

PT#V/4/2016

# Stanovení mikroskopického obrazu v pitné a surové vodě

(obrazová dokumentace a prezentace ze semináře vyhodnocení kola)

Petr Pumann

*Státní zdravotní ústav*

Seminář k vyhodnocení PT#V/4/2016

23. 6. 2016

## IDENTITA

### Program zkoušení způsobilosti

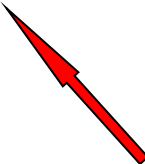
Název Stanovení mikroskopického obrazu v pitné a surové (povrchové) vodě  
Označení PT#V/4/2014  
Vydáno dne 19.5.2014

### Poskytovatel

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](mailto:ppumann@szu.cz)  
Internet <http://www.szu.cz/pzz-voda>

### Účastník

Adresa [redacted]  
PSČ [redacted]  
IČ [redacted]  
Kontakt [redacted]  
Telefon [redacted]  
E-mail [redacted]  
Kód 999



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

# Akce

## ➤ Pracovní konference České algologické společnosti

- Praha (Přírodovědecká fakulta)
- 19. - 21. září 2016

## ➤ Kurzy na SZÚ

- termíny podle zájmu a domluvy
  - základy mikroskopického rozboru vody (
  - mikroskopické stanovení sinic
- cena – 1,5 dne (2000 Kč + DPH)
- účastníků (až 6)

# Každoroční determinační kurzy

- 6. - 9.6.2016 (Jevíčko)
- červen 2017 – západní část ČR ???



# Průvodce mikrosvěttem sinic a řas

- Pouličková A., Dvořák P., Hašler P.
- 46 stran



# Vzorky - zajištění homogenity

- promícháno v 5 litrovém barelu se spodním výpustním kohoutem nebo v jiných větších nádobách nebo menších plastových lahvích
- rovnoměrné rozložení
- SZÚ – vždy tři vzorky

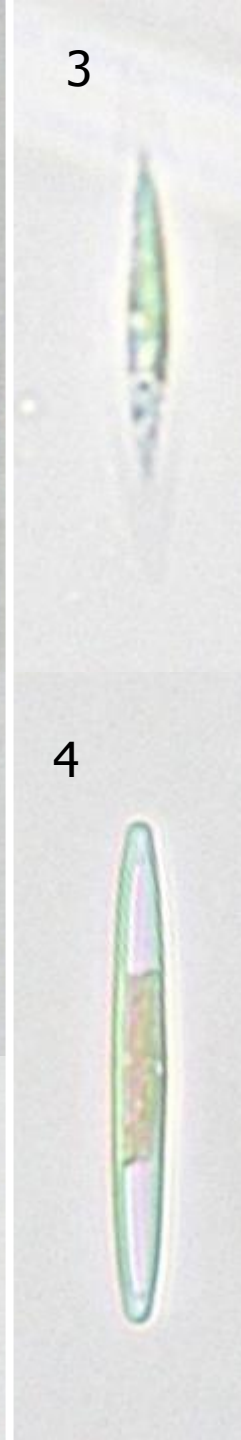
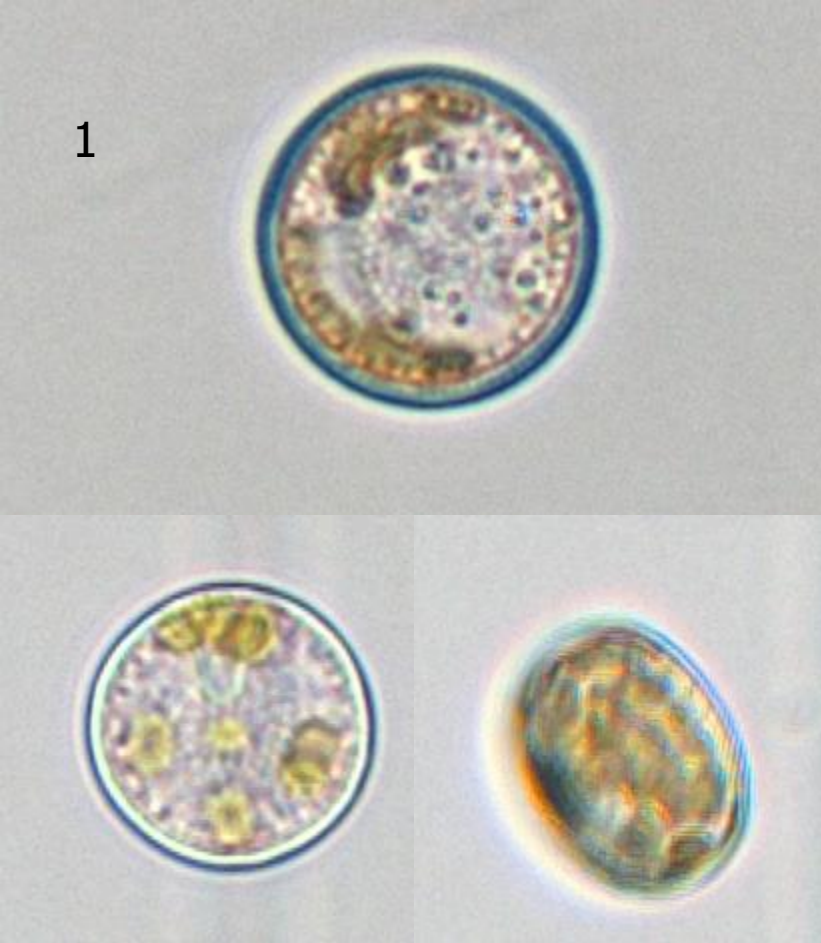


# Vzorek 1

- pražská vodovodní vody odebraná v SZÚ,
- voda z pískovny v Ovčárech odebraná dne 17. 4. 2016,
- voda z pískovny v Ovčárech odebraná dne 17. 4. 2016, v níž byly organismy usmrceny vysokou dávkou dichlorisochlorkyanurátu sodného,
- voda z nově těžené pískovny v Ovčárech odebraná dne 17. 4. 2016, v níž byly organismy usmrceny vysokou dávkou dichlorisochlorkyanurátu sodného,

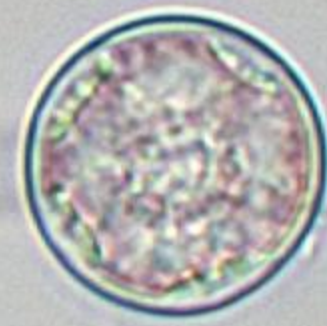
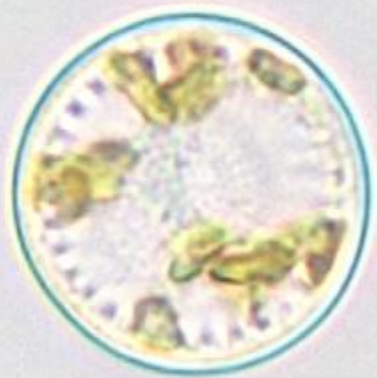




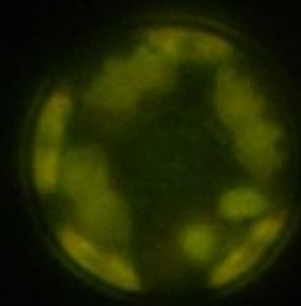


- 1 – centrické rozsivky (zřejmě *Cyclotella balatonis* – z těchto obrázků však nelze poznat)
- 2 – zlativka *Chrysococcus*
- 3 – zelená řasa *Elakatothrix*
- 4 – penátní rozsivka (*Fragilaria* ?)
- 5 – sinice *Aphanizomenon*

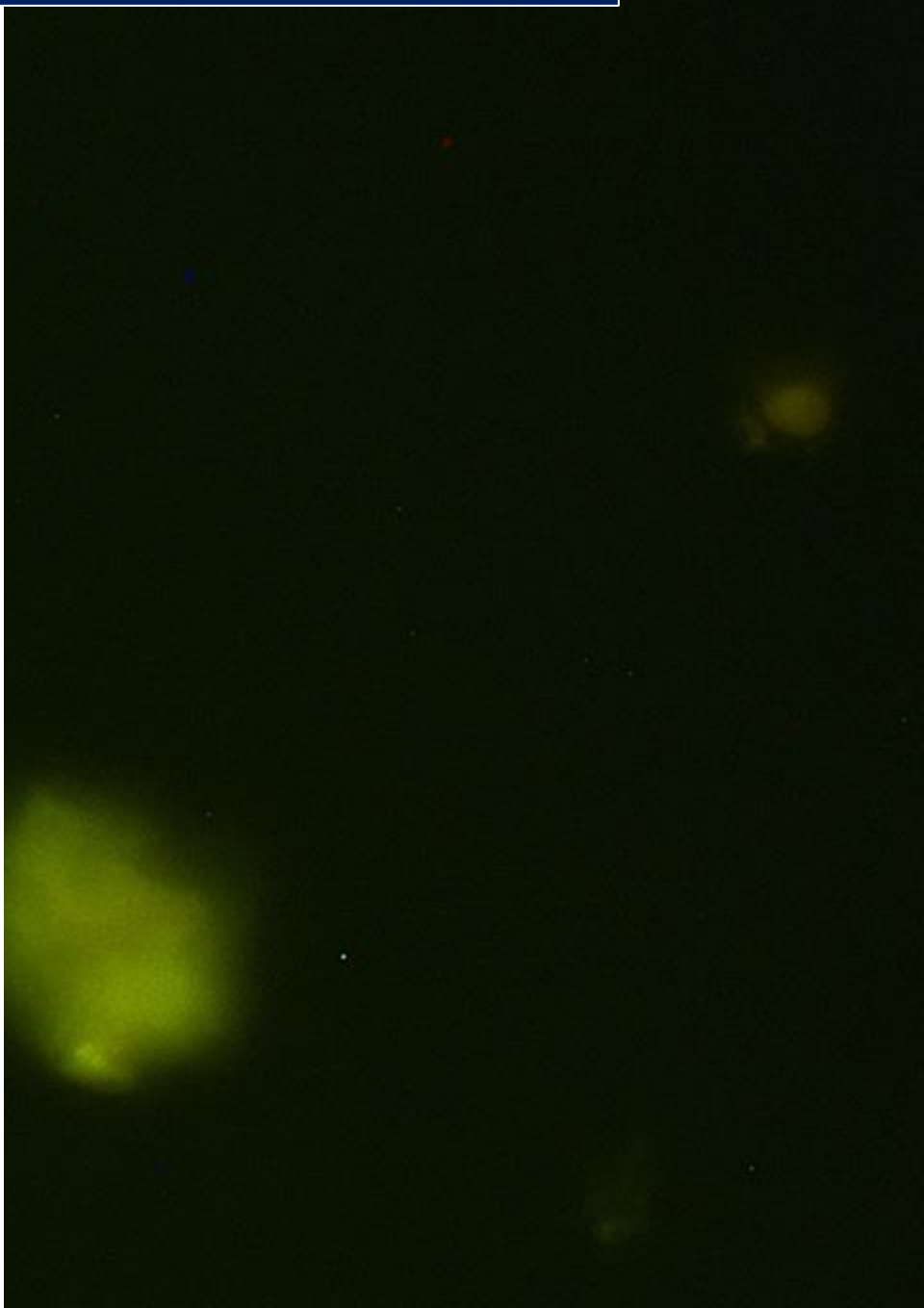
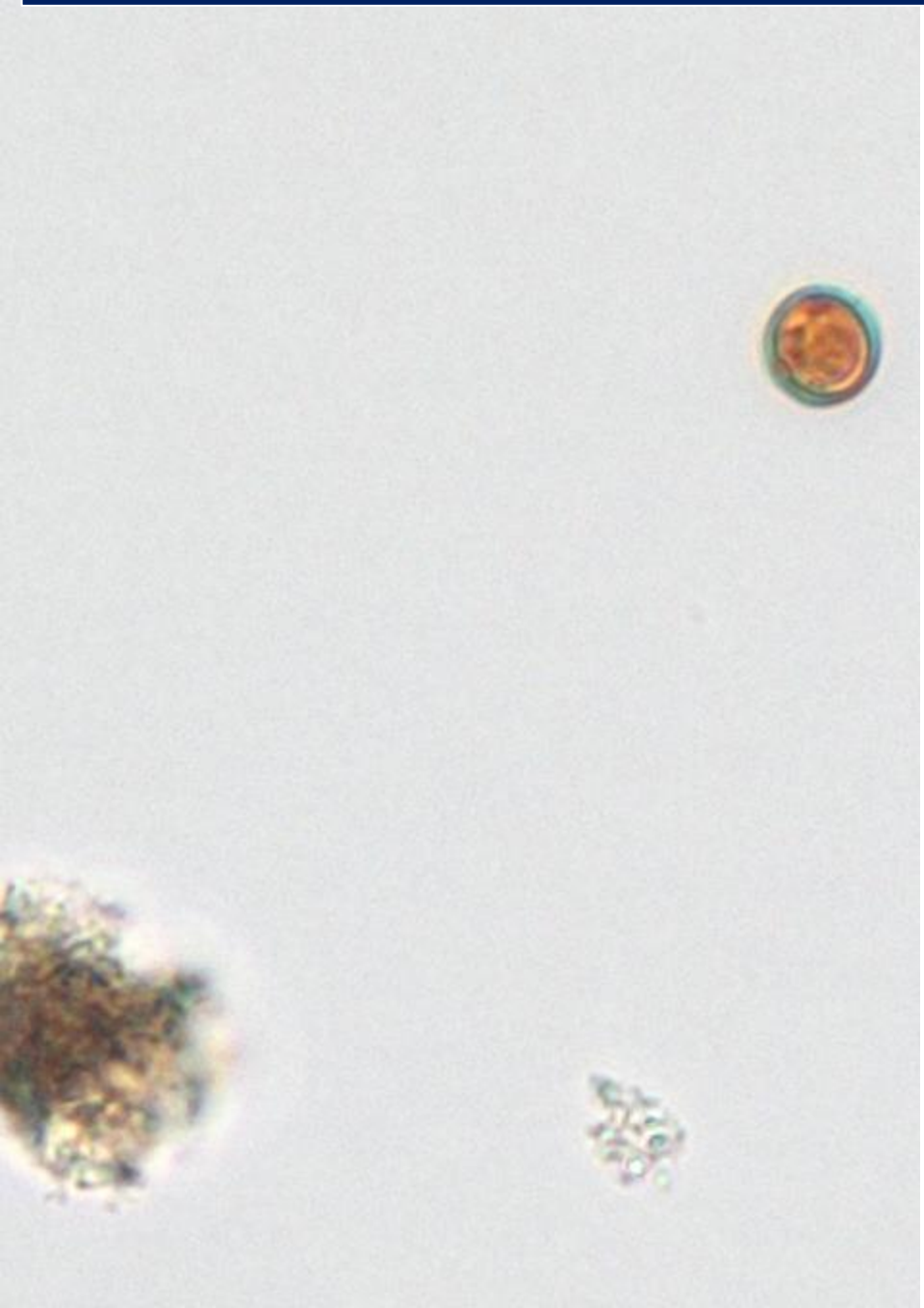
Vzorek 1 – centrické rozšivky  
vlevo živá, vpravo mrtvá



Vzorek 1 – centrické rozsvivky  
vlevo živá, vpravo mrtvá

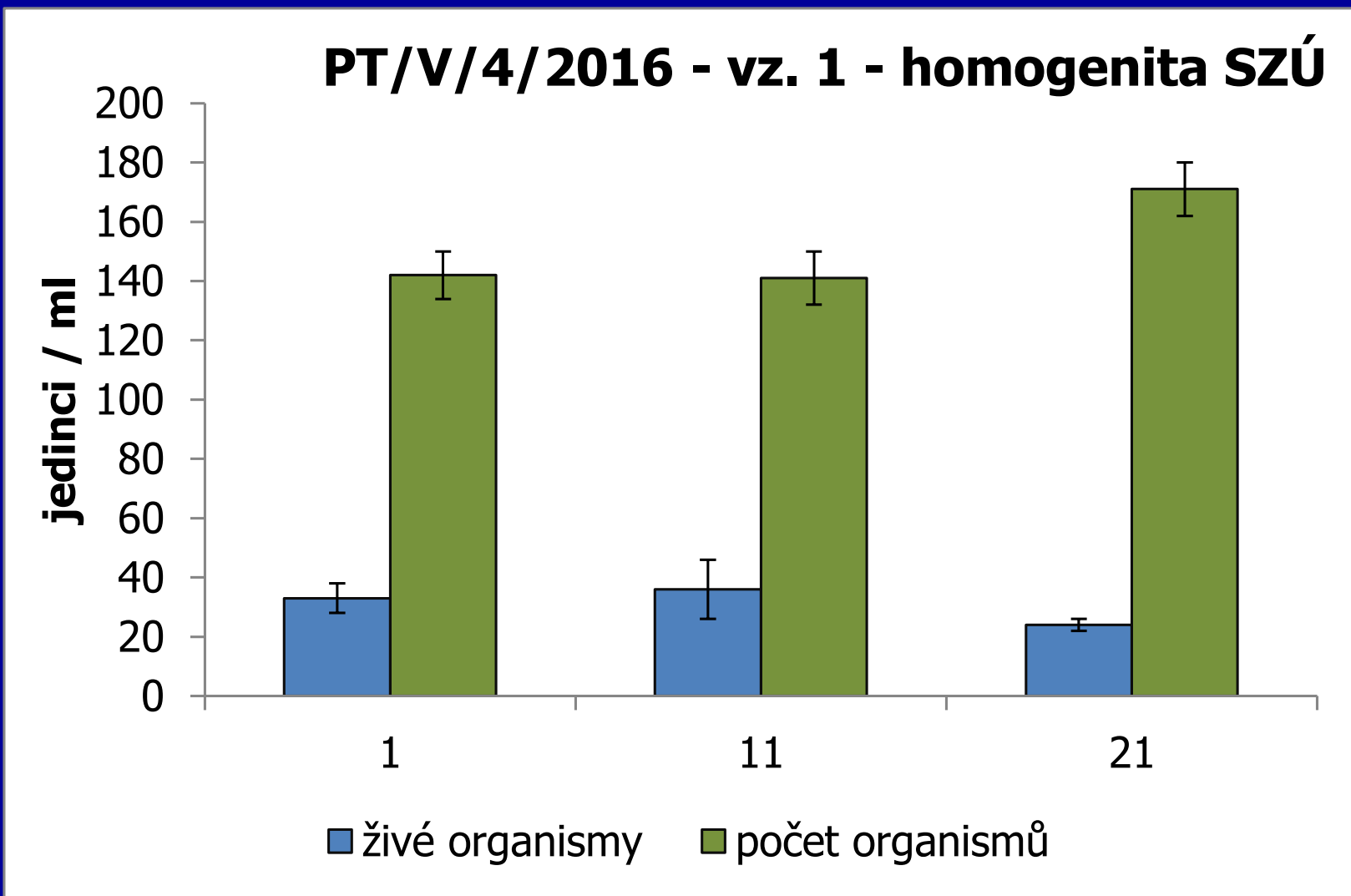


Vzorek 1 – *Chrysococcus* a abioseston (příklad nespecifiké fluorescence)

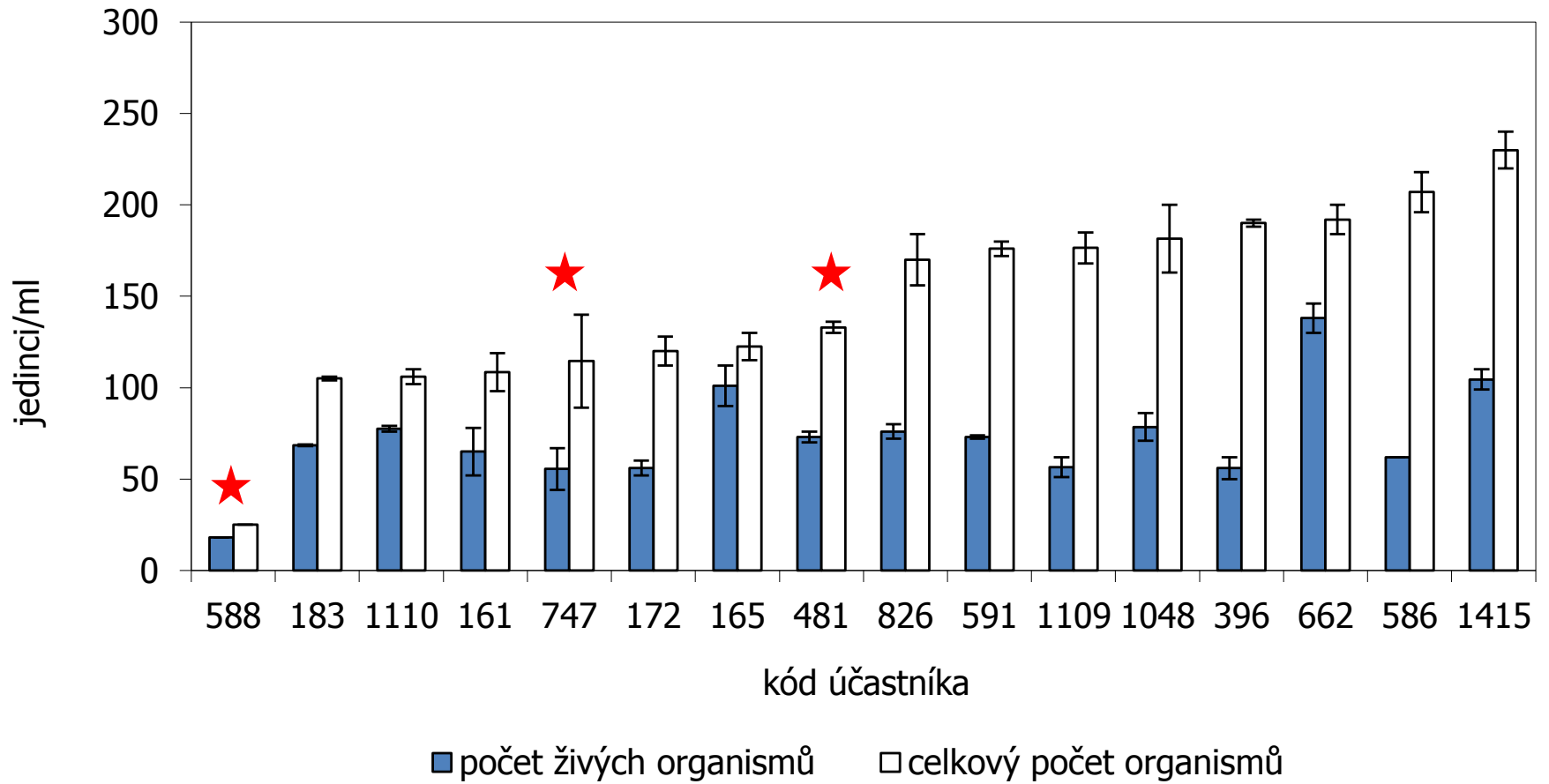


Kód	Nález	Úspěšnost
36	Dominují velké centrické rozsivky ( <i>Cyclotella</i> ) a zlativky <i>Chrysococcus</i> . Dále přítomny penátní rozsivky, zelené řasy a sinice <i>Aphanizomenon</i>	+/+
161	Dominují centrické rozsivky, ojediněle zlaté řasy, zelené řasy, spájkivé řasy, penátní rozsivky, vláknité sinice.	+/+
165	dominantní: centrické rozsivky nízká četnost: vlákna sinic, vláknitá zel. řasa; buňky s hnědým pigmentem (cf. <i>Chrysoomonadales</i> ) ojediněle: bezbarví bičíkovci, pennátní rozsivky, <i>Staurastrum</i> sp., cf. <i>Monoraphidium</i>	+/+
172	Centrické rozsivky, penátní rozsivky, zelené kokální řasy, <i>chrysococcus</i> sp.	+/+
183	Dominantně jsou přítomny centrické rozsivky, dále zlativky, zcela ojediněle penátní rozsivky a zelené řasy	+/+
396	Dominantními organismy byly: centrické rozsivky <i>Cyclotella</i> sp. (126, resp. 130 jedinců/ml), zlativka <i>Chrysococcus rufescens</i> (28, resp. 16 jedinců/ml) a vláknité sinice <i>Aphanizomenon</i> sp. (18, resp. 8 jedinců/ml). Dále byly v menší míře zaznamenány druhy: <i>Fragilaria crotonensis</i> , <i>Chlorococcales</i> g.sp., <i>Monoraphidium contortum</i> , <i>Trachelomonas</i> sp., <i>Navicula avenacea</i> , <i>Navicula</i> cf. <i>radiosa</i> , <i>Oocystis parva</i> .	+/+
481	Dominantní organismy jsou centrické rozsivky, ojediněle penátní rozsivka.	+/-
586	Dominantním organismem ve vzorku je rozsivka ( <i>Bacillariophyceae</i> ) <i>Cyclotella radiosa</i> , a to jak mezi živými, tak i v celkových počtech. Dále má vyšší zastoupení zlatistá řasa ( <i>Chrysophyceae</i> ) rodu <i>Chrysococcus</i> . V malé míře byla pak zastoupena vláknitá sinice ( <i>Cyanobacteria</i> ) rodu <i>Aphanizomenon</i> .	+/+
588	centrické rozsivky	+/-
591	Dominantně centrické rozsivky. Ojediněle <i>Chrysococcus</i> , <i>Pediastrum</i> , vláknité sinice, penátní rozsivky.	+/+
662	Dominují centrické rozsivky ( <i>Centrales</i> ), dále zřídka zlaté řasy <i>Chrysophyceae</i> ( <i>Chrysococcus</i> cf. <i>rufescens</i> ), zelené řasy, ojediněle penátní rozsivky a ojediněle vlákna sinic blíže neurčené - krátké fragmenty.	+/+
747	Dominují centrické rozsivky, ojedinělý výskyt penátních rozsivek a vláknitých sinic.	+/-
826	Dominantní ve vzorku byly centrické rozsivky, <i>Chrysococcus</i> sp., v menším zastoupení tenké vláknité sinice, penátní rozsivky, zelená řasa ( <i>Pediastrum</i> ), ojediněle vířník.	+/-
1048	Dominují centrické rozsivky o velikosti 10 - 20 µm; významný podíl vzorku - <i>Chrysococcus</i> cf. <i>rufescens</i> + <i>Chrysococcus</i> sp. a <i>Aphanizomenon</i> sp. Méně četné / ojedinělé nálezy byly zaznamenány u těchto druhů (skupin organismů): - <i>Cryptomonas</i> sp.; <i>Nitzschia acicularis</i> + palea + sp., <i>Navicula lanceolata</i> , <i>Fragilaria</i> sp.; drobné chlorokokální řasy, <i>Monoraphidium contortum</i> , <i>Oocystis</i> sp., <i>Scenedesmus denticulatus</i> ; <i>Chlamydomonas</i> sp.; <i>Trachelomonas</i> cf. <i>hispida</i> ; <i>Chrysophyceae</i> g.sp.; <i>Leptothrix echinata</i> a heterotrofní bičíkovci	+/+
1109	Kvalitativní rozbor: Dominují centrické rozsivky, ojediněle zaznamenán penátní druh rozsivek <i>Aulacoseira</i> sp., <i>Navicula</i> sp. a <i>Nitzschia</i> sp. Dále se vyskytují zlaté řasy ( <i>Chrysococcus</i> sp.), sinice (cf. <i>Aphanizomenon</i> sp., <i>Planktothrix</i> sp.) a zelené řasy chlorokokální.	+/+
1110	Dominují centrické rozsivky, dále přítomny rozsivky penátní, drobné chlorokokální řasy, zlativky, ojediněle sinice	+/+
1415		-/-

# Vzorek 1 – homogenita (SZÚ)



### vzorek 1 (2016 - účastníci)



★ *Chrysococcus* neuveden v kvalitativním rozboru

# Vzorek 1 – Pitná voda - počet organismů

V	lab	výsledek (jedinci/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
!	588	25.0	-3.92									
X	183	105.0	-1.93									
X	1110	106.0	-1.90									
X	161	108.5	-1.84									
X	747	114.5	-1.69									
X	172	120.0	-1.55									
X	165	122.5	-1.49									
X	481	133.0	-1.23									
X	826	170.0	-0.30									
X	591	176.0	-0.15									
X	1109	176.5	-0.14									
X	1048	181.5	-0.02									
X	396	190.0	0.19									
X	662	192.0	0.24									
X	586	207.0	0.62									
X	1415	230.0	1.19									

počet laboratoří: 16  
z toho vyhovuje: 15  
z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 182,2 jedinci/ml  
vztažná odchylka: ±44%  
interval správných hodnot: 102,1 - 262,3 jedinci/ml

V	lab	výsledek (jedinci/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	36	151.0	-0.78									
X	1109	176.5	-0.14									
X	1048	181.5	-0.02									
X	396	190.0	0.19									
X	586	207.0	0.62									

počet laboratoří: 5  
z toho vyhovuje: 5  
z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 182,2 jedinci/ml  
vztažná odchylka: ±44%  
interval správných hodnot: 102,1 - 262,3 jedinci/ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje



# Vzorek 1 – Pitná voda - počet živých organismů

V	lab	výsledek (jedinci/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
?	588	18.0	-2.02									
X	747	55.5	-0.10									
X	172	56.0	-0.08									
X	396	56.0	-0.08									
X	1109	56.5	-0.05									
X	586	62.0	0.23									
X	161	65.0	0.38									
X	183	68.5	0.56									
X	481	73.0	0.79									
X	591	73.0	0.79									
X	826	76.0	0.95									
X	1110	77.5	1.02									
X	1048	78.5	1.07									
?	165	101.0	2.23									
?	1415	104.5	2.40									
!	662	138.0	4.12									

počet laboratoří: 16  
z toho vyhovuje: 12  
z toho nevyhovuje: 4

vztažná hodnota: 57,5 jedinci/ml  
vztažná odchylka: ±68%  
interval správných hodnot: 18,4 - 96,6 jedinci/ml

V	lab	výsledek (jedinci/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	36	31.0	-1.36									
X	396	56.0	-0.08									
X	1109	56.5	-0.05									
X	586	62.0	0.23									
X	1048	78.5	1.07									

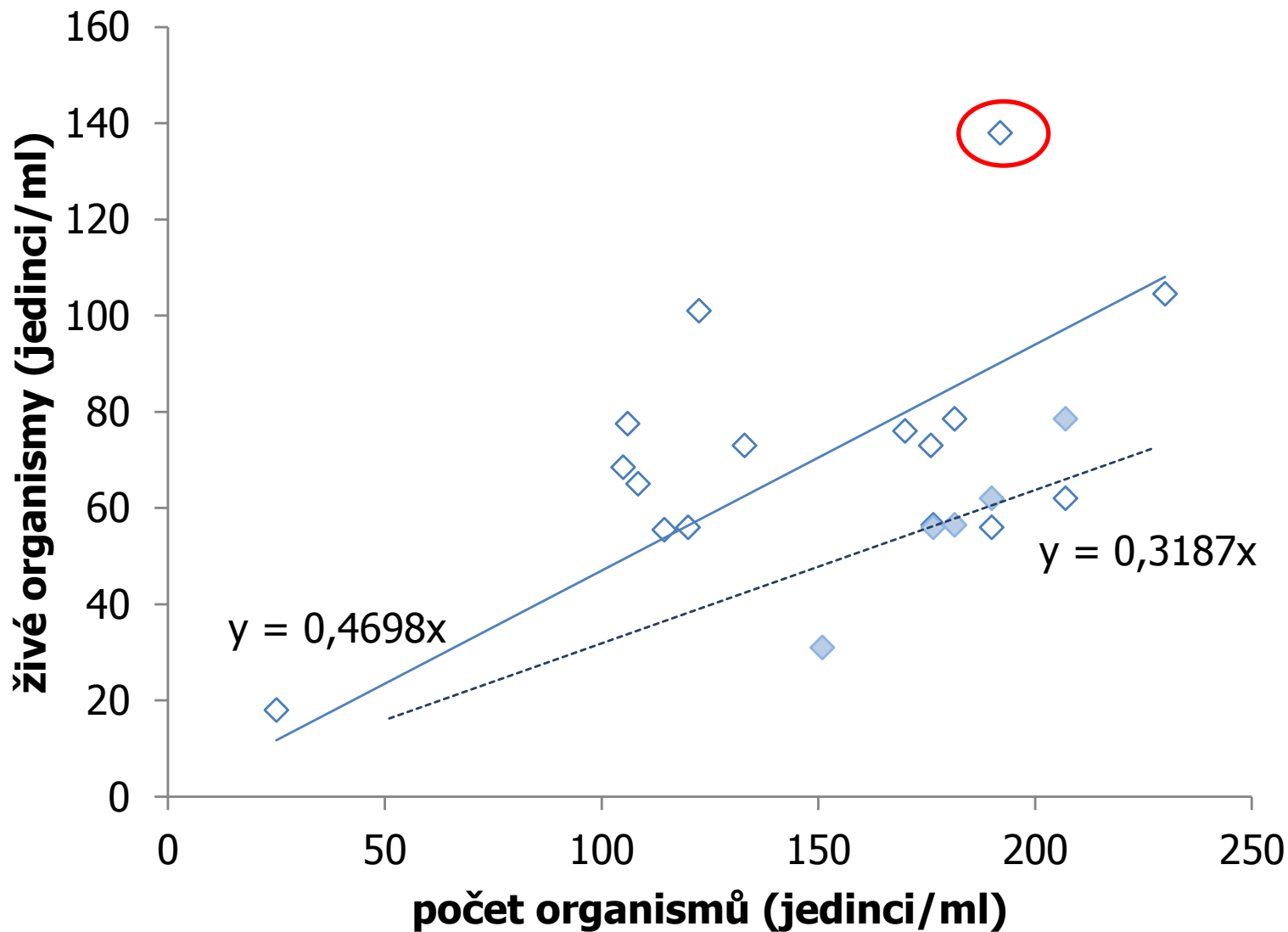
počet laboratoří: 5  
z toho vyhovuje: 5  
z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 57,5 jedinci/ml  
vztažná odchylka: ±68%  
interval správných hodnot: 18,4 - 96,6 jedinci/ml

# Podíl živých organismů ve vzorku 1

kód	počet organismů (jedinci/ml)	počet živých organismů (jedinci/ml)	podíl živých organismů (%)
36	151	31	21
396	190	56	29
586	207	62	30
1109	176,5	56,5	32
591	176	73	41
1048	181,5	78,5	43
826	170	76	45
1415	230	104,5	45
172	120	56	47
747	114,5	55,5	48
481	133	73	55
161	108,5	65	60
183	105	68,5	65
588	25	18	72
662	192	138	72
1110	106	77,5	73
165	122,5	101	82

