběru *z* pro stanovení s 10% chybou přibližně platící v konfidenčním limitu 0,95:

$$z = 4/0,1^2 = 400$$

Počet polí si naplánujeme podle průměrné hustoty usazených organismů a pole rozmístíme pravidelně po celé komůrce. Nejvíce polí tedy propočítáme v nejširším pásu, nejméně v horním a spodním pásu.

Buňky připočítáváme na počítadlech, nebo počty v jednotlivých polích zapisujeme do protokolu. Zaznamenáme typ komůrky, počet propočítaných zorných polí a optickou konfiguraci (okulár, objektiv, příp. další prázdné zvětšení). Konfiguraci a použitou komůrku vyhledáme v tabulce, kterou jsme si předem propočítali a zjistíme koeficient přepočtu na ml.

Pokud obsahuje vzorek velké, objemné druhy řas nebo velké kolonie, u kterých by bylo pravděpodobné, že na ně při velkém zvětšení při propočtu polí nenarazíme, propočítáme je v celé komůrce pod malým zvětšením - každý druh, nebo velikost kolonie zvlášť. Zjištěný počet vydělíme objemem komůrky v ml. Je-li takových jedinců více, propočítáme dostatečný počet polí pod objektivem 20x, příp. 10x, a vypočítáme počet jedinců v 1 ml. Snížíme tak podstatně chybu, která by vznikla při nízkých počtech potenciálně dominantních organismů.

Příslušný počet velkých buněk přidáme k počtům malých buněk, spočítaných při větším zvětšení, tzn. že počet buněk v 1 ml vydělíme koeficientem, který jsme našli pro konfiguraci propočtu malých buněk (zvětšení 400x, příp. až 1200x) a příslušný počet velkých jedinců připojíme k definitivním výsledkům pro konečný výpočet.

Příklad: Ve vzorku fytoplanktonu se nacházejí kryptomonády v tisících/ml a *Ceratium hirundinella* v desítkách/ml. Vzorek byl sedimentován v komůrce s koef. přepočtu na ml 14,2 (při objektivu 40x a 50 propočtených polích). V téže komůrce jsme zjistili 200 jedinců *Ceratium hirundinella* při konfiguraci objektiv 20x – **propočteno 150 polí** (tj. koef. 1,2). V 1 ml je tedy 240 buněk. Při konfiguraci 40x - **propočteno 50 polí** bychom měli tedy najít 17 jedinců.

Měření buněk: Průměrné objemy buněk jsou často uváděny v příručkách pro výpočet biomasy. Pokud tyto objemy používáme, musíme zkusmo zjistit, zda se pro naši populaci hodí. Průměrný objem dominantního druhu bychom měli propočítat vždy. Měříme nejméně 20 buněk. Podle požadavků na přesnost měříme případně i jednotlivá coenobia a kolonie.

4.2.2 Výpočet koeficientu

Koeficient přepočtu na 1 ml vypočteme ze vzorce:

$$k = 1\,000 / (C_z \cdot f)$$

kde C_z = objem cylindru nad zorným polem v mm^3

f = počet propočtených polí

Koeficient nutno spočítat pro každou optickou konfiguraci a výšku komůrek.

Výpočetní program je možné použít i pro jiné druhy komůrek, např. Cyrusovu n. Bürkerovu. Množství fytoplanktonu je však nutno většinou zahustit centrifugací a přenášet, při čemž se dopustíme někdy značných chyb. Sedimentační metoda je přesnější a většina vodohospodářských laboratoří v rámci EU ji používá (severské země, Německo, Rakousko, Holandsko, Maďarsko a j.) V případě použití jiných komůrek je třeba vypočítat jiné koeficienty a použitou metodu zmínit v protokolu.

