

**PT#V/9/2008**

**Stanovení mikroskopického  
obrazu v koupalištích ve  
volné přírodě a stanovení  
chlorofylu-a**

Petr Pumann

*Státní zdravotní ústav*

Praha 26.11.2008

*upraveno pro zveřejnění na internetu (5.12.2008)*

## IDENTITA

### PZZ

Název Stanovení mikroskopického obrazu v koupalištích ve volné přírodě a stanovení chlorofylu-a  
Předmět voda koupaliště přírodní  
Program biologický rozbor  
PT# V-9-2006  
Vydáno dne 28. listopadu

### Pořadatel

Adresa Státní zdravotní ústav  
Šrobárova 48  
Praha 10 Vinohrady  
PSČ 10042  
IČO 75010330  
Kontakt Mgr. Petr Pumann  
Posice koordinátor ESPT  
Telefon 267082220  
Fax 267082271  
E-mail [petr.pumann@szu.cz](mailto:petr.pumann@szu.cz)  
www [www.szu.cz/chzp/voda/pt/](http://www.szu.cz/chzp/voda/pt/)

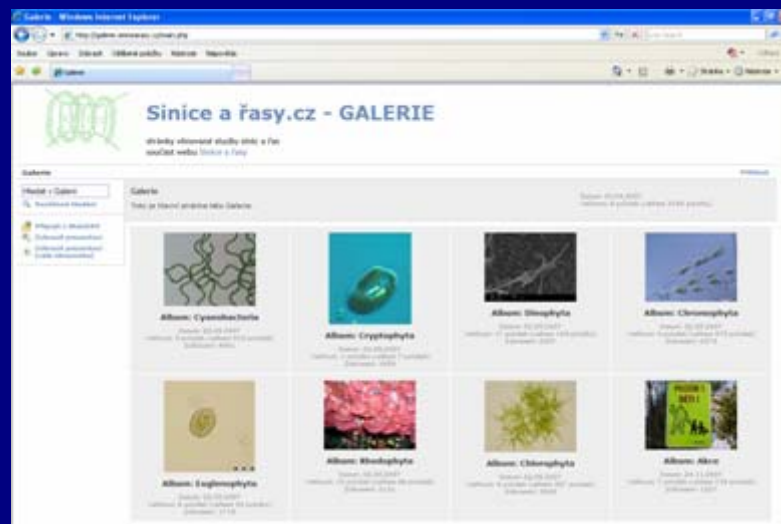
### Účastník

Adresa Státní zdravotní ústav Praha  
Šrobárova 48  
Praha 10 - Vinohrady  
PSČ 10042  
IČO 75010330  
Kontakt Mgr.Petr Pumann  
Posice vedoucí biologie  
Telefon 267082220  
Interní Id lab **596**  
Externí Id lab

**kód účastníka, pod kterým je  
veden v celé zprávě**

# Literatura – „novinky“

- [www.sinice.cz](http://www.sinice.cz)
  - Atlas fyto bentosu
  - Prezentace z determinačních seminářů
- [www.chzechphycology.cz](http://www.chzechphycology.cz)
  - Časopis Fottea
- [www.sinicearasy.cz](http://www.sinicearasy.cz)



# Počet účastníků

- stanovení mikroskopického obrazu  
15 účastníků
- stanovení chlorofylu-a  
12 účastníků

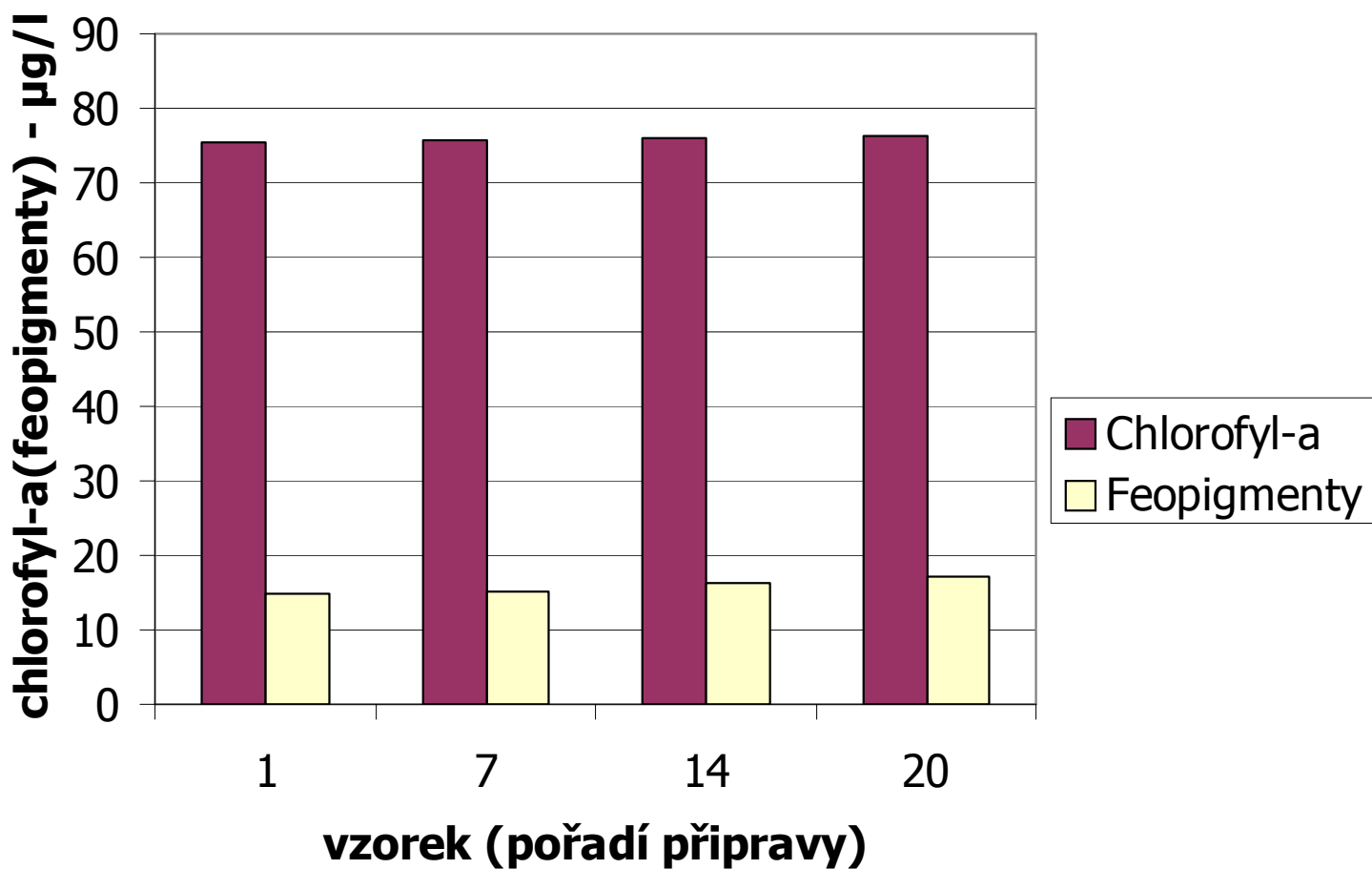
# Chlorofyl-a a feopigmenty

## Příprava vzorků:

- zdroj: rybník ve Voznici u Dobříše
- vysoká koncentrace chlorofylu-a → filtrace vzorku planktonní sítí
- mícháno ve 120 litrovém barelu
- celkem připraveno 20 vzorků
- SZÚ zpracování vzorků 1, 7, 14, 20



# Výsledky SZÚ – kontrola homogenity



# Chlorofyl-a a feopigmenty

## Stanovení vztažných hodnot

- Vztažná hodnota počítána jako aritmetický průměr z výsledků terčových laboratoří a průměru výsledků laboratoře SZÚ (zpracovávala 4 vzorky)
- Vztažná odchylka pro chl-a ( $\pm 15\%$ ), pro feopigmenty směrodatná odchylka z výsledků terčových laboratoří (včetně SZÚ)