# počet organismů vs. živé organismy

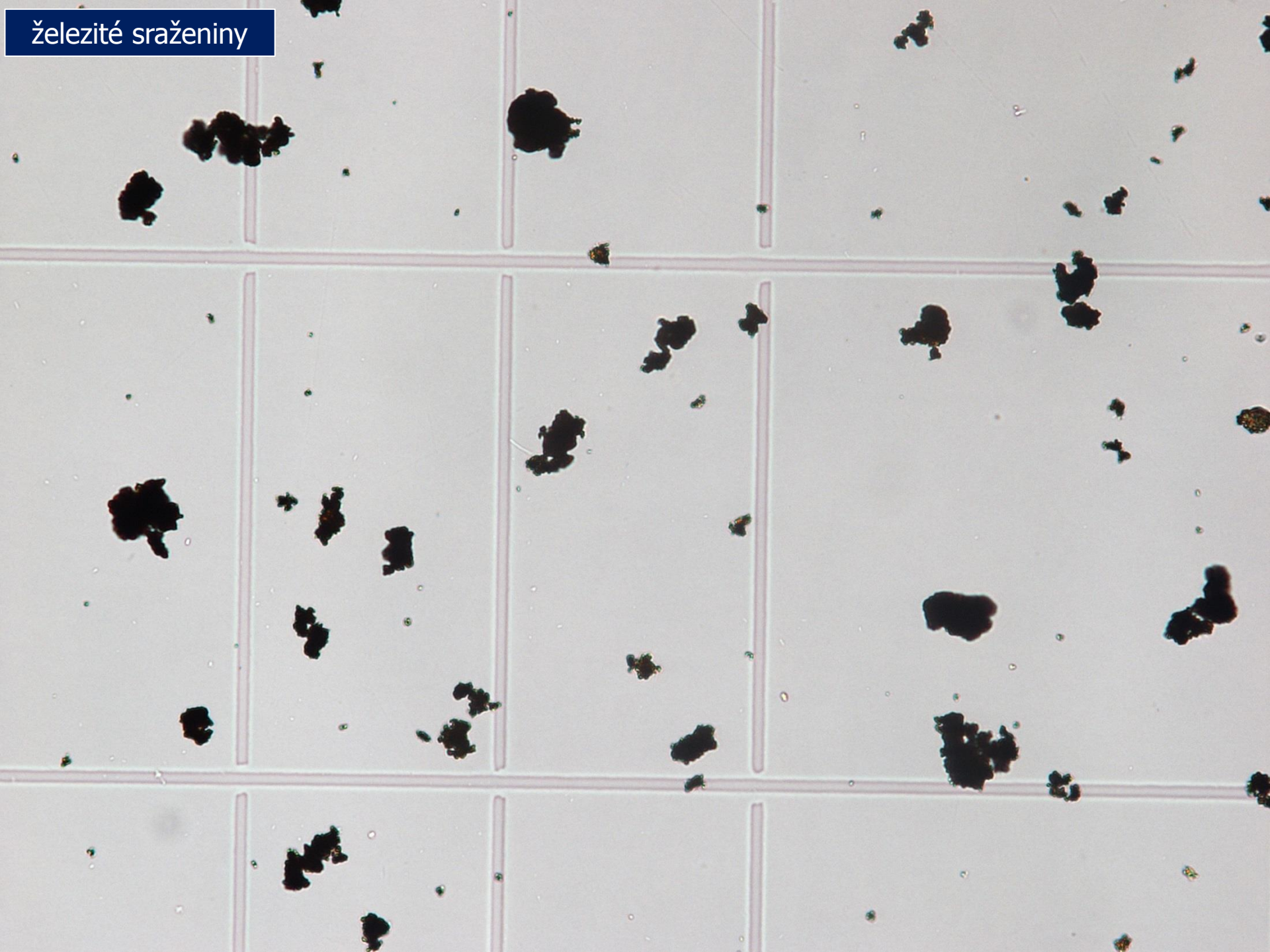


# Vzorek 2 (abioseston)

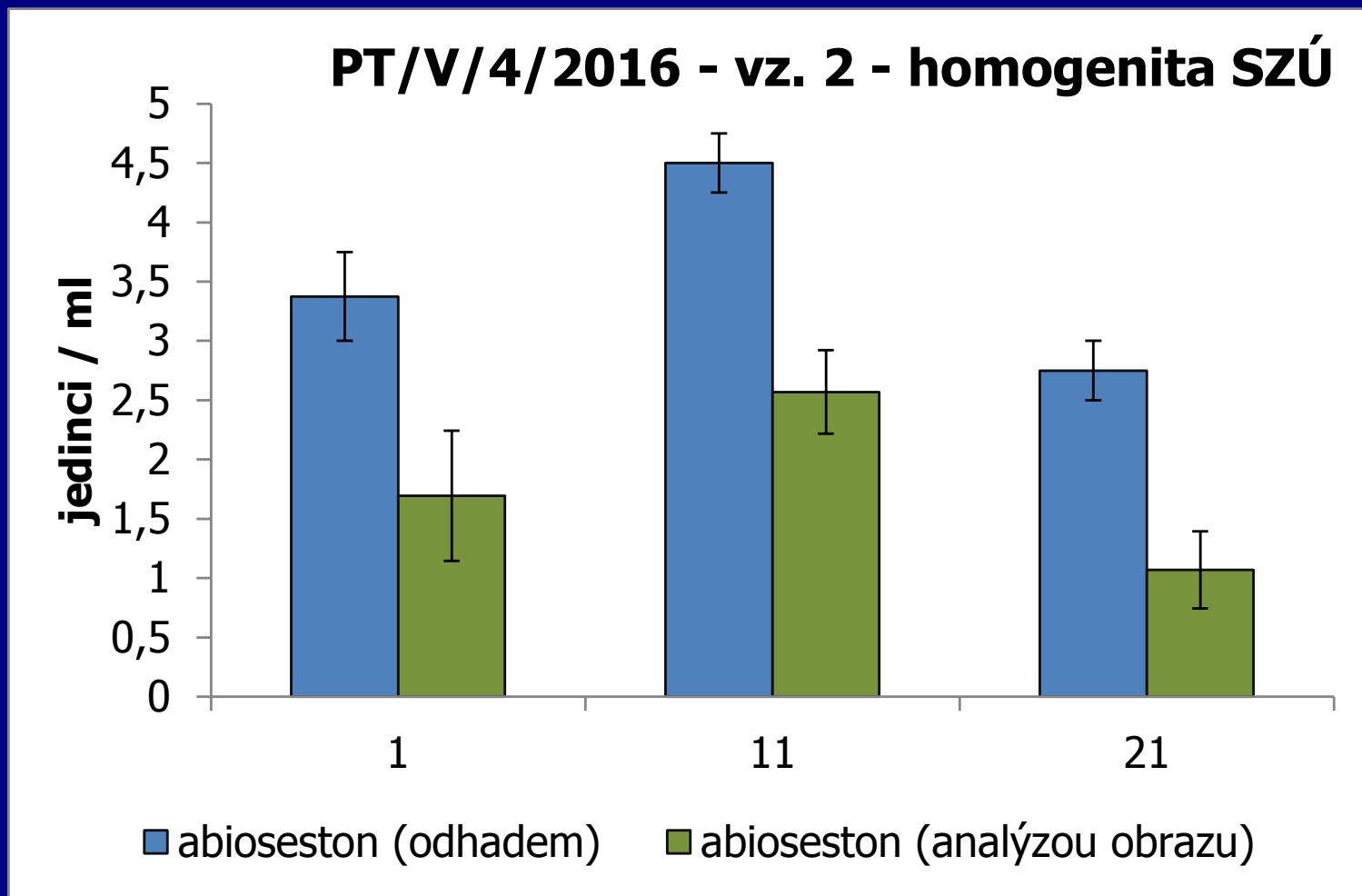
# Příprava

- již dříve ve vodě rozmíchaná usazenina z kalníku ze sklepa budovy č. 5 Státního zdravotního ústavu
- rozmícháno v malém objemu vody
- ředěno pražskou vodovodní vodou s desinfekcí

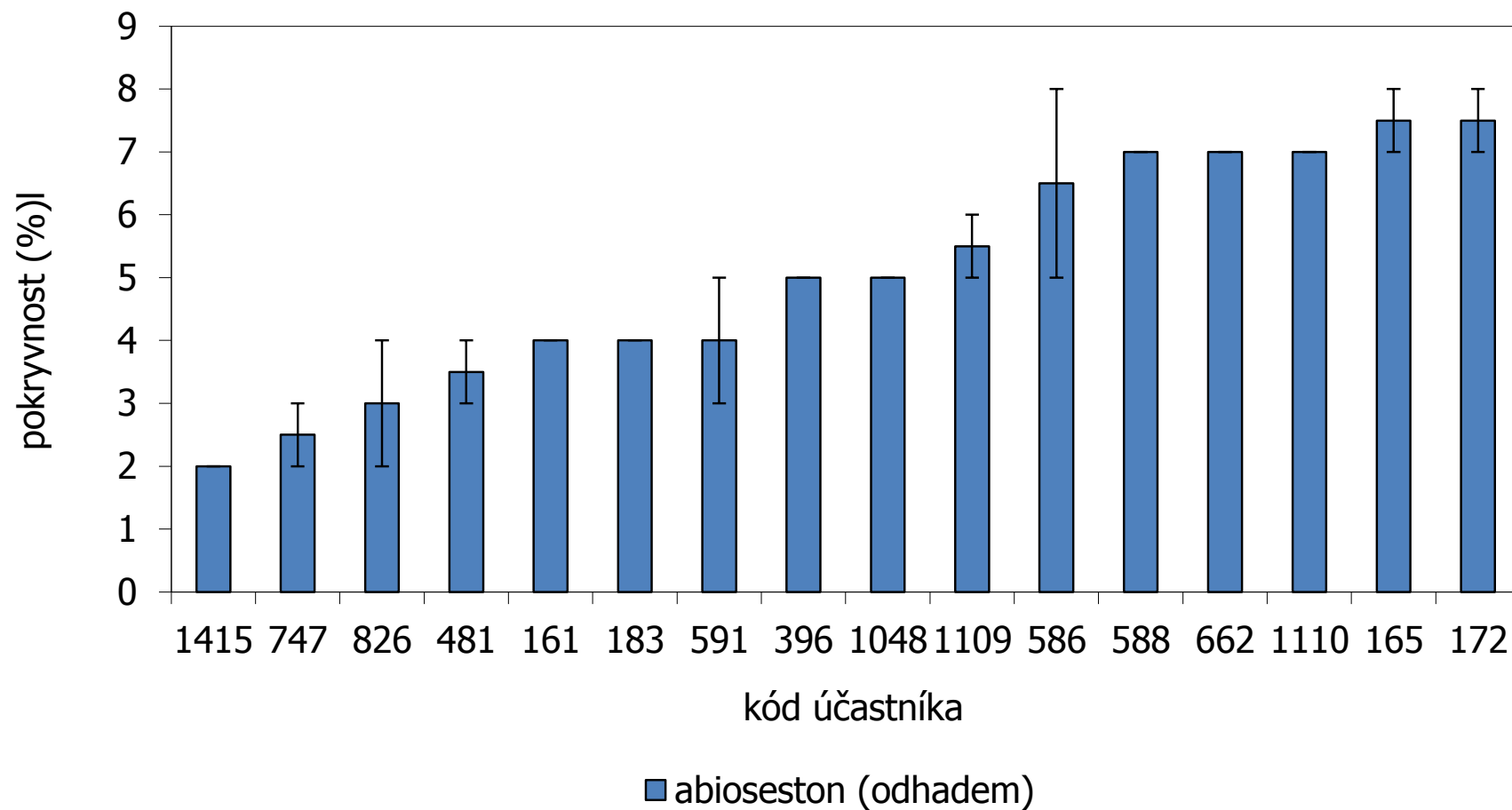
železité sraženiny



# Vzorek 2 – homogenita (SZÚ)



## vzorek 2 (2016 - účastníci)





# Z-score pro abioseston (odhadem) – pitná voda

V	lab	výsledek (%)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1415	2.0	-1.84									
X	747	2.5	-1.54									
X	826	3.0	-1.25									
X	481	3.5	-0.95									
X	161	4.0	-0.65									
X	183	4.0	-0.65									
X	591	4.0	-0.65									
X	396	5.0	-0.06									
X	1048	5.0	-0.06									
X	1109	5.5	0.24									
X	586	6.5	0.83									
X	588	7.0	1.13									
X	662	7.0	1.13									
X	1110	7.0	1.13									
X	165	7.5	1.43									
X	172	7.5	1.43									

počet laboratoří: 16  
z toho vyhovuje: 16  
z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 5,1 %  
vztažná odchylka: ±66%  
interval správných hodnot: 1,8 - 8,4 %

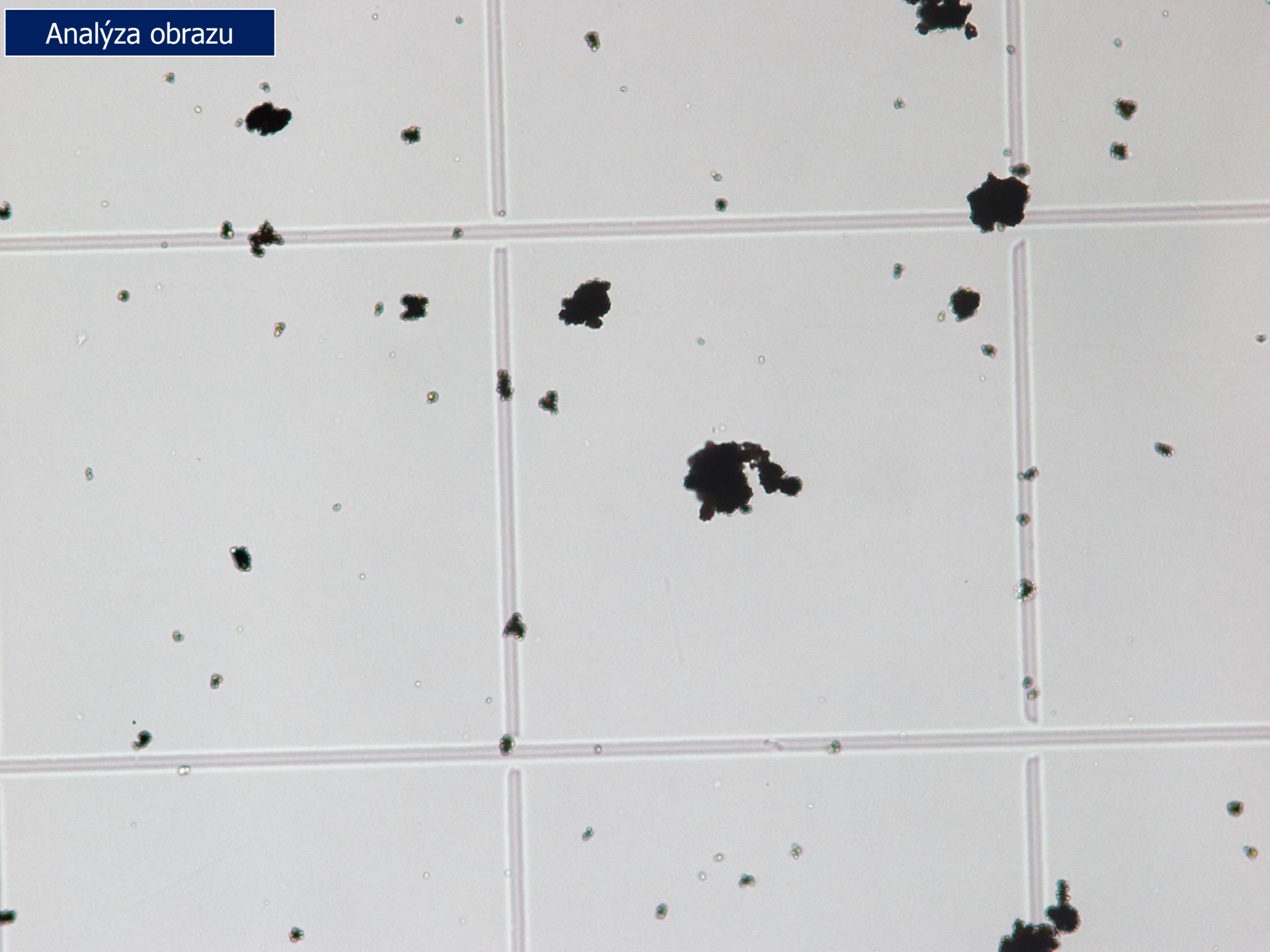
V	lab	výsledek (%)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	36	3.5	-0.95									
X	396	5.0	-0.06									
X	1048	5.0	-0.06									
X	1109	5.5	0.24									
X	586	6.5	0.83									

počet laboratoří: 5  
z toho vyhovuje: 5  
z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 5,1 %  
vztažná odchylka: ±66%  
interval správných hodnot: 1,8 - 8,4 %

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Analýza obrazu



Analýza obrazu

2,00 %

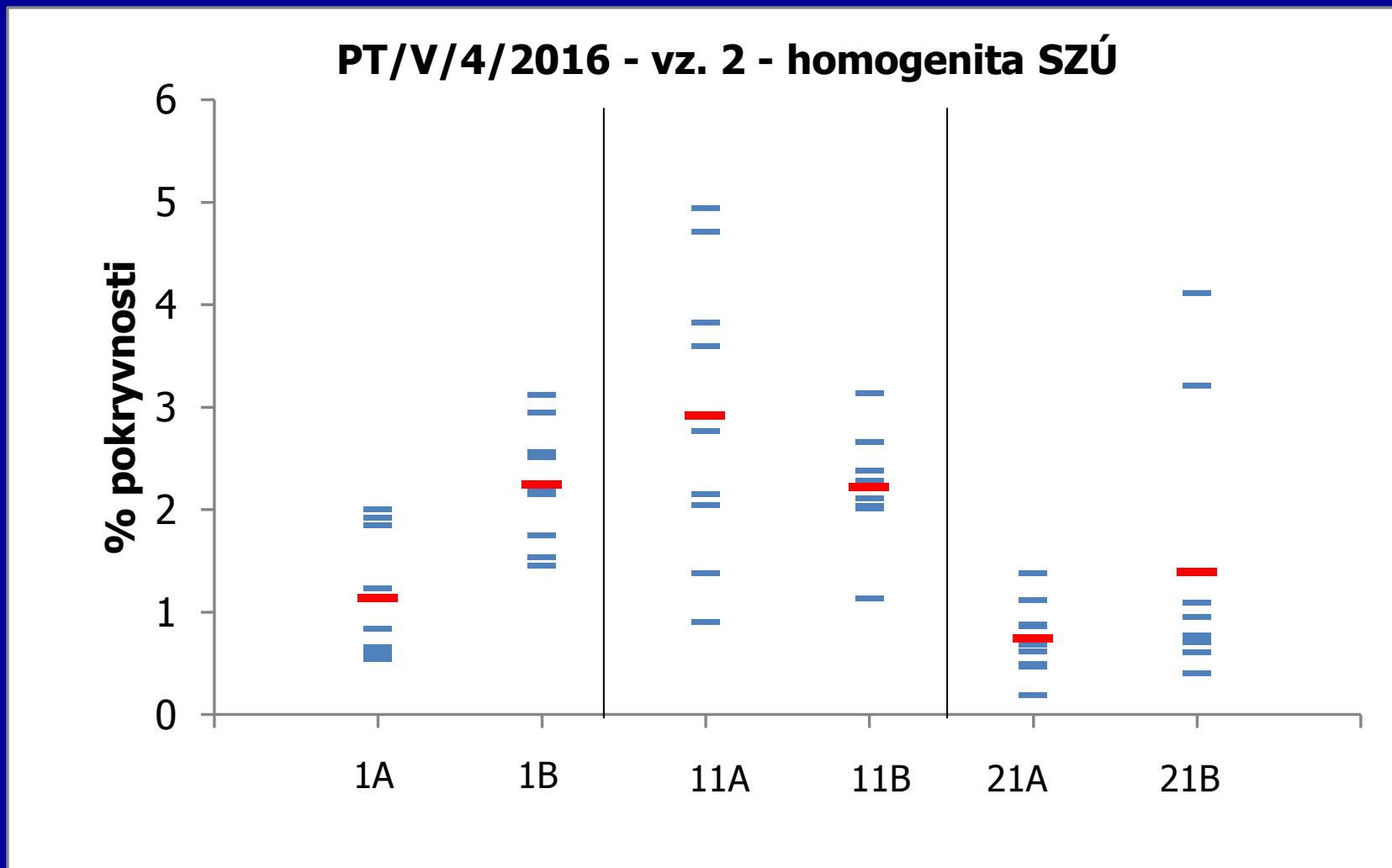


# Analýza obrazu

2,12 %



# Analýza obrazu - homogenita SZÚ



# Metodiky – Analýza obrazu

586	Použita metodika dle Pumanna.
1048	Odstředění 10 ml vzorku, zahuštění na 0,2 ml, stanovení v počítači komůrce CYRUS I při celkovém zvětšení 100×, kontrolováno při celkovém zvětšení 200× (prahování v SW Lucia G - LIM): - Zvětšení 100×, procházející světlo, prahováno ručně i makrem; konečný výsledek je z prahování makrem, průměr z 10 hodnot - 10 zorných polí náhodně vybraných pro každé paralelní stanovení u vzorku (vzorek zpracován ve 2 paralelních stanoveních).
1109	Zhotoveny digitální fotografie (Canon EOS 600 D). Pomocí volně stažitelného programu UTHSCSA Image Tool provedena analýza obrazu: 1. Převedení do šedé škály (Processing - Colour to Grayscale) 2. Manuální prahování (Processing - Treshold - Manual) 3. Analýza (Analysis - Count Black/White Pixels)

## Z-score pro abioseston (analýzou obrazu) – pitná voda

**Ukazatel nehodnocen, vyhodnocení je pouze orientační – málo účastníků, velká variabilita výsledků – nepoužitelné meze pro správné hodnoty**

V	lab	výsledek (%)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	36	1.8	-0.97									
X	1109	2.7	-0.42									
X	1048	4.0	0.33									
X	586	5.3	1.06									

počet laboratoří: 4

z toho vyhovuje: 4

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 3,46 %

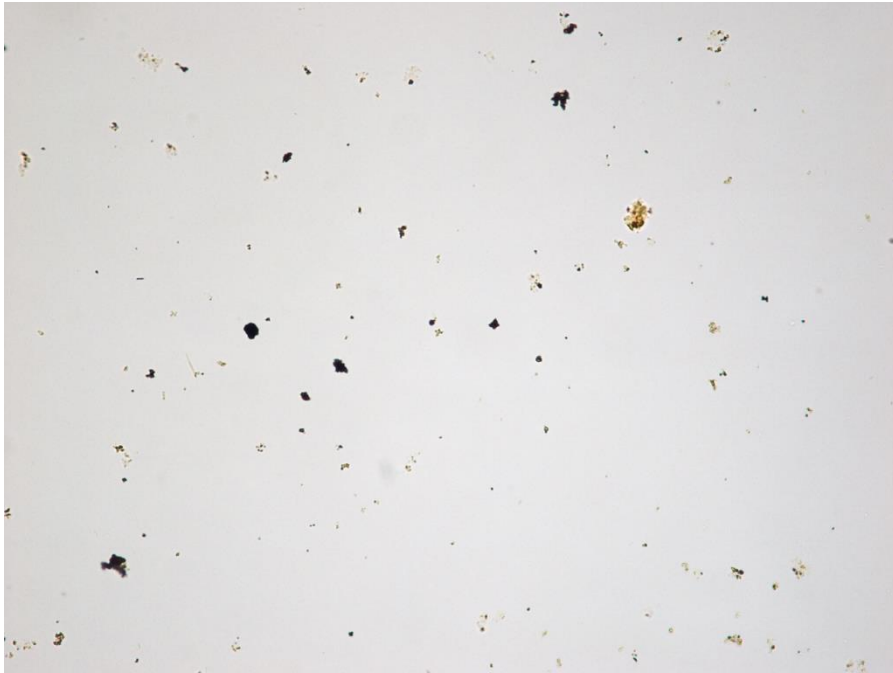
vztažná odchylka: 1,74 %

interval správných hodnot: -0,02 - 6,94 %

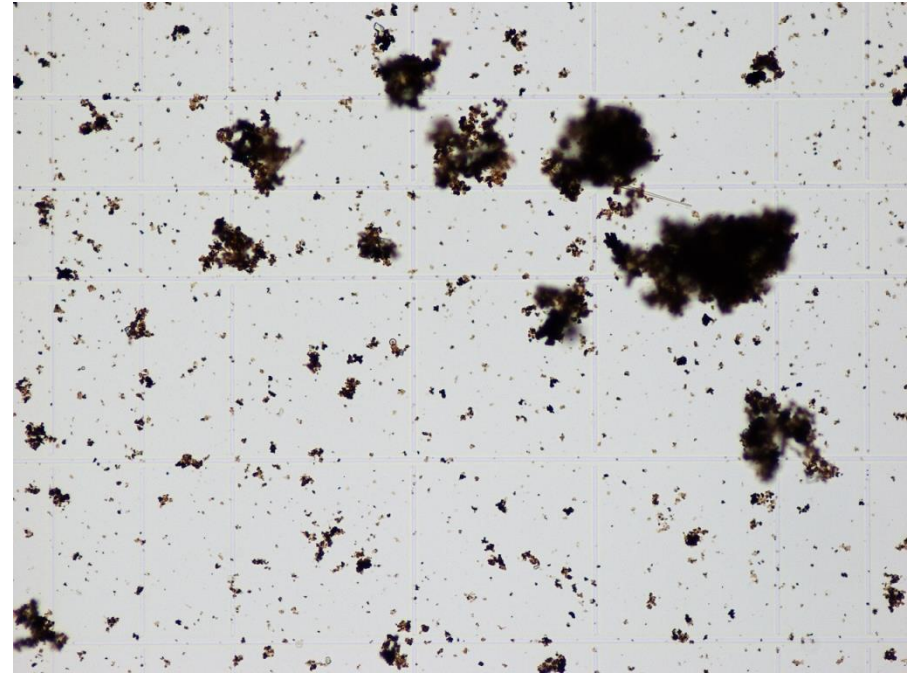
X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

# Abioseston (analýzou obrazu) – vzorek + 2 jednotné fotografie

2016foto1



2016foto2



Kód	Vzorek 2	2016foto1	2016foto2
36	1,78	0,65	12,2
586	5,3	0,27	9,2
1048	4,03	0,96	12,2
1075	2,74	0,87	12,7
<b>Aritmetický průměr</b>	<b>3,46</b>	<b>0,69</b>	<b>11,58</b>
<b>Medián</b>	<b>3,38</b>	<b>0,76</b>	<b>12,24</b>
<b>Směrodatná odchylka</b>	<b>1,33</b>	<b>0,27</b>	<b>1,39</b>
<b>Relativní směrodatná odchylka (%)</b>	<b>38,4</b>	<b>38,7</b>	<b>12,0</b>



# Vzorek 3A

# Příprava

- formalínem konzervovaný vodní květ sinice rodu *Microcystis* z nádrže Koryto z roku 2007
- dezintegrace 2 minuty ultrazvukem
- třikrát promyt vodovodní vodou (centrifugace, odlití supernatantu a opětovné rozmíchání peletu).

Vzorek 3A – buňky *Microcystis*



buňky *Microcystis*



vlákna *Pseudanabaena mucicola*

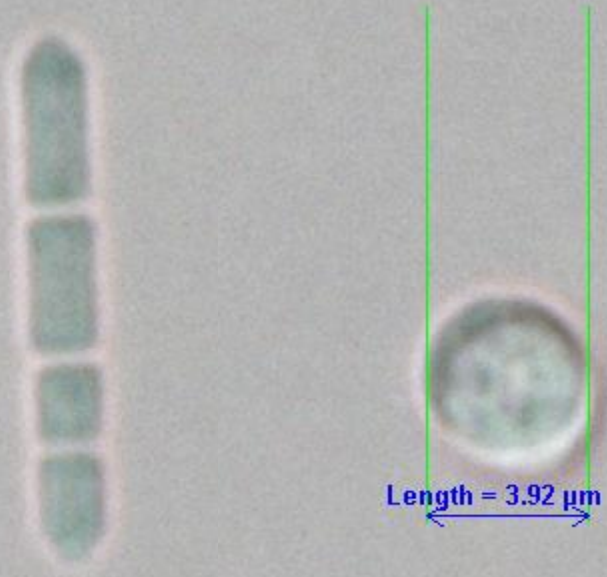
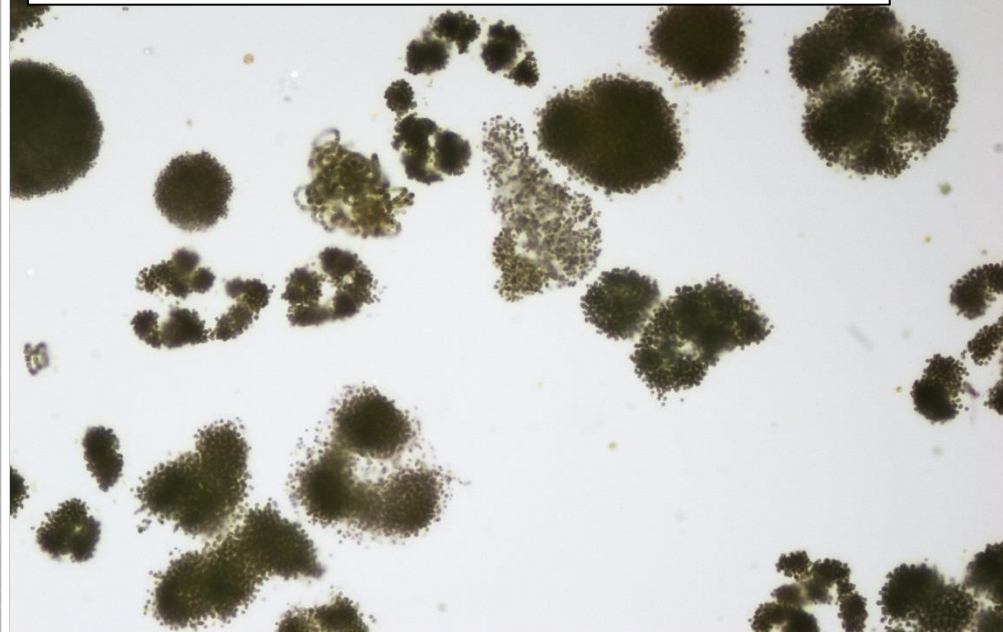


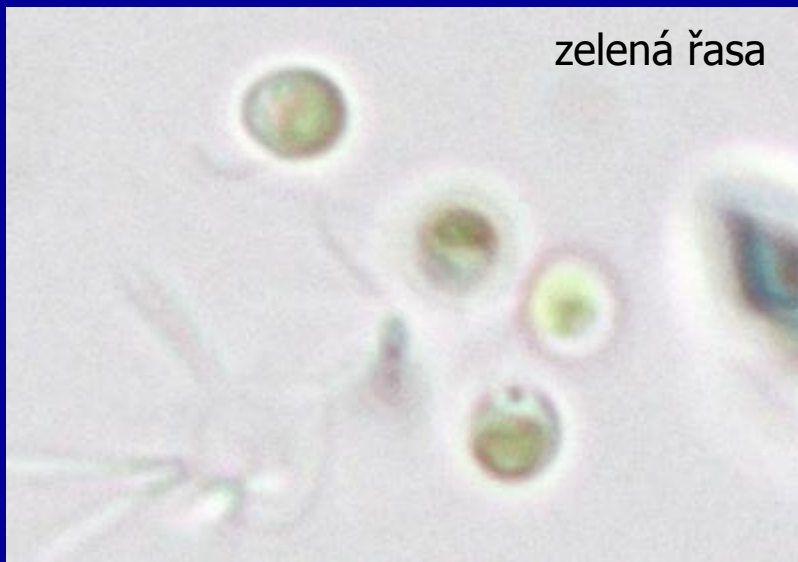
foto kolonií *Microcystis* z jiné lokality



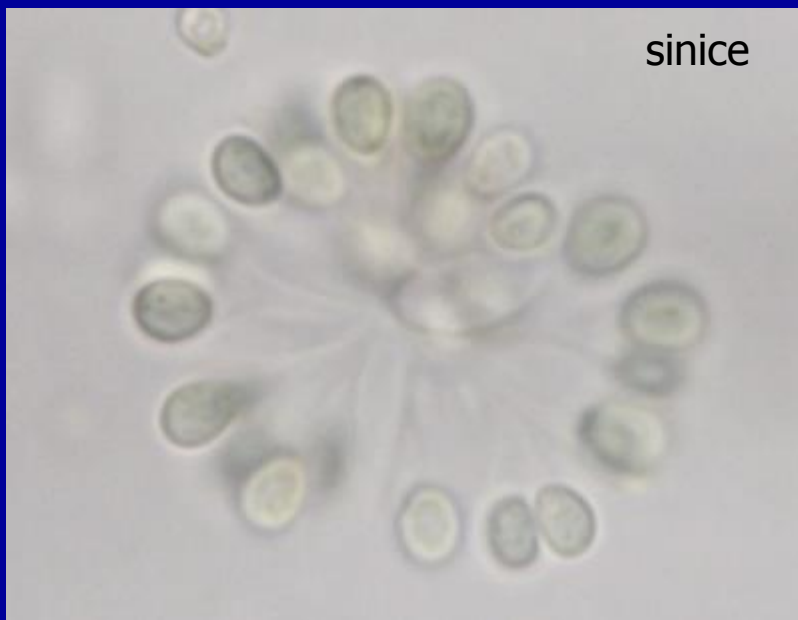
Kód	Nález	Úspěšnost
36	Dominují buňky <i>Microcystis</i> , ojediněle krátká vlákna <i>Pseudanabaena</i>	+
161	Drobné kokální zelené řasy (cf <i>Stichococcus</i> sp.)	-
165	částice kulovitého tvar, průměr 2-3µm, bez fluorescence, vzhledově odpovídají buňkám nanosinic	+
172	<b>Stychcoccus sp.</b>	-
183	drobné zelené kokální řasy (cf. <i>Stichococcus</i> sp.)	-
396	rostlinné zbytky, vlákna bavlny, peří, <i>Microcystis</i> sp., neidentifikovatelné zbytky detritu.	+
481	Drobné chlorokokální řasy (ve fluorescenci nesvítily červeně - mrtvé organismy).	-
586	Ve vzorku dominují jednotlivé buňky kokální sinice rodu <i>Microcystis</i> sp. Dále byla přítomna sinice rodu <i>Pseudanabaena</i> ( cf. <i>mucicola</i> ).	+
588	zrnka křemičitého písku	-
591	Drobné zelené řasy, šupina z křídla motýla.	-
662	částice kulovitého tvaru velikosti přibližně 3 um, nezelenalé bez struktury, nejspíš se bude jednat o zelenou řasu <i>Ulotrichales</i> , cf. <i>Stichococcus</i> sp.	-
747	Buňky kokálních sinic (velikost buněk 4-5 um), ojediněle sinice rodu <i>Pseudanabaena</i> , fragmenty řas rodu <i>Scenedesmus</i> a <i>Pediastrum</i> , organický detritus, ojediněle plísň.	+
826	Dominantní drobné kuličky - zelený slabý nádech bez fluorescence (drobné zelené řasy).	-
1048	Ve (fixovaném?) vzorku byl zjištěn poměrně ojedinělý výskyt zástupců 2 skupin sinic: - krátká vlákna oscilatoriálních sinic: <i>Pseudanabaena</i> sp./ <i>Komvophoron</i> sp. - buňky/2-buněčné útvary/malé shluky chrokokálních sinic: <i>Chroococcus</i> sp./ <i>Synechocystis</i> sp.	+
1109	Dominují jednotlivé (a dělicí se) buňky kokálních sinic, zřejmě rodu <i>Microcystis</i> . Ojediněle se vyskytují vlákna sinice <i>Pseudanabaena mucicola</i> . Vzorek byl zřejmě dezintegrován.	+
1110	drobné chlorokokální řasy ( <i>Stichococcus</i> sp. ?)	-
1415	detritus	-

