

REVIZE NORMY ČSN 75 7717 KVALITA VOD – STANOVENÍ PLANKTONNÍCH SINIC

Petr Pumann, Tereza Pouzarová

Státní zdravotní ústav, Šrobárova 48, 100 42 Praha 10; ppumann@szu.cz

Souhrn

V prosinci 2013 byla vydána revize normy ČSN 75 7717 Kvalita vod – Stanovení planktonních sinic. Do normy byl doplněn postup odběru vzorků v případech výskytu velkých, nerovnoměrně rozmístěných kolonií nebo shluků sinic. Změny v laboratorním postupu se týkaly především dezintegrace kolonií s kompaktním slizem, k čemuž se doporučuje zásaditý Lugolův roztok v kombinaci s ultrazvukovým homogenizátorem nebo injekční stříkačkou s tupou jehlou. Dále byly upřesněny postupy pro zahušťování odstředěním, pro počítání vláken u rodu *Planktothrix* a pro stanovení objemové biomasy. Do normy byly také přidány dvě nové přílohy. První z nich obsahuje fotografie, které mají pomoci při rozpoznávání vodních květů. Ve druhé příloze jsou shrnuty nedávné taxonomické revize planktonních rodů *Anabaena* a *Aphanizomenon*.

Klíčová slova: sinice; kvantifikace; voda ke koupání

Summary

The amended standard ČSN 75 7717 Water Quality – Determination of Planktonic Cyanobacteria was released in December 2013. The sampling procedure was specified for cases of occurrence of big colonies or clusters of Cyanobacteria. The changes in the laboratory technique are mainly concerned on the disintegration of stable colonies. Alkaline Lugol's solution combined with an ultrasound homogenizer or a syringe with thick needle was recommended for this purpose. The procedures for centrifugation, counting filaments of genus *Planktothrix* and biovolume determination were amended. Two new annexes were added. The first one contains pictures, which should help with the determination of water blooms. The second one summarized the recent taxonomical revisions of two planktonic genera *Anabaena* and *Aphanizomenon*.

Keywords: cyanobacteria; quantification; bathing water

Úvod

V období 2011–2013 byl ve spolupráci Výzkumného ústavu vodohospodářského, Státního zdravotního ústavu a firmy Consygen řešen projekt „Nové metodické přístupy pro kontrolu a hodnocení povrchových vod ke koupání“. Jeho výstupem je několik metodických dokumentů zaměřených na sledování kvality přírodních vod ke koupání [1], [7], [8]. Jedním z nich je také revidovaná norma ČSN 75 7717 Kvalita vod – Stanovení planktonních sinic z prosince 2013 [3]. Při revizi bylo v textu normy provedeno poměrně velké množství oprav a doplnění, nicméně základní postup zůstal stejný jako v předchozích verzích, tedy v TNV 75 7717 z roku 2004 [10] a ČSN 75 7717 z roku 2008 [2]. V tomto příspěvku se chceme zaměřit na nejdůležitější změny oproti verzi z roku 2008, a to včetně důvodů, které k nim vedly.

Stručné shrnutí postupu

Pro čtenáře, který nezná základní postup podle této ČSN, uvádíme jeho stručné shrnutí. Norma neobsahuje jen laboratorní postup, ale rovněž poměrně obsáhlou část věnovanou vzorkování. V ní je specifikován především odběr vod ke koupání, který se provádí z horizontu 0–30 cm z nejméně tří dílčích vzorků. Při odběru je nutno vyhodnotit přítomnost vodních květů podle 4bodové stupnice. Laboratorní postup se liší podle toho, zda jsou přítomny kokální sinice tvořící kolonie (především *Microcystis* a *Woronichinia*), nebo taxony vláknité. Kolonie je nutné před počítáním nejprve dezintegrovat na jednotlivé buňky či alespoň na co nejmenší útvary pomocí mechanické dezintegrace injekční stříkačkou s tupou jehlou nebo pomocí ultrazvukového homogenizátoru. Vláknité sinice tvořící vločky (*Aphanizomenon flos-aquae*, případně některé další zástupce tohoto rodu) je nejprve nutné dezintegrovat pomocí Lugolova roztoku na jednotlivá vlákna. Vláknité sinice tvořící vločky je možné počítat přímo, i když také nejlépe až po přidání Lugolova roztoku. Pokud je sinic ve vzorku relativně málo, je vhodné vzorek zahustit (odstředěním nebo membránovou filtrací, k níž se použije speciální aparatura), přestože tento krok přináší obvykle ztráty. Počítání se provádí ve světelném