# Vztažné hodnoty

## ➤ Chlorofyl-a:

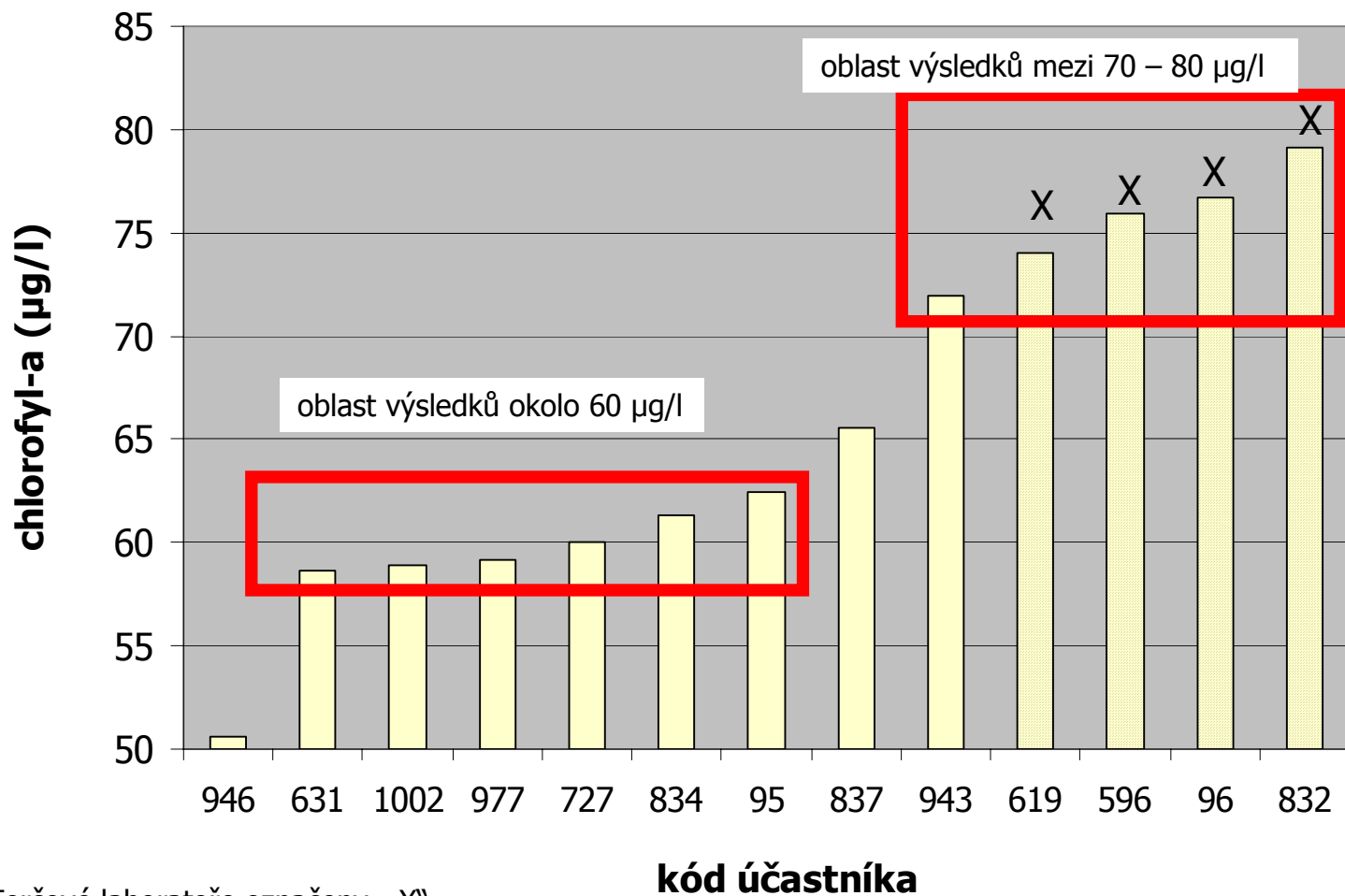
- vztažná hodnota: 76,42  $\mu\text{g/l}$
- meze pro správné hodnoty: 64,96 – 87,88  $\mu\text{g/l}$
- uspělo jen 5 z 12 účastníků

## ➤ Feopigmenty:

- vztažná hodnota: 18,31  $\mu\text{g/l}$
- meze pro správné hodnoty: 11,09 - 25,53  $\mu\text{g/l}$
- uspělo 9 z 10 účastníků