# Proč ne *Stichococcus* ale sinice?

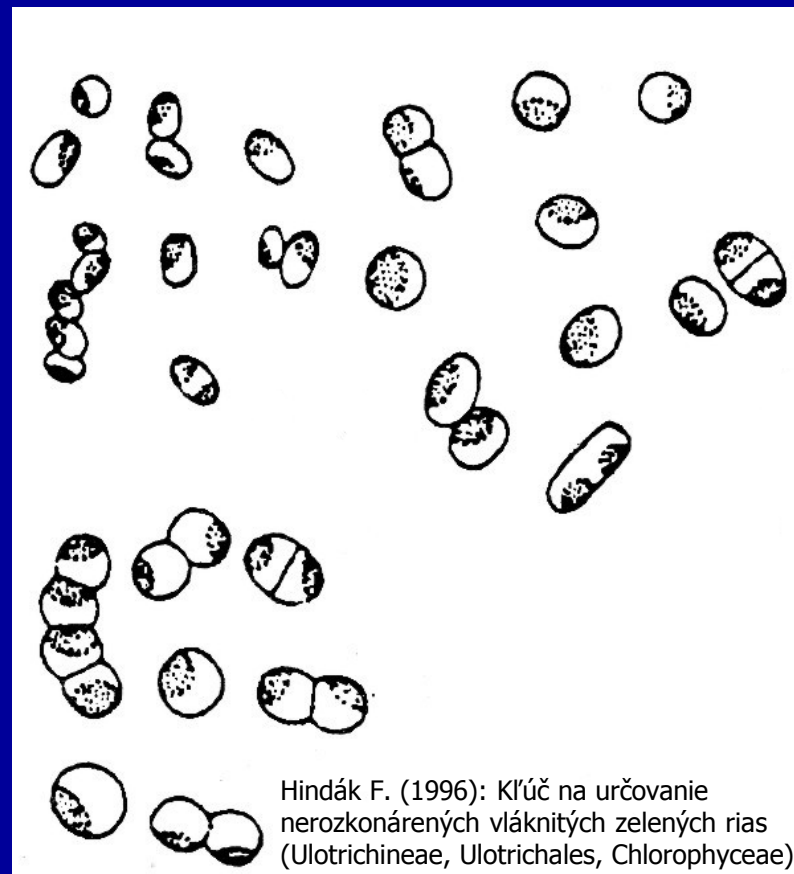
fotografie z jiných vzorků (kromě sinice vpravo dole)



zelená řasa



sinice



Hindák F. (1996): Klíč na určovanie nerozkonárených vláknitých zelených rias (Ultrichineae, Ultrichales, Chlorophyceae)



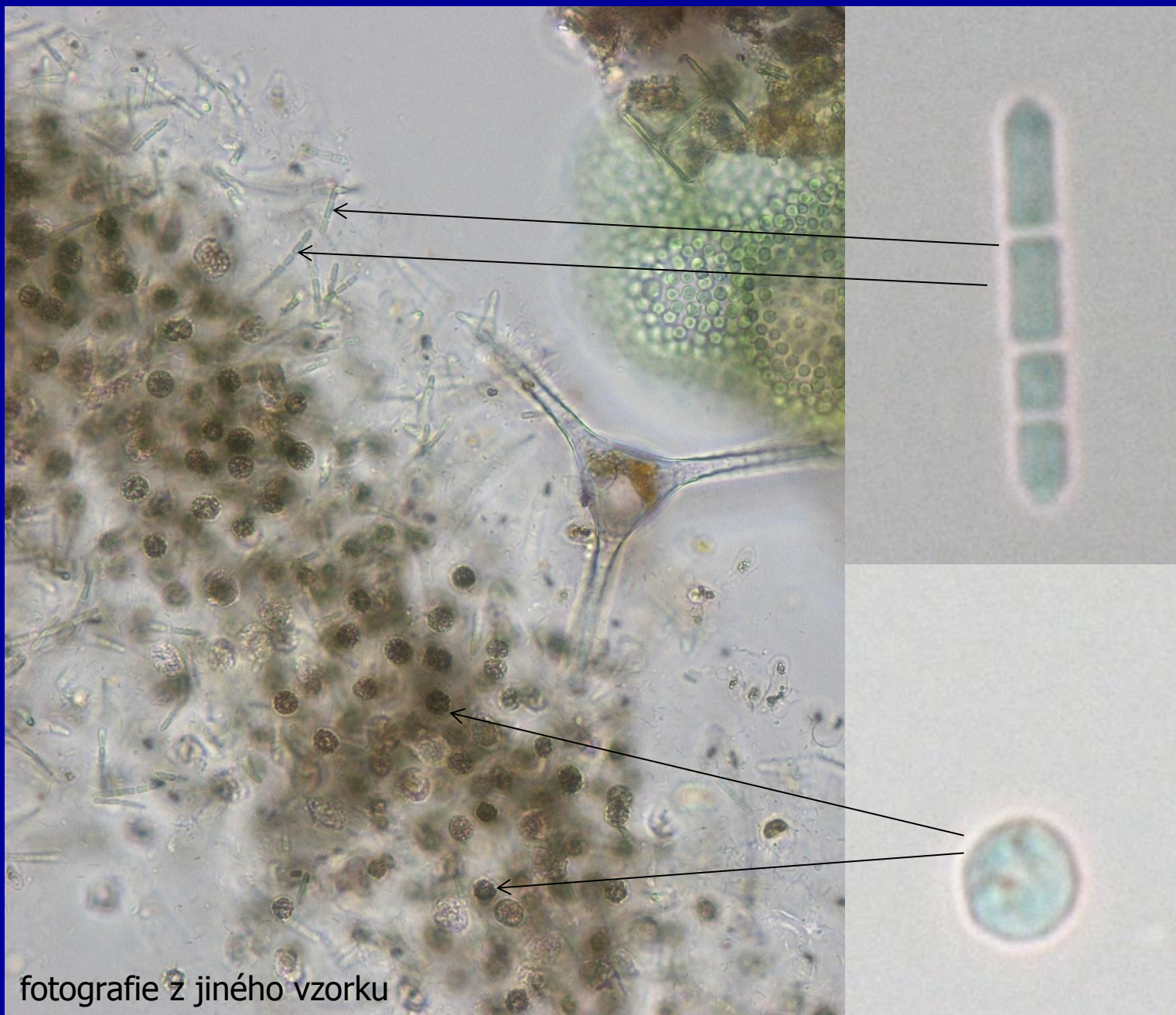
zelená řasa

formalín



sinice

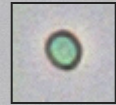
formalín



fotografie z jiného vzorku

případ Trnová (vzorek upravené vody v síti ze srpna 2015)

buňka sinice – biolog by měl poznat



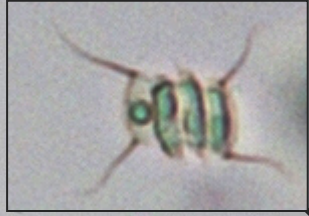
3 μm



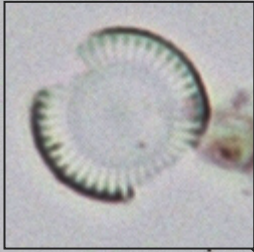
1 μm



8 μm



9 x 6 μm



14 μm



# Vzorek 3B

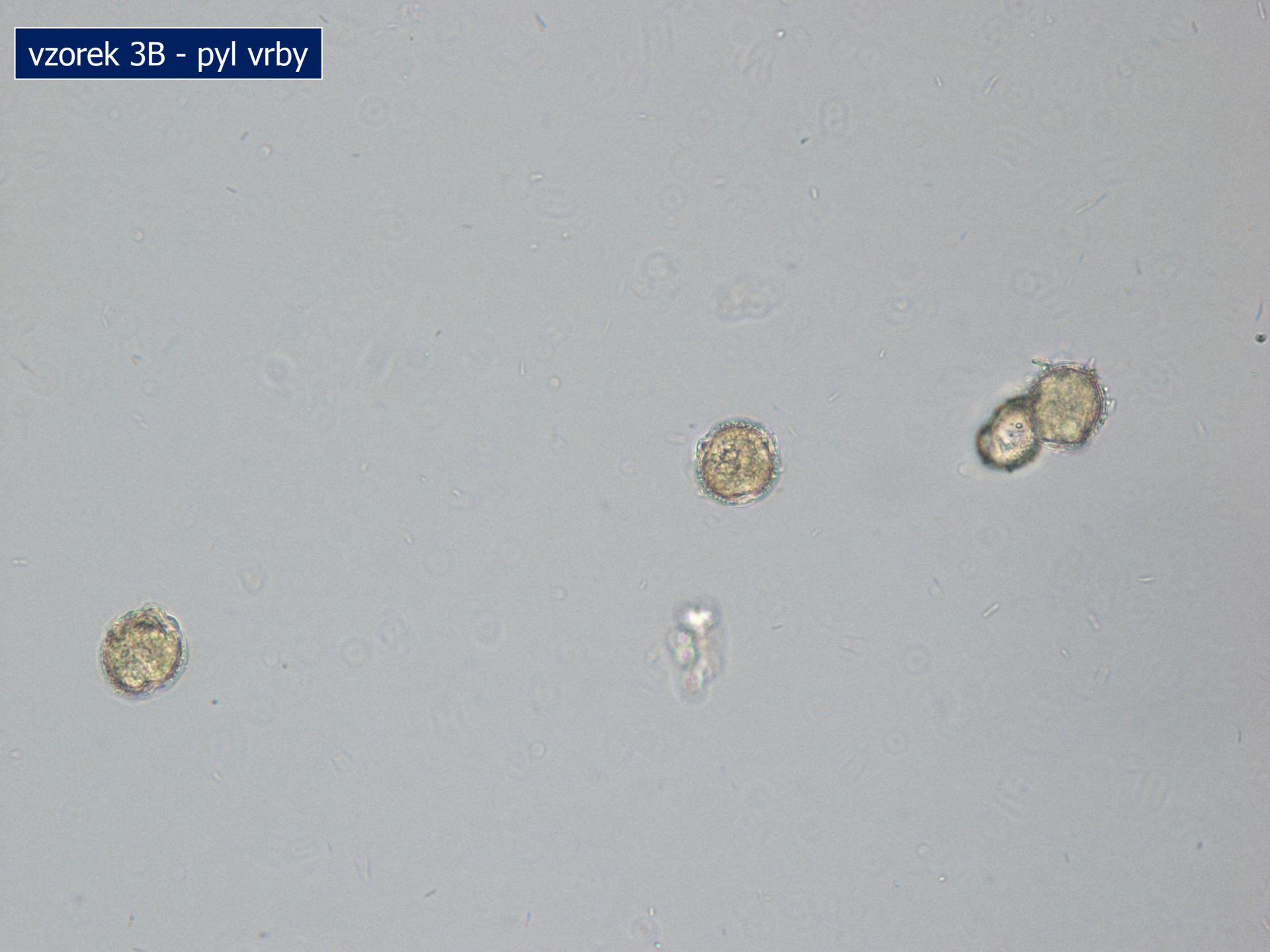
# Příprava

- výluh ze spadanych jehněd vrby,  
filtrován přes síto 100  $\mu\text{m}$  a ošetřen  
chlorovým dezinfekčním přípravkem

vzorek 3B - pyl vrby



vzorek 3B - pyl vrby



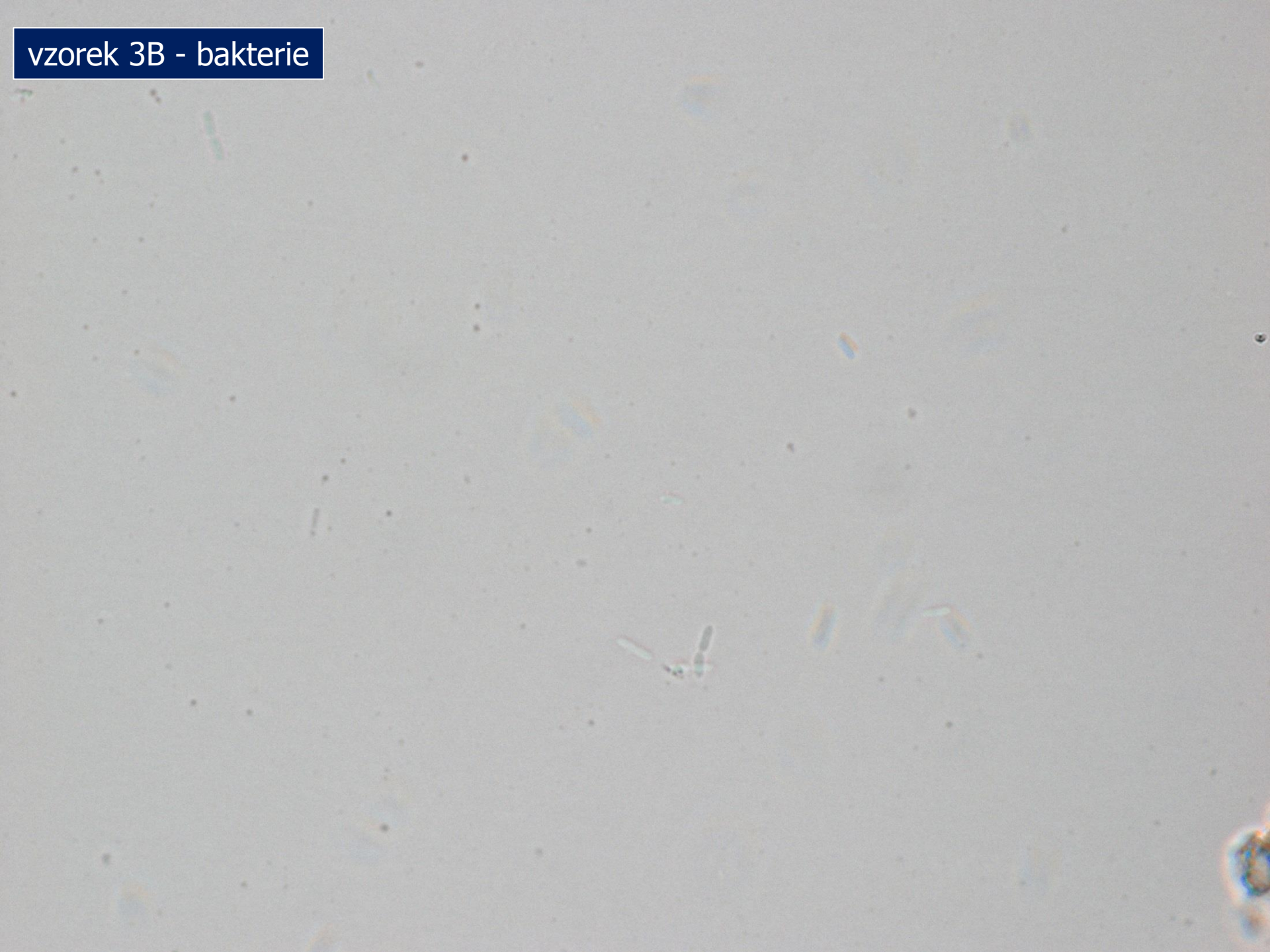
vzorek 3B - pyl vrby



vzorek 3B - pyl vrby



vzorek 3B - bakterie



Kód	Nález	Úspěšnost
36	Pylová zrna vrby	+
161	Pylová zrna.	+
165	pylová zrna	+
172	Pylová zrna	+
183	pylová zrna	+
396	pylová zrna (bříza, magnolie)	+
481	Pylová zrna.	+
586	Ve vzorku dominují pylová zrna listnatého stromu.	+
588	pylová zrnka břízy	+
591	Pylová zrna.	+
662	pylová zrna	+
747	Přítomnost pylových zrn (vrba?), velmi hojný výskyt bakterií.	+
826	V tomto vzorku byla dominantní pylová zrna.	+
1048	Dominantní objekt (abioseston): pylová zrna (pravděpodobně vrby)	+
1109	Dominují pylová zrna, zřejmě topolu. Ojediněle se vyskytují pylová zrna břízy.	+
1110	pylová zrna	+
1415	při manipulaci rozbitá vzorkovnice	X



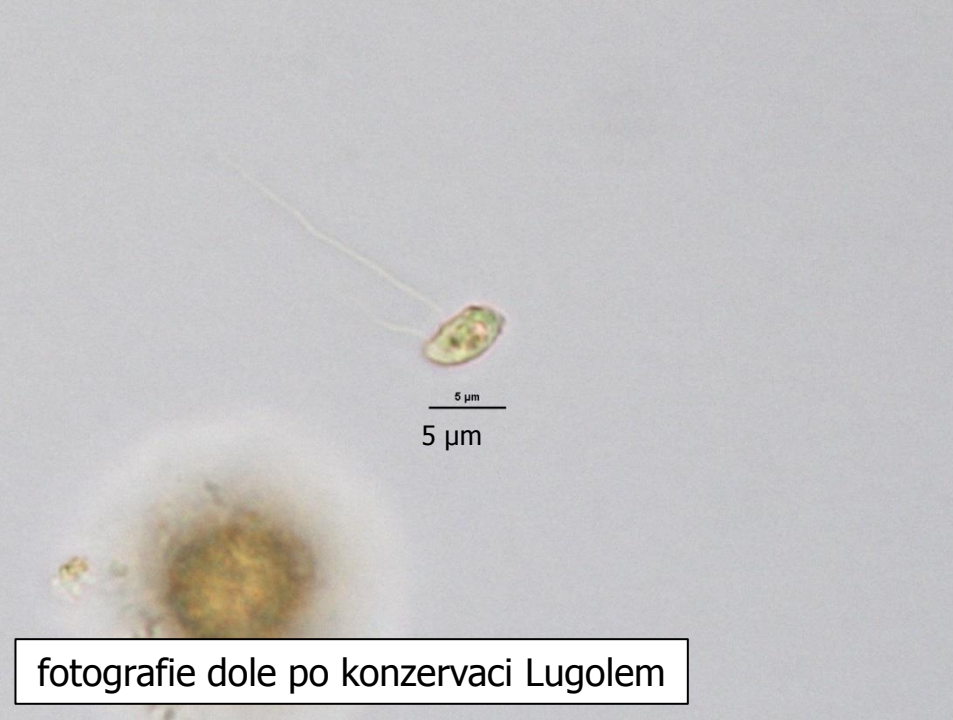
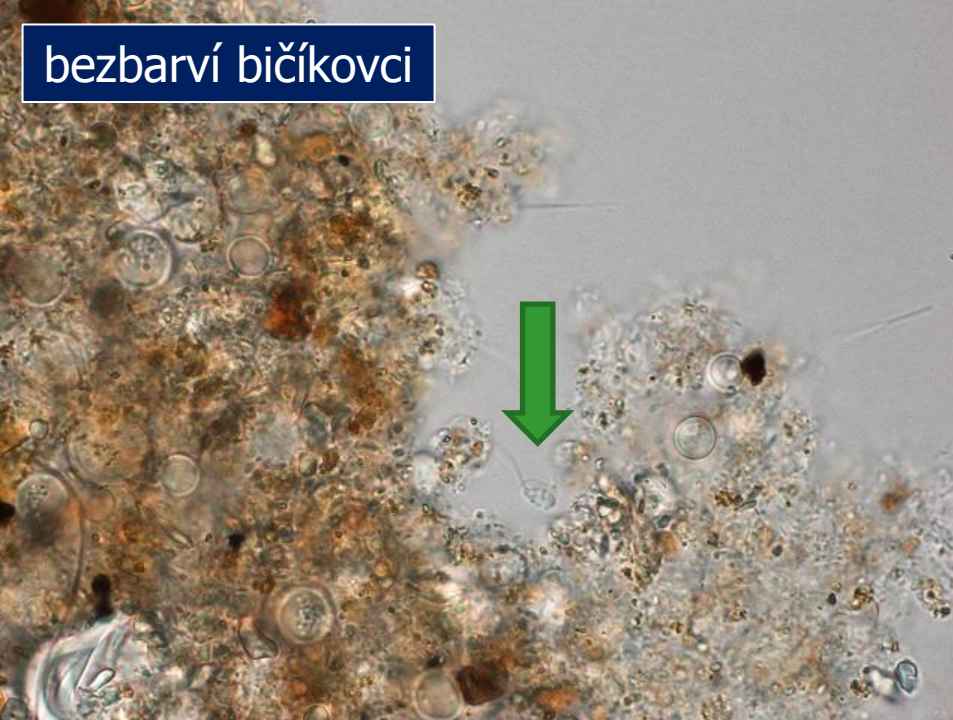
# Vzorek 4

## (Heterotrofní organismy)

# Příprava

- starší inokulum
- odstátá vodovodní voda
- přiživeno oplachem misky po stanovení počtu kolonií

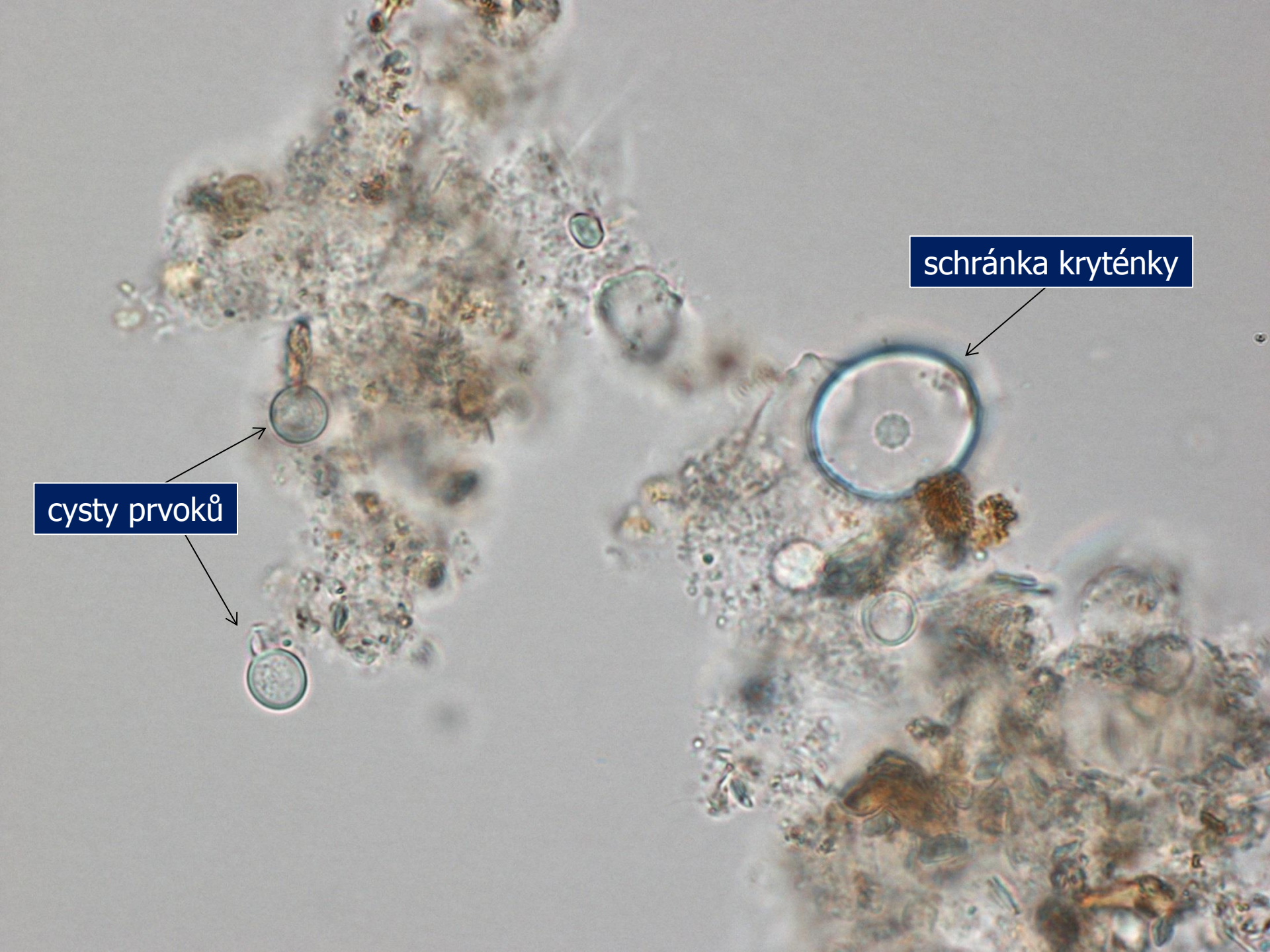
bezbarví bičíkovci



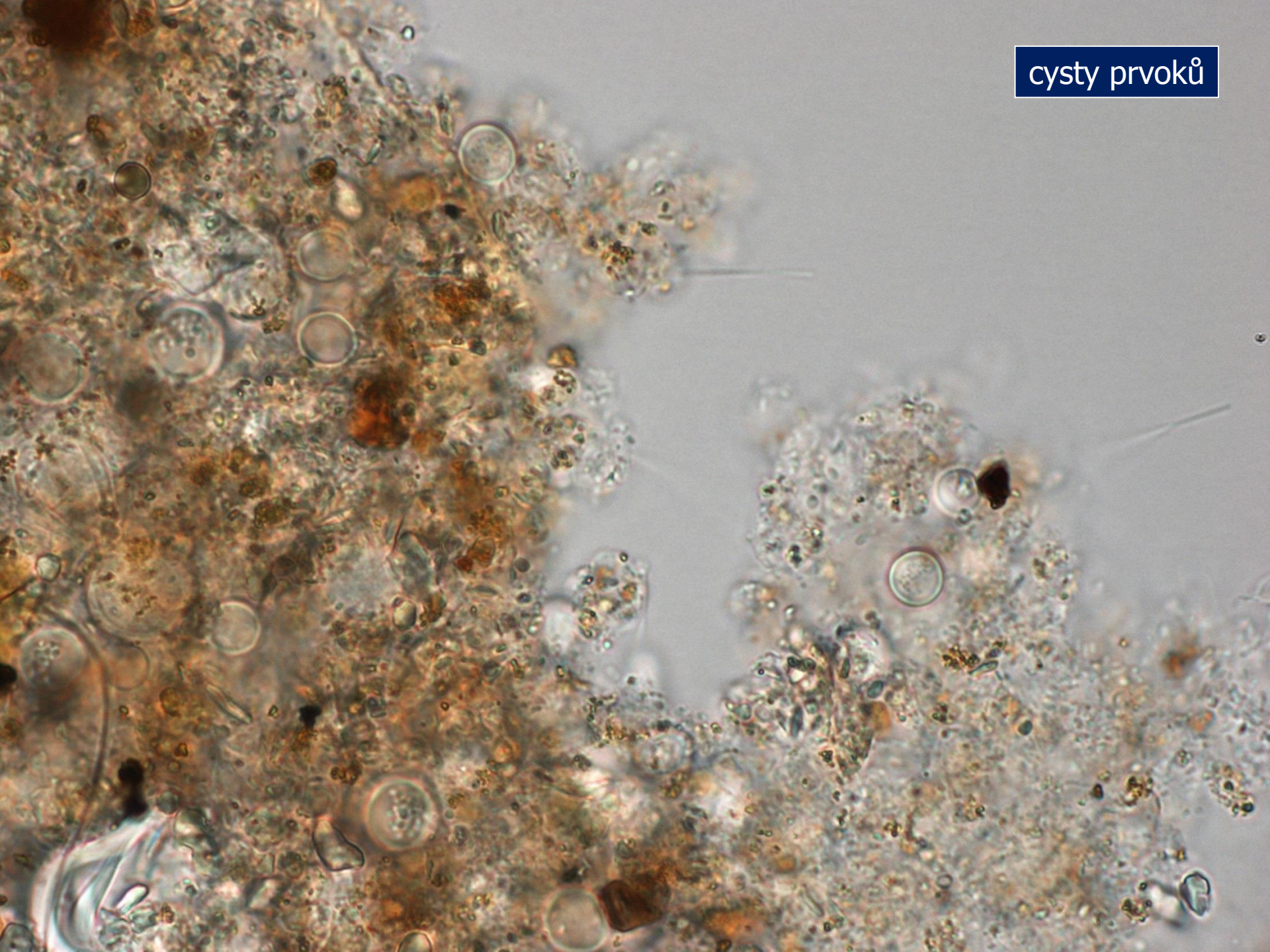
fotografie dole po konzervaci Lugolem

cysty prvoků

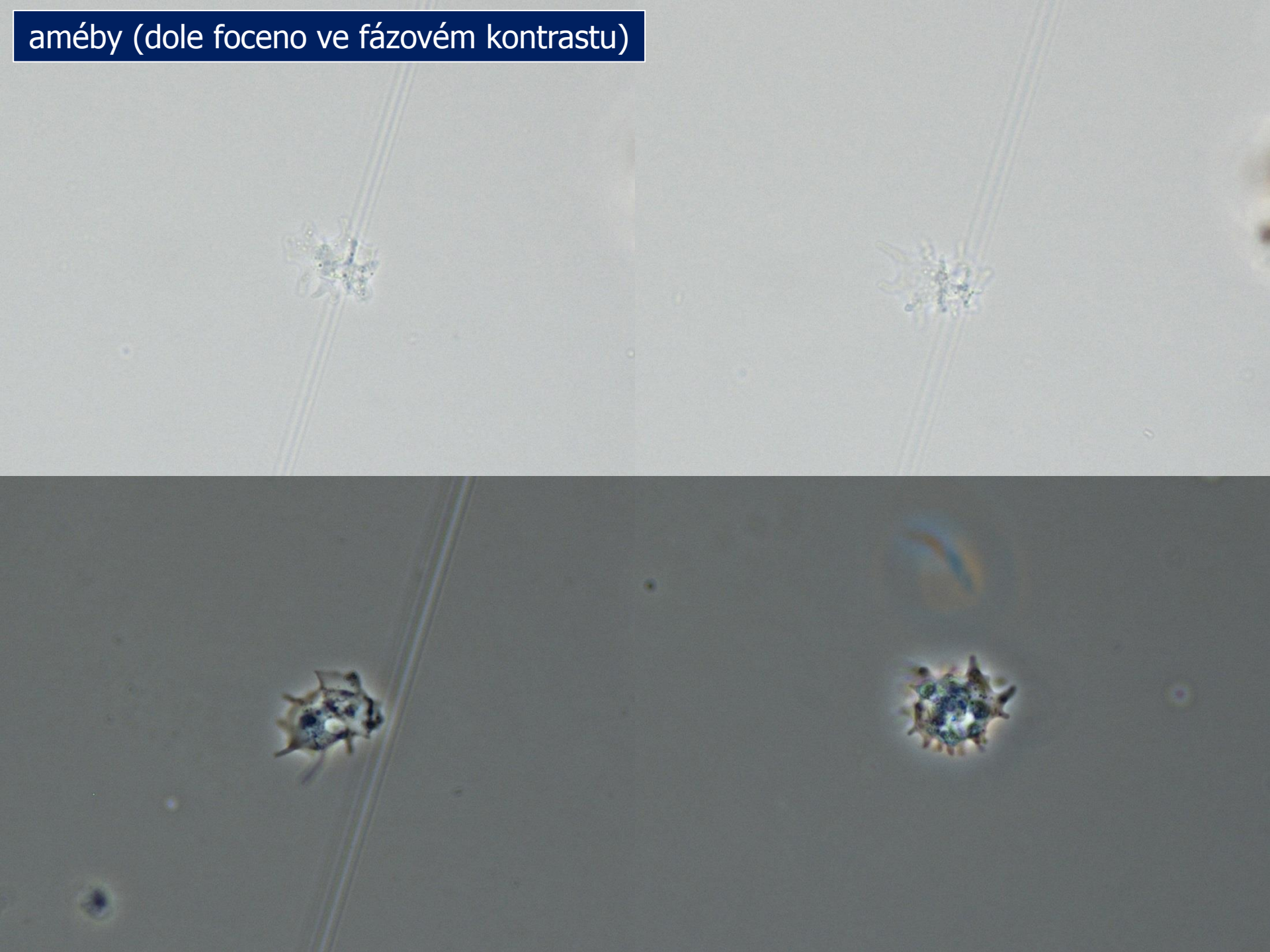
schránka kryténky



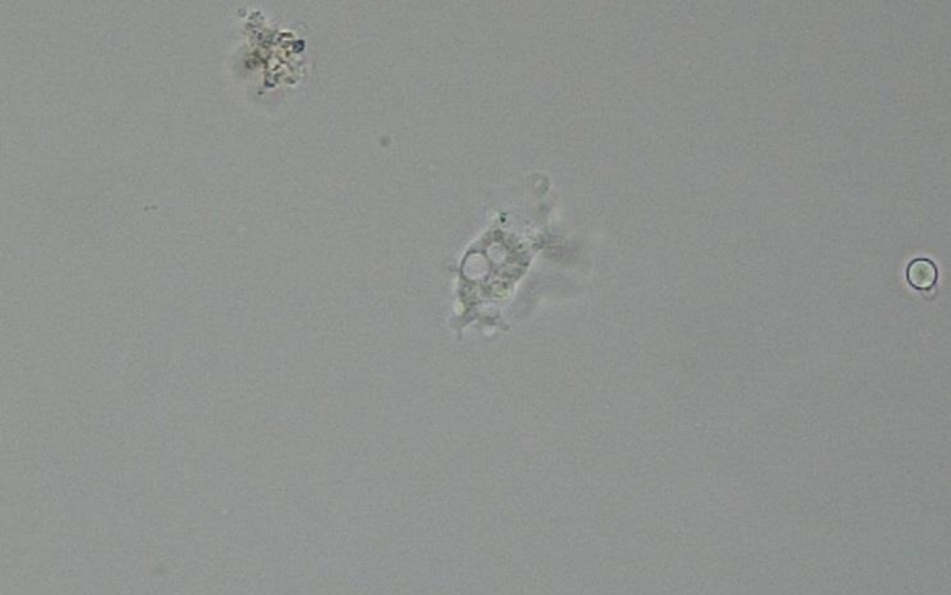
cysty prvoků



améby (dole foceno ve fázovém kontrastu)



améby (dole foceno ve fázovém kontrastu)