4.2.3 Výpočet biomasy

Vypočítáme (Tab. 2) nebo vyhledáme průměrné objemy druhů řas (V), vynásobíme je počty jedinců (N) a koeficientem přepočtu na 1 ml (k):

$$V_1 \cdot N_1 \cdot k = B_1 \\ = \dots B_x$$

Získaná čísla B_{1-x} načítáme do celkové sumy biomasy nebo do žádaných skupin. Výhodně lze použít program pro výpočet biomasy na počítači. Výsledky dostaneme v μm^3 buněčného objemu v ml. Za předpokladu, že řasy mají hmotnost blízkou vodě, přepočítáme objem na čerstvou biomasu (FM, fresh mass) ($10^6 \mu\text{m}^3 = 1 \mu\text{g}$, t.j. $10^6 \mu\text{m}^3 \cdot \text{ml}^{-1} = 1 \text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$).

Tab. 2: Geometrické tvary a vzorce pro výpočet objemu řas

koule <i>Chrysococcus</i>	0,5236 d^3	prům. elipsoidu a kužele <i>Cryptomonas, Mallomonas, Closterium</i>	0,3972 $a^2 b$
elipsoid <i>Chlamydomonas</i>	0,5236 $a^2 b$	prům. kužele a hranolu <i>Fragilaria,</i>	0,6309 $a^2 b$
kužel části <i>Staurastrum, Ceratium</i>	0,2618 $a^2 b$	prům. elipsoidu a hranolu penátní rozsivky	0,7618 $a^2 b$
elipsoid <i>Trachelomonas</i>	0,5236 ab^2	hranol <i>Asterionella formosa</i>	$a^2 b$
dvojitý kužel <i>Nitzschia, Monoraphidium</i>	0,2618 $a^2 2b$		
		b - delší rozměr	
		a - kratší rozměr	
		d - průměr	

5. DETERMINACE

Při determinaci se používá základní taxonomická literatura. Dnes jsou pro členské státy EU všeobecně přijímaným standardem svazky ediční řady Süßwasserflora von Mitteleuropa. Podle nich by se měla volit jména a koncepce jednotlivých taxonů. Toto však nelze brát jako závazný předpis. Jejich univerzální používání je omezeno tím, že nejsou na

všech pracovištích k dispozici, a jednak i tím, že náplně jmen pro mnohé taxony byly od doby vydání příslušného svazku změněny (a to nezřídka i samotnými autory svazku; týká se to zejména povýšení určitého infraspecifického taxonu, např. variety, do ranku samostatného druhu, ale i rozpadu velkých rodů až i na desítky úžeji vymezených rodů). Kromě toho některé taxonomické skupiny nebyly pro toto určovací kompendium zpracovány. Je tedy nutno připustit i používání jiných určovacích pomůcek. Je však vždy velmi žádoucí v laboratorním protokolu o tom vést příslušný záznam.

6. ODBĚROVÝ A DETERMINAČNÍ PROTOKOL

Viz přílohy.

7. ARCHIVACE

Z primárních záznamů je nezbytné archivovat odběrový a originální determinační protokol. Před archivací je nutno zkontrolovat úplnost jejich vyplnění. Dobu, po kterou je nutno archivovat vzorky, stanovuje zadavatel odběrů dle typu monitoringu.

8. BEZPEČNOST PRÁCE

Práce ve vodě nebo v její blízkosti může být nebezpečná. Je odpovědností uživatele stanovit náležitá bezpečnostní a i zdravotní opatření a zajistit shodu se všemi podmínkami národních i případných interních předpisů.

9. LITERATURA

- ČSN 75 77 12 Jakost vod - Biologický rozbor - Stanovení biosestonu
DRAFT prEN 15204 předložený k diskusi technickou komisí CEN/TC230
- Lund J.W.G., Kipling C. & LeCren, E.D. ,1958. The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. – *Hydrobiologia* 11: 143-170.
- Metodika odběru a zpracování vzorků fytozoo planktonu stojatých vod. Metodiky VÚV, Brno, 2006.
- Padisák J., Krienitz L. & Scherffler W., 1999. Phytoplankton. Chapter 3.6.1. In: Tümpling W. & G. Friedrich (eds.): *Methoden der Biologischen Wasseruntersuchungen 2. Biologische Gewässeruntersuchung*: 35-52. Gustav Fischer Verl., Jena.
- Straškraba M. a kol., 1992. Metodika sledování a hodnocení jakosti vody vodárenských nádrží, HBÚ ČSAV České Budějovice, 93 pp.
- Sournia A. (ed.), 1978. *Phytoplankton manual*. UNESCO Monogr. Oceanogr. Methods 6, Paris, 337 pp.
- Utermöhl H., 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitt.int.Verein.teor.angew. Limnol.* 9: 1-38.

