

METODIKA ODBĚRU A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ MAKROZOOBENTOSU STOJATÝCH VOD



Z. Adámek

Říjen 2006



1. ÚVOD

Cílem metodiky je stanovení zásad a postupů při odběrech vzorků makrozoobentosu ze stojatých vod, zahrnutých do monitorovacích programů v rámci monitoringu pro Rámcovou směrnicí o vodní politice ES (Směrnice 2000/60/ES). Metody musí být přednostně vhodné pro vyjmenované vodní útvary stojatých vod o ploše nad 50 ha s dobou zdržení minimálně 5 dní. Tato specifikace významně vymezuje možnosti metodického přístupu k vzorkování makrozoobentosu, neboť redukuje strukturu dostupných mesohabitatů na měkké sedimenty profundálu. Vzhledem k tomu, že oživení těchto sedimentů je ovlivněno kvalitou prostředí jen omezeně, doporučuje se do hodnocení inkorporovat faktor biodiverzity ve formě semikvantitativního vyhodnocení výskytu vodních vývojových stádií pakomárů sběrem exuvií (svleček) kukel v kontaktní zóně mezi supralitorálem a eulitorálem. Hlavním cílem metodiky tak bude charakterizovat strukturu a biodiverzitu makrozoobentosu se zvláštním zřetelem na klíčové taxony – v případě vyjmenovaných vodních útvarů stojatých vod zastoupení tribu Tanytarsini (Chironomidae) a třídy Oligochaeta.

Princip metod

Měkké sedimenty

Metody vzorkování měkkých sedimentů jsou založeny na odebrání a separaci organismů od dnových substrátů, jejich roztřídění a determinaci. Vzorek měkkých sedimentů se odebírá různými typy drapáků (Ekman-Birge, van Veen, Ponar) o ploše minimálně 200 cm². Odběr je tvořen minimálně 5 separátními vzorky. Vzorek se odebírá z vymezené plochy dna (kvantitativní stanovení).

Odebrané vzorky jsou promyty na fosfobronzovém sítu o velikosti ok 250 μm. Zachycený substrát spolu s bentickými bezobratlými je konzervován 4% roztokem formaldehydu. Při zpracování v laboratoři jsou bezobratlí vybráni, determinováni a spočítáni.

Rušivými vlivy může být přítomnost předmětů (dřevní zbytky, šterk apod.) bránících řádnému dovržení čelistí drapáku v měkkých sedimentech. V takových případech je třeba odběr opakovat.

Exuvie kukel pakomárů (Chironomidae)

K odběru exuvií pakomárů se používá ruční sítko o velikosti ok 250 μm. Sběr sítkou se provádí z hladiny po dobu 10 minut nebo po měřenou dobu nezbytnou k nashromáždění potřebného vzorku (> 500 ks). Odběr se provádí po dobu přesně vymezeného časového úseku (semikvantitativní stanovení).

Ke konzervaci vzorků exuvií se používá 70-80% etanol. V laboratoři jsou exuvie determinovány a spočítány.

Rušivým vlivem může být absence exuvií v daném termínu vzorkování. Předností této metody je, že vzorek obsahuje exuvie nejen litorálních, případně fytofilních druhů pakomárů, ale i profundálních zástupců. Exuvie zůstávají na hladině po proměně kukly v dospělce u všech druhů pakomárů s vodními larvami. Díky zachycenému vzduchu a voskové vrstvě na kutikule se nepotopí přibližně po dobu dvou dnů, po této časové periodě již bakteriální rozkladné procesy způsobí potopení. Díky výjimečné druhové rozmanitosti a ekologické diverzitě jsou vodní vývojová stadia pakomárů považována za dobrý bioindikátor. Výhodou je také to, že sběrem exuvií lze zachytit několikanásobně vyšší počet taxonů chironomidů v porovnání s odběry drapákem ze dna.

2. ZÁKLADNÍ POMŮCKY

2.1 Terénní pomůcky

Obecné terénní vybavení

- fotoaparát,
- GPS přístroj,
- gumové rukavice, nejlépe veterinární nebo chemické, které chrání ruku po loket a do kterých je možno použít textilní či kožené rukavice k ochraně proti chladu,
- vodostálé fixy, grafitová tužka, propiska, psací podložka, nůžky,
- odběrové protokoly,
- přepravky na vybavení a vzorky
- hloubková měřicí sonda pro měření teploty vody, kyslíku a koncentrace chlorofylu a
- Secchiho deska se značenými hloubkami.