*Nitzschia*



*Nitzschia*

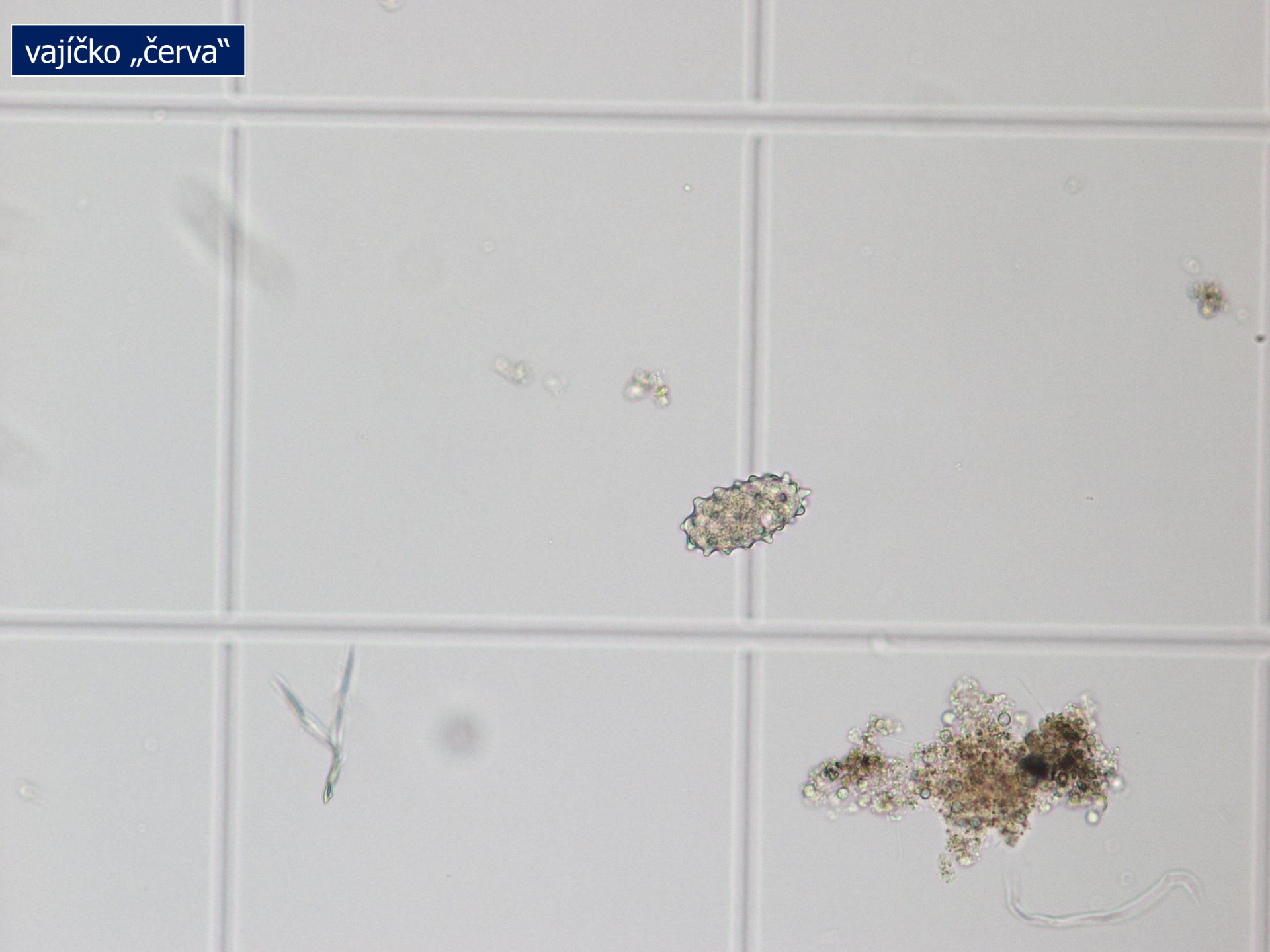


*Trachelomonas*  
(mrtvá buňka)



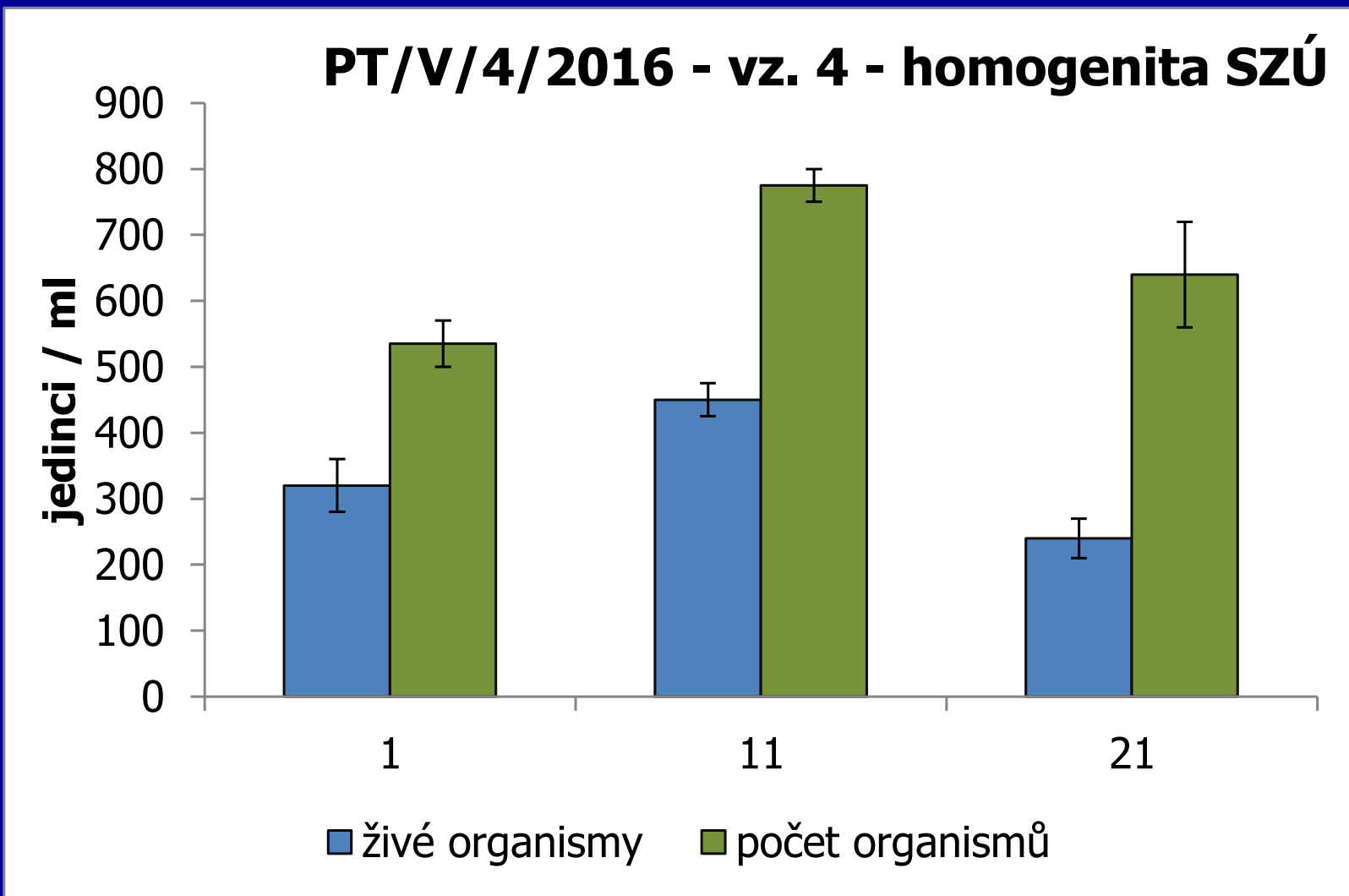


vajíčko „červa“

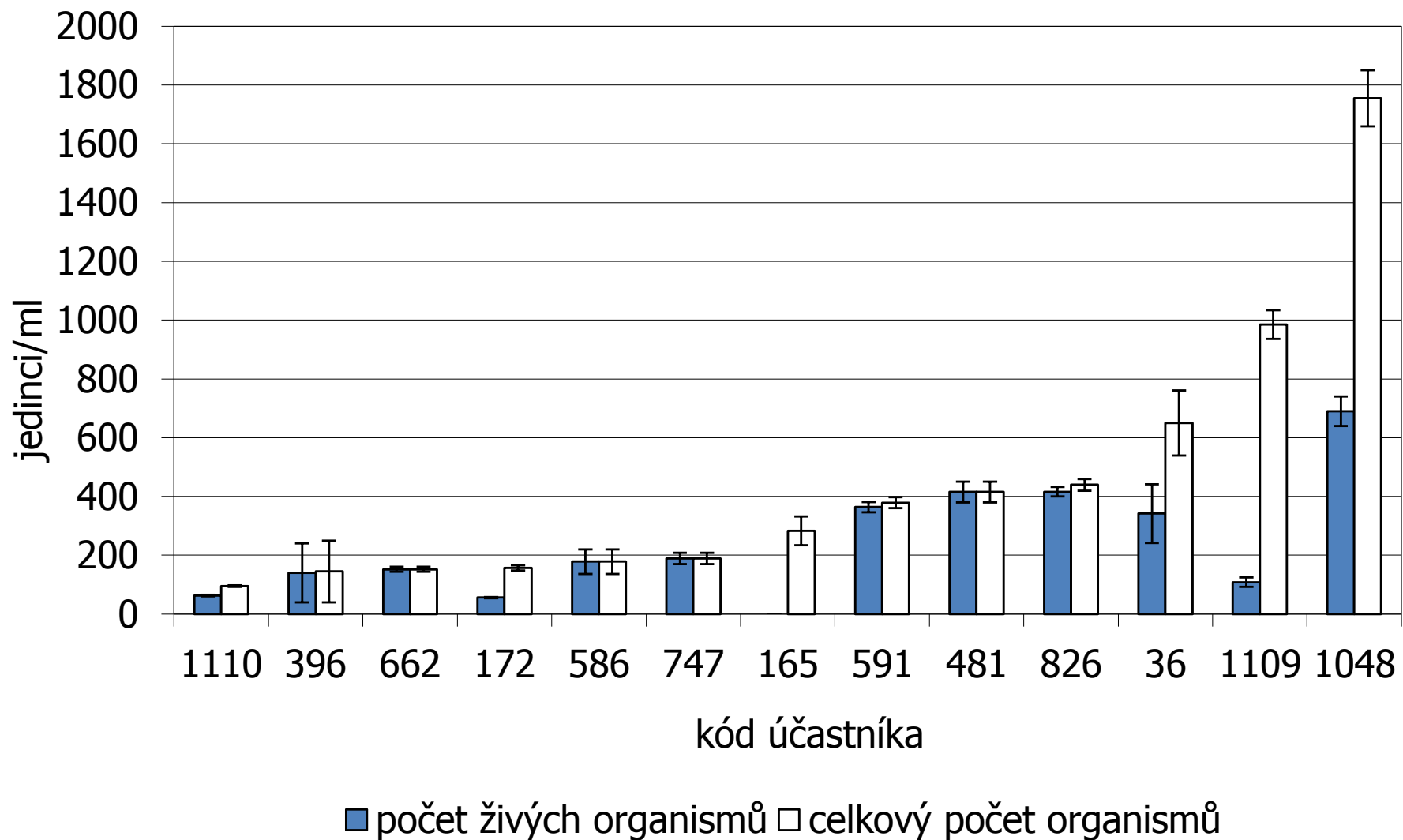


Kód	Nález	Úspěšnost
36	Dominují bezbarví bičíkovci, četné cysty, ojediněle přítomny améby, ojediněle řasy (rozsivky, krásnoočka), vířníci, vajíčka „červů“?	+
165	dominantní: drobní bezbarví bičíkovci méně četné: améby a Heliozoa	+
172	Bezbarví bičíkovci, oj. centrické rozsivky, červ	+
396	Flagellata apochromatica	+
481	Flagellata apochromatica.	+
586	Ve vzorku se vyskytuje velké množství heterotrofních organismů s převahou bezbarvých bičíkovců (Flagellata apochromatica). Dále byla zjištěna přítomnost améb.	+
591	Dominují bezbarví bičíkovci, v menší míře améby.	+
662	Bezbarví bičíkovci - Flagellata apochromatica.	+
747	Přítomnost améb a bezbarvých bičíkovců.	+
826	Ve vzorku jsou dominantní améby (+ jejich cysty), bezbarví bičíkovci, ojediněle vířníci, kryténky, drobné blíže neurčitelné kuličky - zelená řasa?.	+
1048	Jako dominantní skupina byli zjištěni drobní heterotrofní bičíkovci - Flagellata apochromatica g.sp. Ve vzorku bylo dále zjištěno významné zastoupení dalších skupin heterotrofních mikroorganismů - Amoebina g.sp. a Heliozoa g.sp. Ojedinělý výskyt - Ciliata g.sp.	+
1109	Dominují bezbarví bičíkovci, dále byl zaznamenán výskyt cyst konzumentů, měňavek a mikromycet. Jen ojediněle se vyskytovaly kryténky a vířníci. pozn.: počet je spíše orientační - v živém vzorku bylo obtížné kvantifikovat rychle se pohybující drobné bičíkovce, kteří rychle odumírali. Také u měňavek byl obtížně stanovován fyziologický stav z důvodu velmi pomalého pohybu. Počet živých organismů byl stanoven v živém vzorku. Vzorek byl také zpracováván paralelně po fixaci Lugolovým roztokem, přičemž celkový počet organismů byl stanoven jako průměr z fixovaného a nefixovaného vzorku.	+
1110	Bezbarví bičíkovci, centrické rozsivky, bakteriální vlákna a shluky, ojediněle drobné chlorokokální řasy, eugleny, zlativky, vířníci, pylová zrna, části schránek korýšů (oživení mělkých vod ?)	+

# Vzorek 4 – homogenita (SZÚ)



# vzorek 4 (2016 - účastníci)



# Kvalitativní rozbor pitná voda - souhrnně

Kód	Pitná voda						Celkem
	Vzorek						
	1a	1b	2	3A	3B	4*	
161	+	+	+	-	+	X	+
165	+	+	+	+	+	+	+
172	+	+	+	-	+	+	+
183	+	+	+	-	+	X	+
396	+	+	+	+	+	+	+
481	+	-	+	-	+	+	-
586	+	+	+	+	+	+	+
588	+	-	+	-	+	X	-
591	+	+	+	-	+	+	+
662	+	+	+	-	+	+	+
747	+	-	+	+	+	+	+
826	+	+	+	-	+	+	+
1048	+	+	+	+	+	+	+
1109	+	+	+	+	+	+	+
1110	+	+	+	-	+	+	+
1415	-	-	+?	-	X	X	-

\* Výsledky vzorku 4 jsou zde uvedeny pouze pro informaci a nebylo k nim přihlíženo v celkovém hodnocení ukazatele

+ vyhovuje; ?+ sporné; - nevyhovuje; x výsledek nedodán

# Vzorek 5

## Surová voda

# jeden z rybníků v Jenštějně

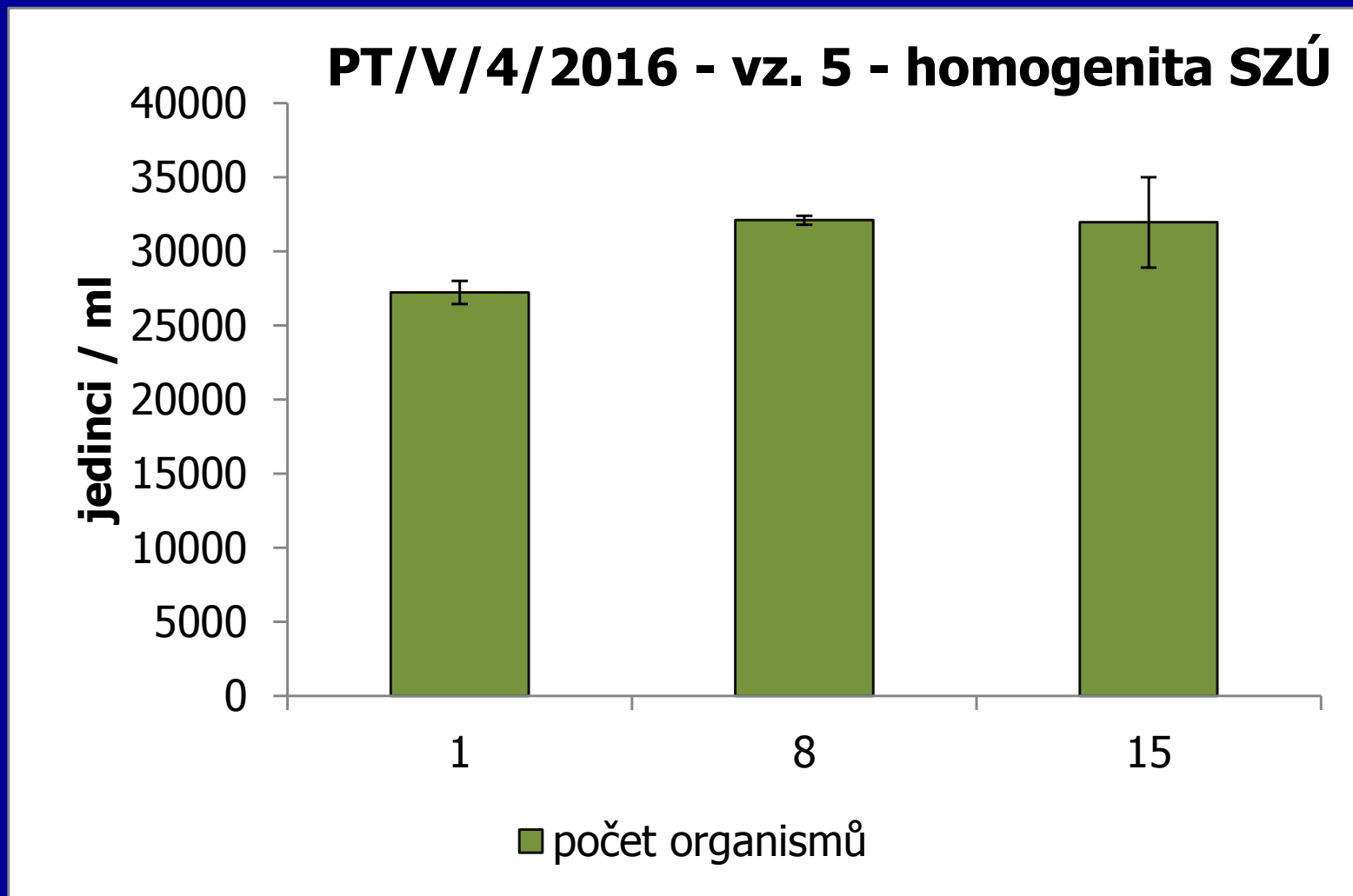




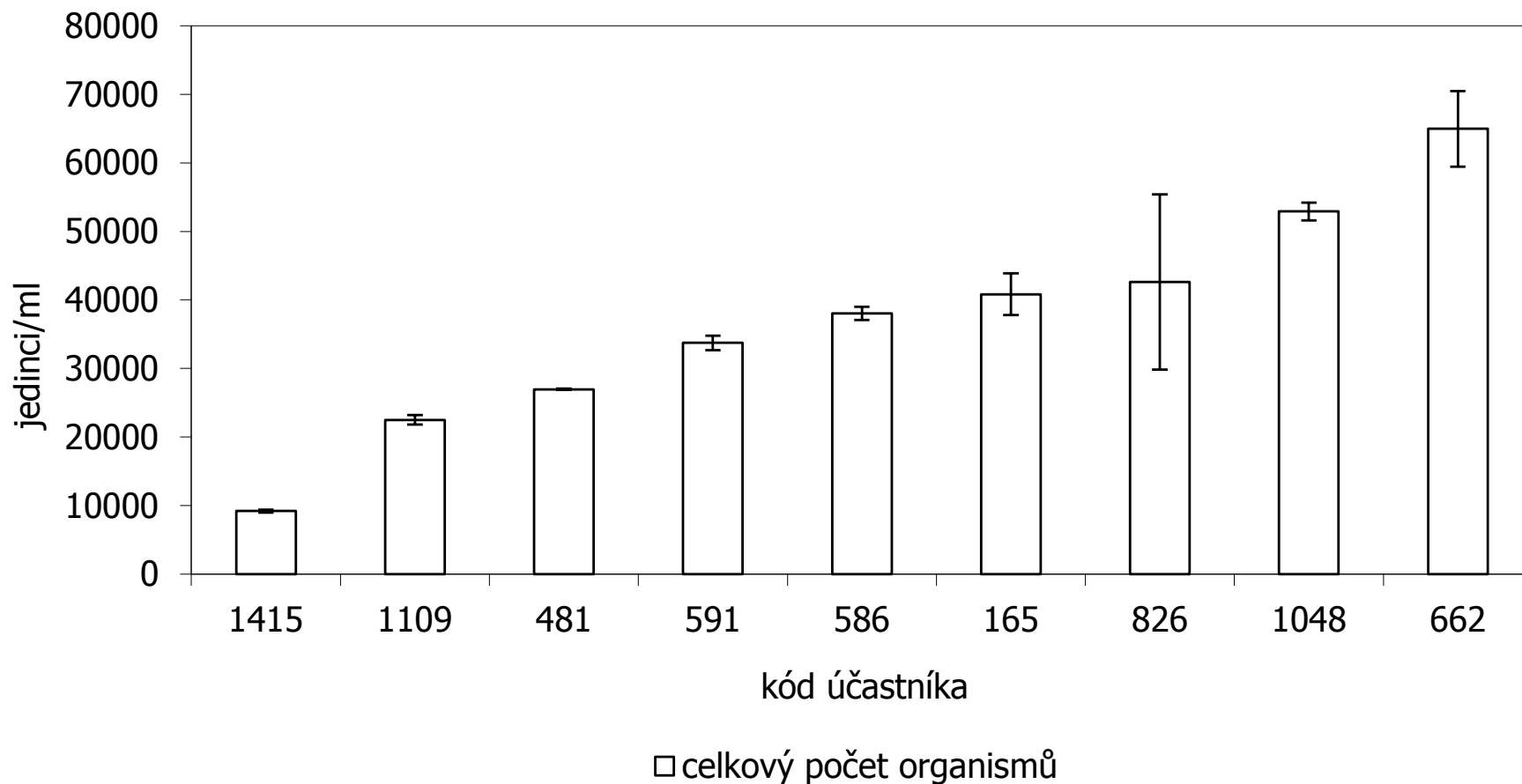




# Vzorek 5 – homogenita (SZÚ)



### vzorek 5 (2016 - účastníci)



# Vzorek 5 – Surová voda - počet organismů

V	lab	výsledek (jedinci/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
?	1415	9198,0	-2,31			■	■	■				
X	1109	22508,5	-1,24				■	■				
X	481	26960,0	-0,89				■	■				
X	591	33726,0	-0,35					■				
X	586	38035,0	-0,01					■				
X	165	40827,5	0,22					■				
X	826	42615,0	0,36					■				
X	1048	52900,0	1,18					■	■			
?	662	64965,0	2,14					■	■	■		

počet laboratoří: 9  
z toho vyhovuje: 7  
z toho nevyhovuje: 2

vztažná hodnota: 38107 jedinci/ml  
vztažná odchylka: 12529 jedinci/ml  
interval správných hodnot: 13049 - 63165 jedinci/ml

V	lab	výsledek (jedinci/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1109	22508,5	-1,24				■	■				
X	481	26960,0	-0,89				■	■				
X	36	30425,0	-0,61				■	■				
X	591	33726,0	-0,35					■				
X	586	38035,0	-0,01					■				
X	165	40827,5	0,22					■				
X	826	42615,0	0,36					■				
X	1048	52900,0	1,18					■	■			
?	662	64965,0	2,14					■	■	■		

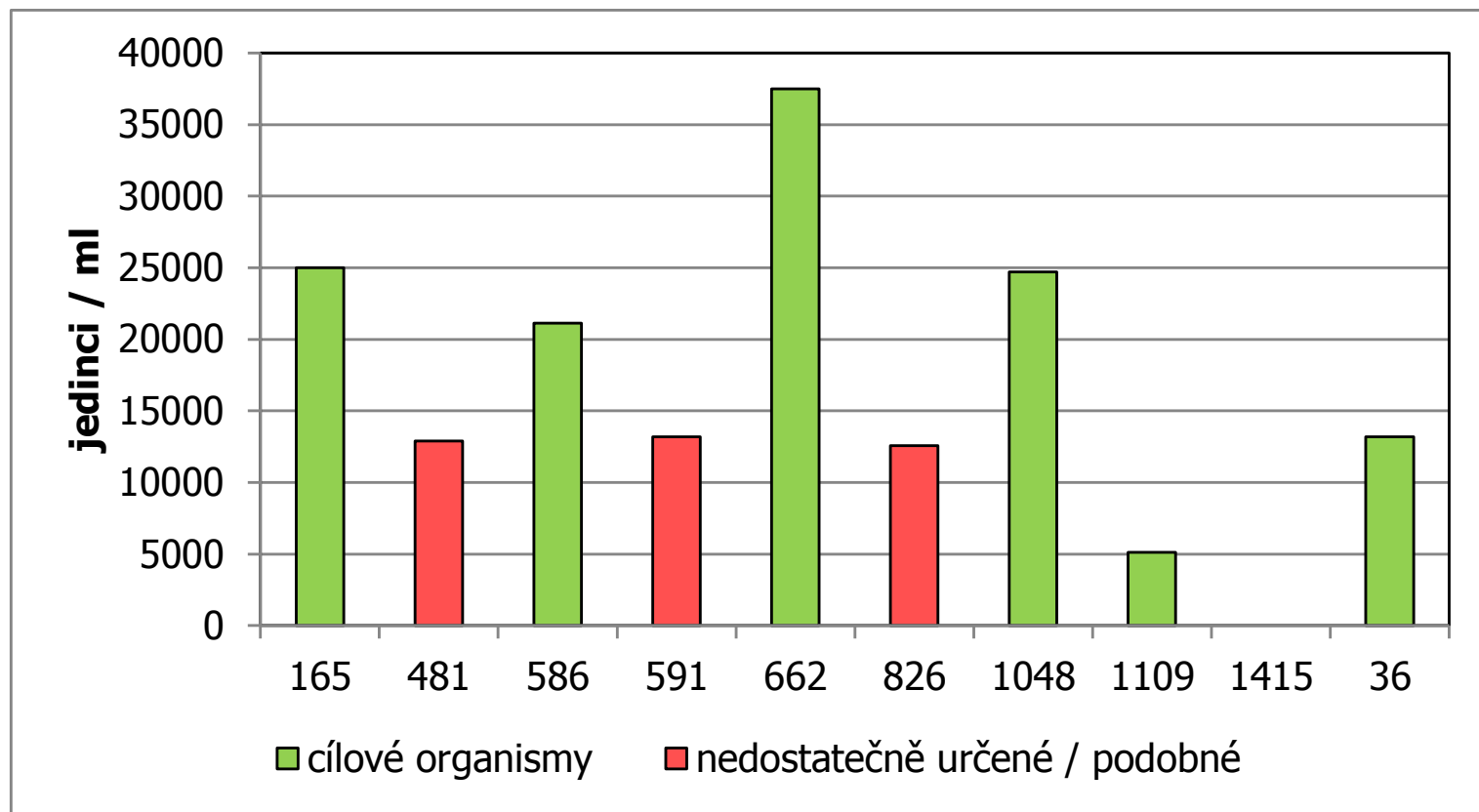
počet laboratoří: 9  
z toho vyhovuje: 8  
z toho nevyhovuje: 1

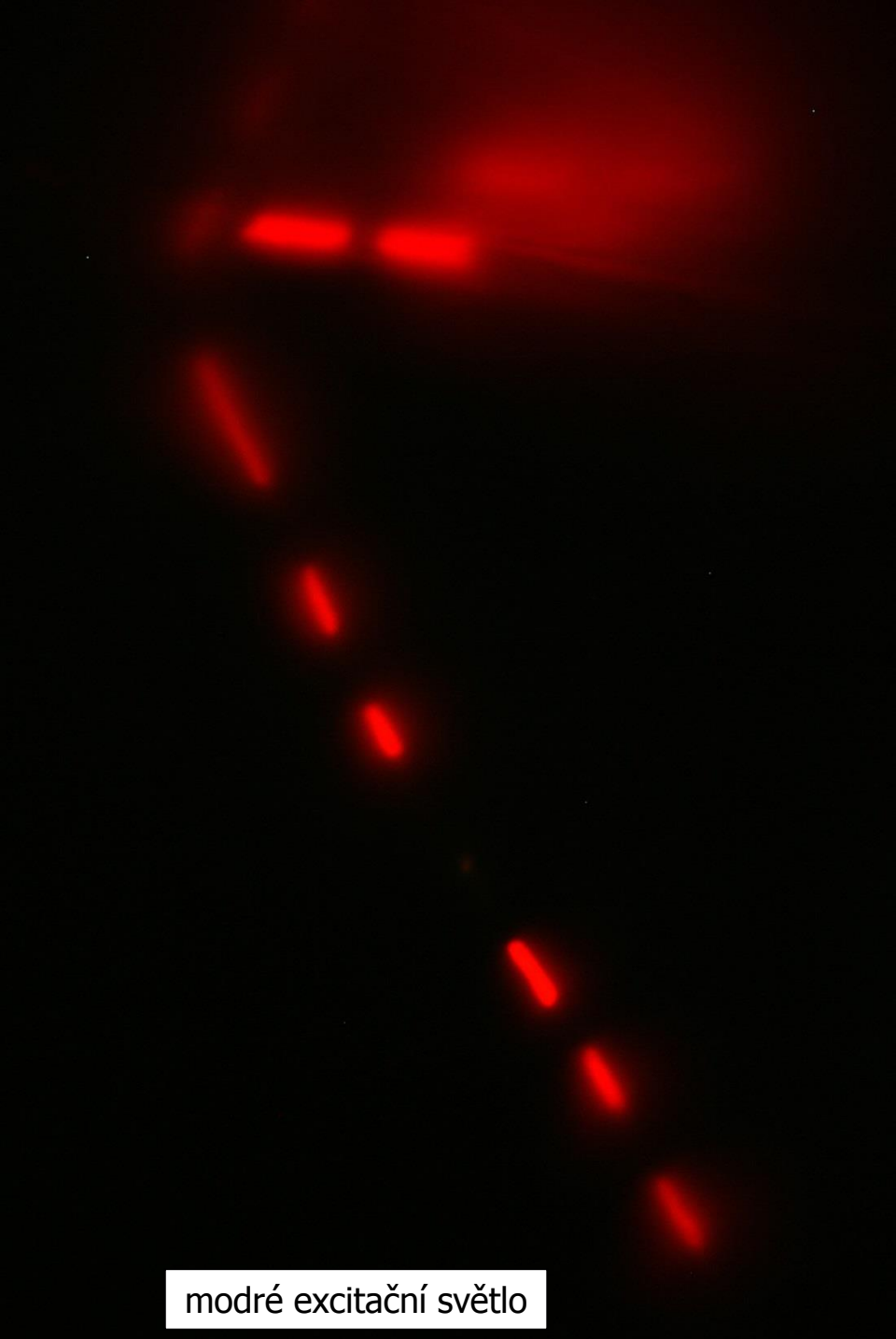
vztažná hodnota: 38107 jedinci/ml  
vztažná odchylka: 12529 jedinci/ml  
interval správných hodnot: 13049 - 63165 jedinci/ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

# 1. *Gloeotila*

Taxon	Kód									
	165	481	586	591	662	826	1048	1109	1415	36
Gloeotila - celkem	25000	0	21120	0	37490	0	24700	5128	0	13175
Gloeotila pelagica							24700	5128		13175
Gloeotila cf. pelagica			21120							
Ulotrichales					37490					
vláknité řasy zelené	25000									
Gloeotila - splněno	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+
<i>záměny a nedostatečně určeno</i>		12880		13190		12556				
sinice vláknité (tenké)		12880		13190		12556				





