

PT#V/4/2017

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/4/2017

25. 5. 2017

upraveno pro zveřejnění na internetu

IDENTITA

Program zkoušení způsobilosti

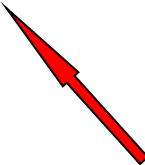
Název Stanovení mikroskopického obrazu v pitné a surové (povrchové) vodě
Označení PT#V/4/2014
Vydáno dne 19.5.2014

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
Internet <http://www.szu.cz/pzz-voda>

Účastník

Adresa [redacted]
[redacted]
[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

- Ostrava (Přírodovědecká fakulta)
- 17. - 20. září 2017

➤ Kurzy na SZÚ

- termíny podle zájmu a domluvy
 - základy mikroskopického rozboru vody (
 - mikroskopické stanovení sinic
- cena – 1,5 dne (2000 Kč + DPH)
- počet účastníků 4

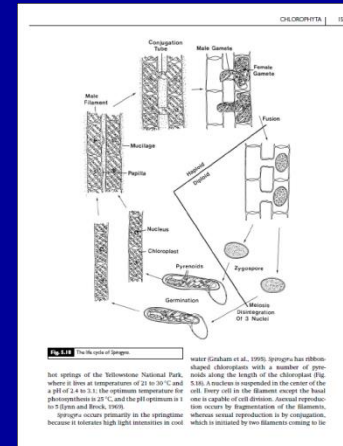
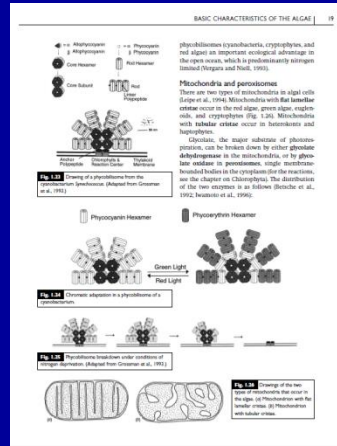
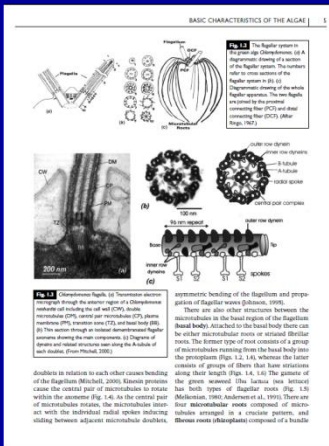
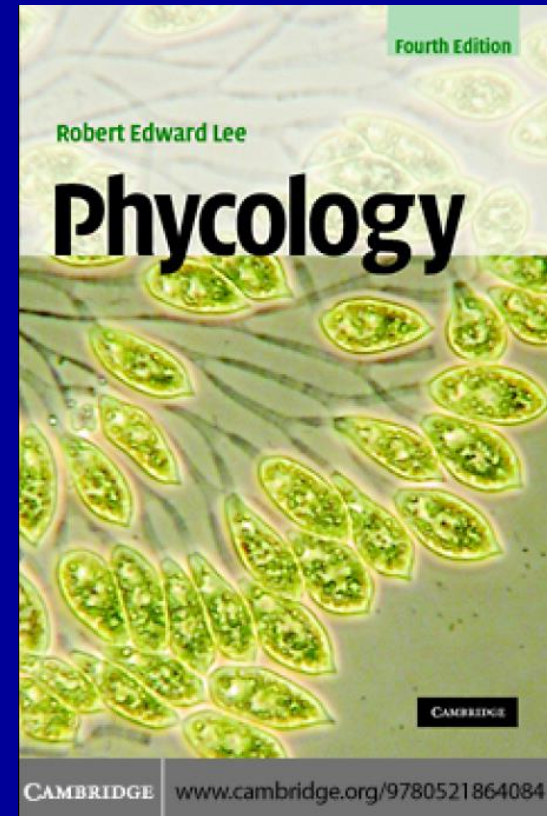
Každoroční determinační kurzy

- 6. - 9.6.2016 (Jevíčko)
- 5. - 8. 6. 2017 (Trhanov)



Literatura

- Lee E. R. (2008): Phycology. 4th Edition Cambridge University Press



- volně dostupné na <http://www.dbbe.fcen.uba.ar/contenido/objetos/PhycologyLee.pdf> (první odkaz v Google při zadání slov LEE a PHYCOLOGY)

Chystaná zajímavá publikace

- **Nový česky psaný atlas sinic a řas**
 - inspirace Sladkovodné riasy od prof. Hindáka – „Sladkovodné riasy po 40 letech“
- kolektiv autorů pod vedením pracovníků Jihočeské univerzity
- předpokládané vydání 2018



Vzorky - zajištění homogenity

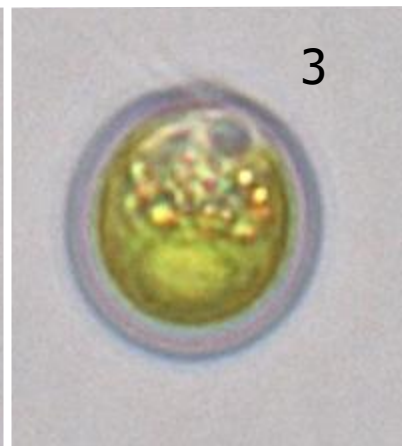
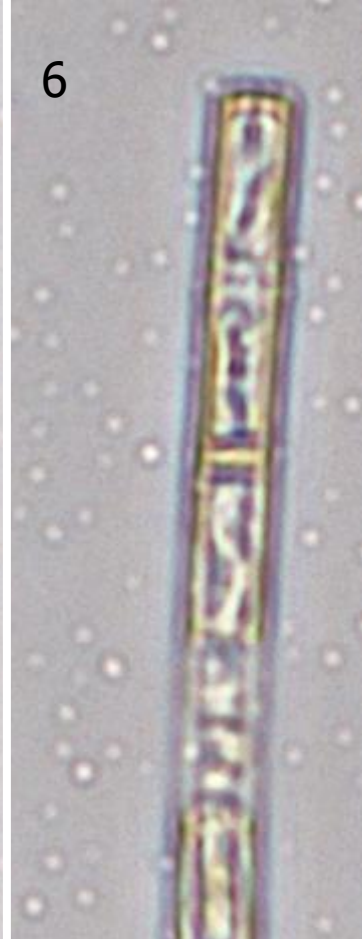
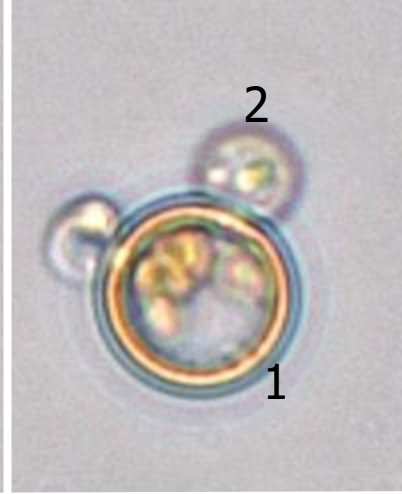
- promícháno v 5 litrovém barelu se spodním výpustním kohoutem nebo v jiných větších nádobách nebo menších plastových lahvích
- rovnoměrné rozložení
- SZÚ – vždy tři vzorky

číslo vzorku	1	2	3A	3B	4	5
vzorkovnice	150ml	150ml	ependorf	ependorf	150ml	150ml
počet	18	18	16	16	18	13
vzorky pro homogenitu	1, 10, 18	1, 10, 18	x	x	1, 10, 18	1, 7, 13

Vzorek 1

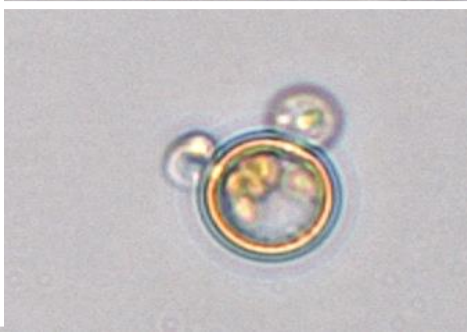
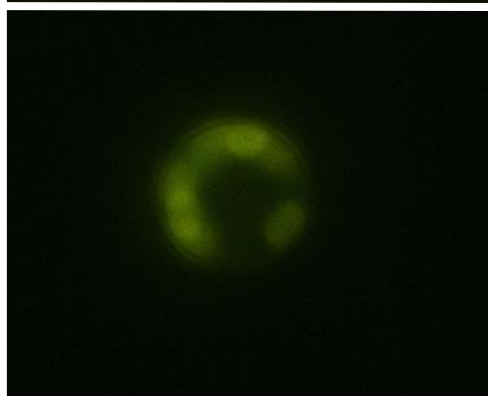
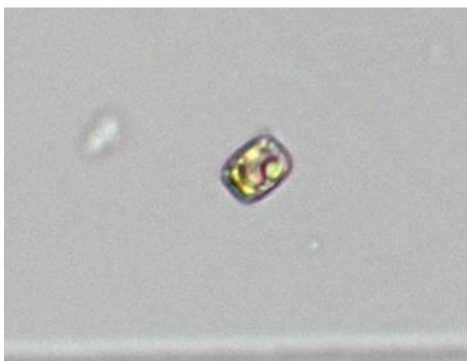
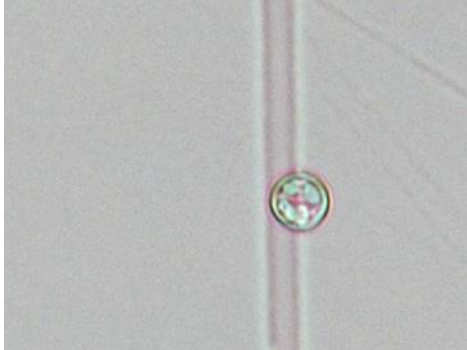
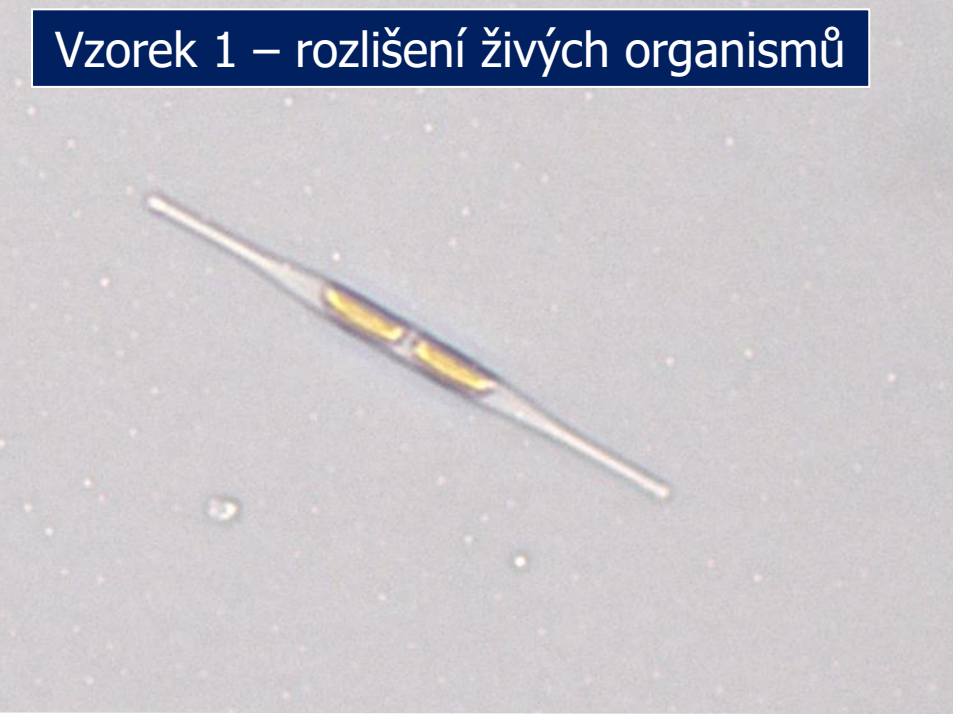
Vzorek 1 - příprava

- pražská vodovodní vody odebraná v SZÚ
- voda z Vltavy v Praze - Sedleci odebraná ve dnech 27. 3. 2017 a 2. 4. 2017
 - voda ve straším vzorku byly organismy usmrceny vysokou dávkou dichlorisochlorkyanurátu sodného,
 - filtrace obou vzorků přes síť 100 μm
- směs živého a mrtvého vzorku z Vltavy a pražské vodovodní vody



- 1 – centrické rozsivky
- 2 – parazitické micromycety
- 3 – zelený bičíkovec *Chlamydomonas* (?)
- 4 – rozsivka *Nitzschia acicularis*
- 5 – rozsivka *Aulacoseira*
- 6 – rozsivka *Diatoma vulgaris*

Vzorek 1 – rozlišení živých organismů

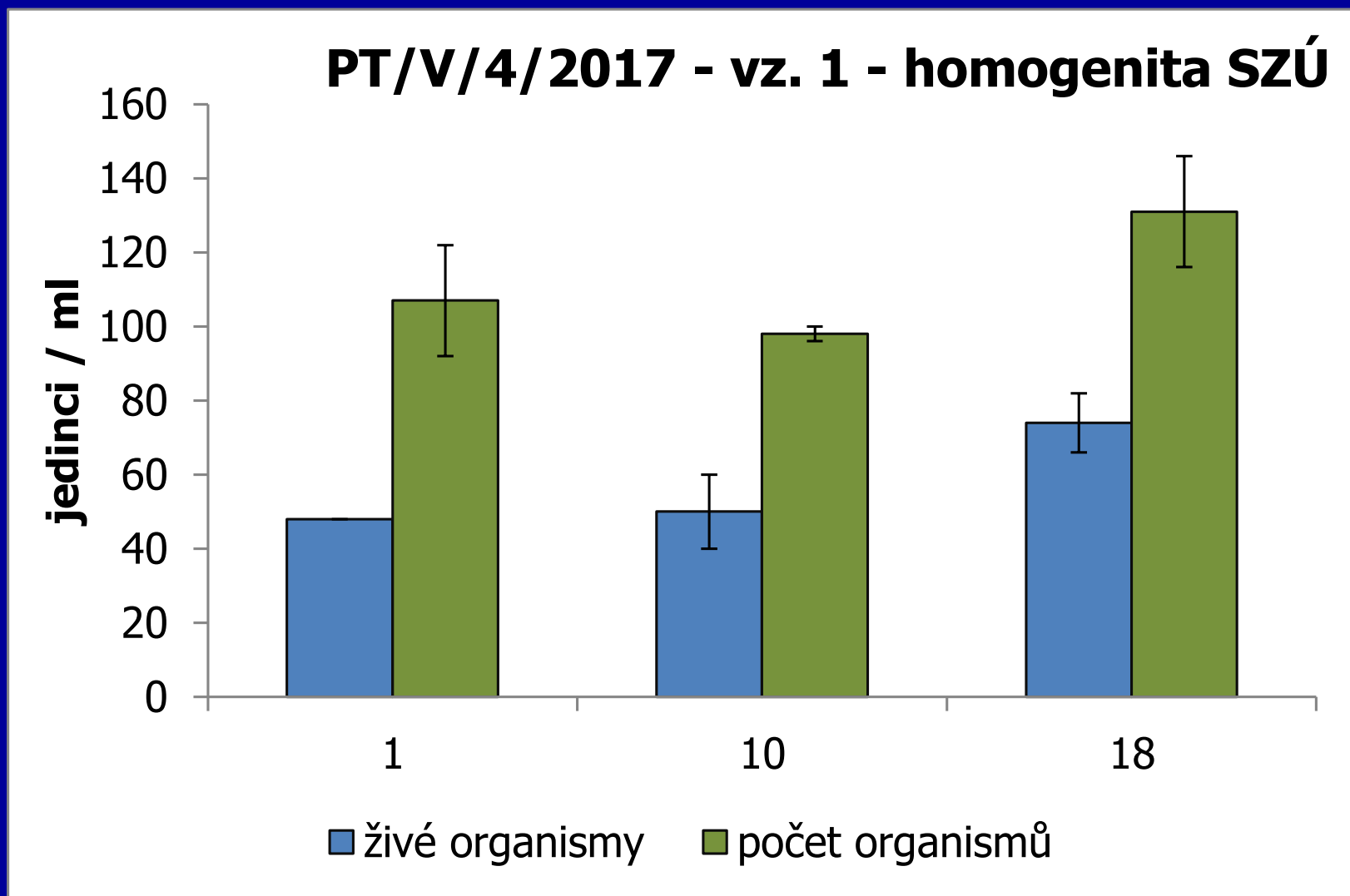


Vzorek 1 – živá centrická rozsivka *Aulacoseira*

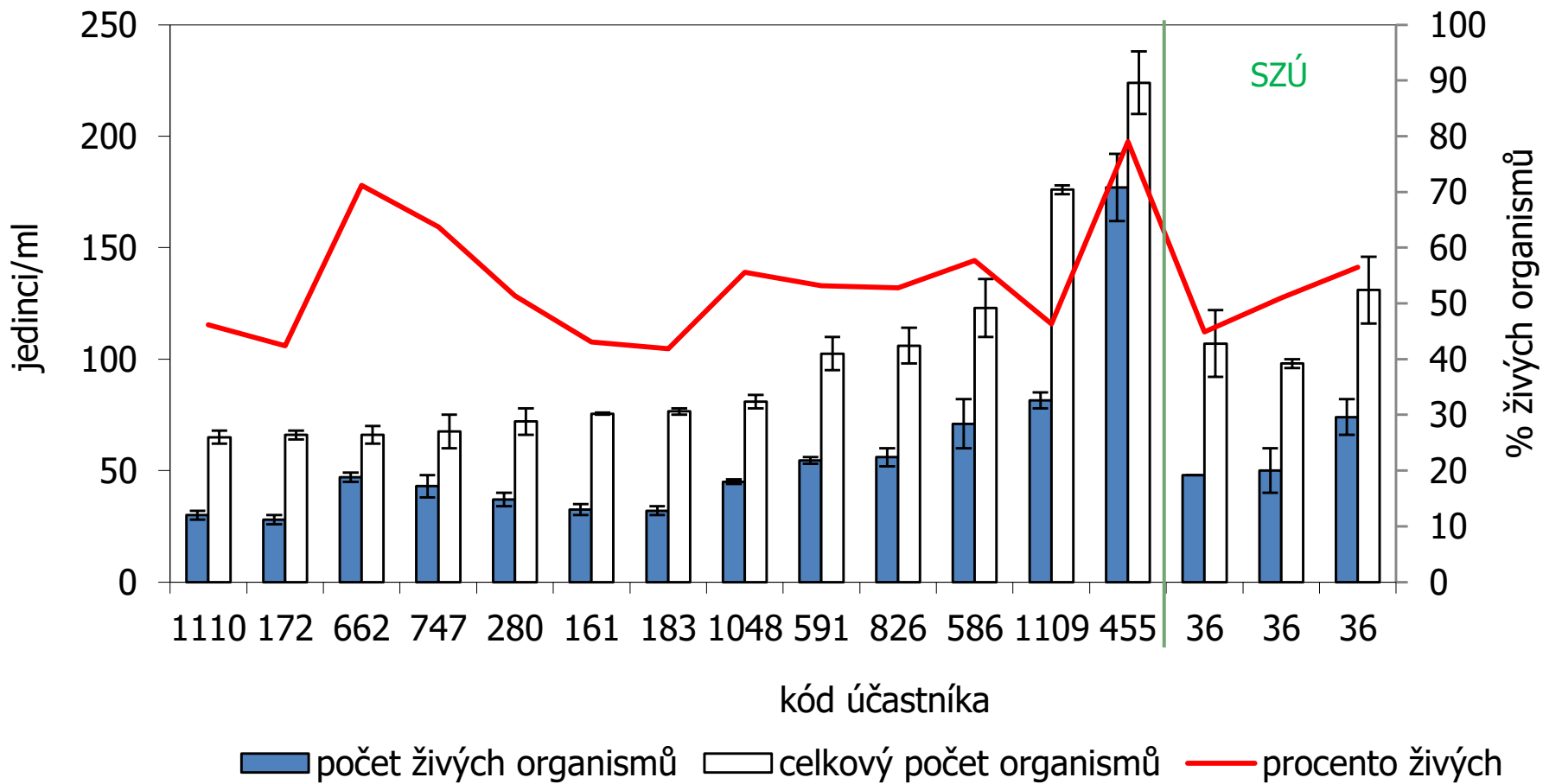


Kód	Nález	Úspěšnost
36	Dominují centrické rozsivky. Dále přítomny penátní rozsivky (<i>Nitzschia acicularis</i> a další), zelené řasy a parazitické mikromycety	+
161	dominantně centrické rozsivky, ojediněle penátní rozsivky (např. <i>Nitzschia</i> sp., <i>Fragillaria</i> sp.), zcela ojediněle zelené řasy (<i>Desmodesmus</i> sp.), železité bakterie.	+
172	Dominantně rozsivky (cyklické, penátní), ojediněle zelené řasy	+
183	Dominantně jsou přítomny centrické rozsivky, dále ojediněle penátní rozsivky, zcela ojediněle zelené řasy a železité bakterie.	+
280	Převažují centrické rozsivky, ojediněle penátní rozsivky (<i>Nitzschia</i> sp., <i>Asterionella</i> sp.), zelené řasy.	+
455	<i>Stephanodiscus</i> sp., <i>Chrysococcus</i> sp., <i>Synedra ulna</i> , <i>Navicula lanceolata</i> , <i>Nitzschia</i> sp.	+
586	Ve vzorku, u živých i mrtvých, dominují centrické planktonní rozsivky (Bacillariophyceae). Dále byly zjištěny druhy penátních rozsivek (Bacillariophyceae) planktonních a bentických druhů (<i>Nitzschia acicularis</i>), a pak volvokální zelené řasy (Volvocales) rodu <i>Chlamydomonas</i> . Zaznamenány byly i parazitické houby rodu <i>Chytridium</i> .	+
591	Dominují centrické rozsivky, v menší míře penátní rozsivky (<i>Nitzschia</i>).	+
662	převažují centrické rozsivky, dále méně penátní (zejm. <i>Nitzschia</i> sp., <i>Fragillaria</i> sp., <i>Navicula</i> sp.) rozsivky, ojediněle výskyt zelené řasy <i>Desmodesmus</i> sp., zelení bičíkovci, rozsivka <i>Aulacoseira</i> sp.	+
747	Dominance taxon: Bacillariophyceae - centrické a penátní rozsivky (<i>Navicula</i> sp., <i>Flagillaria</i> sp., <i>Nitzschia</i> sp.), ojedinělý výskyt Chlorophyta (<i>Desmodesmus</i> sp., <i>Volvocales</i> sp.)	+
826	Dominantní ve vzorku byly centrické rozsivky, v menším zastoupení penátní rozsivky (<i>Nitzschia</i> sp.), <i>Chrysococcus</i> sp., velmi ojediněle drobná zelená řasa.	+
1048	Převažují centrické rozsivky o velikosti 10 - 20 µm. Méně četné / ojedinělé nálezy byly zaznamenány u těchto druhů (skupin organismů): - <i>Chrysococcus</i> sp., <i>Nitzschia acicularis</i> - <i>Navicula lanceolata</i> , <i>Diatoma vulgaris</i> , <i>Nitzschia sigmaidea</i> , <i>Gomphonema</i> sp., <i>Aulacoseira</i> sp.; drobné chlorokokální řasy - <i>Monoraphidium contortum</i> , <i>Crucigenia</i> sp., <i>Scenedesmus</i> sp.; <i>Chlamydomonas</i> sp.; <i>Chytridiomycota</i> g.sp., <i>Strobilidium</i> sp. a heterotrofní bičíkovci	+
1109	Kvalitativní rozbor: Dominují centrické rozsivky, dále zaznamenán výskyt penátních rozsivek <i>Fragillaria</i> sp., <i>Nitzschia acicularis</i> , <i>Asterionella formosa</i> a dalších. Dále se vyskytují zlaté řasy (<i>Chrysococcus</i> sp.), zelené řasy chlorokokální, bezbarví bičíkovci a mikromycety. Také zaznamenán výskyt železitých bakterií nebo produktů jejich metabolismu, které se nezahrnují do celkového počtu organismů (přibližně 170 jedinců/ml).	+
1110	Přítomny centrické a penátní rozsivky, ojed. drobné chlorokokální řasy.	+

Vzorek 1 – homogenita (SZÚ)



vzorek 1 (2017 - účastníci + SZÚ)



Vzorek 1 – Pitná voda - počet organismů

účastníci

V	lab	výsledek (jedinci/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1110	65,0	-1,50									
X	172	66,0	-1,47									
X	662	66,0	-1,47									
X	747	67,5	-1,42									
X	280	72,0	-1,29									
X	161	75,5	-1,18									
X	183	76,5	-1,15									
X	1048	81,0	-1,02									
X	591	102,5	-0,37									
X	826	106,0	-0,27									
X	586	123,0	0,24									
X	1109	176,0	1,83									
!	455	224,0	3,27									

počet laboratoří: 13
z toho vyhovuje: 12
z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 114,9 jedinci/ml
vztažná odchylka: ±58%
interval správných hodnot: 48,3 - 181,5 jedinci/ml

terčové lab.

V	lab	výsledek (jedinci/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1048	81,0	-1,02									
X	591	102,5	-0,37									
X	826	106,0	-0,27									
X	36	112,0	-0,09									
X	586	123,0	0,24									
X	1109	176,0	1,83									
!	455	224,0	3,27									

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

vztažná hodnota: 114,9 jedinci/ml
vztažná odchylka: ±58%
interval správných hodnot: 48,3 - 181,5 jedinci/ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Vzorek 1 – Pitná voda - počet živých organismů

účastníci

V	lab	výsledek (jedinci/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	172	28.0	-1.94			█						
X	1110	30.0	-1.83			█						
X	183	32.0	-1.73			█						
X	161	32.5	-1.70			█						
X	280	37.0	-1.46			█						
X	747	43.0	-1.14			█						
X	1048	45.0	-1.03			█						
X	662	47.0	-0.92			█						
X	591	54.5	-0.52			█						
X	826	56.0	-0.44			█						
X	586	71.0	0.37			█						
X	1109	81.5	0.94			█						
!	455	177.0	6.07			█		█				

počet laboratoří: 13
z toho vyhovuje: 12
z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 64,1 jedinci/ml
vztažná odchylka: ±58%
interval správných hodnot: 27 - 101,2 jedinci/ml

terčové lab.