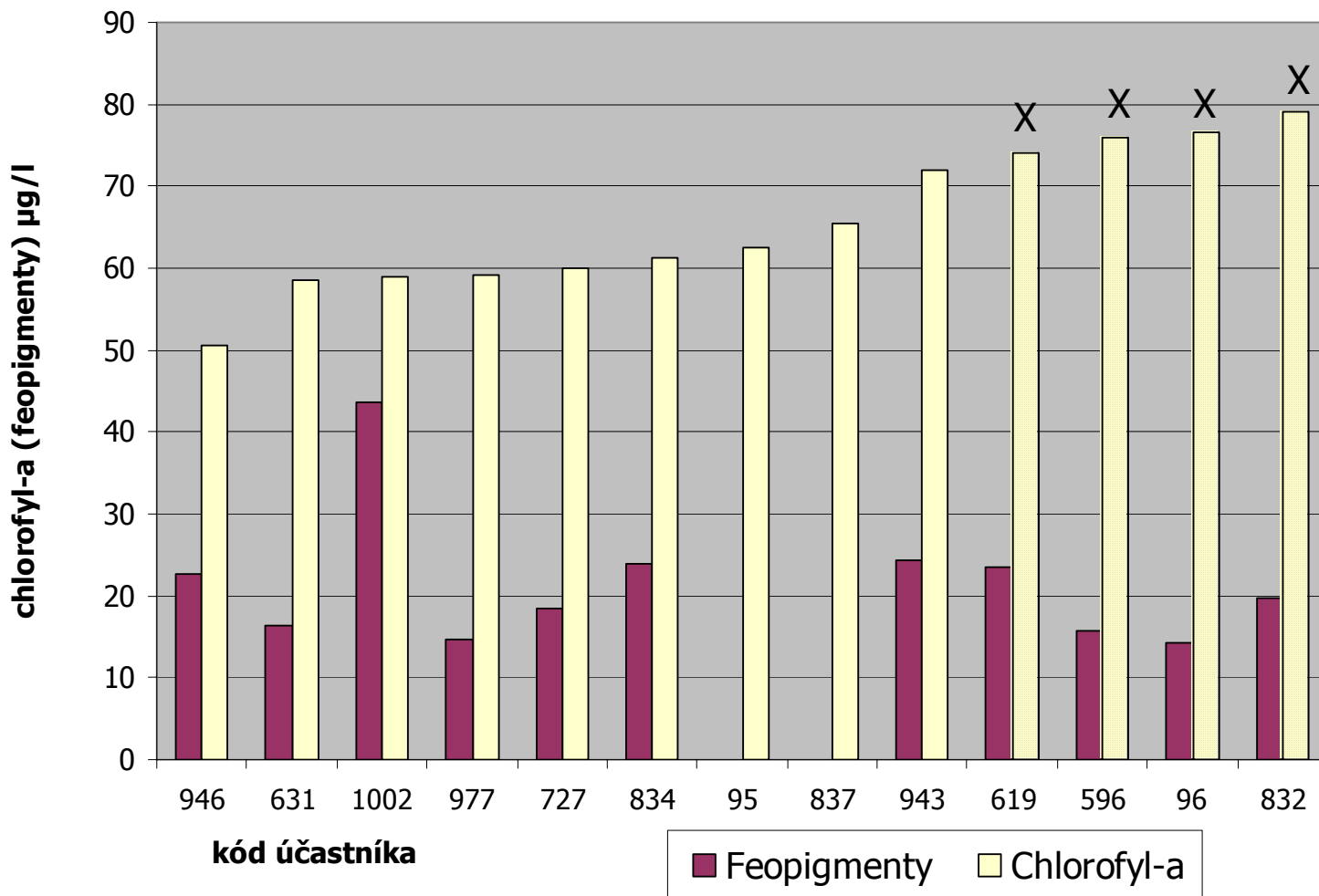
# Chlorofyl



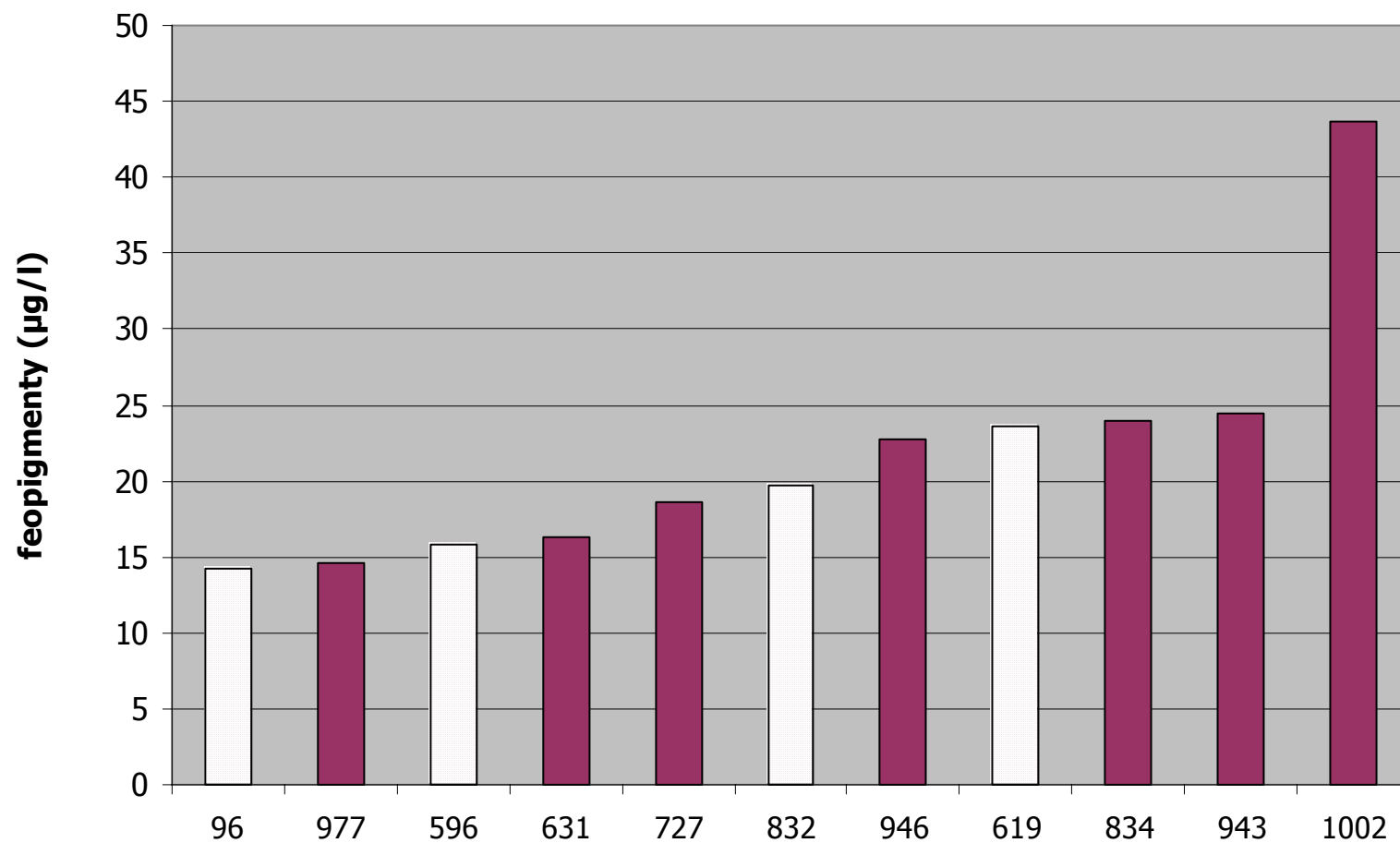
Terčové laboratoře označeny „X“

# Chlorofyl a feopigmenty - 2008

Terčové laboratoře označeny „X“



# Feopigmenty - 2008



Terčové laboratoře  
světlé sloupce

**kód účastníka**

# Chlorofyl – možné problémy s metodou

- některé laboratoře nemají dobře vyladěný poměr objemu vzorku, extrakčního činidla a optické dráhy kyvety
- příliš vysoká absorbance ( $>0,8$ )
- nedostatečná extrakce
- problémy při okyselování

# Změny v programu pro příští rok?

- dva vzorky o různých koncentracích
- vzorek extraktu

# Kvantitativní rozbor sinic

# Příprava vzorků

## Vzorek 1A

- *Planktothrix agardhii*
- Vyžlovka 16.9.2008
- silně oživené



## Vzorek 1B

- *Microcystis* spp., *Woronichinia*, příměs vláknitých sinic
- Koryto v Dobříši 15.9.2008
- před plněním filtrace přes gázu k odstranění největších kolonií



# Kvalitativní rozbor – vzorek 1A

- dominuje *Planktothrix agardhii*
- příměs krásnoočka, zelené řasy ...



*Planktothrix agardhii*





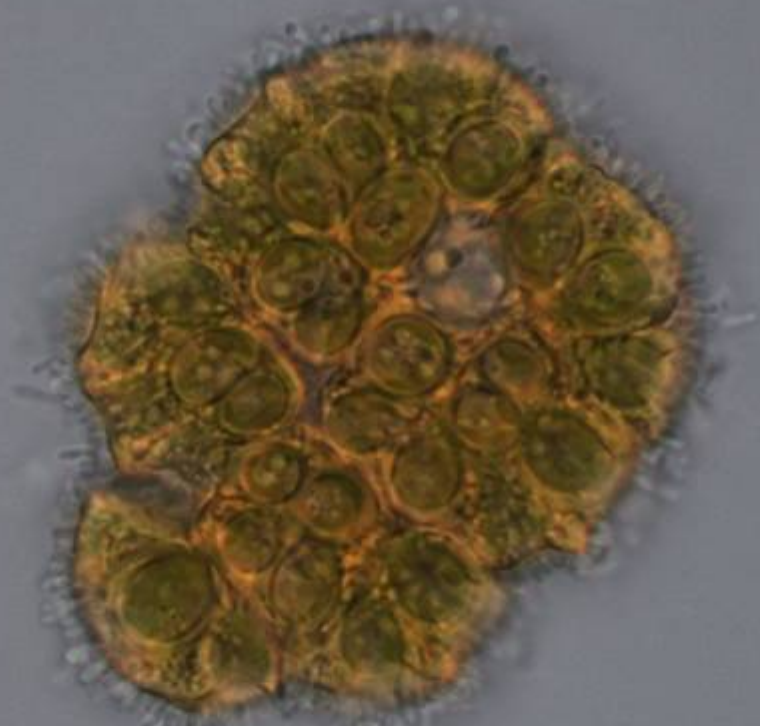
*Trachelomonas*

*Phacus*





*Lepocinclis*



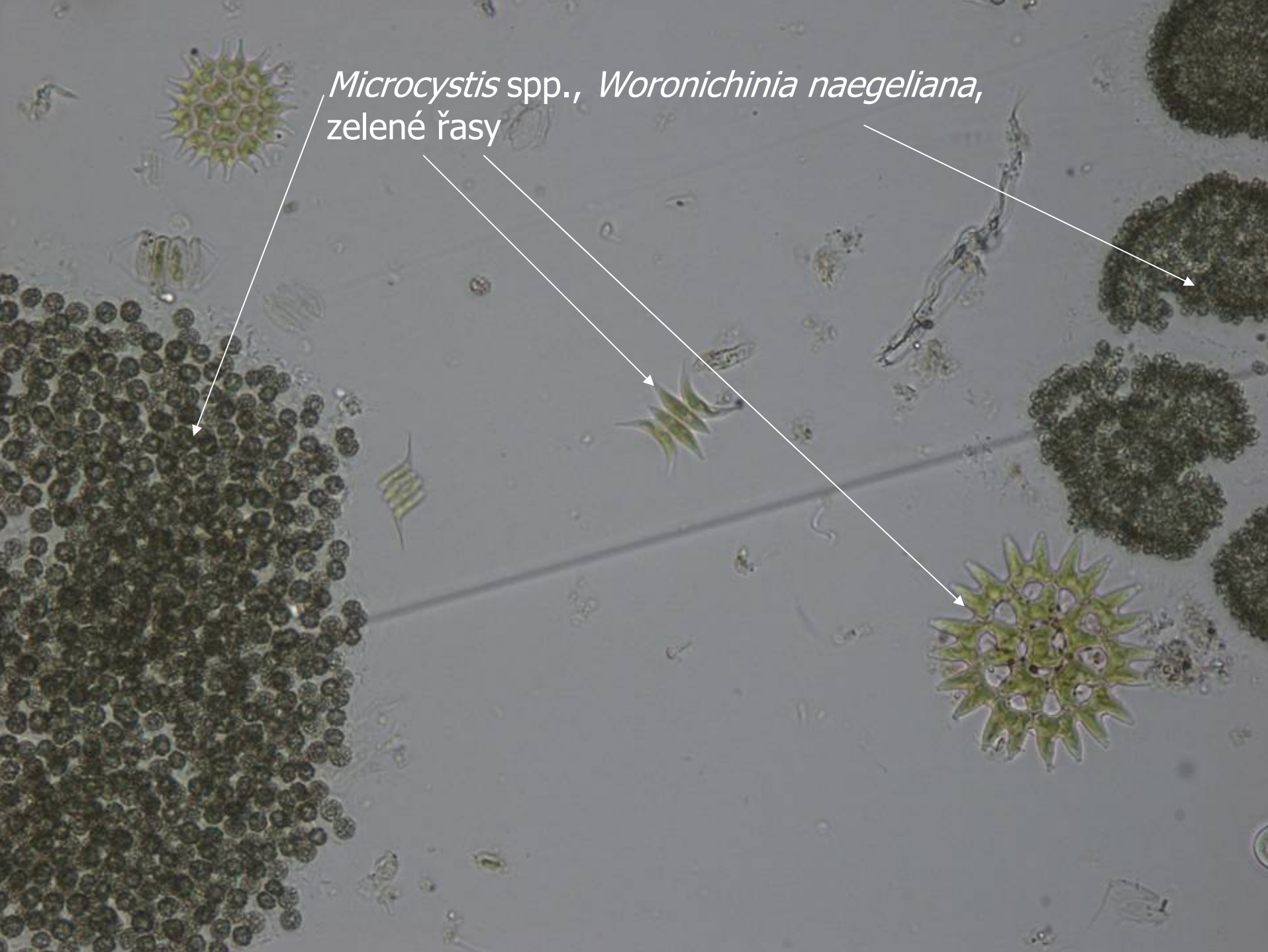
*Botryococcus*

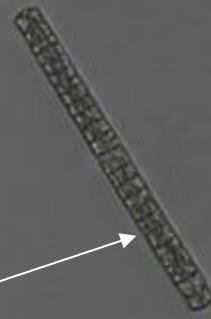
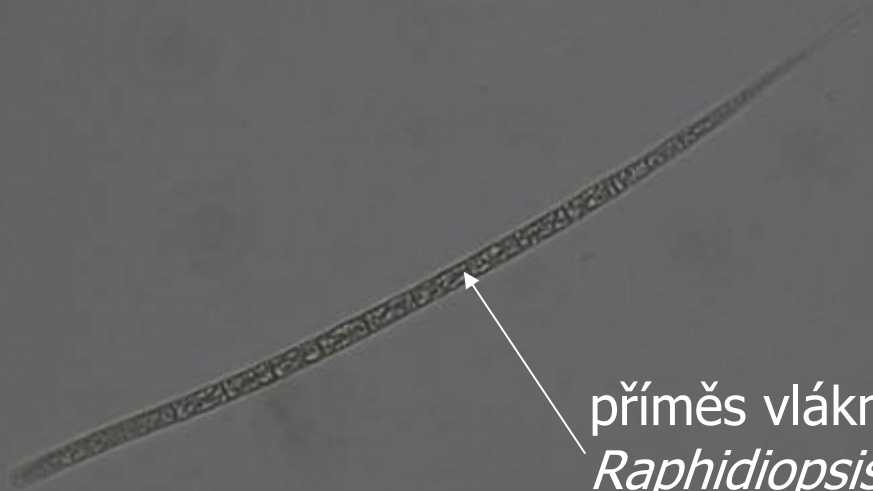
# Kvalitativní rozbor – vzorek 1B