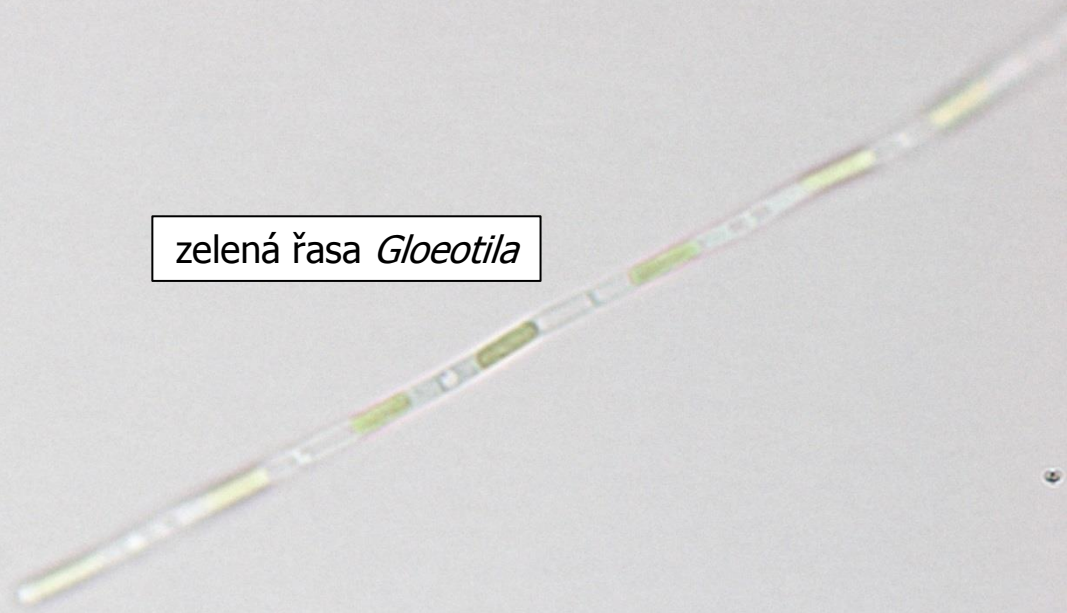
modré excitační světlo

sinice

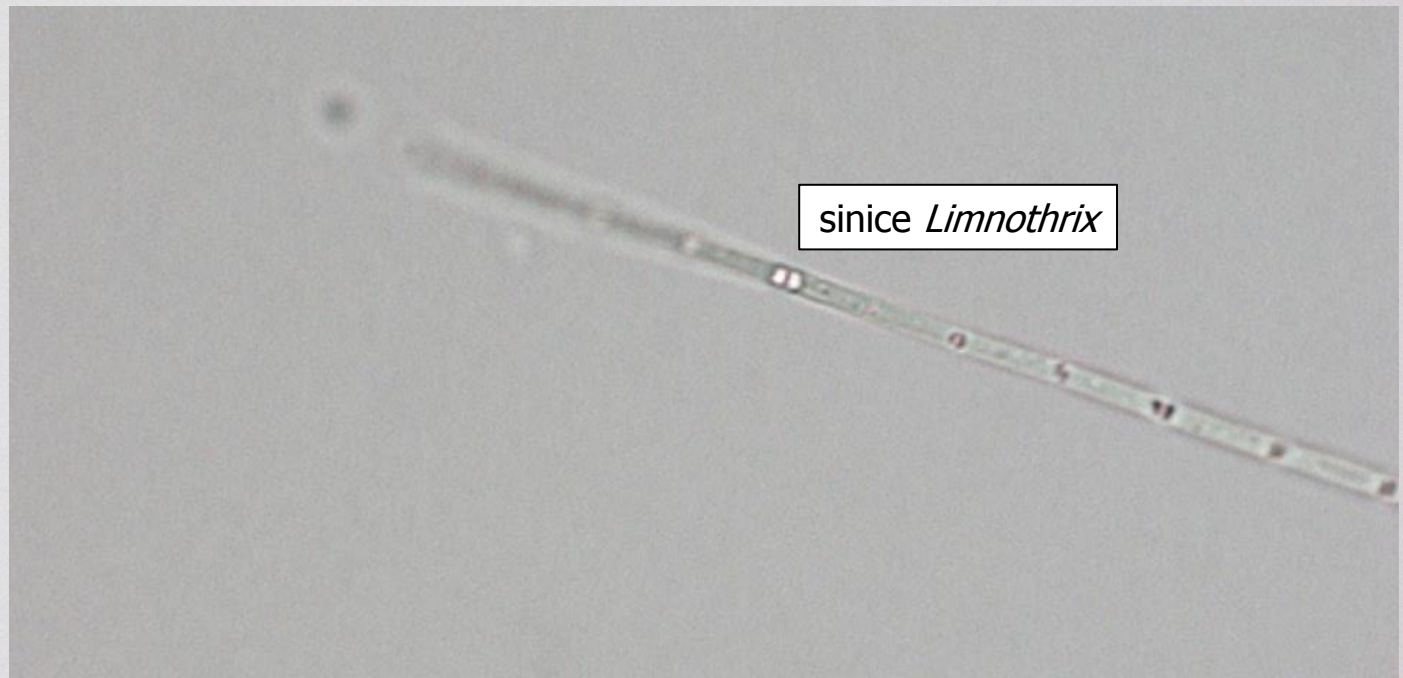
*Gloeotila*



zelená řasa *Gloeotila*



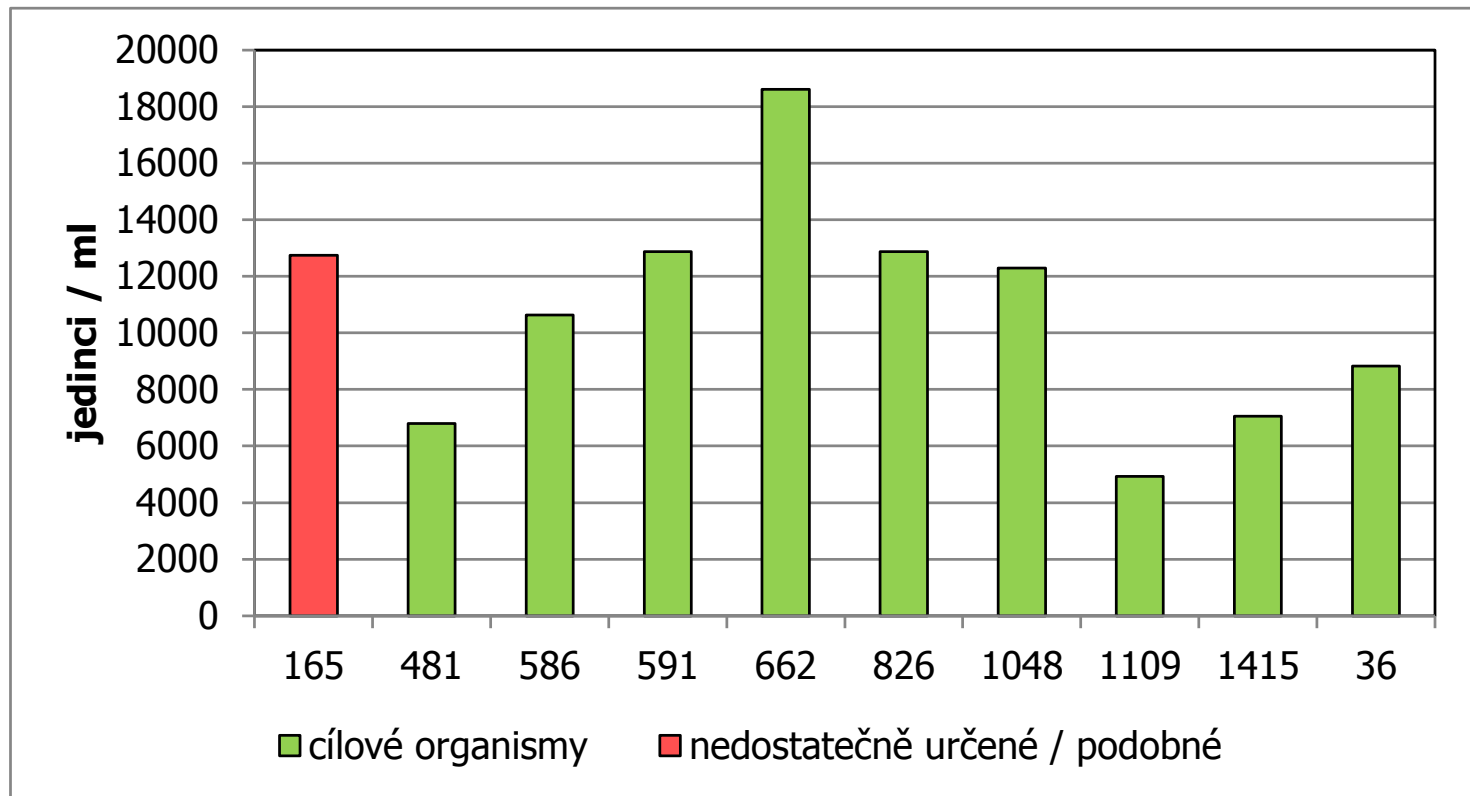
sinice *Limnothrix*





## 2. Fragilaria

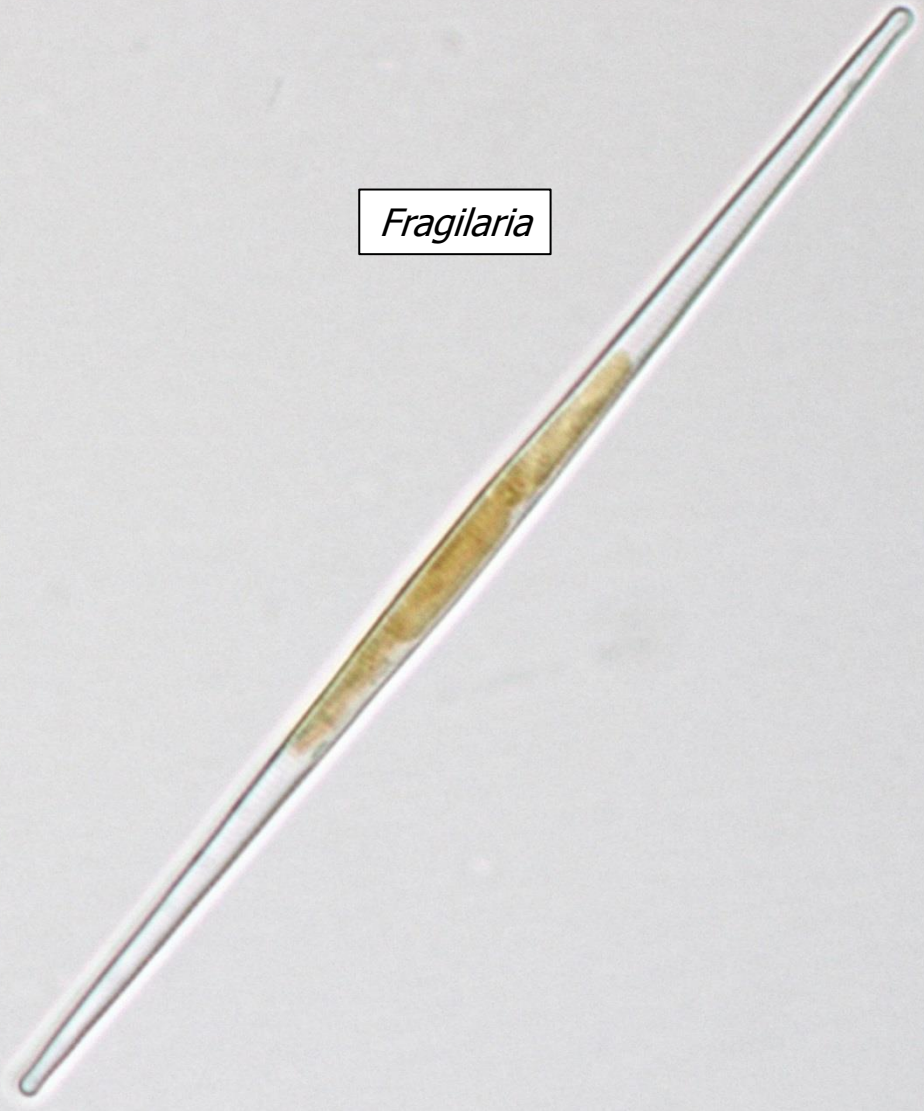
Taxon	Kód									
	165	481	586	591	662	826	1048	1109	1415	36
Fragilaria / Synedra - celkem	0	6800	10640	12880	18615	12875	12300	4935	7060	8825
Flagilaria sp.		6800	10640	12880		12875		4935	7060	8825
Fragilaria tenera + Synedra sp.							12300			
Synedra sp.					18615					
Fragilaria / Synedra - splněno	+/-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>záměny a nedostatečně určeno</i>	<i>12750</i>									
cf.Synedra, cf.Nitzschia, cf.Fragillaria	<i>12750</i>									







*Fragilaria*

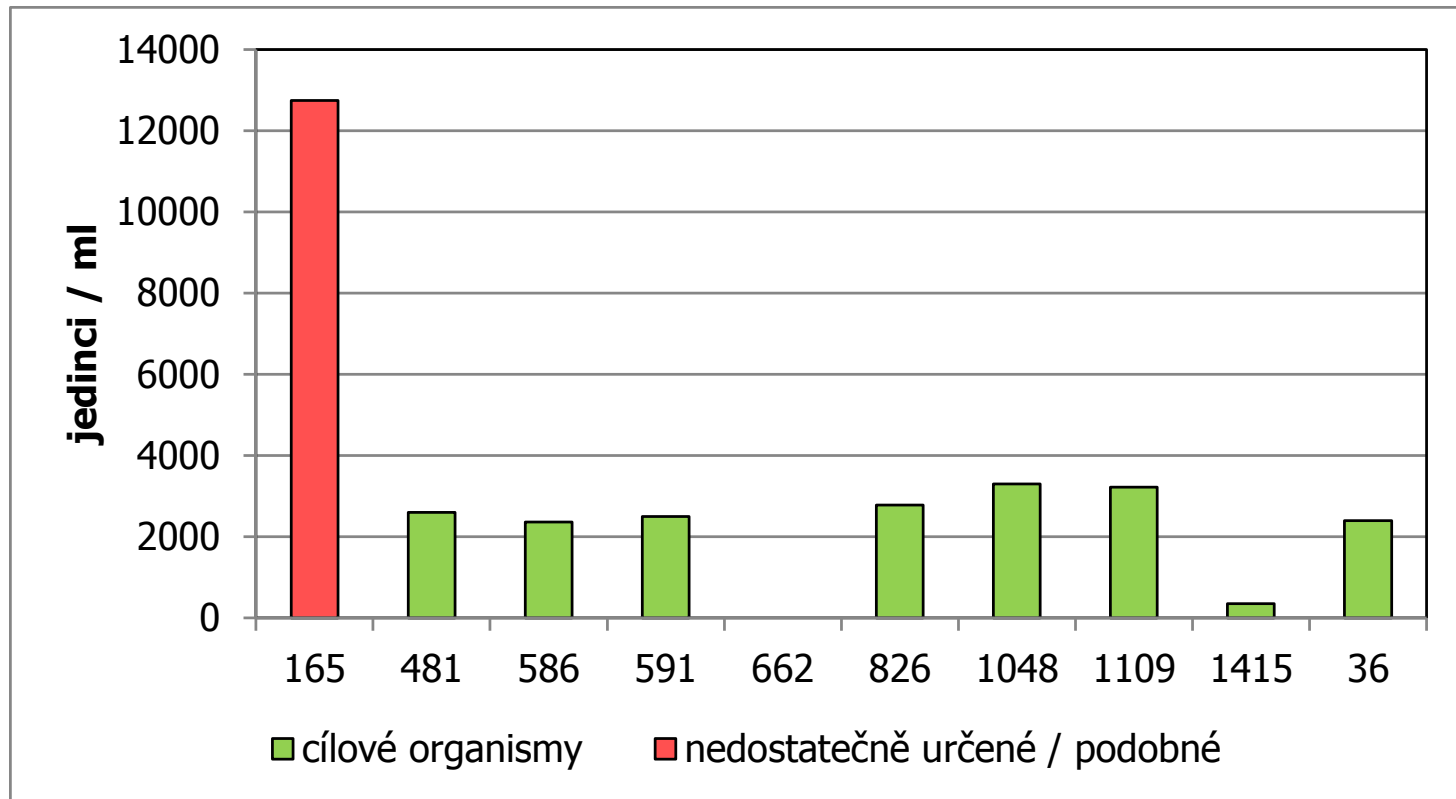


*Nitzschia*



### 3. Nitzschia

Taxon	Kód									
	165	481	586	591	662	826	1048	1109	1415	36
Nitzschia - celkem	0	2600	2360	2500	0	2779	3300	3216	350	2392
Nitzschia acicularis							3300	2819		2392
Nitzschia cf. gracilis			2120							
Nitzschia sp.		2600	240	2500	+	2779		398	350	
Nitzschia - splněno	+/-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>záměny a nedostatečně určeno</i>	<i>12750</i>									
cf.Synedra, cf.Nitzschia, cf.Fragillaria	<i>12750</i>									

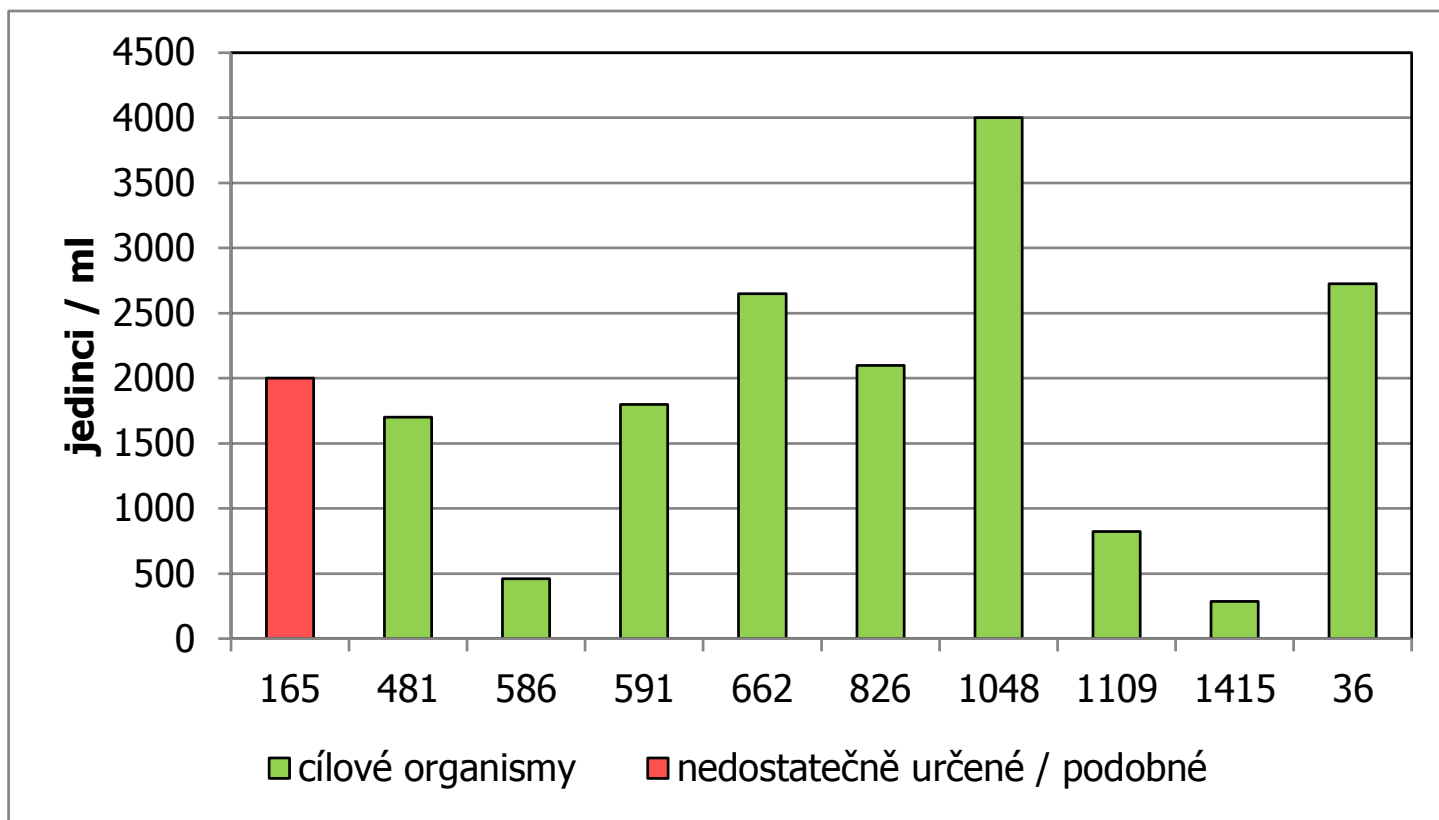




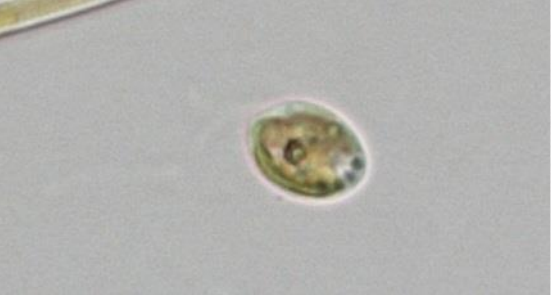


## 4. skrytěnky

Taxon	Kód									
	165	481	586	591	662	826	1048	1109	1415	36
skrytěnky - celkem	0	1700	460	1800	2650	2100	4000	823	288	2725
Cryptomonas sp.		1700	460	1800	2650	2100	4000	550	288	2000
Plagioselmis sp.								273		
Chroomonas sp.										725
skrytěnky - splněno	+/-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>záměny a nedostatečně určeno</i>	2000									
Cryptomonas sp., Chlamydom.sp., cf.Carteria sp.	2000									

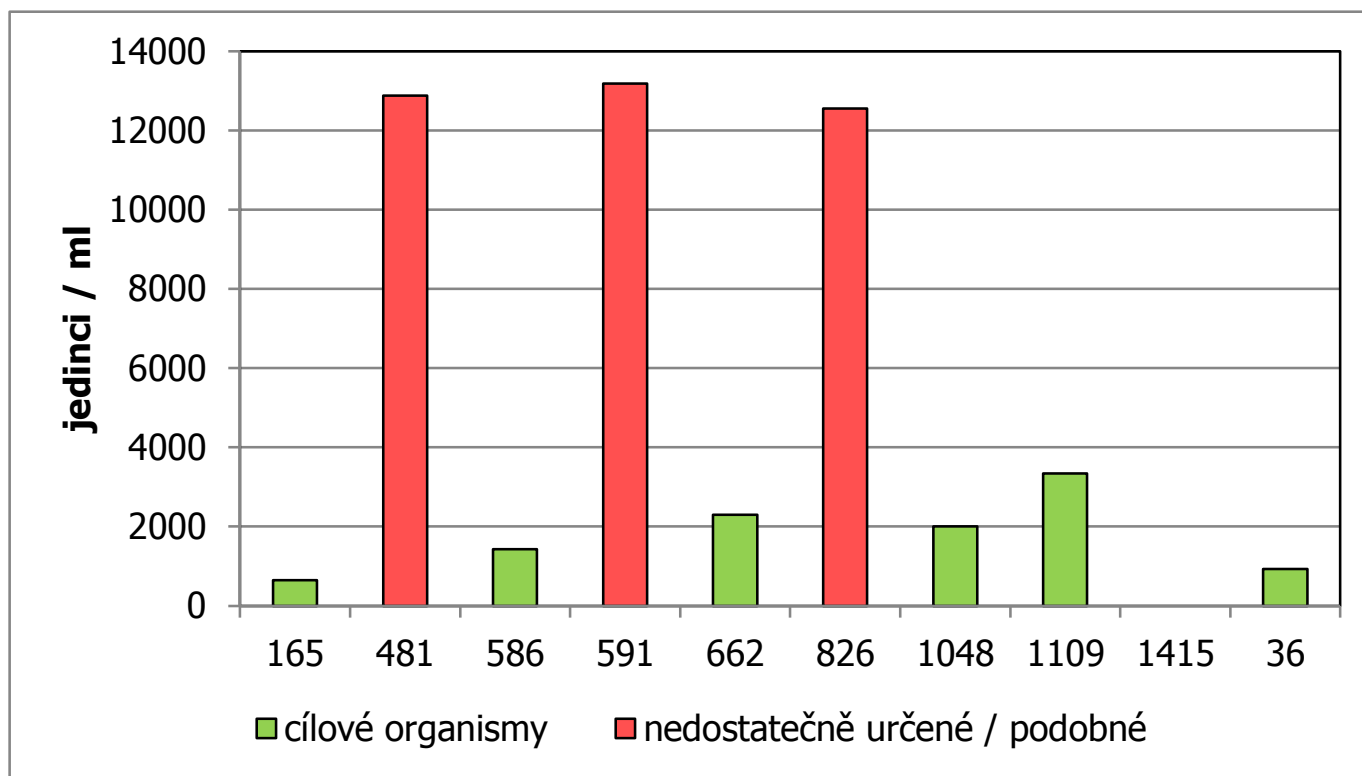






## 5. tenké vláknité sinice (*Limnothrix* a *Pseudanabaena*)

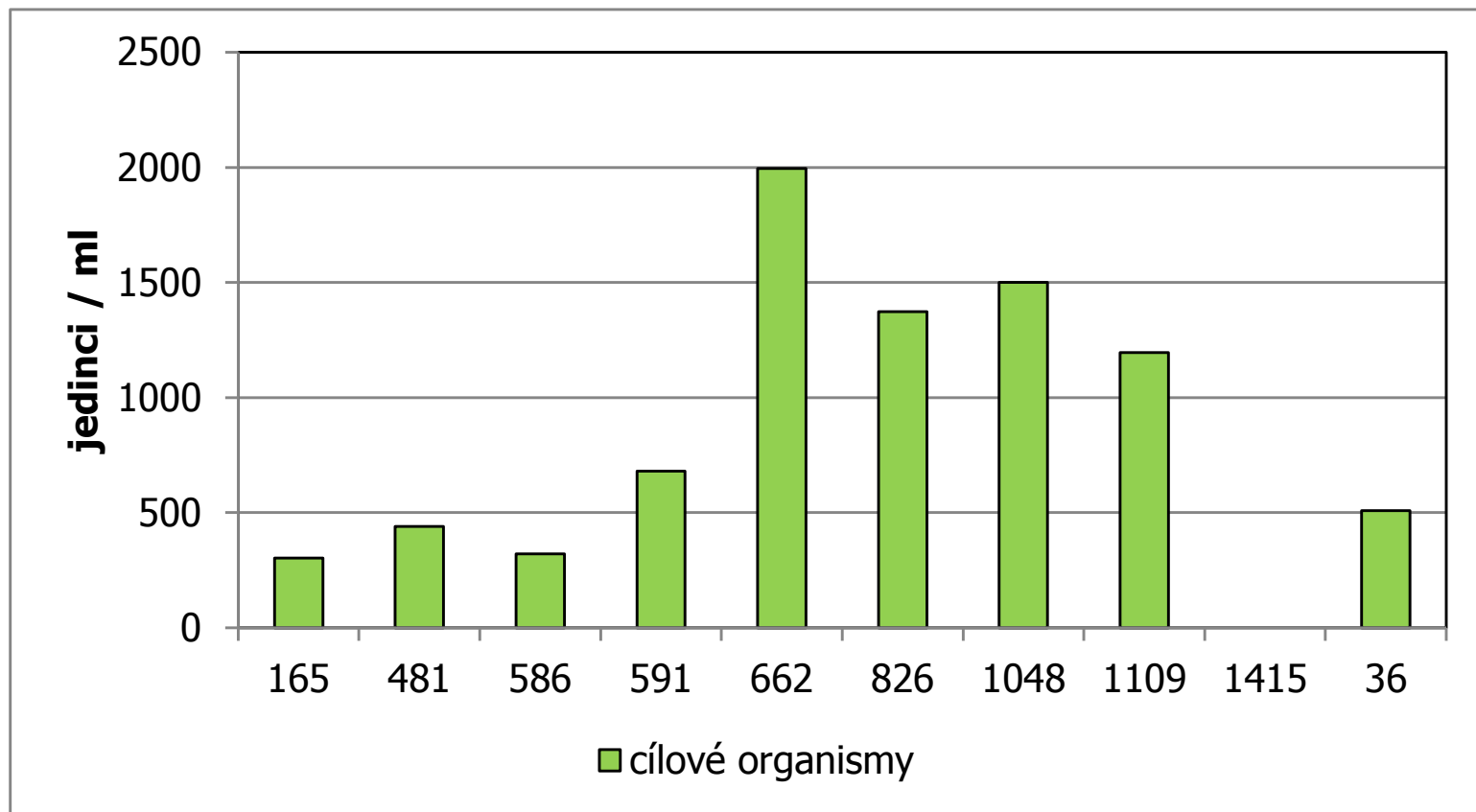
Taxon	Kód									
	165	481	586	591	662	826	1048	1109	1415	36
tenké vláknité sinice ( <i>Limnothrix</i> a <i>Pseudanabaena</i> )	650		1430		2300		2000	3347		925
<i>Limnothrix redekei</i>			920				2000	2198		925
<i>Limnothrix</i> cf. <i>redekei</i>					2300					
cf. <i>Limnothrix</i>	650									
<i>Pseudanabaena</i> sp.			510					1149		
tenké vláknité sinice - splněno	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+
<i>záměny a nedostatečně určeno</i>		12880		13190		12556				
sinice vláknité (tenké) - záměna s rodem <i>Gloeotila</i>		12880		13190		12556				





## 6. Dinobryon

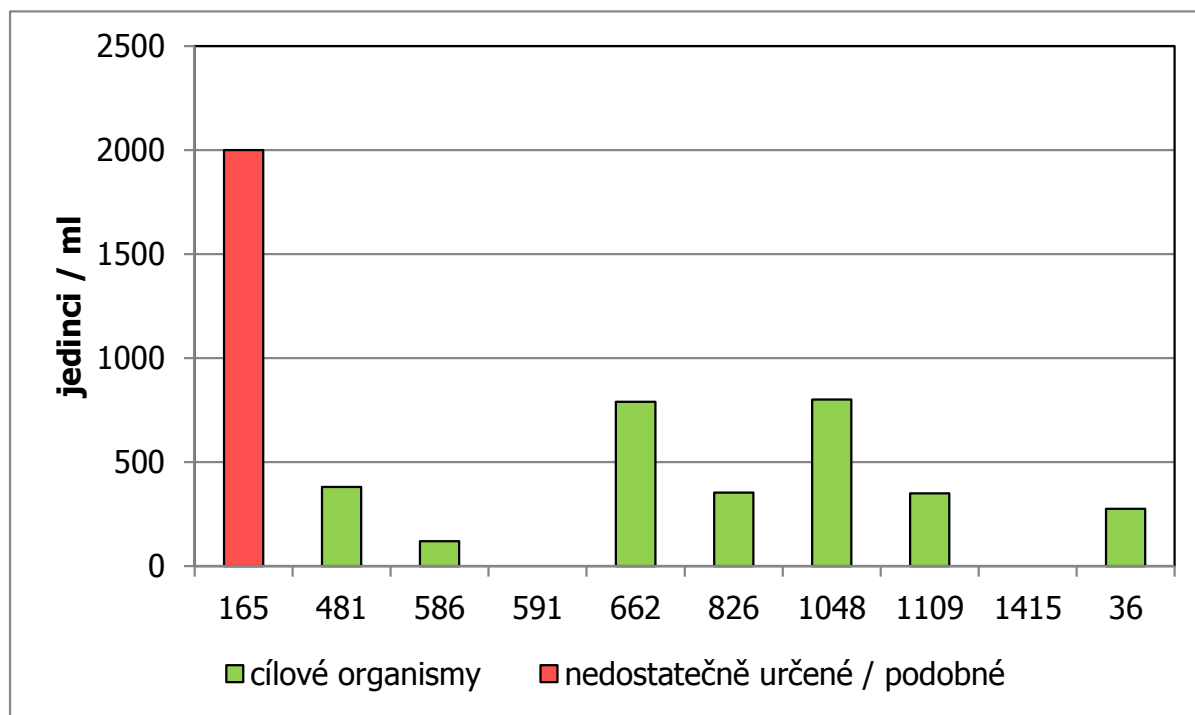
Taxon	Kód									
	165	481	586	591	662	826	1048	1109	1415	36
Dinobryon - celkem	303	440	320	680	1995	1372	1500	1195		508
Dinobryon divergens			320				1500			
Dinobryon sp.		440		680	1995	1372		1195		508
Dinobryon sp., Mallomonas sp.(ojediněle)	303									
Dinobryon - splněno	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+

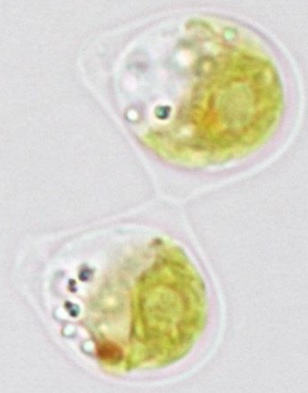
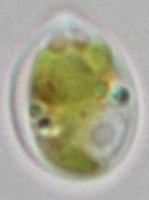
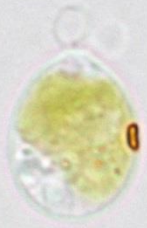




# 7. Zelení bičíkovci (Chlamydomonophyceae)

Taxon	Kód									
	165	481	586	591	662	826	1048	1109	1415	36
zelení bičíkovci (Chlamydomonophyceae) - celkem		380	120		790	353	800	349		275
Chlamydomonas sp.		380	120							
Chlamydomonas sp. div.							500			225
Carteria sp.										50
zelení bičíkovci - Volvocales					790	353		349		
drobní zelení bičíkovci + zoospory							300			
zelení bičíkovci (Chlamydomonophyceae) - splněno	+/-	+	+	-	+	+	+	+	-	+
<i>záměny a nedostatečně určeno</i>	2000									
Cryptomonas sp., Chlamydom. sp., cf. Carteria sp.	2000									





## Poznámka účastníka 1048

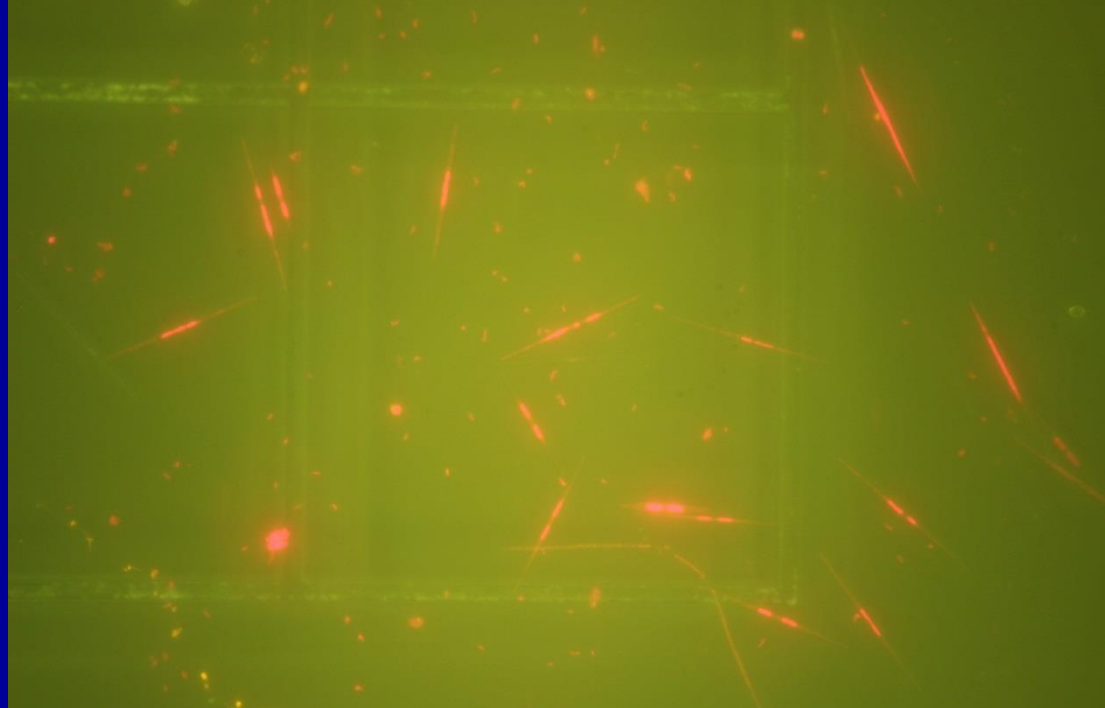
Jak je v protokole napsané, výsledky jsou z nativního vzorku.

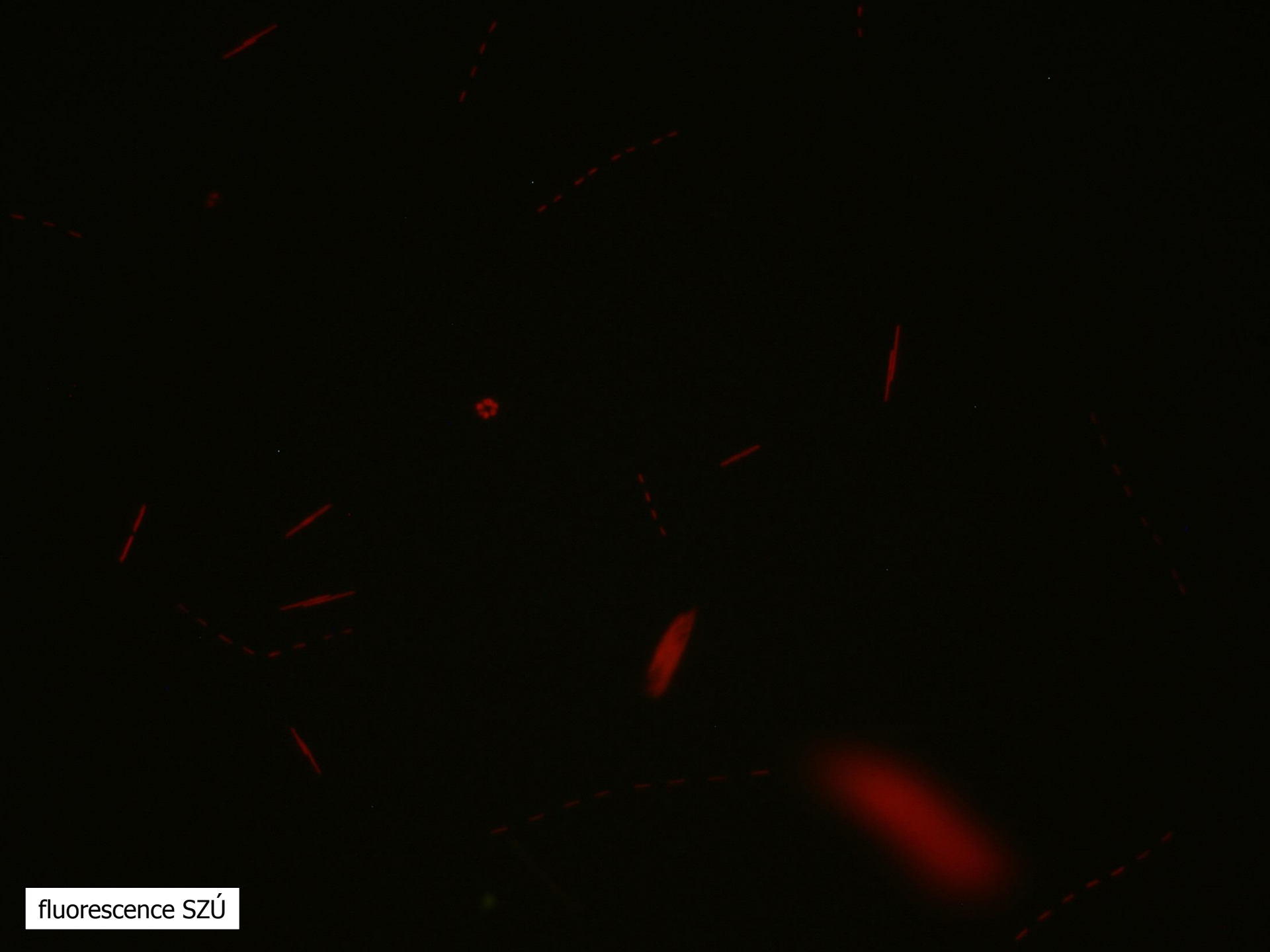
- Lugol byl použitý pro kontrolu počtů sinic (*Limnothrix*). Vzhledem k tomu, že výsledky sinic ve fixovaném vzorku byly přibližně poloviční - v živém vzorku rozhodně nedošlo k jejich podhodnocení (alespoň tímto postupem).
- Vzorek 5 jsem ve 2 paralelkách také spočítal přímo (propočítáno 800/400 polí, vegetační zbarvení dle normy, bez centrifugace) - průměrný počet byl vyšší: 69 600 jedinců/ml. Významný nárůst počtů byl zejména u skupin:
  - *Limnothrix red.* - 6500 jedinců/ml
  - *Gloeotila pel.* - 33000 jedinců/ml
  - *Koliella spp.* (2 druhy) - 2800 jedinců/ml
  - *Nitzschia acicularis* - 4700 jedinců/ml
  - méně bylo např. kryptomonád - 2400 jedinců /ml



## Poznámka účastníka 1109

Ve vzorku zaznamenán výskyt pikoplanktonních organismů či jiných částic svítících pod fluorescencí, které, po předchozích zkušenostech, nebyly zahrnovány do celkového počtu. Z časových důvodů nebyla provedena kvantifikace pod fluorescencí. Ve fixovaném vzorku bylo obtížné odlišit pikoplanktonní řasy od bakterií. Fotografie viz list 1.