V	lab	výsledek (jedinci/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1048	45.0	-1.03			█						
X	591	54.5	-0.52			█						
X	826	56.0	-0.44			█						
X	36	57.0	-0.38			█						
X	586	71.0	0.37			█						
X	1109	81.5	0.94			█						
!	455	177.0	6.07			█		█				

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

vztažná hodnota: 64,1 jedinci/ml
vztažná odchylka: ±58%
interval správných hodnot: 27 - 101,2 jedinci/ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Podíl živých organismů ve vzorku 1

kód	počet organismů (jedinci/ml)	počet živých organismů (jedinci/ml)	podíl živých organismů (%)
183	76,5	32	42
172	66	28	42
161	75,5	32,5	43
36	107	48	45
1110	65	30	46
1109	176	81,5	46
36	98	50	51
280	72	37	51
826	106	56	53
591	102,5	54,5	53
1048	81	45	56
36	131	74	56
586	123	71	58
747	67,5	43	64
662	66	47	71
455	224	177	79

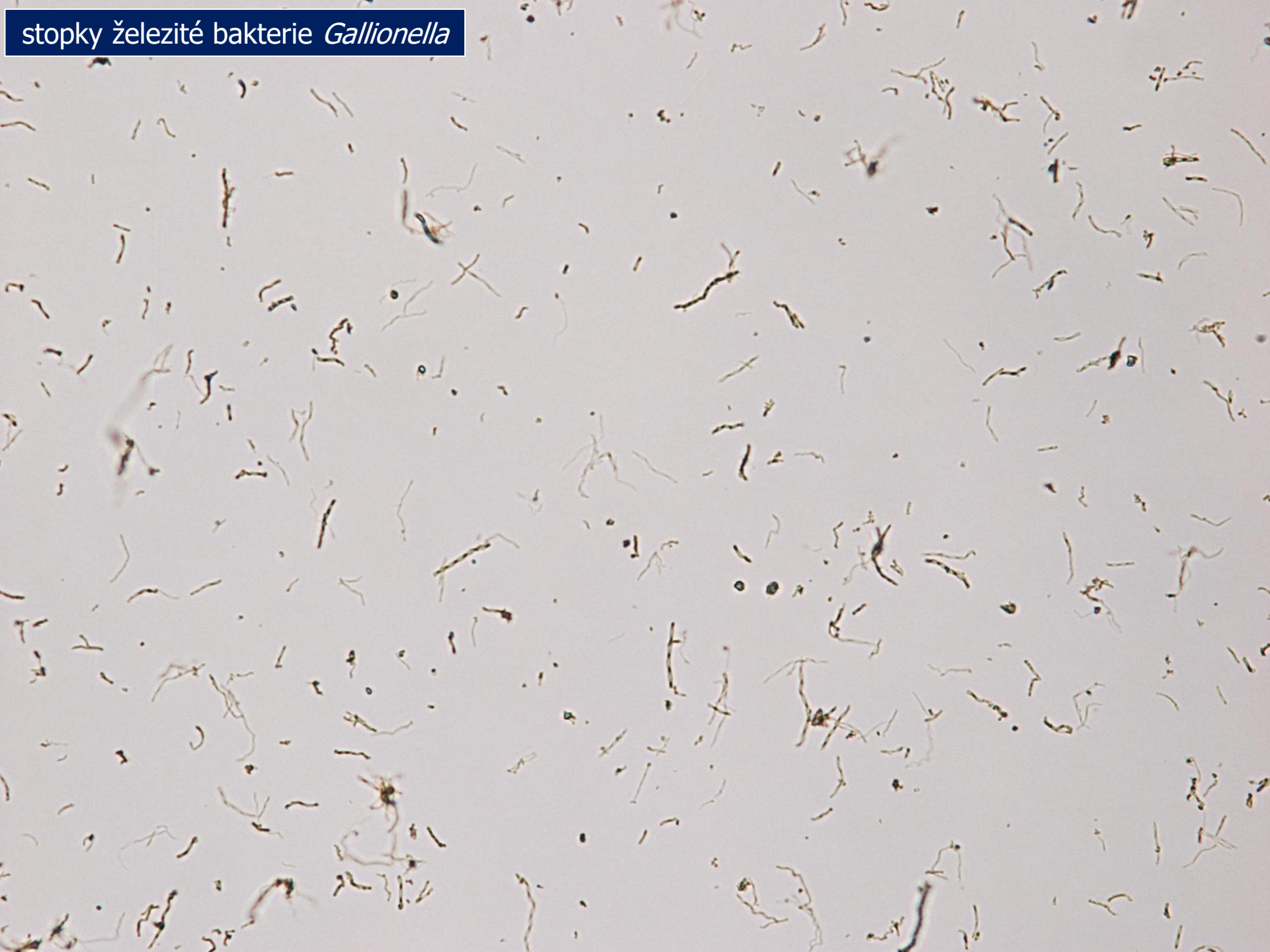
Vzorek 2 (abioseston)

Příprava

- vzorek ze soukromé studny z podzimu 2016 – velké množství stopek *Gallionella* (uchováno v lednici)
- 2. 4. 2017 smíchány 3 litry vodovodní vody a 1 litr vody ze studny v pětilitrovém barelu, připraveno 18 vzorkovnic

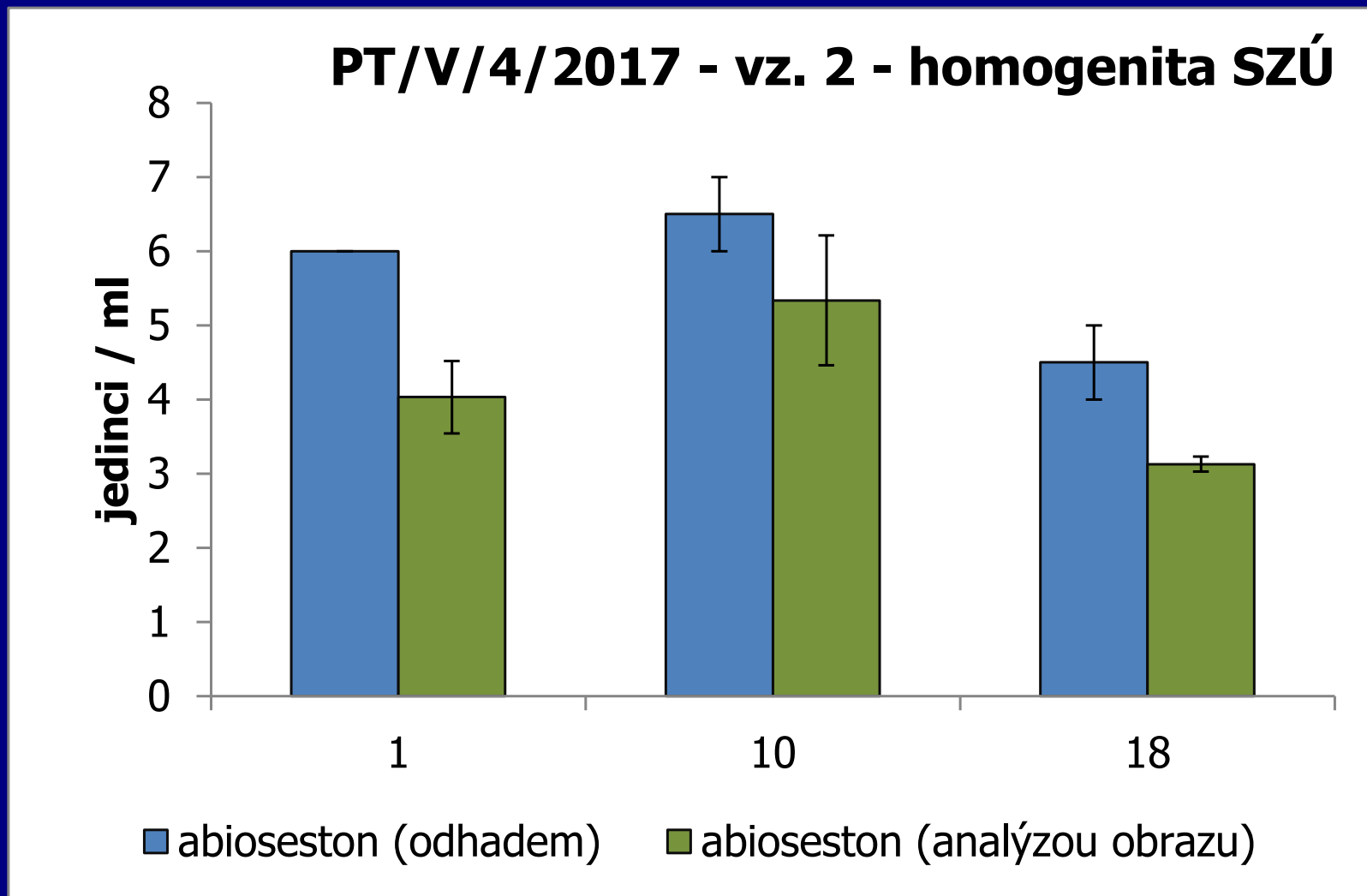


stopky železité bakterie *Gallionella*

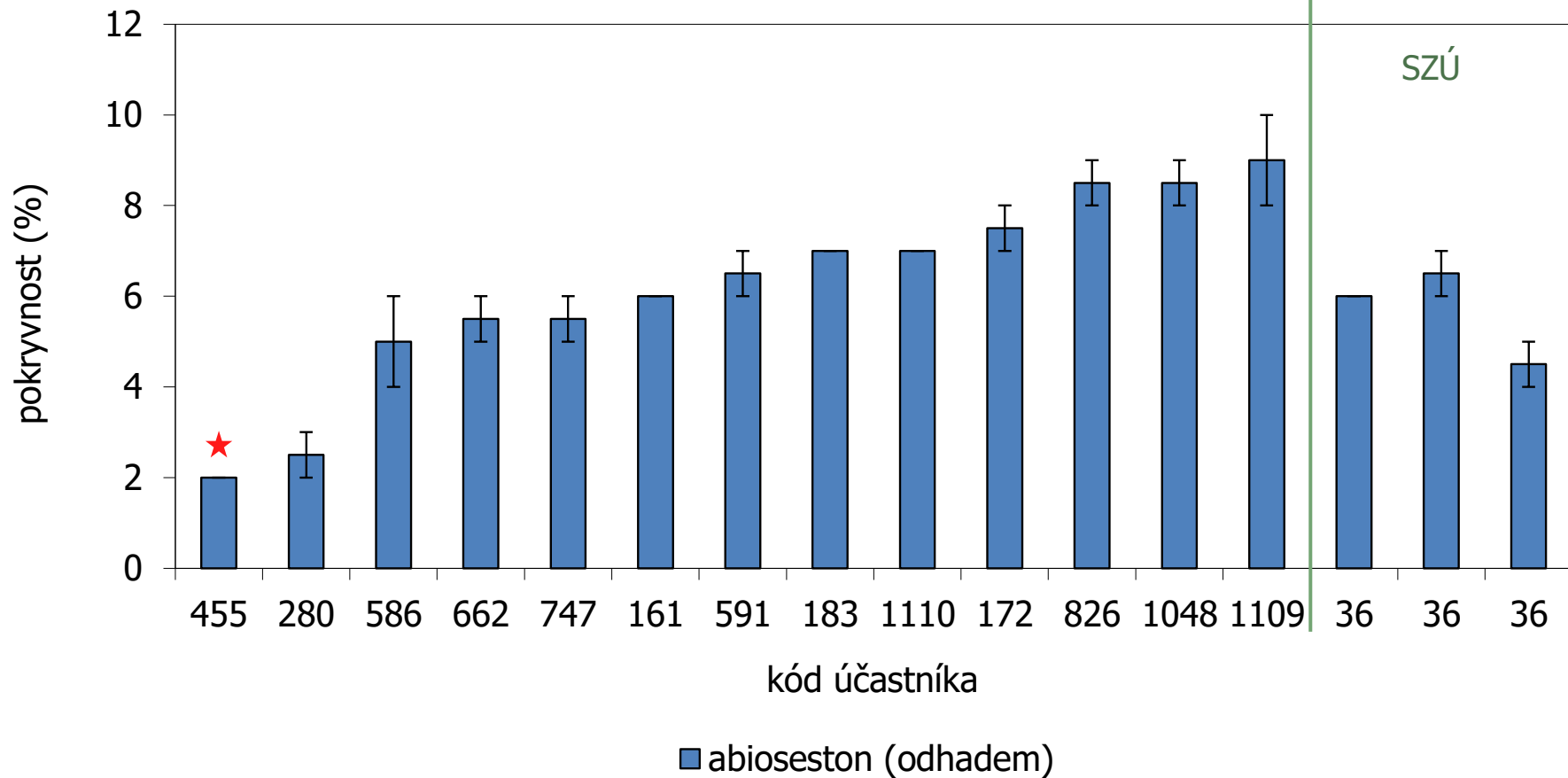


Kód	Nález	Úspěšnost
36	Dominují stopky železité bakterie Gallionella	+
161	železité bakterie, produkty metabolismu železitých bakterií	+
172	produkty železitých bakterií + železité bakterie bakterie	+
183	Železité bakterie a jejich produkty.	+
280	Převažují železité bakterie rodu Gallionella, ojediněle sraženiny železa.	+
455	FE bakterie (převážně Galionella) + minerální částice	+
586	V abiosestonu dominují stopky železitých bakterií rodu Galionella (cca 99%) a dále se vyskytují minerální anorganické částice (cca 1%).	+
591	Železité bakterie (rod Gallionella) a produkty jejich metabolismu.	+
662	železité bakterie a jejich produkty	+
747	Dominují železité bakterie a jejich produkty (Gallionella ferruginea).	+
826	Dominantní - železité bakterie, ojediněle jejich produkty, ojediněle sraženiny Fe.	+
1048	Dominantní složka: produkty/schránky Fe + Mn bakterií - Gallionella ferruginea Další výskyt: rez - sraženiny Fe, anorg.krystalky a detritus, produkty/schránky železitých bakterií Leptothrix ochracea (ojediněle)	+
1109	Dominují produkty metabolismu či pochvy železitých bakterií (Galionella ferruginea a Leptothrix ochracea), ojediněle železité sraženiny.	+
1110	železité bakterie, produkty železitých bakterií	+

Vzorek 2 – homogenita (SZÚ)



vzorek 2 (2017 - účastníci)



★ účastník uváděl hodnotu 1 – 3 %

Z-score pro abioseston (odhadem) – pitná voda

účastníci

V	lab	výsledek (%)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
?	455	2.0	-2.40			█	█	█				
?	280	2.5	-2.14			█	█	█				
X	586	5.0	-0.84				█	█				
X	662	5.5	-0.57				█	█				
X	747	5.5	-0.57				█	█				
X	161	6.0	-0.31					█				
X	591	6.5	-0.05					█				
X	183	7.0	0.21					█				
X	1110	7.0	0.21					█				
X	172	7.5	0.47					█				
X	826	8.5	0.99					█	█			
X	1048	8.5	0.99					█	█			
X	1109	9.0	1.25					█	█			

počet laboratoří: 13

z toho vyhovuje: 11

z toho nevyhovuje: 2

vztažná hodnota: 6,6 %

vztažná odchylka: ±58%

interval správných hodnot: 2,8 - 10,4 %

terčové lab.

V	lab	výsledek (%)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
?	280	2.5	-2.14			█	█	█				
X	586	5.0	-0.84				█	█				
X	662	5.5	-0.57				█	█				
X	747	5.5	-0.57				█	█				
X	36	5.6	-0.52				█	█				
X	161	6.0	-0.31					█				
X	591	6.5	-0.05					█				
X	183	7.0	0.21					█				
X	1110	7.0	0.21					█				
X	172	7.5	0.47					█				
X	826	8.5	0.99					█	█			
X	1048	8.5	0.99					█	█			
X	1109	9.0	1.25					█	█			

počet laboratoří: 13

z toho vyhovuje: 12

z toho nevyhovuje: 1

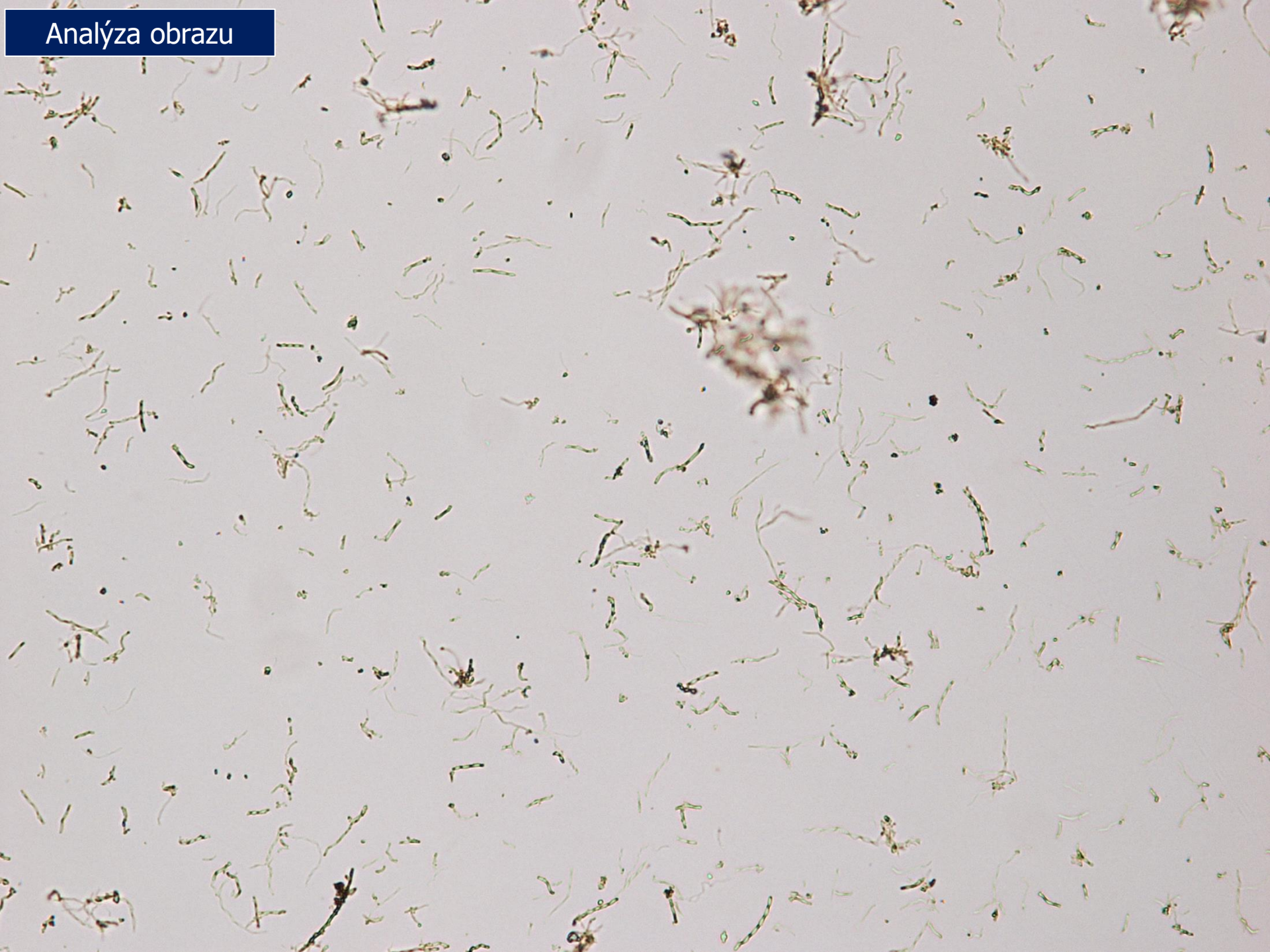
vztažná hodnota: 6,6 %

vztažná odchylka: ±58%

interval správných hodnot: 2,8 - 10,4 %

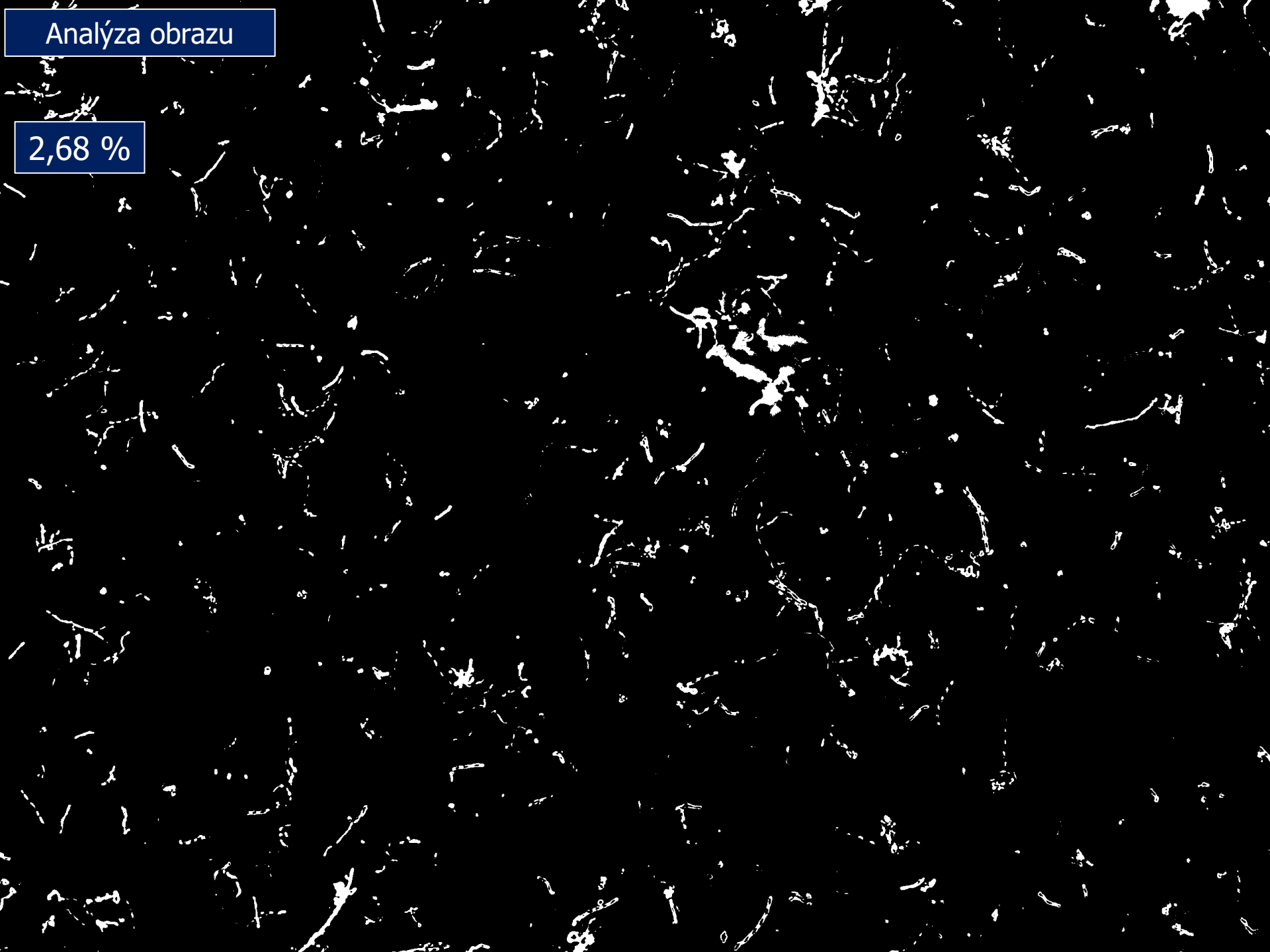
X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Analýza obrazu