METODIKA ODBĚRU A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ FYTOPLANKTONU STOJATÝCH VOD

PROTOKOL O ODBĚRU BIOTY STOJATÝCH VOD - FYTOPLANKTON																																																			
vodní útvar	kód odběru	datum	vzorkaři																																																
<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%;">srážky</td> <td style="width: 15%;">oblačnost</td> <td style="width: 15%;">vodní květ ano <input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/></td> <td style="width: 15%;">zbarvení vody</td> <td style="width: 15%;">pach</td> <td style="width: 20%;">fotodokumentace</td> </tr> <tr> <td>ne <input type="checkbox"/></td> <td>< 20% <input type="checkbox"/></td> <td></td> <td>bezbarvá <input type="checkbox"/></td> <td>žádný <input type="checkbox"/></td> <td>provedl:</td> </tr> <tr> <td>ano - mrholení <input type="checkbox"/></td> <td>20 - 40% <input type="checkbox"/></td> <td>výška vodní hladiny</td> <td>zelená <input type="checkbox"/></td> <td>slabý <input type="checkbox"/></td> <td>popis:</td> </tr> <tr> <td>ano - déšť <input type="checkbox"/></td> <td>40 - 60% <input type="checkbox"/></td> <td>zvýšená <input type="checkbox"/></td> <td>hnědá <input type="checkbox"/></td> <td>intenzivní <input type="checkbox"/></td> <td></td> </tr> <tr> <td>ano - mrznoucí <input type="checkbox"/></td> <td>60 - 80% <input type="checkbox"/></td> <td>normální <input type="checkbox"/></td> <td>šedá <input type="checkbox"/></td> <td>popis pachu</td> <td></td> </tr> <tr> <td>ano - sněhové <input type="checkbox"/></td> <td>> 80% <input type="checkbox"/></td> <td>snižená <input type="checkbox"/></td> <td>žlutá <input type="checkbox"/></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>silně snížená <input type="checkbox"/></td> <td>červená <input type="checkbox"/></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>teplota vzduchu</td> <td colspan="5">°C</td> </tr> </table>				srážky	oblačnost	vodní květ ano <input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/>	zbarvení vody	pach	fotodokumentace	ne <input type="checkbox"/>	< 20% <input type="checkbox"/>		bezbarvá <input type="checkbox"/>	žádný <input type="checkbox"/>	provedl:	ano - mrholení <input type="checkbox"/>	20 - 40% <input type="checkbox"/>	výška vodní hladiny	zelená <input type="checkbox"/>	slabý <input type="checkbox"/>	popis:	ano - déšť <input type="checkbox"/>	40 - 60% <input type="checkbox"/>	zvýšená <input type="checkbox"/>	hnědá <input type="checkbox"/>	intenzivní <input type="checkbox"/>		ano - mrznoucí <input type="checkbox"/>	60 - 80% <input type="checkbox"/>	normální <input type="checkbox"/>	šedá <input type="checkbox"/>	popis pachu		ano - sněhové <input type="checkbox"/>	> 80% <input type="checkbox"/>	snižená <input type="checkbox"/>	žlutá <input type="checkbox"/>					silně snížená <input type="checkbox"/>	červená <input type="checkbox"/>			teplota vzduchu	°C				
srážky	oblačnost	vodní květ ano <input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/>	zbarvení vody	pach	fotodokumentace																																														
ne <input type="checkbox"/>	< 20% <input type="checkbox"/>		bezbarvá <input type="checkbox"/>	žádný <input type="checkbox"/>	provedl:																																														
ano - mrholení <input type="checkbox"/>	20 - 40% <input type="checkbox"/>	výška vodní hladiny	zelená <input type="checkbox"/>	slabý <input type="checkbox"/>	popis:																																														
ano - déšť <input type="checkbox"/>	40 - 60% <input type="checkbox"/>	zvýšená <input type="checkbox"/>	hnědá <input type="checkbox"/>	intenzivní <input type="checkbox"/>																																															
ano - mrznoucí <input type="checkbox"/>	60 - 80% <input type="checkbox"/>	normální <input type="checkbox"/>	šedá <input type="checkbox"/>	popis pachu																																															
ano - sněhové <input type="checkbox"/>	> 80% <input type="checkbox"/>	snižená <input type="checkbox"/>	žlutá <input type="checkbox"/>																																																
		silně snížená <input type="checkbox"/>	červená <input type="checkbox"/>																																																
teplota vzduchu	°C																																																		
poznámky																																																			