mikroskopu v počítací komůrce (obvykle Cyrus I). Počítají se buď jednotlivé buňky, nebo se u vláknitých sinic, u nichž jsou v počítací komůrce obtížně viditelné jednotlivé buňky (typicky *Planktothrix*, *Aphanizomenon*, *Pseudanabaena*, *Limnothrix*), měří délka vláken. Za jednu buňku se pak považuje úsek vlákna o délce 5 μm . Při počítání živých dezintegrovaných sinic lze využít fluorescenci. Výsledek se vyjadřuje jako abundance v buňkách/ml nebo jako objemová biomasa v mm^3/l . Ke stanovení objemové biomasy je však nutno získat údaje o velikosti přítomných sinic.

Změny ve vzorkování

Vzorkování sinic v ČSN 75 7717 je zaměřeno především na vody ke koupání. Standardní postup není technicky příliš náročný. Kromě běžných pomůcek je navíc nutný pouze vhodný trubkový odběrák. Většina vzorkařů tento postup bezpečně zvládá [9]. Problém však nastává, pokud je nutné odebrat reprezentativní vzorek při výskytu větších kolonií/shluků sinic nehomogenně rozmístěných po hladině nádrže, což se může týkat např. *Microcystis aeruginosa*, *M. ichthyoblabe*, *Aphanizomenon flos-aquae* nebo utržených nárostových sinic rodů *Oscillatoria* nebo *Phormidium*. V revidované normě je problému věnována samostatná kapitola (7.4.3). Pokud k takové situaci dojde, je nutné ji především podrobně popsat v odběrovém protokolu a v případě, že byl nabrán do vzorkovnice také nějaký větší shluk nebo kolonie, toto pečlivě zaznamenat. Je-li velkých kolonií nebo shluků v místě odběru významné množství, je vhodné odebrat do jedné vzorkovnice vzorek bez kolonií a shluků a do druhé s nimi.

Zásadním problémem při vzorkování sinic jsou nedostatečné schopnosti pracovníků, zapojených do vzorkování, správně identifikovat vodní květy a další okem pozorovatelné organismy/jevy, které se mohou na přírodních vodách ke koupání vyskytnout. Neuspokojivou situaci dobře demonstruje, že v rámci jednoho kola programu zkoušení způsobilosti, zaměřeného na odběry přírodních vod ke koupání, nepoznaly dvě třetiny vzorkovacích skupin kolonie sinice *Aphanizomenon flos-aquae* [9]. Z tohoto důvodu byla do revize ČSN 75 7717 začleněna fotografická příloha E, která obsahuje obrázky vodních květů, utržených nárostů sinic a rovněž příklady jednotlivých stupňů z odhadové stupnice vodních květů. Navíc byl v rámci projektu připraven fotografický atlas, který je volně dostupný na internetu a který obsahuje ještě podrobnější obrazový materiál [8].