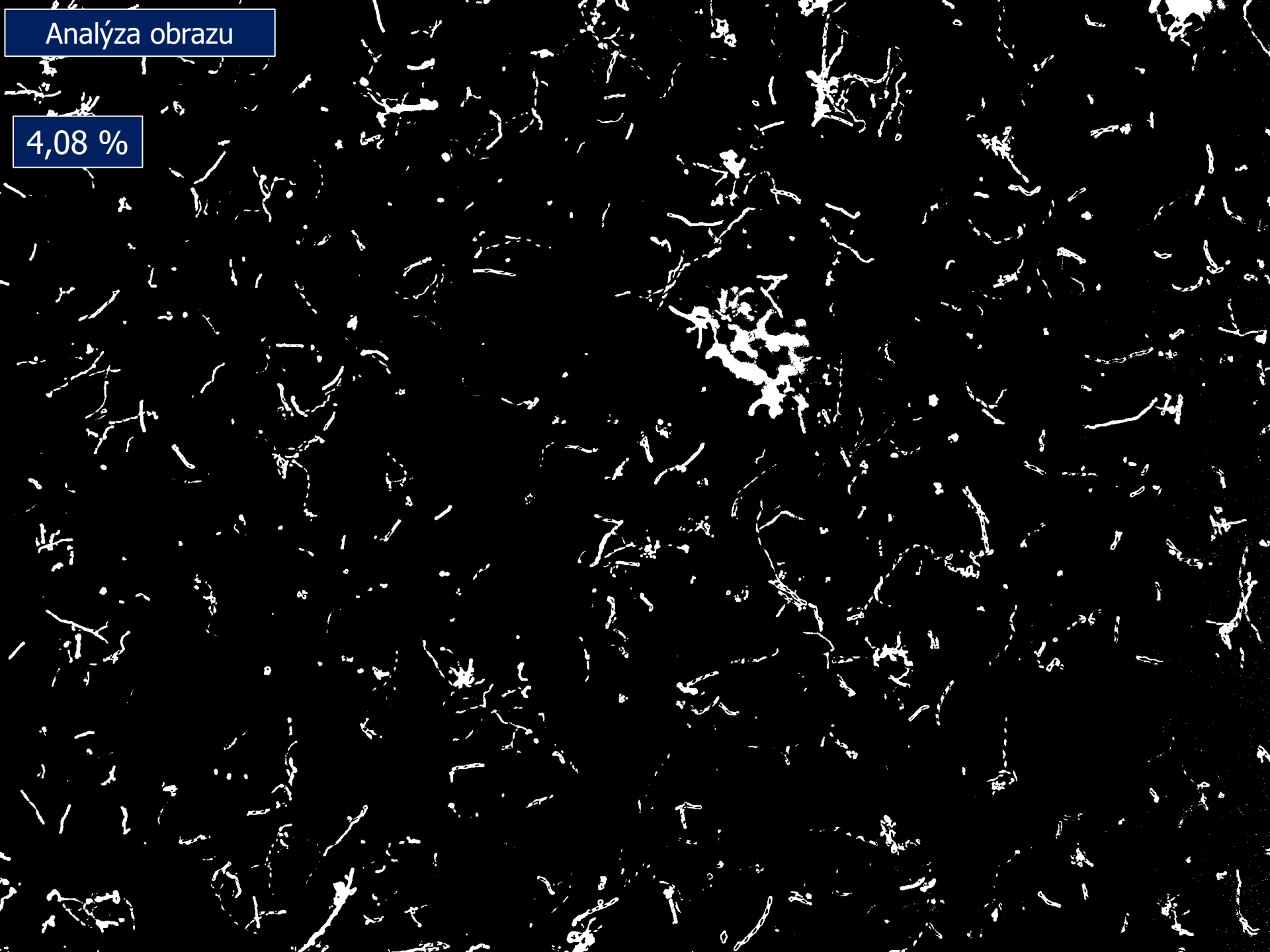
Analýza obrazu

2,68 %

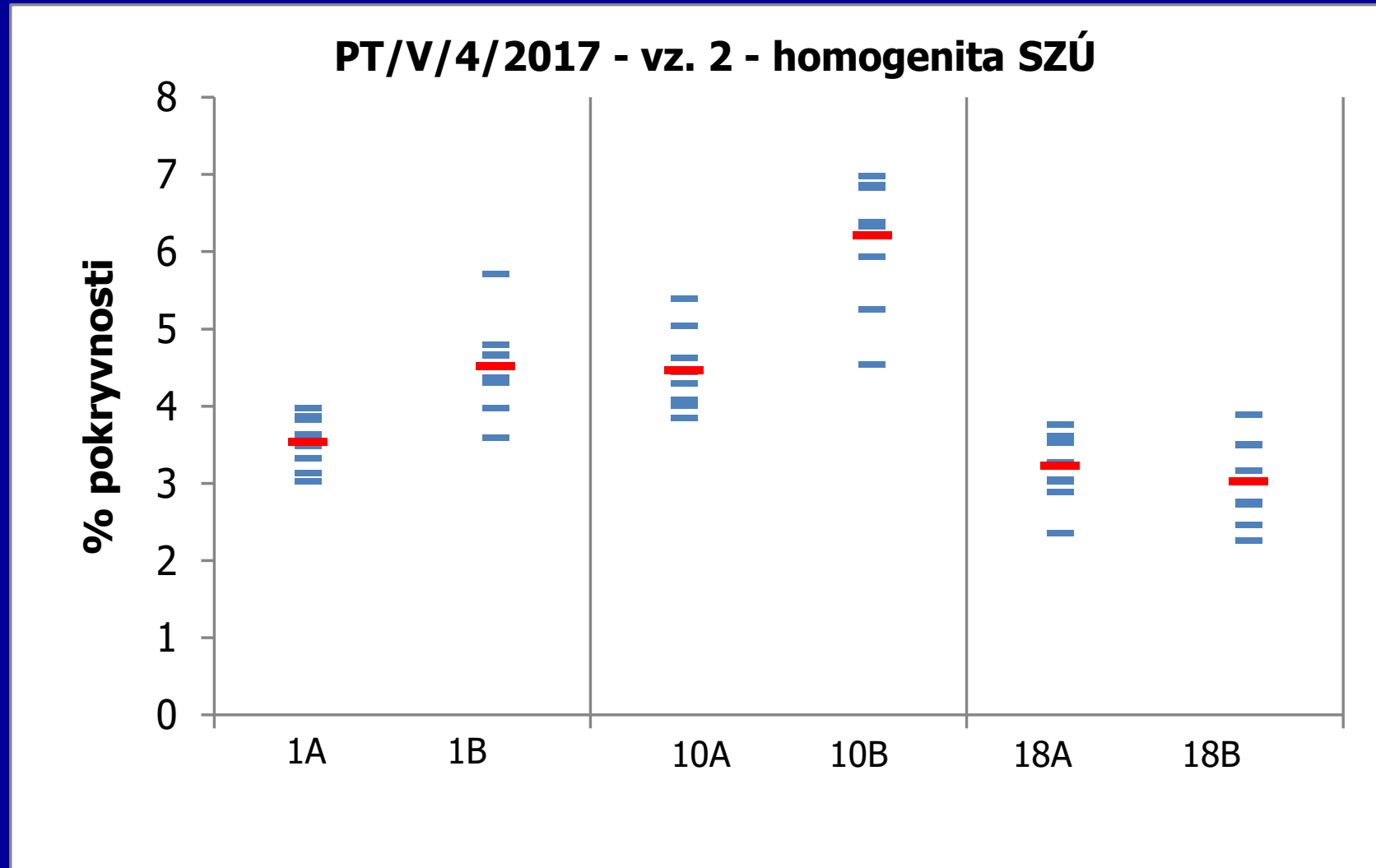


Analýza obrazu

4,08 %



Analýza obrazu - homogenita SZÚ



Metodiky – Analýza obrazu

586	provedeno nafocení 10 snímků, které byly zpracovány programem LUCIA (metodika dle Pumanna).
1048	<p>Odstředění 10 ml vzorku, zahuštění na 0,2 ml, stanovení v počítačové komůrce CYRUS I při celkovém zvětšení 100×, kontrolováno při celkovém zvětšení 200× (prahování v SW Lucia G - LIM):</p> <ul style="list-style-type: none">- 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). Složitější prahování vzhledem k méně kontrastním objektům (viz další kontrolní analýzy).- Zvětšení 200 ×, prahováno makrem, vždy průměr z 5 zorných polí pro 2 paralelní stanovení: 6,89 % // 7,46 %.- Zvětšení 200 ×, prahováno ručně, průměr ze 3 zorných polí: 6,09 % (rozpětí 5,30 % - 6,89 %).- Zvětšení 100 ×, prahováno ručně, průměr z 10 zorných polí: 8,56 % (rozpětí 6,79 % - 10,45 %).
1109	<p>Zhotoveny digitální fotografie (Canon EOS 600 D). Pomocí volně stažitelného programu UTHSCSA Image Tool provedena analýza obrazu:</p> <ol style="list-style-type: none">1. Převedení do šedé škály (Processing - Colour to Grayscale)2. Manuální prahování (Processing - Treshold - Manual)3. Analýza (Analysis - Count Black/White Pixels)

Komentáře

588: Abioseston - stanovení tohoto typu abiosestonu za pomoci analýzy obrazu je celkem problematické, protože nelze zcela dosáhnout "vytmavení" objektů, tudíž dochází k podhodnocení. Stejně tak vzniká problém při fotce z mřížky, aby ta nenadhodnocovala při úpravě stupně šedi, musí docházet ke ztrátám i u tohoto typu abiosestonu

1109: vzorek č. 2 - stanovení abiosestonu: velký rozptyl hodnot (4-15 %) - vzhledem k typu přítomného abiosestonu velmi ovlivněno způsobem přenesení vzorku do počítačící komůrky. Při analýze obrazu navíc dochází k podhodnocování - při prahování nejsou zahrnuty světlé "vnitřky" produktů železitých bakterií.

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	586	3.0	-0.89					■				
X	36	4.2	-0.55				■	■				
X	1048	7.3	0.40					■				
X	1109	9.5	1.04					■	■			

počet laboratoří: 4

z toho vyhovuje: 4

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 6,02 %

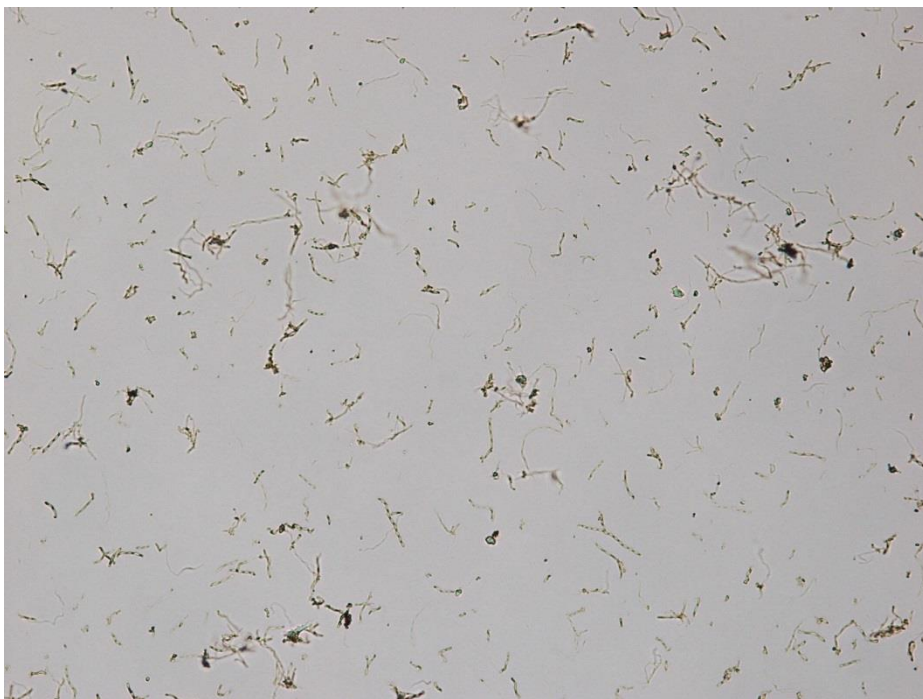
vztažná odchylka: 3,34 %

interval správných hodnot: -0,66 - 12,7 %

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Abioseston (analýzou obrazu) – vzorek + 2 jednotné fotografie

2017foto1



2017foto2



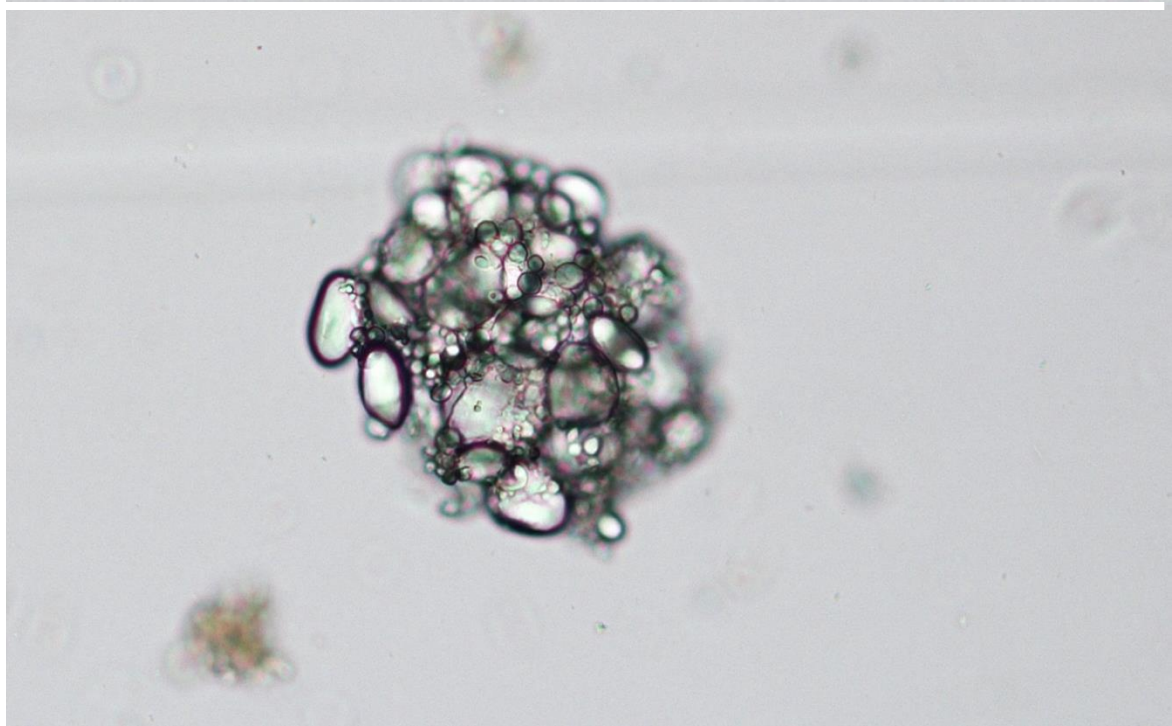
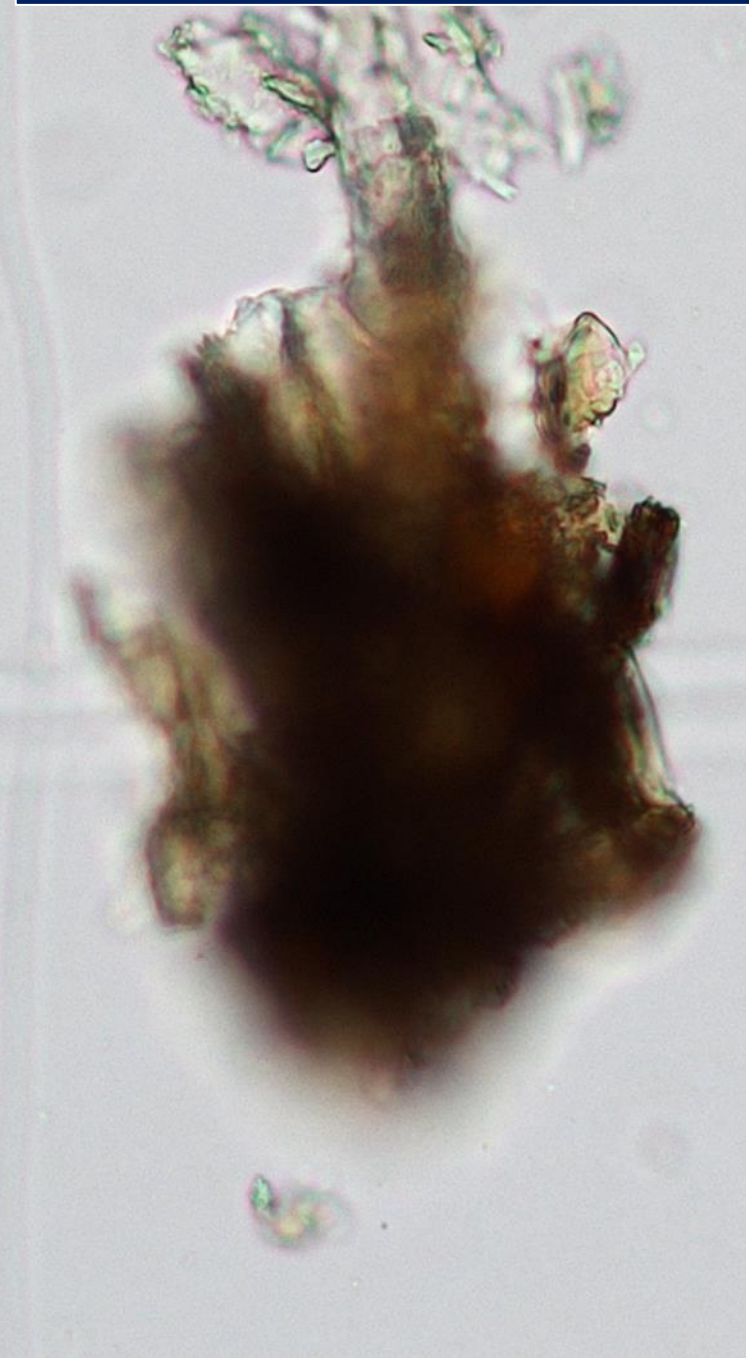
Kód	Vzorek 2	2017foto1	2017foto2
36	4,17	3,98	0,55
586	3,05	3,68	0,67
1048	7,35	5,31	1,08
1109	9,49	3,83	0,71
Aritmetický průměr	6,01	4,20	0,75
Medián	5,76	3,91	0,69
Směrodatná odchylka	2,55	0,65	0,20
Relativní směrodatná odchylka (%)	42,4	15,5	26,3

Vzorek 3A

Příprava

- z nastřihané suché trávy
- dále nadrcené ve třecí misce
- smíchané s vodovodní vodou.
- pro zamezení mikrobiálního růstu přidán dichlorisochlorkyanurát sodný

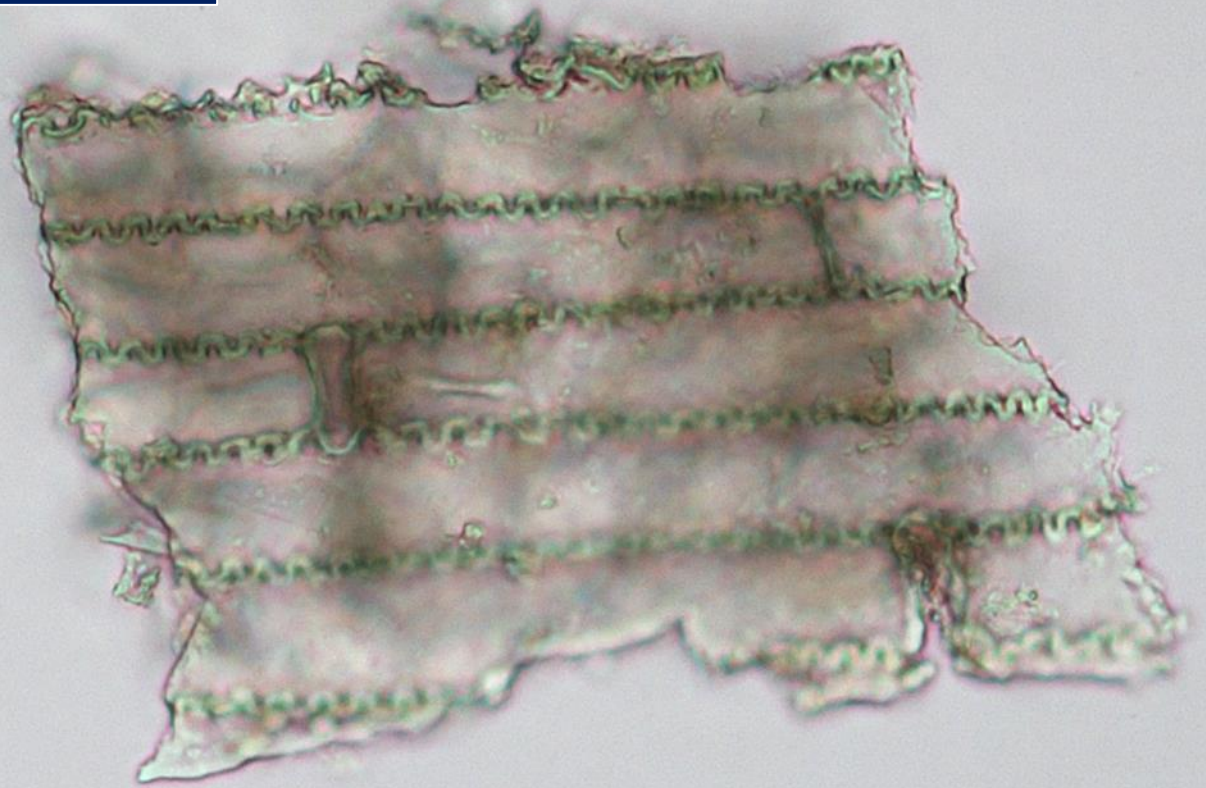
Vzorek 3A – zbytky rostlinných pletiv



Vzorek 3A – zbytky rostlinných pletiv



Vzorek 3A – zbytky rostlinných pletiv





Vzorek 3A – a taky trochu micromycet



Vzorek 3A – a taky trochu micromycet

Kód	Nález	Úspěšnost
36	zbytky rostlinných pletiv (pokožka, trichomy, cévy, škrobová zrna), méně vlákna micromycet	+
161	zbytky rostlinného pletiva, zbytky těl drobných živočichů, zcela ojediněle prázdné schránky rozsivek	+
172	rostlinné pletivo	+
183	Zbytky rostlinného pletiva a živočišných těl. Zcela ojediněle prázdné schránky rozsivek a pylová zrna.	+
280	Převažují zbytky povrchového pletiva travin, v menší míře škrobová zrna, ojediněle bakterie.	+
455	minerální částice + zbytky pletiv rostlinného původu	+
586	zbytky rostlinných pletiv	+
591	Zbytky rostlinných pletiv	+
662	zbytky povrchového pletiva travin, škrobová zrna	+
747	Dominují zbytky povrchového pletiva travin (seno, sláma). Ojediněle zrna škrobu, písku, zbytky pletiv jehličnatých stromů.	+
826	Zbytky povrchového pletiva travin (sena, slámy), ojediněle rostlinný zbytek.	+
1048	Dominantní objekt (abioseston): - zbytky rostlinných pletiv (pravděpodobně povrchová pletiva/pokožka travin nebo obilovin - sláma), dále méně četný výskyt škrobových zrn, rostlinných trichomů a prázdných hyf mikromycet.	+
1109	Dominuje detritus (organické zbytky) - zbytky rostlinných pletiv - krycích (pokožkové buňky listu s průduchy, trichomy), vodivých (cévy, cévice, sítkovice) a základních (včetně volných škrobových zrn ze zásobních pletiv). Četné bakterie.	+
1110	zbytky rostlinných pletiv a schránek živočichů	+