Speciální vybavení pro odběry měkkých sedimentů

- stabilní loď s pohonem elektromotorem (výjimečně vesly),
- echolokační zařízení pro stanovení hloubky,
- drapák o známé ploše - minimálně 200 cm² (např. drapák Ekman-Birge, Van Veen, Ponar),
- kovové síto průměru 40-50 cm s fosfobronzovou síťovinou o velikosti ok 250 μm,
- 250 ml stříčka,
- 500-1000 ml transportní plastové láhve,
- formaldehyd,
- terénní přístroje pro analýzu vody (pH, O₂, teplota, vodivost).

Speciální vybavení pro odběry exuvií kukel pakomárů

- ruční síťka se síťovinou o velikosti ok 250 μm,
- síto o velikosti ok nejméně 4 mm,
- stopky,
- 500 ml transportní láhve,
- 80% etanol.

2.2 Laboratorní pomůcky

- stereomikroskop (na třídění a determinaci vzorků v laboratoři),
- mikroskop (na determinaci vzorků v laboratoři),
- preparační jehly,
- Petriho misky, zkumavky a mikroskopická skla,
- roztoky pro zhotovování trvalých mikroskopických preparátů: Apathyho sirup, kanadský balzám, Liquido-Faure, roztok glycerolu,
- determinační literatura.

3. VZORKOVÁNÍ

3.1. Vzorkovací období – termíny odběrů

3.1.1. Měkké sedimenty

Odběry se provádějí dvakrát ročně s ohledem na období výletu larev pakomárů. První odběr je třeba uskutečnit v druhé polovině dubna a druhý na přelomu července a srpna.

3.1.2. Exuvie kukel pakomárů (Chironomidae)

Odběry se provádějí 1x měsíčně od konce dubna do začátku října v závislosti na klimatických podmínkách. Pro vzorkování založené na vyhodnocení exuvií kukel pakomárů platí, že vzorky odebíranými v tomto období v měsíčních intervalech je zachyceno 80 – 90% přítomných druhů pakomárů.

3.2. Výběr odběrových míst

3.2.1. Měkké sedimenty

Odběr vzorku se provádí minimálně z 5 míst. Je na zkušenostech odebírajícího, aby na konkrétní lokalitě zvolil místa odběru charakterizující vodní útvar. Za místo odběru v profundálu je považována oblast odpovídající průměrné hloubce nádrže s rozsahem $\pm 10\%$. Pro rychlé orientační stanovení hloubky lze pro tento účel použít běžný echolot využívaný v rekreačním rybolovu. Poloha odběrových míst musí být zaměřena GPS a popsána do odběrového protokolu.

V místě odběru vzorku makrozoobentosu z měkkých sedimentů se měří základní fyzikálně - chemické parametry vody (teplota vody, koncentrace rozpuštěného O_2 , pH a měrná elektrická vodivost). Měření se provádí u hladiny a těsně nade dnem, hodnoty se zapisují do odběrového protokolu stejně jako hloubka v daném místě a charakter substrátu.

3.2.2. Exuvie kukel pakomárů (Chironomidae)

Exuvie pakomárů se sbírají na návětrné straně nebo v místě jejich zvýšené kumulace v supralitorálu, příp. eulitorálu (ponejvíce v zóně jejich kontaktu), Odběrové místo se popíše nebo zakreslí do odběrového protokolu a jeho poloha se zaměřuje GPS.

3.3. Vlastní odběr a fixace vzorku

3.3.1. Měkké sedimenty

Drapák se spustí na dno na zvoleném místě a jeho čelisti se uzavřou následným spuštěním závaží nebo zatažením za ovládací provaz (podle typu drapáku). Usazení drapáku na dno je třeba provést s dostatečnou razancí tak, aby ze dna vykrojil vzorek do hloubky minimálně 10 cm, avšak aby při tom nedošlo k přílišnému víření a odplavení měkkých sedimentů před jeho dosednutím. Odebraný vzorek se přenesse na síto (250 μm), které je třeba umístit pod drapák bezprostředně poté co je vytažen nad hladinu. Důvodem je zvýšené vyplavování vzorku z drapáku v důsledku vytékání přebytečné vody. Na sítu se vzorek propere, obsah síta se přemístí do plastové láhve a konzervuje formaldehydem do výsledné koncentrace 4%.