Dezintegrace kolonií

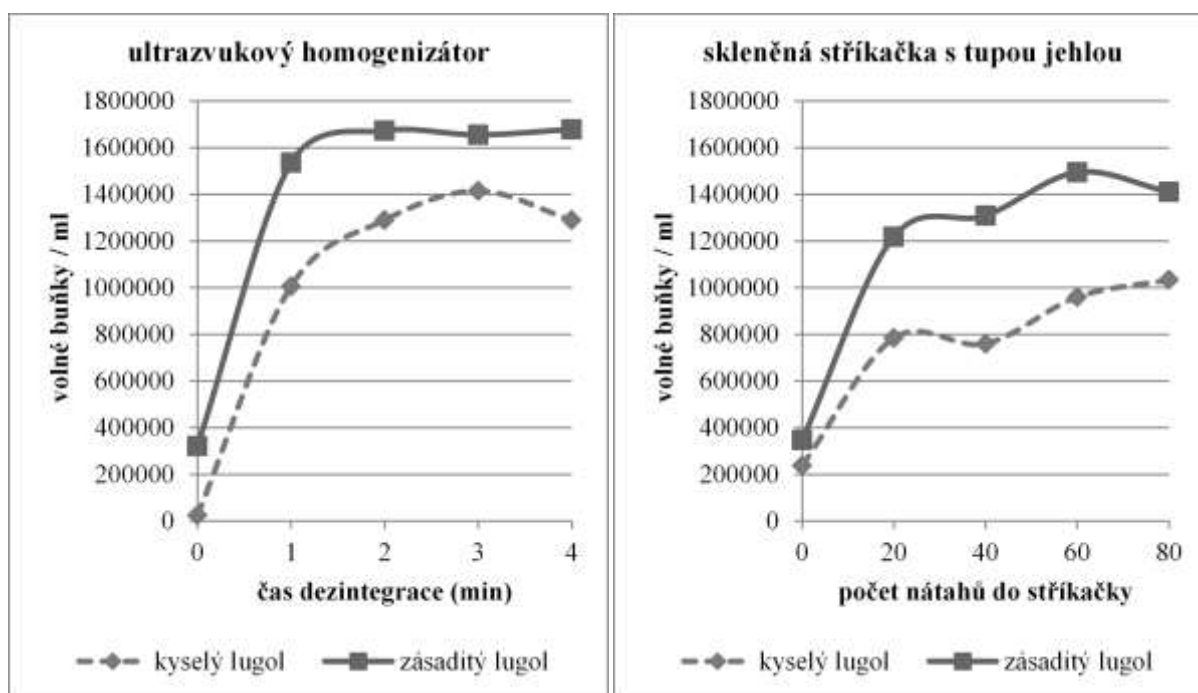
V původní normě byly uvedeny čtyři způsoby, jak dezintegrovat kokální sinice, jež tvoří kolonie, tedy především rody *Microcystis* a *Woronichinia*. Dva ze způsobů byly z revidované normy vyřazeny. Prvním z nich byla dezintegrace pomocí automatické pipety. Tento historicky nejstarší způsob, který se objevil již v prvním návrhu metodiky v roce 2001, byl vyřazen proto, že je pro daný účel málo vhodný. Špička při dezintegraci vypadá a nelze s ní vyvinout potřebný tlak. Navíc v současné době není tento postup v laboratořích již téměř využíván. Za posledních šest let ho v rámci MPZ použil jen jeden účastník (viz tabulka 1). Druhým vyřazeným způsobem je dezintegrace pomocí homogenizátoru Potter-Elvehjem, který rovněž není v praxi používán a má také několik nevýhod. Práce je zhruba stejně pracná jako se stříkačkou, dezintegrace je však méně účinná a nejsou při ní destruovány aerotopy, takže je nutno stejně vzorek ještě nasát do stříkačky a vystavit v ní sinice přetlaku. Navíc je tento homogenizátor skleněný, takže hrozí jeho rozbití.

Tabulka 1. Pomůcky k dezintegraci koloniálních sinic používané účastníky programu zkoušení způsobilosti pořádaných Státním zdravotním ústavem. Vybrány byly údaje za posledních 6 let.

rok	2008	2009	2010	2011	2012	2013
počet účastníků	15	15	10	13	10	10
bez dezintegrace	4	2	0	2	4	0
stříkačka (obvykle s KOH)	9	10	9	10	5	5
ultrazvuk	2	2	1	1	1	4
jen KOH	0	1	0	0	0	0
automatická pipeta	0	0	0	0	0	1

V normě tedy zbyla dezintegrace pomocí injekční stříkačky s tupou jehlou a pomocí ultrazvukového homogenizátoru. Oba způsoby jsou poměrně dobře účinné, druhý je však snáze standardizovatelný. Práce se stříkačkou vyžaduje poměrně dost síly a navíc ji nelze provést vždy stejně. Výhodou ve srovnání s ultrazvukovým homogenizátorem je ale výrazně nižší cena.