Vzorek 3B

Příprava

- žiletkou seškrábnutý nárost ze stěny akvária



vzorek 3B – zelené vláknité řasy rodu *Oedogonium*

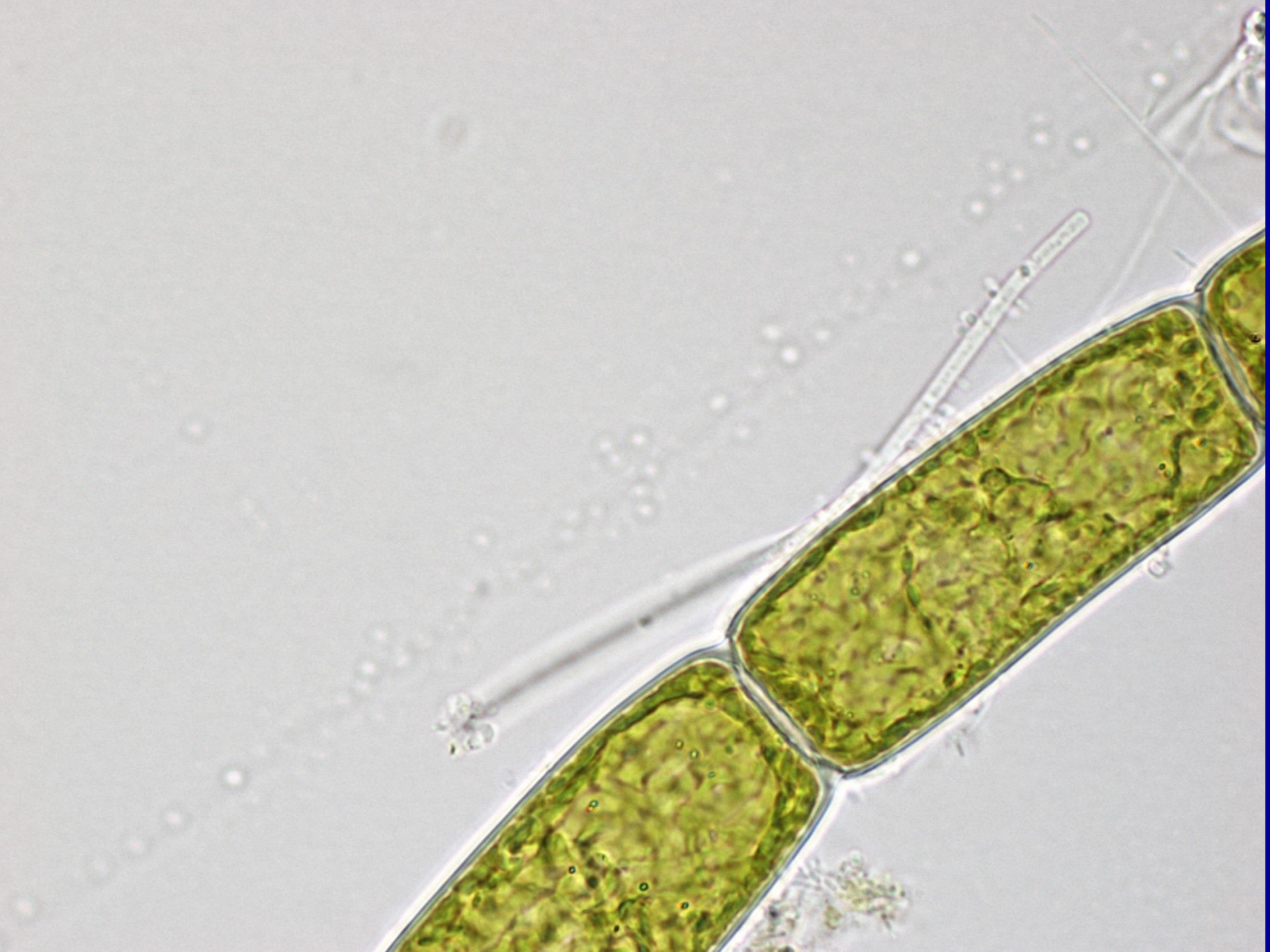




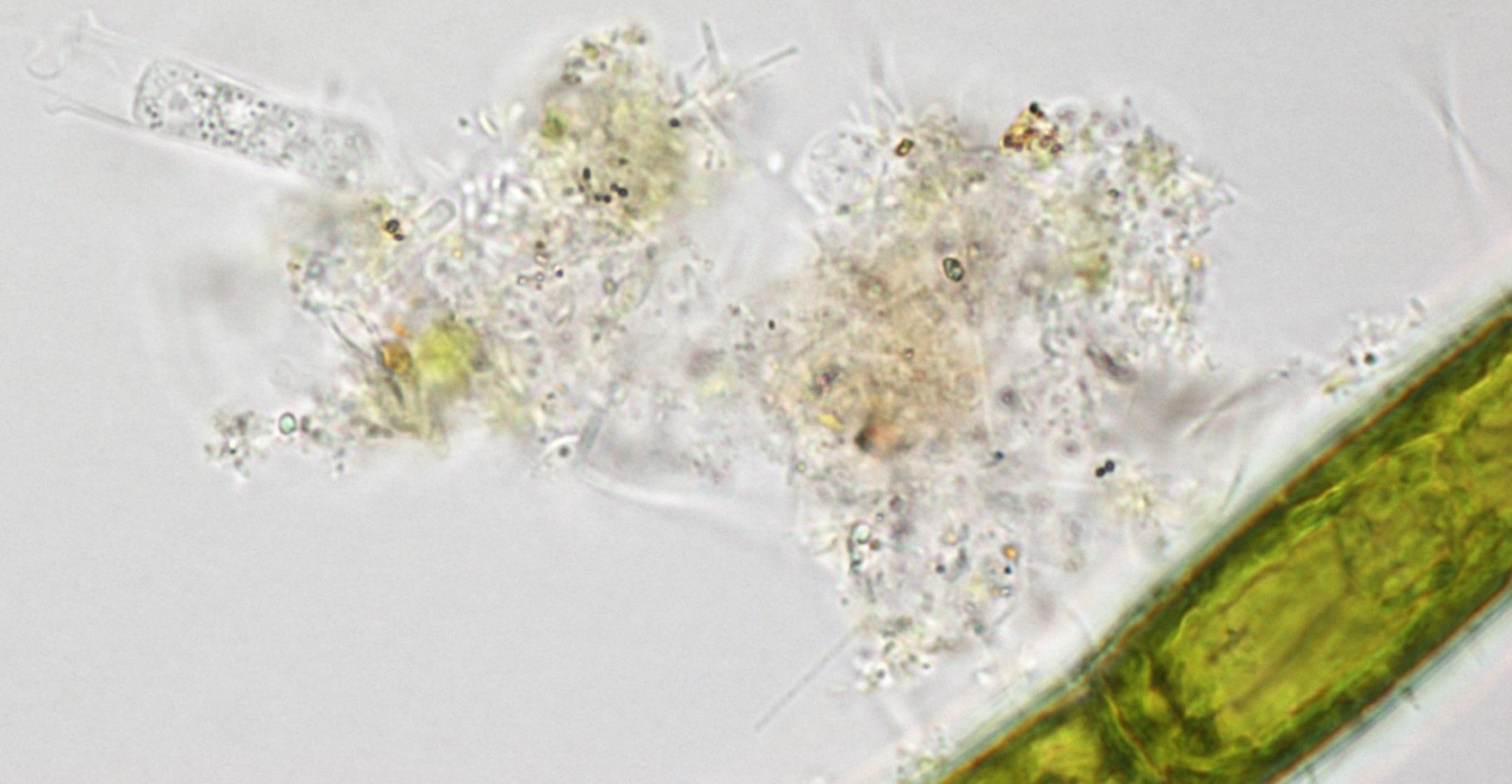












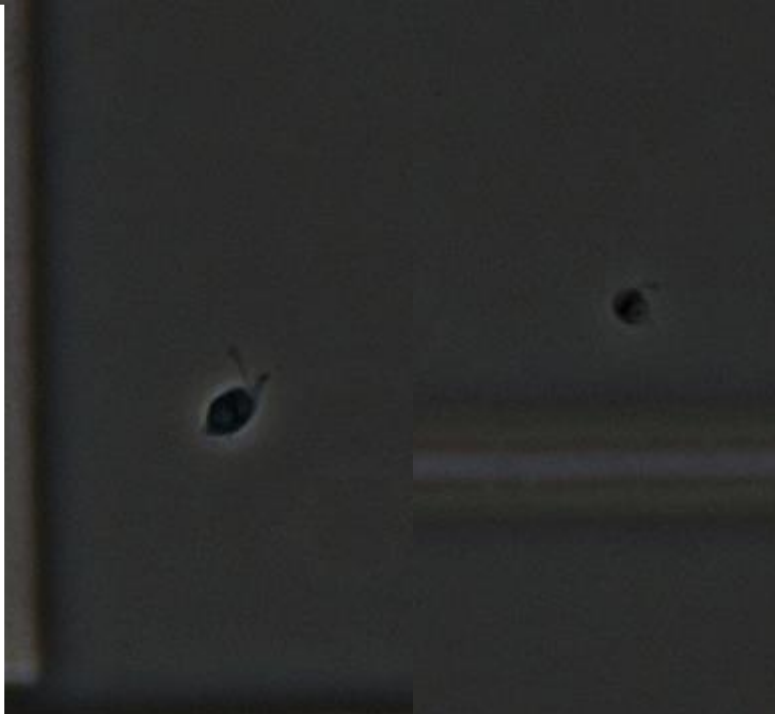
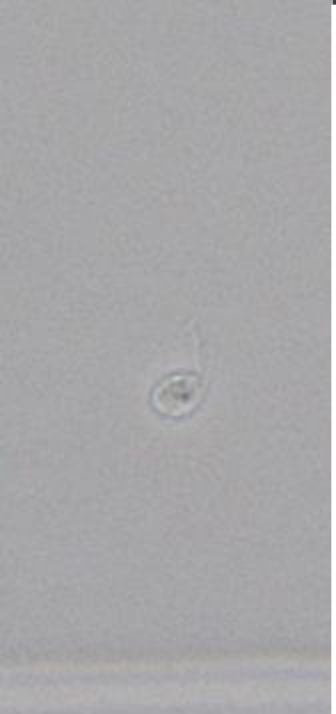
Kód	Nález	Úspěšnost
36	dominují zelené vláknité řasy (Oedogonium), dále přítomno bohatší společenstvo různých heterotrofních (bakterie, prvoci) i fototrofních (rozsivky) organismů	+
161	dominantně Oedogonium sp. (vyklíčené zoospory)	+
172	Oedogonium sp.	+
183	Zelené vláknité řasy (cf. Oedogonium spp.).	+
280	Převažují zelené řasy řádu Ulotrichales (Oedogonium sp.), ojediněle přisedlí nálevníci.	+
455	Oedogonium sp.	+
586	zelená vláknitá řasa (Ulotrichales) rodu Oedogonium. Epifyticky se na ní vyskytují vláknité a nevláknité bakterie a bezbarvý bičíkovec (Flagellata apochromatica) rodu Salpingaeca. Zjištěn i vírník (Rotifera) rodu Lecane.	+
591	Zelená vláknitá řasa (Ulotrichales - zřejmě Oedogonium sp.)	+
662	vláknitá zelená řasa třídy Chlorophyceae (zřejmě Oedogonium sp.)	+
747	Dominantní taxon: Chlorophyta - Ulotrichales - Oedogonium sp., dále ojediněle Chlorococcales, Oscillatoriales, Flagellata apochromatica, Amoebina.	+
826	Dominantní zelená vláknité řasy (Ulotrichales) - pravděpodobně Oedogonium sp., dále v menší míře nálevník, vírník, bezbarví bičíkovci, měňavka, slunivka.	+
1048	Ve vzorku byl zjištěn dominantní výskyt nevětvených vláken zelených řas (Chlorophyta - pravděpodobně Oedogonium sp.). Zaznamenány byly pouze vegetativní buňky (mladá vlákna), vyskytují se i klíčící vlákna s rhizoidy. - Další výskyt (ojediněle): Rotatoria g.sp.; Ciliata g.sp., Cyclidium sp., Vorticella sp.; heterotrofní bičíkovci, Bodo sp.; Schizomycetes g.sp. - vláknité bakterie	+
1109	Dominuje ulotrichální vláknitá zelená řasa, zřejmě rodu Oedogonium. Na těchto vláknitých řásach zaznamenán výskyt přisedlých bičíkovců, přichycených vláknitých bakterií, prostých bakterií a přisedlých nálevníků. Z dalších producentů zaznamenány penátní rozsivky a vláknité sinice (zřejmě rod Phormidium). Z konzumentů se dále vyskytují měňavky.	+
1110	vláknitá zelená řasa (Oedogoniales, Oedogonium sp. ?)	+

Vzorek 4

(Heterotrofní organismy)

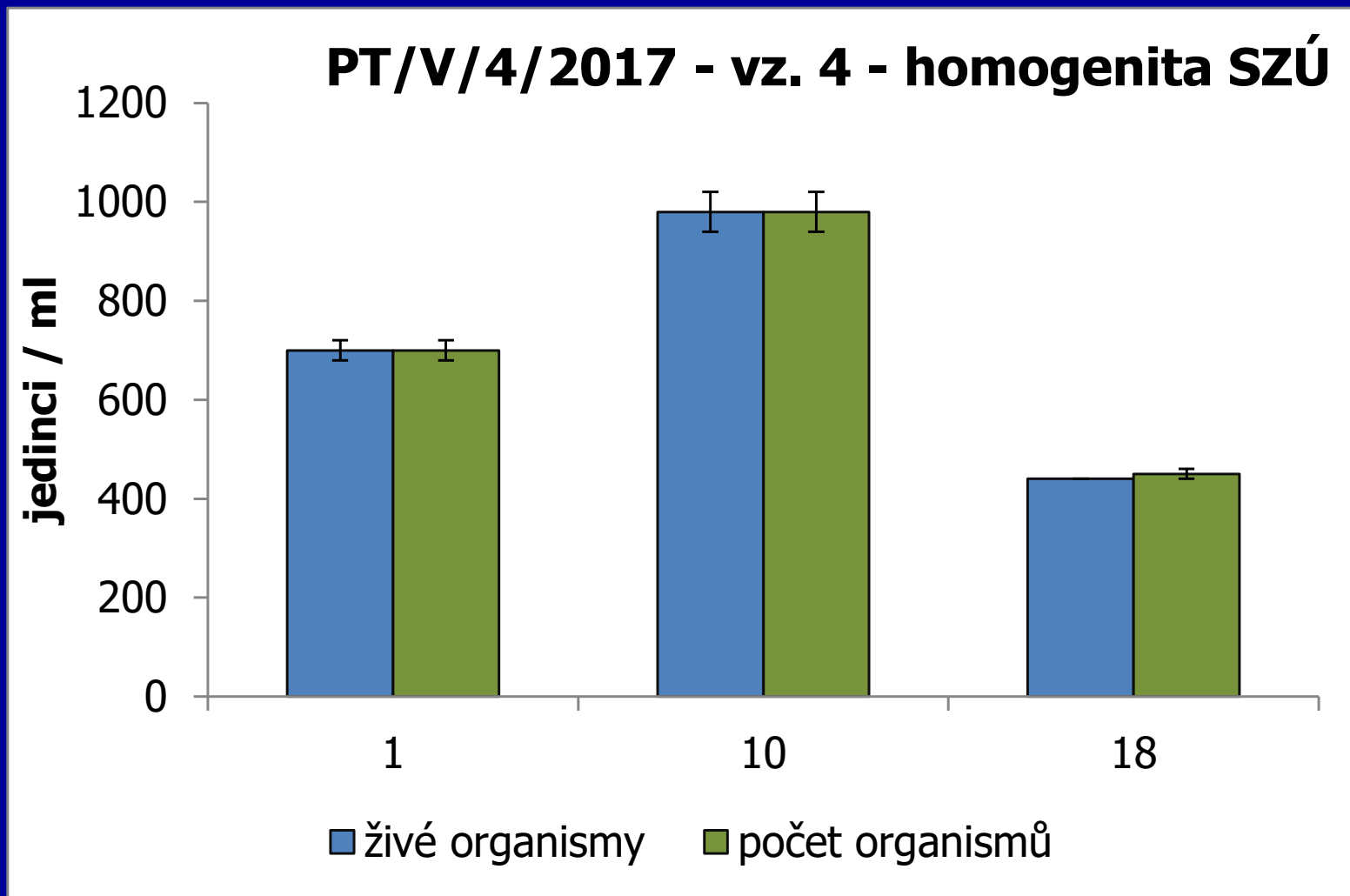
Příprava

- slabý senný nálev
- víkend pře vydáváním v lednici
- filtrace přes gázu
- odstátá vodovodní voda

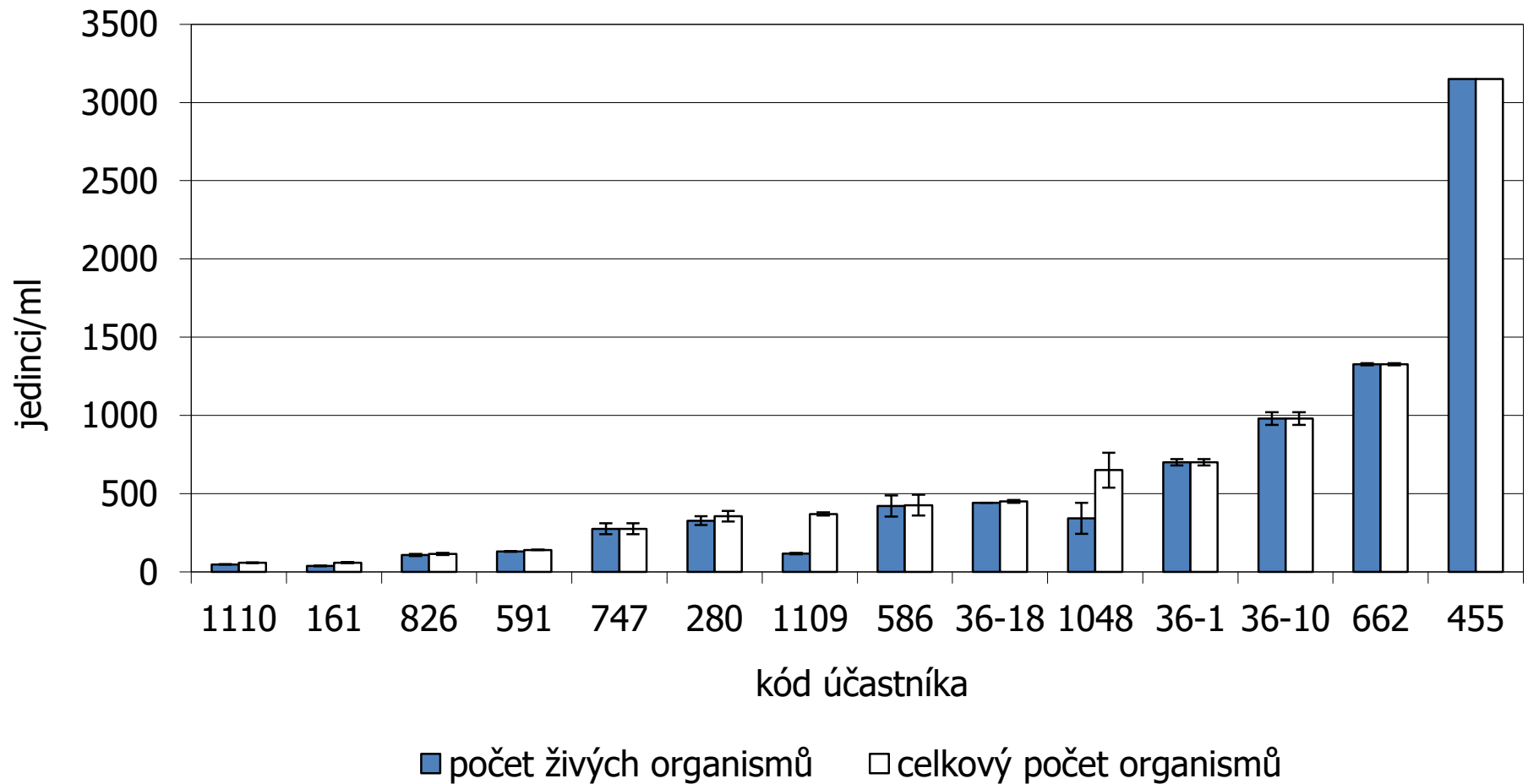


Kód	Nález	Úspěšnost
36	Dominovali bezbarví bičíkovci, méně se vyskytovali nálevníci, vlákna mikromycet, řasy	+
161	bezbarví bičíkovci, zbytky schránek rozsivek	+
280	Převažují Flagellata apochromatica.	+
455	Flagellata apochromatica - převážně Bodo sp.	+
586	Dominují bezbarví bičíkovci (Flagellata apochromatica). V nízkých počtech byl zjištěn i výskyt nálevníků (Ciliophora) a živých a mrtvých autotrofních organismů.	+
591	Dominují bezbarví bičíkovci, ojediněle centrické rozsivky, ojediněle zelené řasy.	+
662	bezbarví bičíkovci	+
747	Dominantní taxon: Flagellata apochromatica. Ojediněle Chlorophyta (Chlorococcales a Volvocales) a Bacillariophyceae.	+
826	Dominantní bezbarví bičíkovci, méně zelená bičíkatá řasa, penátní rozsivky, nálevníci, háďátka. Abioseston: zbytky rostlinného pletiva(seno), schránky rozsivek, velmi ojediněle sraženina Fe.Mn, Fe bakterie.	+
1048	Jako dominantní skupina byli zjištěni drobní heterotrofní bičíkovci - Flagellata apochromatica g.sp. (Monas cf. vulgaris, Monas cf. cylindrica, Bodo sp.) Ve vzorku byly dále zjištěny (ojediněle) chlamydomonády, Ciliata g.sp., Chrysophyceae g.sp., Nitzschia sp.	+
1109	Dominují bezbarví bičíkovci (Flagellata apochromatica). Dále byl zaznamenán výskyt živých i mrtvých producentů (zelené a zlaté řasy, sinice), měňavek, nálevníků a spor mikromycet. pozn.: počet je spíše orientační - v živém vzorku bylo obtížné kvantifikovat rychle se pohybující drobné bičíkovce, kteří rychle odumírali. Počet živých organismů byl stanoven v živém vzorku. Vzorek byl také zpracováván paralelně po fixaci Lugolovým roztokem, přičemž celkový počet organismů se v tomto případě pohyboval v rozmezí cca 3000-5500 jed./ml).	+
1110	bezbarví bičíkovci, centrické rozsivky, drobné chlorokokální řasy, spory plísní, ojediněle háďátka	+

Vzorek 4 – homogenita (SZÚ)



vzorek 4 (2017 - účastníci)



Jak na ně? Budeme diskutovat společně se surovou vodou

Kvalitativní rozbor pitná voda - souhrnně

Kód	Pitná voda					Celkem
	Vzorek					
	1	2	3A	3B	4*	
161	+	+	+	+	+	+
172	+	+	+	+	X	+
183	+	+	+	+	X	+
280	+	+	+	+	+	+
455	+	+	+	+	+	+
586	+	+	+	+	+	+
591	+	+	+	+	+	+
662	+	+	+	+	+	+
747	+	+	+	+	+	+
826	+	+	+	+	+	+
1048	+	+	+	+	+	+
1109	+	+	+	+	+	+
1110	+	+	+	+	+	+

Vzorek 5

Surová voda

Vzorek 5 - příprava

- 2. 4. 2017 rybník Papež v Dobříši
- k odstranění většího zooplanktonu v laboratoři filtrován přes síto o velikosti 300 μm .
- 1,4 litru naředěno odstátou vodovodní vodou (0,7 litru)

Komentáře

586: V surové vodě se nachází zlatisté řasy, které téměř okamžitě podléhají lýze buněk, není tedy možné je blíže určit, krom toho bez použití UV lampy nejsou spočitatelné, to vše má za následek vysokou variabilitu v počtech. U řasy rodu *Chrysococcus*, která je dominantou, dochází k inkrustaci loriky což může způsobovat problémy při odečtech - navýšení počtů, proto považuji za nutné použít UV lampu a předejít tak započítávání prázdných lorik, které by měly být zahrnuty do abiosestonu.

1048: Použití Lugol.roztoku pro kontrolu počtů drobných/rozpadavých buněk (zejm. zlativek a skrytěnek) i heterotrofních bičíkovců, konečné počty stanoveny z nativního vzorku. Počty jedinců v konzervovaném vzorku byly nižší (2000 jedinců/ml).

1109: vzorek č. 5 - surová voda: velký rozptyl hodnot (3500 až 6000 jed./ml) podle toho, zda byl vzorek fixován nebo ne.

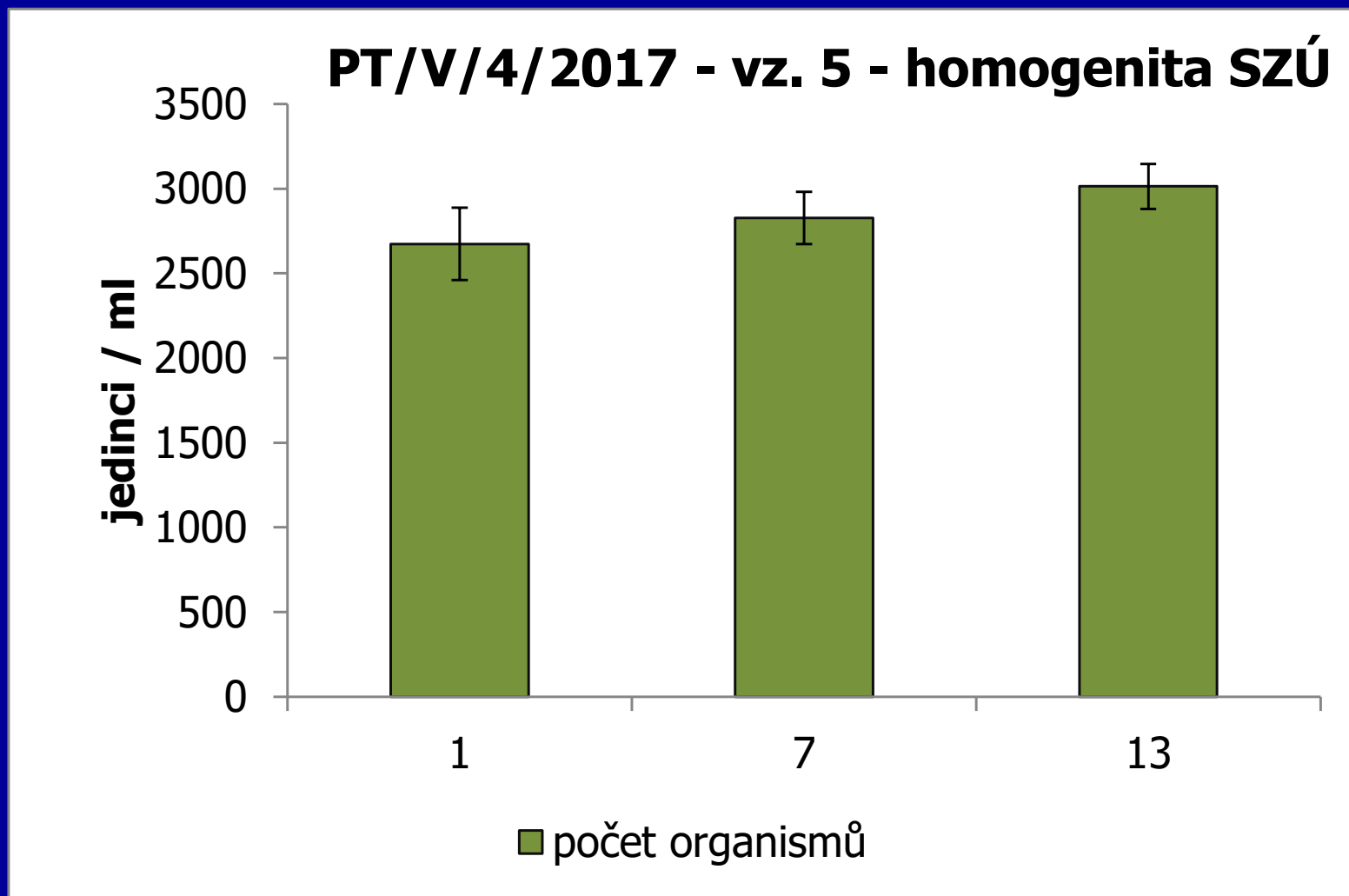
U nefixovaného vzorku problémy s "praskáním" méně odolných organismů - zlaté řasy, skrytěnky (*Plagioselmis* sp.). Zpracován pouze 1-krát z časových důvodů.

U fixovaných vzorků (zpracováno třemi různými pracovníky celkem 6 krát) komplikovaná determinace - vlivem Lugolova roztoku zřejmě docházelo k postupnému rozpouštění železitých schránek zlatých řas r. *Chrysococcus* (podle porovnání počtu v nefixovaném a fixovaném vzorku: nefixovaný 1840; fixovaný 10-820 jedinců), k obarvení bičíkatých řas (zřejmě zlatých, které následně vypadají obdobně jako zelené řasy).