3.3.2. Exuvie kukel pakomárů (Chironomidae)

Exuvie kukel pakomárů (Chironomidae) se sbírají z hladiny sítkou na tyčce o délce 1 - 2 m, a to buď ze břehu nebo broděním podél břehu. Sběr se provádí nejčastěji po dobu 10 minut, případně po dobu nezbytnou k nashromáždění vzorku, který obsahuje více než 500 ks exuvií. Čas, po který se odběr provádí, se zapisuje do odběrového protokolu. V případě výskytu hrubých nečistot (dřevo, zbytků rostlin apod.) ve vzorku se provádí jejich odstranění prolitím a propláchnutím vzorku přes síto o velikosti ok nejméně 4 mm. Vzorek exuvií kukel pakomárů se konzervuje etanolem do výsledné koncentrace 70-80 %.

3.4. Značení vzorků

Vzorky se označují dovnitř vzorkovnic papírovými štítky s popisem a vně vodostálými fixy. Štítek i vnější popis by měl vždy obsahovat kódové označení vzorku, datum odběru, název vodního útvaru a lokalizaci.

Ke každému vzorku je nezbytné vyplnit odběrový protokol. Do odběrového protokolu je zaznačen také počet vzorkovnic s odebraným materiálem. V případě odchyty velkých měkkýšů a jejich spolehlivé determinace v terénu, je možné druh a počet kusů zapsat do odběrového protokolu a živočichy pustit zpět do vody.

4. ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ V LABORATOŘI

4.1. Třídění vzorku

Konzervované vzorky exuvií pakomárů i makrozoobentosu z měkkých sedimentů jsou po transportu do laboratoře uloženy na vyznačeném místě, které by mělo být dobře odvětrávané a pokud možno s konstantní teplotou.

Zpracováním vzorku se rozumí vytřídění a determinace organismů.

Makrozoobentos z měkkých sedimentů se vybírá z konzervovaného vzorku po důkladném proprání na sítu o velikosti ok 250 μm a odplavení residuí formaldehydu. Ze vzorku jsou všechny organismy makrozoobentosu vytříděny do zkumavek dle taxonomických skupin. Exuvie kukel pakomárů se vybírají do zkumavek přímo ze vzorku fixovaného ethanolem.

Zkumavky jsou řádně označeny popisem na víčko a dovnitř štítkem (kód vzorku, datum odběru) a konzervovány etanolem (70%) nebo formaldehydem (4%). Počet zkumavek z jednotlivých taxonomických skupin se запиše do určené evidenční knihy. Do doby determinace jsou zkumavky uchovávány na dobře odvětrávaném místě s pokud možno konstantní teplotou a ve tmě.

5. DETERMINACE

Základním a nezbytným vybavením pro determinaci biologického materiálu je mikroskopická technika. Pro determinaci je nezbytný preparační mikroskop (zvětšení v rozsahu cca 10 – 100x) a světelný mikroskop (zvětšení v rozsahu cca 400 – 1 000x).

Determinace vzorků makrozoobentosu se provádí s použitím příslušných determinačních klíčů do co nejnižší, obvykle druhové úrovně (s ohledem na stanovené determinační úrovně). Výsledky determinace se zaznamenávají do determinačního protokolu, který je připraven zvláště pro makrozoobentos měkkých sedimentů a pro exuvie kukel pakomárů (viz přílohy).

Determinační protokol musí vždy obsahovat:

- kódové označení odběru a vzorků
- název vodního útvaru
- datum odběru
- plochu dna, ze které byl odebrán vzorek z měkkých sedimentů (plocha drapáku)
- datum determinace
- jméno determinátora a jeho podpis
- seznam zjištěných taxonů s vyznačením vývojových stadií a s jejich abundancemi

Vzorky makrozoobentosu z měkkých sedimentů jsou odebírány s použitím drapáku o známé ploše a jedná se tedy o kvantitativní odběr. Výsledky lze proto interpretovat přímo jako denzitu vyjádřenou počtem jedinců na m² (ind.m⁻²).

