

PT#V/5/2019

Stanovení mikroskopického obrazu v
přírodních koupalištích, stanovení sinic
a stanovení chlorofylu-a

Petr Pumann

Státní zdravotní ústav

Seminář k vyhodnocení PT#V/5/2019

28. 11. 2019

upraveno pro zveřejnění na internetu

IDENTITA

Program zkoušení způsobilosti

Název Stanovení mikroskopického obrazu v přírodních koupalištích, stanovení sinic a stanovení chlorofylu-a
Označení PT#V/5/2013
Vydáno dne 20.11.2013

Organizátor

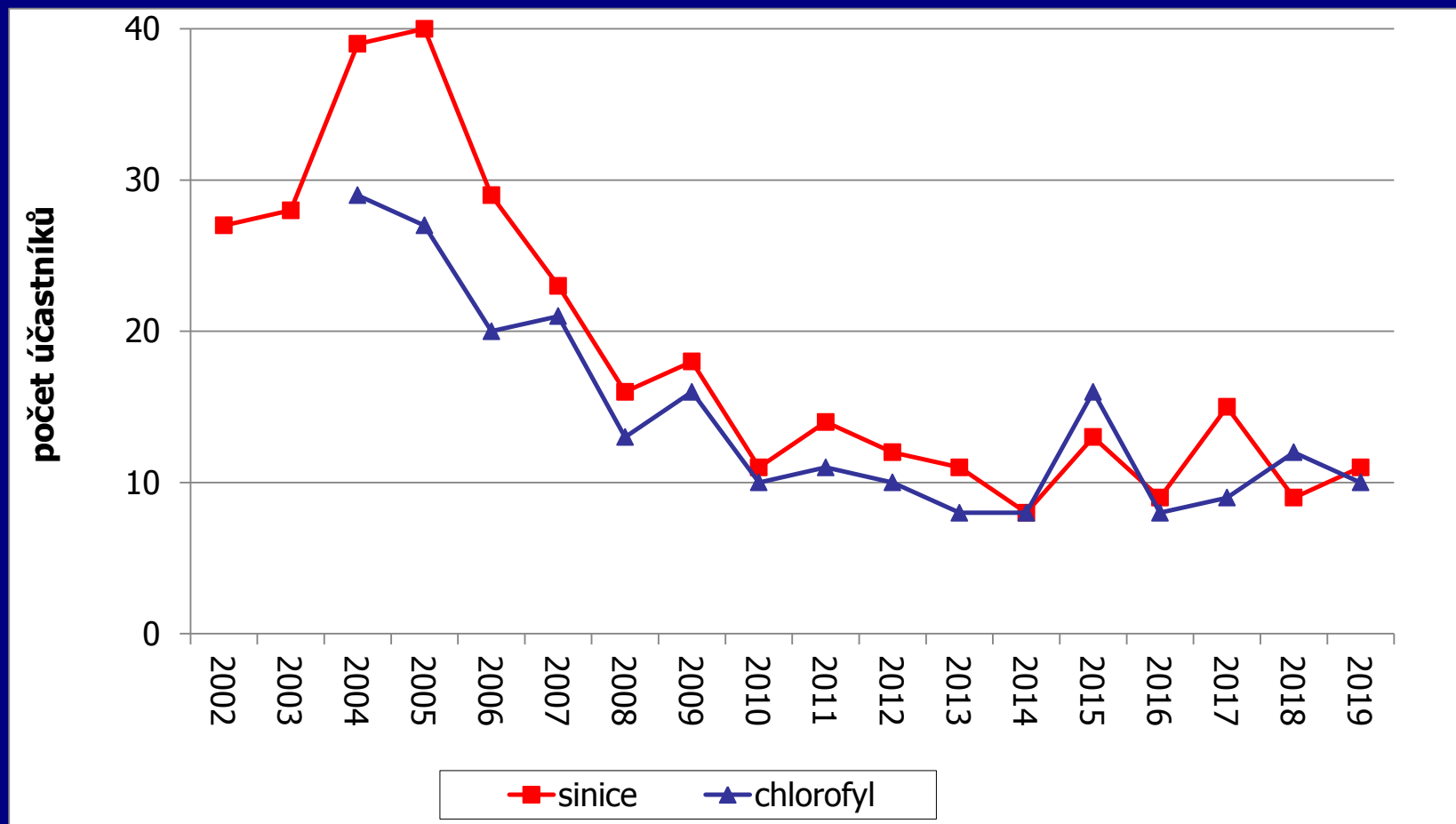
Adresa Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Šrobárova 48
Praha 10
PSČ 100 42
IČ 75010330
Kontakt Mgr. Petr Pumann
Pozice koordinátor programu
Telefon 267082220
Fax 267082271
E-mail ppumann@szu.cz
Internet <http://www.szu.cz/pzz-voda>

Účastník

Adresa [redacted]
[redacted]
[redacted]
PSČ [redacted]
IČ [redacted]
Kontakt [redacted]
Telefon [redacted]
E-mail [redacted]
Kód 1166

kód účastníka, pod kterým je veden v celé zprávě

Vývoj počtu účastníků programu (2002 - 2019)



Akce

➤ **Vodárenská biologie 2020**

– 6. – 7. února 2020, Praha, hotel Olympik

➤ **Kurzy pro začátečníky / sinice**

– SZÚ – podle dohody

➤ **Determinační kurz 2020**

– květen nebo červen 2020 (plán - Jeseník, resp. Lázně Lipová)

➤ **Lenka Supová (Šejnohová)**

– determinační semináře / kurzy

– Určování rozsivek s buněčným obsahem

- 9. - 11. 3. 2020, Hostětín

- 3999 Kč

- Lektoři - Rodan Geriš, Lenka Supová



Determinační kurz 2019 (Bítov)



Atlas sinic a řas ČR 1 - sinice, chloromonády, zlativky, Xanthophyceae, Eustigmatophyceae, Haptophyta, centrické rozsivky, penátní rozsivky

Atlas sinic a řas ČR 2 - skrytěnky, obrněnky, krásnoočka, glaukofyty, krásivky, parožnatky, zelené řasy *sensu lato*



<http://www.sinicearasy.cz/matlas>

Nové determinační knihy (zelené řasy, obrněnky)

Freshwater Flora of Central Europe, Vol 13: Chlorophyta:
Ulvophyceae (Süßwasserflora von Mitteleuropa, Bd. 13: Chlorophyta:
Ulvophyceae)

Škaloud, P., Rindi, F., Boedeker, C., Leliaert, F.

2018; 123 Euro

Süßwasserflora von Mitteleuropa, Vol 6 - Freshwater Flora of Central
Europe, Vol. 6: Dinophyceae

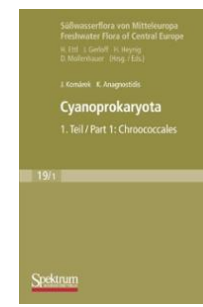
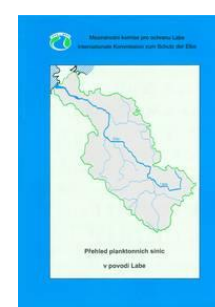
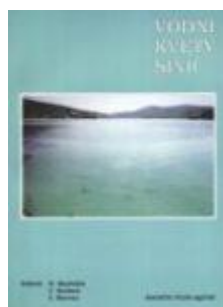
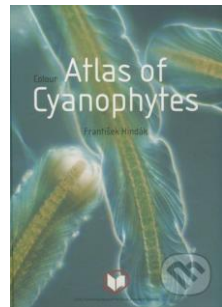
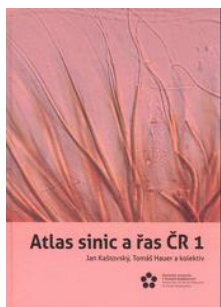
Reihe: Süßwasserflora von Mitteleuropa, Band 6

Moestrup, Øjvind, Calado, Antonio

2018; 90 Euro (e-pub), 120 Euro (tištěná verze)

Determinační literatura v laboratořích účastníků

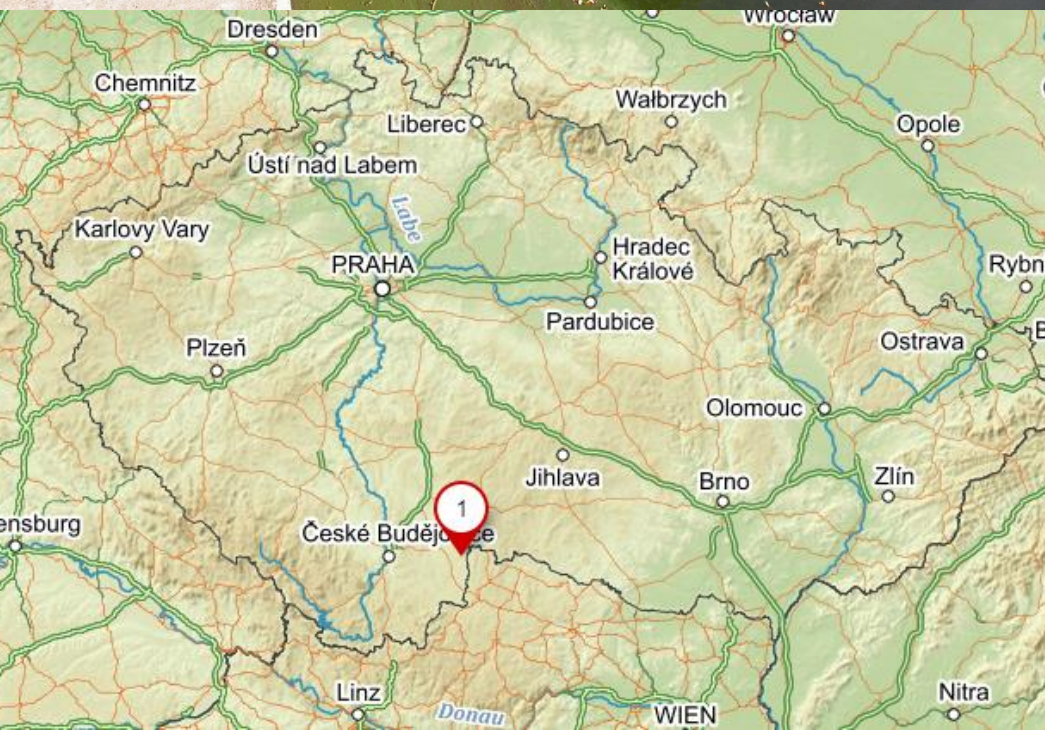
Publikace	1208	1221	1224	1281	1301	1333	1334	1336	1339	1344	Celkem
Komárek J. (1996)		X		X	X	X		X		X	6
Sládeček V., Sládečková A. (1996)	X					X	X	X	X	X	6
Hindák F. (2001)		X	X			X		X	X		5
Komárek J. (1999)	X	X		X	X						4
Šejnohová L. et al. (2005)			X			X			X	X	4
Hidnák F. (2008)	X			X	X						3
www.sinicearasy.cz			X			X			X		3
Kaštovský et al. (2019)		X	X				X				3
Komárek J., Anagnostidis K. (1999)		X			X						2
Komárek J., Anagnostidis K. (2005)		X			X						2
Komárek J., Zapomělová E. (2007)				X	X						2
Komárek J. (2013)		X			X						2
Komárek J., Zapomělová E. (2008)				X	X						2
Hindák F. et al. (1978)	X										1
John D.M. et al. (2005)					X						1
www.cyanodb.cz		X									1
Komárek J., Komárková J. (2002)					X						1
Joosten A.M.T. (2006)					X						1
Li R. et al. (2000)					X						1
Komárek J., Komárková J. (2006)					X						1
www.szu.cz			X								1
Česká algologická společnost			X								1



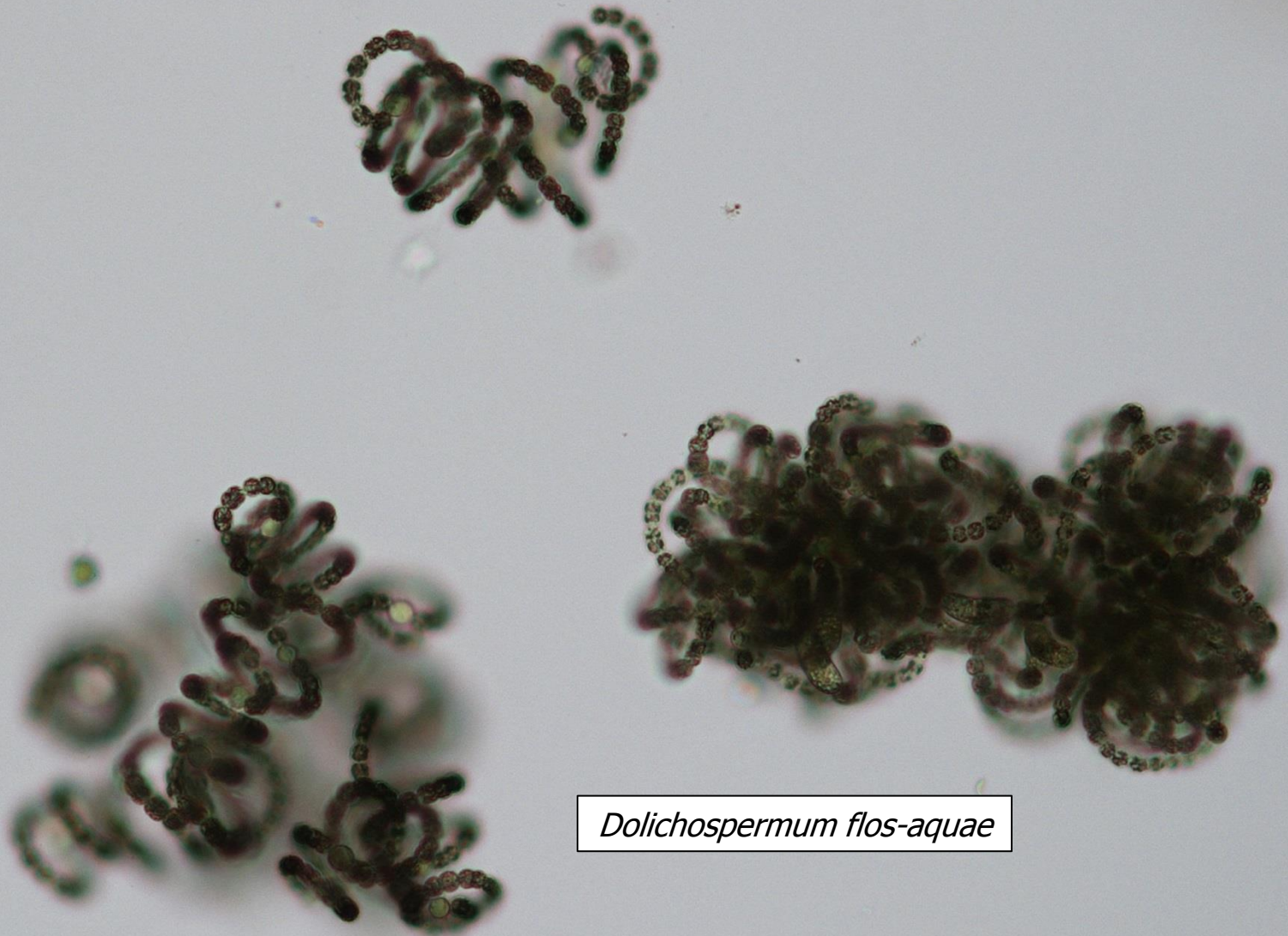
Kvalitativní rozbor sinic

Vzorek 2A

- Záhřebský rybník poblíž Chlumu u Třeboně
- 17. 9. 2019,
- vodní květ

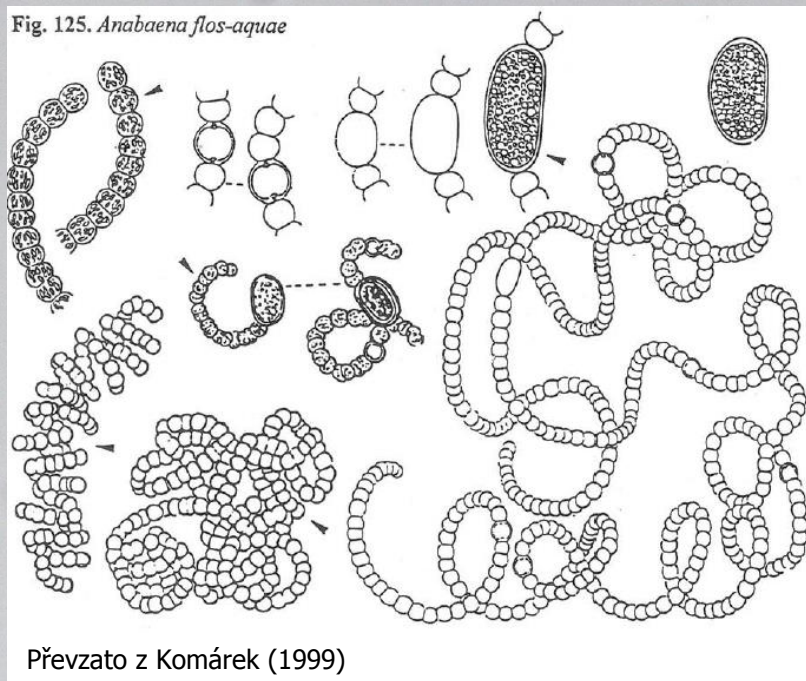


živý vzorek Záhřebského rybníku



Dolichospermum flos-aquae

Fig. 125. *Anabaena flos-aquae*

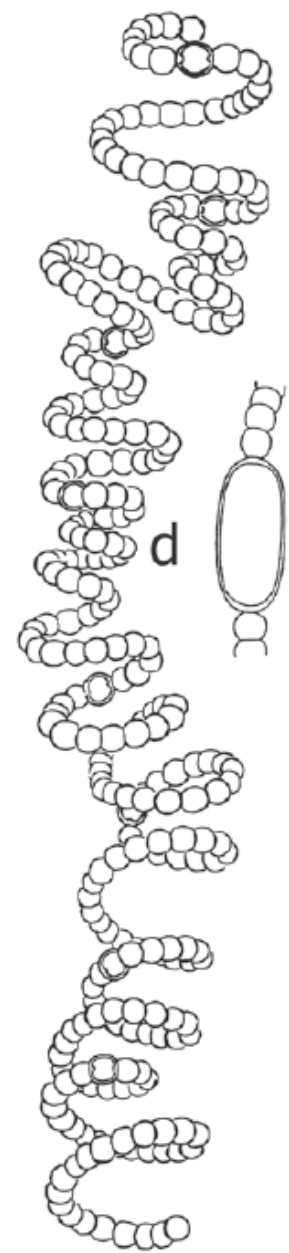


Převzato z Komárek (1999)



Dolichospermum flos-aquae

V publikaci chybí vyobrazení nepřehledně smotaného vlákna, které v ve vzorku 2A převládalo

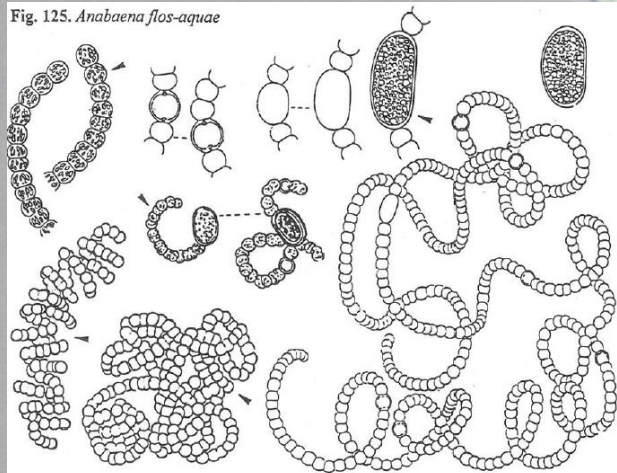


Převzato z Kaštovský et. al. (2018)



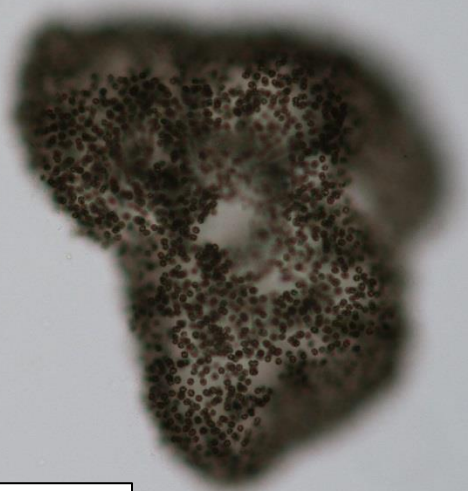
Dolichospermum flos-aquae

Fig. 125. *Anabaena flos-aquae*

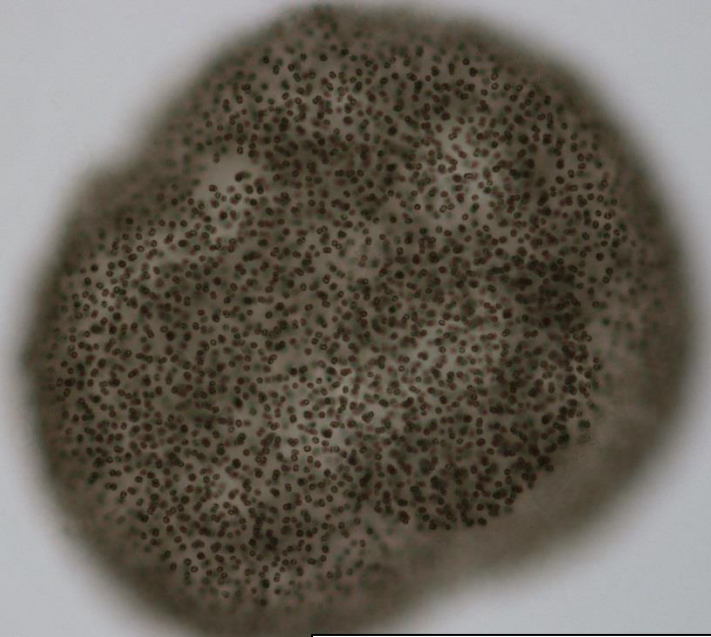


Převzato z Komárek (1999)

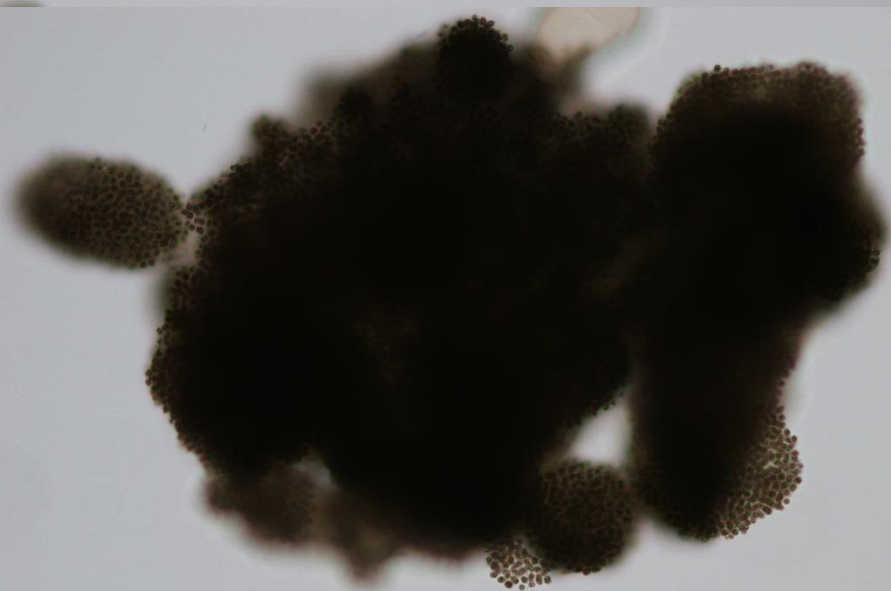
živý vzorek Záhřebského rybníku



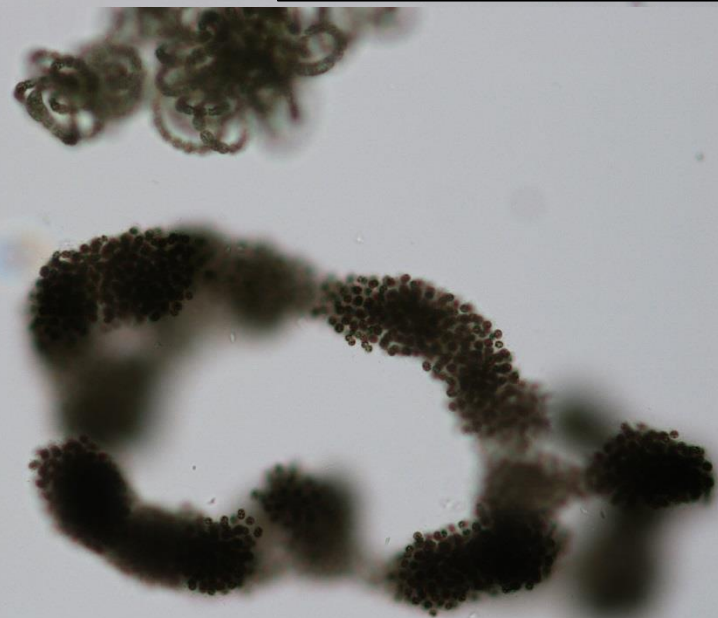
Microcystis cf. flos-aquae



Microcystis cf. flos-aquae

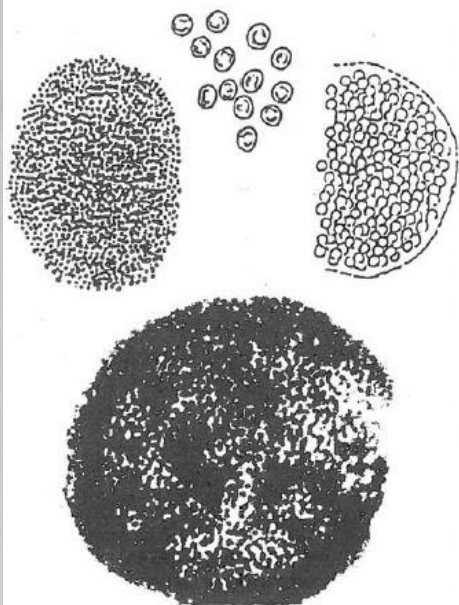


Microcystis cf. flos-aquae

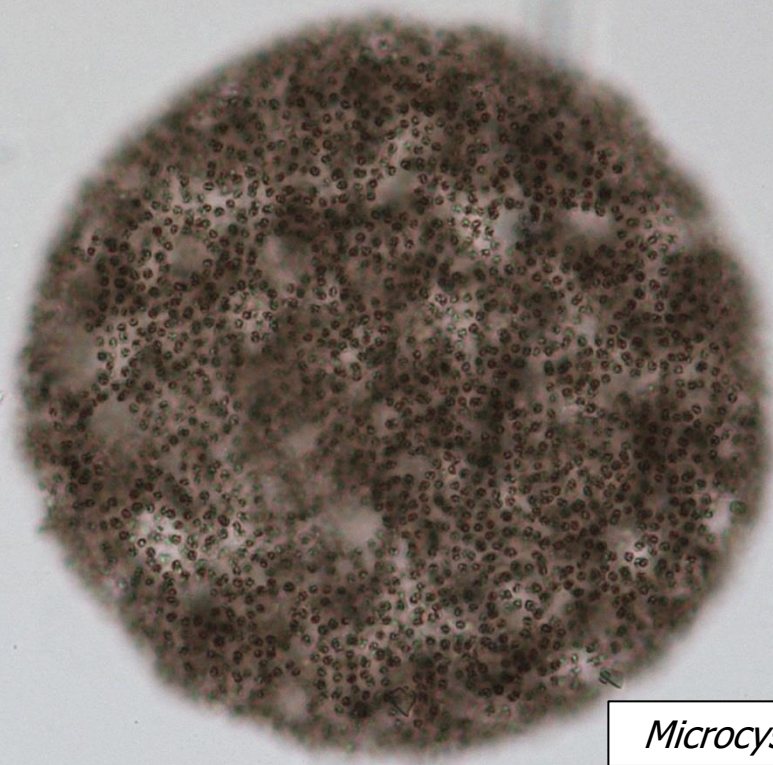


Microcystis aeruginosa

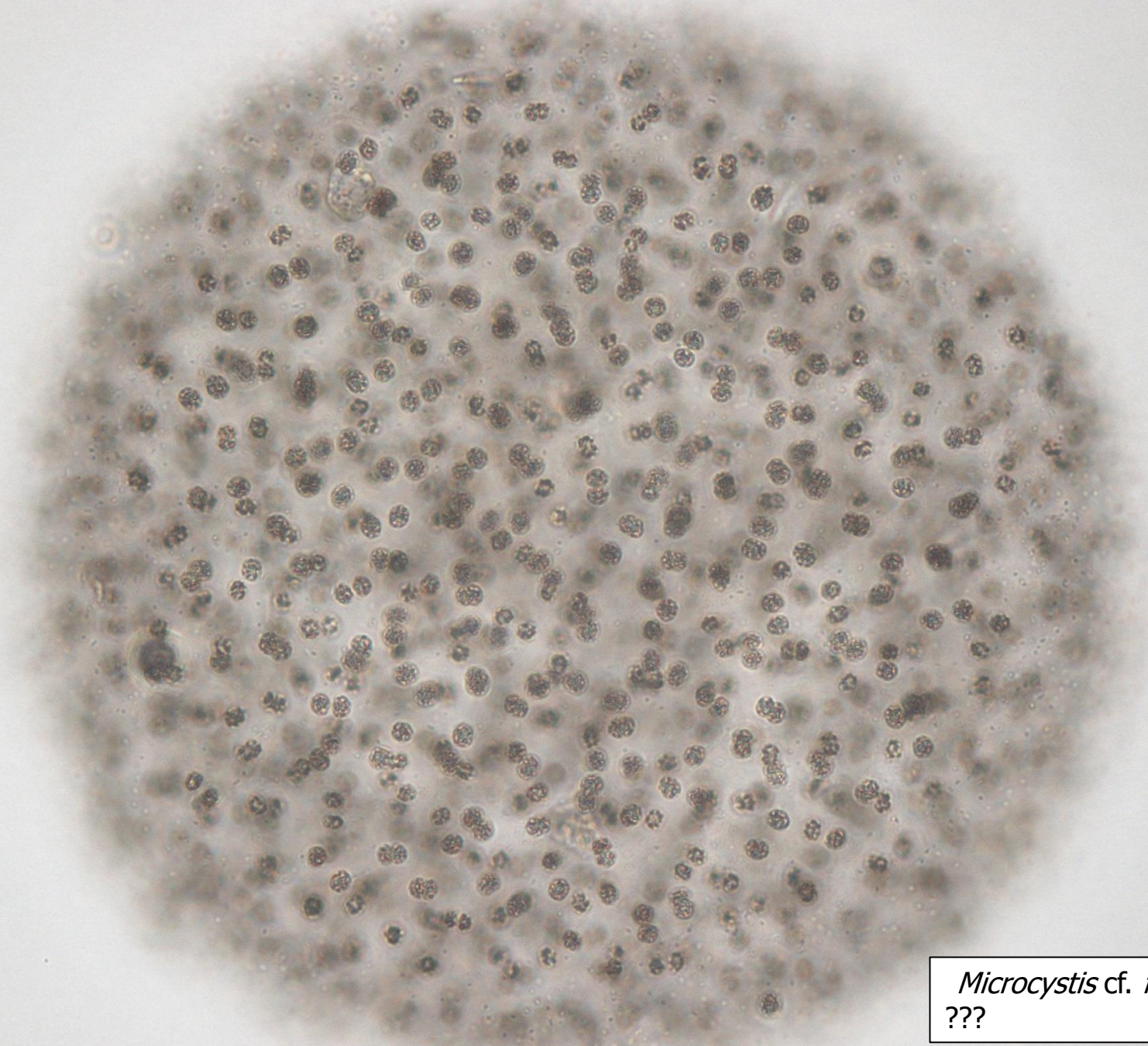
Fig. 91. *Microcystis flos-aquae*



Převzato z Komárek (1999)



Microcystis cf. flos-aquae



Microcystis cf. flos-aquae
???