Ani jedním z uvedených způsobů však nebylo možné zcela dezintegrovat kolonie s kompaktním slizem, které vytváří především *Microcystis viridis*, *M. wesenbergii*, *Woronichinia naegeliana* a někdy také *M. aeruginosa*. K lepší účinnosti příliš nenapomohlo ani zvýšení koncentrace KOH, více nátahů do injekční stříkačky ani prodloužení doby homogenizace ultrazvukem. V revidované normě je doporučen postup po přidání zásaditého Lugolova roztoku, který funguje velmi dobře zvláště v kombinaci s ultrazvukovým homogenizátorem (obr. 1). Zásaditý Lugolův roztok je vhodné přidávat ke vzorkům několik hodin před dezintegrací (nejlépe je zpracovávat až druhý den po fixaci).



Obr. 1. Účinnost dezintegrace vzorků s dominancí sinice s kompaktními koloniemi *Microcystis viridis* po přidání kyselého a zásaditého Lugolova roztoku. Nejlepší výsledky poskytoval ultrazvukový homogenizátor se zásaditým Lugolovým roztokem, kdy ve vzorku nebyly pozorovatelné žádné nedezintegrované kolonie již po dvou minutách. Ve všech ostatních postupech byly nalézány částečně dezintegrované kolonie bez ohledu na čas homogenizace ultrazvukem / počet nátahů do stříkačky. Buňky v neúplně dezintegrováných koloniích nebyly systematicky počítány a nemohou tak být na grafech zohledněny. Pokud by byly kvantifikovány, lze očekávat, že všechny 4 postupy dodají podobné výsledky.

Rozložení *Planktothrix* v počítací komůrce

Zajímavým jevem, který komplikuje práci s metodou, je chování vláknité sinice rodu *Planktothrix* při plnění počítací komůrky. Nápadně často se stává, že jsou vlákna v komůrce rozložena nehomogenně. Na počítací mřížce komůrky se po přikrytí krycím sklem objevují pásy se znatelně větší hustotou vláken než v jejich okolí (příklad na obr. 2). Zajímavé také je, že stejný problém jsme nezaznamenali u jiných vláknitých sinic (např. u *Aphanizomenon flos-aquae*). S počítáním *Planktothrix* však máme největší zkušenosti, proto nemůžeme vyloučit, zda jsme podobný jev u jiných sinic jen nepřehlédli.

Opakovaně jsme se snažili najít příčinu tohoto jevu. Část případů lze vysvětlit otálením s přikrytím vzorku krycím sklem. Pokud kapka vzorku na mřížce nebyla přikryta ihned, ale až s desetisekundovým prodlením, byly výsledky stanovení významně vyšší [6]. Rozhodně však nelze tímto vysvětlit všechny případy nehomogenního rozmístění vláken v komůrce, protože hustší pásy vláken se objevují i v případech, kdy se komůrka přikryje krycím sklem velmi rychle. Na zajímavé

možné vysvětlení nehomogenního rozložení jsme narazili nedávno. Jedná se totiž možná o přirozené chování protáhlých částic v kapce vody. Protáhlé částice mají tendenci vytvářet na povrchu kapky shluky [5]. Kdyby tomu tak bylo, měly by se tak však chovat všechny vláknité sinice, tedy i zmíněný *Aphanizomenon flos-aquae* nebo tenké vláknité sinice jako je *Pseudanabaena*. U *Microcystis* by se naopak problémy s nehomogenním rozložením vyskytovat neměly, což celkem odpovídá našim zkušenostem. Zatím jsme však žádné systematické pokusy k ověření tvaru organismů na (ne)homogenní rozložení neprováděli.