*Microcystis* spp., *Woronichinia naegeliana*,



*Microcystis* spp., *Woronichinia naegeliana*,  
zelené řasy





příměs vláknitých sinic  
*Raphidiopsis*?; *Planktothrix*

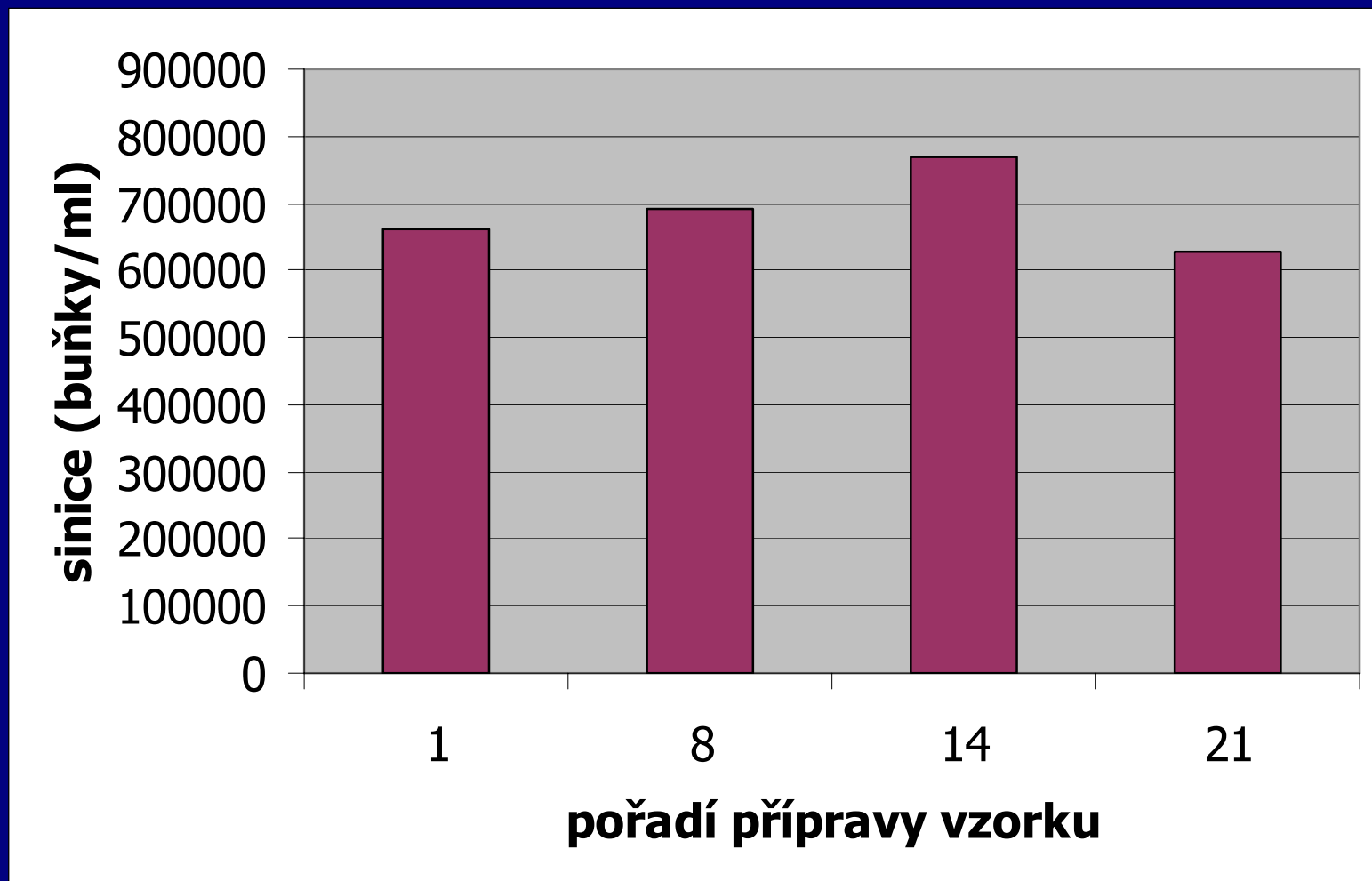
# Vzorky 1 - zajištění homogenity

- promícháno v 5 litrovém barelu se spodním výpustním kohoutek
- celkem připraveno 21 vzorků
- SZU zpracování vzorků 1, 8, 15, 21

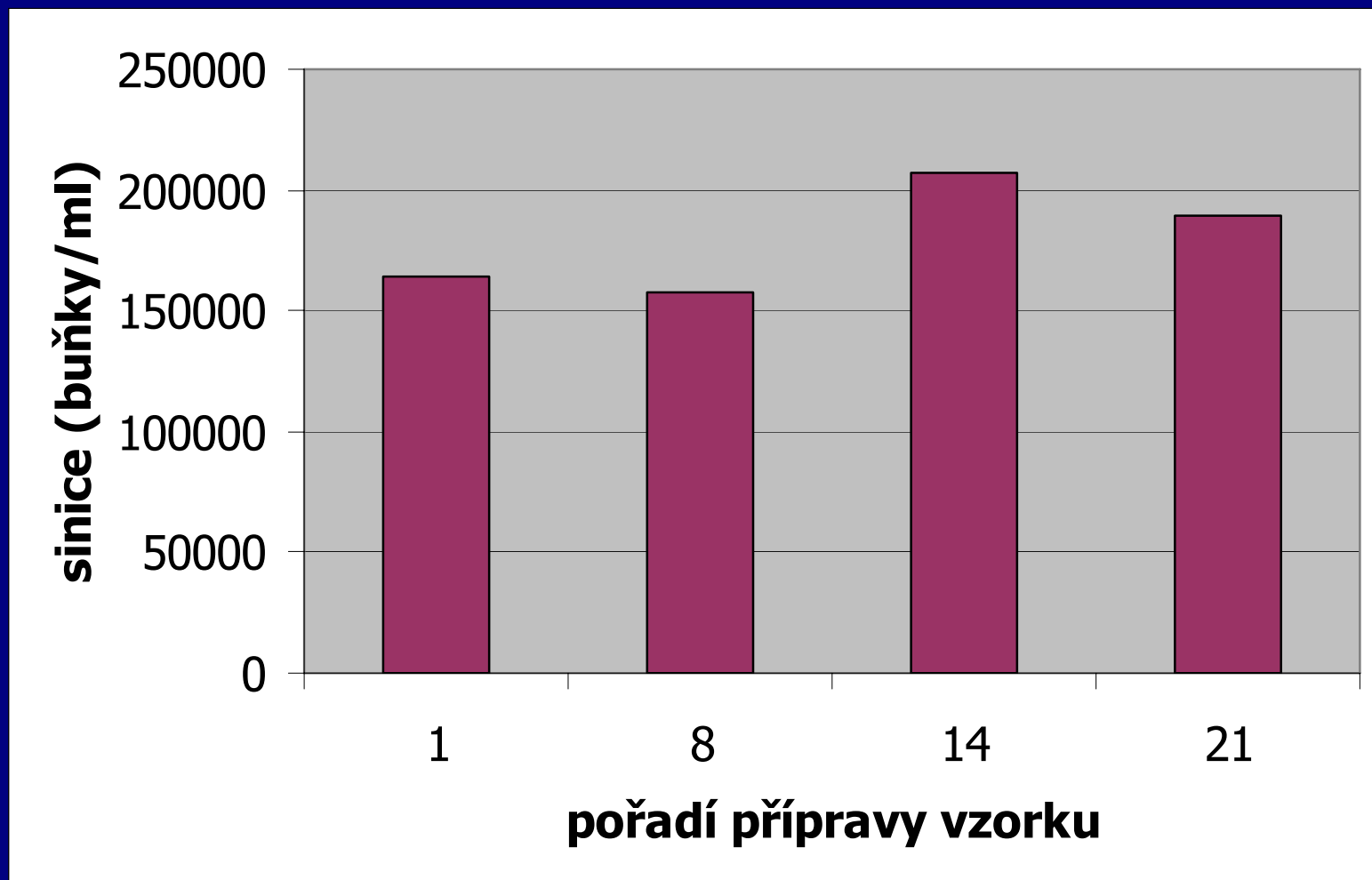




# Vzorek 1A – homogenita



# Vzorek 1B – homogenita



# Stanovení vztažných hodnot

- předem vybráno 5 terčových laboratoří, které dodávaly „dobré výsledky“ během předchozích kol + osobní zkušenost s lidmi, kteří stanovení provádějí
- terčovým laboratořím nebylo předem sděleno, že byly vybrány pro stanovení vztažných hodnot
- každá jen jeden náhodně vybraný vzorek
- laboratoř SZÚ dodala pouze průměr svých stanovení