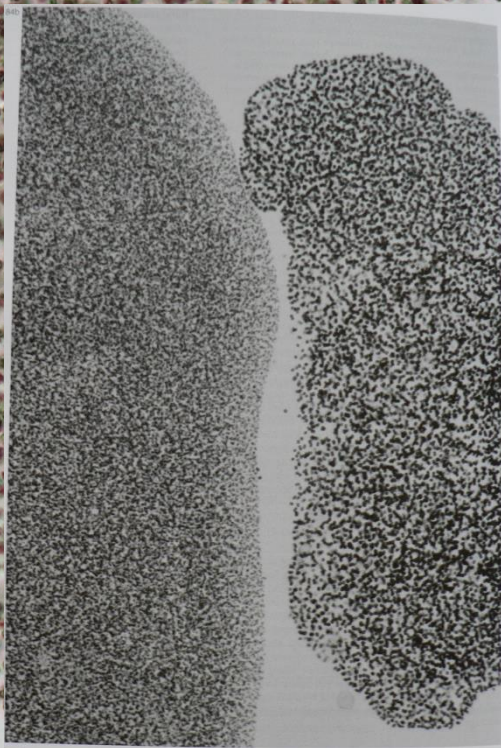


Fig. 84. *Microcystis flos-aquae* sensu J. Komárek. b. Two large colonies from the same sample as Fig. 84a ($\times 200$).

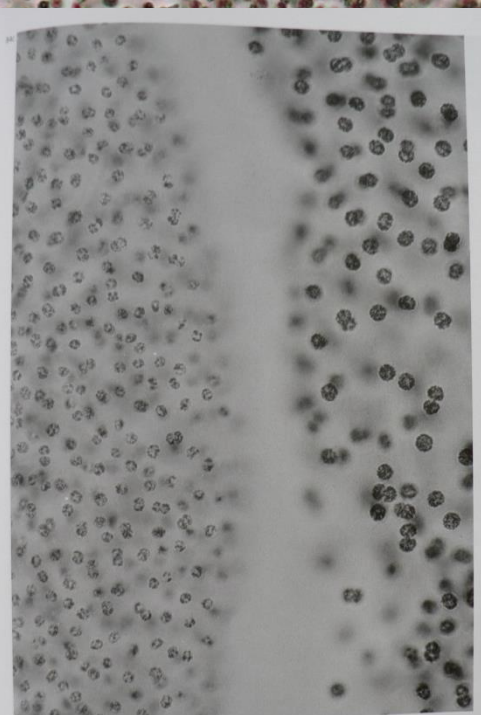


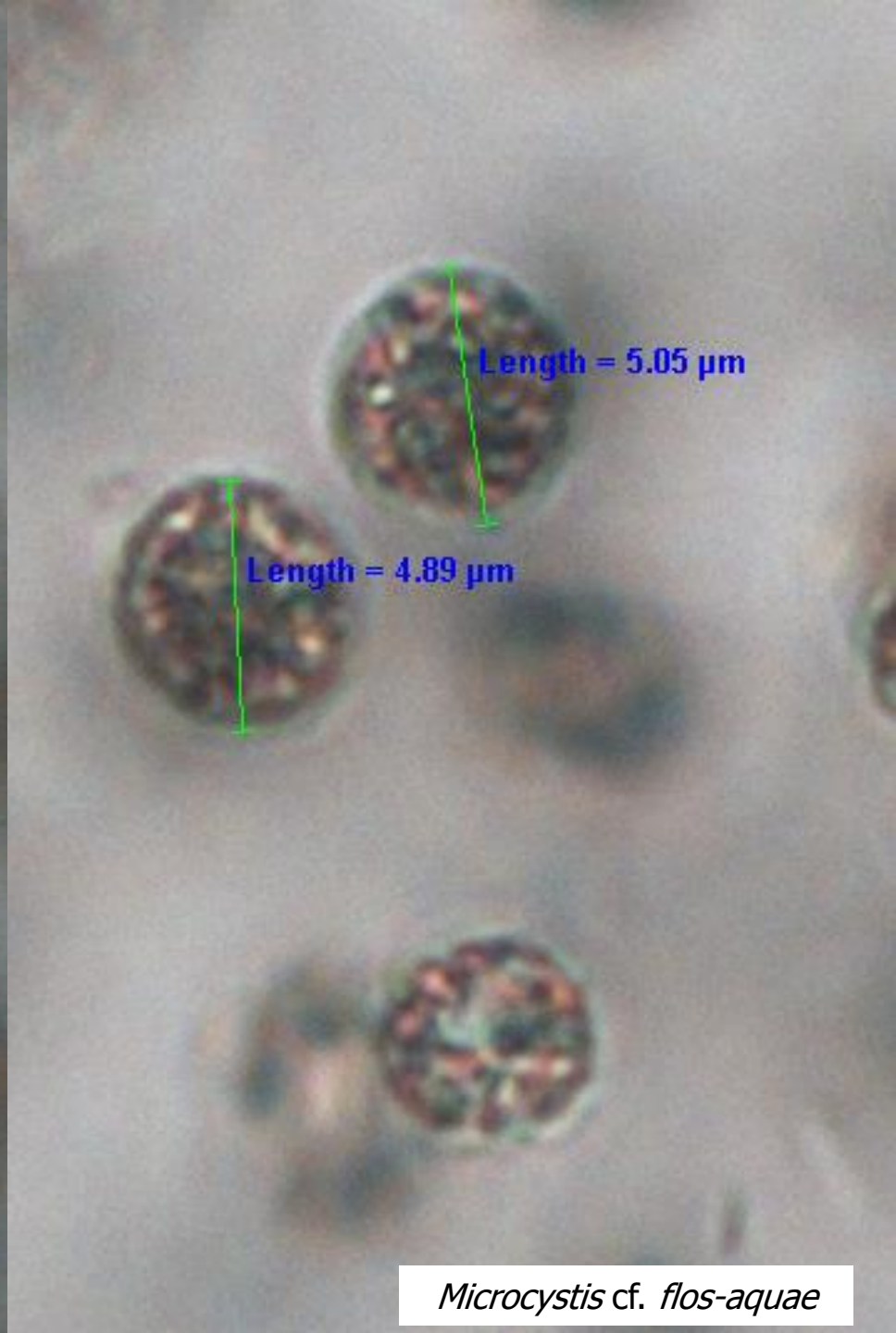
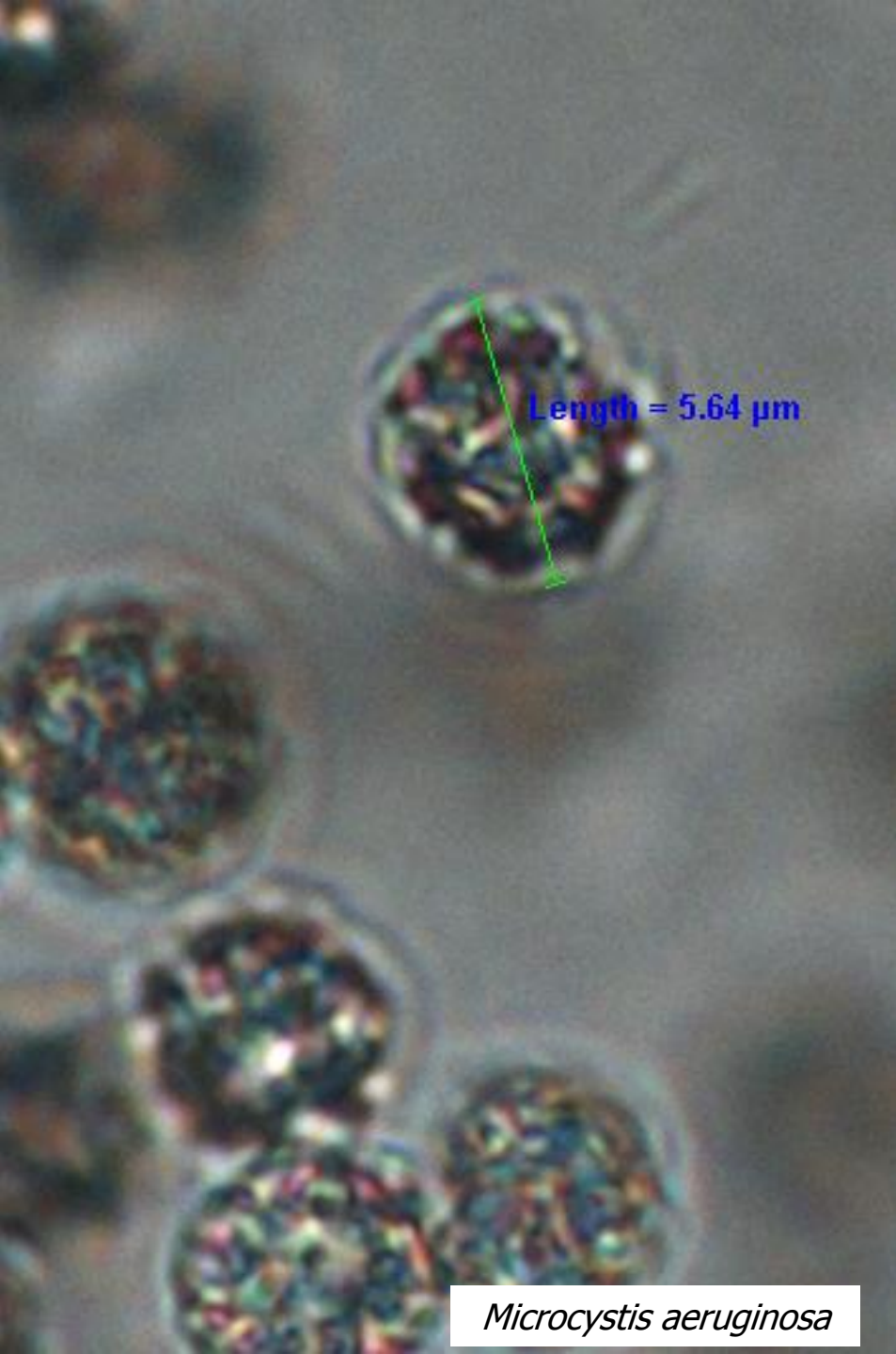
Fig. 84. *Microcystis flos-aquae* sensu J. Komárek. c. The same colonies as in Fig. 84a at higher magnification; notice striking difference in cell size ($\times 1000$).

M. flos-aquae, která se uložením buněk v kolonii velmi podobá té, ze vzorku 2A (převzato z publikace Joosten 2006).

Microcystis cf. *flos-aquae*



Microcystis aeruginosa



Taxon	1208	1221	1224	1281	1301	1333	1334	1336	1339	1344	SZÚ
<i>Dolichospermum flos-aquae</i>		83	75	73	95						64
<i>Dolichospermum cf. flos-aquae</i>	70					65	90		68	87	
<i>Dolichospermum sp.</i>			+					60			
<i>Microcystis aeruginosa</i>	12	17	20	10	5	20	3	15	25	12	+
<i>Microcystis botrys</i>			+								
<i>Microcystis flos-aquae</i>			5				2				
<i>Microcystis cf. flos-aquae</i>	10			4				25		1	36
<i>Microcystis ichthyoblabe</i>					+						
<i>Microcystis cf. novacekii</i>	8										
<i>Microcystis sp.</i>				12		15	5		7		
Oscillatoriales				1							
<i>Pseudanabaena mucicola</i>					P						
<i>Dolichospermum flos-aquae</i>											
počet bodů	4	5	5	5	5	4	4	3	4	4	
úspěšnost	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
sporný výsledek											
<i>Microcystis sp.</i>											
počet bodů	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
úspěšnost	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
sporný výsledek											

SZU - Státní zdravotní ústav

Vzorek 2B

- Písník Mělice
- 3. 9. 2019
- planktonní síť 20 μm



Poznámka 1221

„2B determinovat rod Dolichospermum bez akinet a při hraničních rozměrech buněk je velmi těžké, ne-li nemožné“

SZU: Dáváme účastníkovi za pravdu, naštěstí se to netýká vzorku 2B - akinety přítomny 😊

akinetety přítomny jen u malé části vláken, ale určitě je bylo možné najít



Fig. 117.

Anabaena solitaria



Fig. 118.

Anabaena macrospora

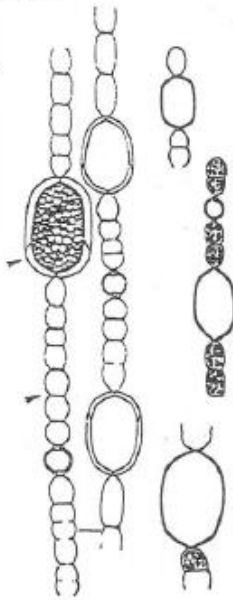


Fig. 120. *Anabaena smithii*

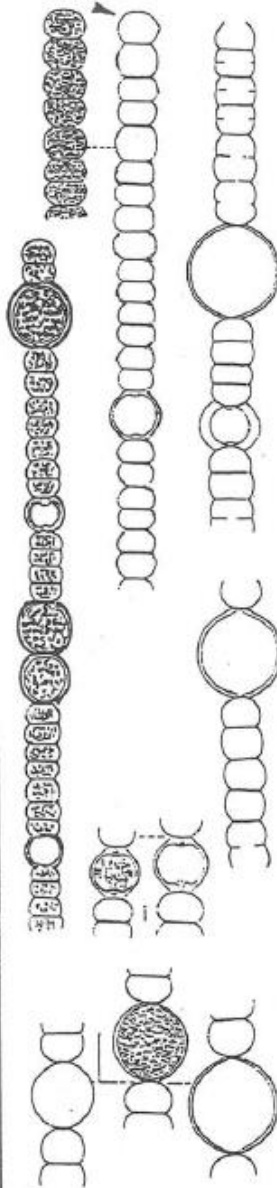
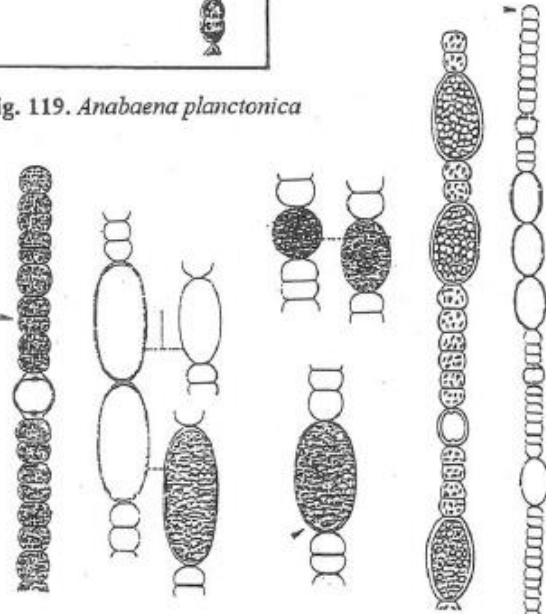


Fig. 119. *Anabaena planctonica*



Dolichospermum macrosporum

Length = 7.27 μm

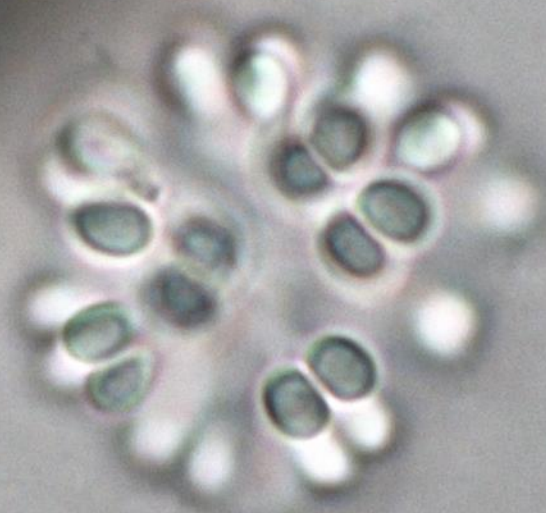
Length = 13.79 μm

Length = 19.97 μm

*Planktolyngbya
limnetica*

Neznáme tenké vláknité
sinice; u objektu vpravo se
možná ani nejedná o sinici





Snowella lacustris

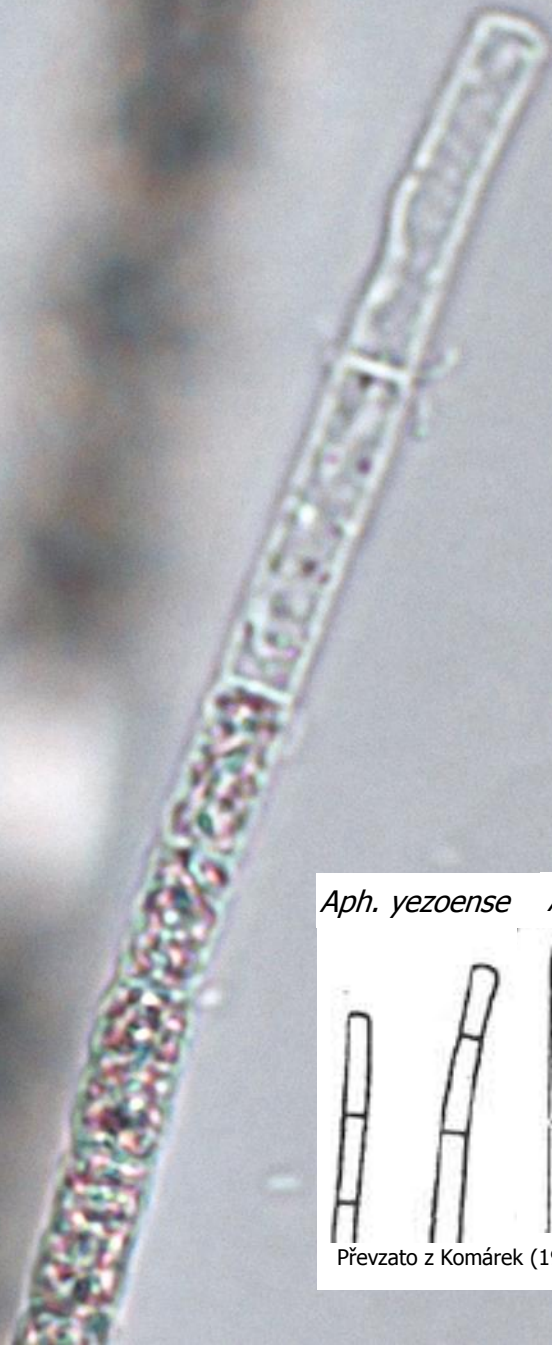


Snowella lacustris
v rozpadlé kolonii jsou
dobře viditelné stopky

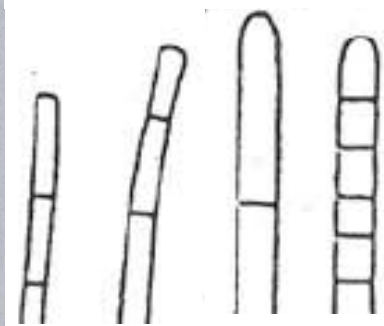
Planktothrix agardhii



Aphanizomenon cf. *yezoense*



Aph. yezoense *Aph. flos-aquae*



Převzato z Komárek (1999)

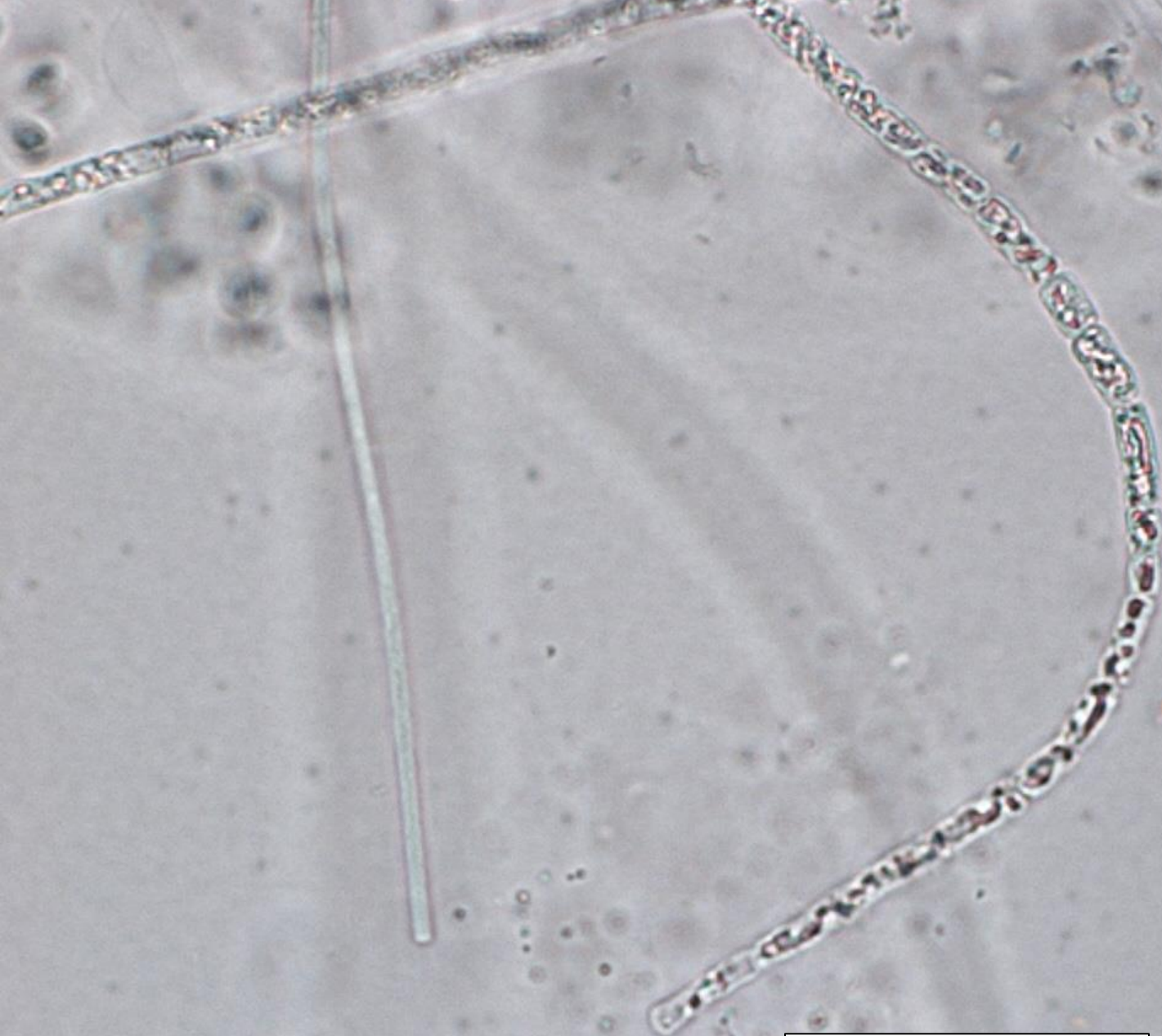
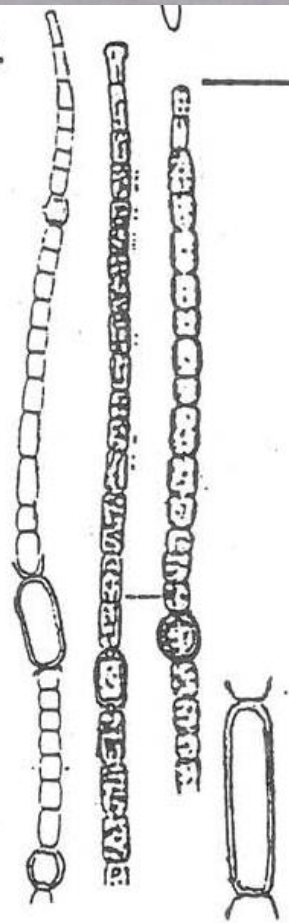


Fig. 106.