Revidovaná norma na problém s nehomogenním rozložením pouze upozorňuje a uvádí, že pokud se vyskytnou oblasti (pásky) s výrazně větší hustotou vláken než v ostatních částech komůrky, je nutné komůrku naplnit znovu. Doporučuje také přikrývat komůrku co nejrychleji.

A	0	5	3	2	2	4	4	1	3	3
	4	1	3	4	2	3	2	2	2	6
	1	2	4	4	2	5	6	7	11	15
	1	1	2	6	8	16	17	38	41	31
	1	3	6	3	6	15	21	31	17	20
	7	6	5	3	2	4	1	3	2	3
	1	1	3	3	1	3	3	2	4	7
	1	3	6	1	2	3	2	2	2	5
	1	2	3	3	1	3	5	3	3	5
	3	4	2	2	0	5	7	5	2	3

B	2	3	3	4	1	1	3	2	0	1
	1	3	1	3	1	0	3	1	1	2
	1	3	0	2	3	1	0	1	5	2
	6	2	7	2	4	4	3	7	4	4
	2	3	1	6	2	4	1	1	3	0
	1	4	4	2	3	0	3	4	5	4
	3	1	2	2	3	2	6	0	3	5
	2	1	3	0	2	2	4	5	2	5
	2	6	1	2	2	5	2	4	2	5
	2	1	1	4	3	4	3	1	0	3

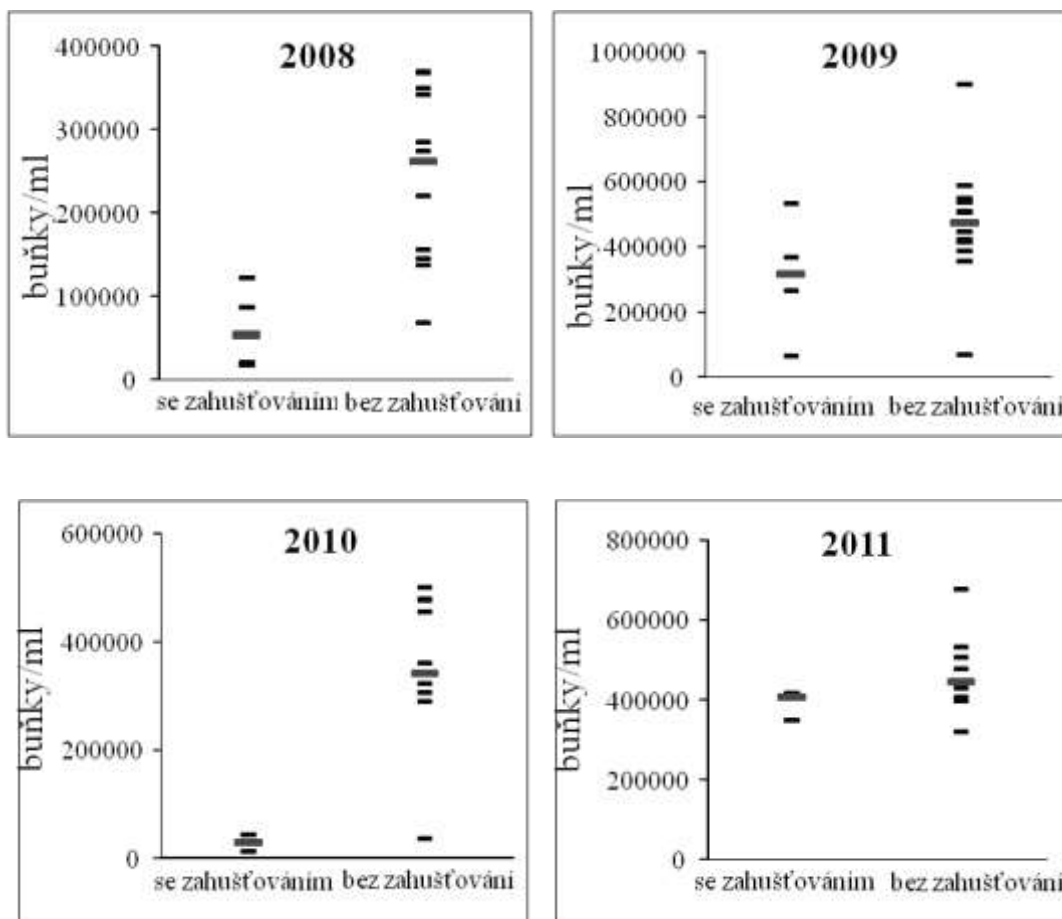
Obr. 2. Dva příklady naplněné komůrky vzorkem s dominancí *Planktothrix agardhii* s průměrným počtem 250 vláken na komůrku. Příklady pocházejí z testování opakovatelnosti v laboratoři Státního zdravotního ústavu. Čtvercová síť představuje mřížku komůrky Cyrus I. Čísla uvnitř jednotlivých malých čtverců jsou počty vláken *Planktothrix agardhii* na ploše 4×4 velkých polí z mřížky komůrky (tzn. na ploše 1 mm²). Na obrázku A je příklad komůrky s nehomogenním rozložením vláken. Jejich počet na mřížce byl 550, což bylo maximum z 24 opakování. V pravé části komůrky mezi 3. a 5. řádkem je vidět oblast s výrazně vyššími počty vláken než na zbytku plochy. Na obrázku B je příklad komůrky s homogenním rozložením (počet vláken na komůrku byl 256). Zjevně nehomogenně rozložených bylo při pokusu celkem 8 komůrek z 24, i když již ne tak výrazně jako u komůrky na obrázku A. Plnění komůrky prováděli dva různí pracovníci (každý 12×), všechny komůrky propočítával jen jeden pracovník. Nehomogenní rozložení vláken bylo u každého z pracovníků zaznamenáno 4×.