# Vztažné hodnoty

## Vzorek 1A

vztažná hodnota: 710 000 buněk/ml

vztažná odchylka: směrodatná odchylka z výsledků terčových laboratoří

správné hodnoty: 457 992 – 962 008 buněk/ml

## Vzorek 1B

vztažná hodnota: 239 411 buněk/ml

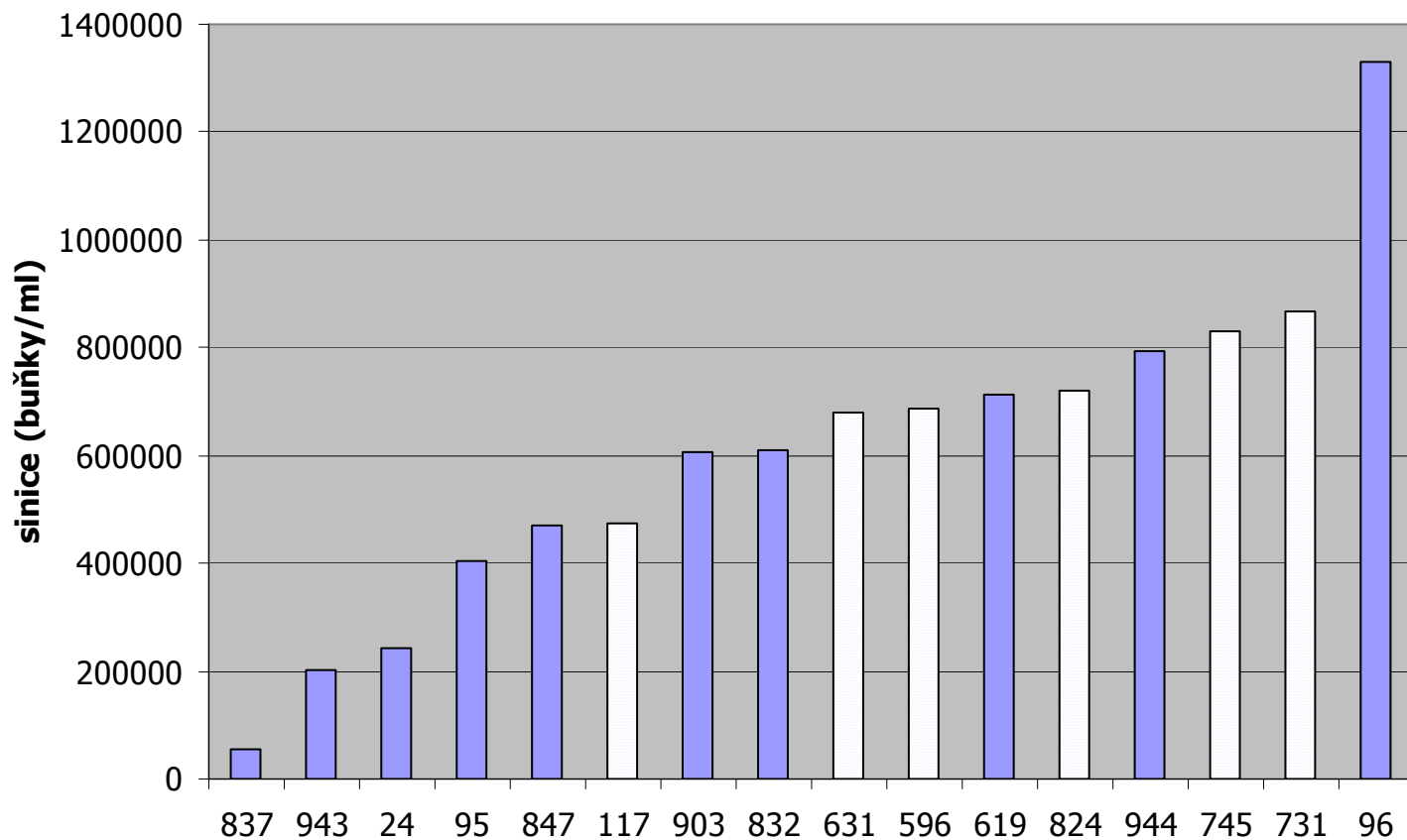
vztažná odchylka: směrodatná odchylka z výsledků terčových laboratoří