Základem hodnocení budou následující kritéria:

- taxonomické složení, druhová bohatost (počet taxonů)
- denzita (abundance) na jednotku plochy profundálu
- indexy diverzity
- biotické indexy
- saprobiologický index
- denzita zástupců třídy Oligochaeta
- denzita zástupců tribu Tanytarsini

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

- KALFF J., 2002: Limnology. Inland Water Ecosystems. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey 07458, 592 s.
- LELLÁK J., KUBÍČEK F., 1991: Hydrobiologie. UK Praha, 257 s.
- RUSE L., 2002: Chironomid pupae exuviae as indicators of lake status. Arch.Hydrobiol., 153(3):367-390.
- SCHWOERBEL J., 1966: Methoden der Hydrobiologie. Kosmos Stuttgart, 207 s.
- ČSN EN ISO 9391, 1996: Jakost vod - Odběr vzorků makrozoobentosu v hlubokých vodách – Pokyny pro použití kolonizačních, kvalitativních a kvantitativních vzorkovačů, 15 s.
- ČSN EN 27828, 1996: Jakost vod. Metody odběrů biologických vzorků. Pokyny pro odběr vzorků makrozoobentosu ruční sítkou (ISO 7828:1985), 11 s.
- ČSN ISO 5667-12, 1997: Jakost vod - Odběr vzorků – Část 12: Pokyny pro odběr vzorků dnových sedimentů, 47 s.
- ČSN 75 7714, 1998: Jakost vod – Biologický rozbor – Stanovení bentosu, 11 s.
- prEN 15196:2005. Water quality – Guidance on sampling and processing of the pupal exuviae of Chironomidae (Order Diptera) for ecological assessment. 8 s.

METODIKA ODBĚRU A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ MAKROZOOBENTOSU STOJATÝCH VOD

PROTOKOL O ODBĚRU BIOTY STOJATÝCH VOD - MAKROZOOBENTOS 1 - DNOVÉ SEDIMENTY

vodní útvar	kód odběru	datum	vzorkaři

srážky ne <input type="checkbox"/> ano - mrholení <input type="checkbox"/> ano - déšť <input type="checkbox"/> ano - mrznoucí <input type="checkbox"/> ano - sněhové <input type="checkbox"/>	oblačnost < 20% <input type="checkbox"/> 20 - 40 % <input type="checkbox"/> 40 - 60% <input type="checkbox"/> 60 - 80% <input type="checkbox"/> > 80% <input type="checkbox"/>	vodní květ ano <input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/> výška vodní hladiny zvýšená <input type="checkbox"/> normální <input type="checkbox"/> snížená <input type="checkbox"/> silně snížená <input type="checkbox"/>	zbarvení vody bezbarvá <input type="checkbox"/> zelená <input type="checkbox"/> hnědá <input type="checkbox"/> šedá <input type="checkbox"/> žlutá <input type="checkbox"/> červená <input type="checkbox"/>	pach žádný <input type="checkbox"/> slabý <input type="checkbox"/> intenzivní <input type="checkbox"/> popis pachu _____ _____	fotodokumentace provedl: _____ popis: _____ _____ _____ průhlednost _____ m
---	--	---	---	--	--

teplota vzduchu _____ °C

poznámky

KÓD VZORKU místo odběru _____	čas odběru aktuální hloubka _____ m	zaměření GPS GPS zem. délka N _____ GPS - zem. šířka E _____ _____ ° _____ ' _____ " _____ ° _____ ' _____ " _____ m	přesnost GPS (m) _____ m
fyz-chem. ukaz. hladina dno t vody _____ °C pH _____ vodivost _____ μS/cm rozp. O ₂ _____ mg/l nasyc. O ₂ _____ %	typ sedimentu písek <input type="checkbox"/> písek-bahno <input type="checkbox"/> bahno-písek <input type="checkbox"/> bahno <input type="checkbox"/> organické zbytky _____ % černé H ₂ S bahno ano <input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/>	plocha odběráku _____ cm ² počet vzorkovnic _____ typ odběráku Van Veen <input type="checkbox"/> Ekman-Birge <input type="checkbox"/> Ponar <input type="checkbox"/>	odebraní a puštění živočichové ks _____ _____ _____

KÓD VZORKU místo odběru _____	čas odběru aktuální hloubka _____ m	zaměření GPS GPS zem. délka N _____ GPS - zem. šířka E _____ _____ ° _____ ' _____ " _____ ° _____ ' _____ " _____ m	přesnost GPS (m) _____ m
fyz-chem. ukaz. hladina dno t vody _____ °C pH _____ vodivost _____ μS/cm rozp. O ₂ _____ mg/l nasyc. O ₂ _____ %	typ sedimentu písek <input type="checkbox"/> písek-bahno <input type="checkbox"/> bahno-písek <input type="checkbox"/> bahno <input type="checkbox"/> organické zbytky _____ % černé H ₂ S bahno ano <input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/>	plocha odběráku _____ cm ² počet vzorkovnic _____ typ odběráku Van Veen <input type="checkbox"/> Ekman-Birge <input type="checkbox"/> Ponar <input type="checkbox"/>	odebraní a puštění živočichové ks _____ _____ _____