Zahušťování

Velmi problematickým krokem metody je zahušťování. V normě jsou pro ně uvedeny dva postupy. Lze je provádět buď pomocí speciální filtrační aparatury, nebo odstředováním. Na speciální filtrační aparaturu k zahušťování fytoplanktonu se odkazuje i revidovaná norma. Jediný výrobce této aparatury, firma Limni, ji před několika lety přestala vyrábět. Nikdo jiný se výroby zatím neujal, a tak byl z normy alespoň odstraněn odkaz na výrobce.

Zahušťování ve většině případů poskytuje nižší výsledky, než vzorky nezahuštěné, což se týká především vzorků s dezintegrovanými kokálními sinicemi. Tuto skutečnost jsme si opakovaně ověřovali v naší laboratoři (ztráty se obvykle pohybovaly mezi 10 a 40 %). Je to dobře patrné i na výsledcích MPZ (obr. 3).

V revidované normě byl u zahuštění centrifugací doplněn jednak požadavek na důsledné vyvážení kyvet před odstředěním (nejen zkumavek se vzorkem), a dále byl prodloužen čas odstředování z 10 na 15 minut a zvýšena odstředivá síla ze 700 na 1 100 g.



Obr. 3. Výsledky účastníků MPZ pořádaných SZÚ v vzorcích s dominancí *Microcystis* spp. Vlevo jsou výsledky účastníků, kteří vzorky před počítáním zahušťovali, vpravo pak těch, kteří počítali bez předchozího zahuštění. Silnější čára představuje medián. Ve všech případech byl medián nižší u účastníků, kteří vzorky zahušťovali.