Aphanizomenon gracile



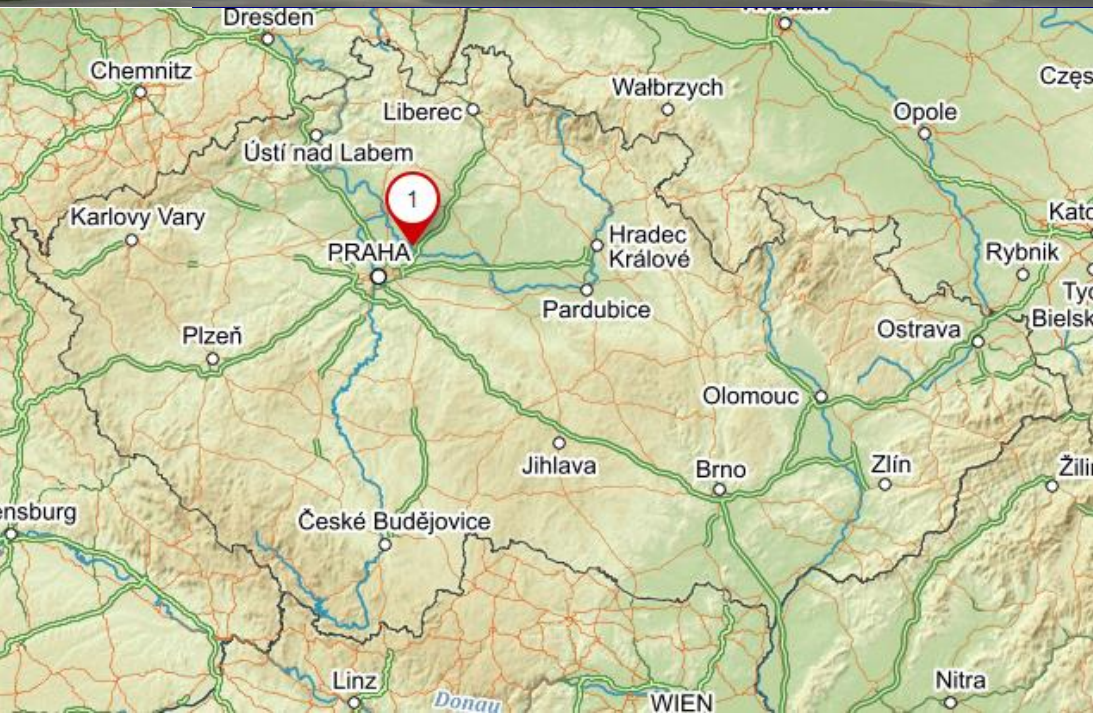
Převzato z Komárek (1999)

Aphanizomenon gracile

Taxon	1208	1221	1224	1281	1301	1333	1334	1336	1339	1344	SZÚ
<i>Aphanizomenon cf. gracile</i>											+
<i>Aphanizomenon cf. vezoense</i>	8										4
<i>Aphanizomenon sp.</i>			3		2		+	5	+		
<i>Aphanocapsa sp.</i>					+						
<i>Coelomonon sp.</i>						5		+			
<i>Cuspidothrix issatschenkoi</i>		+		1	2						+
<i>Cuspidothrix cf. issatschenkoi</i>										+	
<i>Cyanodictyon sp.</i>											+
<i>Dolichospermum cf. affine</i>	32										
<i>Dolichospermum macrosporum</i>											60
<i>Dolichospermum cf. macrosporum</i>				58							
<i>Dolichospermum planctonicum</i>			55								
<i>Dolichospermum cf. planctonicum</i>		59			47						
<i>Dolichospermum cf. smithii</i>							43			51	
<i>Dolichospermum lemmermannii</i>					1						
<i>Dolichospermum sp.</i>		+				60		65	63		
<i>Dolichospermum sp. (kroucené vlákno)</i>				+							1
<i>Chroococcus sp.</i>	2		+	+	1		+			+	1
<i>Limnococcus limneticus</i>		+									
<i>Merismopedia sp.</i>			+								
<i>Microcystis aeruginosa</i>				1							
<i>Microcystis wesenbergii</i>	+			+							+
<i>Microcystis sp.</i>						5		+	+		+
<i>Microcystis spp.</i>					+						
Oscillatoriales				4							
<i>Planktolyngbya limnetica</i>		21	35								13
<i>Planktolyngbya limnetica ?</i>				18							
<i>Planktolyngbya cf. limnetica</i>					22						
<i>Planktolyngbya sp.</i>	25						30			30	
<i>Planktothrix agardhii</i>		18	3	16	6						11
<i>Planktothrix cf. agardhii</i>							18			9	
<i>Planktothrix sp.</i>						15		5	15		
<i>Pseudanabaena mucicola</i>				P							
<i>Pseudanabaena sp.</i>	2	+	4	1	+						
<i>Snowella lacustris</i>		2			16						6
<i>Snowella sp.</i>	30		+	1			9			10	
tenké vláknité sinice						15		25	20		3
<i>Woronichinia naegeliana</i>	1	+	+	+	2		+			+	1
<i>Woronichinia sp.</i>						+		+	1		
<i>Dolichospermum macrosporum</i>											
počet bodů	3	3	3	4	3	3	3	3	3	3	
úspěšnost	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
sporný výsledek											
<i>Planktolyngbya limnetica</i>											
počet bodů	3	5	5	4	4	2	3	2	2	3	
úspěšnost	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
sporný výsledek											

Vzorek 2C

- v písňík Očko u Staré Boleslavi
- 7. 8. 2019
- žlutý zákal (jílové podloží)
- planktonní síť 20 μm



Planktothrix agardhii





Cylindrospermopsis raciborskii

This image shows two diatoms, which are single-celled algae with silica cell walls. The upper diatom, *Cylindrospermopsis raciborskii*, is a long, cylindrical cell with a distinct central longitudinal groove and numerous small, dark, circular granules (likely cyanobacteria) attached to its surface. The lower diatom, *Limnothrix*, is a similar cylindrical cell but appears more slender and has a smoother surface with fewer granules. Both cells are oriented diagonally across the frame.

Limnothrix

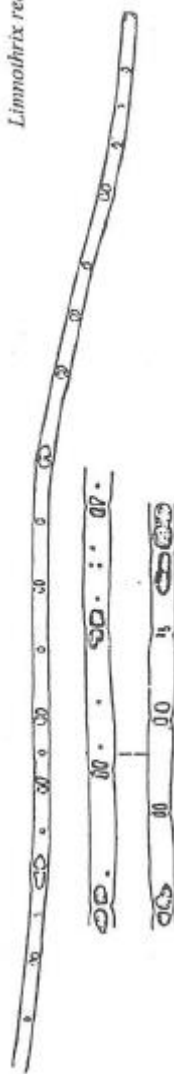


Limnothrix



Fig. 80.

Limnothrix redékel

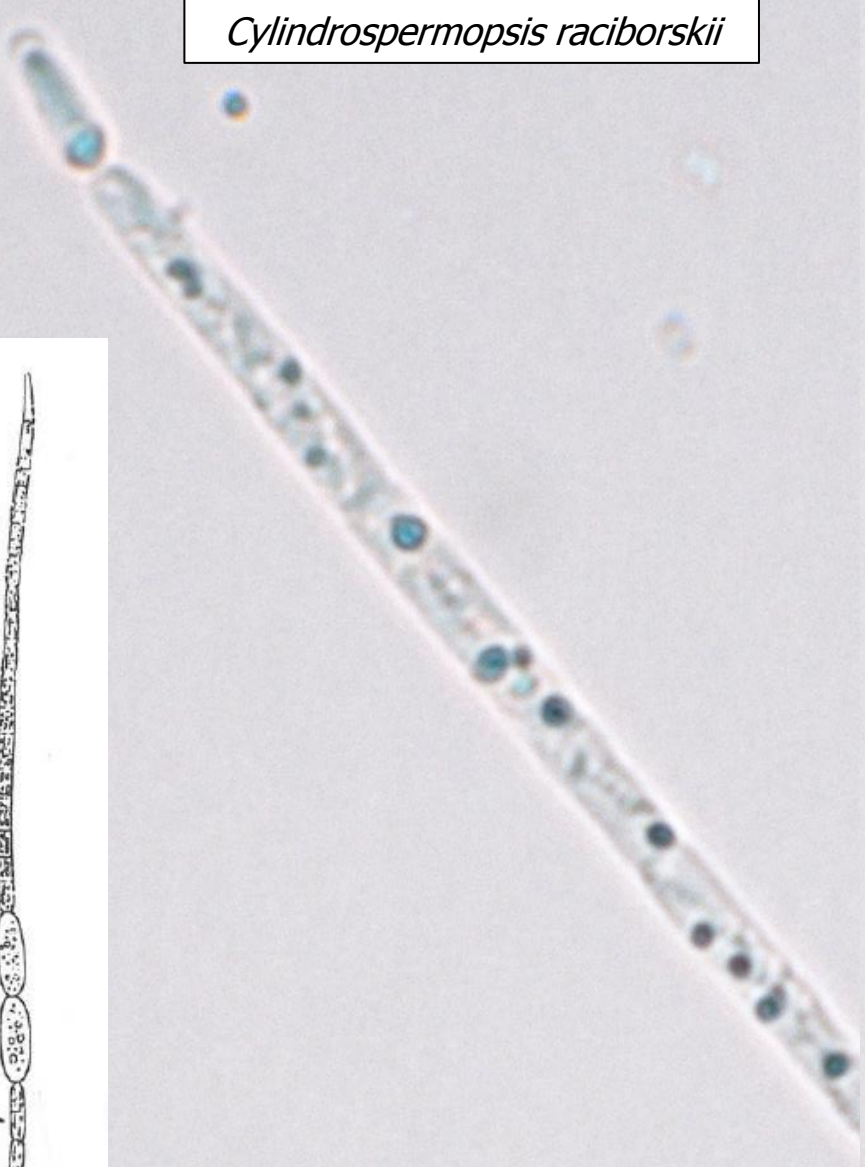
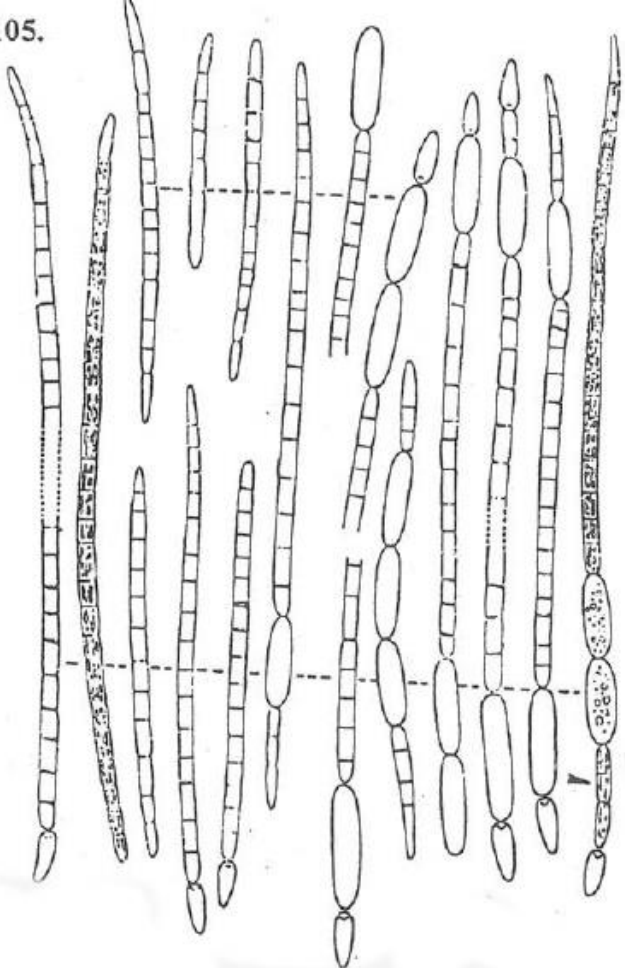


Převzato z
Komárek
(1999)

Cylindrospermopsis raciborskii

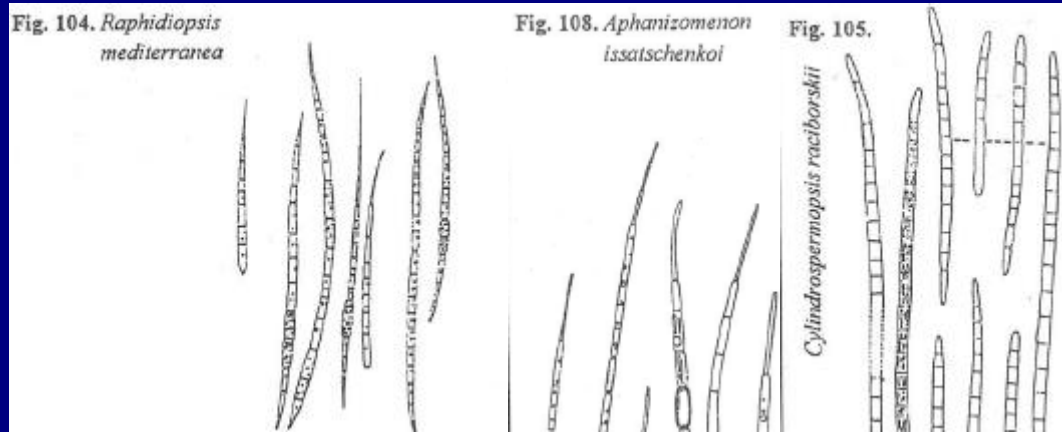
Fig. 105.

Cylindrospermopsis raciborskii



Diskuze o určení

- **Poznámka 1301:** "Cylindrospermopsis cf. raciborskii" – v populaci chybí vlákna s akinetami - podobnost se sterilními populacemi rodu *Raphidiopsis* a *Cuspidothrix* (viz. *Susswasserflora...*, 3/3, 2013).
- **SZÚ:** Přítomnost typických terminálních heterocytů - *C. raciborskii*, u vláken bez heterocytů je morfologie koncových buněk u *C. raciborskii* a obou zmíněných taxonů mírně odlišná.

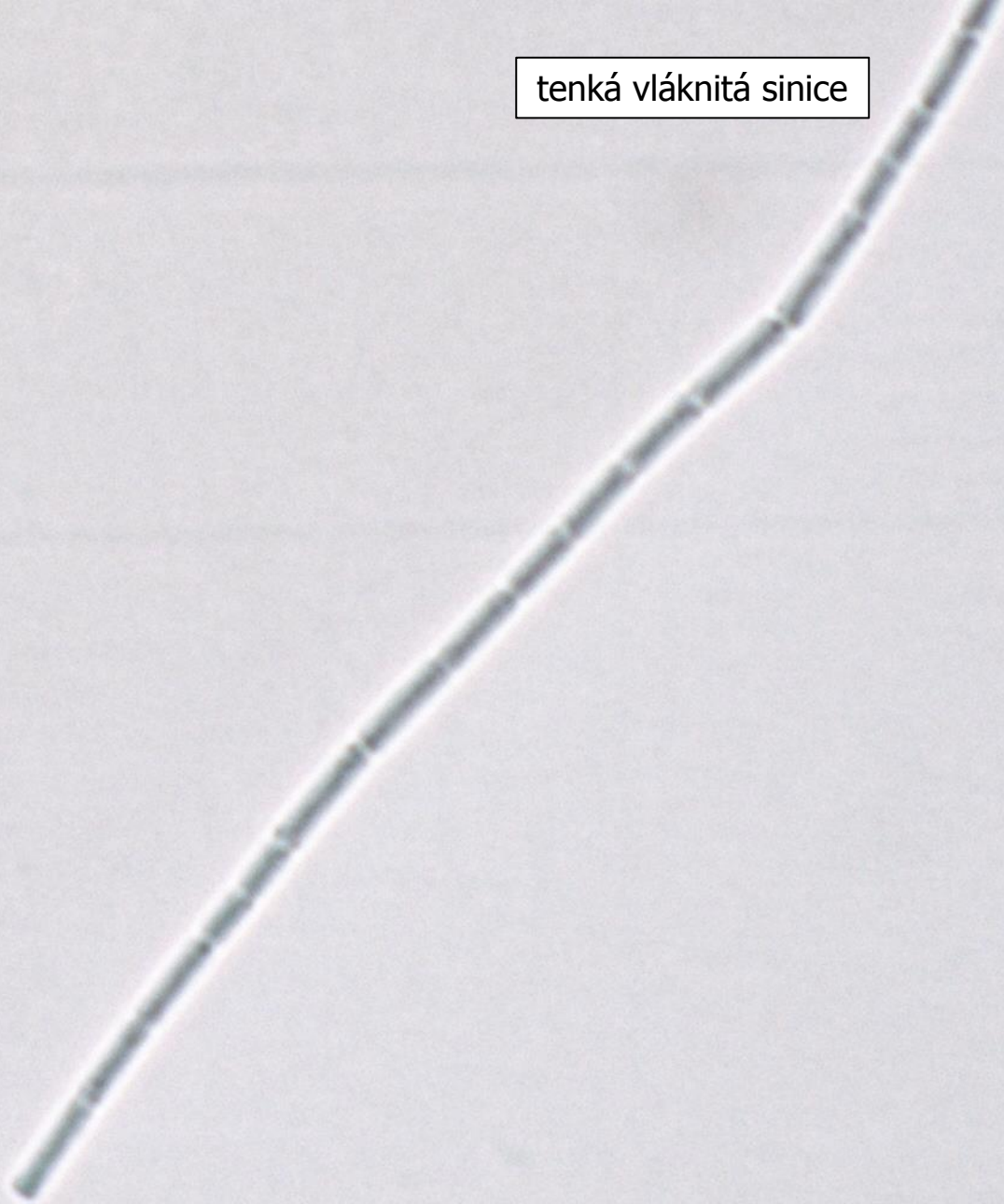


Převzato z Komárek (1999)

Chrysochloris bergii



tenká vláknitá sinice



Taxon	1208	1221	1224	1281	1301	1333	1334	1336	1339	1344	SZÚ
<i>Aphanizomenon</i> sp.	40					5	50	6	5	+	
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>		11		21							25
<i>Cylindrospermopsis</i> cf. <i>raciborskii</i>					18						
<i>Chroococcus</i> sp.	+										
<i>Chrysochlorum bergii</i>		+		+							1
cf. <i>Chrysochlorum</i> sp.					1						
<i>Limnothrix redekei</i>		43	50	37		60					
<i>Limnothrix</i> cf. <i>redekei</i>	60				38		50			59	28
<i>Limnothrix</i> sp.								62	30		
Oscillatoriales		+		+							
<i>Planktolyngbya limnetica</i>		+									
<i>Planktolyngbya</i> sp.							+				
<i>Planktolyngbya</i> spp.					10						
<i>Planktothrix agardhii</i>		46	50	42	33						37
<i>Planktothrix</i> cf. <i>agardhii</i>										18	
<i>Planktothrix</i> sp.						30		24	40		
<i>Pseudanabaena</i> sp.		+									
tenká oscilatoriální sinice			+				+			23	8
tenké vláknité sinice						5		8	25		
<i>Planktothrix agardhii</i>											
počet bodů	0	5	5	5	5	3	0	3	3	4	
úspěšnost	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	
sporný výsledek											
<i>Limnothrix</i> sp.											
počet bodů	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
úspěšnost	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
sporný výsledek											
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>											
počet bodů	0	5	0	5	4	0	0	0	0	0	
úspěšnost	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	
sporný výsledek											

SZÚ - Státní zdravotní ústav

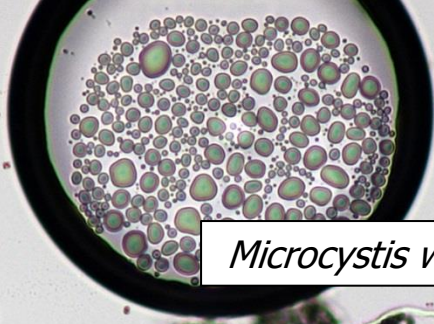


Vzorek 2D

- Ovčáry
- 26. 9. 2019
- vodní květ

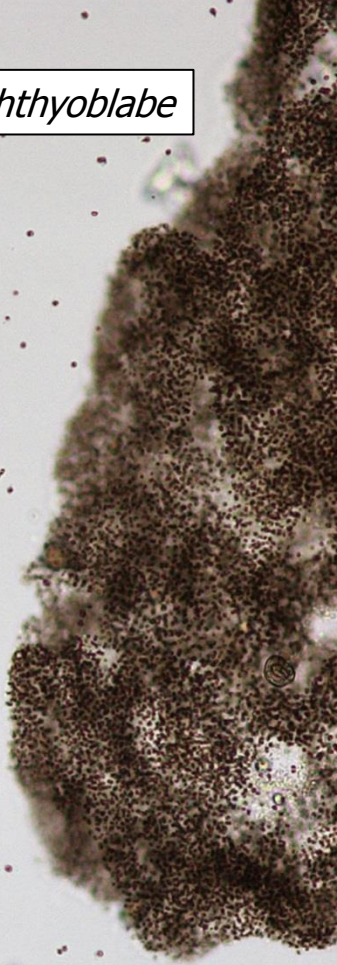
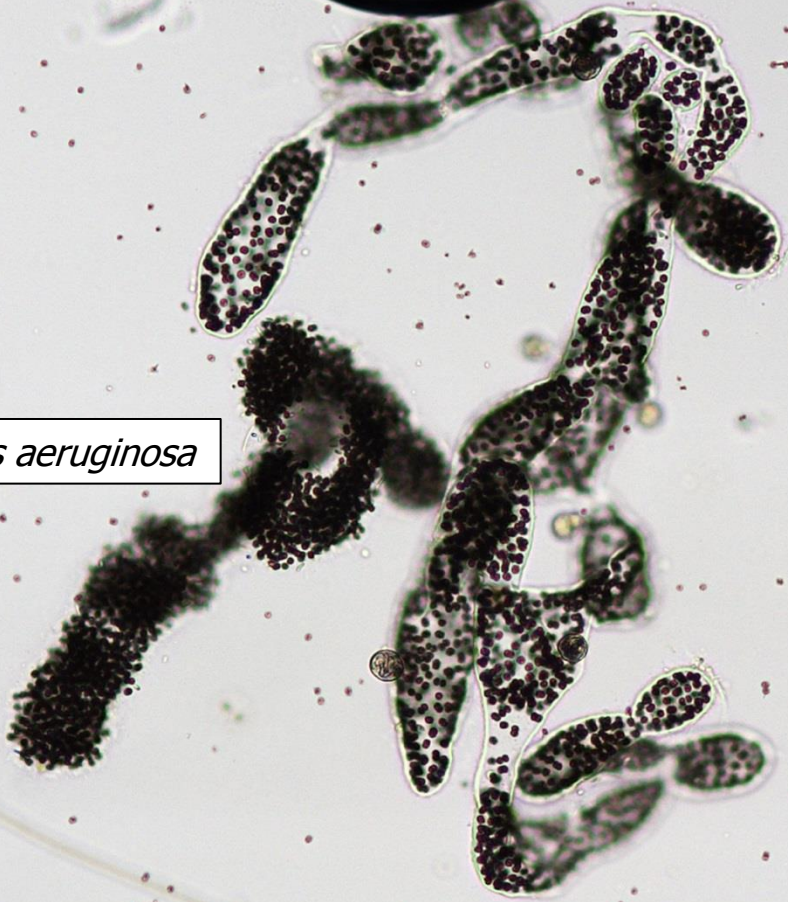


Microcystis ichthyoblabe



Microcystis wesenbergii

Microcystis aeruginosa



Microcystis ichthyoblabe

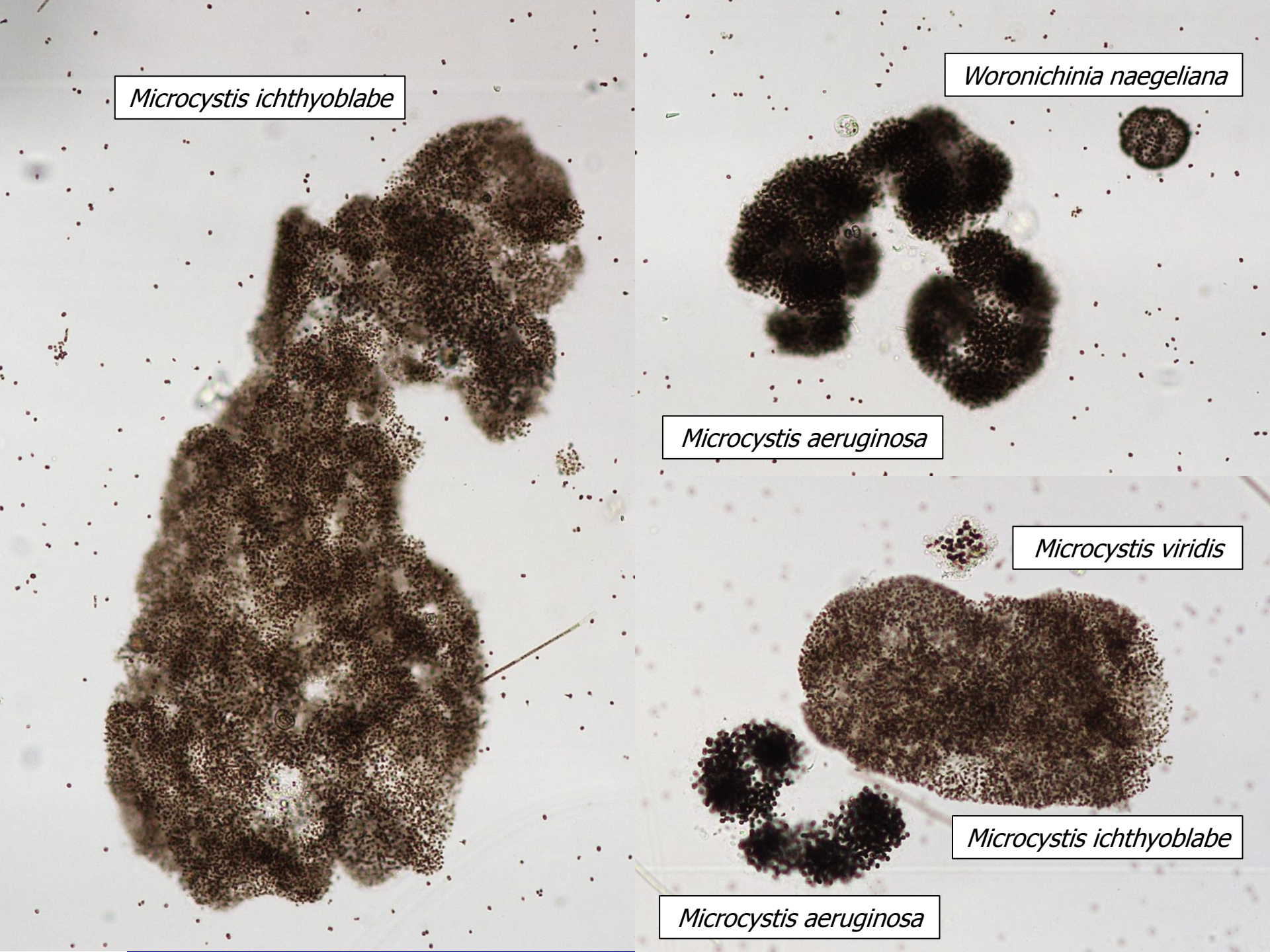
Woronichinia naegeliana

Microcystis aeruginosa

Microcystis viridis

Microcystis ichthyoblabe

Microcystis aeruginosa



Microcystis ichthyoblabe

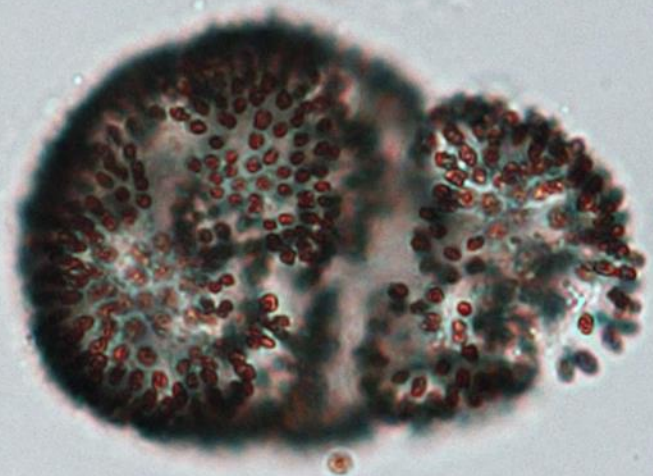
This image shows four distinct Microcystis species. *Microcystis aeruginosa* is a large, dense, dark brown spherical colony at the top left. *Microcystis viridis* is a smaller, elongated, dark brown colony in the center. *Microcystis wesenbergii* is a small, dark brown spherical colony at the bottom center. *Microcystis ichthyoblabe* is a very large, dense, light brown spherical colony on the right side. Several individual cells are scattered throughout the field of view.