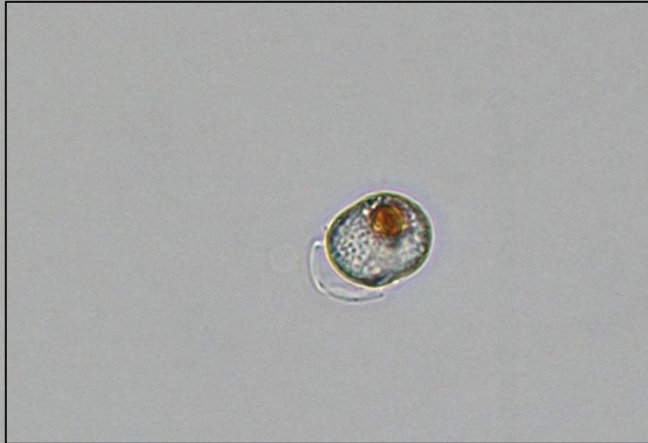


fluorescence SZÚ

# Celková úspěšnost kvalitativního rozboru v surové vodě

Taxon	Kód									
	165	481	586	591	662	826	1048	1109	1415	36
Gloeotila	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+
Fragilaria / Synedra	+/-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitzschia	+/-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
skrytěnky	+/-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
tenké vláknité sinice	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+
Dinobryon	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
zelení bičíkovci (Chlamydomphyceae)	+/-	+	+	-	+	+	+	+	-	+
<b>Počet dostatečně určených taxonů</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>7</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>3</b>	<b>7</b>
<b>Celková úspěšnost</b>	<b>ANO</b>	<b>ANO</b>	<b>ANO</b>	<b>NE</b>	<b>ANO</b>	<b>ANO</b>	<b>ANO</b>	<b>ANO</b>	<b>NE</b>	<b>ANO</b>

vzorek 5 – další taxony – bezbarví bičíkovci



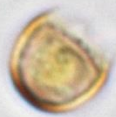
vzorek 5 – další taxony – zlativky



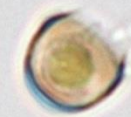
*Chrysococcus*



*Stenokalyx*

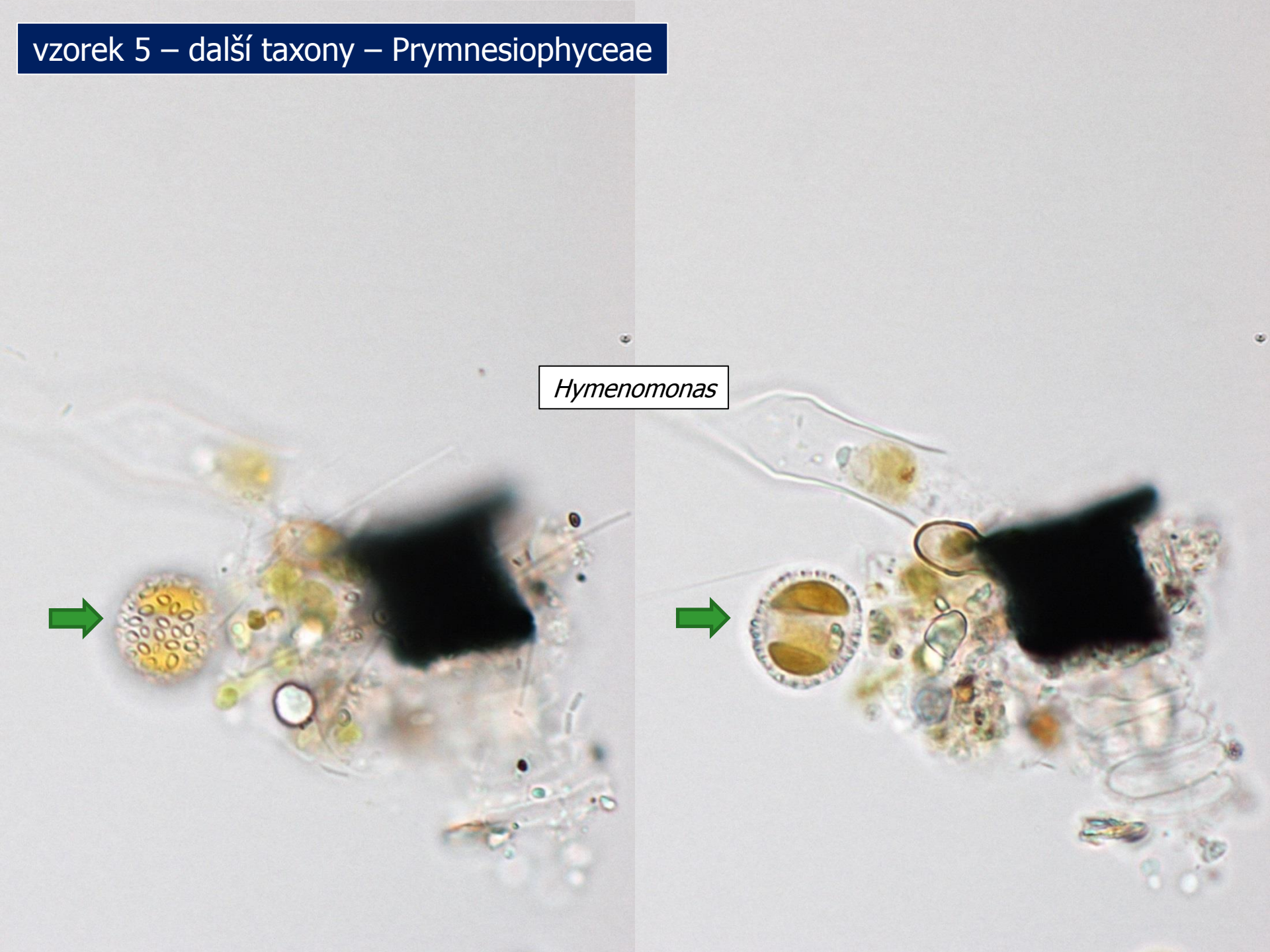


*Kephyrion*

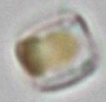
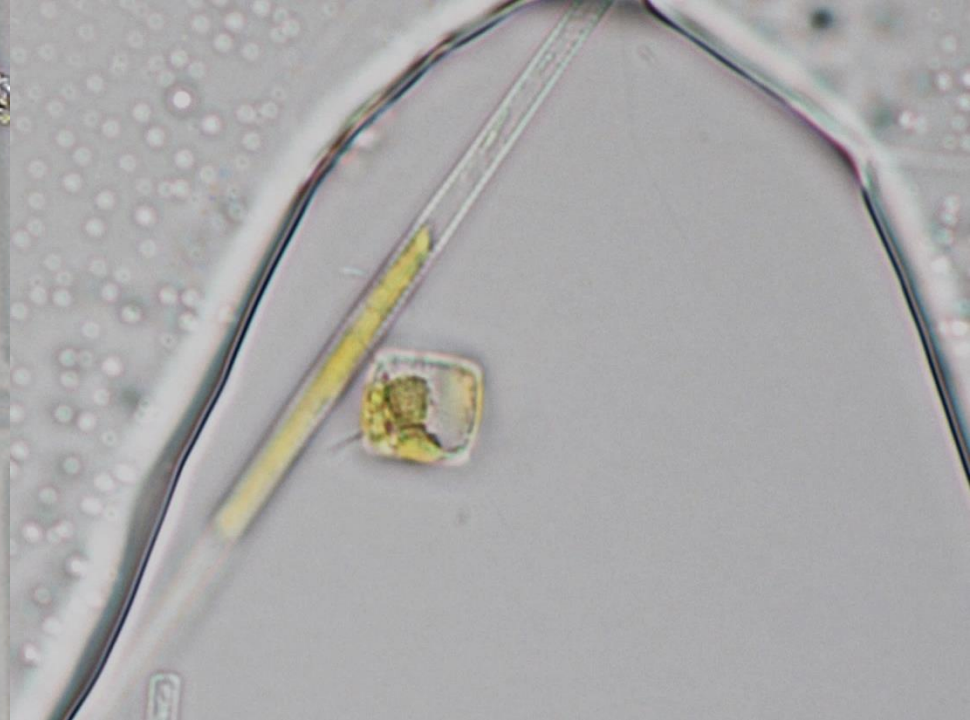
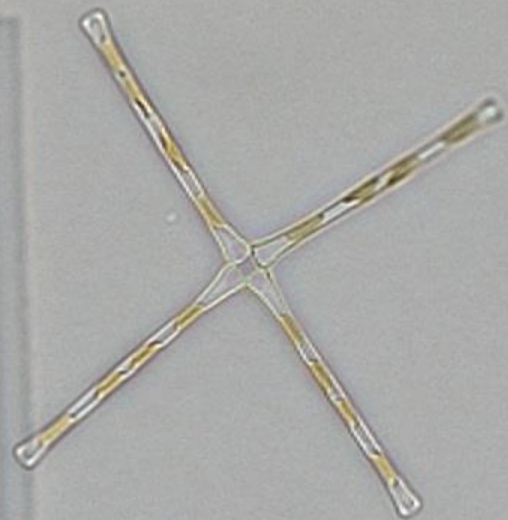


vzorek 5 – další taxony – Prymnesiophyceae

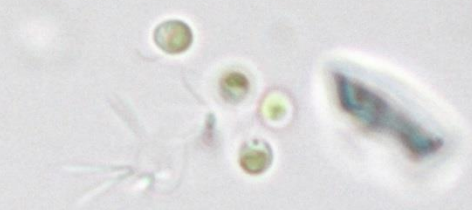
*Hymenomonas*



vzorek 5 – další taxony – rozsvivky



vzorek 5 – další taxony – kokální zelené řasy

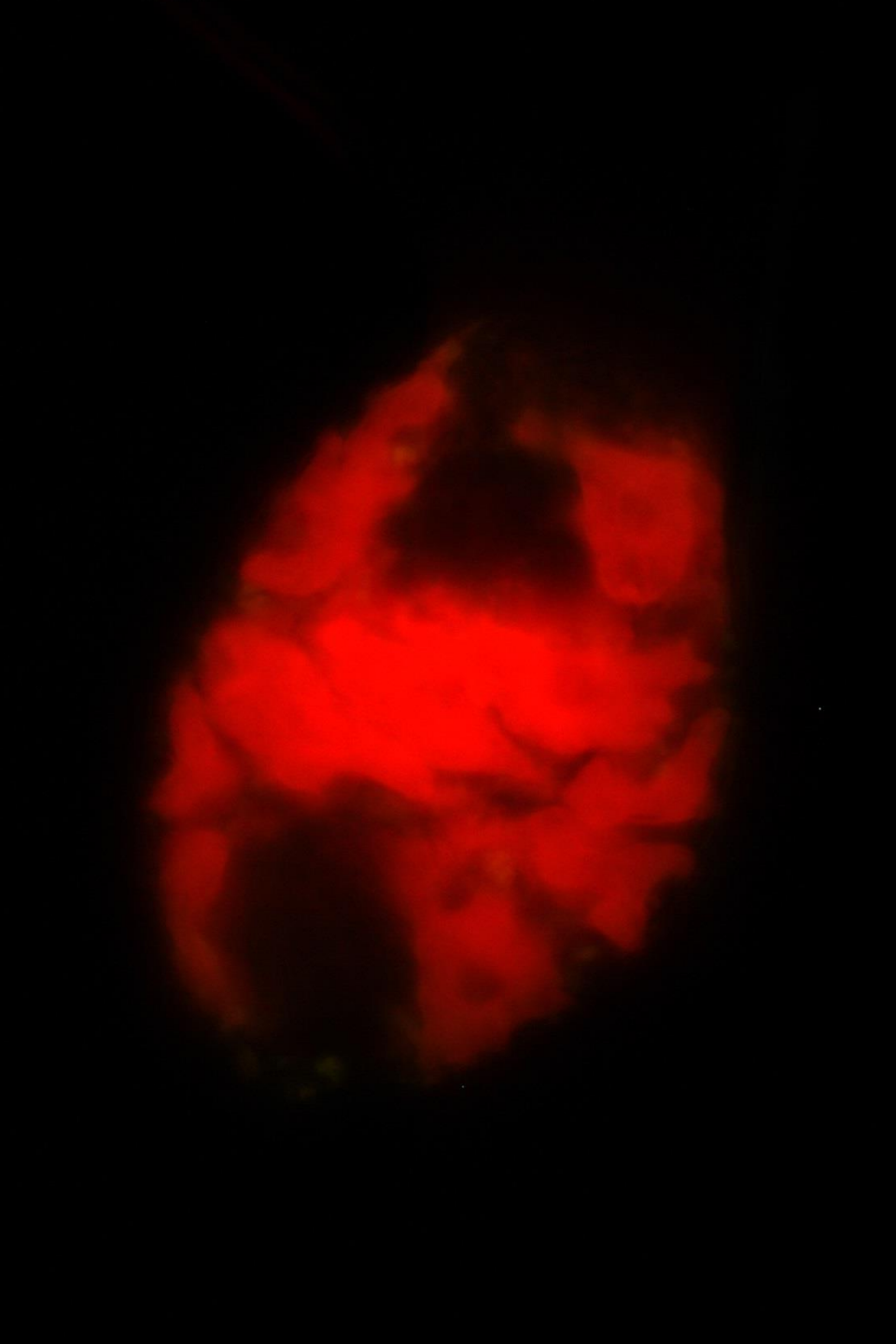




vzorek 5 – další taxony – zelené řasy skupina Ulotrichales  
(kromě dominantního rodu *Gloeotila* i méně zastoupená *Koliella*)



vzorek 5 – další taxony – krásnoočka



# Různé doplňky

**Revidovaná norma  
ČSN 75 7713**

**Kvalita vod – Biologický rozbor –  
Stanovení abiosestonu**

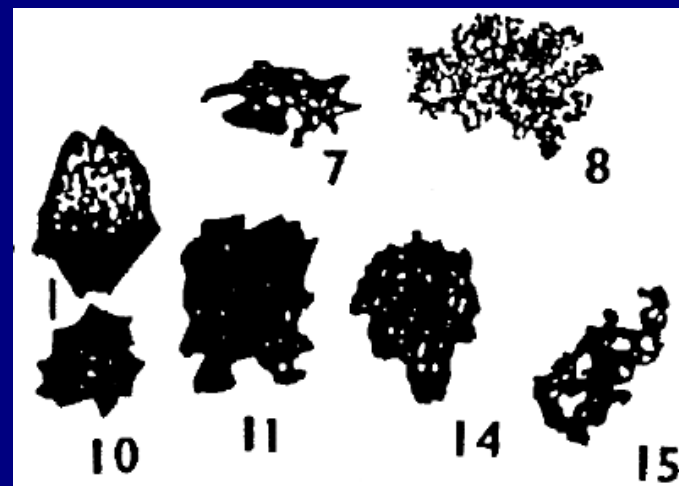
# ČSN 75 7713

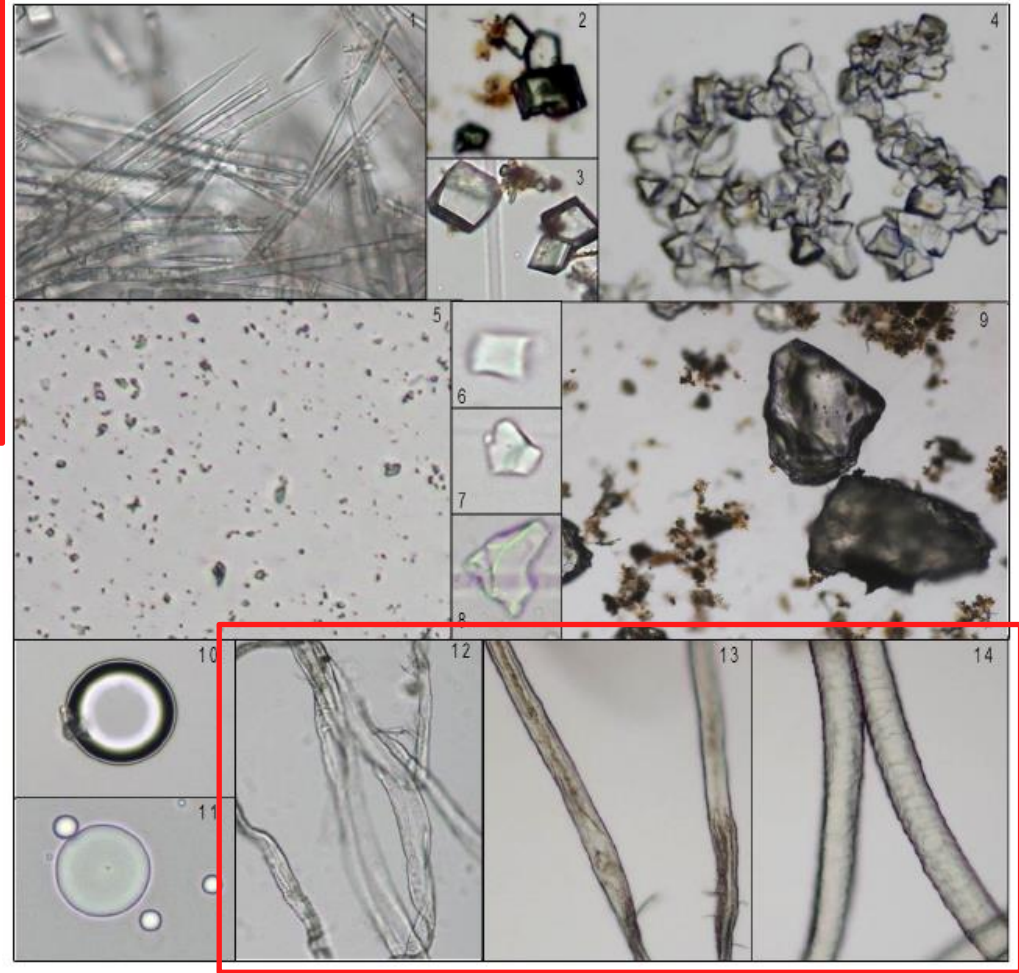
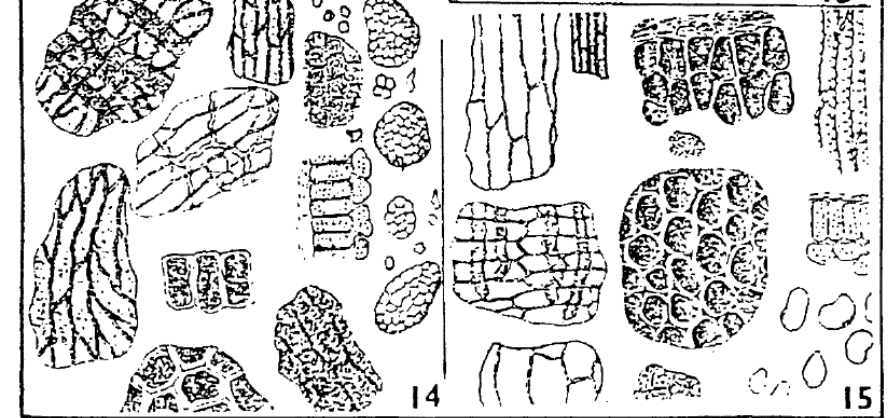
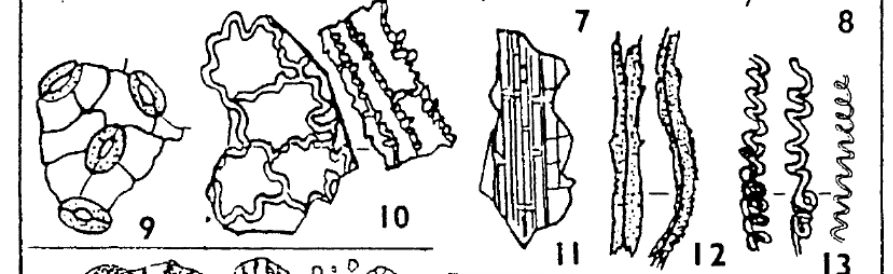
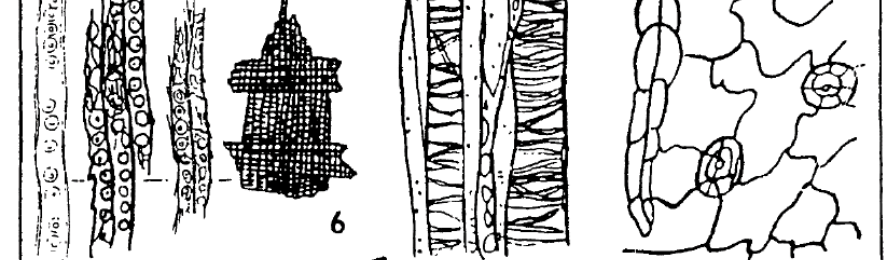
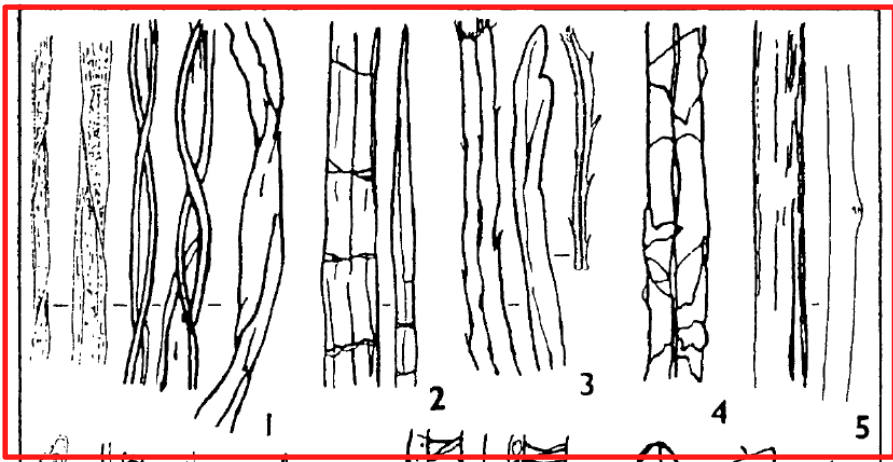
- původní norma z roku 1998
- revize probíhala od poloviny roku 2013
- vydání revidované normy listopad 2015
- účinnost od prosince 2015
- změny
  - norma je mnohem delší a úpravy postihy klíčové části postupu
  - princip metody se změnil jen mírně
  - většina běžných vzorků bude stanovována úplně stejně jako doposud

# Kvalitativní rozbor

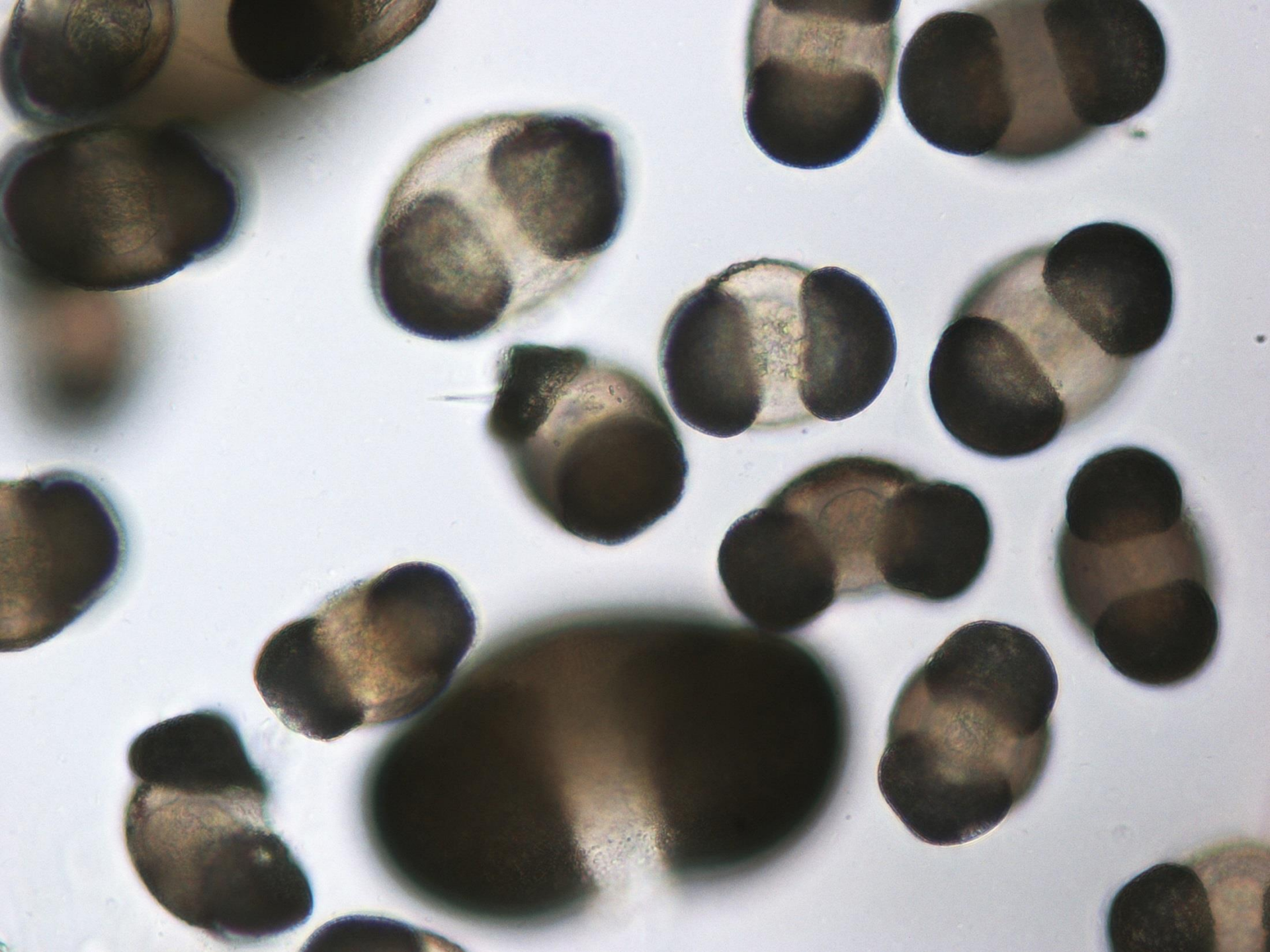
- přidána nová informativní příloha A
  - 7 tabulí se 103 fotografiemi abiosestonu
  - pylová a škrobová zrna, zbytky rostlin a bezobratlých živočichů, železité sraženiny včetně produktů železitých bakterií, různé anorganické částice, příklady přírodních vláken
- ponechány i původní kresby
  - ne pro všechny objekty jsme měli fotografie
  - kresba obsahuje trochu jiný typ informace

7 – rez, okrově hnědě zbarvený hydroxid železitý  $\text{Fe}(\text{OH})_3$   
 8 – sraženina hydroxidu železitého, okrově až tmavě hnědě, amorfní  
 10 – černé uhlí; mour  
 11 – hnědé uhlí  
 14 – sulfid železnatý  $\text{FeS}$ , černý, může být produktem anaerobního rozkladu organických látek, obsahujících železo  
 15 – saze, zcela černé



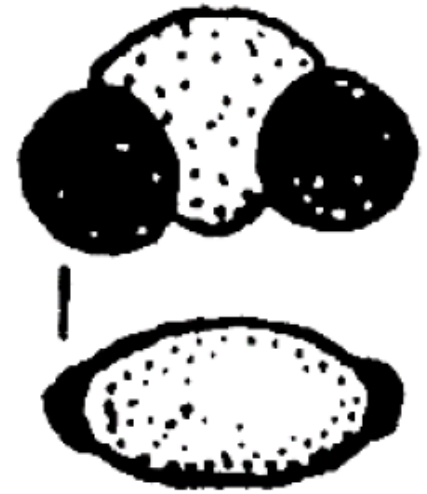
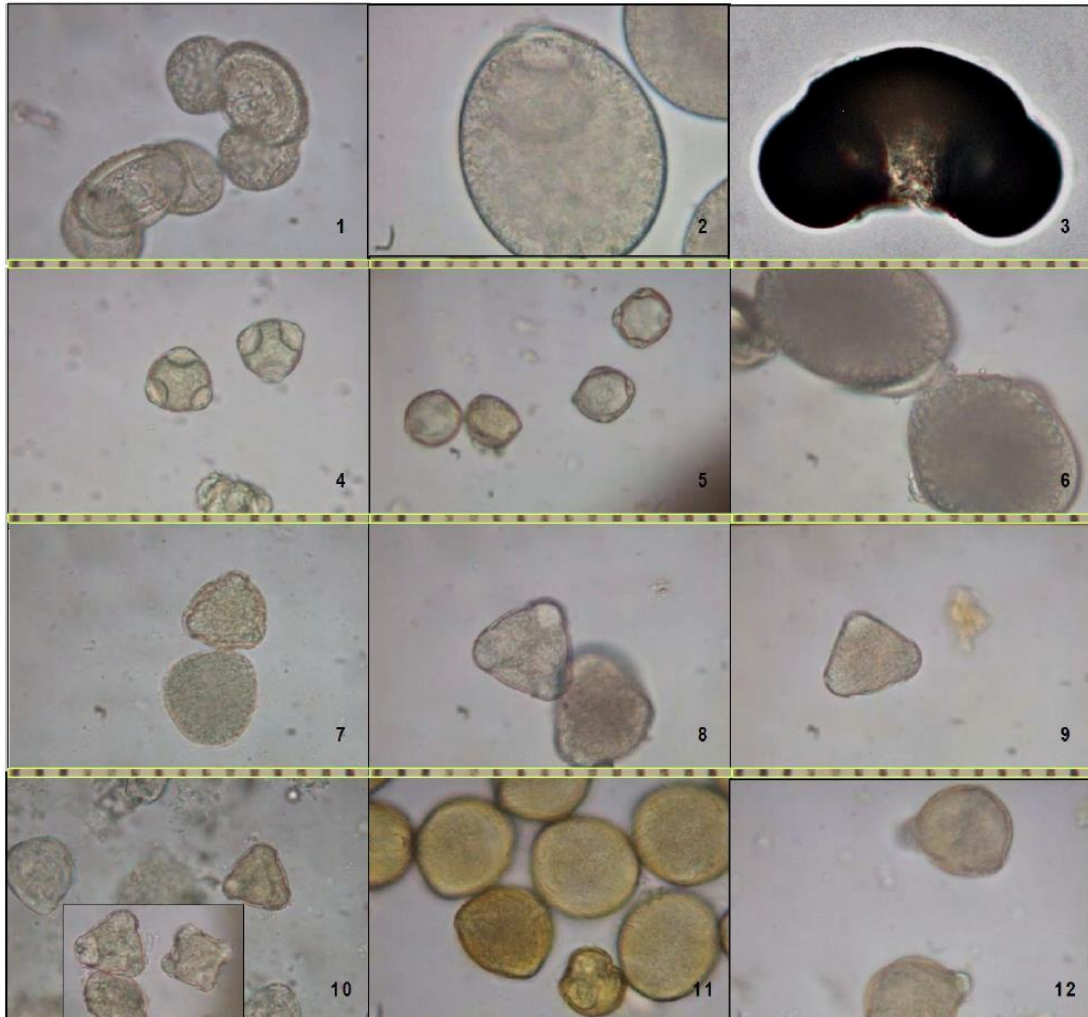


**srovnání kreseb a fotografií**  
(červeně orámována různá  
vlákna)

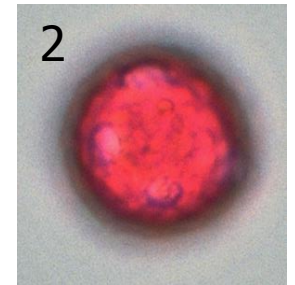
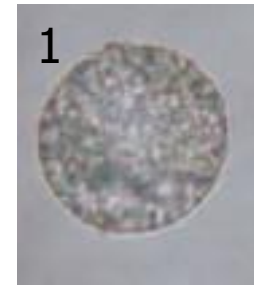