KÓD VZORKU místo odběru _____	čas odběru aktuální hloubka _____ m	zaměření GPS GPS zem. délka N _____ GPS - zem. šířka E _____ _____ ° _____ ' _____ " _____ ° _____ ' _____ " _____ m	přesnost GPS (m) _____ m
fyz-chem. ukaz. hladina dno t vody _____ °C pH _____ vodivost _____ μS/cm rozp. O ₂ _____ mg/l nasyc. O ₂ _____ %	typ sedimentu písek <input type="checkbox"/> písek-bahno <input type="checkbox"/> bahno-písek <input type="checkbox"/> bahno <input type="checkbox"/> organické zbytky _____ % černé H ₂ S bahno ano <input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/>	plocha odběráku _____ cm ² počet vzorkovnic _____ typ odběráku Van Veen <input type="checkbox"/> Ekman-Birge <input type="checkbox"/> Ponar <input type="checkbox"/>	odebraní a puštění živočichové ks _____ _____ _____

KÓD VZORKU místo odběru _____	čas odběru aktuální hloubka _____ m	zaměření GPS GPS zem. délka N _____ GPS - zem. šířka E _____ _____ ° _____ ' _____ " _____ ° _____ ' _____ " _____ m	přesnost GPS (m) _____ m
fyz-chem. ukaz. hladina dno t vody _____ °C pH _____ vodivost _____ μS/cm rozp. O ₂ _____ mg/l nasyc. O ₂ _____ %	typ sedimentu písek <input type="checkbox"/> písek-bahno <input type="checkbox"/> bahno-písek <input type="checkbox"/> bahno <input type="checkbox"/> organické zbytky _____ % černé H ₂ S bahno ano <input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/>	plocha odběráku _____ cm ² počet vzorkovnic _____ typ odběráku Van Veen <input type="checkbox"/> Ekman-Birge <input type="checkbox"/> Ponar <input type="checkbox"/>	odebraní a puštění živočichové ks _____ _____ _____

KÓD VZORKU místo odběru _____	čas odběru aktuální hloubka _____ m	zaměření GPS GPS zem. délka N _____ GPS - zem. šířka E _____ _____ ° _____ ' _____ " _____ ° _____ ' _____ " _____ m	přesnost GPS (m) _____ m
fyz-chem. ukaz. hladina dno t vody _____ °C pH _____ vodivost _____ μS/cm rozp. O ₂ _____ mg/l nasyc. O ₂ _____ %	typ sedimentu písek <input type="checkbox"/> písek-bahno <input type="checkbox"/> bahno-písek <input type="checkbox"/> bahno <input type="checkbox"/> organické zbytky _____ % černé H ₂ S bahno ano <input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/>	plocha odběráku _____ cm ² počet vzorkovnic _____ typ odběráku Van Veen <input type="checkbox"/> Ekman-Birge <input type="checkbox"/> Ponar <input type="checkbox"/>	odebraní a puštění živočichové ks _____ _____ _____

METODIKA ODBĚRU A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ MAKROZOOBENTOSU STOJATÝCH VOD

PROTOKOL O ODBĚRU BIOTY STOJATÝCH VOD - MAKROZOOBENTOS 2 - EXUVIE KUKEL PAKOMARŮ

vodní útvar	kód odběru	datum	vzorkaři

srážky	oblačnost	wodní 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 - dešť <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"/>	snížená <input type="checkbox"/>	žlutá <input type="checkbox"/>		
		silně snížená <input type="checkbox"/>	červená <input type="checkbox"/>		průhlednost <input type="text"/> m
teplota vzduchu <input type="text"/>	<input type="text"/> °C				

poznámky

KÓD VZORKU		doba trvání odběru <input type="text"/> min	zaměření GPS	přesnost GPS (m)
místo odběru			GPS zem. délka N <input type="text"/>	GPS - zem. šířka E <input type="text"/>
		rozměry sítky	<input type="text"/> ° <input type="text"/> ' <input type="text"/> "	<input type="text"/> ° <input type="text"/> ' <input type="text"/> "
		délka <input type="text"/> cm	šířka <input type="text"/> cm	<input type="text"/> m
čas odběru	<input type="text"/>			
poznámky				