Microcystis aeruginosa

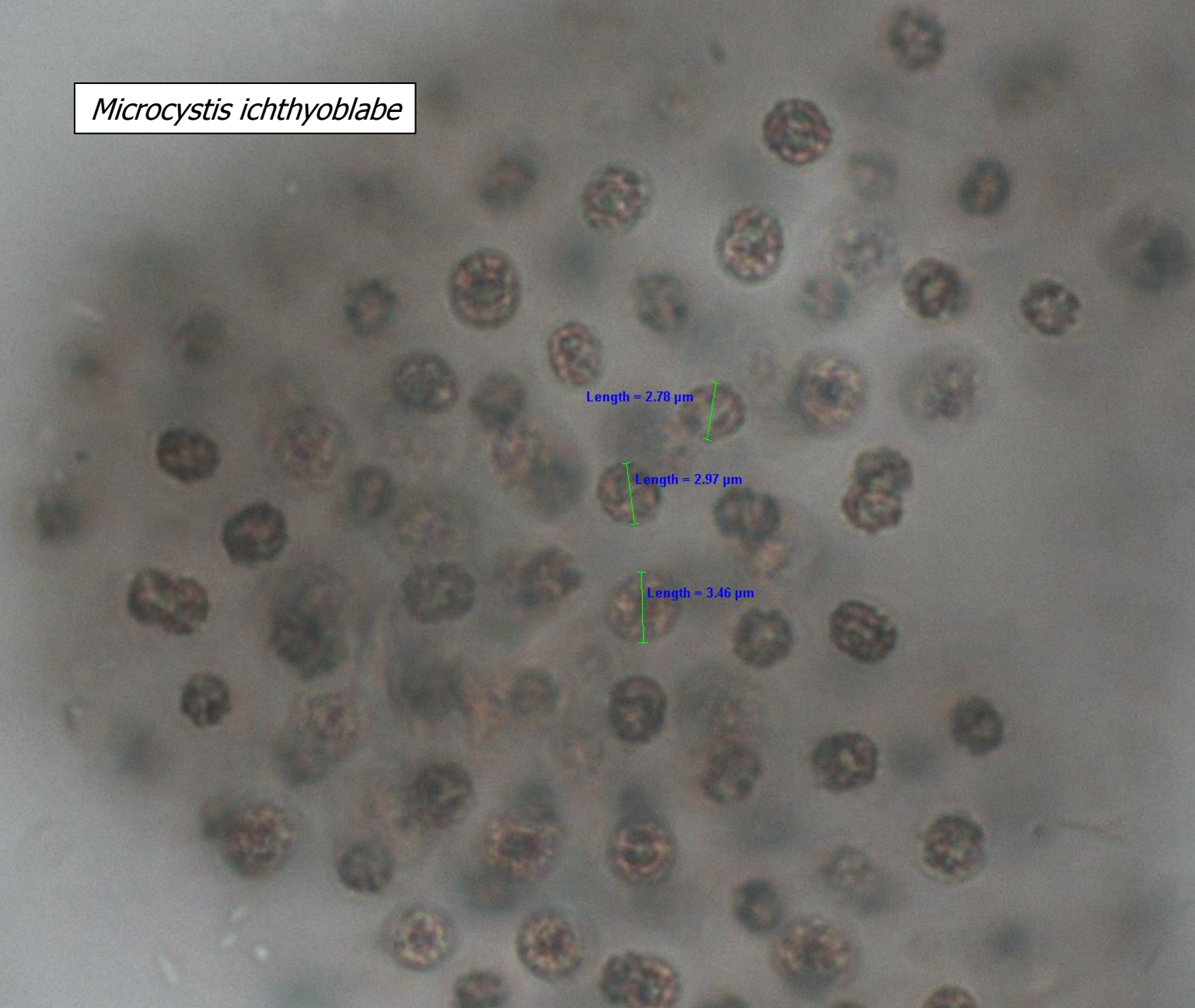
Microcystis viridis

Microcystis wesenbergii

Woronichinia naegeliana



Microcystis ichthyoblabe



Length = 2.78 μm

Length = 2.97 μm

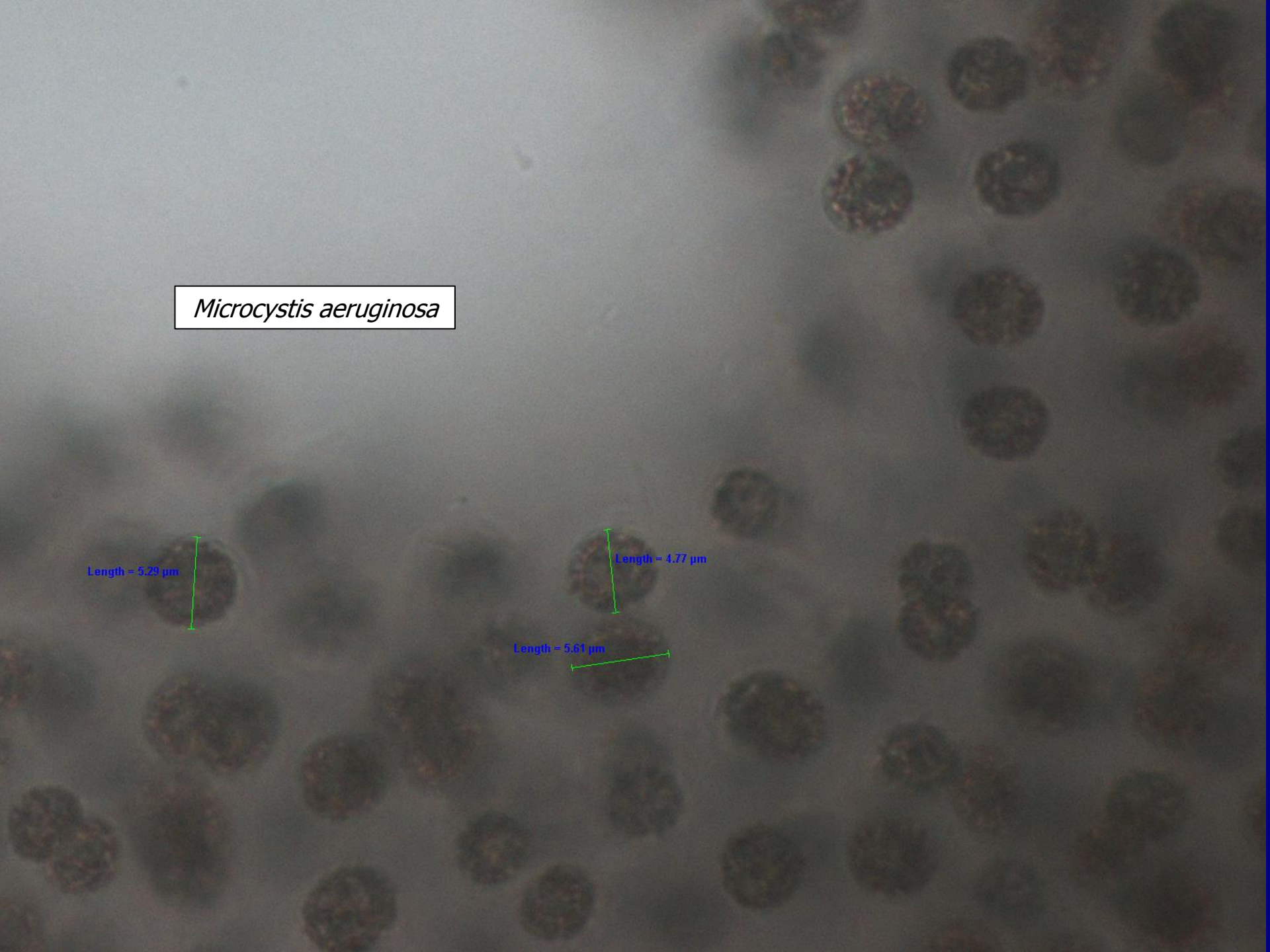
Length = 3.46 μm

Microcystis aeruginosa

Length = 5.29 μm

Length = 4.77 μm

Length = 5.61 μm



Planktothrix rubescens



Planktothrix agardhii



**Destrukce
aerotopů**

**živý vzorek
*P. rubescens***

**živý vzorek
*P. agardhii***

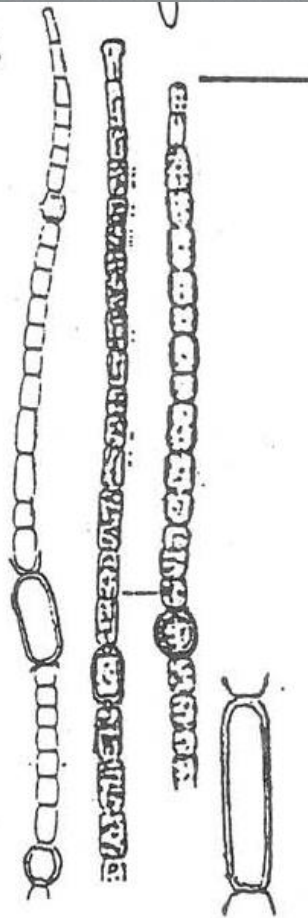


Aphanizomenon gracile



Fig. 106.

Aphanizomenon gracile



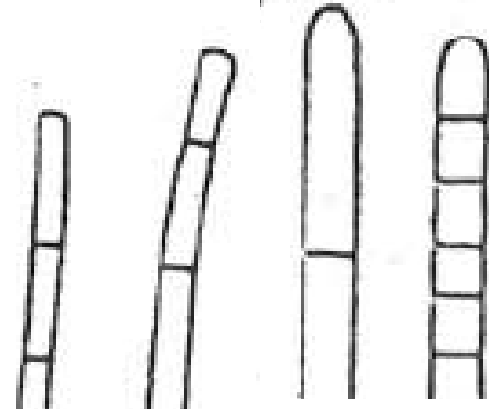
Převzato z Komárek (1999)

Aphanizomenon cf. *yezoense*



Aph. yezoense

Aph. flos-aquae



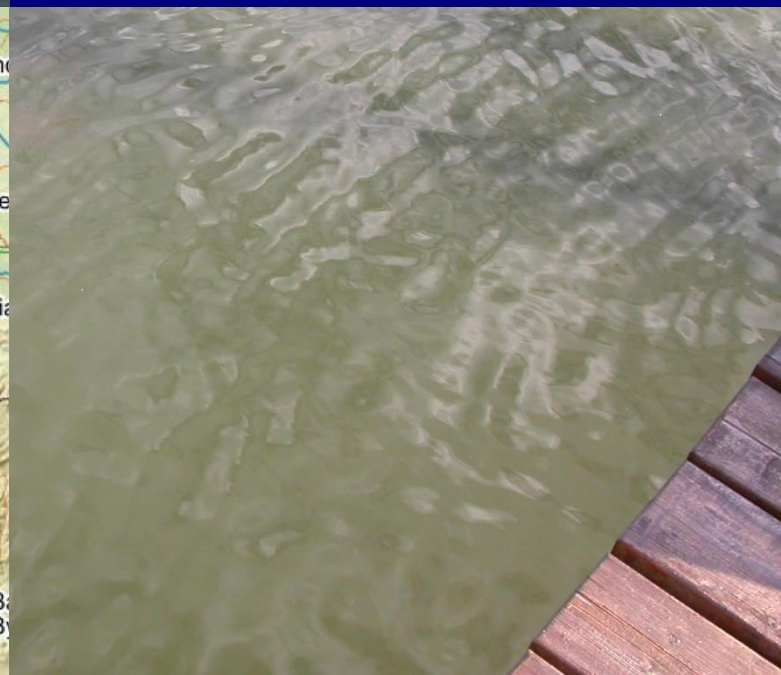
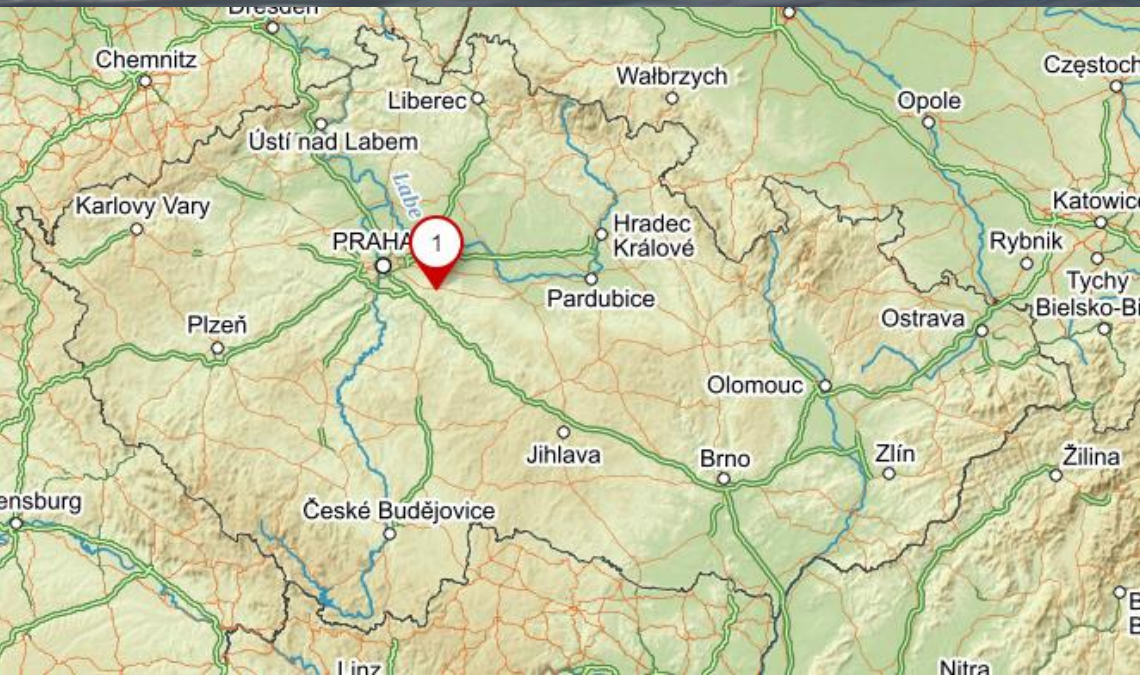
Převzato z Komárek (1999)

Taxon	1208	1221	1224	1281	1301	1333	1334	1336	1339	1344	SZÚ
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>		11									
<i>Aphanizomenon cf. flos-aquae</i>					15						
<i>Aphanizomenon cf. yezoense</i>	45										3
<i>cf. Aphanizomenon gracile</i>					11						
<i>Aphanizomenon gracile</i>			20								11
<i>Aphanizomenon sp.</i>				9		+	29	+			
<i>Microcystis aeruginosa</i>		16	10	30	12	35	27	35	40	9	12
<i>Microcystis cf. aeruginosa</i>	10										
<i>Microcystis botrys</i>			+								
<i>Microcystis flos-aquae</i>			5				13		25		
<i>Microcystis cf. flos-aquae</i>	15			13		25		35		5	
<i>Microcystis ichthyoblabe</i>		20	20		14						39
<i>Microcystis novacekii</i>			+		6						
<i>Microcystis viridis</i>	+		+	2	4	10		+	5		1
<i>Microcystis wesenbergii</i>	10	+	5	13	2	15	10	15	20	6	3
<i>Microcystis sp.</i>				10			16			+	
<i>Planktothrix agardhii</i>		53	20	13		5					25
<i>Planktothrix cf. agardhii</i>					32		2			69	
<i>Planktothrix cf. isothrix</i>				7							
<i>Planktothrix rubescens</i>			15								5
<i>Planktothrix sp.</i>	10							5	5		
<i>Pseudanabaena mucicola</i>					P						P
<i>Snowella sp.</i>	+										
<i>Woronichinia naegeliana</i>	10	+	5	3	4		3			11	2
<i>Woronichinia sp.</i>						10		10	5		
<i>Microcystis aeruginosa</i>											
body	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
úspěšnost	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
sporný výsledek											
<i>Microcystis ichthyoblabe</i>											
body	3	5	5	3	5	3	3	3	3	3	
úspěšnost	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
sporný výsledek											
<i>Planktothrix agardhii</i> (+ <i>P. rubescens</i>)											
body	3	5	5	5	4	5	4	3	3	4	
úspěšnost	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
sporný výsledek	?						?				

SZÚ - Státní zdravotní ústav

Vzorek 1A

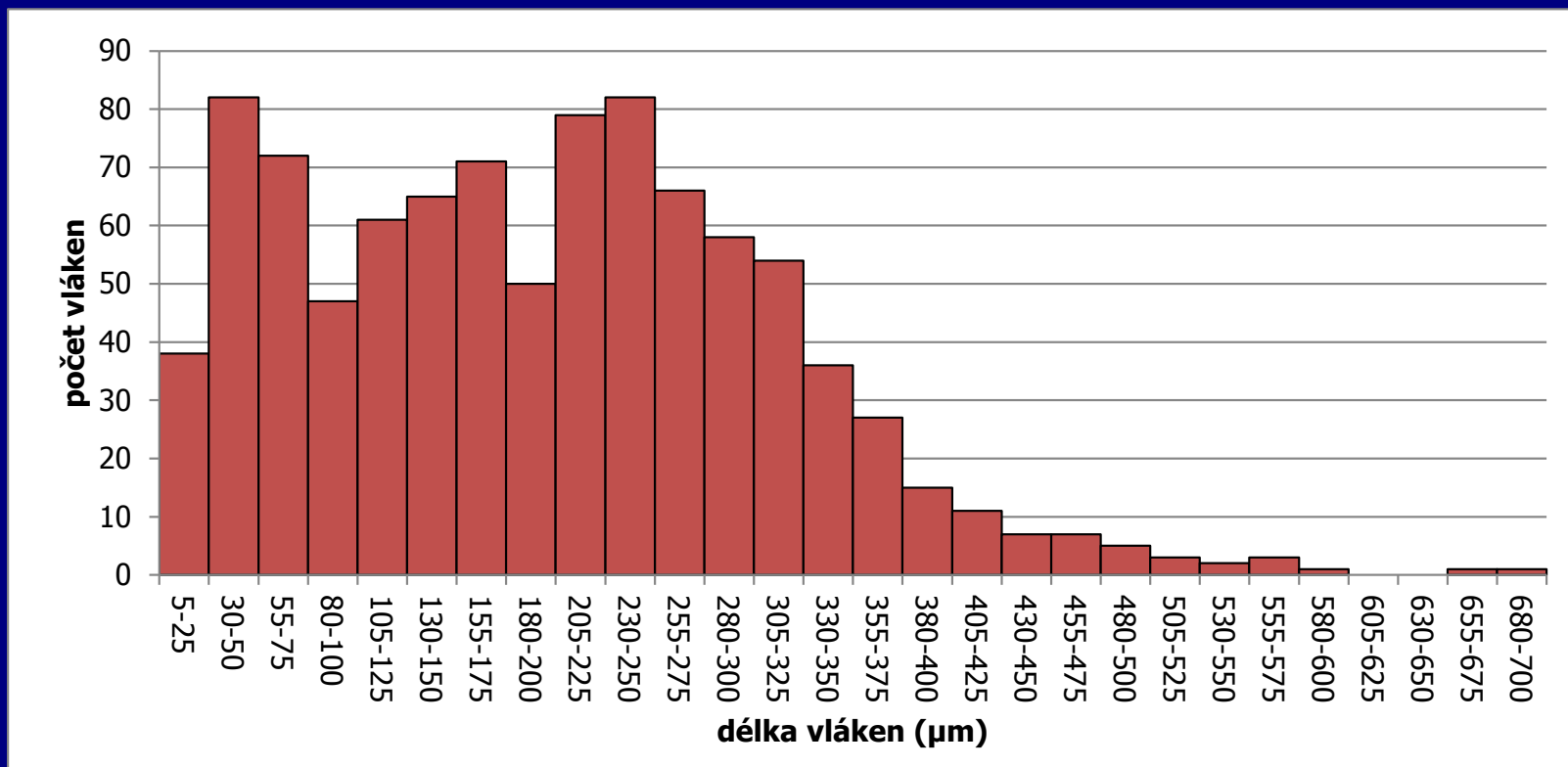
- rybník Vyžlovka
- 7. 10. 2019
- v laboratoři filtrováno přes gázu



Planktothrix agardhii

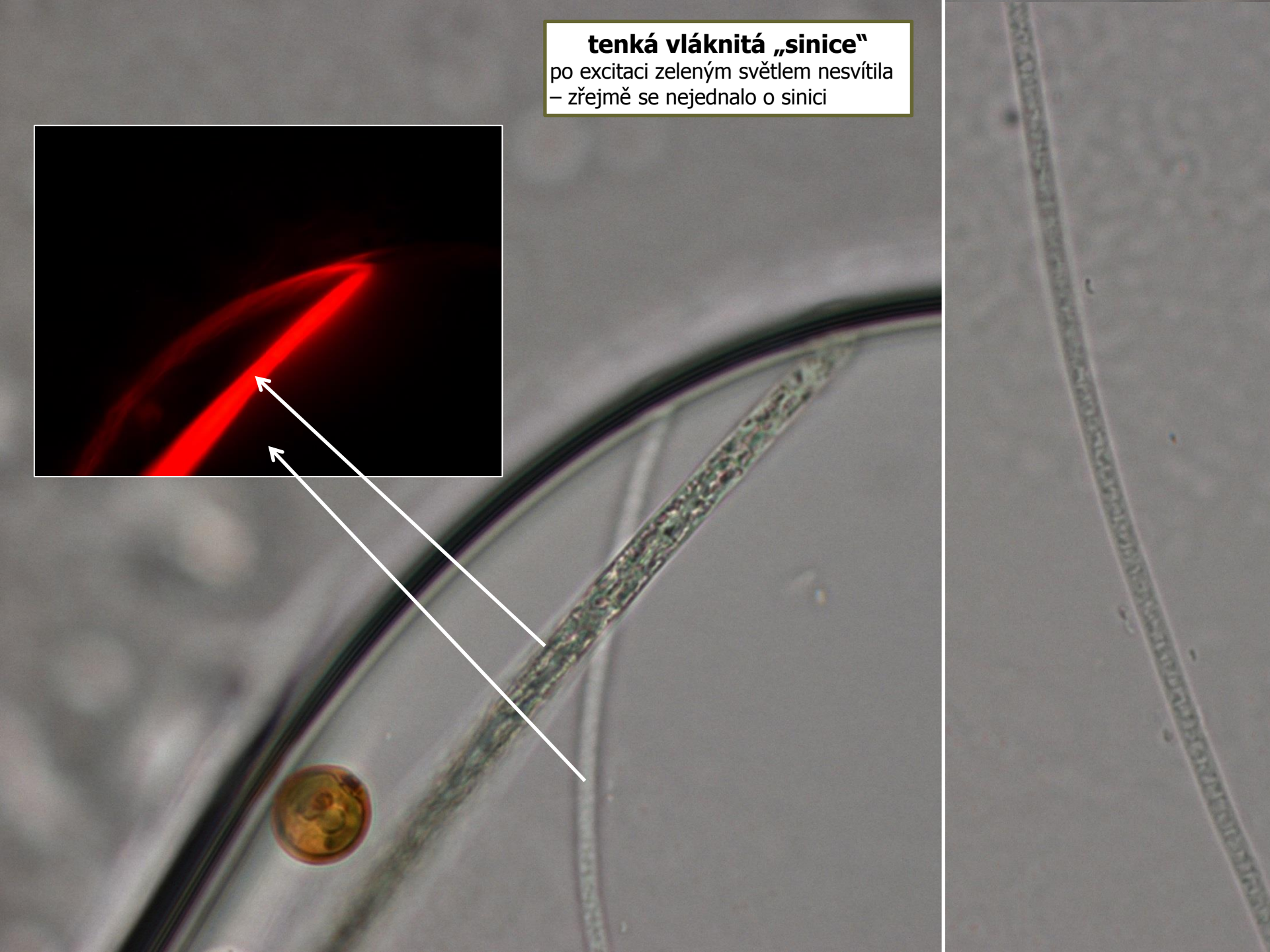
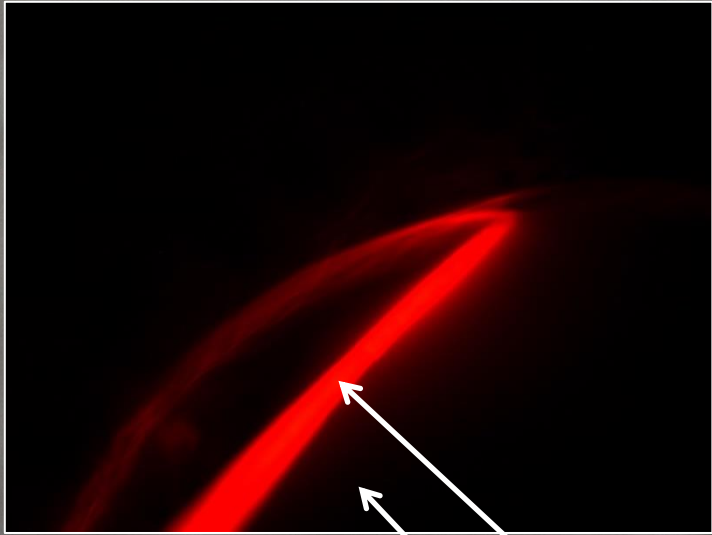


Distribuce délky vláken u *Planktothrix agardhii* ve vzorku 1A (výsledky SZÚ). V atlasech se uvádí jako nejvyšší délka vláken 300 μm , ve vzorku 1A překračovalo tuto délku zhruba 18 % vláken.



tenká vláknitá „sinice“

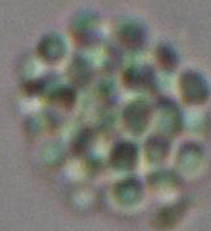
po excitaci zeleným světlem nesvítila
– zřejmě se nejednalo o sinici

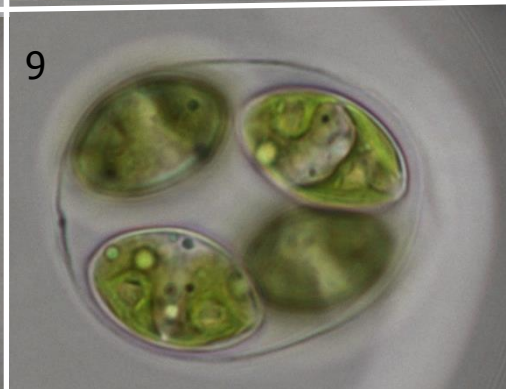
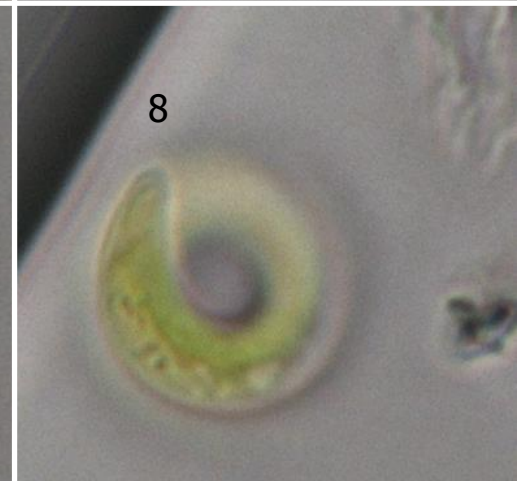
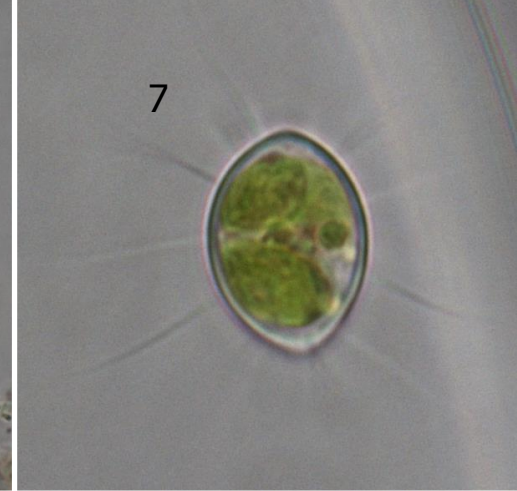
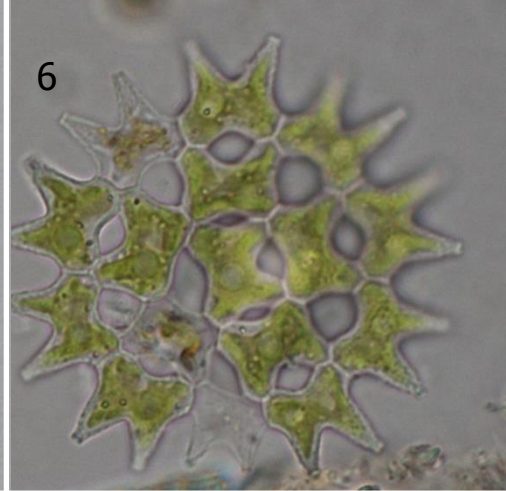


Pseudanabaena sp. ?
nebo obdobná tenká
oscilatoriální sinice



Aphanocapsa sp.
v koupacích vodách
se nekvantifikuje
(buňky < 2 μm)





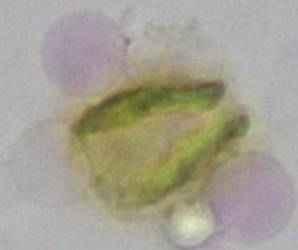
Zelené řasy

- 1 – *Closterium limneticum*
- 2 – *Cosmarium* sp.
- 3 – *Desmodesmus abundans*
- 4 – *Desmodesmus aculeolatus*
- 5 – *Stauridium (Pediastrum) tetras*
- 6 – *Pediastrum duplex*
- 7 – *Lagerheimia* ?
- 8 – *Monoraphidium minutum* ?
- 9 – *Oocystis* sp.