správné hodnoty: 53 311 – 425 511 buněk/ml

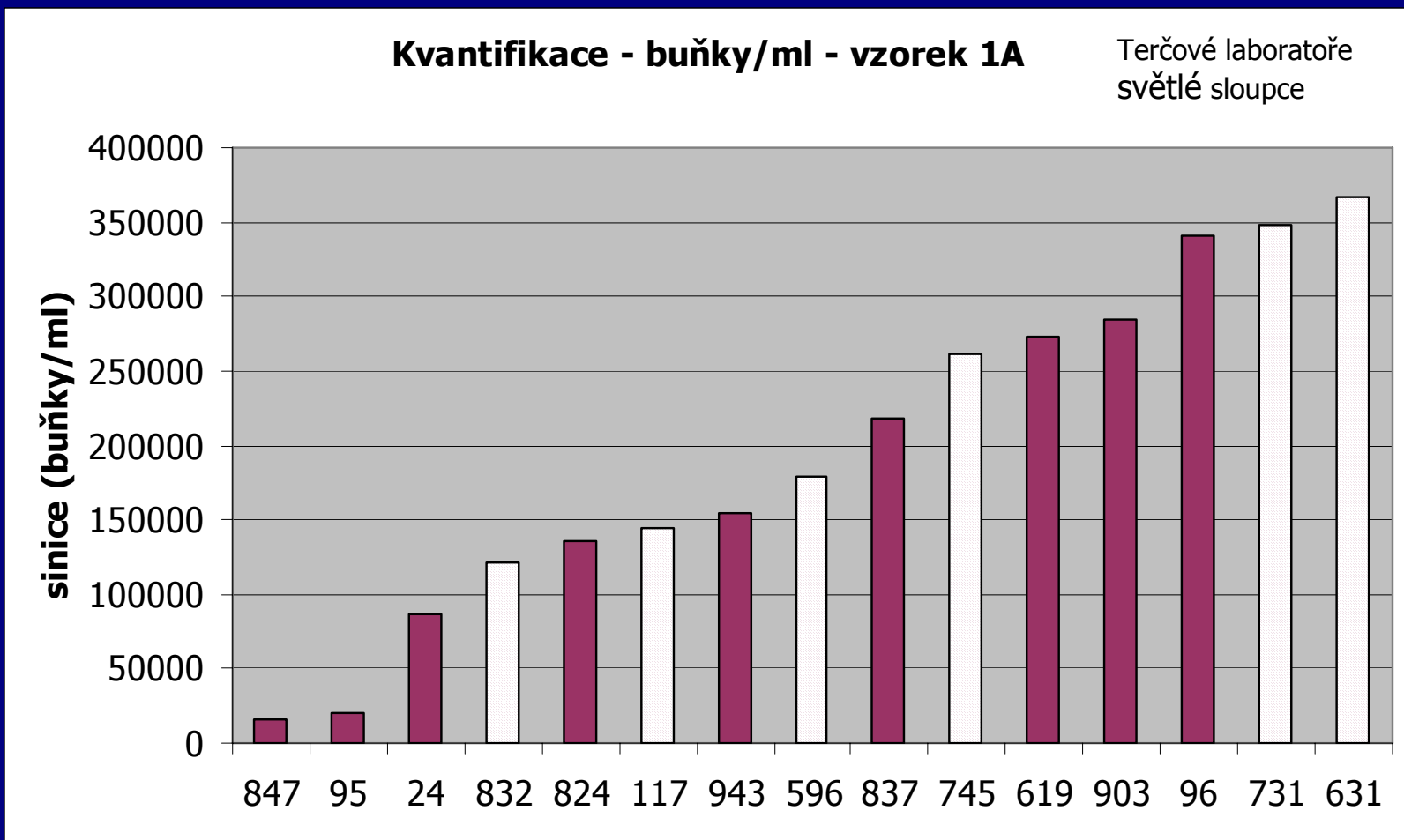
# Kvantifikace sinic – vz.1A - vláknité

Kvantifikace - buňky/ml - vzorek 1A

Terčové laboratoře  
světlé sloupce



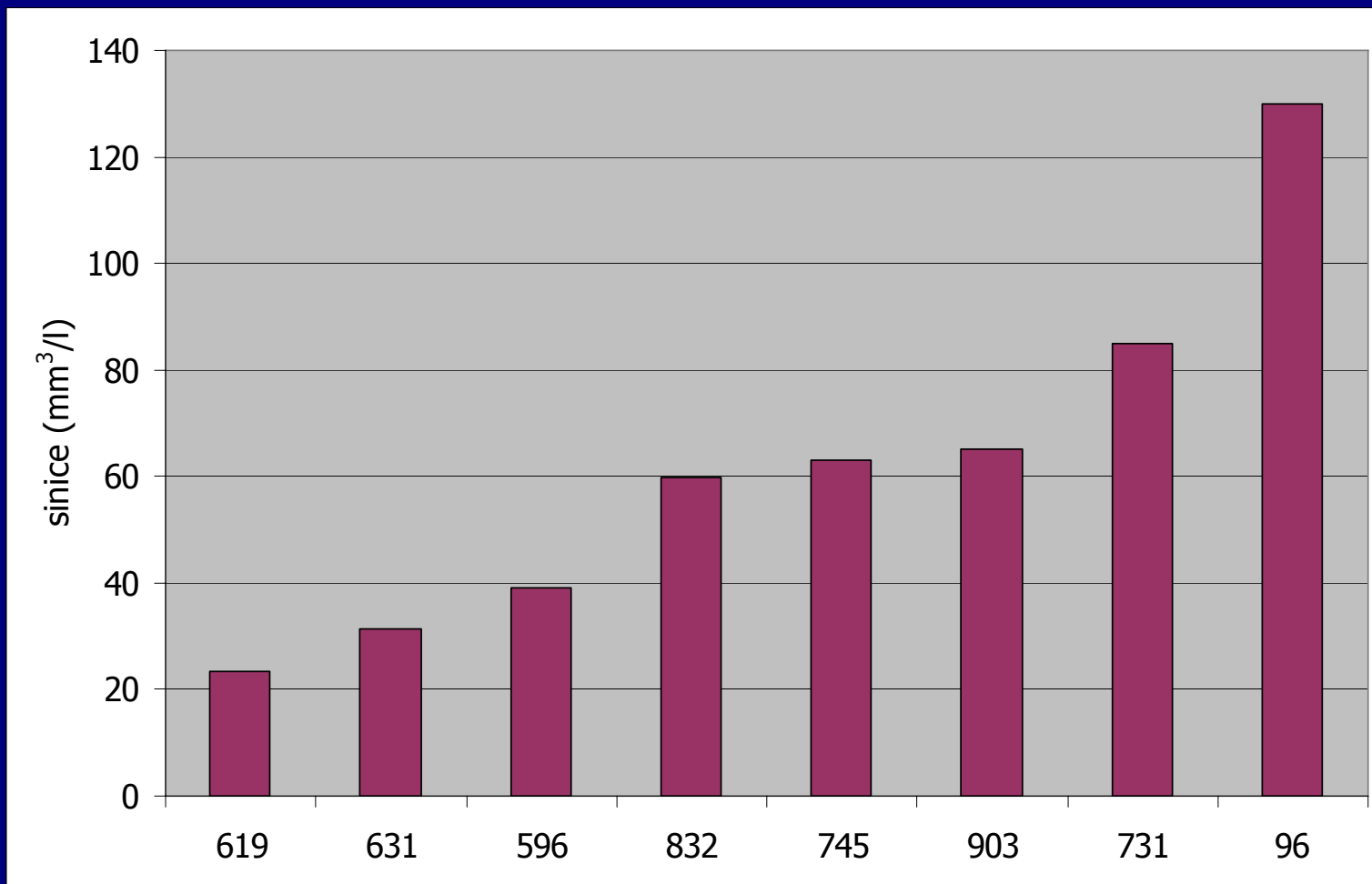
# Kvantifikace sinic – vz.1B - kokální



# Metodické poznámky

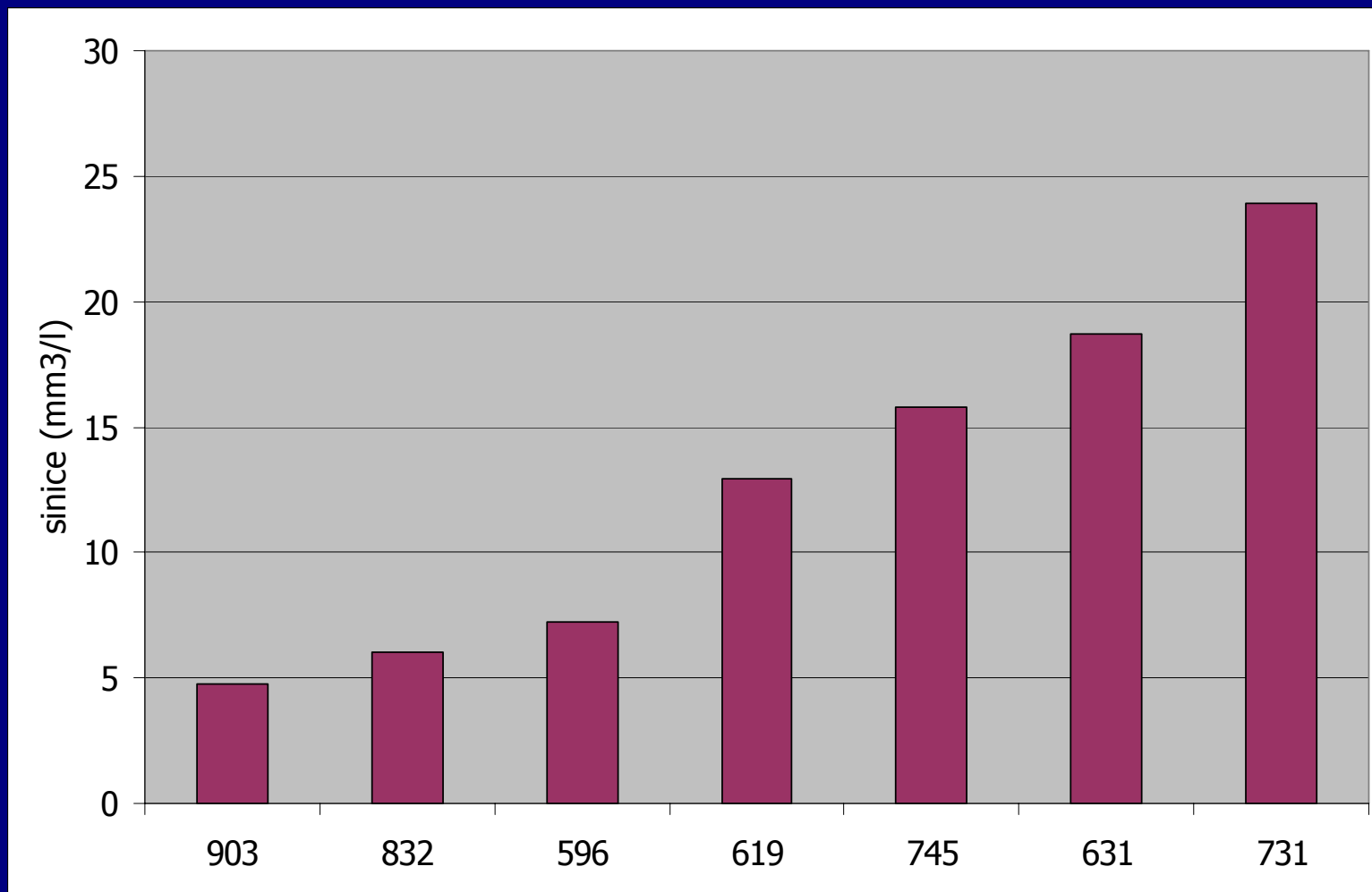
- Ztráty při zahuštění odstředěním u dezintegrovaných vzorků kokálních sinic
- Vlákňité sinice – při plnění komůrky kápnutím na mřížku a následném přikrytí krycím sklem vznikají místa s vysokými počty vláken a výsledky stanovení jsou obvykle vyšší než při plnění komůrky z boku.

# Objemová biomasa – vzorek 1A





# Objemová biomasa – vzorek 1B



# Kvalitativní rozbor sinic

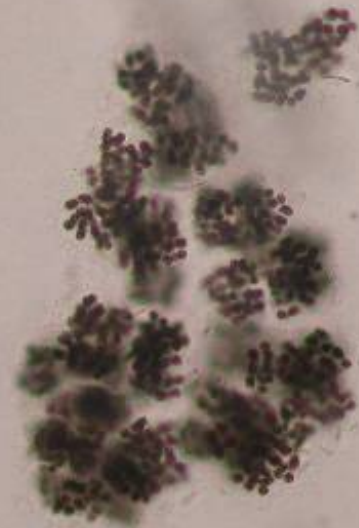
# Vzorek 2A

- odběr
  - Brno
  - září 2002
  - vodní květ
- hodnocené taxony
  - *Microcystis viridis*
  - *Microcystis aeruginosa*

*Microcystis aeruginosa*



*Microcystis viridis*



*Microcystis wesenbergii*



*Microcystis aeruginosa*



## Vzorek 2B

### ➤ odběr

- pískovna v Ovčárech u Kostelce nad Labem
- srpen 2002
- planktonní síť 40  $\mu\text{m}$