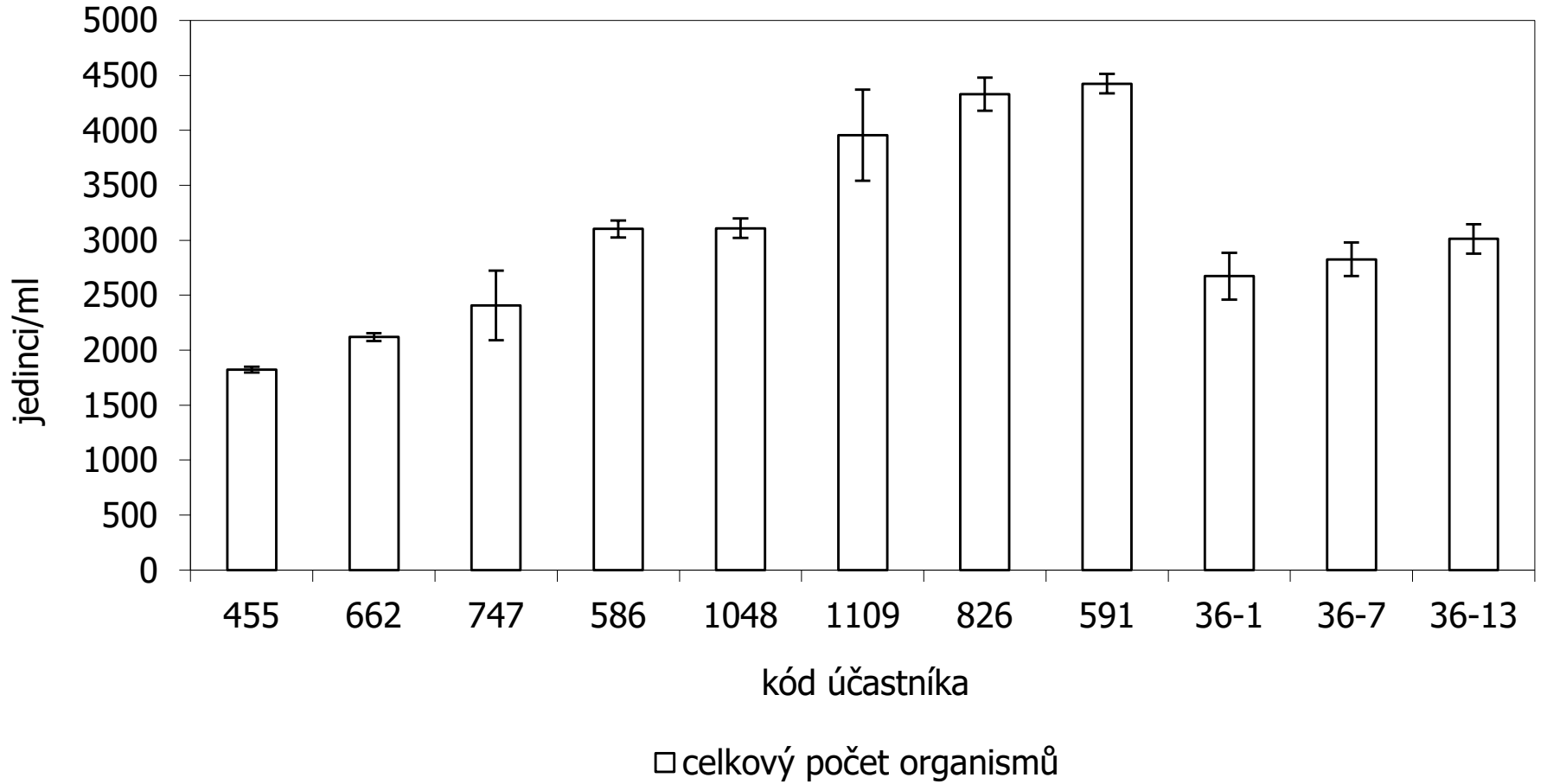
Ve fixovaném vzorku zaznamenáno i shlukování organismů, které ztěžuje kvantifikaci a zatěžuje ji chybou. Roli hraje i použité zvětšení 200 nebo 400- krát (přítomné bičíkaté řasy jsou velmi drobné).

Myslím, že by bylo vhodné sjednotit metodiku analýzy vzorku v rámci PT.

Vzorek 5 – homogenita (SZÚ)



vzorek 5 (2017 - účastníci)



Vzorek 5 – Surová voda - počet organismů

účastníci

V	lab	výsledek (jedinci/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	455	1822.5	-1.21				█					
X	662	2120.0	-0.94				█					
X	747	2407.0	-0.67				█					
X	586	3103.0	-0.02									
X	1048	3110.0	-0.01									
X	1109	3955.0	0.78					█				
X	826	4330.0	1.13					█				
X	591	4425.0	1.22					█				

počet laboratoří: 8
z toho vyhovuje: 8
z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 3123,4 jedinci/ml
vztažná odchylka: 1071 jedinci/ml
interval správných hodnot: 981,4 - 5265,4 jedinci/ml

terčové lab.

V	lab	výsledek (jedinci/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	455	1822.5	-1.21				█					
X	662	2120.0	-0.94				█					
X	747	2407.0	-0.67				█					
X	36	2838.0	-0.27					█				
X	586	3103.0	-0.02									
X	1048	3110.0	-0.01									
X	1109	3955.0	0.78					█				
X	826	4330.0	1.13					█				
X	591	4425.0	1.22					█				

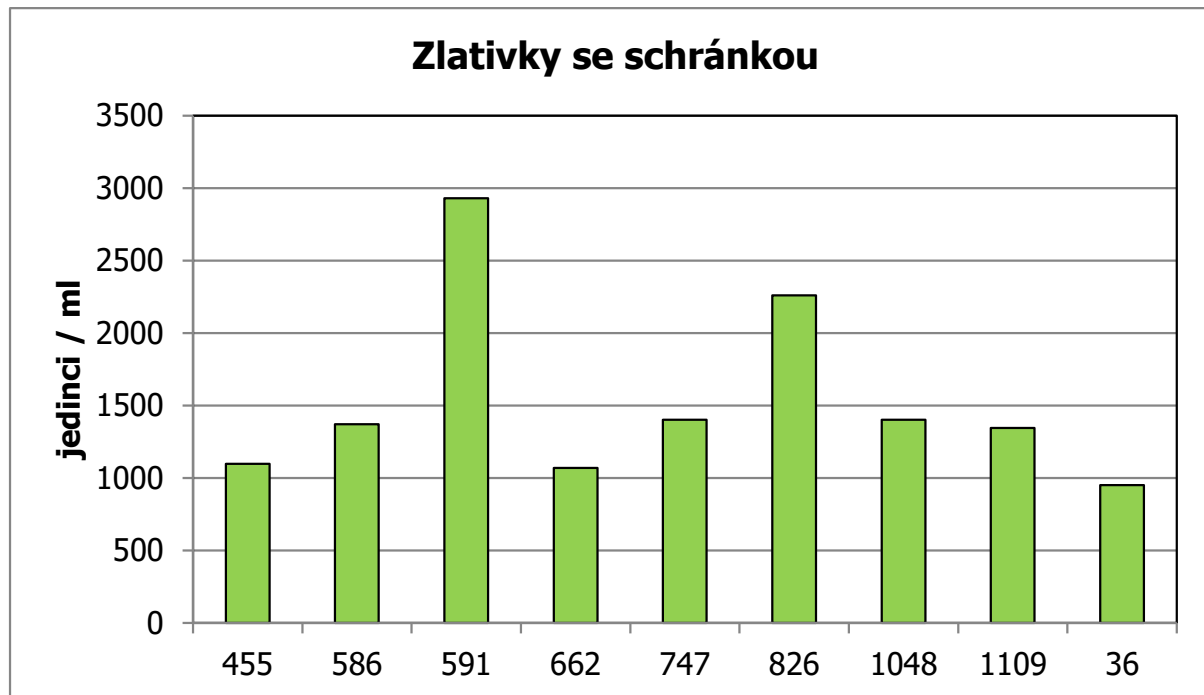
počet laboratoří: 9
z toho vyhovuje: 9
z toho nevyhovuje: 0

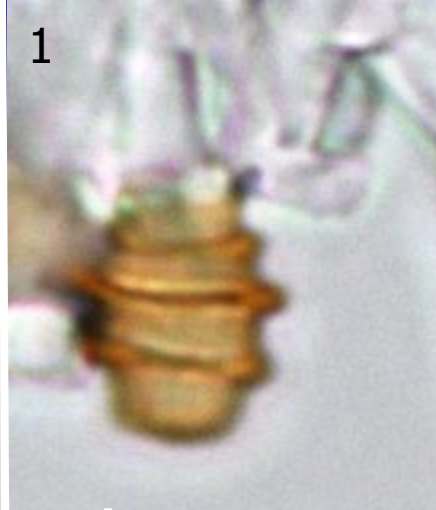
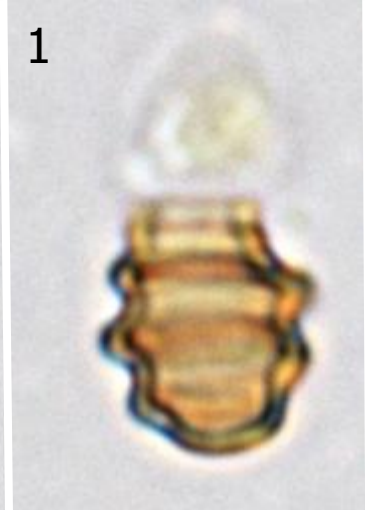
vztažná hodnota: 3123,4 jedinci/ml
vztažná odchylka: 1071 jedinci/ml
interval správných hodnot: 981,4 - 5265,4 jedinci/ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

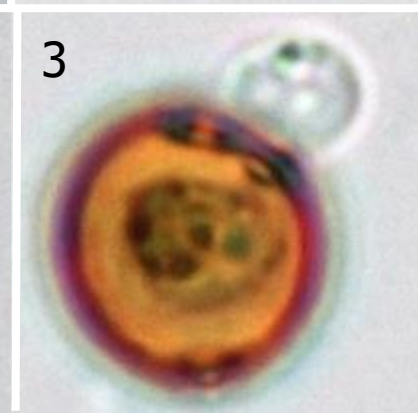
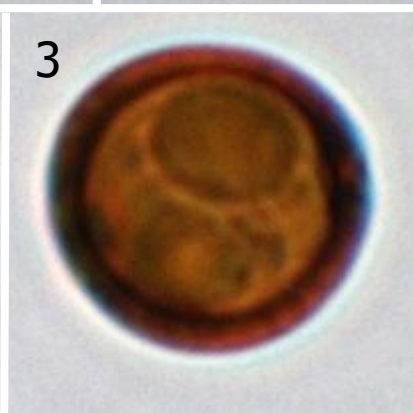
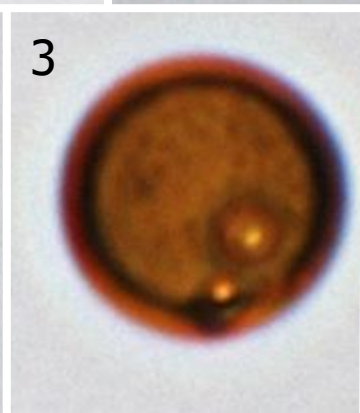
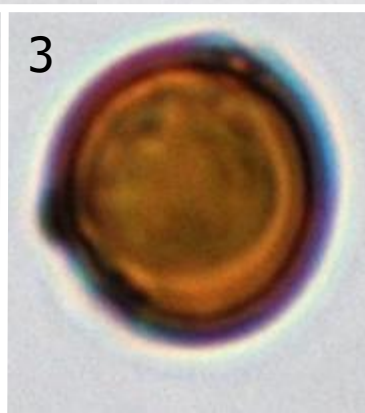
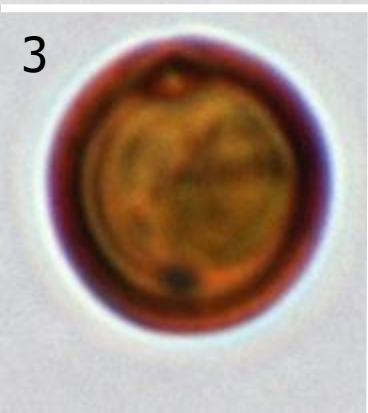
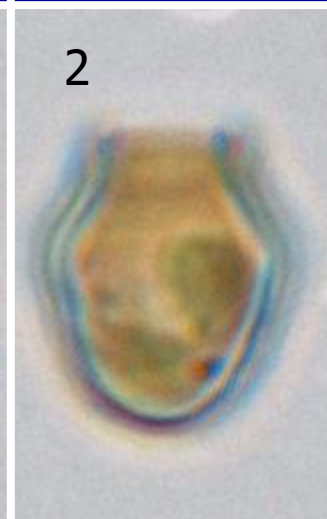
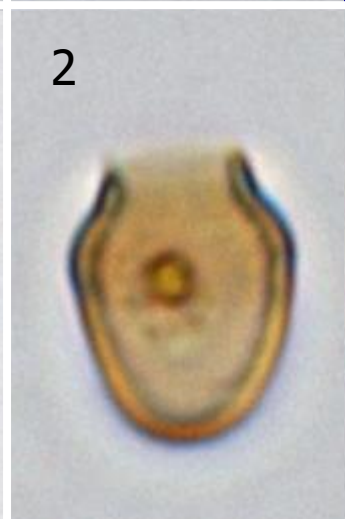
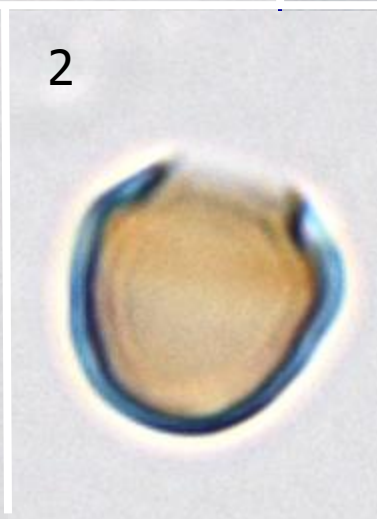
1. Zlativky se schránkou (*Chrysococcus*, *Kephyrion*, ...)

Taxon	Kód								
	455	586	591	662	747	826	1048	1109	36
1) Zlativky se schránkou - celkem	1097	1370	2930	1070	1400	2260	1400	1345	951
Chrysococcus sp.	126	1330	2590			2000		1330	822
Chrysococcus cf. rufescens							880		
Chrysococcus rufescens	823								
Chrysococcus sp. + Kephyrion sp.				1070	1400				
Kephyrion sp.		40	340			260		15	112
Kephyrion sp. / Pseudokephyrion sp.							280		
Kephyriopsis cf. conica							240		
Stenokalyx inconstans/Kephyriopsis conica	149								
Stenokalyx incostans									17
Zlativky se schránkou - splněno	+	+	+	+	+	+	+	+	+



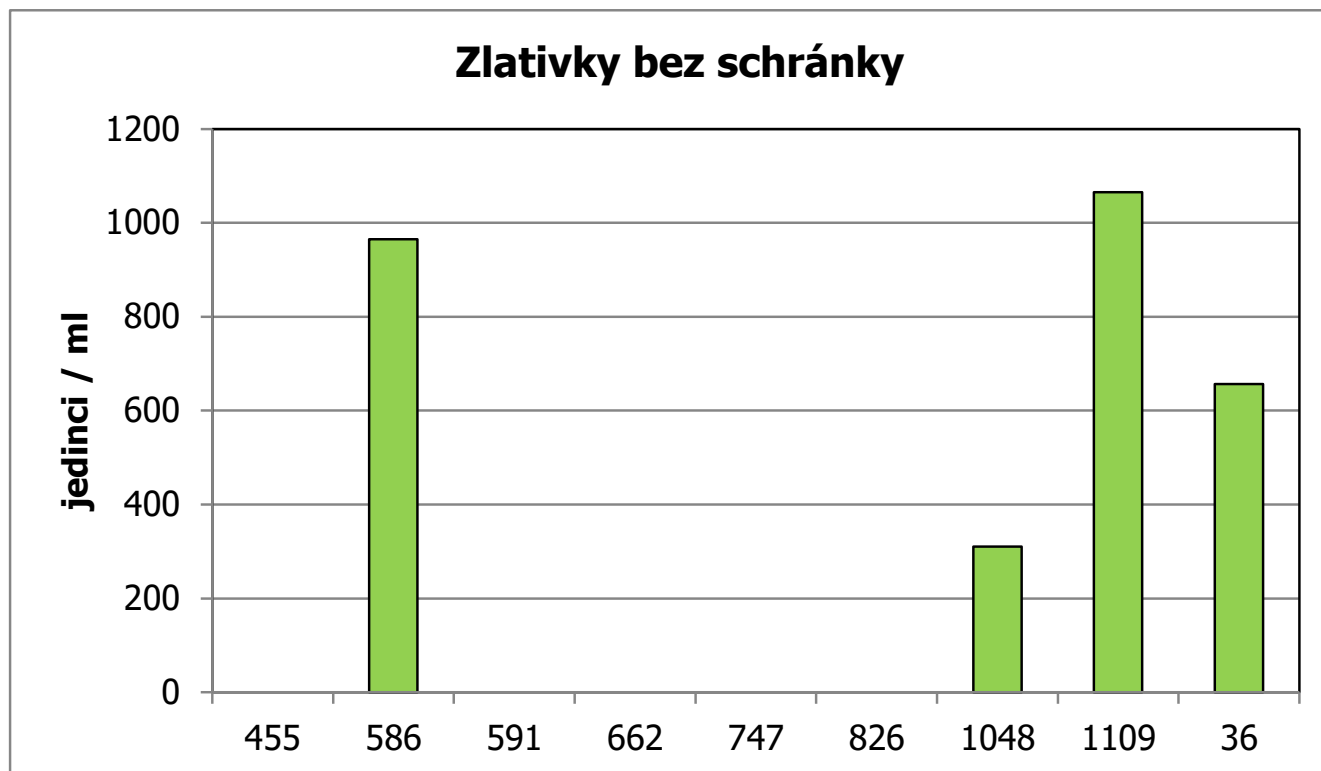


1 – *Stenokalyx*
2 – *Kephyrion*
3 – *Chrysococcus*



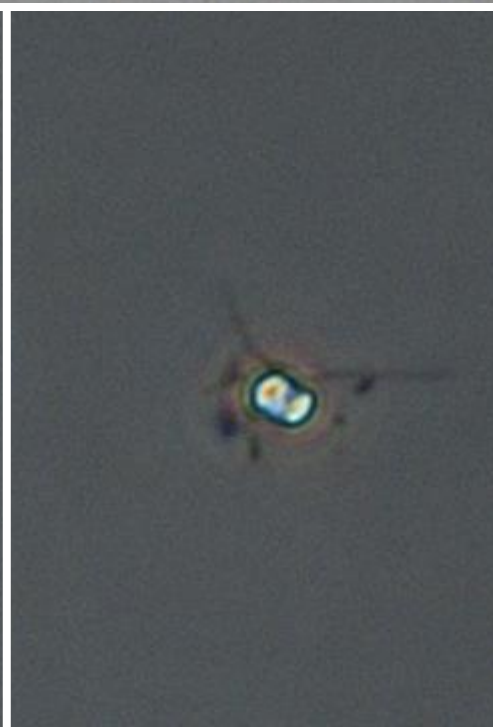
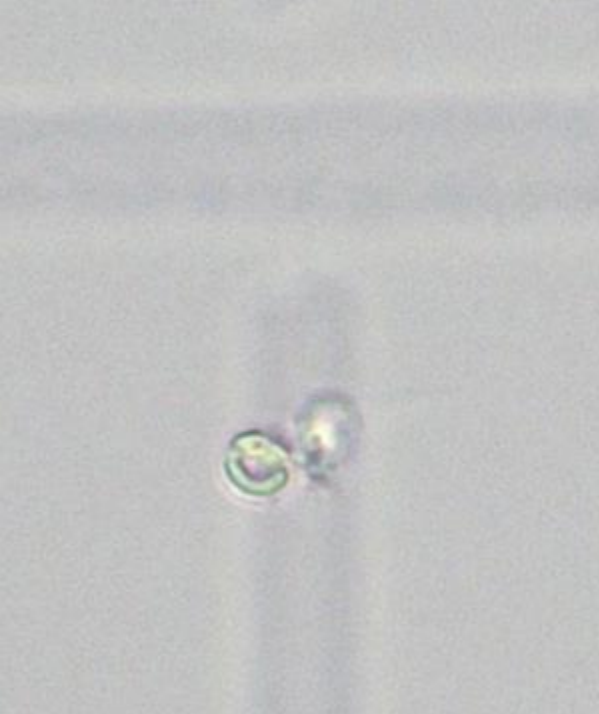
2. Zlativky bez schránky + *Chrysochromulina parva* (Prymnesiophyceae)

Taxon	Kód								
	455	586	591	662	747	826	1048	1109	36
2) zlativky bez schránky - celkem	0	965	0	0	0	0	310	1065	657
bičíkaté řasy								1065	
Chrysophyceae		965							
Chrysophyceae g.sp. (včetně Chromulina sp.)							310		
Chrysophyceae (bčíkaté, rozpadavé)									657
zlativky bez schránky		+					+	+	+



blíže neurčené zlativky

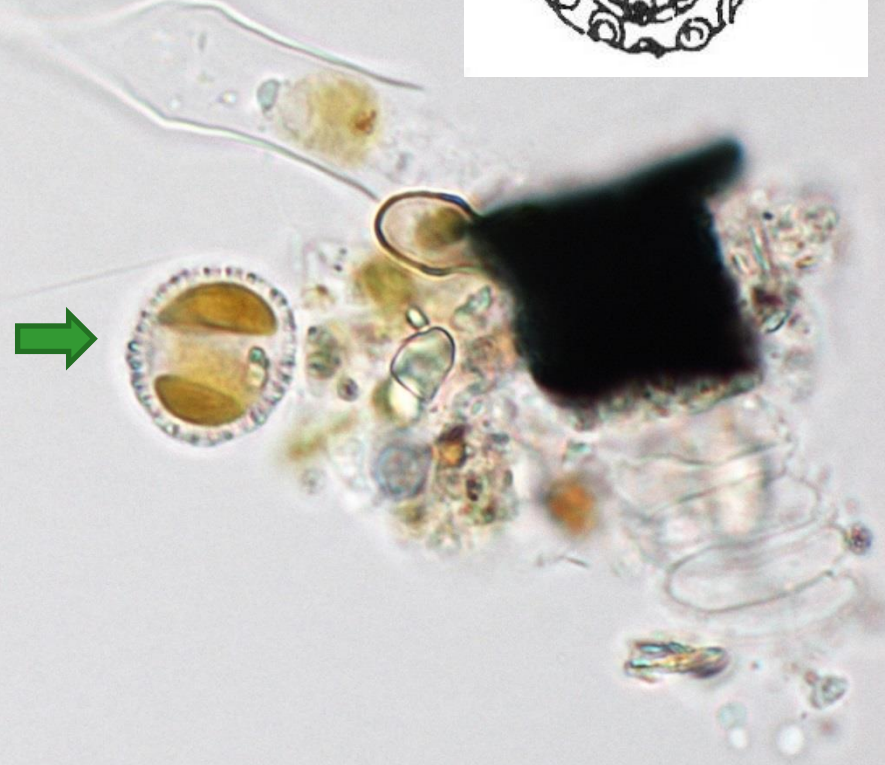
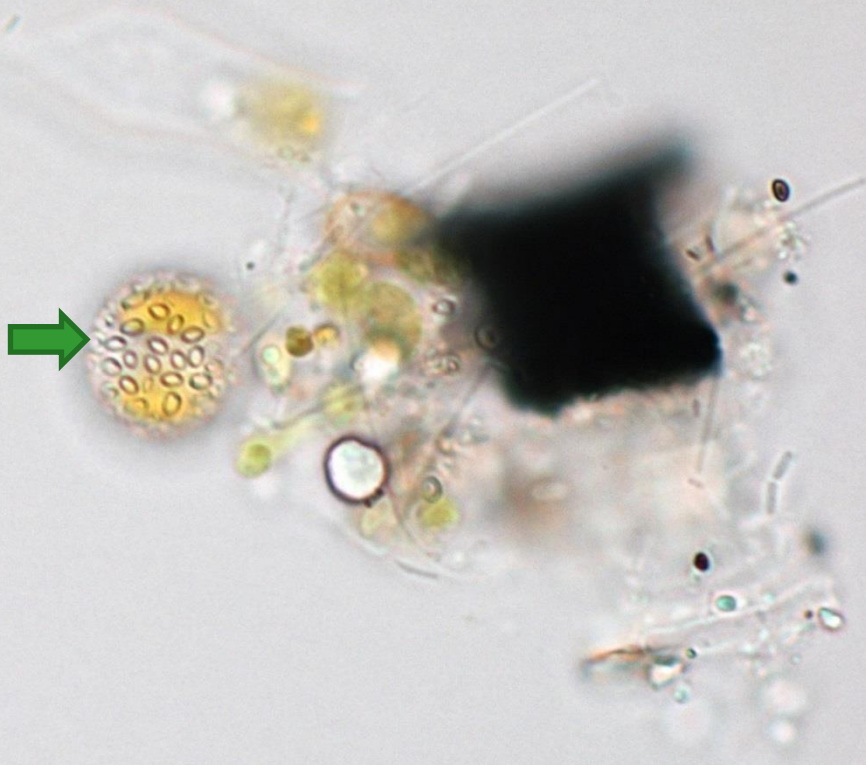
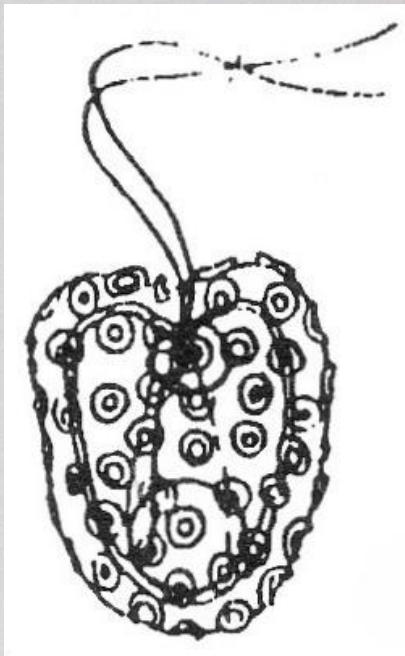