Poznámka: Objekty jsou zobrazeny v různých zvětšeních.

skrytěnky - Cryptophyceae

Cryptomonas sp.
lyzující buňka



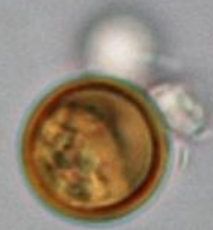
Cryptomonas sp.
Lugolův roztok



Cryptomonas sp.
lyzující buňka



krásnoočka – Euglenophyceae
rod *Trachelomonas*



rozsivky – Bacilariophyceae
rod *Aulacoseira*

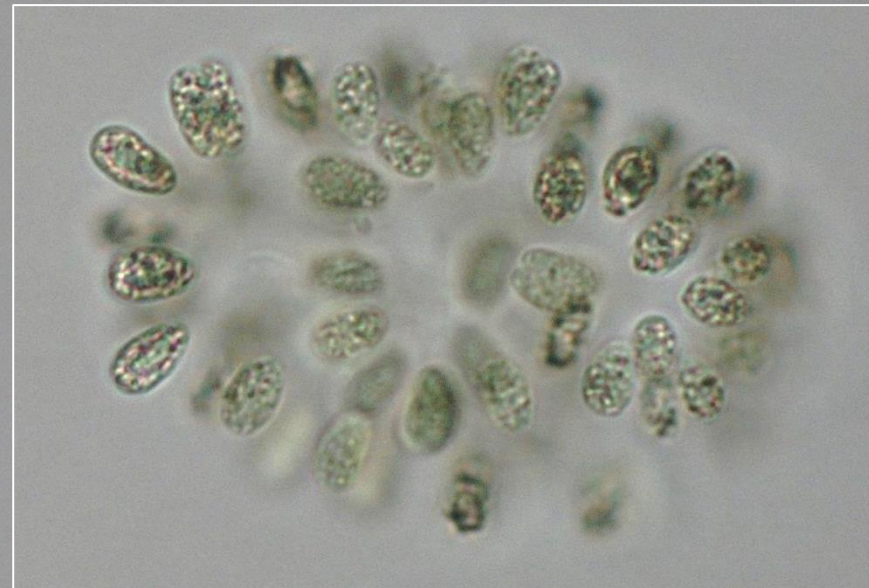
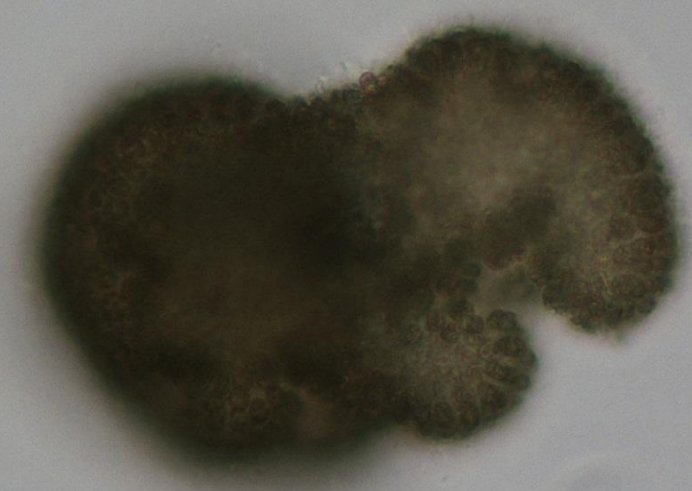
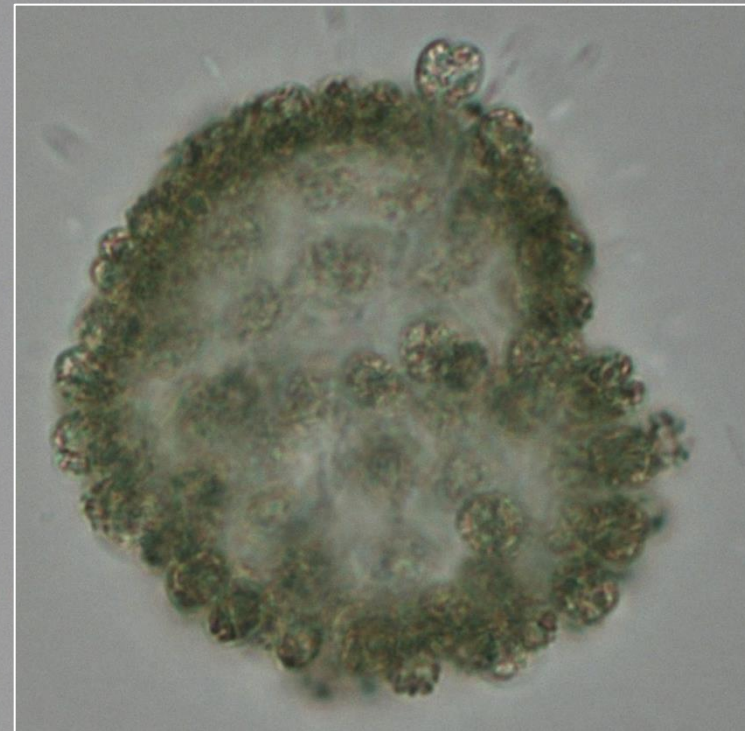
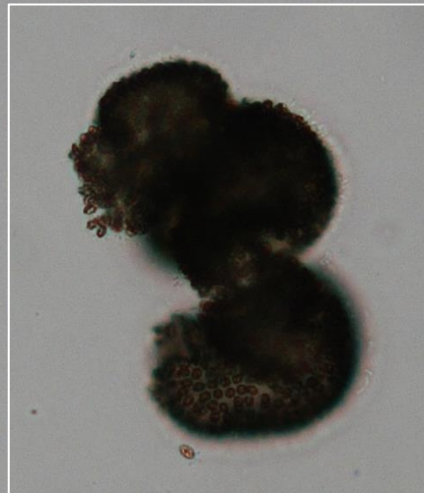
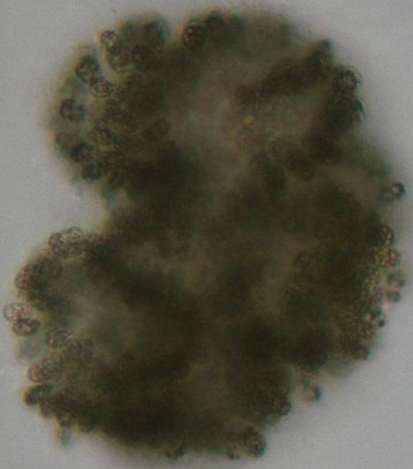


Vzorek 1B

- rybník v Jevanech
- 7. 10. 2019
- různé procedury k optimalizaci složení
- v laboratoři filtrace přes gázu



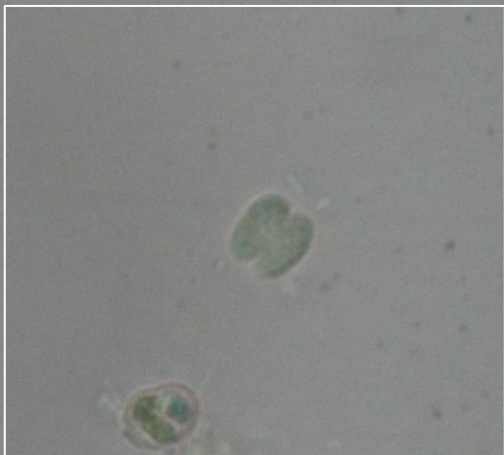
Woronichinia naegeliana
různá zvětšení



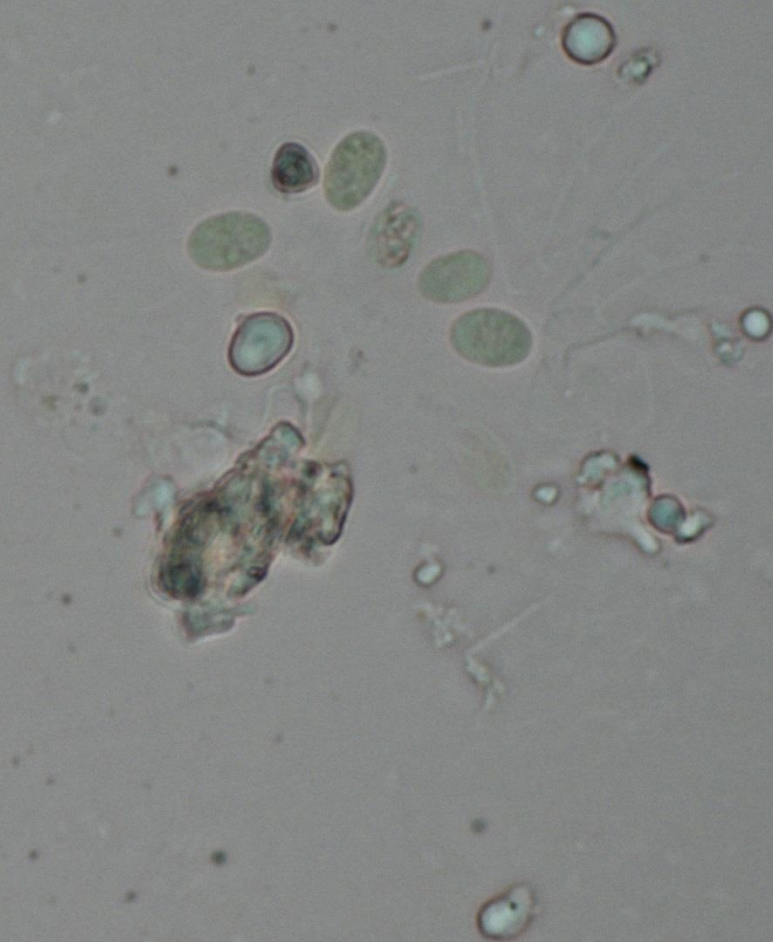
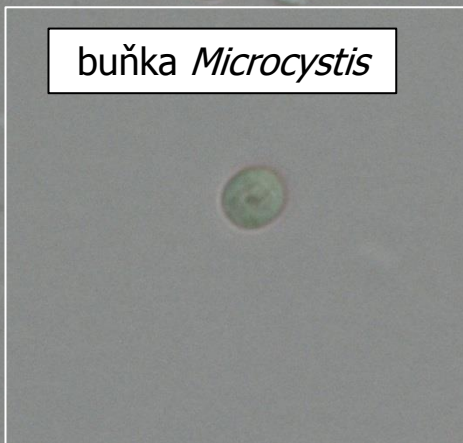
Woronichinia naegeliana

buňky po dezintegraci kolonií a destrukci aerotopů

v rámečku nahoře dělící se buňka –
problém, od kdy počítat jako jako dvě
buňky



buňka *Microcystis*



Zelené řasy - Chlorophyta

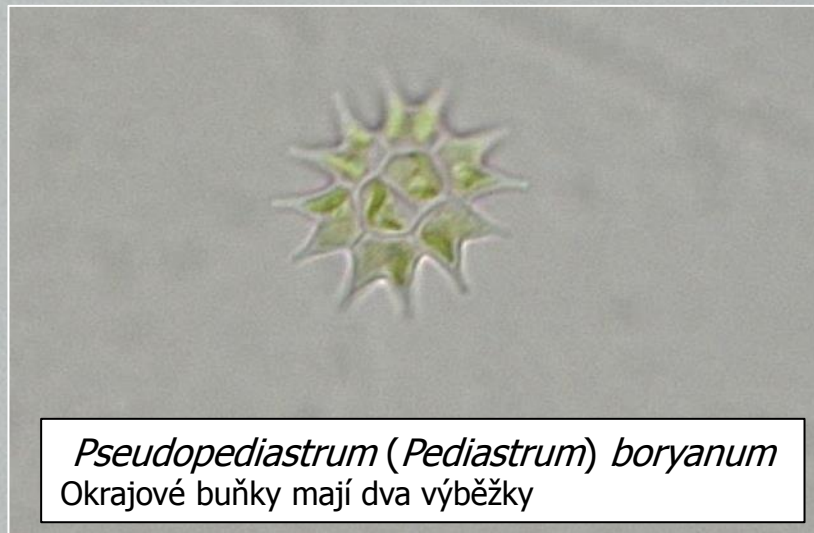
Oocystis ?



Chlorella ?



Monactinus (Pediastrum) simplex
Okrajové buňky mají jen jeden prstovitý
výběžek – *Parapediastrum (Pediastrum)*
boryanum má dva výběžky

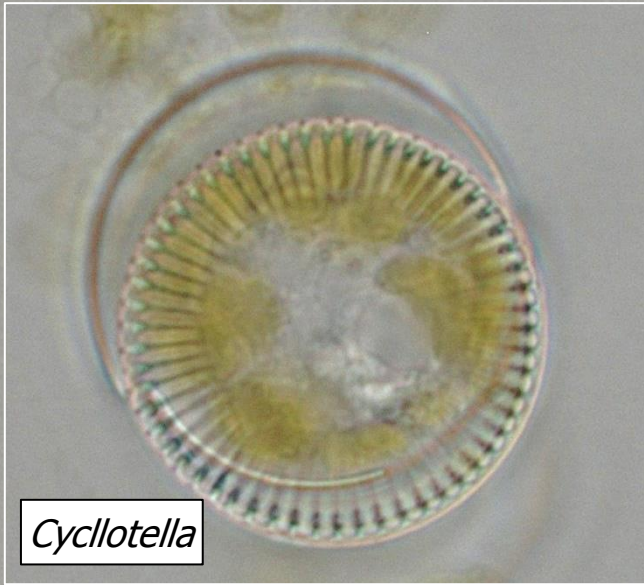


Pseudopediastrum (Pediastrum) boryanum
Okrajové buňky mají dva výběžky

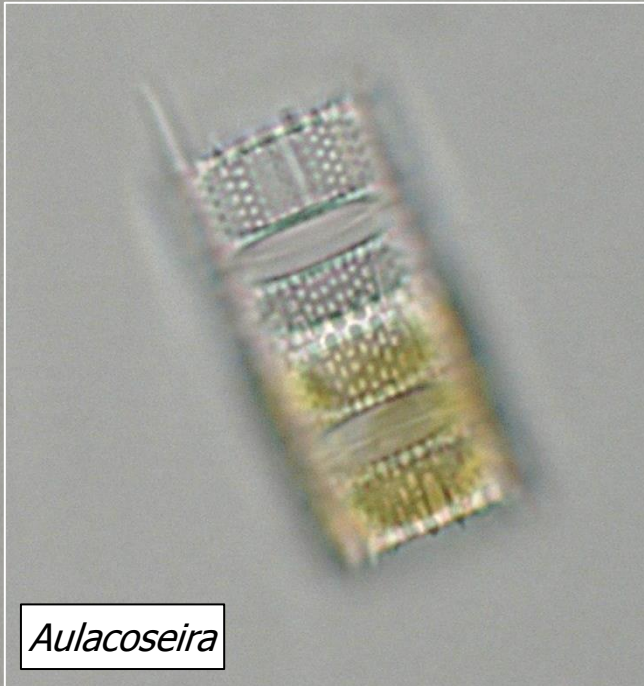


Oocystis ?

Rozsivky - Bacillariophyceae



Cyclotella



Aulacoseira



Aulacoseira

Souhrnné hodnocení kvalitativního rozboru

Body

vzorek	taxon	kód účastníka										
		1208	1221	1224	1281	1301	1333	1334	1336	1339	1344	MAX
2A	<i>Dolichospermum flos-aquae</i>	4	5	5	5	5	4	4	3	4	4	5
2A	<i>Microcystis</i> sp.	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
2B	<i>Dolichospermum macrosporum</i>	3	3	3	4	3	3	3	3	3	3	5
2B	<i>Planktolyngbya limnetica</i>	3	5	5	4	4	2	3	2	2	3	5
2C	<i>Planktothrix agardhii</i>	0	5	5	5	5	3	0	3	3	4	5
2C	<i>Limnothrix</i> sp.	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
2C	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	0	5	0	5	4	0	0	0	0	0	5
2D	<i>Microcystis aeruginosa</i>	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2D	<i>Microcystis ichthyoblabe</i>	3	5	5	3	5	3	3	3	3	3	5
2D	<i>Planktothrix agardhii</i>	3	5	5	5	4	5	4	3	3	4	5
1A	<i>Planktothrix agardhii</i>	3	5	5	5	5	5	4	3	4	4	5
1B	<i>Woronichinia naegeliana</i>	5	5	5	5	5	4	5	4	4	5	5
Celkem		34	54	49	52	51	40	37	35	37	41	56

Dostatečné určení

vzorek	taxon	kód účastníka										
		1208	1221	1224	1281	1301	1333	1334	1336	1339	1344	MAX
2A	<i>Dolichospermum flos-aquae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2A	<i>Microcystis</i> sp.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2A	<i>Dolichospermum macrosporum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2B	<i>Planktolyngbya limnetica</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2C	<i>Planktothrix agardhii</i>	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
2C	<i>Limnothrix</i> sp.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2C	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+
2D	<i>Microcystis aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2D	<i>Microcystis ichthyoblabe</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2D	<i>Planktothrix agardhii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1A	<i>Planktothrix agardhii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1B	<i>Woronichinia naegeliana</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Celkem		10	12	11	12	12	11	10	11	11	11	12

Výsledná úspěšnost	kód účastníka										
	1208	1221	1224	1281	1301	1333	1334	1336	1339	1344	
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

K úspěchu v kvalitativním rozboru sinic musel účastník získat alespoň 34 bodů ze 56 možných a zároveň dostatečně určit z 12 hodnocených taxonů alespoň 10.

Mikroskopický obraz

4. Ukazatel „Mikroskopický obraz“ obsahuje slovní popis, ve kterém jsou uvedeny především dominantní taxony sinic, dále dominantní zástupci fytoplanktonu a jakékoli další informace, které mohou přispět k interpretaci výsledků.

➤ vzorek 1A

- dominance *Planktothrix agardhii* (stačilo pro úspěšné hodnocení)
- z řas zelené řasy, rozsivky, skrytěnky

➤ Vzorek 1B

- dominance *Woronichinia naegeliana*

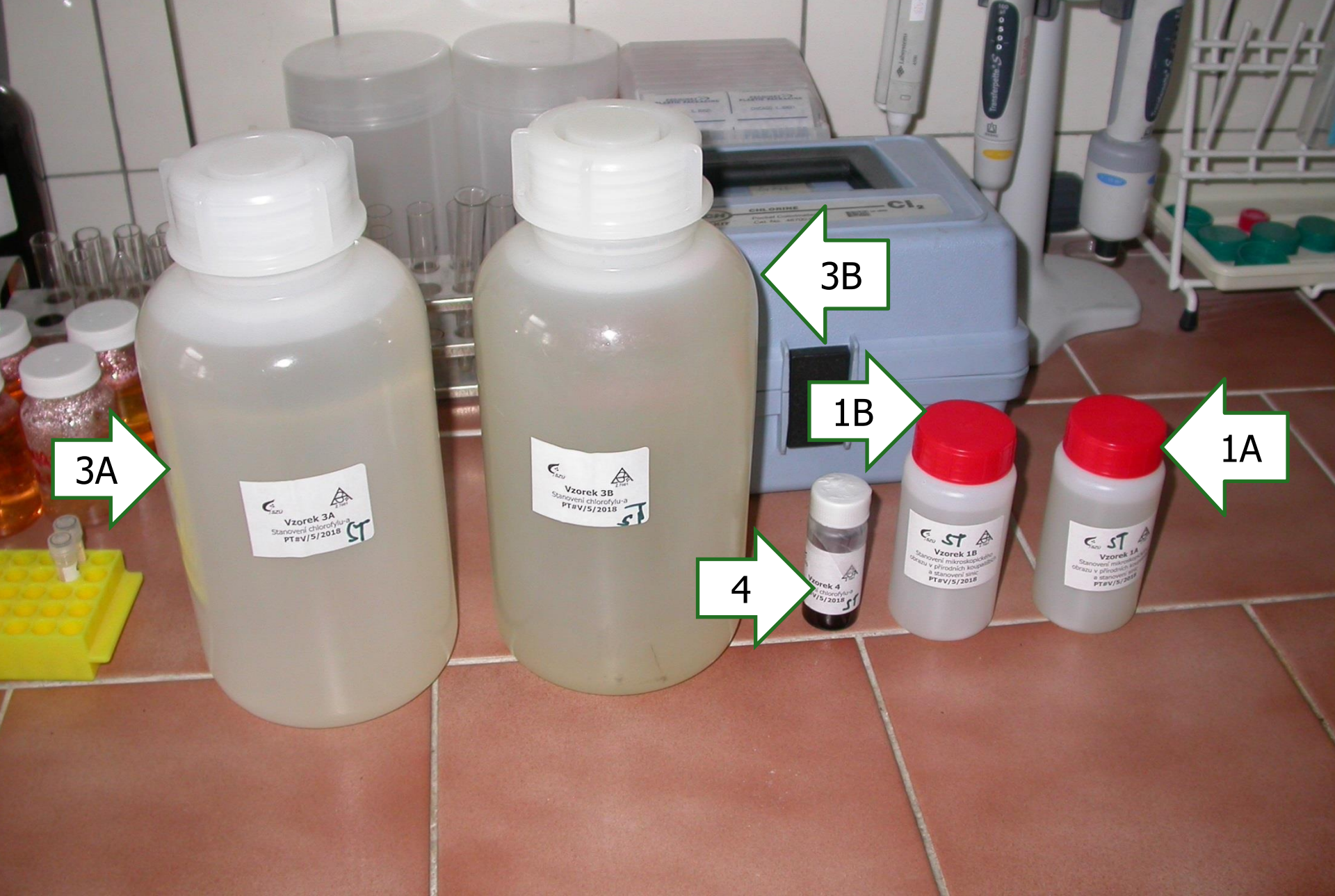
Kvantitativní rozbor sinic

Hodnocení kvantitativních ukazatelů

- Robustní statistika
 - robustní aritmetický průměr
 - robustní směrodatná odchylka (podle potřeby rozšířena)
- Hodnoty vypočítány buď z terčových laboratoří (o kterých předpokládáme, že měří dobře) nebo ze všech laboratoří

Vzorky 1 - zajištění homogenity

- promícháno v 5 litrové lahvi
- celkem připraveno 16 vzorků
- SZU zpracování vzorků 1, 6, 11, 16
- sledována i stabilita (resp. robustnost vzorků pro případné nestandardní skladování)



Testování stability / robustnosti – cca den na světle v laboratorních podmínkách



3A

3B

4

1A

1B

Testování stability / robustnosti – cca den ve tmě při laboratorní teplotě

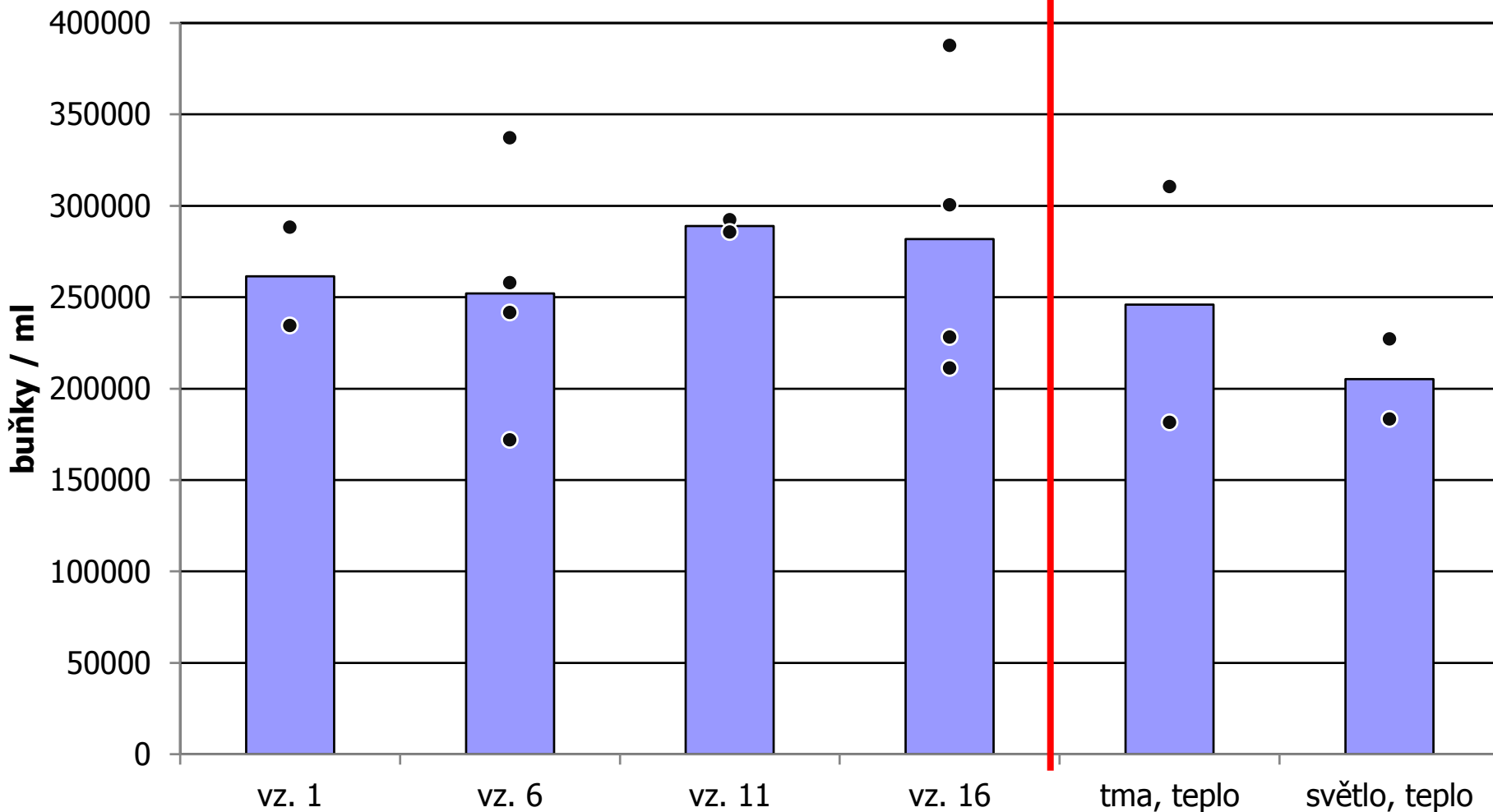
Vzorek 1A

- Dominují vláknité sinice
 - *Planktothrix*
 - méně *Cuspidothrix*, *Aphanizomenon*, tenké oscilatoriální sinice
 - nezanedbatelná příměs kokálních sinic – především *Woronichinia*