### ➤ hodnocené taxony

- *Woronichinia naegeliana*

*Woronichinia naegeliana*



*Anabaena smithii*



*Microcystis wesenbergii*



*Microcystis aeruginosa*



## Vzorek 2C

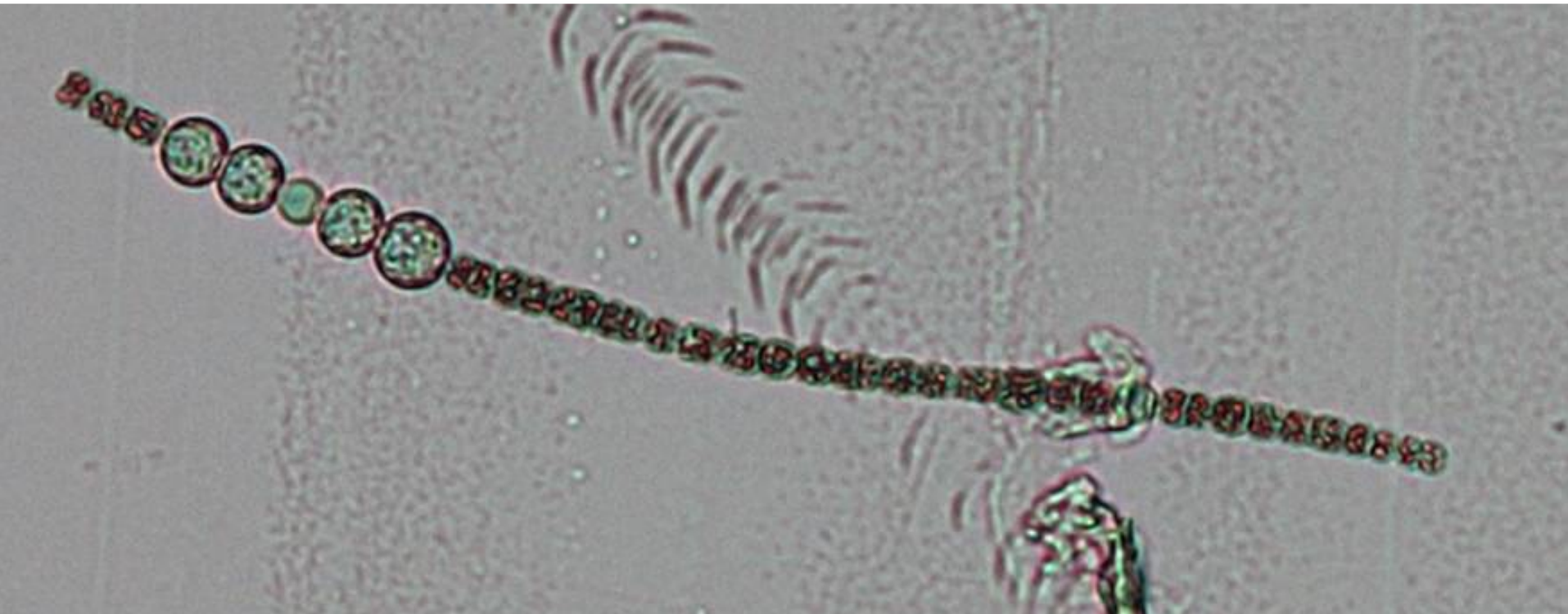
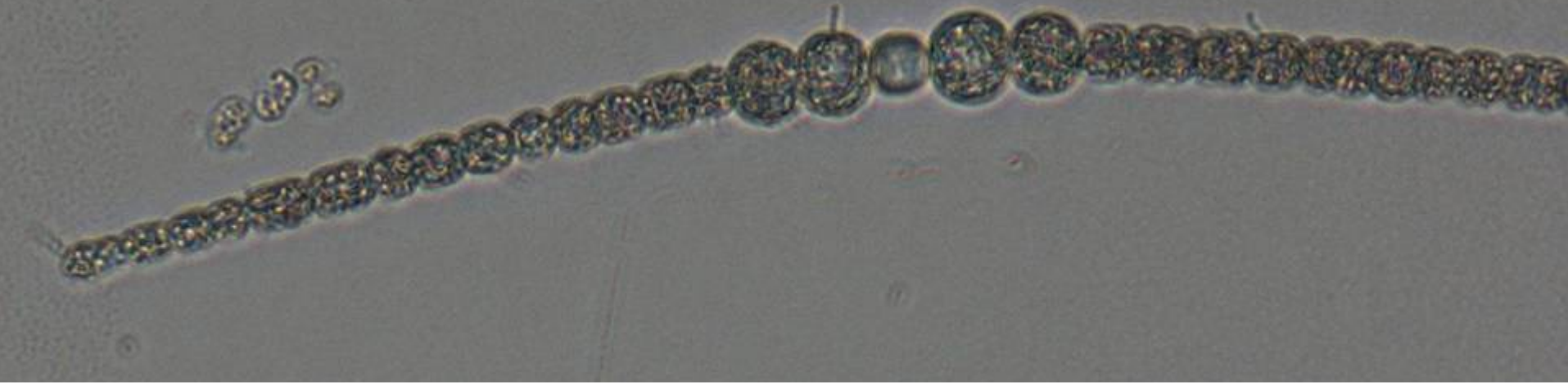
### ➤ odběr

- Hostivař
- červenec 2008
- planktonní síť 20  $\mu\text{m}$

### ➤ hodnocené taxony

- *Aphanizomenon aphanizomenoides*

*Aphanizomenon aphanizomenoides*





## Vzorek 2D

### ➤ odběr

- Proboštská jezera (Očko)
- září 2008
- planktonní síť 40  $\mu\text{m}$

### ➤ hodnocené taxony

- *Microcystis wesenbergii*
- *Planktolyngbya (limnetica)*
- *Cylindrospermopsis raciborskii*

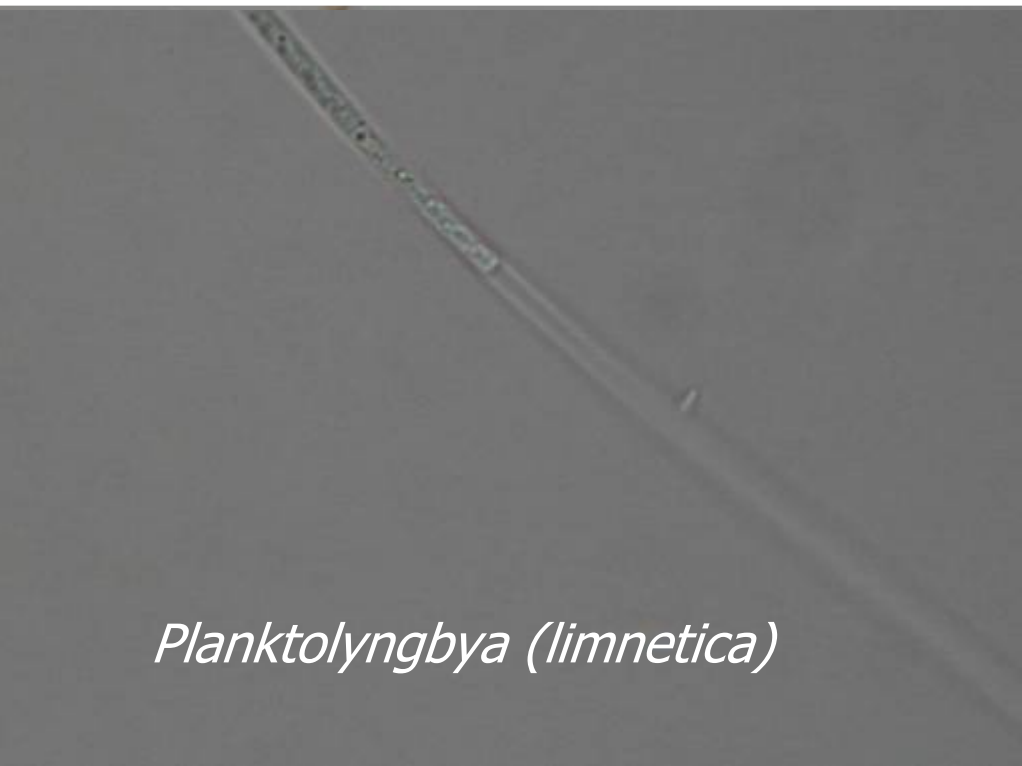
*Microcystis wesenbergii*



*Cylindrospermopsis raciborskii*



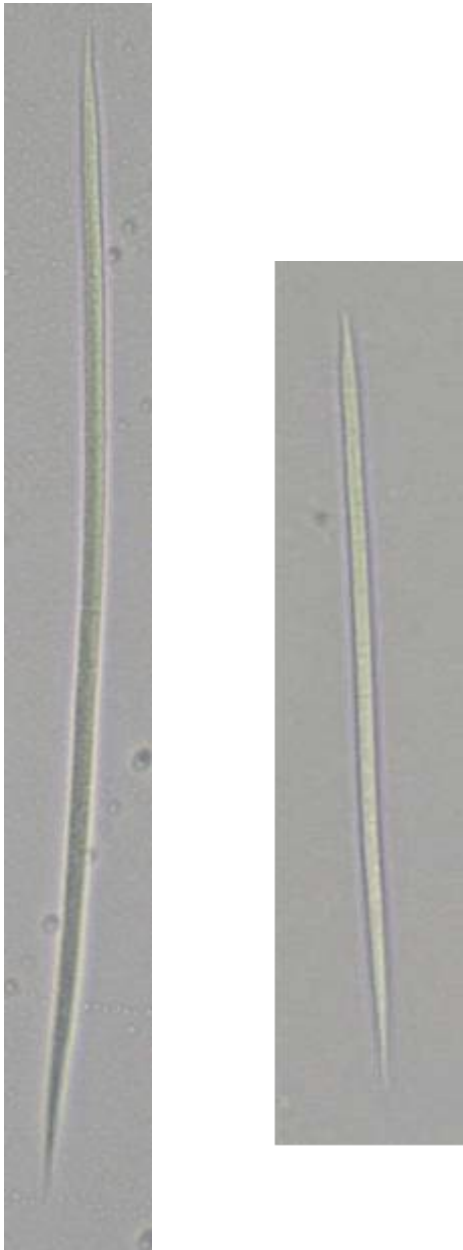
*Planktolyngbya (limnetica)*



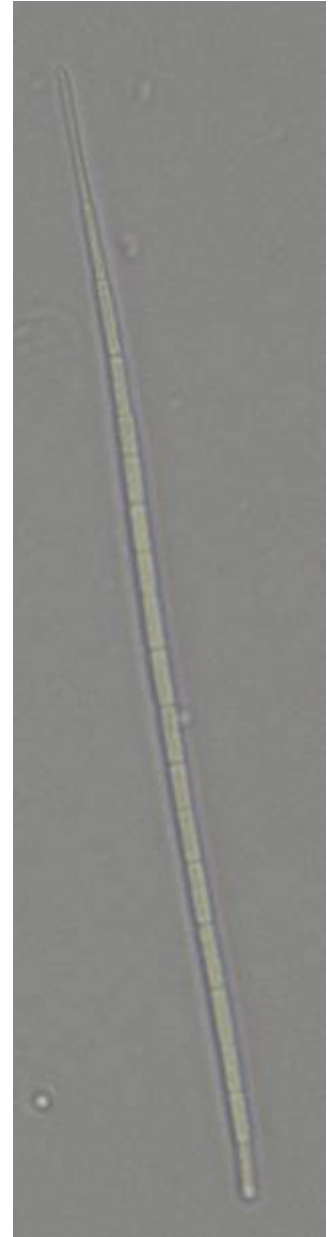
# DODATKY

## Zajímavé taxony sinic

Hostivař, 6.8.2007 12:00; šířka všech vláken kolem 2,5 μm



*Raphidiopsis mediterranea*



*Cuspidothrix (Aphanizomenon) issatschenkoi*

# Velké kolonie *Microcystis ichthyoblabe*







# DODATKY

Změny v metodické normě  
ČSN 75 7717 x TNV 75 7717



- TNV – ČSN
- upřesnění textu
- další způsoby dezintegrace
- P.mucicola (nepočítá se)
- QA/QC

# DODATKY

## Novinky v legislativě

# Směrnice 7/2006/ES

## čl. 2 Definice

**11.** „Rozmnožením sinic“ se rozumí nahromadění sinic ve formě květu, koberce nebo pěny.

## čl. 8 Rizika související se sinicemi

1. Naznačuje-li profil vod ke koupání možnost rozmnožení sinic, provede se odpovídající monitorování, aby bylo možno včas určit zdravotní rizika.