Chrysochromulina parva
(Prymnesiophyceae)
Lugol

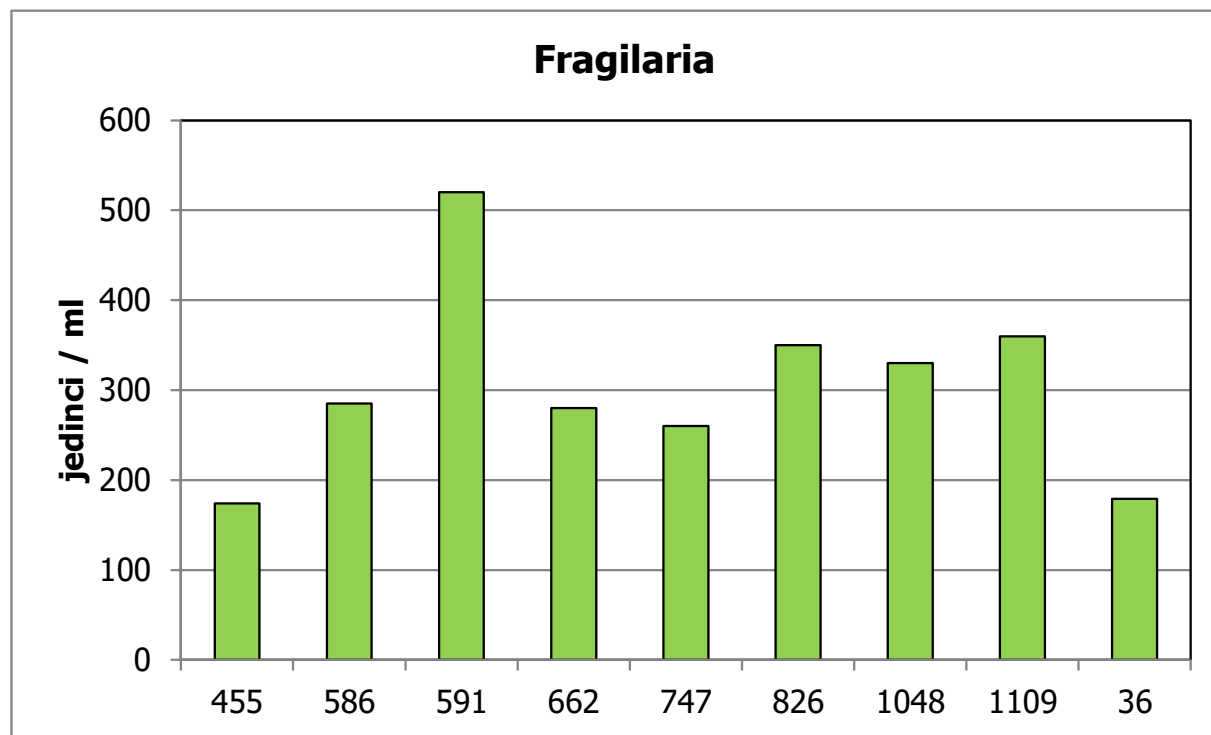
Zajímavý taxon ze vzorku 5 z loňska

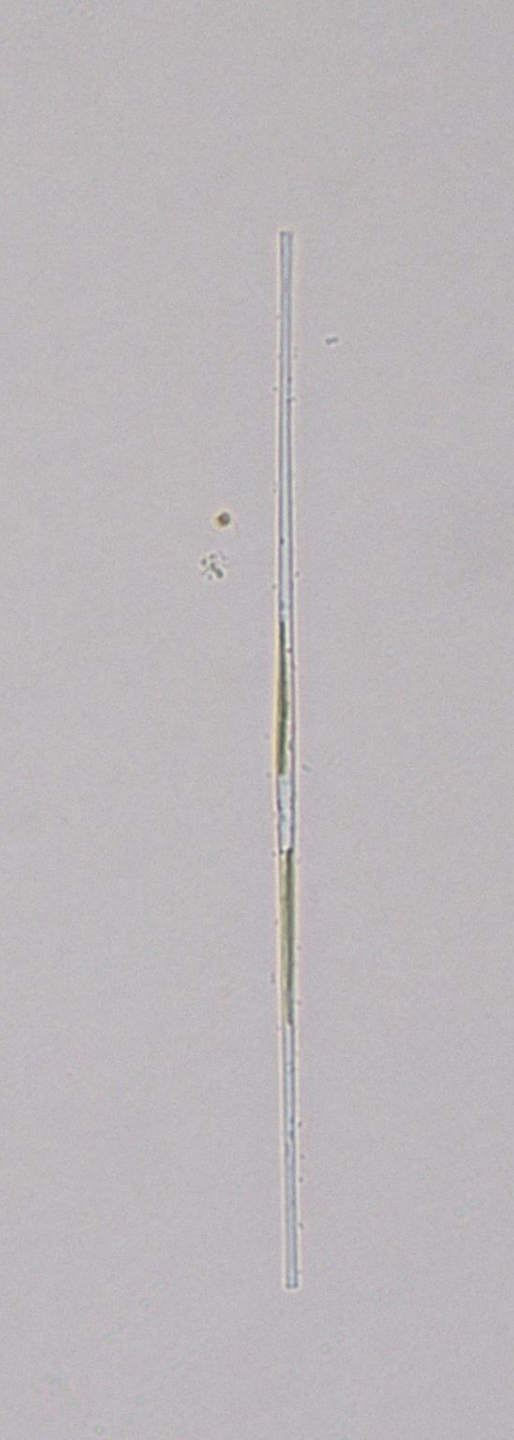
Hymenomonas ze skupiny Prymnesiophyceae
(Coccolithophorales) – šupiny z uhlíčanu vápenatého



3. *Fragilaria*

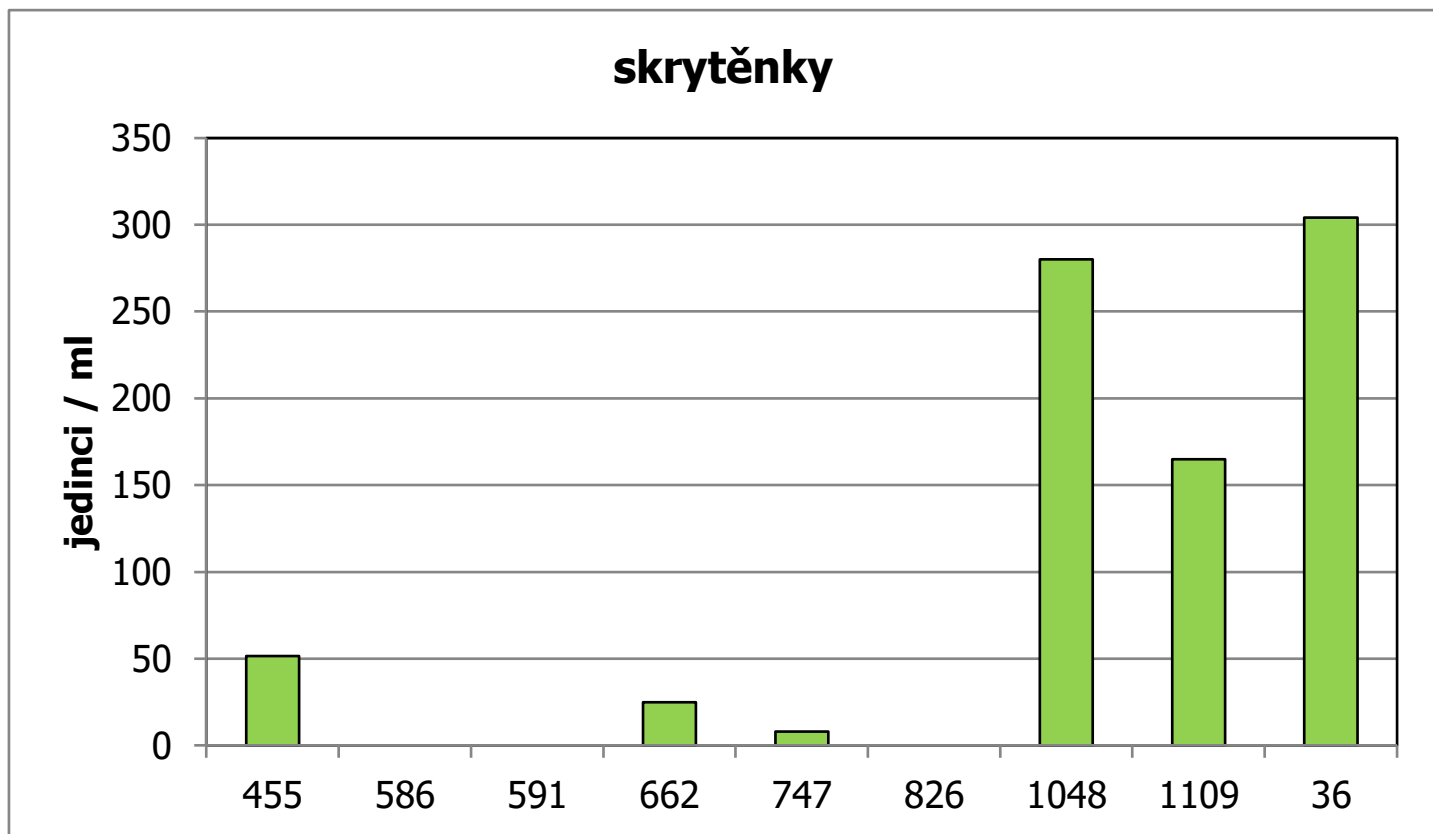
Taxon	Kód								
	455	586	591	662	747	826	1048	1109	36
3) <i>Fragilaria</i> - celkem	174	285	520	280	260	350	330	360	179
<i>Fragilaria</i> sp.		30	520		260	350		360	179
<i>Fragilaria tenera</i> + <i>Synedra</i> sp.							330		
<i>Fragilaria acus</i>		255							
<i>Synedra</i> (acus, ulna)	174								
<i>Fragilaria</i> - splněno	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+
<i>záměny a nedostatečně určeno</i>									
penátní rozsivky (<i>Nitzschia</i> sp., <i>Synedra</i> sp., <i>Navicula</i> sp.)				280					





4. skrytěnky

Taxon	Kód								
	455	586	591	662	747	826	1048	1109	36
4) skrytěnky - celkem	52	0	0	25	8	0	280	165	304
Cryptohyceae					8				
Cryptomonas sp. div. + Rhodomonas cf. lacustris							280		
Cryptomonas sp.				25					48
Plagioselmis sp.								165	
Rhodomonas lacustris	52								256
skrytěnky - splněno	+	-	-	+	+	-	+	+	+

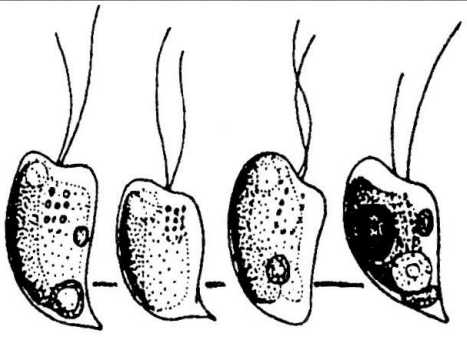
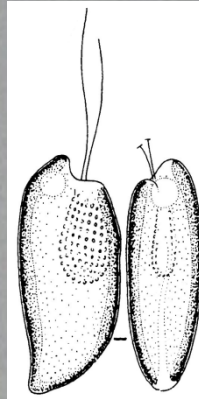


Rhodomonas lacustris
syn. *Plagioselmis nanoplantica*
(1, 2, 3)



1

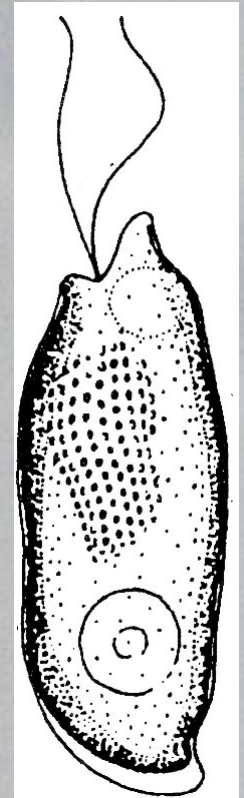
2



3



Cryptomonas curvata

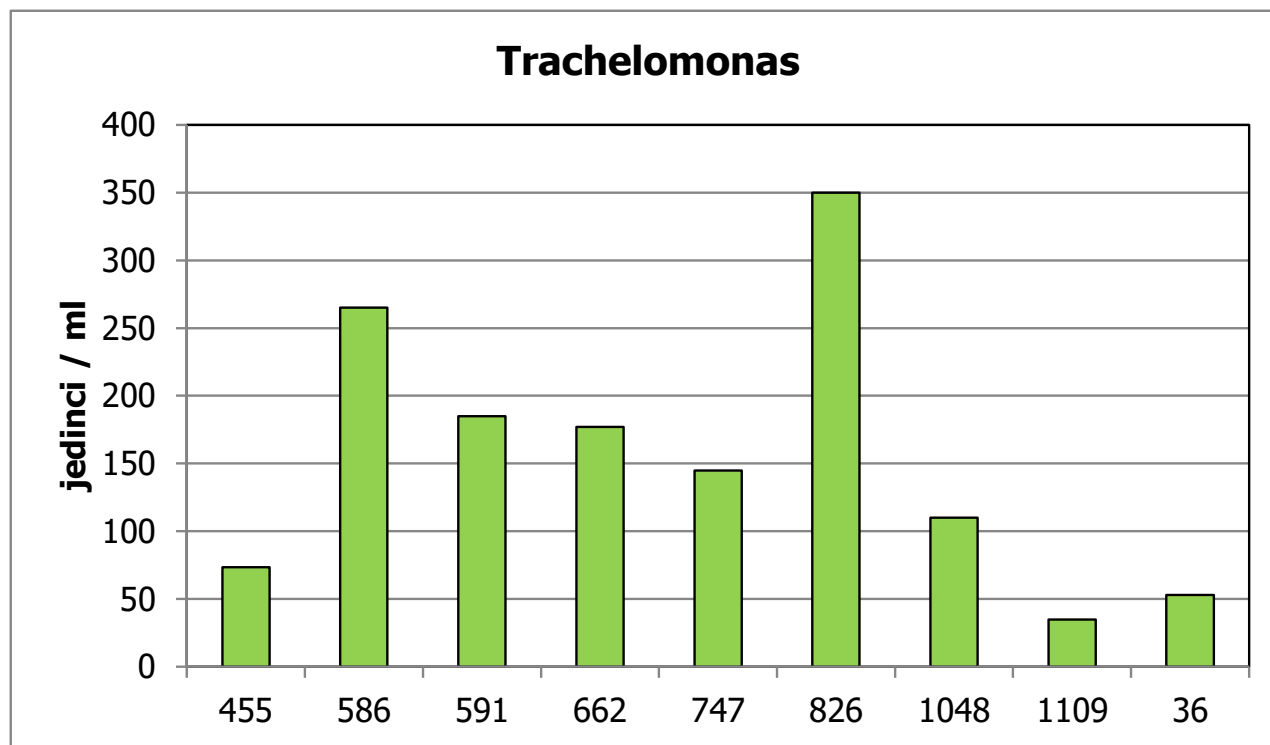


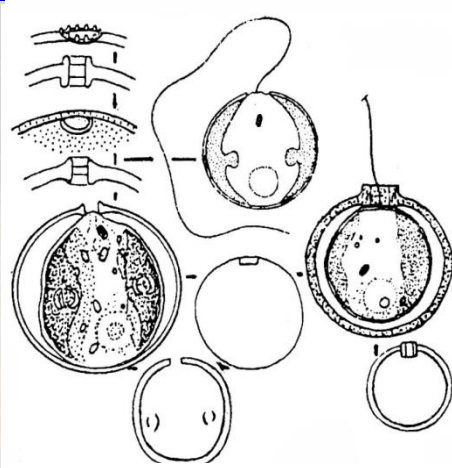
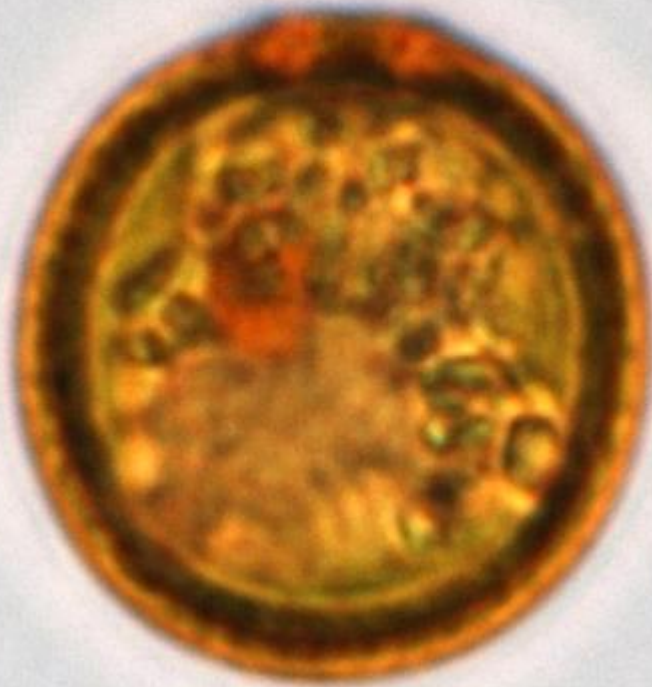
Cryptomonas reflexa

konzervováno Lugolem (kromě obr. vlevo nahoře),
fotografováno při různých zvětšeních

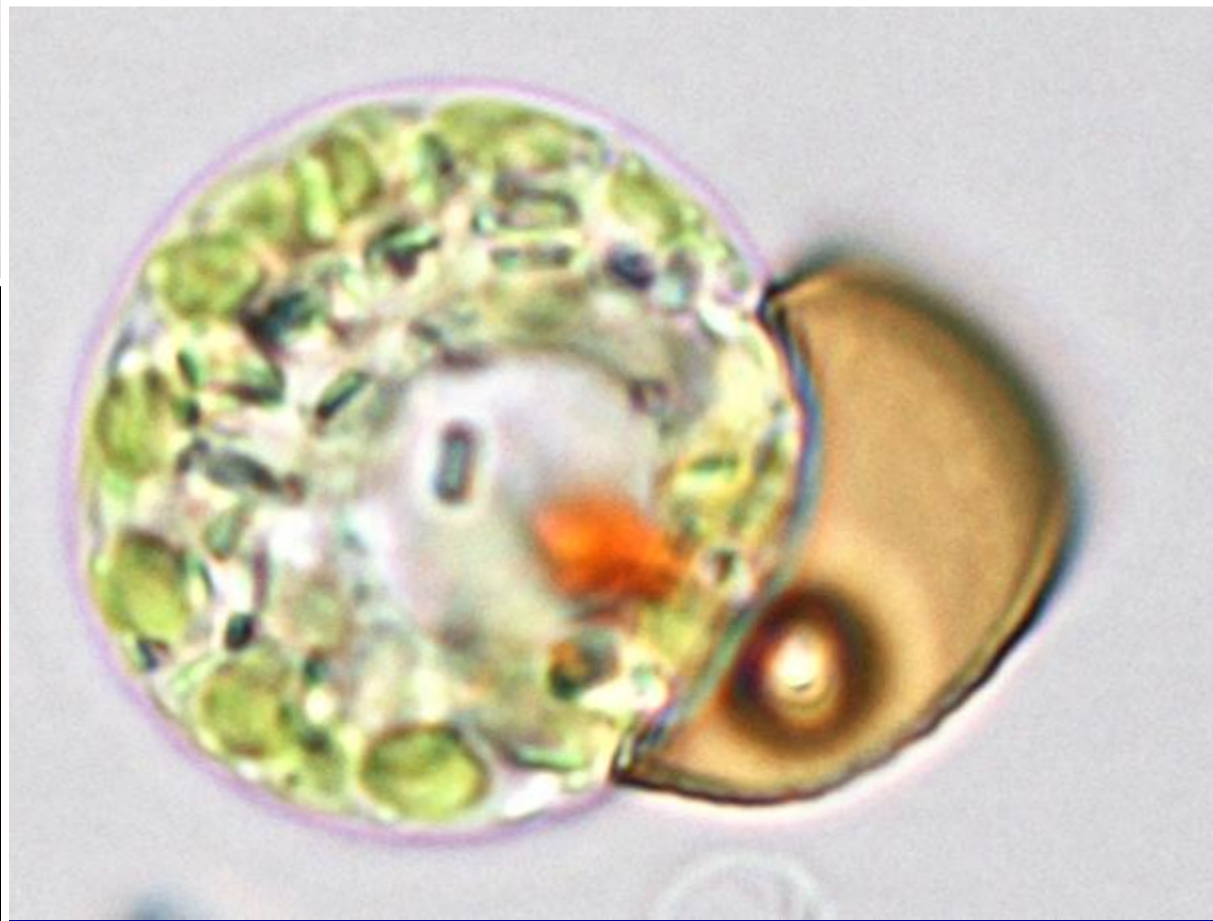
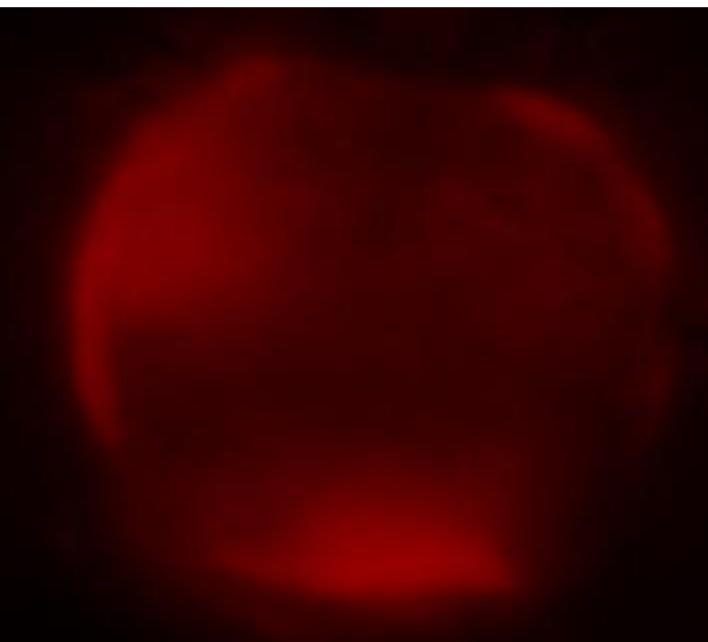
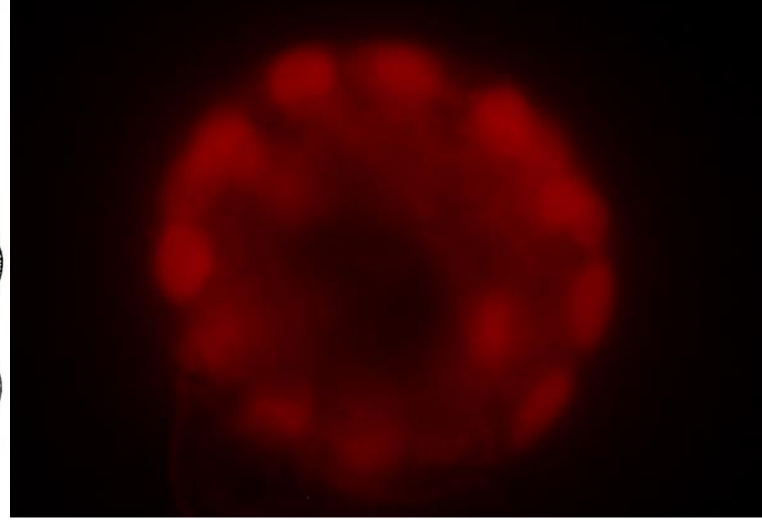
5. *Trachelomonas* spp.

Taxon	Kód								
	455	586	591	662	747	826	1048	1109	36
5) <i>Trachelomonas</i> spp.	74	265	185	177	145	350	110	35	53
<i>Trachelomonas</i> sp.		265	185	177		350		35	
<i>Trachelomonas</i> (<i>volvocina</i> , <i>hispida</i>)	74								
<i>Trachelomonas</i> cf. <i>volvocina</i> + <i>T. hispida</i> + <i>T. cf. oblonga</i>							110		
<i>Trachelomonas</i> sp.					145				
<i>Trachelomonas</i> cf. <i>hispida</i>									29
<i>Trachelomonas volvocina</i>									24
<i>Trachelomonas</i> spp. - splněno	+	+	+	+	+	+	+	+	+

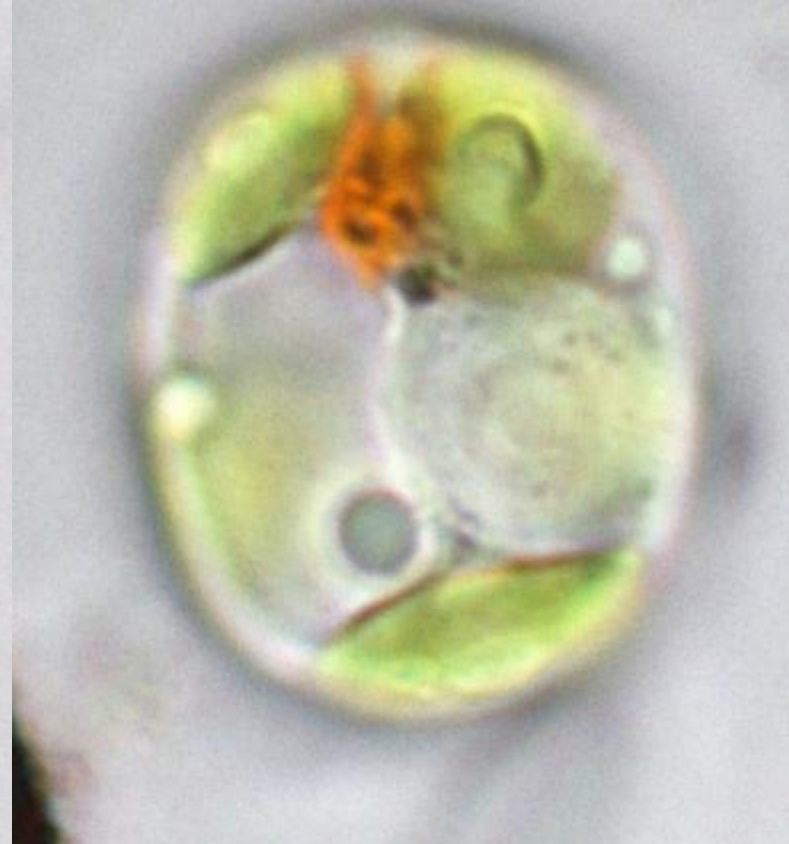
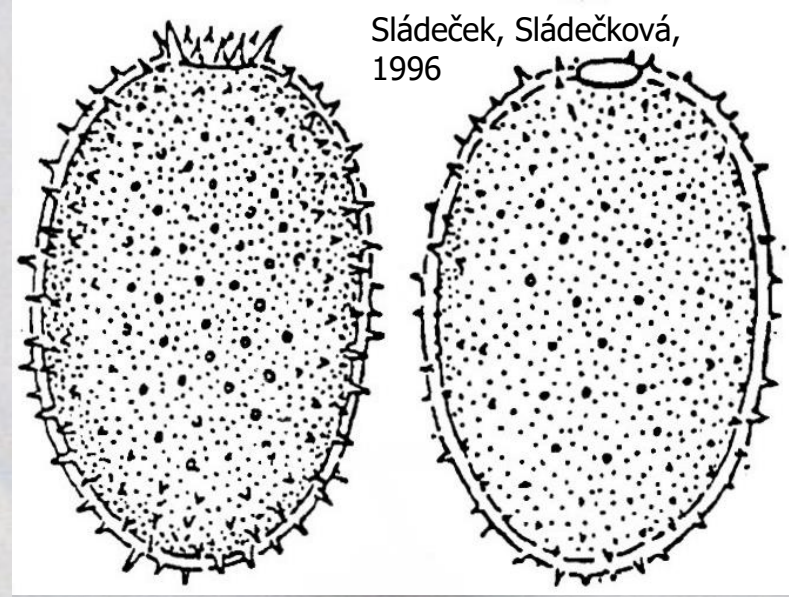
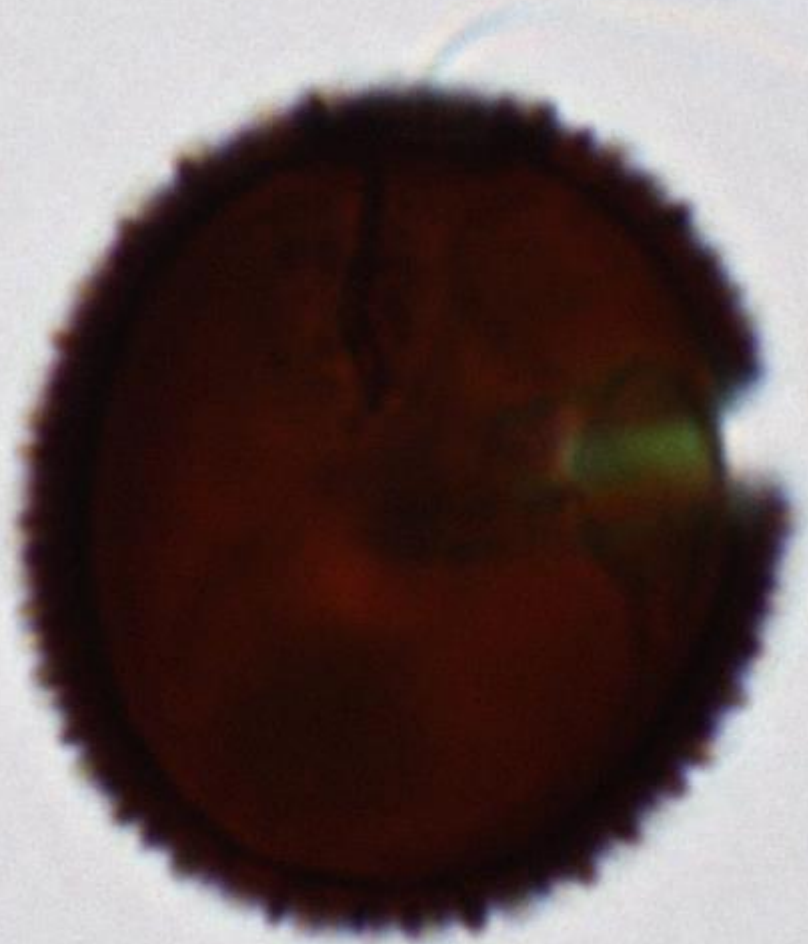