Objemová biomasa

Většina výsledků rutinních rozborů provedených podle této normy je vyjádřena jako abundance v buňkách sinic/ml. Velikost buněk sinic mezi jednotlivými taxony se však může značně lišit. V případě výskytu sinic s drobnými buňkami, což jsou v koupacích vodách typicky tenké vláknité sinice rodů *Pseudanabaena*, *Limnothrix* a *Planktolyngbya*, je vhodné použít pro hodnocení abundance v buňkách objemovou biomasu v mm^3/l . Podle vyhlášky č. 238/2011 Sb. je to dokonce nutnost. V praxi však může nastat situace, kdy buď z nedostatku času (koupací sezóna se kryje s dobou dovolených; výsledky musí být odeslány do tří dnů) nebo kvůli nedostatečnému vybavení laboratoře (laboratoře nejsou vždy vybaveny okulárovým mikrometrem nebo analýzou obrazu) nemůže být objemová biomasa stanovena na základě měření rozměrů na konkrétním vzorku. Proto byla do revize normy přidána tabulka s šířkou vláken pro tři výše uvedené rody tenkých vláknitých sinic a k tomu ještě pro *Planktothrix agardhii*, která se s nimi často vyskytuje. Tato šířka se pak použije pro výpočet objemové biomasy. Byly voleny hodnoty na horní hranici rozměrů uváděných v literatuře, aby nedocházelo k podhodnocování nálezu. Pro další taxony uzančení hodnoty stanoveny nebyly – při obvyklém určení do rodu by byly výsledky zatíženy již nepříjemně velkou chybou. I v případě výskytu tenkých vláknitých sinic je však vždy lepší dát přednost měření před uzančeními rozměry.

Příloha determinační literatura

Aktualizována byla také příloha D věnovaná determinační literatuře. Zařazena byla nová monografie věnovaná nostokálním sinicím [4] a seznam byl rozdělen na dvě části (českou a cizojazyčnou) s tím, že laboratoř by měla mít k dispozici alespoň jednu publikaci uvedenou v české části.

Zohlednění taxonomických revizí u rodů *Anabaena* a *Aphanizomenon*

U rodů nostokálních sinic *Anabaena* a *Aphanizomenon* proběhly v posledních letech výrazné změny, které nebyly doposud zpracovány v žádné oficiální determinační literatuře snadno dostupné provozním laboratorům. Z tohoto důvodu byla do normy přidána nová informativní příloha (F), jejíž součástí je „převodní“ tabulka se jmény před taxonomickými revizemi a po nich (tabulka 2). V textu normy jsou již používána výhradně nová jména. Doporučení, zda v praxi striktně používat nová jména, norma neobsahuje. Rozhodně by však používání taxonomicky korektních jmen nemělo mít za následek nesrozumitelnost výsledků. Podrobnosti, které se týkají revizí, lze najít v právě vydávané monografii od profesora Komárka věnované nostokálním sinicím [4] nebo v prezentacích Elišky Zapomělové (např. na <http://www.szu.cz/dk2013>).

Tabulka 2. Vzhledem k tomu, že naprostá většina taxonomických změn u rodu *Aphanizomenon* a planktonních zástupců rodu *Anabaena* snad již proběhla, byla do revize ČSN 75 7717 přidána tato tabulka

Původní jméno	Nové jméno
<i>Anabaena mendotae</i>	<i>Dolichospermum mendotae</i>
<i>Anabaena affinis</i>	<i>Dolichospermum affine</i>
<i>Anabaena bergii</i>	<i>Chrysochlorium bergii</i>
<i>Anabaena circinalis</i>	<i>Dolichospermum circinale</i>
<i>Anabaena compacta</i>	<i>Dolichospermum compactum</i>
<i>Anabaena crassa</i>	<i>Dolichospermum crassum</i>
<i>Anabaena curva</i>	<i>Dolichospermum curvum</i>
<i>Anabaena danica</i>	<i>Dolichospermum danicum</i>
<i>Anabaena flos-aquae</i>	<i>Dolichospermum flos-aquae</i>
<i>Anabaena lemmermannii</i>	<i>Dolichospermum lemmermannii</i>
<i>Anabaena mucosa</i>	<i>Dolichospermum mucosum</i>
<i>Anabaena planctonica</i>	<i>Dolichospermum planctonicum</i>
<i>Anabaena reniformis</i>	<i>Sphaerospermopsis reniformis</i>
<i>Anabaena sigmoidea</i>	<i>Dolichospermum sigmoideum</i>
<i>Anabaena smithii</i>	<i>Dolichospermum smithii</i>
<i>Anabaena spiroides</i>	<i>Dolichospermum spiroides</i>
<i>Anabaena tenericaulis</i>	<i>Dolichospermum tenericaule</i>
<i>Anabaena viguieri</i>	<i>Dolichospermum viguieri</i>
<i>Aphanizomenon aphanizomenoides</i>	<i>Sphaerospermopsis aphanizomenoides</i>
<i>Aphanizomenon elenkinii</i>	<i>Cuspidothrix elenkinii</i>
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>
<i>Aphanizomenon gracile</i>	<i>Aphanizomenon gracile</i>
<i>Aphanizomenon issatschenkoi</i>	<i>Cuspidothrix issatschenkoi</i>
<i>Aphanizomenon klebahnii</i>	<i>Aphanizomenon klebahnii</i>
<i>Aphanizomenon ovalisporum</i>	<i>Chrysochlorium ovalisporum</i>
<i>Aphanizomenon yezoense</i>	<i>Aphanizomenon yezoense</i>
POZNÁMKA: U <i>Aphanizomenon gracile</i> lze ještě očekávat změny (pravděpodobně zařazení do rodu <i>Dolichospermum</i>).	