2. Dojde-li k rozmnožení sinic a byla-li zjištěna nebo předpokládají-li se zdravotní rizika, přijmou se neprodleně přiměřená opatření řízení, aby se zabránilo vystavení tomuto riziku, včetně informování veřejnosti.

## čl. 16 Technická přizpůsobení a prováděcí opatření

Postupem uvedeným v čl. 16 odst. 2 se rozhodne o:

b) stanovení prováděcích pravidel k čl. 8 odst. 1,

**Příloha III.:** Profil vod ke koupání uvedený v článku 6 obsahuje:

c) posouzení možného rozmnožení sinic;

# Návrh novely vyhlášky č. 135/2004 Sb. - pasáže věnované sinicím

## § 6

# Pravidla pro monitorování výskytu sinic

- (1) Všechna přírodní koupaliště musí být sledována v rozsahu uvedeném v tabulce č. 1 přílohy č. 4 a v četnosti dle § 8. Pokud je překročena limitní hodnota pro ukazatel vodní květ a/nebo pro ukazatel průhlednost, je nutné provést stanovení podle odst. 2.

Ukazatel	Jednotka	Limit	Vysvětlivky
průhlednost	m	1	1
vodní květ	stupeň	<del>1</del> 0	2

Vysvětlivky:

1. Pokud je evidentně snížení průhlednosti způsobeno anorganickými částicemi, není nutné zahajovat sledování sinic podle tabulky č. 2.
2. Stanovení se provádí při odběru vzorku podle ČSN 75 7717.

# Stupnice pro hodnocení výskytu sinic – z ČSN 75 7717

Stupeň	Výskyt	Popis
0	Žádný	Sinice nejsou pouhým okem pozorovatelné.
1	Pozorovatelný	Ve vodě jsou zjistitelné ojedinělé zelené vločky nebo kolonie.
2	Hojný	Ve vodě se mohou vyskytovat slabší příhladinové květy při břehu nebo četné kolonie ve vodním sloupci.
3	Masový	Výskyt silných příhladinových květů velkého rozsahu. Na břehu může být naplaveno větší množství zeleného kašovitého materiálu.

**stupeň 1 - pozorovatelný**



## stupeň 2 - hojný





**stupeň 3 - masový**



**stupeň 3 - masový**



## § 6

# Pravidla pro monitorování výskytu sinic (pokr.)

(2) Přírodní koupaliště, u kterých lze během koupací sezóny odůvodněně přepokládat rozmnožení sinic podle §10 odst. 1 nebo během koupací sezóny bylo shledáno podezření na jejich výskyt podle odst. 1, musí být dále sledována v rozsahu daném v tabulce

	Ukazatel	Jednotka	I. stupeň	II. stupeň	III. stupeň	Vysvětlivky
1a	sinice	buňky/ml	20 000	100 000	250 000	1, 5
1b	sinice	mm <sup>3</sup> /l	2	10	20	1, 5
2	chlorofyl-a	µg/l	10	50	100	2, 5
3	vodní květ	stupeň			2	3
4	mikroskopický obraz					4

Pozn. 2 – Pokud se stanovuje chl-a pomocí metod, které odliší řasy od sinic, potom není nutno stanovovat ukazatel sinice.

Pozn. 5 – Limity se týkají typicky *Planktothrix agardhii*. Pokud jsou dominantní tenké vláknité sinice např. *Pseudanabaena*, *Limnothrix* je nutno stanovit sinice jako objemovou biomasu (ukazatel 1b).

# §10

## Posuzování výskytu sinic

- (1) U všech přírodních koupališť je nutné před začátkem koupací sezóny posoudit, zda během koupací sezóny lze u nich očekávat z velkou pravděpodobností rozmnožení sinic překračující limity I. stupně podle tabulky č. 2 přílohy č. 4. To se provede na základě údajů o výskytu sinic v předcházejících koupacích sezónách. Pokud se jedná o lokalitu, ze které nejsou dostupné žádné údaje o výskytu sinic z předchozích sezón, předpokládá se, že rozmnožení sinic je pravděpodobné, pokud podle charakteru lokality nelze usuzovat na opak. Za koupaliště, u nichž lze očekávat s velkou pravděpodobností rozmnožení sinic, se považují zejména koupaliště, kde byl alespoň jednou za poslední 3 roky zaznamenán výskyt sinic překračující limity II. stupně podle odst. 2 nebo v předcházející sezóně zaznamenán výskyt sinic překračující limity I. stupně.

**Velmi podobné vyhl. č. 135/2004 Sb.**

## §10

# Posuzování výskytu sinic (pokr.)

- (2) Hodnocení výskytu sinic se provádí podle přílohy č. 4. Při překročení limitů I. stupně se volí zkrácení četnosti odběrů za účelem kontroly na 7 dní  $\pm$  2 dny, při překročení limitů II. stupně se nedoporučuje koupání a provozování vodních sportů zejména pro děti, těhotné ženy, osoby trpící alergií a osoby s oslabeným imunitním systémem. Při přítomnosti druhů vytvářejících mohutné příhladinové květy je nutné sledovat vznik vodních květů. Při překročení limitů pro III. stupeň nelze provozovat koupání a vodní sporty.
- (3) Překročení limitních hodnot I. stupně, II. stupně a u sinic netvořících příhladinové vodní květy i III. stupně je dosaženo až při překročení limitních hodnot jak pro ukazatel sinice tak pro chlorofyl-a z tabulky č. 2 přílohy č. 4.

**Velmi podobné vyhl. č. 135/2004 Sb.**

## §10

# Posuzování výskytu sinic (pokr.)

(4) Pokud při předcházejícím hodnocení v probíhající koupací sezóně byly překročeny limitní hodnoty pro III.stupeň, je nutno provádět hodnocení ve shodě s tabulkou č. 3 z přílohy č.

Předcházející hodnocení	Aktuální hodnoty odpovídají	Provedené hodnocení
III.stupeň	III.stupeň	III.stupeň
III.stupeň	II.stupeň	II.stupeň
III.stupeň	I.stupeň	II.stupeň
III.stupeň	<I.stupeň	I.stupeň

Došlo-li prokazatelně k výměně vody v nádrži (např. po povodni) a nehrozí tudíž riziko z uvolněných toxinů sinic, není nutno přihlížet k předcházejícímu hodnocení.

# § 11

## Souhrnné hodnocení

Podle pravidel uvedených v příloze č. 6 se provádí souhrnné hodnocení jakosti vod.

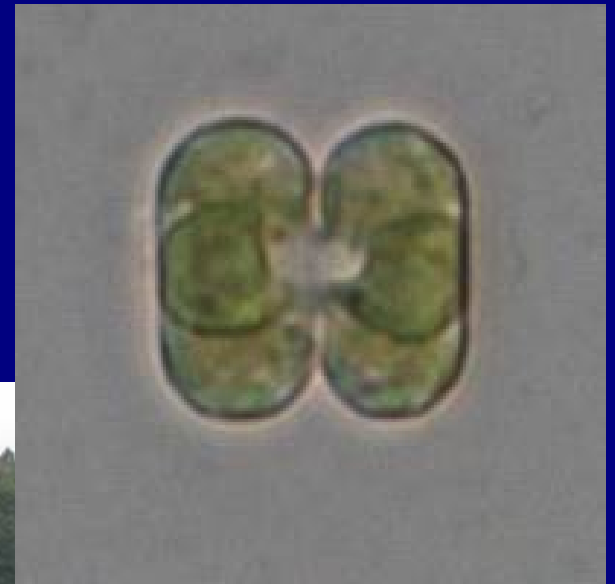
### Příloha 6

....

#### **Odchytky z postupu:**

Pravidla uvedená v této příloze představují obecný postup pro hodnocení jakosti vody v přírodních koupalištích. V tomto postupu nemohou být zohledněny všechny okolnosti (odběru, rozboru, počasí apod.) a místní specifika (charakter přírodního koupaliště a odběrového místa, znalost dalších dat o jakosti vody, vývoj jakosti vody na hodnocené lokalitě v minulosti apod.) a proto jeho použití může být v některých případech problematické. V těchto případech je možné se od tohoto postupu odchýlit. Odchytky musí být vždy náležitě zdokumentovány a zdůvodněny.

Děkujeme za účast,  
děkujeme za pozornost



a snad příště ...