Sládeček, Sládečková, 1996

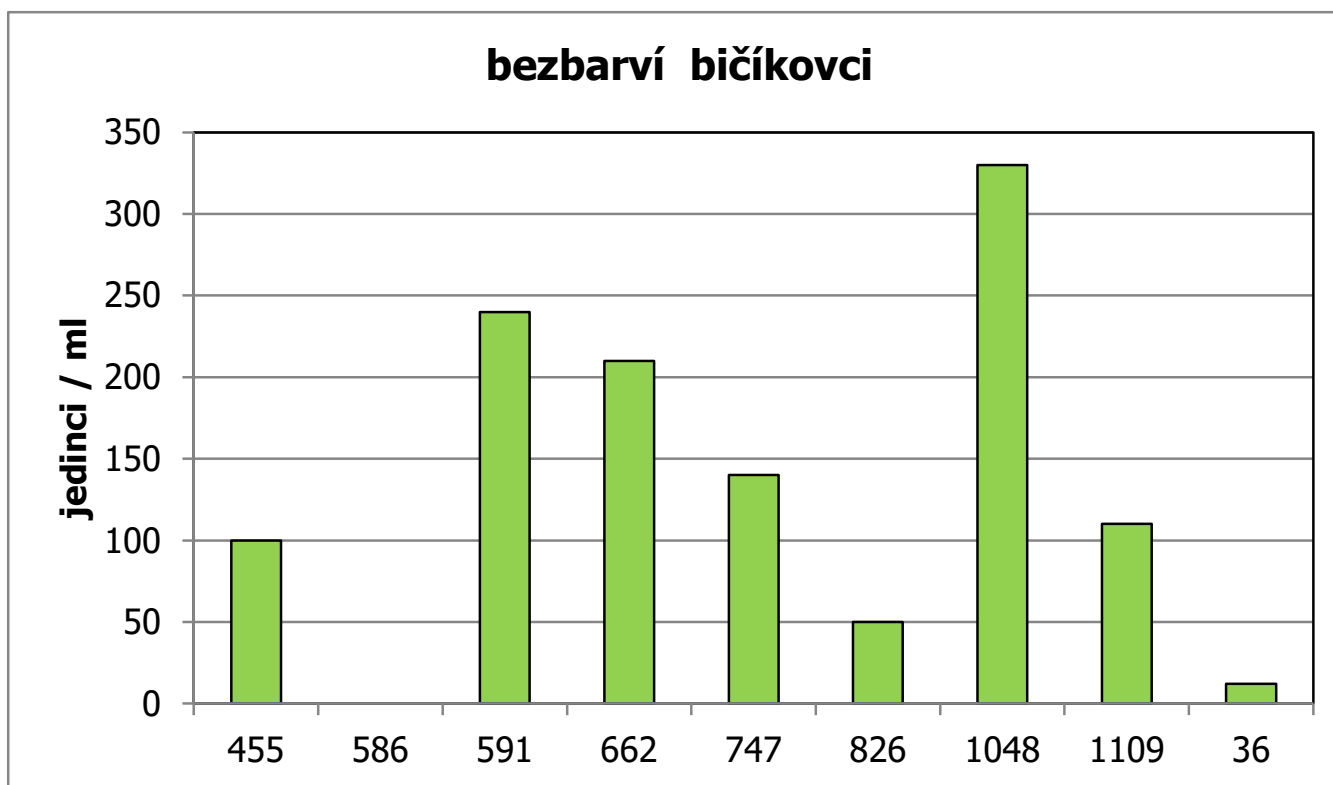


Trachelomonas hispida



6. bezbarví bičíkovci

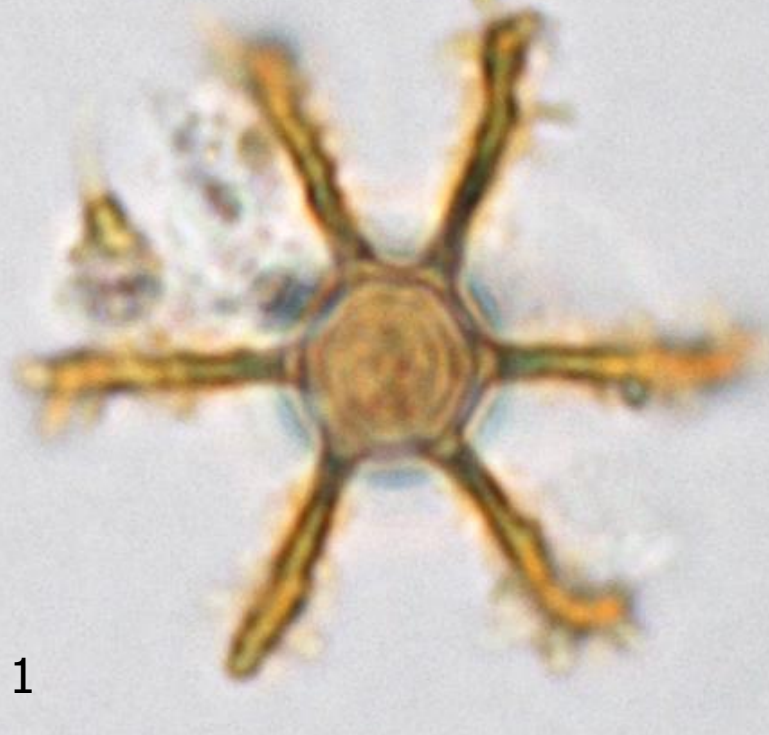
Taxon	Kód								
	455	586	591	662	747	826	1048	1109	36
6) bezbarví bičíkovci - celkem	100	0	240	210	140	50	330	110	12
bezbarví bičíkovci Flagellata apochromatica)	100		240	210	140	50		110	12
Flagellata apochromatica g.sp. (+ Pachysoeca ruttneri)							330		
bezbarví bičíkovci - splněno	+	-	+	+	+	+	+	+	+



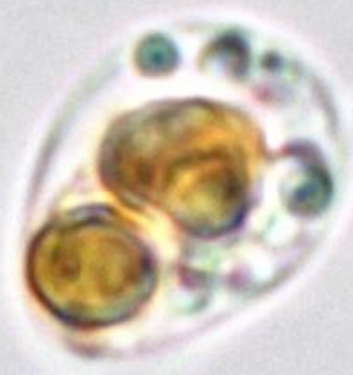
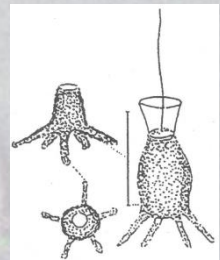
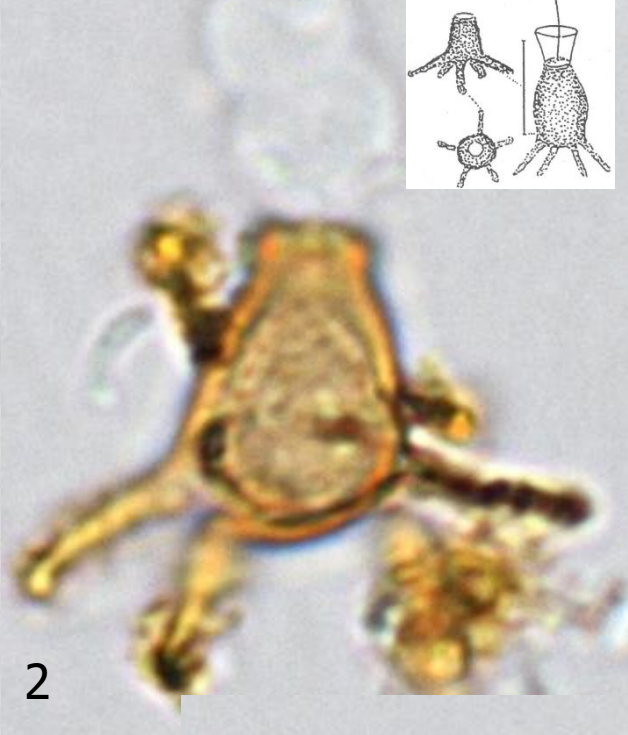
bezbarví bičíkovci

Pachysoeca ruttneri (1, 2)

1

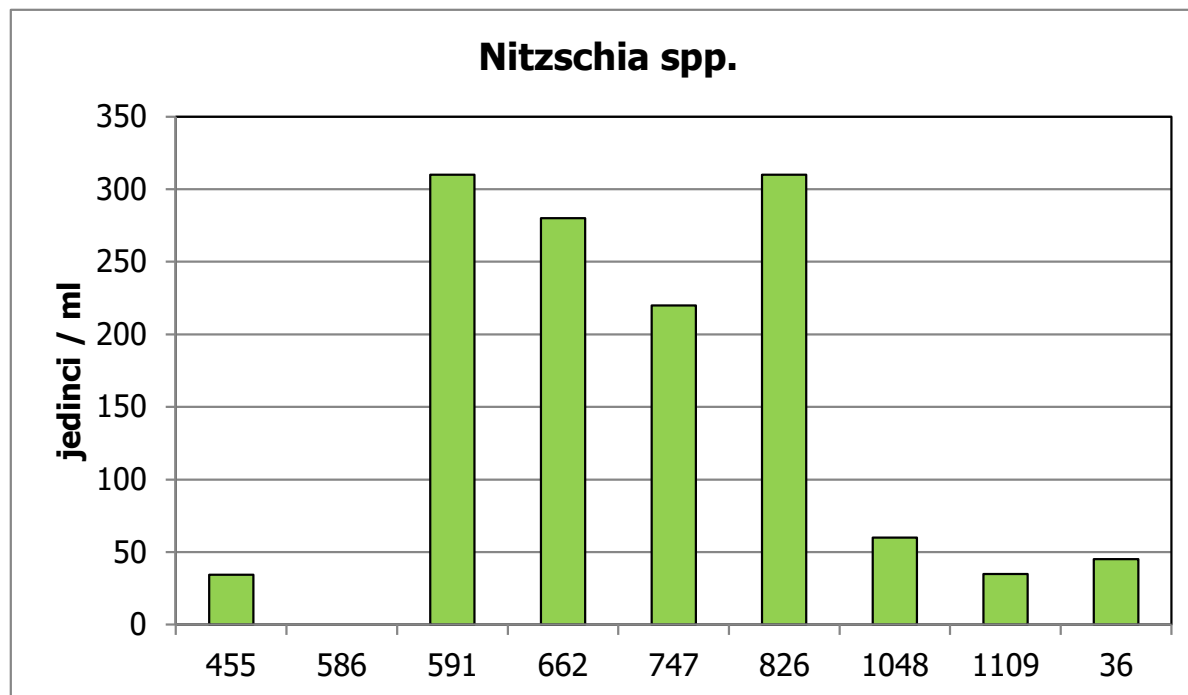


2



7. *Nitzschia* spp.

Taxon	Kód								
	455	586	591	662	747	826	1048	1109	36
7) <i>Nitzschia</i> spp. - celkem	34,5	0	310	280	220	310	60	35	45
<i>Nitzschia acicularis</i>	35								
<i>Nitzschia</i> sp.			310		220	310		35	
<i>Nitzschia</i> spp.									45
<i>Nitzschia</i> spp. - splněno	+	-	+	+/-	+	+	+/-	+	+
<i>záměny a nedostatečně určeno</i>									
penátní rozsivky (<i>Nitzschia</i> sp., <i>Synedra</i> sp., <i>Navicula</i> sp.)				280					
penátní rozsivky (zejm. <i>Nitzschia acicularis</i> , <i>Nitzschia</i> sp., <i>Navicula lanceolata</i> , <i>Asterionella formosa</i>)							60		





Další nálezy ve vzorku 5

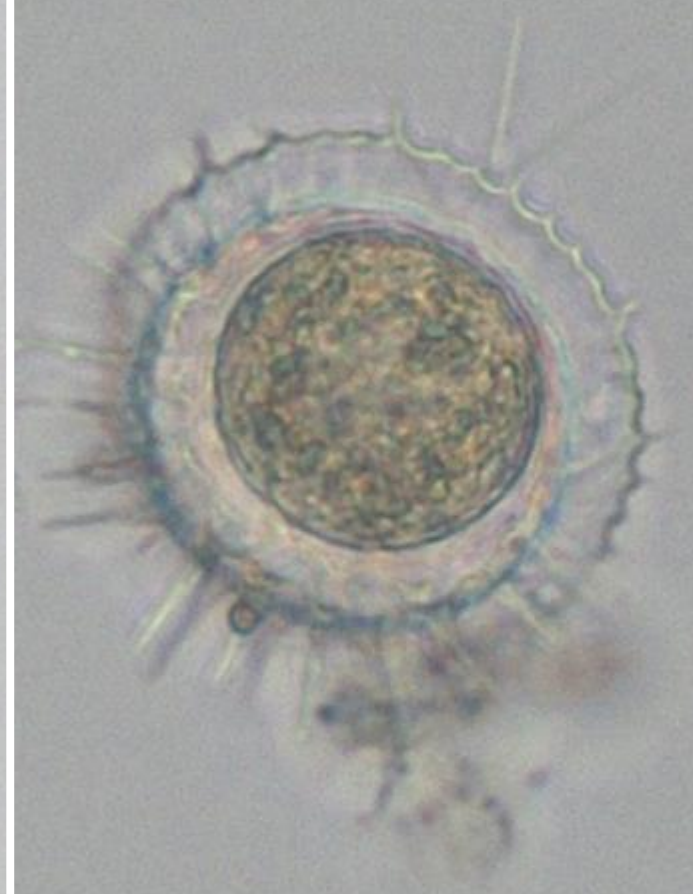
obrněnky



obrněnky



nálevníci



zelené řasy



1



2



3



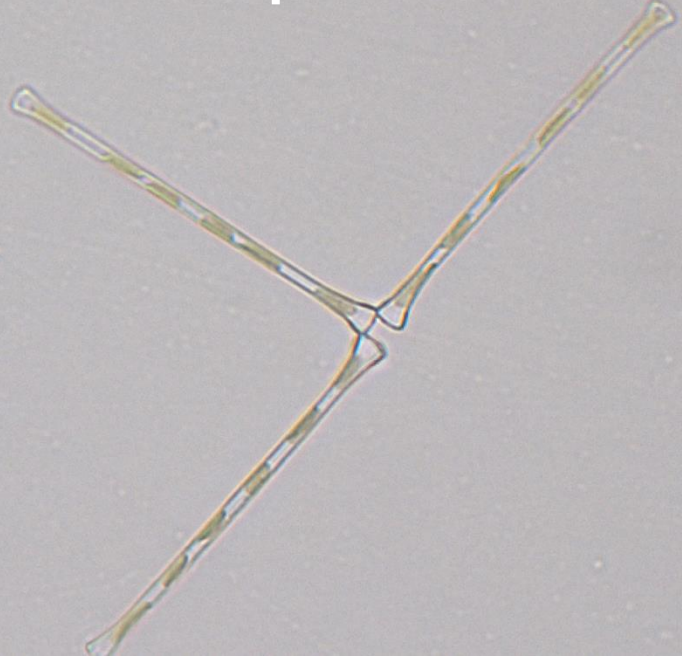
5



6



4



rozsviky
 1 – *Navicula*
 2 – *Achnanthes*
 3 – *Gomphonema*
 4 – *Asterionella*
 5 a 6 - Eustigmatophyceae

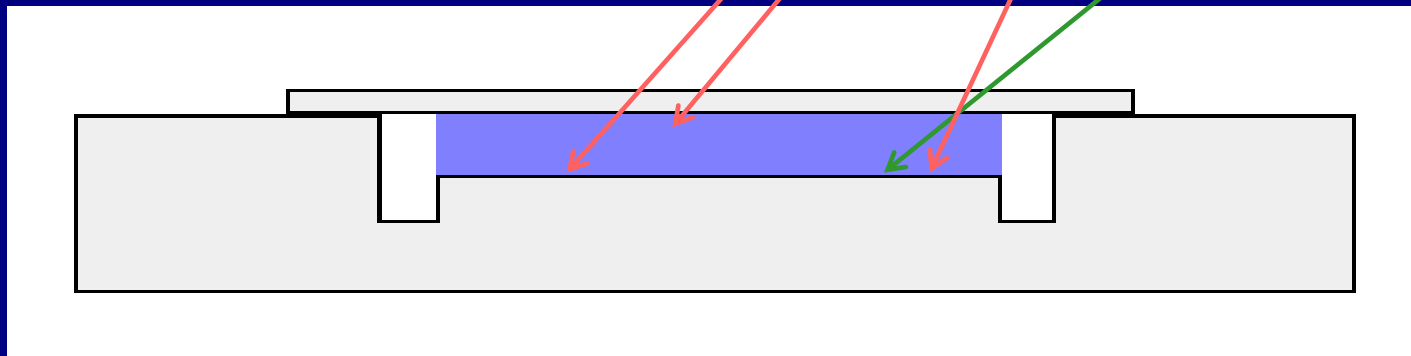
Různé doplňky

Počítání bičíkovců (barevných i bezbarvých)

Problémy s bezbarvými bičíkovci (resp. bezbarvými prvoky)

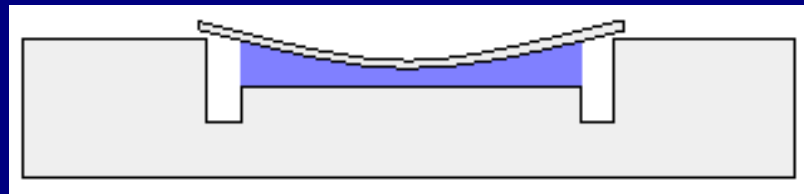
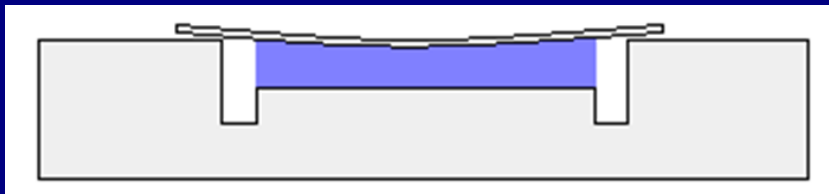
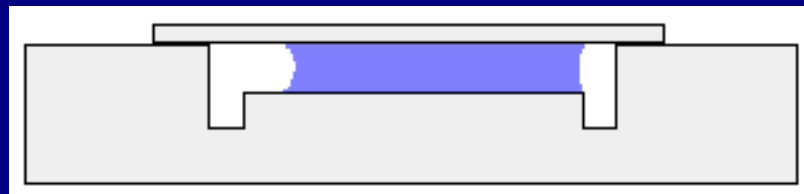
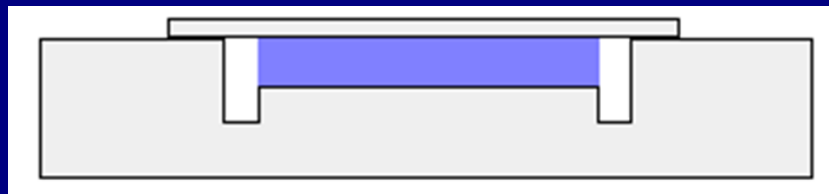
Pozorování heterotrofů
mnohem složitější

- Nevýrazná barva
- Neleží spořádaně na mřížce
- Často malé rozměry
- Mohou lyzovat

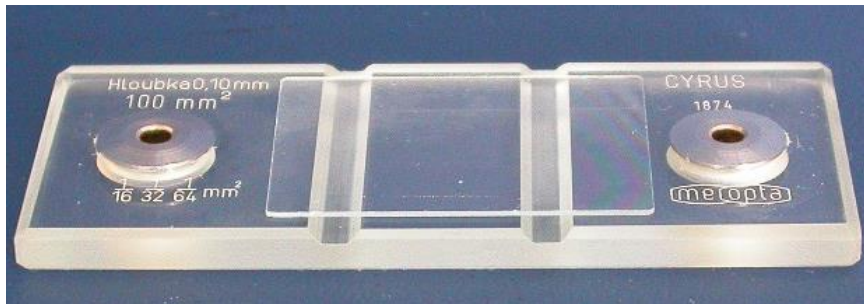
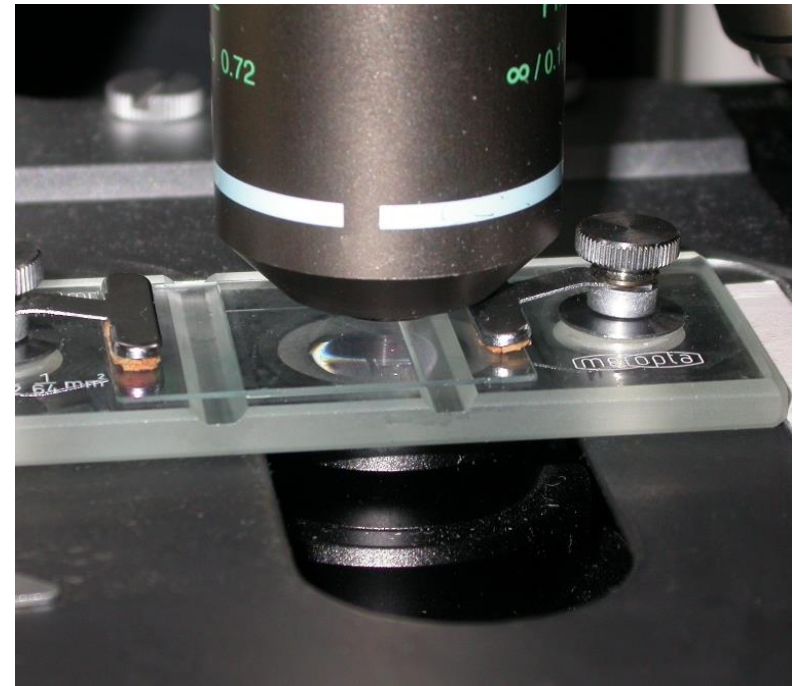
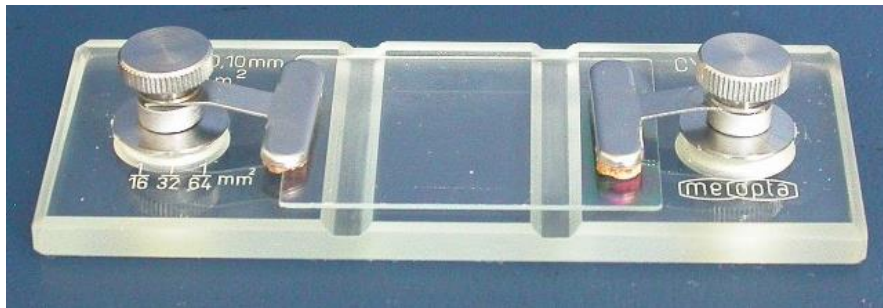