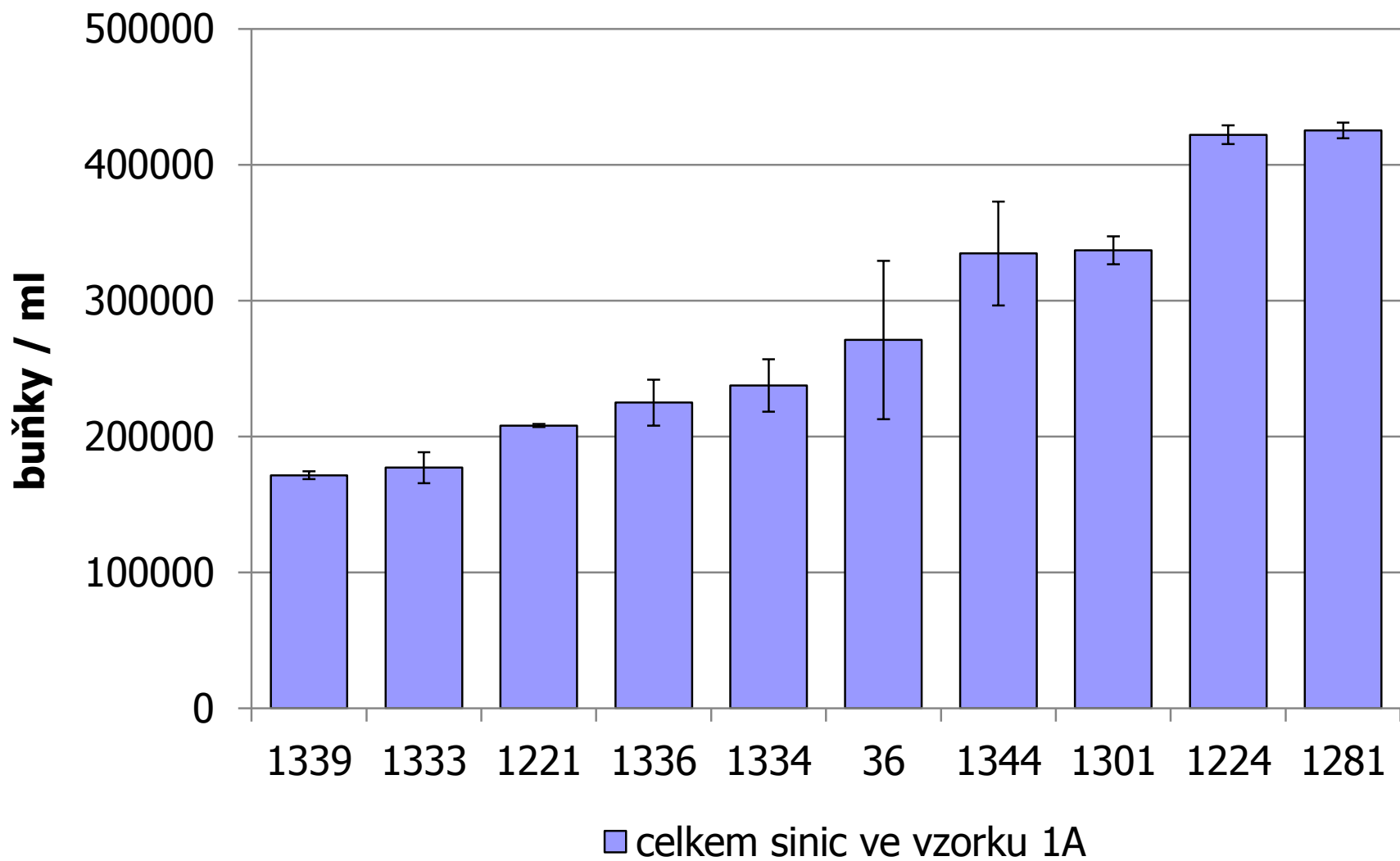
Vzorek 1A – homogenita, stabilita

správné uložení
homogenita

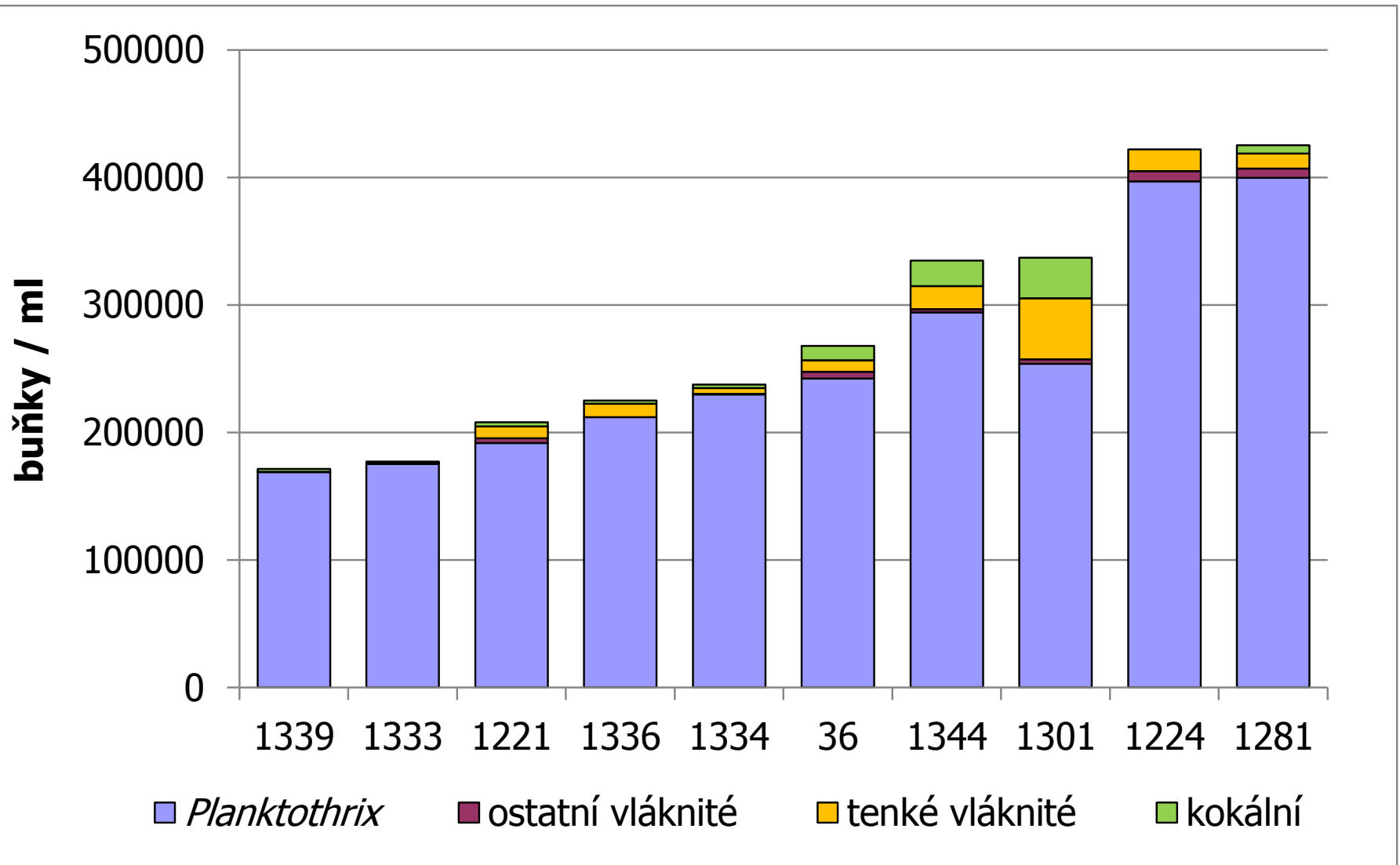
nestandardní uložení
„stabilita“



Vzorek 1A – celkové výsledky



Vzorek 1A – vláknité (podrobně) a kokální



Tabulka Z-score pro kvantitativní rozbor sinic - vz. 1A (buňky)

terč

V	lab	výsledek (buňky/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1221	208144	-0,92					█				
X	1334	237581	-0,60					█				
X	36	271094	-0,24					█				
X	1301	337185	0,48					█				
X	1281	425320	1,43					█	█			

počet laboratoří: 5

z toho vyhovuje: 5

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 293026 buňky/ml

vztažná odchylka: 92575 buňky/ml

interval správných hodnot: 107876 - 478176 buňky/ml

Tabulka Z-score pro kvantitativní rozbor sinic - vz. 1A (buňky)

účastník

V	lab	výsledek (buňky/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1339	171520	-1,31					█				
X	1333	177231	-1,25					█				
X	1221	208144	-0,92					█				
X	1336	225000	-0,73					█				
X	1334	237581	-0,60					█				
X	36	271094	-0,24					█				
X	1344	334760	0,45					█				
X	1301	337185	0,48					█				
X	1224	422150	1,39					█	█			
X	1281	425320	1,43					█	█			

počet laboratoří: 10

z toho vyhovuje: 10

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 293026 buňky/ml

vztažná odchylka: 92575 buňky/ml

interval správných hodnot: 107876 - 478176 buňky/ml

Kód	1221	1224	1281	1301	1333	1334	1336	1339	1344	36
Lugolův roztok	zásaditý	kyselý	kyselý	zásaditý	ne	zásaditý	ne	ne	kyselý	kyselý
dezintegrace (vláknité)	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne
dezintegrace (kokální)			ano	ano					ano	
dezintegrace (pomůcky)			stříkačka	ultrazvuk					stříkačka	
dezintegrace (objemvzorku)			5 ml	10 ml						
KOH			ano	ne					ano	
dezintegrace (míra)			ano						ano	
zahuštění před kvantifikací	ano	ne	ne	ano	ano	ano	ano	ano	ano/ne	ne
zahuštění (způsob)	odstředění			odstředění	odstředění	odstředění	filtrace	odstředění	odstředění	
počáteční objem (ml)	10			10	10	10	10	10	10	
konečný objem (ml)	0,4			0,2	0,2	0,2	0,5	0,1	1	
zvětšení objektivu při počítání	20x	20x	20x	40x	20x	20x	20x, 40x	10x, 20x	20x	20x
fluorescence při počítání	ne	ne	ne	ano	ne	ano	ne	ne	ne	ne
měření / odhad délky vláken	AO	OM	OM	AO	OM	OM	odhad	AO	OM	OM
počet vláken	124/125	cca 100	94/59	168/182		cca 200/51			98/78	*
celkem (buňky/ml)	208144	422150	425320	337185	177231	237581	225000	171520	334760	271094
vláknité (buňky/ml)	204744	422150	418784	305310	175829	234925	222550	169200	314834	256769
OM – okulárový mikrometr, AO – analýza obrazu										

- **Dva nejvyšší výsledky (lab. 1224 a 1281) byly dosaženy na vzorku bez zahuštění**
- **Dva nejnižší výsledky (lab. 1333 a 1339) byly dosaženy na živém vzorku po zahuštění odstředěním**

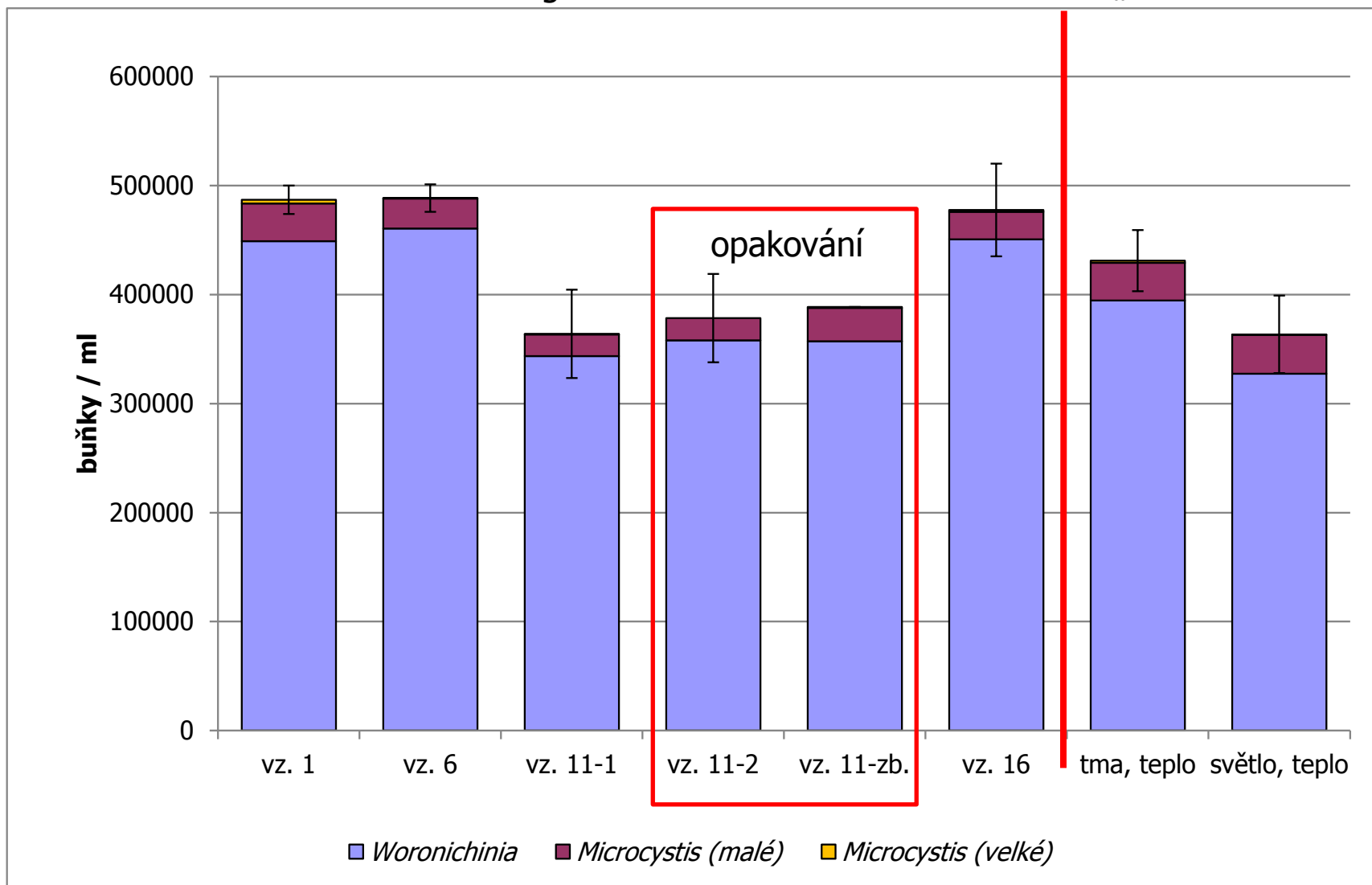
Vzorek 1B

- Dominují kokální sinice
- jasná dominance *Woronichinia naegeliana*

Vzorek 1B – homogenita, stabilita

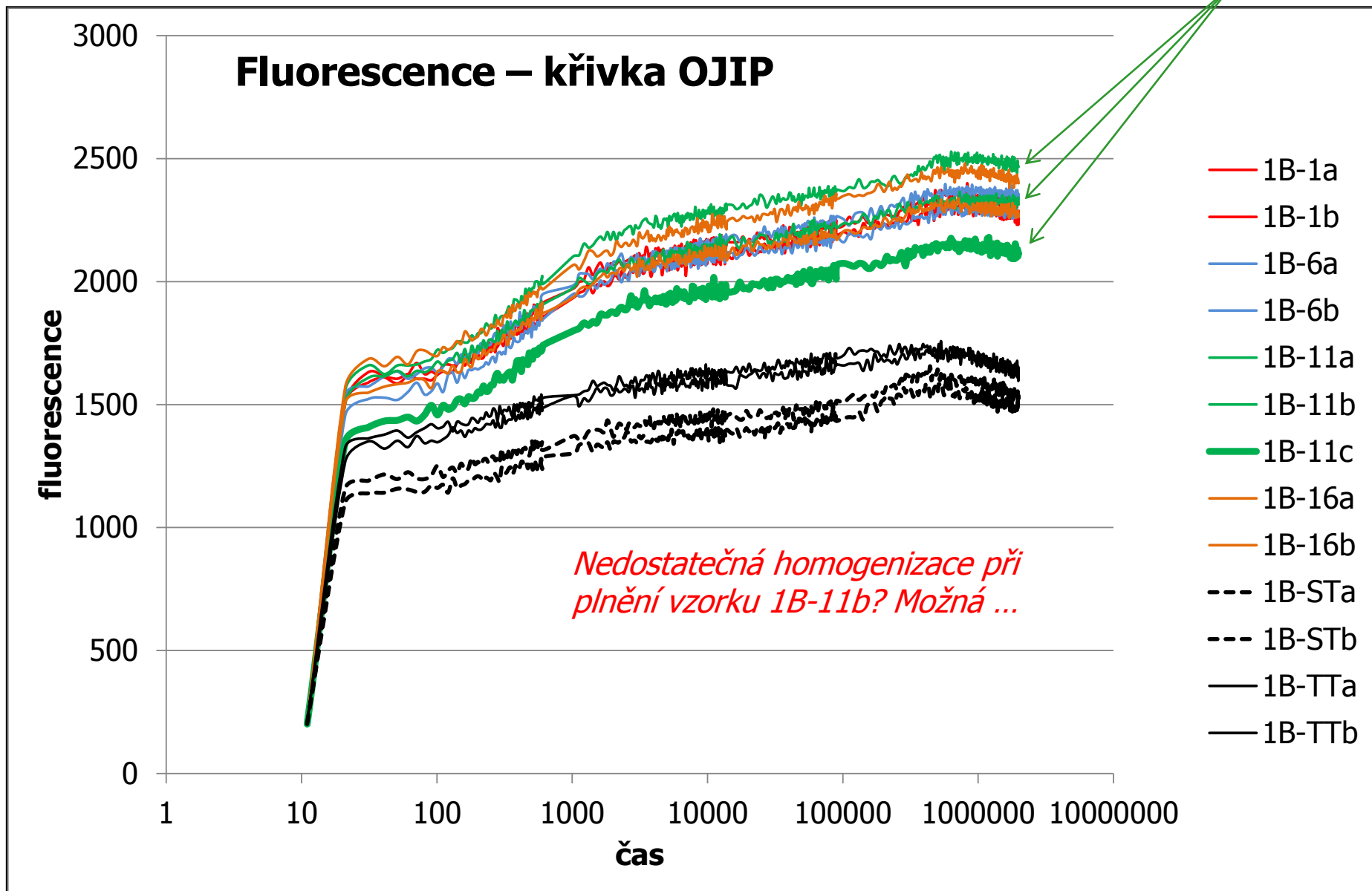
správné uložení
homogenita

nestandardní uložení
„stabilita“

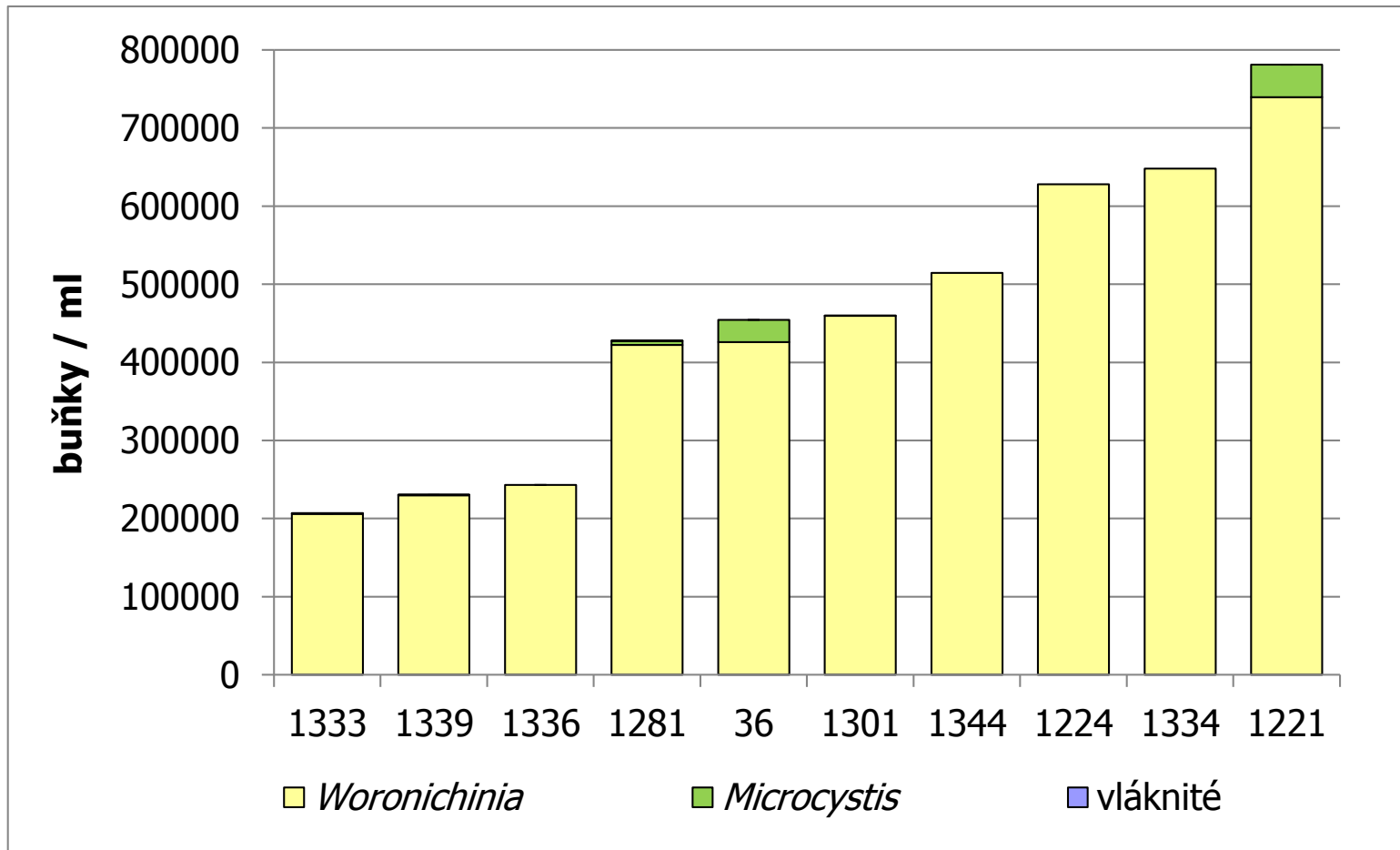


Pátrání, proč nevyšel vzorek 1B-11

Rozdíly mezi
paralelními
stanoveními



Vzorek 1B – výsledky



Tabulka Z-score pro kvantitativní rozbor sinic - vz. 1B (buňky)

terč

V	lab	výsledek (buňky/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1281	427940	-0,49					■				
X	36	449125	-0,29					■				
X	1301	460160	-0,19					■				
X	1334	647920	1,59					■	■			
?	1221	781250	2,85					■	■	■		

počet laboratoří: 5

z toho vyhovuje: 4

z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 480178 buňky/ml

vztažná odchylka: ±44%

interval správných hodnot: 268900 - 691456 buňky/ml

Tabulka Z-score pro kvantitativní rozbor sinic - vz. 1B (buňky)

účastník

V	lab	výsledek (buňky/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
?	1333	206335	-2,59			■	■	■				
?	1339	230180	-2,37			■	■	■				
?	1336	243000	-2,25			■	■	■				
X	1281	427940	-0,49					■				
X	36	449125	-0,29					■				
X	1301	460160	-0,19					■				
X	1344	514404	0,32					■				
X	1224	627800	1,40					■	■			
X	1334	647920	1,59					■	■			
?	1221	781250	2,85					■	■	■		

počet laboratoří: 10

z toho vyhovuje: 6

z toho nevyhovuje: 4

vztažná hodnota: 480178 buňky/ml

vztažná odchylka: ±44%

interval správných hodnot: 268900 - 691456 buňky/ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Kód	1221	1224	1281	1301	1333	1334	1336	1339	1344	36
Lugolův roztok	zásaditý	kyselý	kyselý	zásaditý	zásaditý	zásaditý	zásaditý	ne	zásaditý	zásaditý
časový odstup	24 h				24 h					24 h
dezintegrace (kokální)	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano
dezintegrace (vláknité)			ne							
dezintegrace (pomůcky)	ultrazvuk	stříkačka	stříkačka	ultrazvuk	stříkačka	ultrazvuk	stříkačka	ultrazvuk	stříkačka	ultrazvuk
dezintegrace (objemvzorku)		30 ml	10 ml	10 ml			10 ml			10 ml
KOH	ne	ne	ano	ne	ano	ano	ano	ne	ano	ne
dezintegrace (míra)	ano	ano	ano		ano	ano	částečně	částečně	ano	ano
zahuštění před kvantifikací	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ano	ano	ne	ne
zahuštění (způsob)			odstředění				filtrace	odstředění		
počáteční objem (ml)			10				10	10		
konečný objem (ml)			0,2				0,5	0,1		
zvětšení objektivu při počítání	20x	20x	20x	40x	20x	20x	20x, 40x	10x, 20x	20x	20x
fluorescence při počítání	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ano	ne	ne
počet jedniců	751/728	cca 1500	518/530	440/465		291/332	1380/1600		2495/2268	*
celkem (buňky/ml)	781250	627800	427940	460160	206335	647920	243000	230180	514404	449125
kokální (buňky/ml)	781250	627800	427584	459500	206560	647920	243000	230105	514404	454250

- u dvou ze tří nejnižších výsledků (lab. 1336 a 1339) bylo použito zahuštění,
- u 1339 byl vzorek zahuštěn a dezintegrován na živém vzorku (Woronichinia se špatně dezintegruje bez přidání zásaditého Lugolu)
- u takto oživeného vzorku je zahuštění diskutabilní (k počítání zapotřebí, spíše naopak, a vnáší další chyby (především možné ztráty)

Objemová biomasa

Tabulka Z-score pro kvantitativní rozbor sinic - vz. 1A (objemová biomasa)

V	lab	výsledek (mm ³ /l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1339	11.85	-1.07				█					
X	1221	12.42	-0.98				█					
X	1301	16.92	-0.32					█				
X	1333	17.37	-0.25					█				
X	36	17.72	-0.20					█				
X	1334	22.86	0.55					█				
X	1344	24.47	0.79					█				
!	1224	39.79	3.05					█	█	█	█	

počet laboratoří: 8

z toho vyhovuje: 7

z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 19,1 mm³/l

vztažná odchylka: 6,791 mm³/l

interval správných hodnot: 5,5 - 32,7 mm³/l

Tabulka Z-score pro kvantitativní rozbor sinic - vz. 1B (objemová biomasa)

V	lab	výsledek (mm ³ /l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1344	6.31	-1.05				█					
X	1333	6.92	-0.81				█					
X	1301	7.49	-0.57				█					
X	1339	7.72	-0.48				█					
X	1334	8.48	-0.17				█					
X	36	12.12	1.31					█				
!	1221	18.17	3.76					█	█	█	█	
!	1224	23.10	5.76					█	█	█	█	

počet laboratoří: 8

z toho vyhovuje: 6

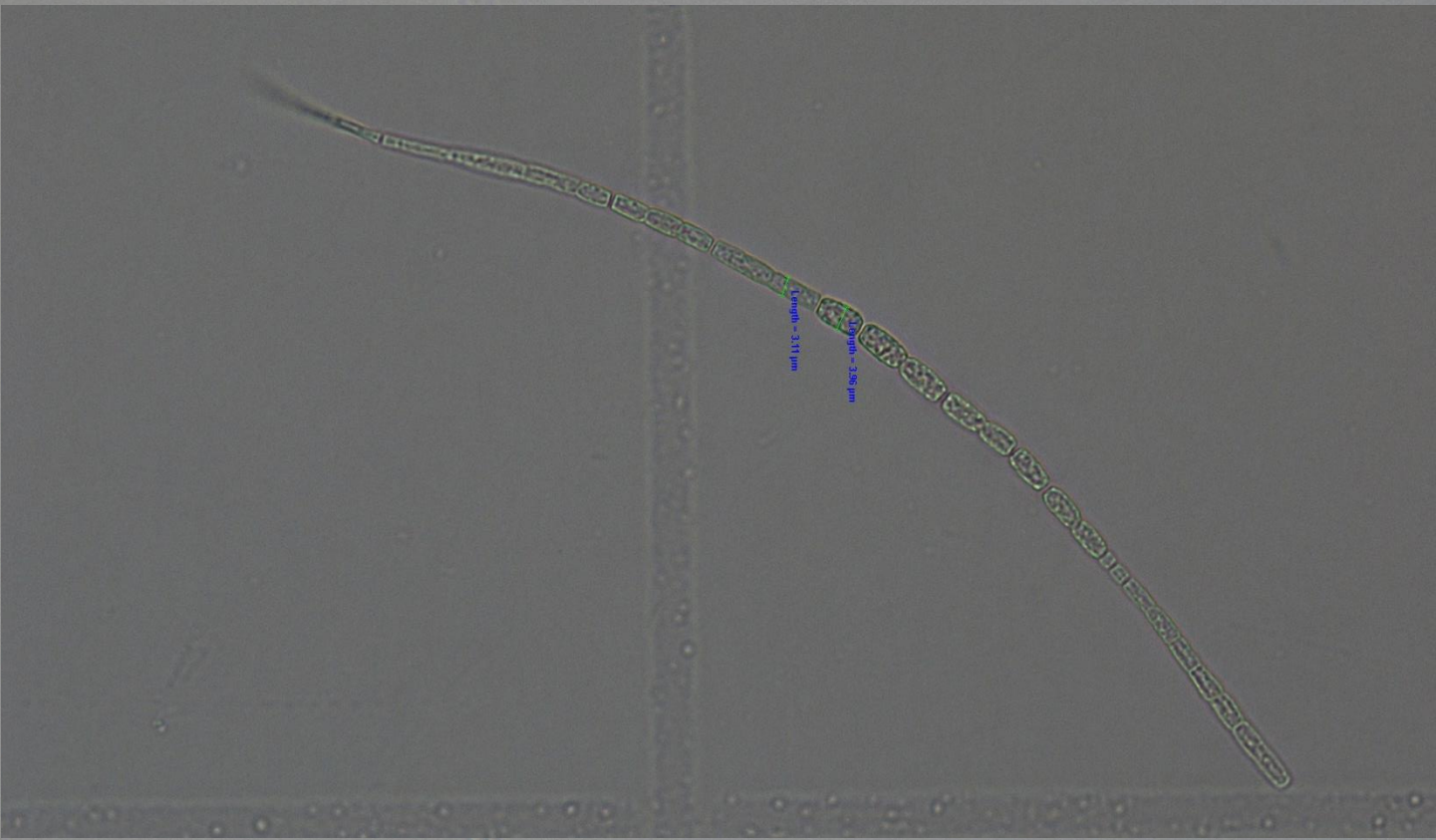
z toho nevyhovuje: 2

vztažná hodnota: 8,9 mm³/l

vztažná odchylka: 2,465 mm³/l

interval správných hodnot: 4 - 13,8 mm³/l

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje



Ale ...