Závěr

Revize ČSN 75 7717 nepřináší do laboratoří žádnou revoluci v počítání sinic. Změny oproti předchozí verzi z roku 2008 postup vylepšují a upřesňují (tedy alespoň doufáme), ale zásadně ho nemění. Při použití této metody je třeba být stále ve střehu a nepoužívat ji šablonovitě, protože sinice dost často využívají důmyslné strategie, aby se nedaly přesně spočítat. Dovedou se třeba nenápadně nalepit na krycí sklo, shlukovat se nebo neočekávaně lyzovat.

Poděkování: Tento příspěvek vznikl v rámci projektu Technologické agentury ČR „Nové metodické přístupy pro kontrolu a hodnocení povrchových vod ke koupání“ (TA 01020675). Děkujeme všem spoluautorům normy i všem, kteří se aktivně zapojili v rámci připomínkového řízení.

Použitá literatura

- [1] BAUDIŠOVÁ D., ŠAŠEK J., PUMANN P. (2013). Mikrobiologické rozborů povrchových vod ke koupání Technické doporučení. Sweco-Hydroprojekt. 27 str.
- [2] ČSN 75 7717 – Kvalita vod – Stanovení planktonních sinic (červen 2008).
- [3] ČSN 75 7717 – Kvalita vod – Stanovení planktonních sinic (prosinec 2013).
- [4] KOMÁREK, J. (2013): Cyanoprokaryota – 3. Teil: Heterocytous Genera – In: Buedel B., Gaertner G., Krienitz L. & Schagerl M. (ed.), Süßwasserflora von Mitteleuropa, Band 19/3, Springer Spektrum.
- [5] KOPECKÝ V. (2013): Fyzika v kapce kávy. Vesmír 92(3): 156–158.
- [6] POUZAROVÁ T., PUMANN P. (2010): Význam rychlosti plnění počítačů komůrky pro výsledek stanovení biosestonu. Sborník přednášek z konference „Vodárenská biologie 2010“, Praha 3.–4. 2. 2010; str. 217–219.
- [7] PUMANN P., BAUDIŠOVÁ D., KOŽÍŠEK F., ŠAŠEK J., MYŠÁKOVÁ M. (2013). Metodický návod na vzorkování, terénní a laboratorní vyšetřování a hodnocení jakosti vody v přírodních koupalištích a povrchových vodách ke koupání. 16 stran.
- [8] PUMANN P., DURAS J. (2013): Atlas makroskopických jevů spojených s výskytem vodních květů sinic a dalších organismů v přírodních koupacích vodách. Státní zdravotní ústav. Dostupné na <http://www.szu.cz/tema/zivotni-prostredi/koupaliste-metody>
- [9] PUMANN P., POUZAROVÁ T. (2012): Problematika vzorkování přírodních koupacích vod. Sborník z konference Vodárenská biologie 2012, 1.–2. 2. 2012 Praha, str. 26–32.
- [10] TNV 75 7717 – Jakost vod – Stanovení planktonních sinic (březen 2004).