Jak si trochu pomoci (nestandardně) při počítání malých organismů

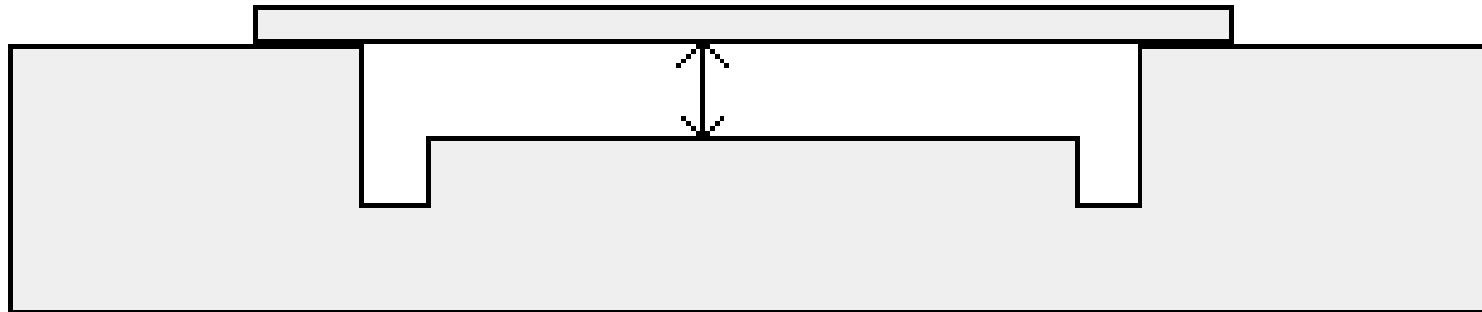
- využít lepších optických vlastností tenkého krycího skla
- není dodržena standardní výška komůrky – stanovení pouze orientační (cca 90% původního objemu)




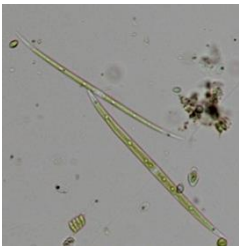
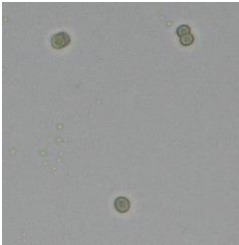
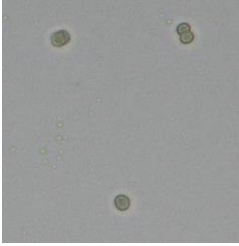
Počítací komůrka Cyrus I



0,1 mm = 100 μ m



O významu „paciček“ (vlastní data SZÚ)

Vzorek	Plnění	Srovnání průměrů
<i>Desmodesmus subspicatus</i> 	50 µl se svorkami	109,0%*
	50 µl bez svorek	
	100 µl se svorkami	106,5%
	100 µl bez svorek	
<i>Closterium limneticum</i> 	50 µl se svorkami	102,4%
	50 µl bez svorek	
	100 µl se svorkami	108,3%*
	100 µl bez svorek	
<i>Microcystis ichthyoblabe</i> (1) 	50 µl se svorkami	104,0%
	50 µl bez svorek	
	100 µl se svorkami	104,4%
	100 µl bez svorek	
<i>Microcystis ichthyoblabe</i> (2) 	50 µl se svorkami	109,0%*
	50 µl bez svorek	
	100 µl se svorkami	102,7%
	100 µl bez svorek	

Chystaná změna legislativy

- z hlediska mikroskopických rozborů se jedná především o snížení limitu pro abiosestonu na 5 % pokryvnosti

Zajímavé taxony

Jezero Milada



foto: B. Rošková

Jezero Milada



Chromatium (purpurové sirné bakterie)

Jezero Milada



Chromatium (purpurové sirné bakterie)

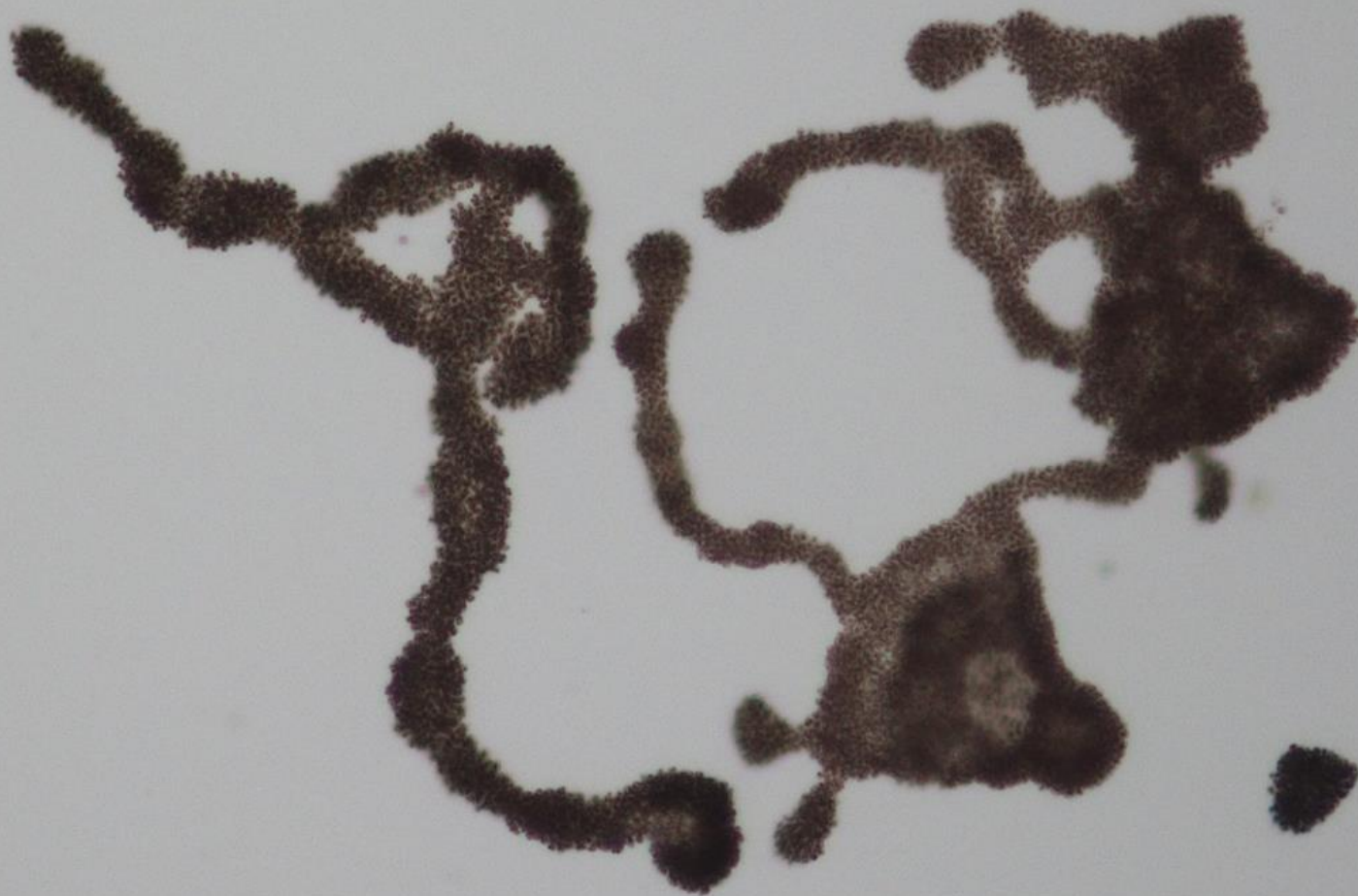
zamrzlý návesní
rybník na Vysočine



fotky Vladimír Stehno

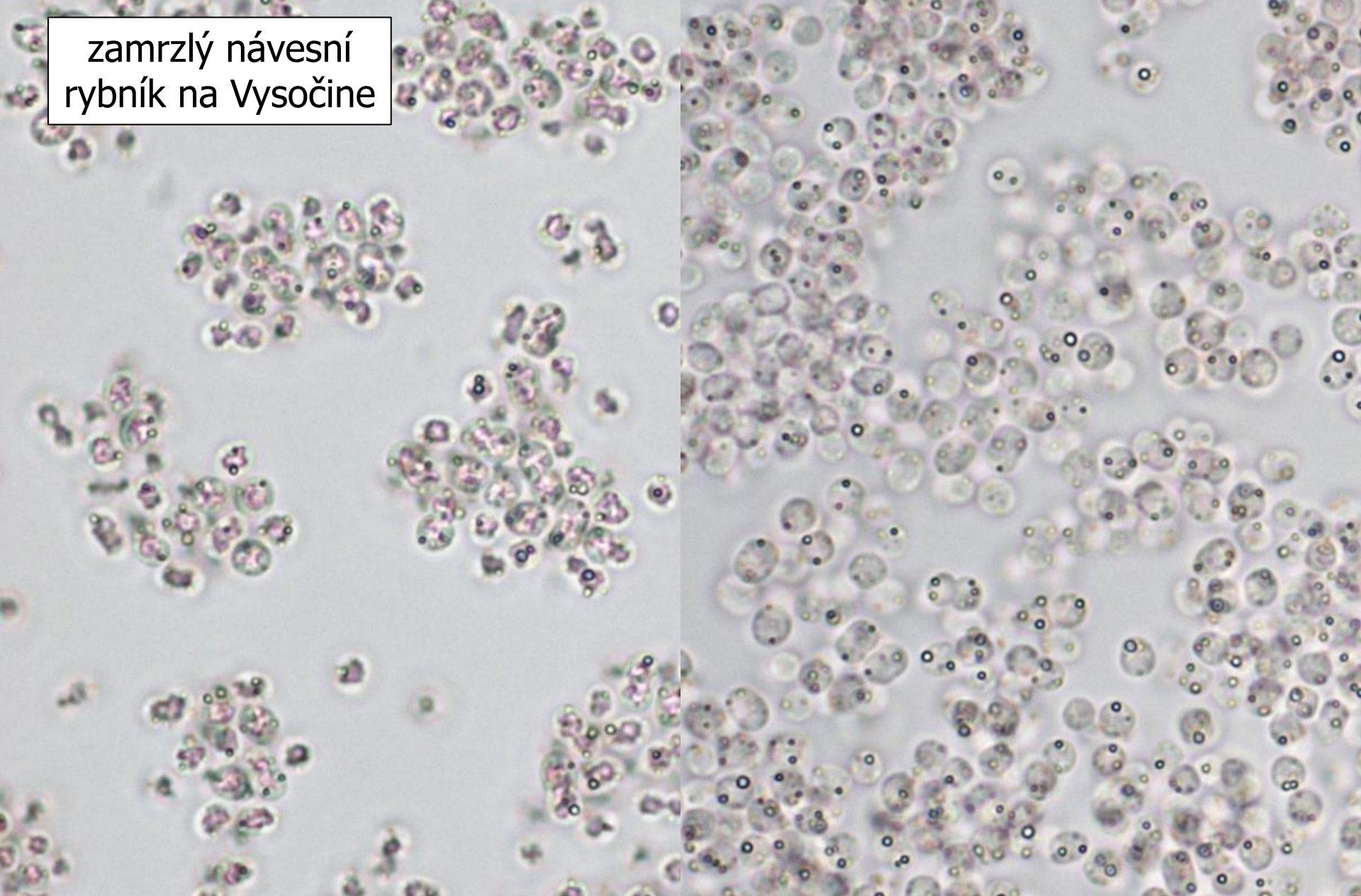


zamrzlý návesní
rybník na Vysočine



purpurové sirmé bakterie původně určené jako *Thiocapsa*, po semináři diskutováno s Karlem Kolářem, který se klonil spíše k *Lamprocystis*

zamrzlý návesní
rybník na Vysočine

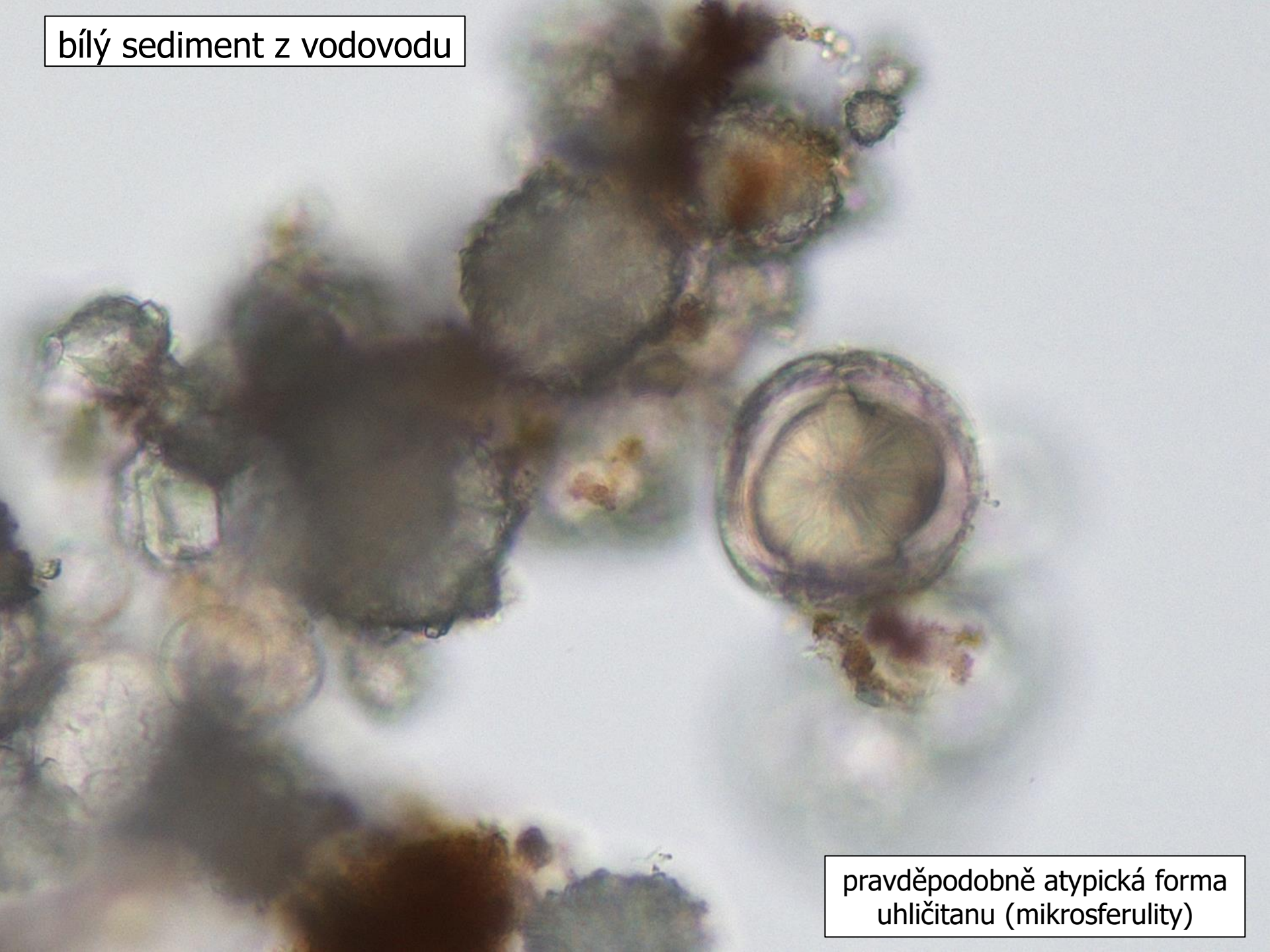


přítomny aerotopy

po destrukci aerotopů

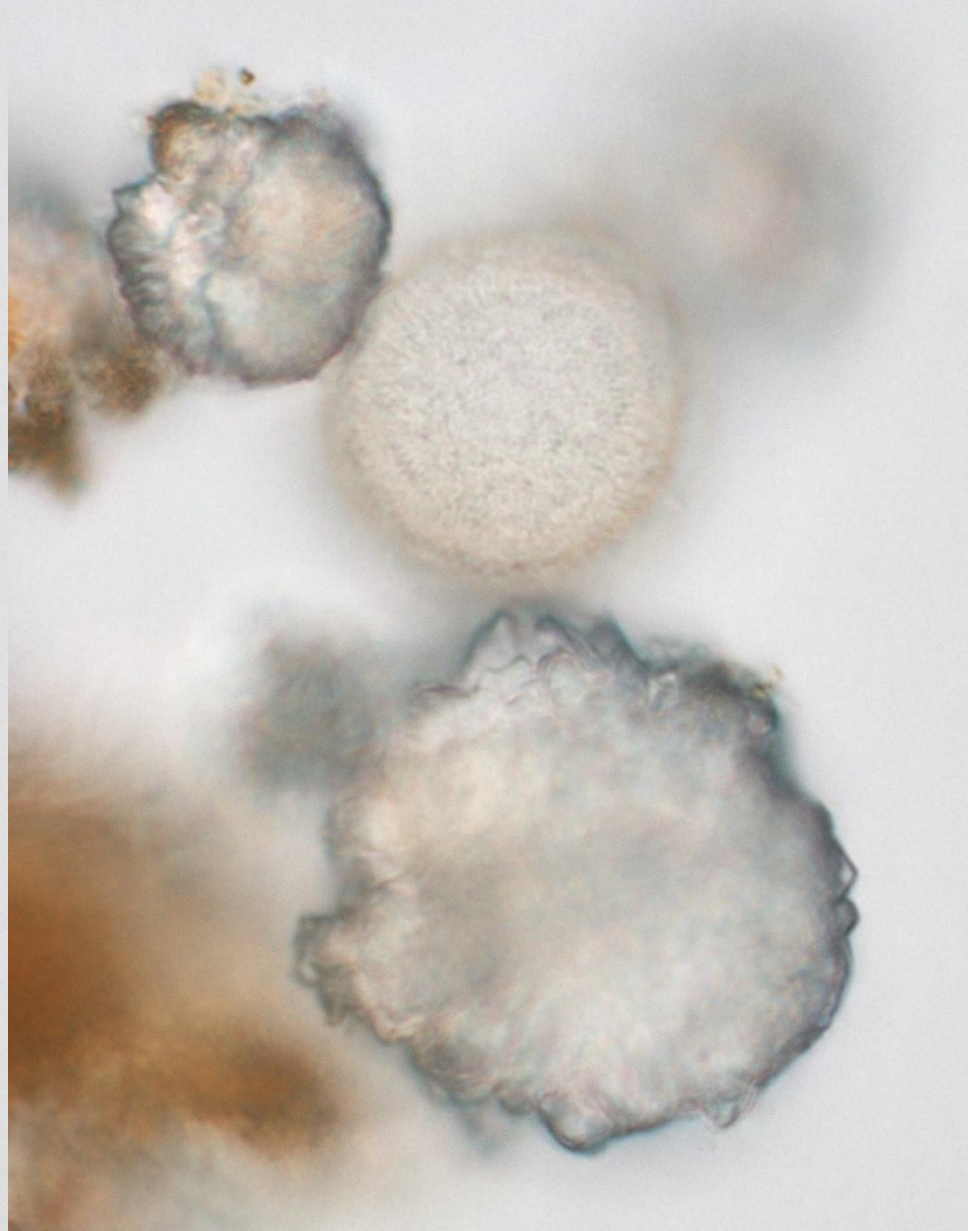
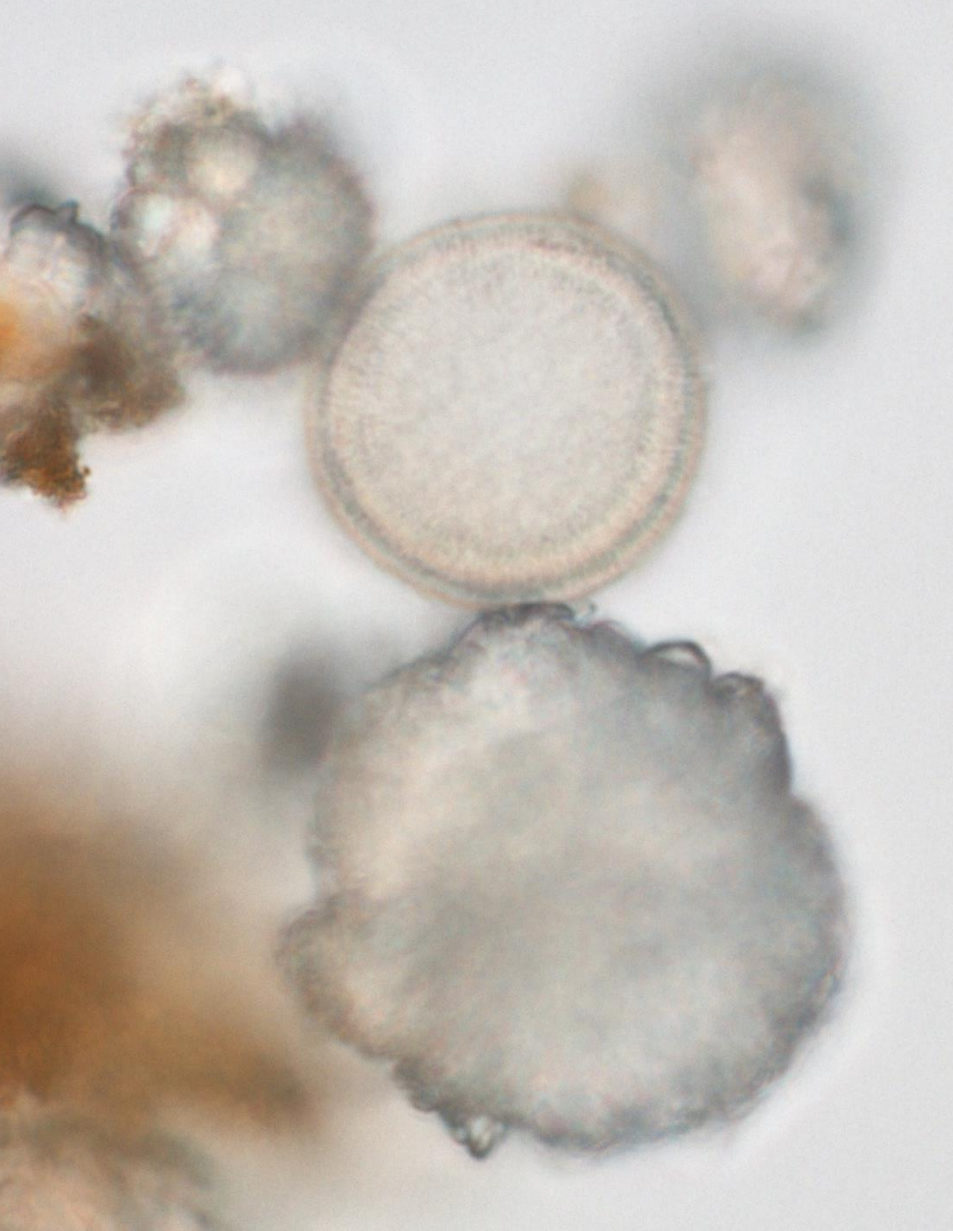
purpurové sírné bakterie původně určené jako *Thiocapsa*, po semináři diskutováno s Karlem Kolářem, který se klonil spíše k *Lamprocystis*

bílý sediment z vodovodu

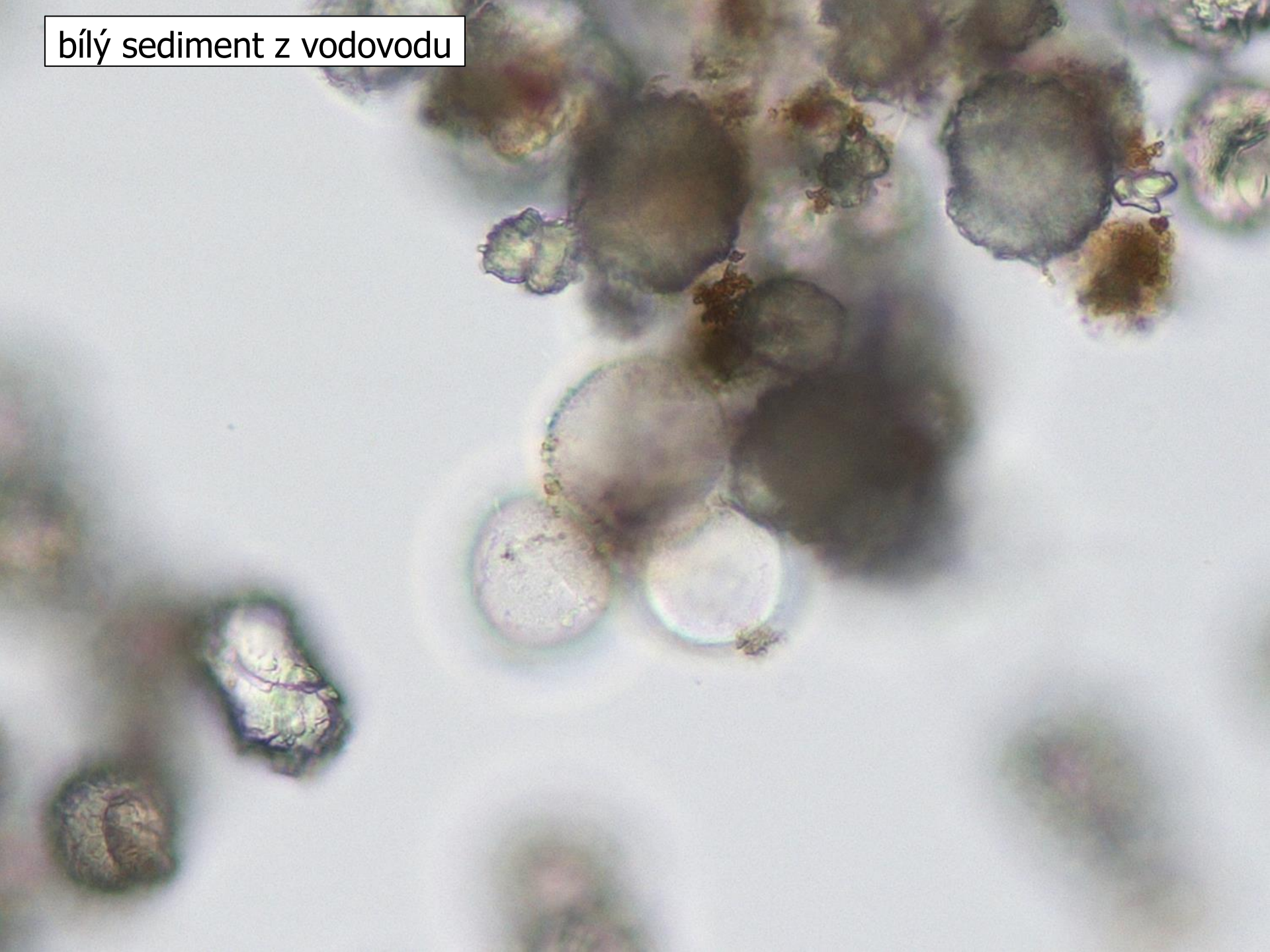


pravděpodobně atypická forma
uhličitanu (mikrosferulity)

bílý sediment z vodovodu



bílý sediment z vodovodu



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