➤ dva možné postupy

- průměr naměřených rozměrů pro všechny taxony (typicky různé Microcystis) - **špatně**
- součet vypočítaných objemů pro jednotlivé taxony

	sinice (buňky/ml)	průměr buňky (μm)	sinice (mm^3/l)
	50000	3	0,71
	50000	5	3,27
	100000	4	3,35

Objemová biomasa a normalizované hodnoty – podle revize ČSN 75 7717 lze použít uzanční hodnoty pro některé taxony

Taxon	Šířka vlákna μm
<i>Pseudanabaena</i>	2
<i>Limnothrix</i>	2,5
<i>Planktolylnbya</i>	2
<i>Planktothrix agardhii</i>	5

Chlorofyl-a a feopigmenty

3A – Eliška

Foto 26.9.2019



Vzorky 3A a 3B

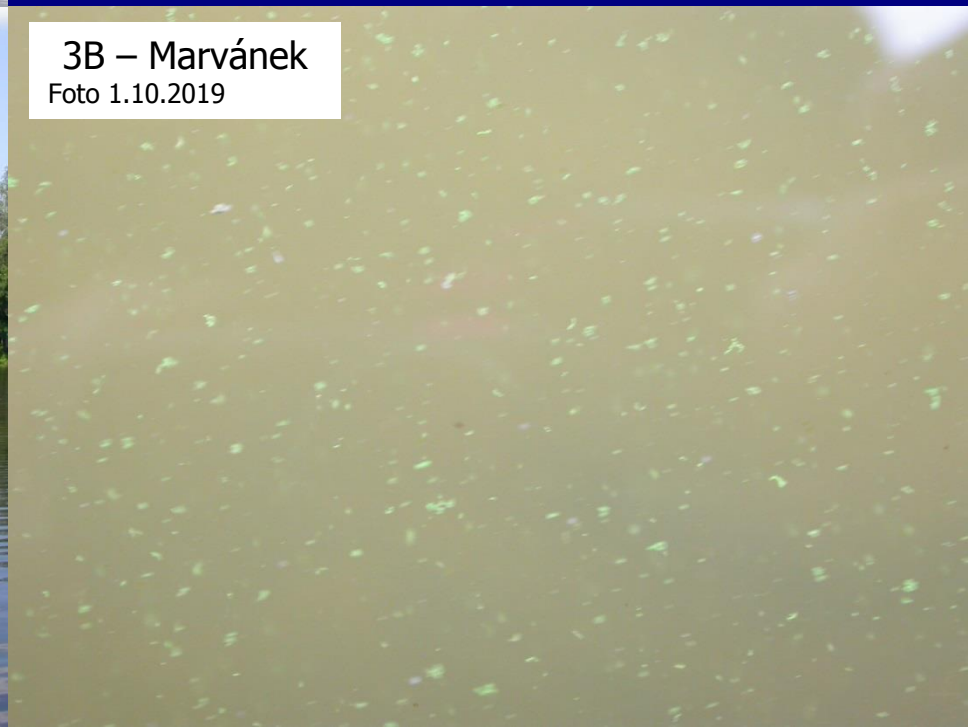
- 3A – Eliška (Horní Počernice)
– 7.10.2019
- 3B – Marvánek (Říčany)
– 7.10.2019
- mícháno v 60 l sudu
- připraveno 14 vzorků
- SZÚ zpracování vzorků
1, 8, 14

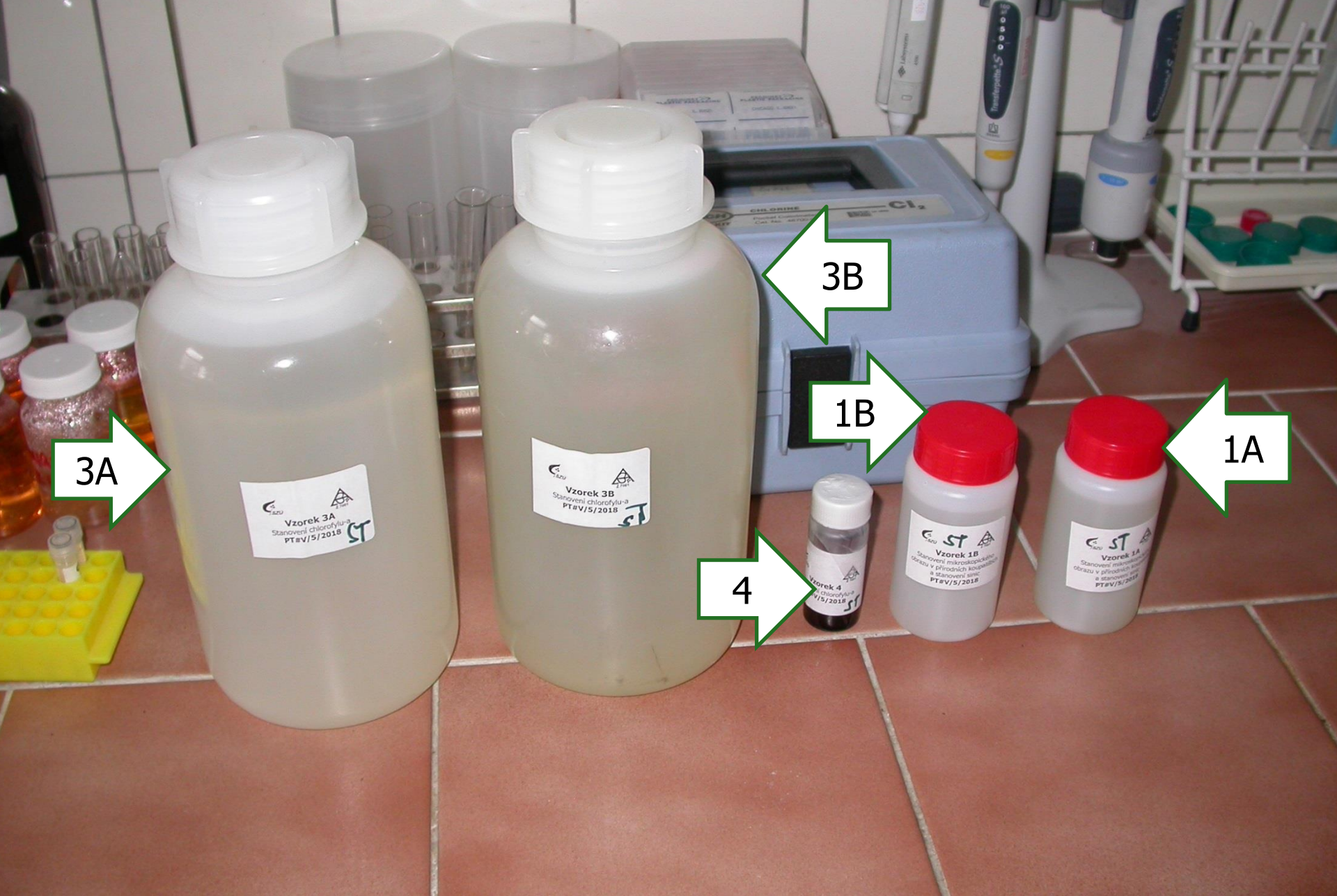
3B – Marvánek



3B – Marvánek

Foto 1.10.2019



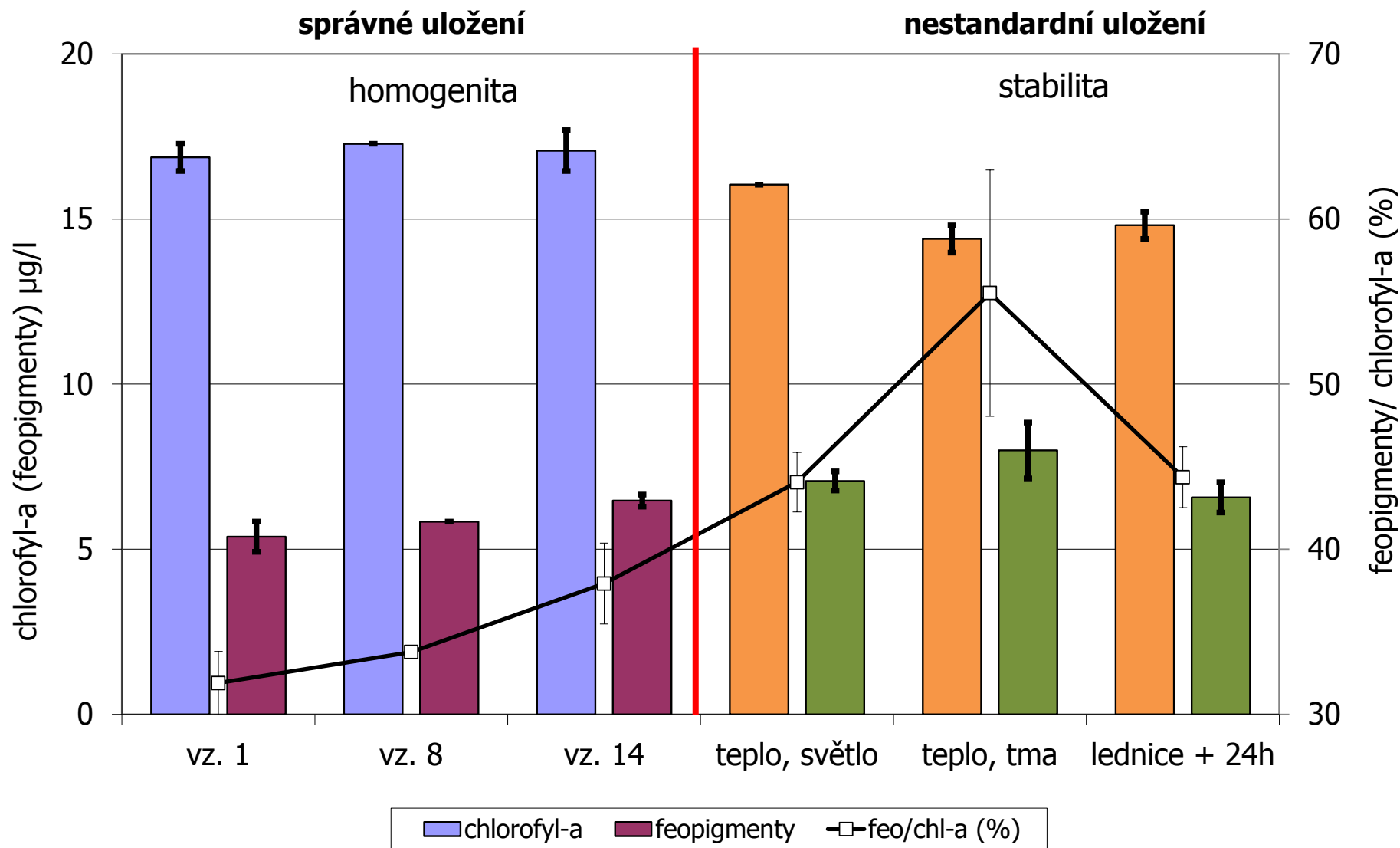


Testování stability / robustnosti – cca den na světle v laboratorních podmínkách (foto z roku 2018)

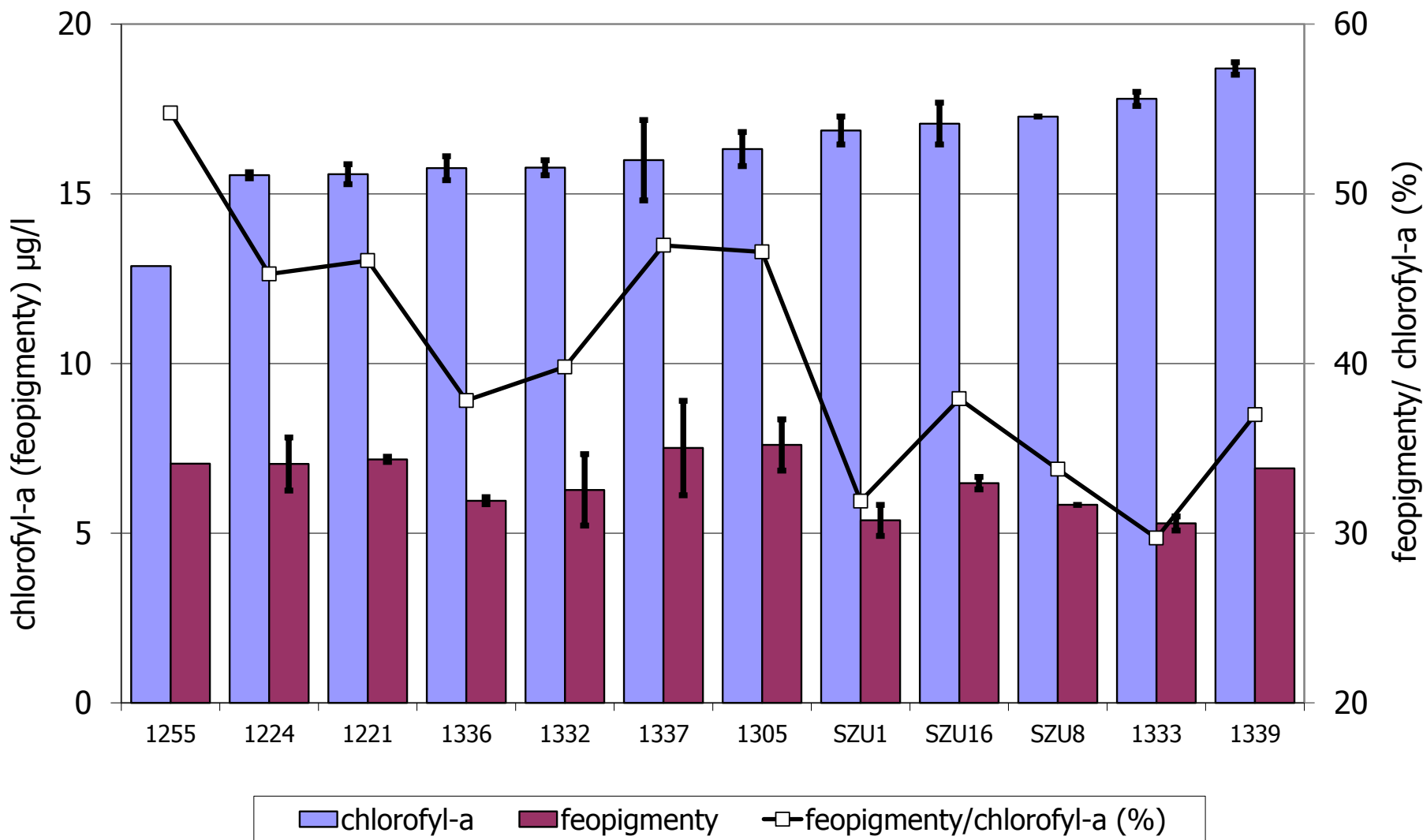


Testování stability / robustnosti – cca den ve tmě při laboratorní teplotě
(foto z roku 2018)

Vzorek 3A – homogenita, stabilita



Vzorek 3A – výsledky účastníků



Přepočítané / dopočítané hodnoty ze zasláných absorbancí a dalších údajů

Tabulka Z-score pro chlorofyl-a vzorek 3A

terč, účastník

V	lab	výsledek (µg/l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
?	1255	12.9	-2.24			█						
X	1224	15.2	-0.62				█					
X	1221	15.6	-0.35				█					
X	1332	15.8	-0.24				█					
X	1336	15.8	-0.24				█					
X	1337	16.0	-0.07					█				
X	1305	16.3	0.14					█				
X	36	17.1	0.66					█				
X	1333	17.8	1.16					█				
X	1339	18.7	1.79					█				

počet laboratoří: 10

z toho vyhovuje: 9

z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 16,1 µg/l

vztažná odchylka: ±18%

interval správných hodnot: 13,2 - 19 µg/l

Tabulka Z-score pro feopigmenty vzorek 3A

terč, účastník

V	lab	výsledek (µg/l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	36	5.9	-0.91				█					
X	1336	6.0	-0.82				█					
X	1224	6.7	-0.23				█					
X	1221	7.1	0.18					█				
X	1255	7.1	0.18					█				
X	1337	7.5	0.54					█				
X	1305	7.7	0.68					█				

počet laboratoří: 7

z toho vyhovuje: 7

z toho nevyhovuje: 0

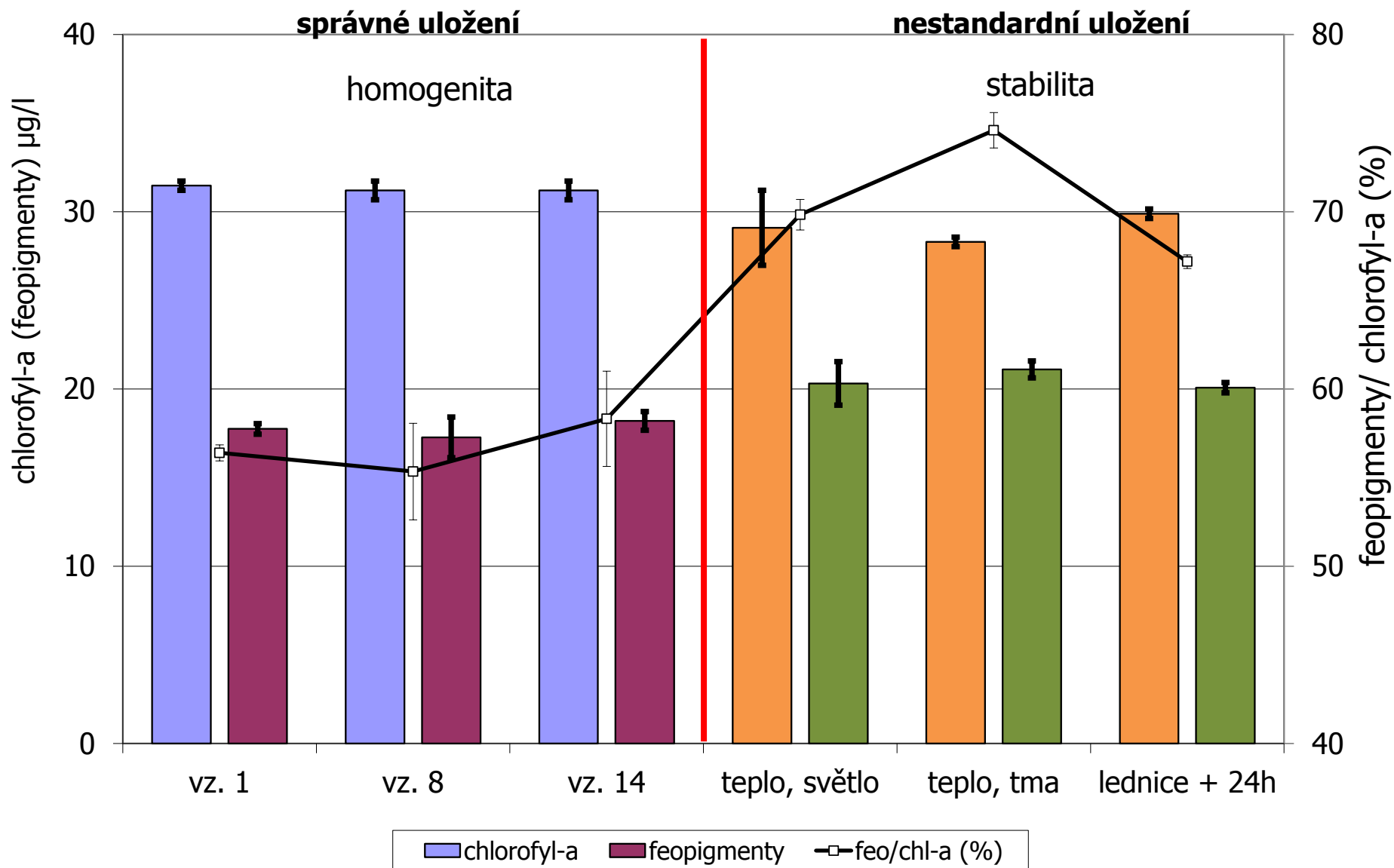
vztažná hodnota: 6,9 µg/l

vztažná odchylka: ±32%

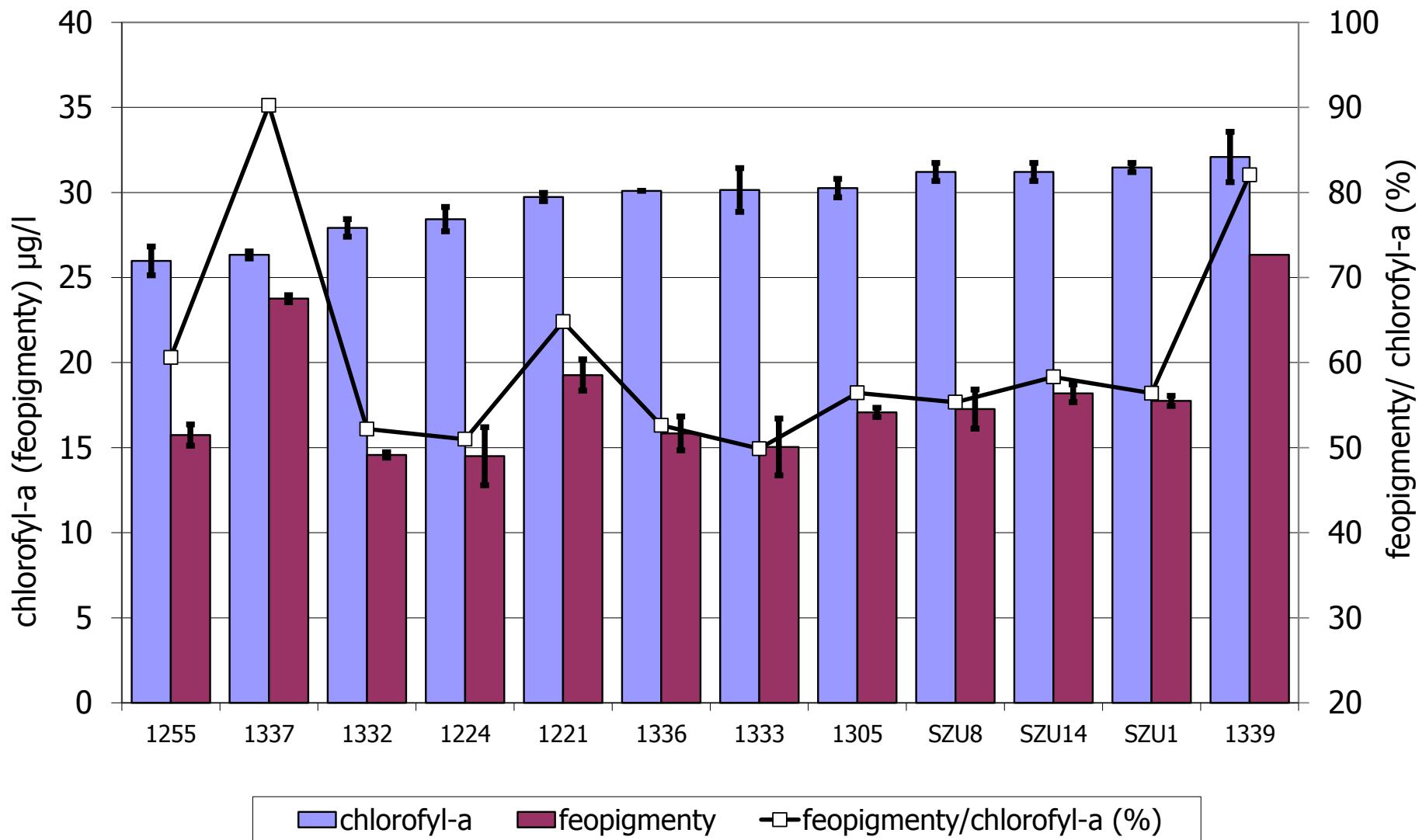
interval správných hodnot: 4,7 - 9,1 µg/l

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Vzorek 3B – homogenita, stabilita



Vzorek 3B – výsledky účastníků



Přepočítané / dopočítané hodnoty ze zasláných absorbancí a dalších údajů

Tabulka Z-score pro chlorofyl-a vzorek 3B

terč, účastník

V	lab	výsledek (µg/l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1337	26.3	-0.99				█					
X	1255	26.5	-0.93				█					
X	1224	27.8	-0.50					█				
X	1332	27.9	-0.45					█				
X	1221	29.8	0.19						█			
X	1336	30.1	0.31						█			
X	1333	30.1	0.32						█			
X	1305	30.3	0.36						█			
X	36	31.3	0.72						█			
X	1339	32.1	0.98						█			

počet laboratoří: 10
z toho vyhovuje: 10
z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 29,2 µg/l
vztažná odchylka: ±20%
interval správných hodnot: 23,4 - 35 µg/l

Tabulka Z-score pro feopigmenty vzorek 3B

terč, účastník

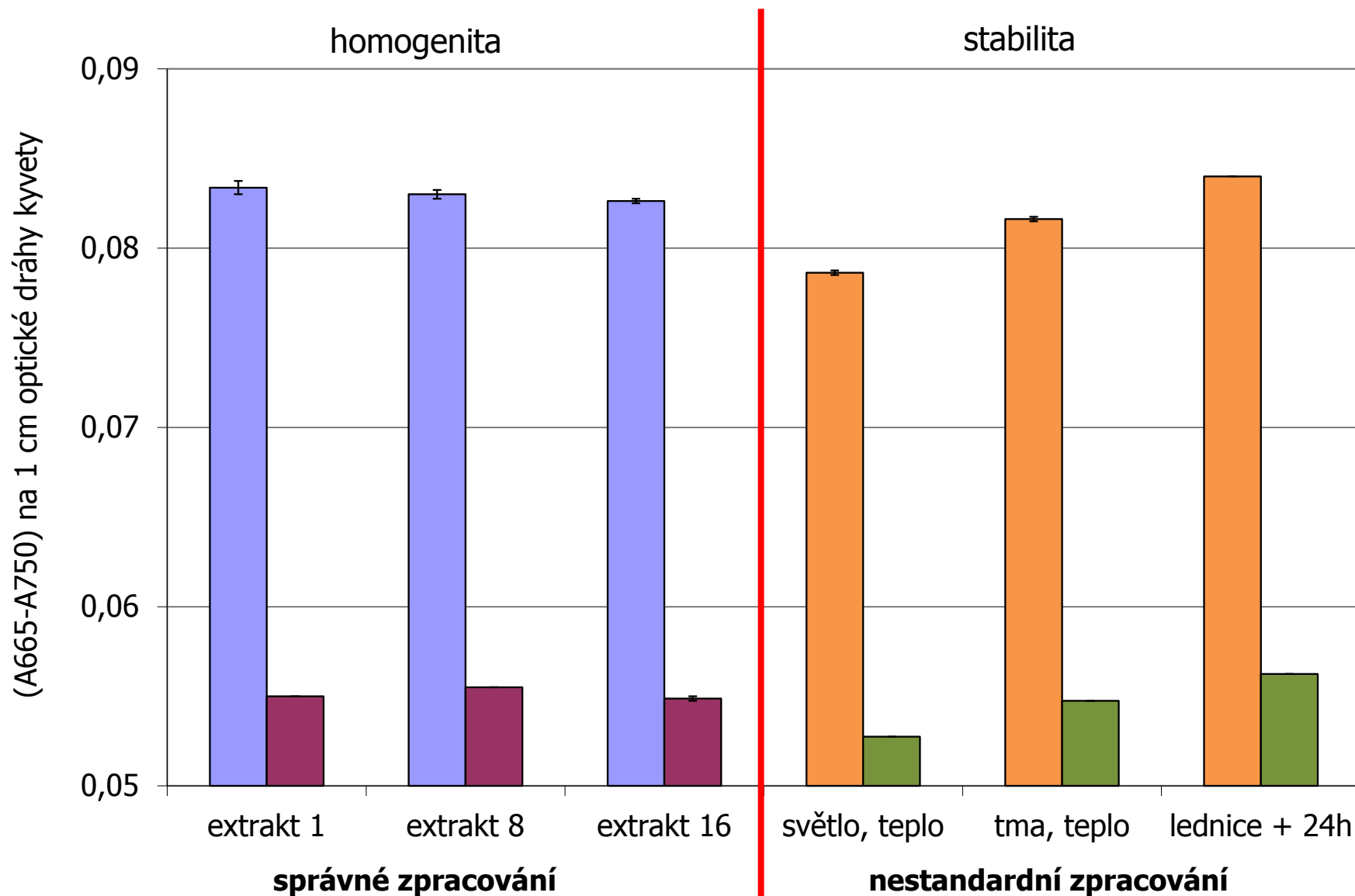
V	lab	výsledek (µg/l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1224	14.0	-0.89				█					
X	1336	15.8	-0.39					█				
X	1255	16.1	-0.30					█				
X	1305	17.1	-0.03						█			
X	36	17.7	0.14						█			
X	1221	19.1	0.51						█			
X	1337	23.8	1.81						█			

počet laboratoří: 7
z toho vyhovuje: 7
z toho nevyhovuje: 0

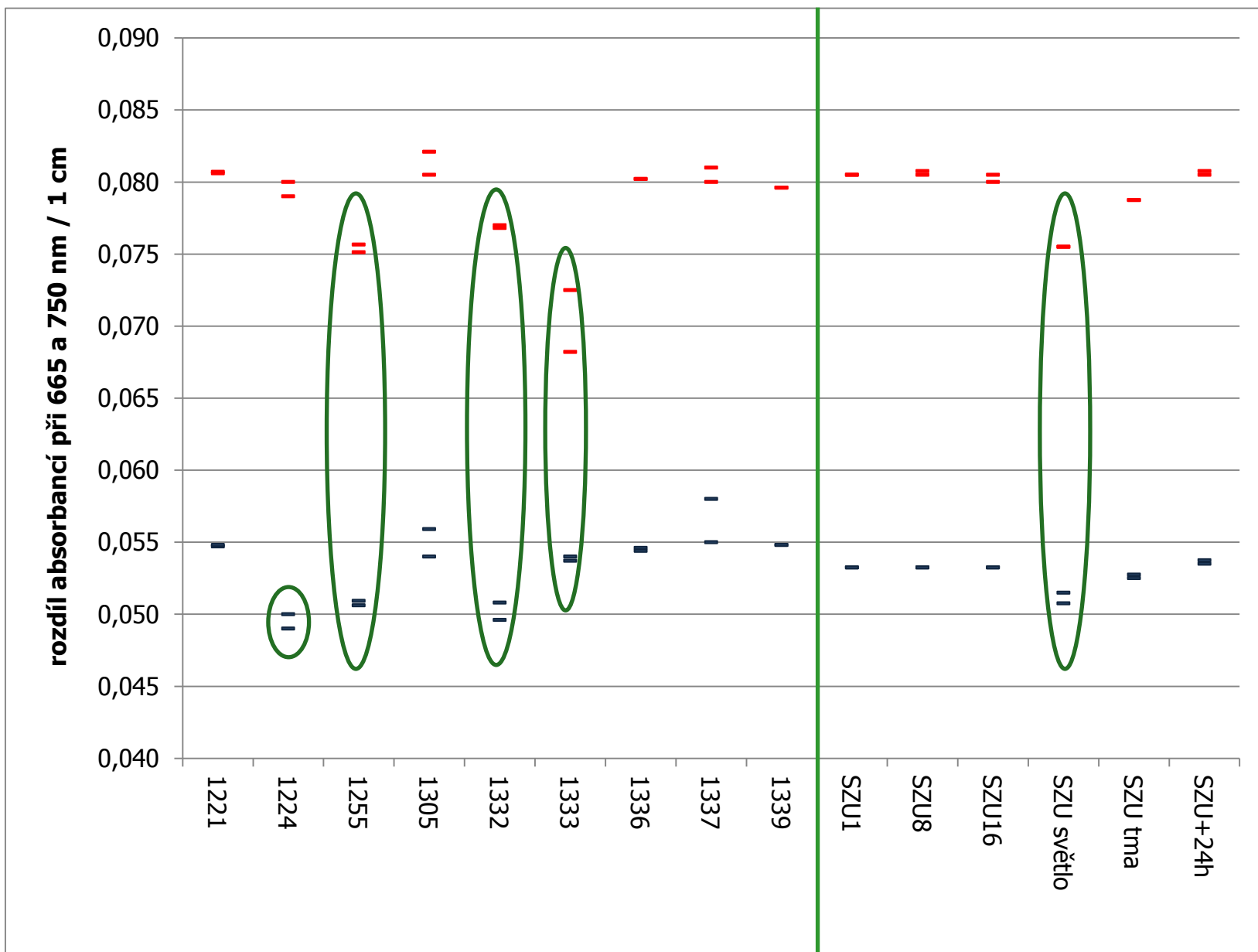
vztažná hodnota: 17,2 µg/l
vztažná odchylka: ±42%
interval správných hodnot: 10 - 24,4 µg/l