KÓD VZORKU	aktuální hloubka (m)	zaměření GPS - bod určující transekt/odběr		přesnost GPS (m)				
místo odběru	paralelní vzorek ano <input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/>	GPS - zem. délka N	GPS - zem. šířka E					
čas začátku odběru	živý vzorek ano <input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/>	° ' "	° ' "	m				
čas konce odběru		zaměření GPS - bod určující transekt/odběr		přesnost GPS (m)				
		GPS - zem. délka N	GPS - zem. šířka E					
		° ' "	° ' "	m				
fyz.-chem. ukazatele (proměření vodního sloupce)								
	hladina	dno epil.	stř.metal.	dno metal.	stř.hypol.	dno	typ odběráku	
hloubka pro měření	m						Friedinger	
t vody	°C						Schindler	
pH							Van Dorn	
vodivost	µS/cm						planktonní hadice	
rozpuštěný kyslík	mg/l						jiný-	
nasycení kyslíkem	%						typ odběru	
chlorofyl	µg/l						příčný transekt	
popis použití odběráku							2x vertikála	
							transekt běh - střed	
							tr. okraj loviště - střed	
							přítoková zóna	
kvalitativní vzorek							směsný vzorek	
							objem prolité vody	
							objem odběráku	
kvantitativní vzorek							počet odběráků	
							živý vzorek č.:	
							fixovaný vzorek č.:	
fixace Lugolův roztok							fixace Lugolův roztok	
							fixace formaldehyd	
							vzorek chlorofylu č.:	
fixace formaldehyd								
poznámky								

KÓD VZORKU	aktuální hloubka (m)	zaměření GPS - bod určující transekt/odběr		přesnost GPS (m)				
místo odběru	paralelní vzorek ano <input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/>	GPS - zem. délka N	GPS - zem. šířka E					
čas začátku odběru	živý vzorek ano <input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/>	° ' "	° ' "	m				
čas konce odběru		zaměření GPS - bod určující transekt/odběr		přesnost GPS (m)				
		GPS - zem. délka N	GPS - zem. šířka E					
		° ' "	° ' "	m				
fyz.-chem. ukazatele (proměření vodního sloupce)								
	hladina	dno epil.	stř.metal.	dno metal.	stř.hypol.	dno	typ odběráku	
hloubka pro měření	m						Friedinger	
t vody	°C						Schindler	
pH							Van Dorn	
vodivost	µS/cm						planktonní hadice	
rozpuštěný kyslík	mg/l						jiný-	
nasycení kyslíkem	%						typ odběru	
chlorofyl	µg/l						příčný transekt	
popis použití odběráku							2x vertikála	
							transekt běh - střed	
							tr. okraj loviště - střed	
							přítoková zóna	
kvalitativní vzorek							směsný vzorek	
							objem prolité vody	
							objem odběráku	
kvantitativní vzorek							počet odběráků	
							živý vzorek č.:	
							fixovaný vzorek č.:	
fixace Lugolův roztok							fixace Lugolův roztok	
							fixace formaldehyd	
							vzorek chlorofylu č.:	
fixace formaldehyd								
poznámky								