# Pylová zrna



jediný pyl v původním atlase

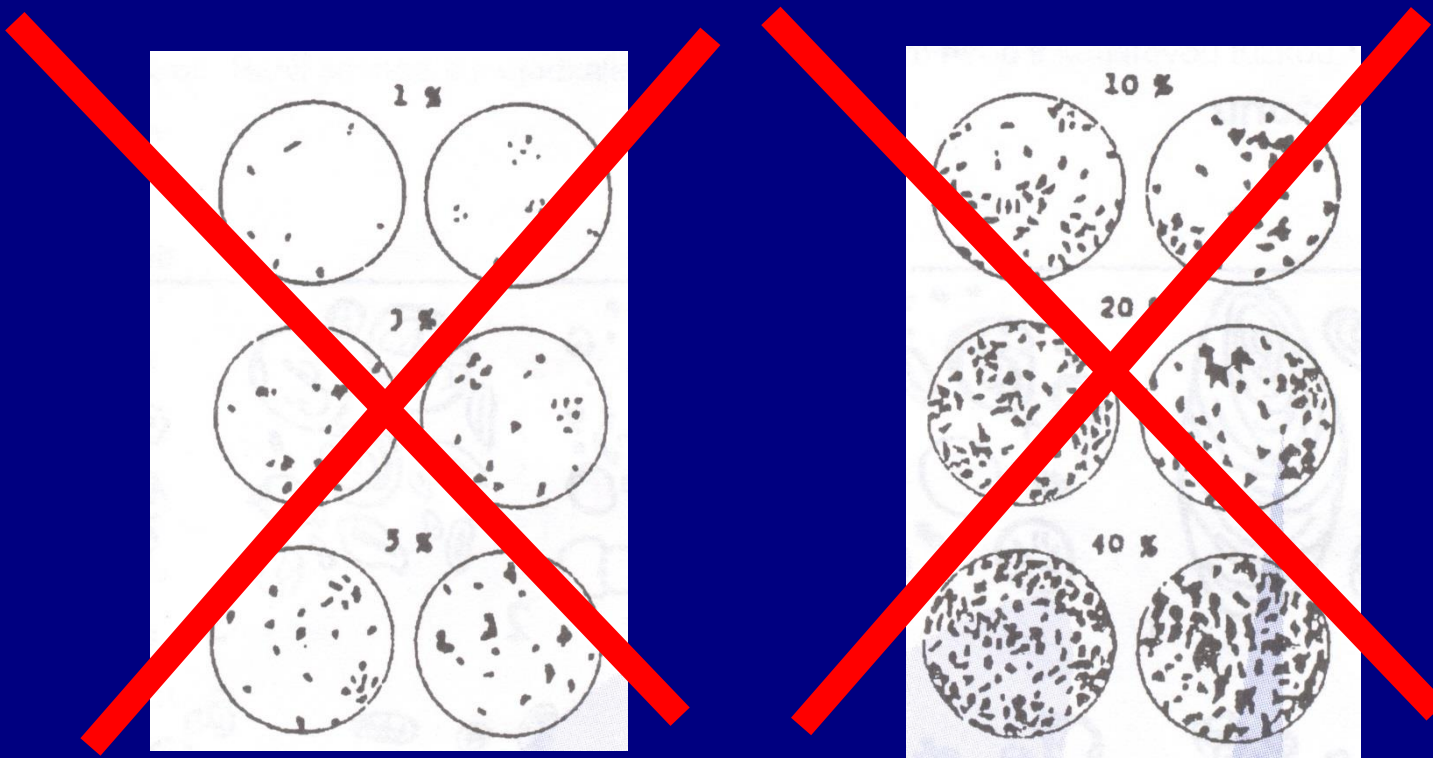


1- pyl ve vodě

2 - pyl v preparátu pro  
pylovou analýzu

**Obrázky pylů v normě -  
pro představu o  
variabilitě pylových zrn,  
ne pro přesné určení!**

# „Kvantitativní“ rozbor Úprava odhadových tabulí!



# PT/V/4/2015 - Z-score pro abioseston (odhadem)

V	lab	výsledek (%)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	481	4,5	-0,60					█				
X	1048	4,5	-0,60					█				
X	333	5,0	-0,35					█				
X	239	5,1	-0,30					█				
X	1075	5,2	-0,25					█				
X	1109	7,0	0,65						█			
X	1118	7,0	0,65						█			
X	586	8,0	1,15						█			
X	172	9,0	1,65						█			
X	1417	9,0	1,65						█			
?	183	10,0	2,16						█			
?	588	10,0	2,16						█			
?	1110	10,0	2,16						█			
?	161	11,0	2,66						█			
?	1205	11,0	2,66						█			
?	166	11,5	2,91						█			
!	187	12,0	3,16						█			
!	1106	15,0	4,66						█			
!	591	16,5	5,41						█			
!	826	18,5	6,42						█			

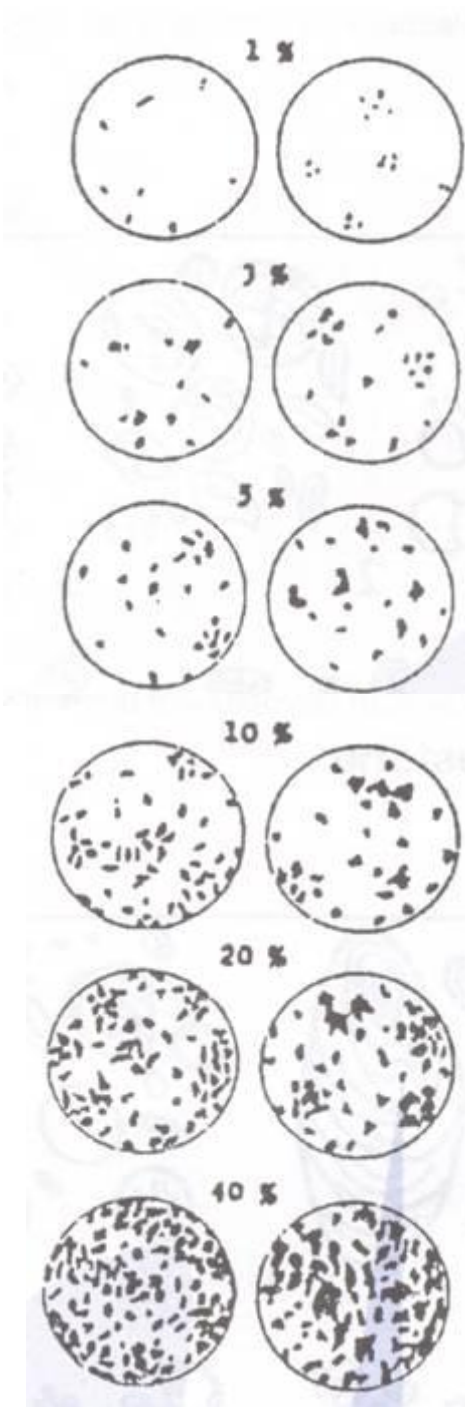
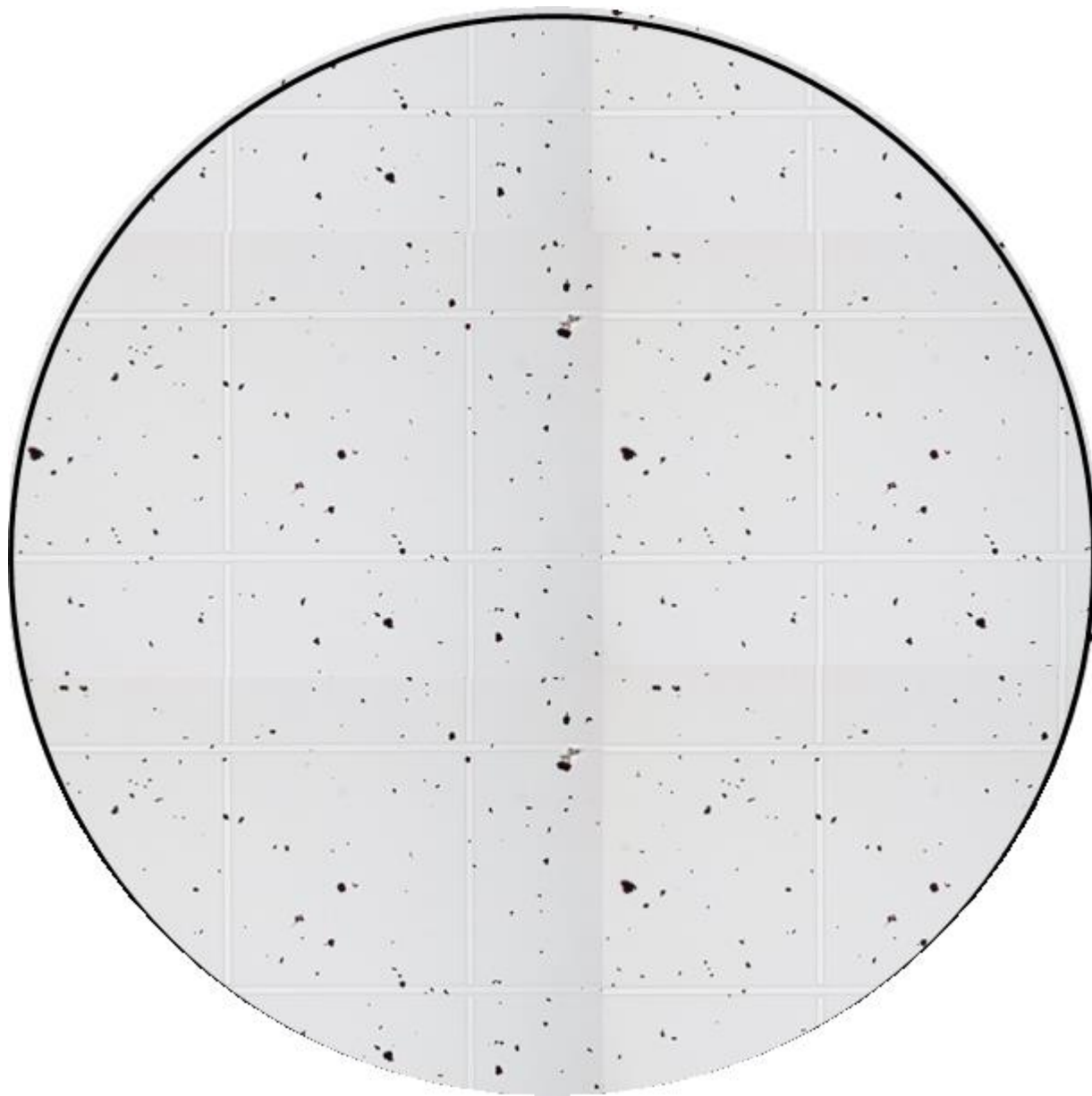
počet laboratoří: 20  
z toho vyhovuje: 10  
z toho nevyhovuje: 10

vztažná hodnota: 5,7 %  
vztažná odchylka: ±70%  
interval správných hodnot: 1,8 - 9,6 %

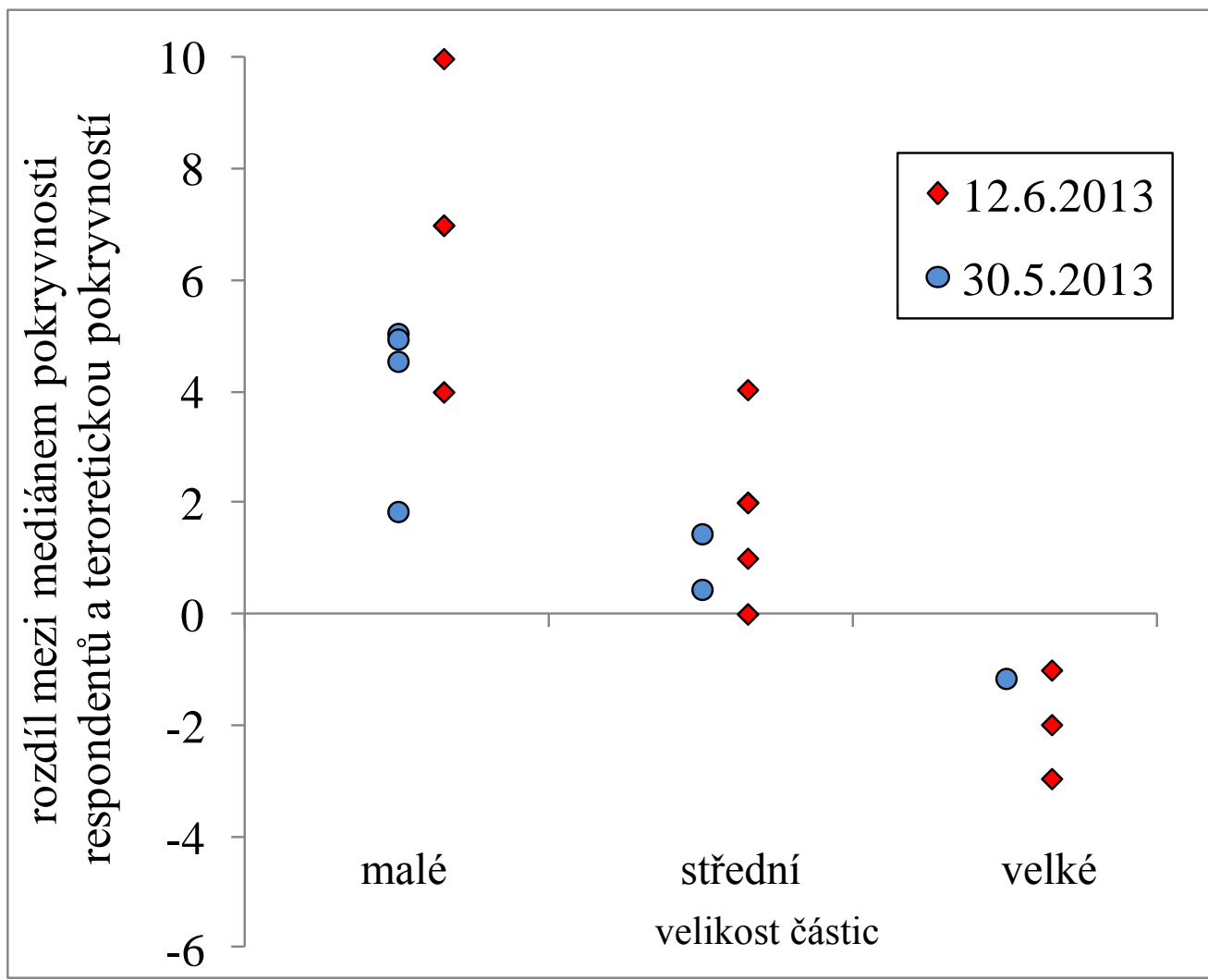
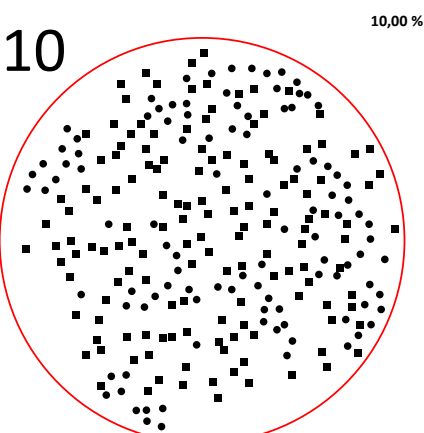
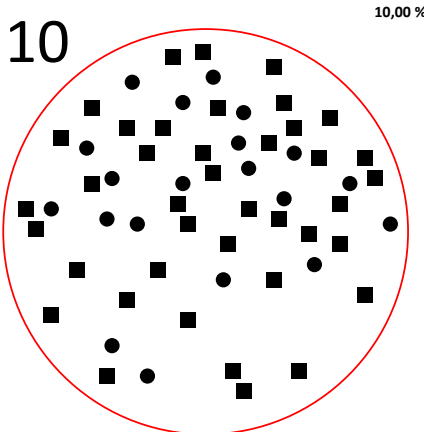
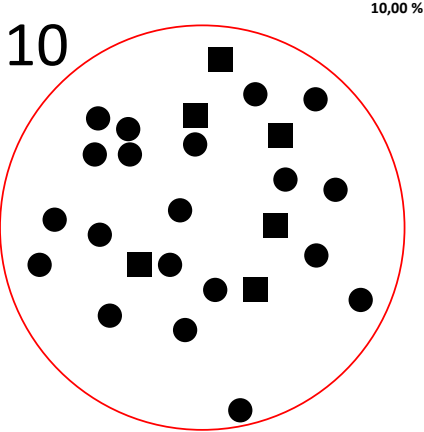
V	lab	výsledek (%)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1048	4,5	-0,60					█				
X	36	5,0	-0,35					█				
X	239	5,1	-0,30					█				
X	1075	5,2	-0,25					█				
X	1109	7,0	0,65						█			
X	586	8,0	1,15						█			
?	183	10,0	2,16						█			

počet laboratoří: 7  
z toho vyhovuje: 6  
z toho nevyhovuje: 1

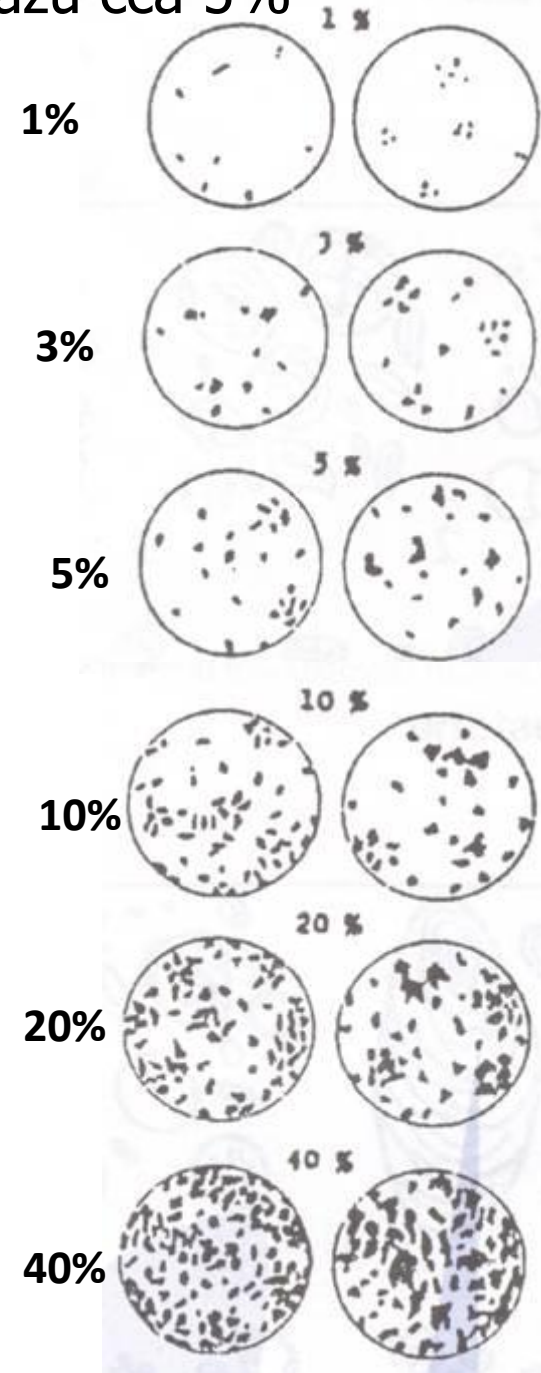
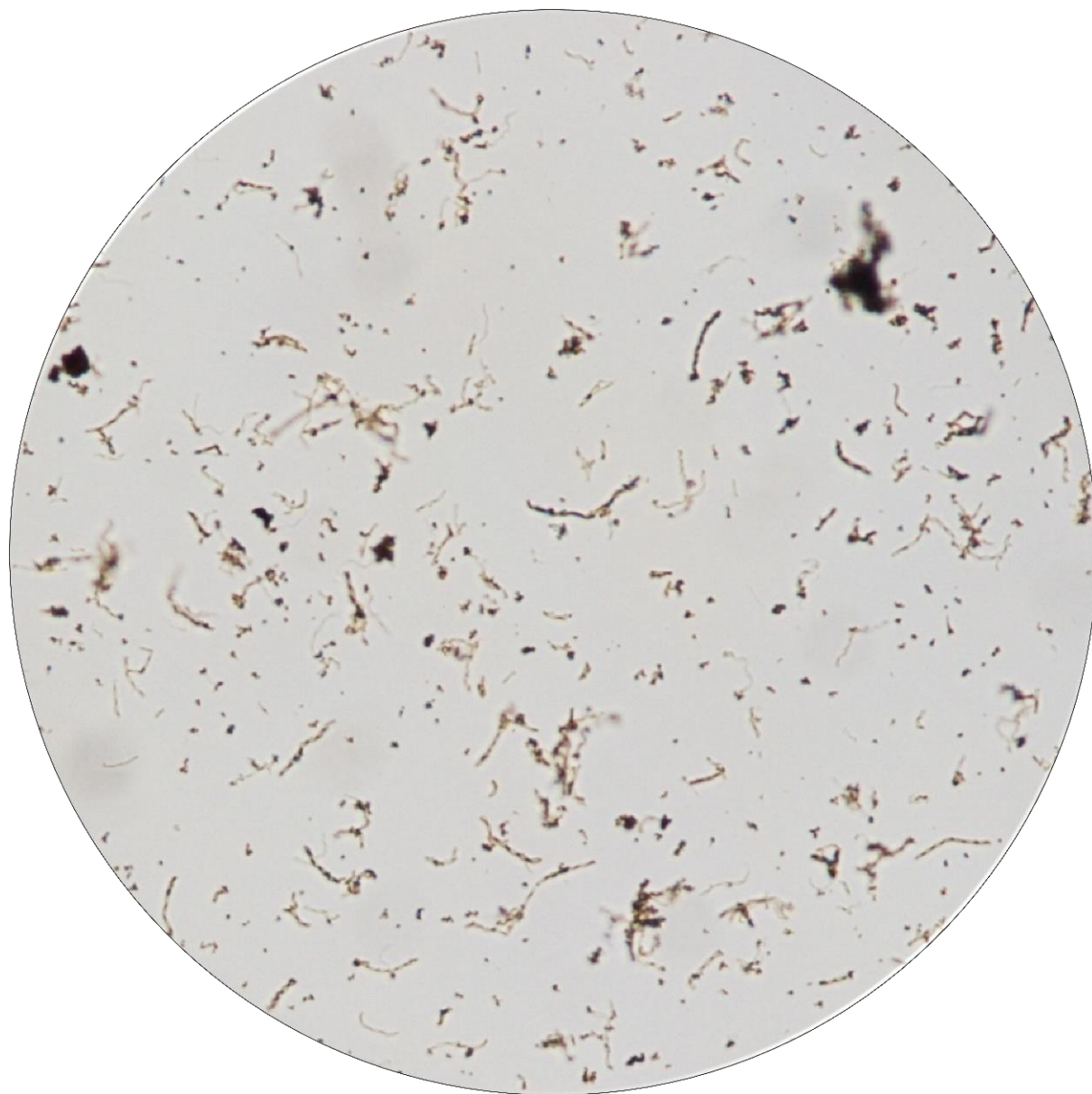
vztažná hodnota: 5,7 %  
vztažná odchylka: ±70%  
interval správných hodnot: 1,8 - 9,6 %



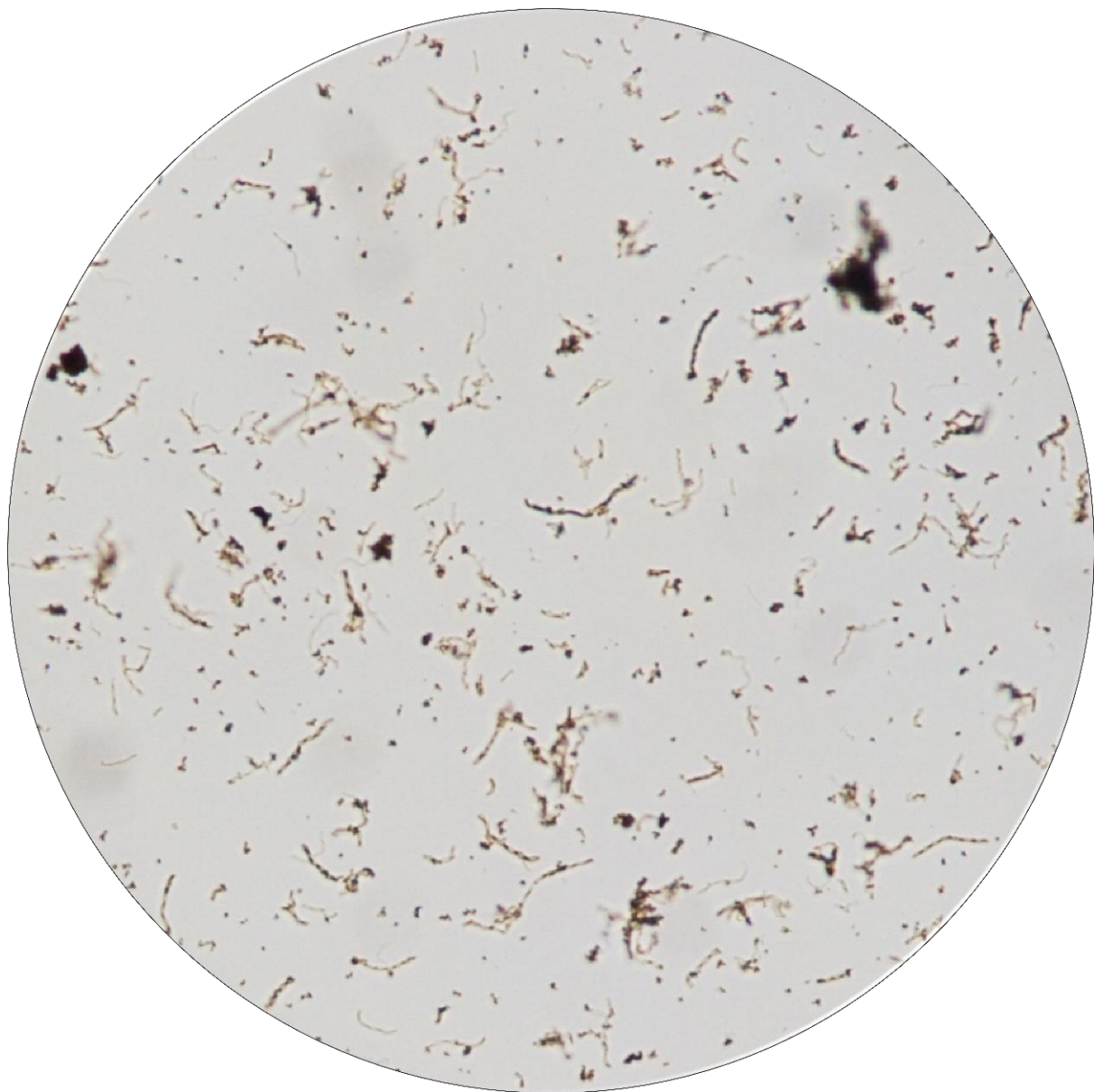
Zorné pole při stanovení abiosestonu ve vzorku 2 při 200 násobném zvětšení (fotomontáž – opakovaně použita stejná fotografie) – částice jsou mnohem než ty na odhadových tabulích.



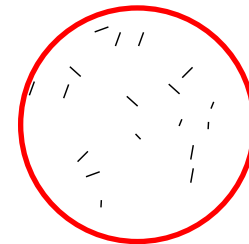
Průměr účastníků – 12%, medián 10%, analýza obrazu cca 5%



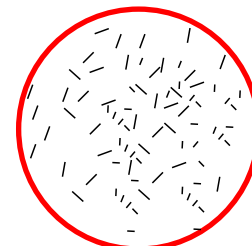
Průměr účastníků – 5,8%, medián 5%, analýza obrazu cca 5%



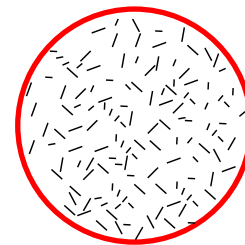
1%



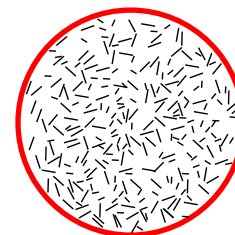
3%



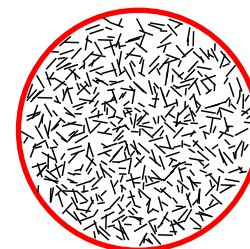
5%



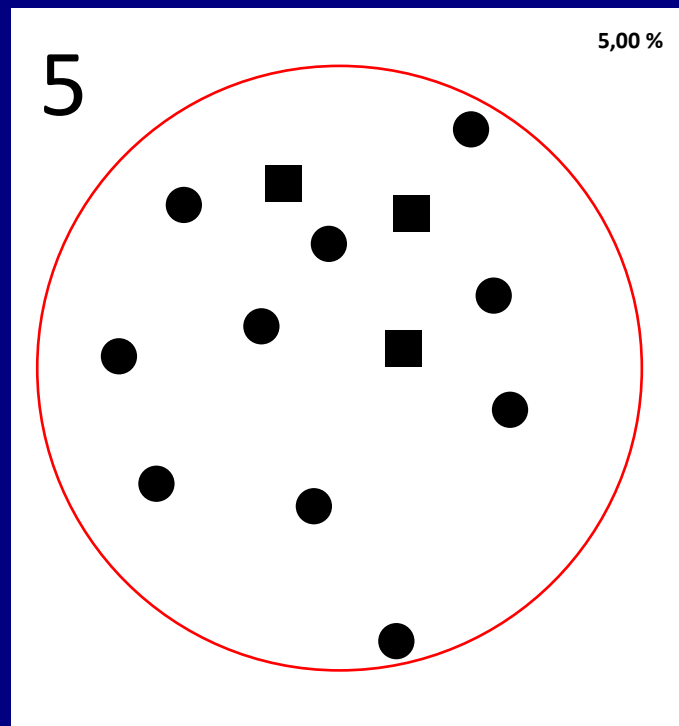
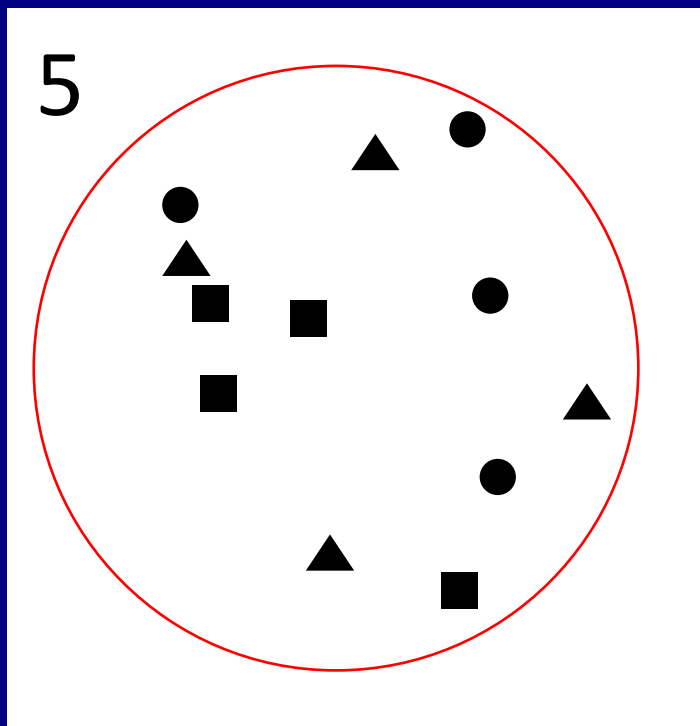
10%



20%

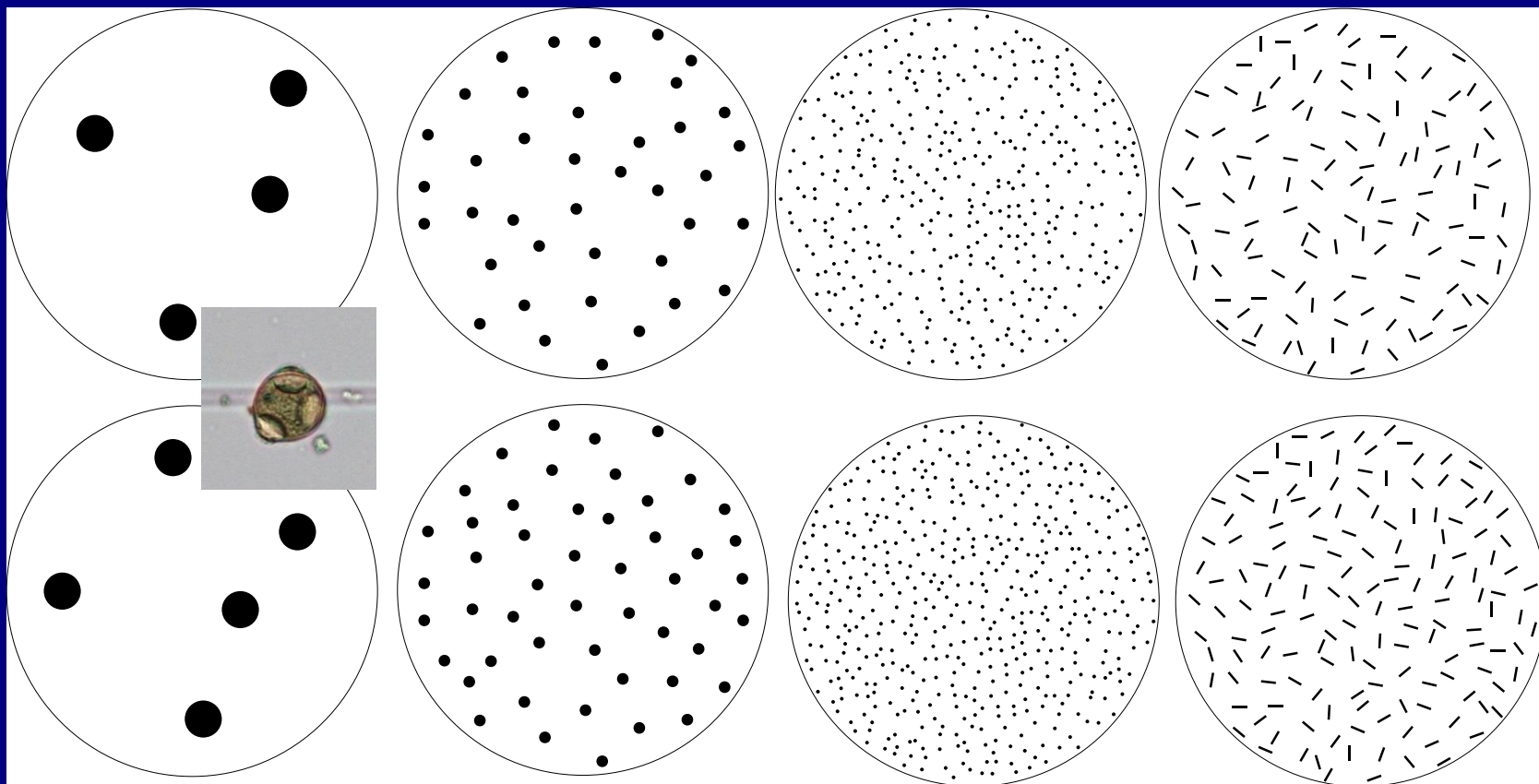


# Zamítnuté nápady na podobu tabulí

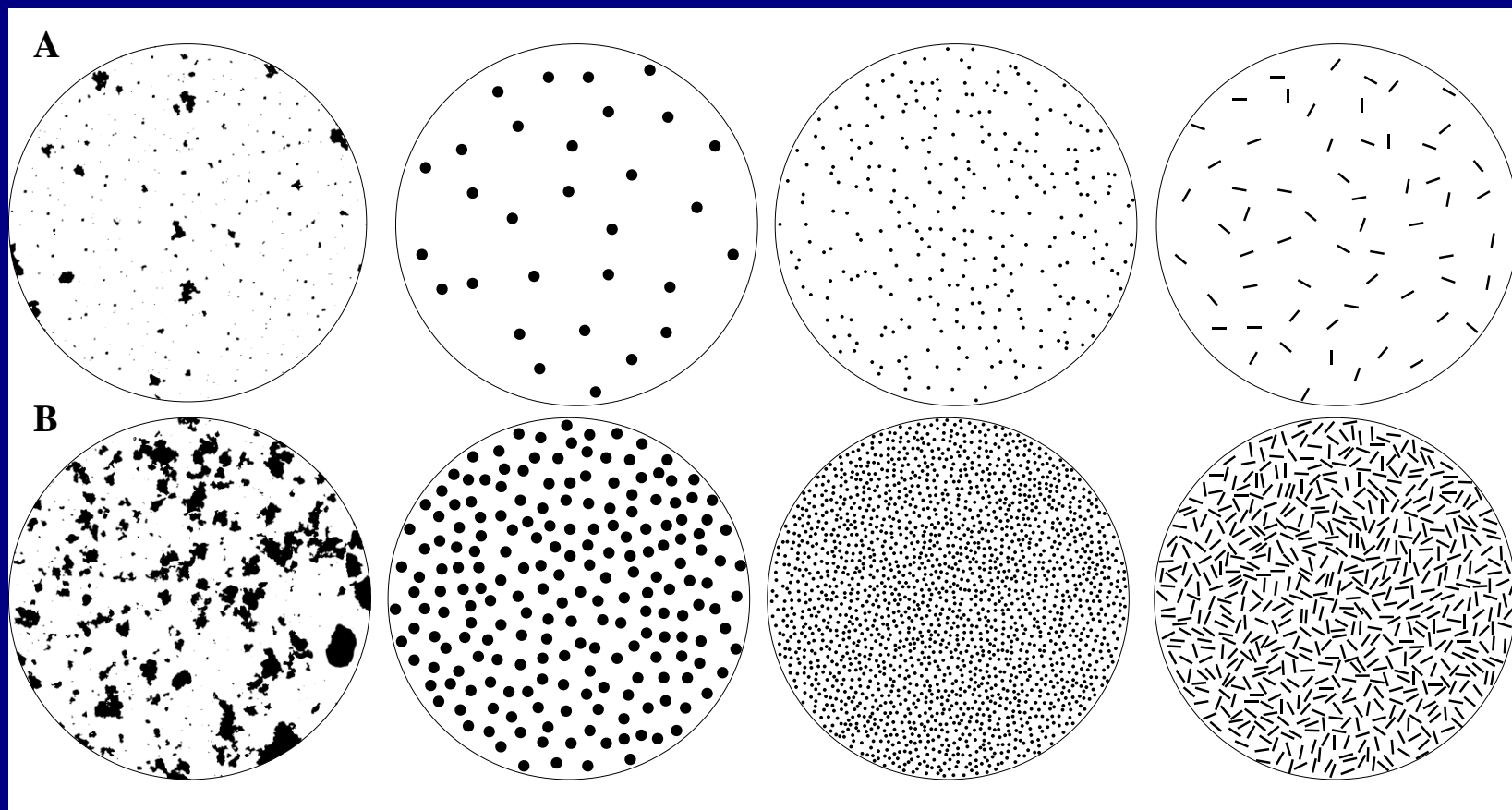




# Zamítnuté nápady na podobu tabulí



# Konečný návrh podoby částic na tabulích



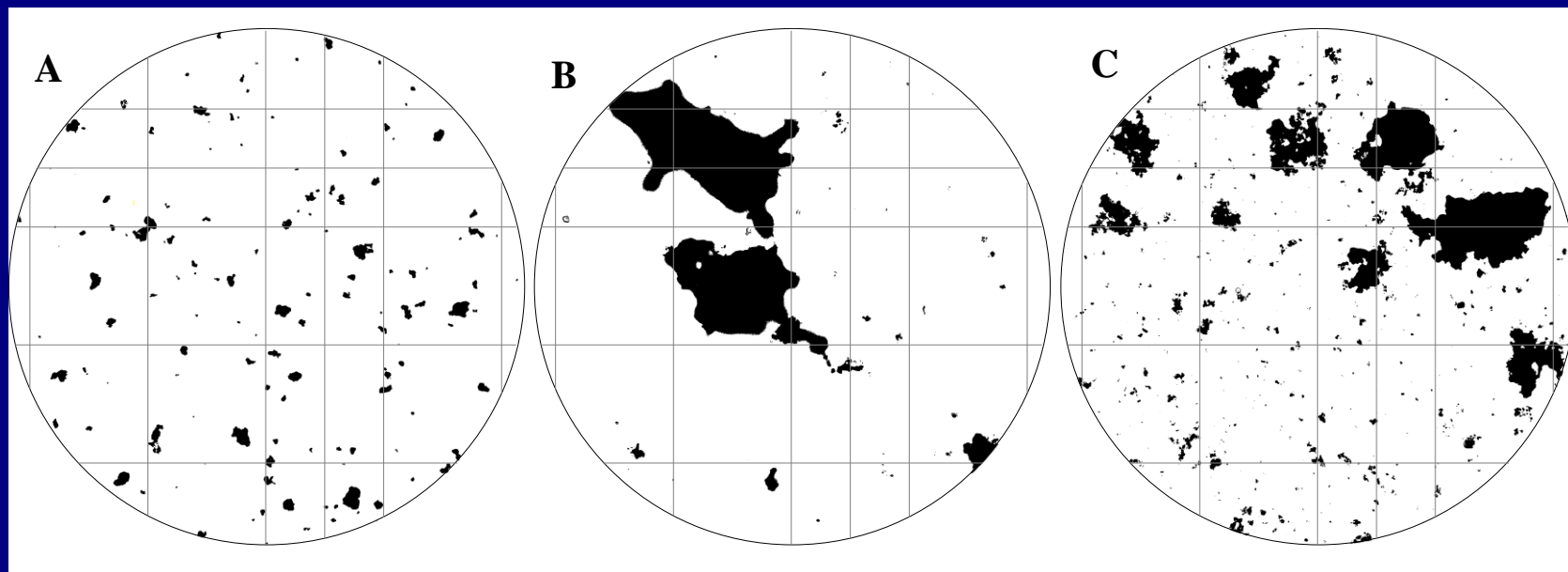
příklady pro 3 a 20 %

# Tabule

- původně celkem 6 tabulí
  - 1, 3, 5, 10, 20, 40 %
- nově celkem 20 tabulí
  - 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 %
  - 14, 16, 18, 20 %
  - 25, 30, 35, 40 %
- 4 strany v samostatném souboru
- velký formát, doporučuje se na tisk A3