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

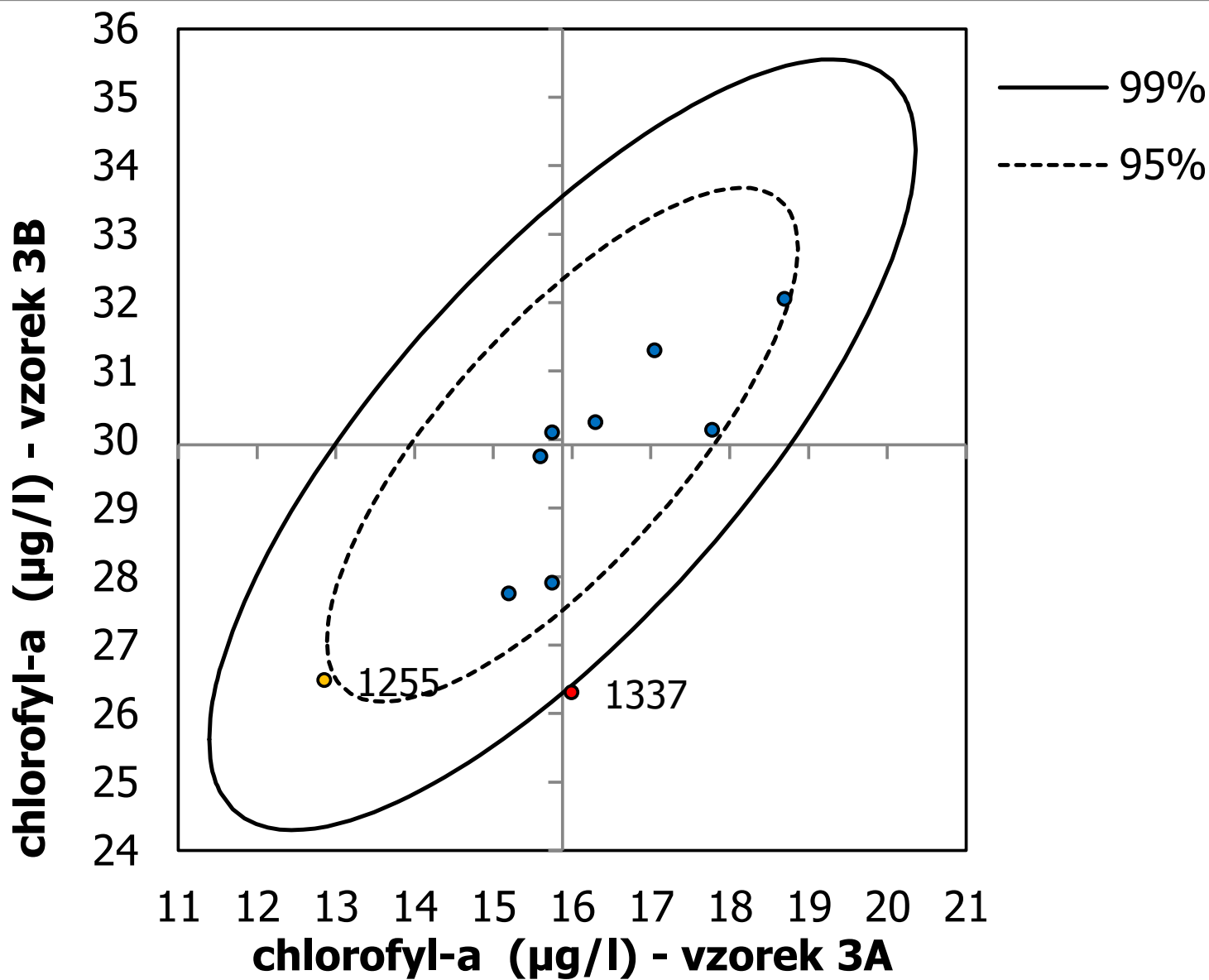
Vzorek 4 (extrakt) – homogenita, stabilita



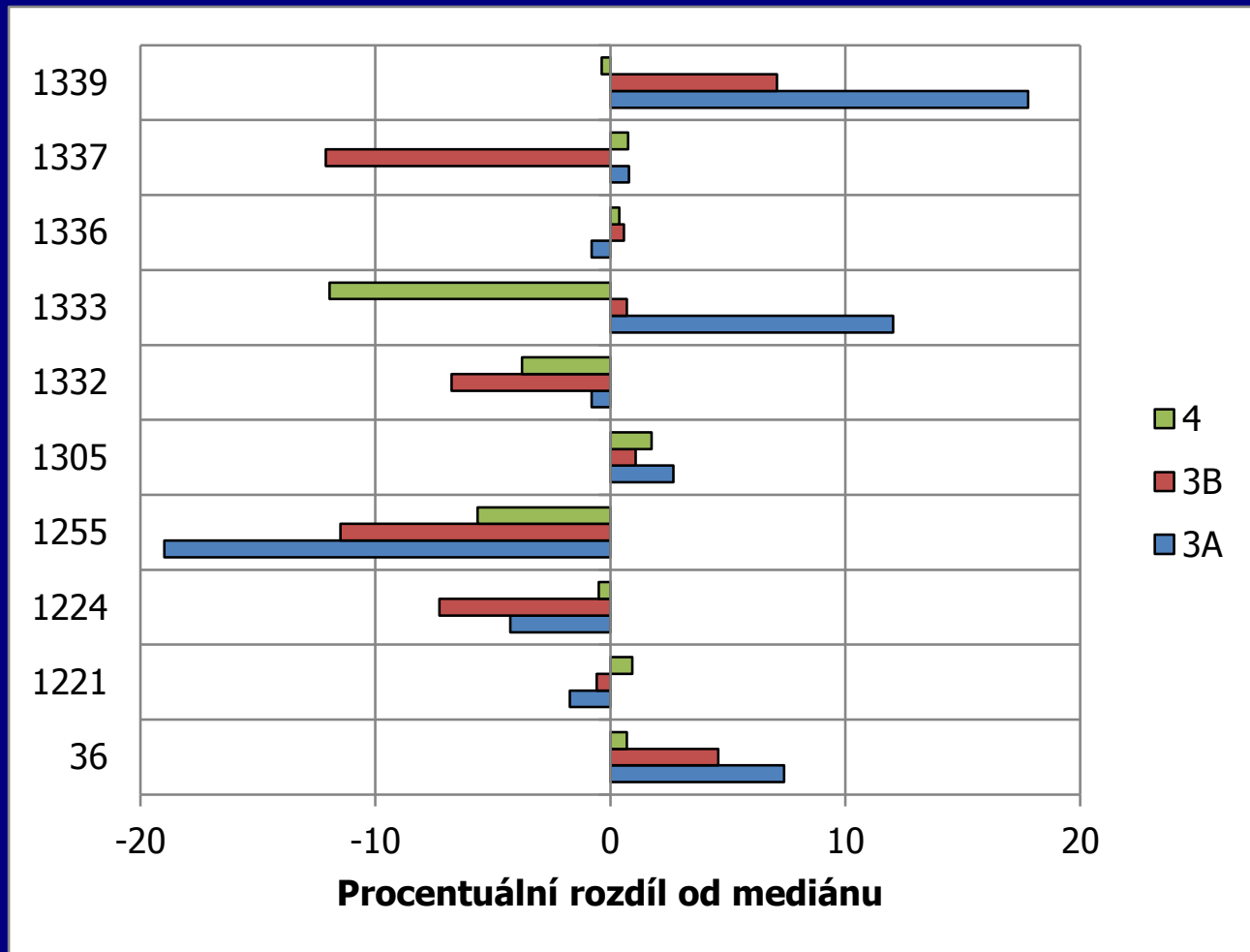
Vzorek 4 - absorbance ($A_{665}-A_{750}$)/1cm



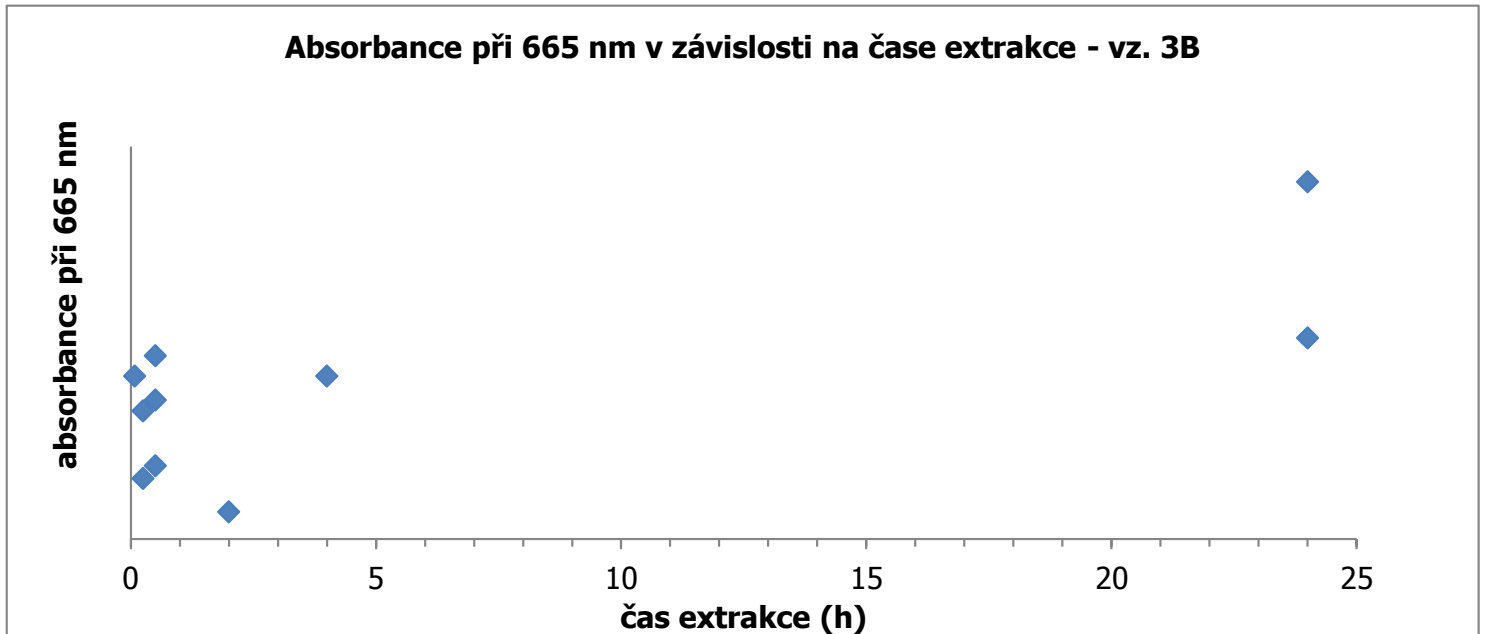
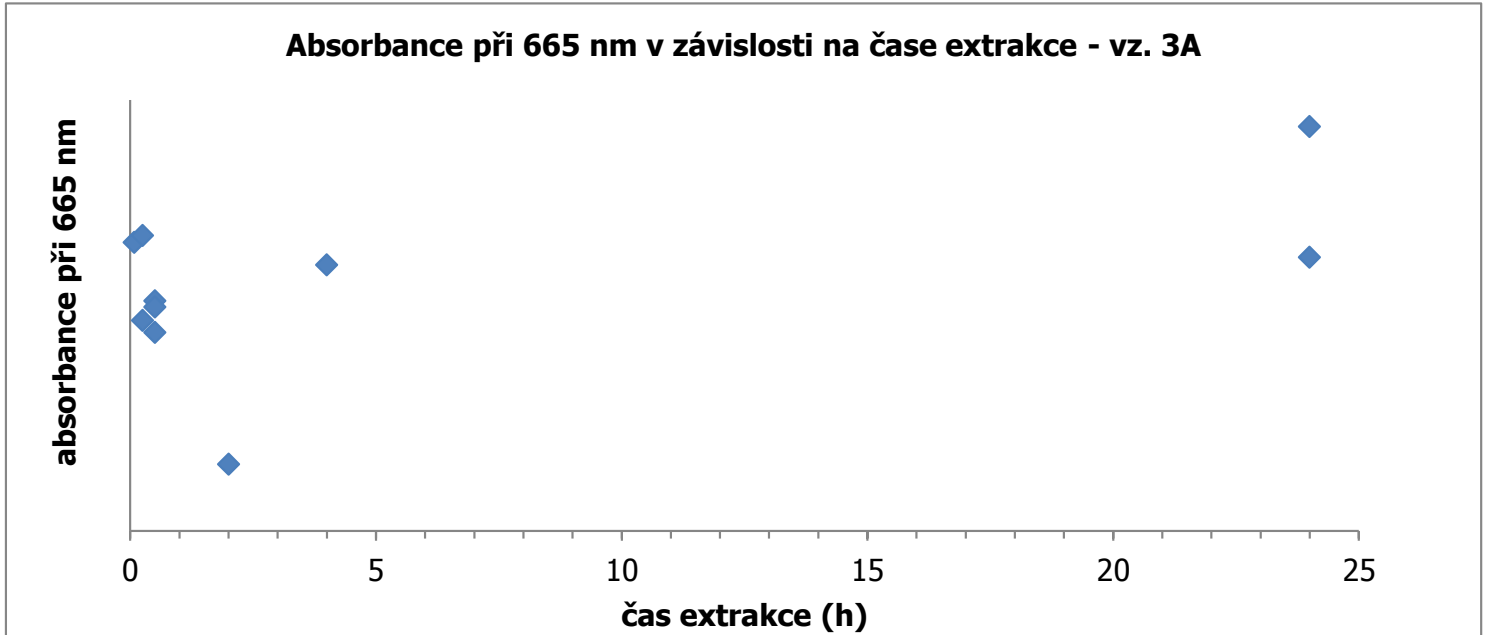
Youdenův graf



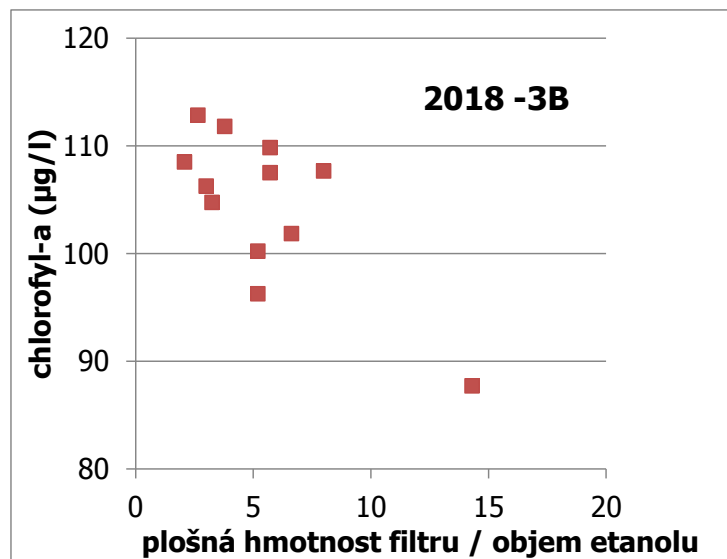
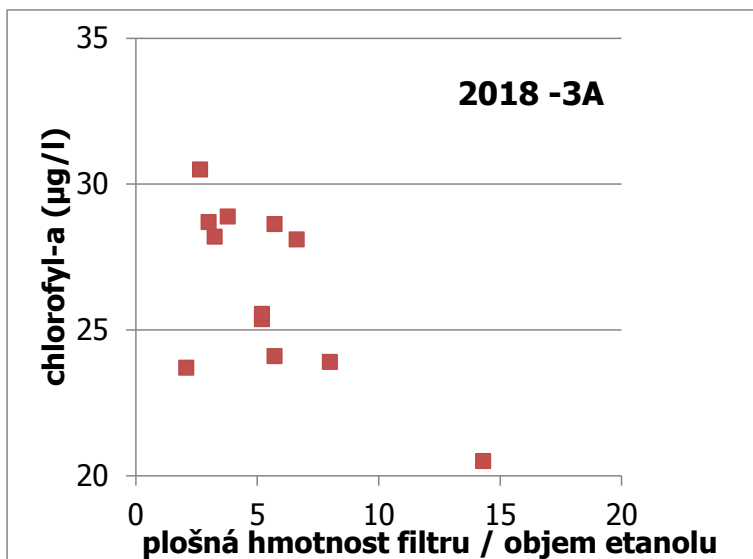
koncentrace chlorofyl-a - všechny 3 vzorky společně (možnost systematické chyby)



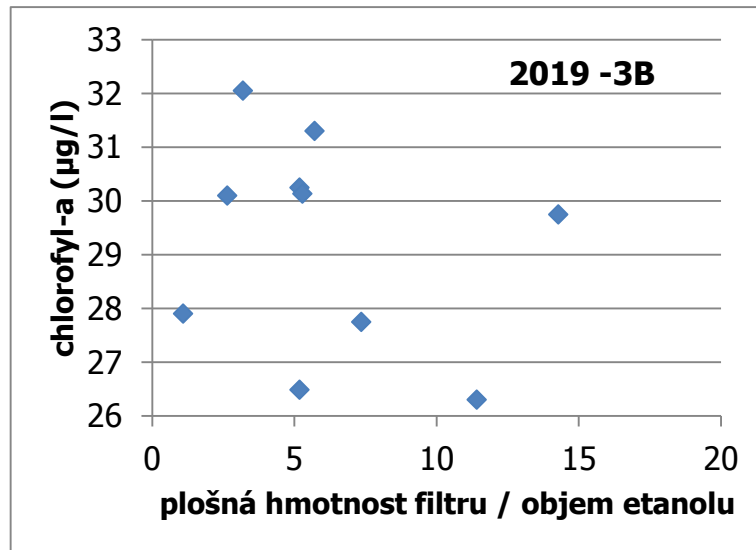
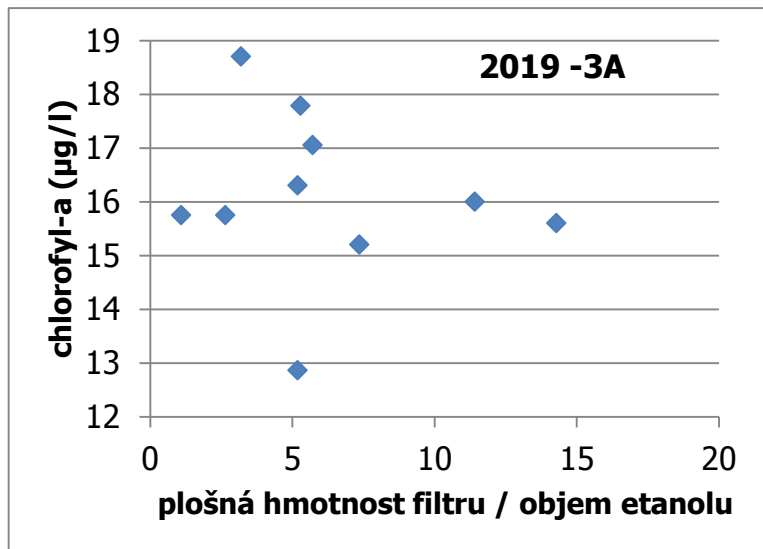
Vliv času extrakce na absorbanci při 665 nm



Výsledky z roku 2018 – čím větší plošná hmotnost filtru a čím menší objem etanolu, tím nižší výsledky – zbytková voda ve filtru naředí extrakt; naředěný etanol navíc možná bude mít i horší vlastnosti při extrakci;



v letošním kole závislost nebyla výrazná



Stanovení chlorofylu a sinic pomocí fluorescence

Dodala jedna
laboratoř

SZÚ - AquaPen-C AP-C 100 (PSI)



<http://psi.cz/products/pocket-sized-instruments/aquapen-c-ap-c-100>

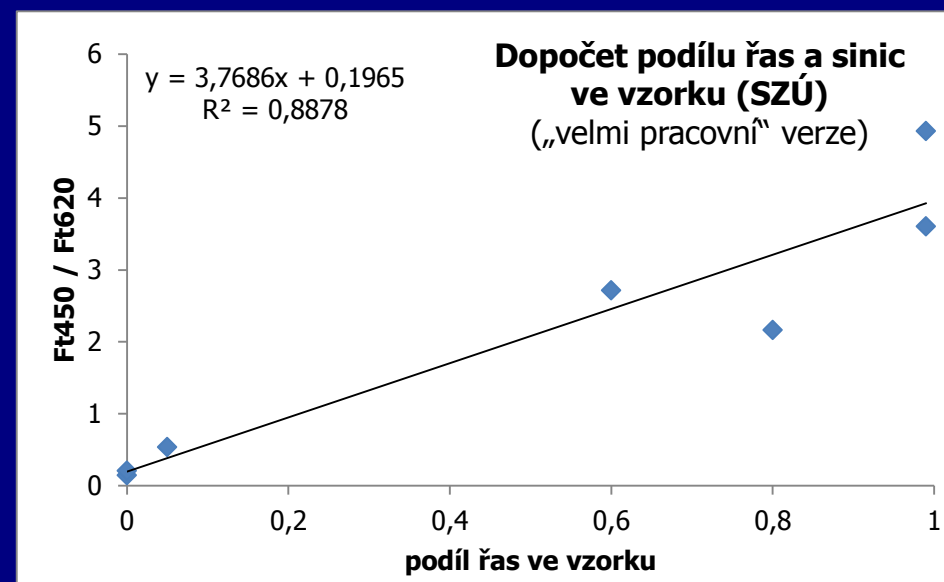
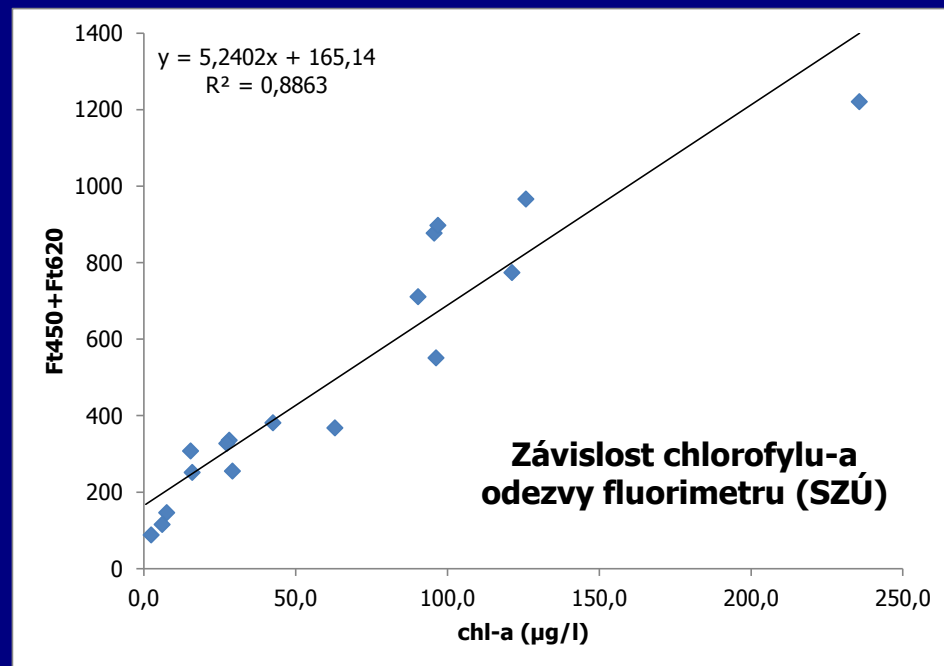
Metodiky

- BVK: Vzorky byly dezintegrovány ultrazvukem, poté byla ve vzorcích změřena fluorescence fykocyaninu a chlorofylu řas. Z těchto hodnot byl stanoven poměr biomasy sinic a řas (kalibrace na sondu FluoroProbe) a také množství chlorofylu-a v $\mu\text{g/l}$ (z výsledků laboratoře byla stanovena závislost chlorofylu-a na součtu fluorescencí fykocyaninu a chlorofylu řas).
- SZÚ: Vzorky měřeny přímo 1 cm kyvetách (450 nm a 620 nm). V sezóně 2019 byl vytvořen vztah chlorofyl-a x Ft a již dříve vztah poměru Ft při 450 a 620 nm a zastoupení řas a sinic ve vzorku (na poměrně malém počtu dat – bude nutno dopracovat)

Fluorescence výsledky SZÚ

Vz.	Ft 450nm	Ft 620nm	Ft450nm+ Ft620nm	Chl-a dopočítaný µg/l
1A	263,7	1396,0	1659,6	285
1B	85,2	799,8	885,0	137
3A	122,2	124,8	247,0	15,6
3B	99,9	129,6	229,5	12,3

Vz.	Ft 450nm / Ft 620nm	Řasy / sinice	Ch-a řasy	Ch-a sinice
1A	0,19	0	0	285
1B	0,11	0	0	137
3A	0,98	0,21	3,2	12,4
3B	0,77	0,15	1,9	10,4



Fluorescence – srovnání výsledků SZÚ, BVK a chlorofylu-a standardní metodou

Hodnoty přepočtené na $\mu\text{g/l}$ chlorofylu-a

Vzorek	SZU	BVK	Chl-a extrakčně
1A	285	191	137
1B	137	61	76
3A	15,6	8	17,1
3B	12,3	14	31,3

Vzorek	SZU - řasy	SZU - sinice	BVK - řasy	BVK - sinice
1A	0	285	78,3	113
1B	0	137	44,5	16,5
3A	3,2	12,4	7,6	0,4
3B	1,9	10,4	13,4	0,6

Novinky, zajímavé taxony a další objekty a jiné (ne)související informace

Prezentovány byly

- Aktuální stav řešení problematiky cerkariové dermatitidy
- Dotazník onemocnění z koupání (2009 - 2019)
- Informace o běžícím projektu TAČR (kvalita koupacích vod a dálkový průzkum Země)
- Opatření na nádržích - ultrazvuk a sinice

Vzhledem k tomu, že většina prezentovaných témat obsahovala pracovní data, nejsou součástí veřejně přístupné prezentace. Zájemcům je možno nezveřejněné části poslat.

Děkuji za účast a snad zase za rok