# Postup odhadu pokrývnosti

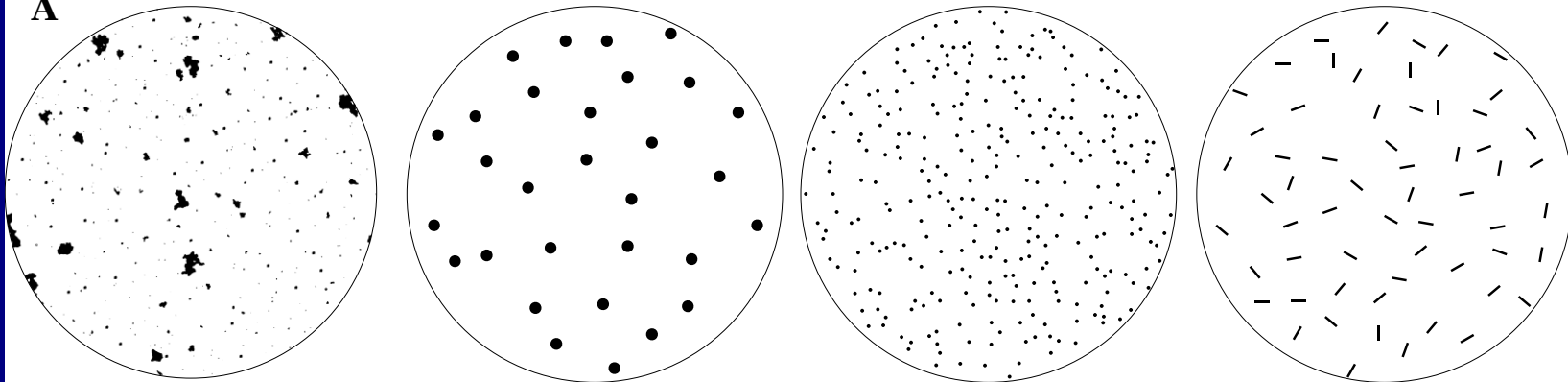
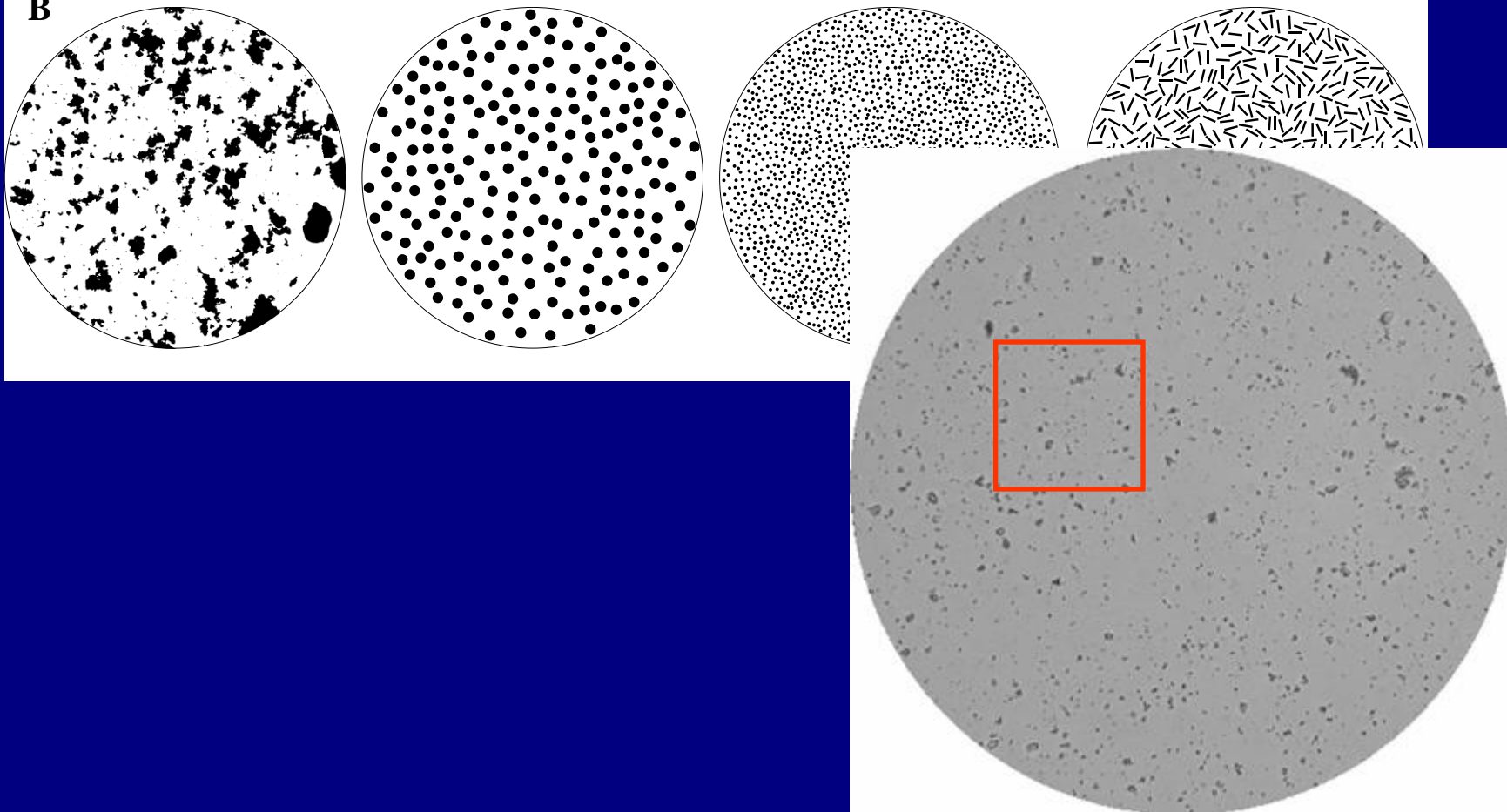
- A. Porovnání s odhadovou stupnicí
- B. Odhadem pokrývnosti jednotlivých částic
- C. Kombinace obou postupů



# A . Porovnání s odhadovou stupnicí

## **Jak si „upravit velikost částic“**

- volba objektivu
  - základní 20 x
  - velké částice 10 x
  - malé částice 40 x
- odhadovat jen na části zorného pole (např. 1 čtverec komůrky) – když dominují malé částice

**A****B**

# Odhad pokrývnosti jednotlivých částic

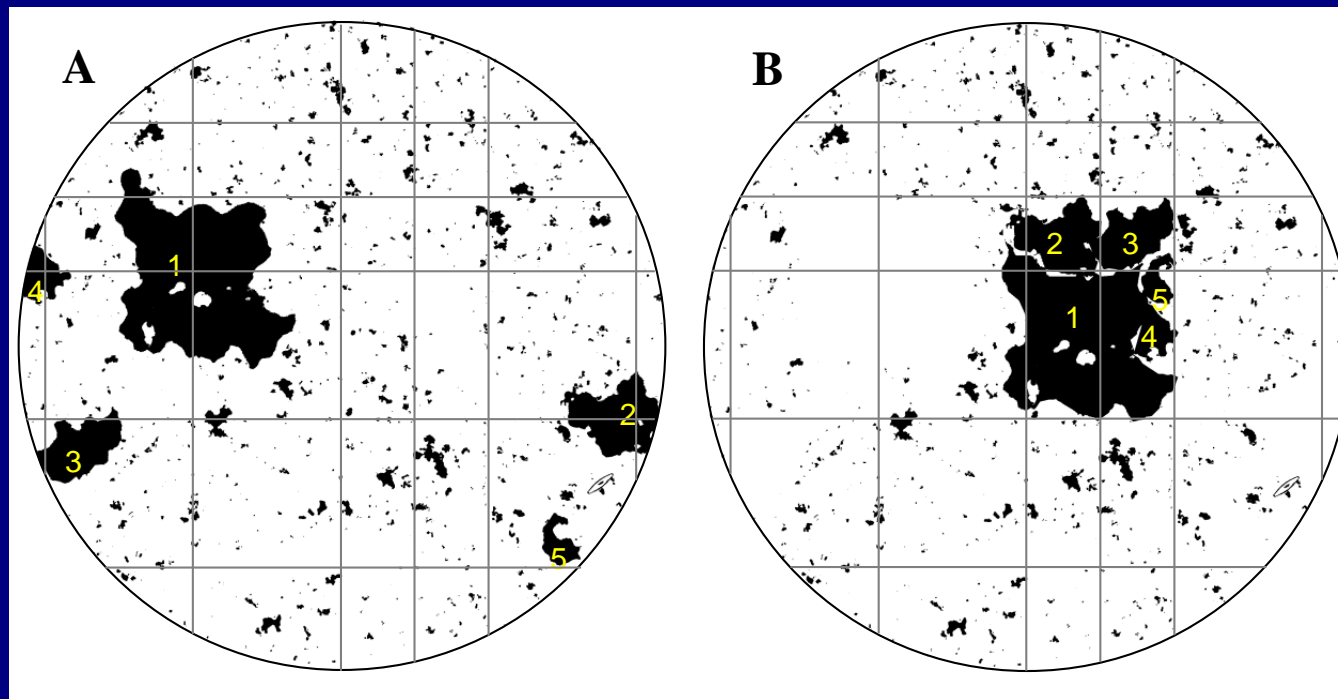
- nutno znát jak velkou část zorného pole (jednoduchý postup v příloze D) zabírá jeden čtverec komůrky



Tabulka D.1 – Relativní velikost plochy polí počítací komůrky

Zvětšení objektivu	Průměr zorného pole $\mu\text{m}$	Plocha zorného pole $\mu\text{m}^2$	Relativní velikost polí komůrky Cyrus I v %	
			velký čtverec (250 $\mu\text{m}$ $\times$ 250 $\mu\text{m}$ )	malý čtverec (125 $\mu\text{m}$ $\times$ 125 $\mu\text{m}$ )
10 $\times$	2 200	3 799 400	1,64	0,41
20 $\times$	1 100	949 850	6,58	1,64
40 $\times$	550	237 462	26,3	6,58

# Odhad pokrývnosti jednotlivých částic



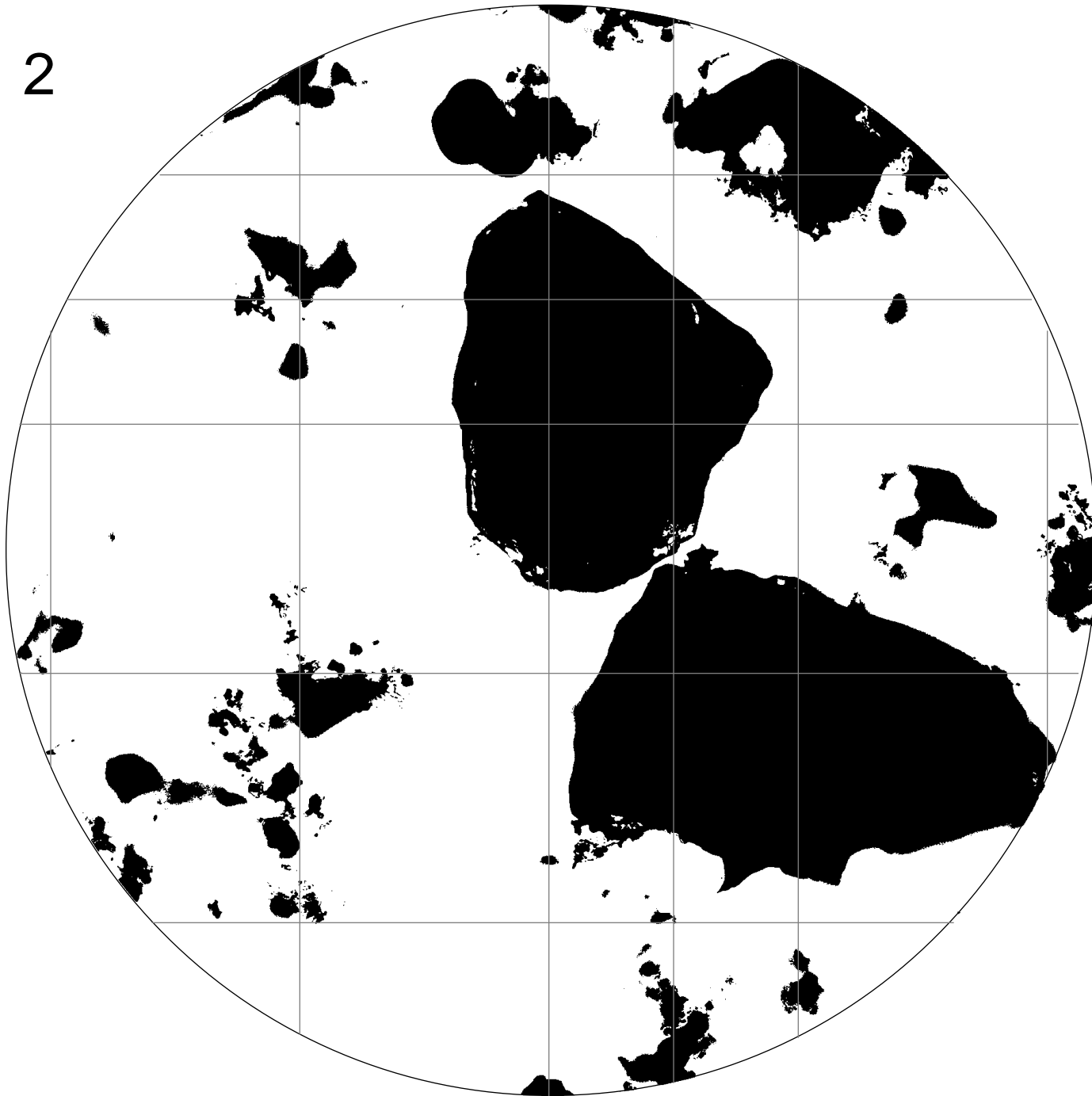
- částice zabírají 1 velký a 2 malé čtverce komůrky Cyrus I
- to odpovídá (ze známých velikostí čtverců na tomto mikroskopu) 9,86 %
- pokrývnost mimo velké částice odhadnuta na 3 %
- po přepočtu a zaokrouhlení je výsledná pokrývnost 13 %



# Funguje metoda v praxi?

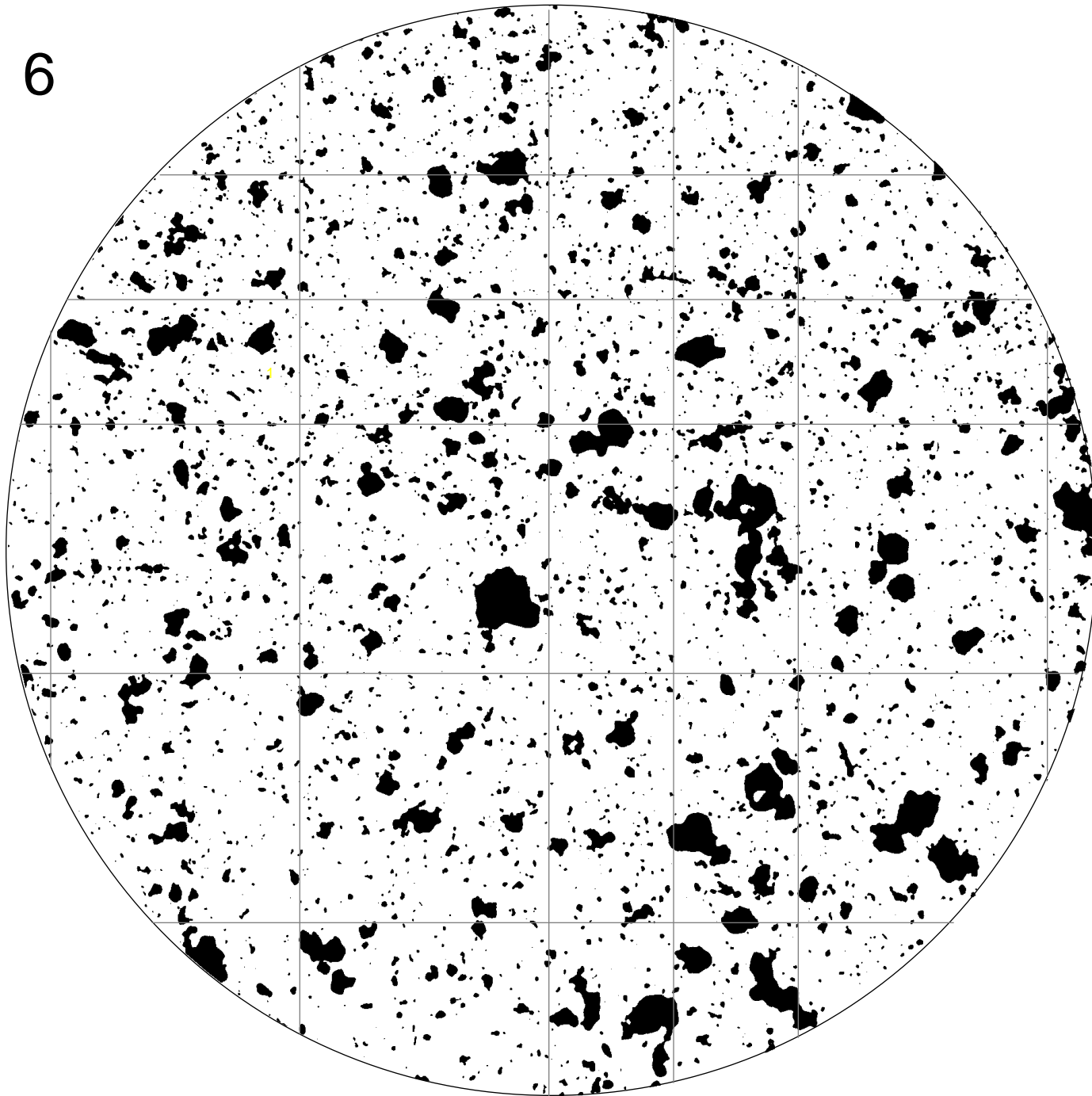
- zkušební test v rámci determinačního kurzu v červnu 2015
- 15 tabulí
- 21 respondentů

2



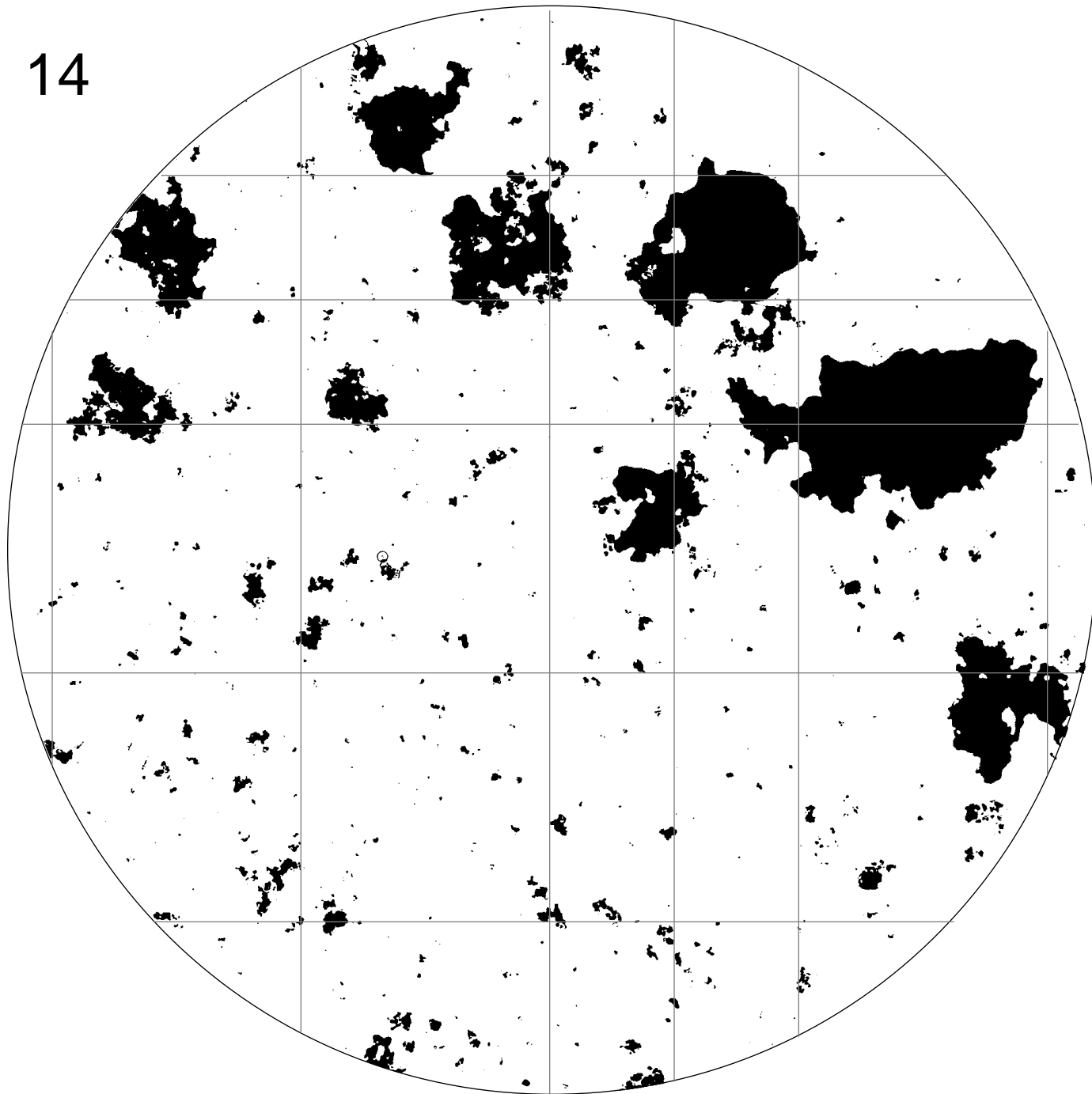
Malý 1,64 %  
Velký 6,58 %

6



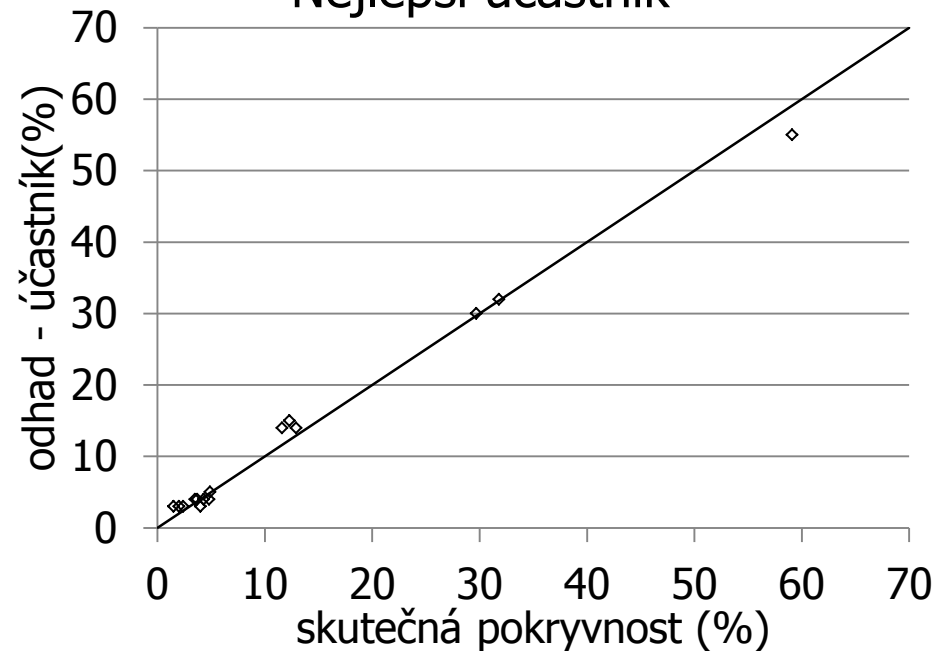
Malý 1,64 %  
Velký 6,58 %

14

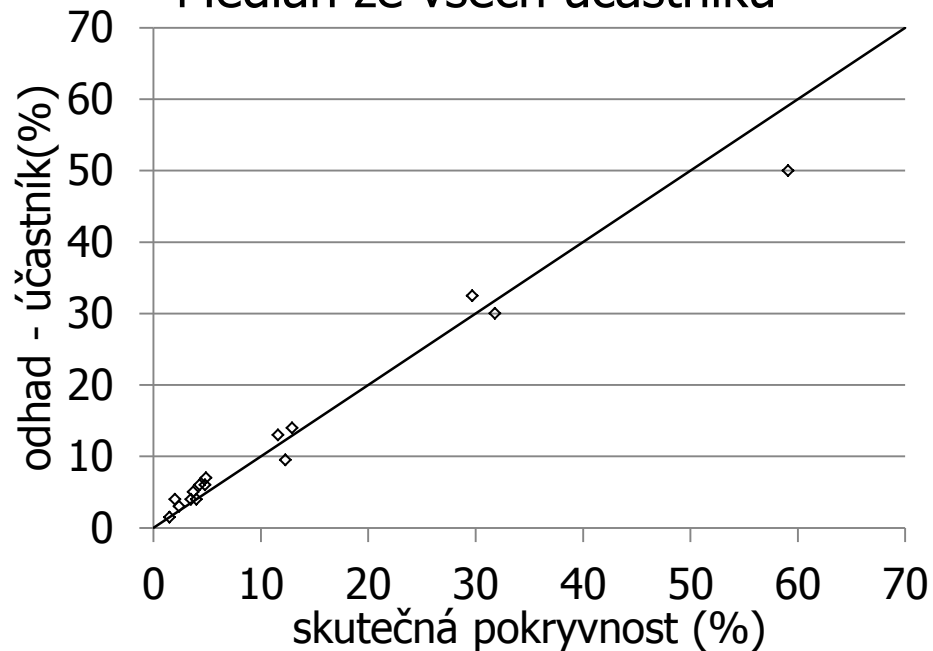


Malý 1,64 %  
Velký 6,58 %

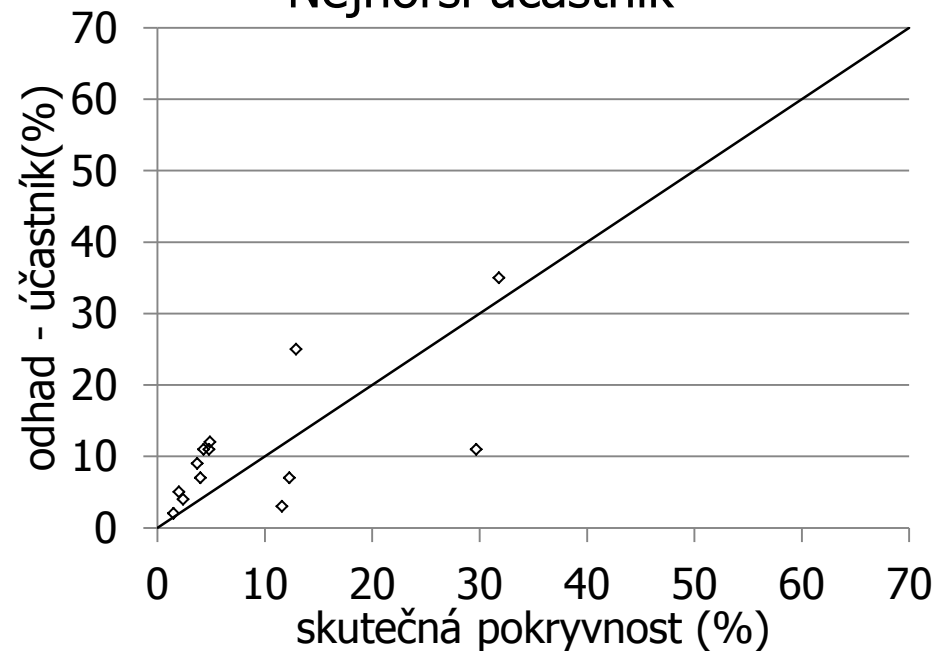
### Nejlepší účastník



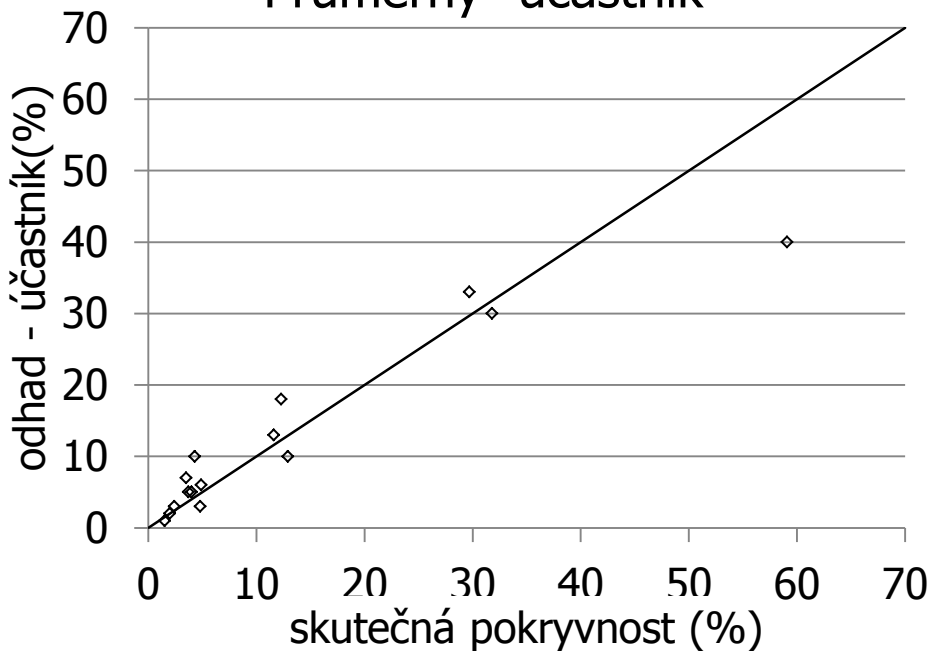
### Medián ze všech účastníků



### Nejhorší účastník



### "Průměrný" účastník



# Zkušební test na internetu?

- plán připravit podobný test na stránky SZÚ
- cca 100 tabulí, aby se pracovníci mohli „nakalibrovat“

# Drobná zpřesnění

- celková revize textu
- definice abiosestonu
- zmíněno stanovení v konzervovaných vzorcích – možné shlukování částic
- zahušťování
  - základní z 10 na 0,2 ml (50x)
  - pokud jiné nutno uvést a přepočítat na 50x

Zahuštění z 10 ml na objem	Odhad pokryvnosti podle tabulí	Výsledný odhad pokryvnosti
0,2 ml	20 %	20 %
0,1 ml	20 %	10 %
1,0 ml	20 %	>100 % nebo 200 %

- nová příloha *Zabezpečování kvality (QA) a řízení kvality (QC) hydrobiologických rozborů*

Děkuji za pozornost a těším se na setkání u dalších okružáků snad zase rok (nebo na podzim)

