



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
POSKYTOVATEL ZKOUŠENÍ ZPŮSOBILOSTI AKREDITOVANÝ ČIA
PODLE ČSN EN ISO/IEC 17043 , REG. Č. 7001
Šrobárova 48, 100 42 Praha 10 – Vinohrady



Závěrečná zpráva

Program zkoušení způsobilosti laboratoří

PT # V / 5 / 2016

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

Praha, listopad 2016

Obsah

Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT # V/5/2016	1
1 Úvod.....	2
2 Příprava vzorků	2
3 Obecný přístup k hodnocení ukazatelů	3
3.1 Kvalitativní stanovení sinic	3
3.2 Mikroskopický obraz	3
3.3 Kvantitativní ukazatele.....	3
4 Podrobný rozbor výsledků	3
4.1 Kvalitativní stanovení.....	3
4.1.1 Kvalitativní stanovení sinic ve vzorcích 2 A-D.....	4
4.1.2 Kvalitativní stanovení fytoplanktonu ve vzorcích 1A a 1B a ukazatel mikroskopický obraz	4
4.1.3 Chyby ve jménech	4
4.1.4 Použitá determinační literatura	4
4.2 Kvantitativní stanovení sinic	5
4.3 Stanovení chlorofylu-a a feopigmentů.....	5
Příloha č. 1: Výsledky účastníků - kvalitativní rozbor sinic - vzorek 2A.....	6
Příloha č. 2: Výsledky účastníků - kvalitativní rozbor sinic - vzorek 2B.....	6
Příloha č. 3: Výsledky účastníků - kvalitativní rozbor sinic - vzorek 2C.....	7
Příloha č. 4: Výsledky účastníků - kvalitativní rozbor sinic - vzorek 2D.....	7
Příloha č. 5: Slovní popis mikroskopického nálezu ve vzorcích 1A a 1B.....	8
Příloha č. 6: Kvalitativní rozbor sinic - souhrnné hodnocení účastníků	10
Příloha č. 7: Soupis determinační literatury používané účastníky.....	11
Příloha č. 8: Z-skóre pro kvantitativní stanovení sinic v buňkách/ml.....	12
Příloha č. 9: Z-skóre pro kvantitativní stanovení sinic v objemové biomase.....	12
Příloha č. 10: Z-skóre pro ukazatele chlorofyl-a a feopigmenty ve vzorku 3A.....	13
Příloha č. 11: Z-skóre pro ukazatele chlorofyl-a a feopigmenty ve vzorku 3B.....	13
Příloha č. 12: Stanovení chlorofylu a sinic pomocí fluorescence	14
Příloha č. 13: Souhrnné hodnocení výkonnosti účastníků	14
Příloha č. 14: Výsledky měření extraktů (vzorek 4)	15

Program zkoušení způsobilosti PT#V/5/2016 byl zaměřen na stanovení sinic v přírodních koupalištích podle ČSN 75 7717 a chlorofylu-a a feopigmentů podle ČSN ISO 10260 pro účely vyhlášky č. 238/2011 Sb. Program je však vhodný i pro laboratoře vodárenských společností, které zpracovávají vzorky surové vody se sinicemi a jakékoli další laboratoře, které se zabývají rozborů sinic. Realizace tohoto kola programu zkoušení způsobilosti byla prováděna podle standardního operačního postupu SOP č. V/5 a V/6. Vzorky byly připraveny a vyhodnoceny na pracovišti Expertní skupiny pro zkoušení způsobilosti Státního zdravotního ústavu. Toto pracoviště je akreditováno Českým institutem pro akreditaci, o.p.s. jako organizátor programů způsobilosti č. 7001.

S veškerými informacemi dodanými účastníky je zacházeno jako s důvěrnými a nejsou bez souhlasu účastníka poskytovány třetím stranám.

Zprávu vypracovali: Mgr. Petr Pummann, Tereza Pouzarová

V Praze dne 28. 11. 2016

Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT # V/5/2016

Název: Stanovení mikroskopického obrazu v přírodních koupalištích, stanovení sinic a stanovení chlorofylu-a
Označení: PT#V/5/2016
Účel: Stanovení mikroskopického obrazu a sinic v přírodních koupalištích podle ČSN 75 7717 a chlorofylu-a a feopigmentů podle ČSN ISO 10260 pro účely vyhlášky č. 238/2011 Sb.
Organizátor: Státní zdravotní ústav, Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti; Šrobárova 48, 100 42, Praha 10, tel.: + 420 267082220, e-mail: petr.pumann@szu.cz , internet: http://www.szu.cz/pzz-voda
Vedoucí expertní skupiny: Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor: Mgr. Petr Pumann
Charakteristika materiálu: Vzorky 1A a 1B – povrchová voda; Vzorky 2A až 2D – formalínem konzervované vzorky sinic; Vzorek 3A a 3B – směs povrchové vod a pitné vody, Vzorek 4 – etanolový extrakt chlorofylu-a (různé vzorky vod)
Způsob přípravy: Po dostatečném promíchání byly vzorkem naplněny vzorkovnice pro účastníky, připraveno podle SOP č. V/5 a V/6
Množství připravovaného testovaného materiálu: Vzorky 1A a 1B (kvantifikace sinic) – připraveno 16 vzorkovnic po cca 140 ml; vzorky 2A-D (kvalitativní rozbor sinic) - připraveno 10 vzorkovnic po cca 1ml; vzorky 3A a 3B (chlorofyl-a a feopigmenty) – připraveno 14 vzorkovnic po cca 2l; vzorek 4 (extrakt) – připraveno 14 vzorkovnic po 30 ml.
Označení vzorkovnic: PT#V/5/2016 Vzorek 1A a 1B - Stanovení mikroskopického obrazu v přírodních koupalištích a stanovení sinic; PT#V/5/2016 Vzorek 2A - 2D - Stanovení sinic; PT#V/5/2016 Vzorek 3A, 3B a 4 - Stanovení chlorofylu-a
Zabezpečení jakosti vzorku (homogenita a stabilita): Pro všechny vzorky byl použit ověřený způsob přípravy, který v případě stabilních vzorků zajišťuje dostatečnou homogenitu. Homogenita byla testována na samotných zkušebních vzorcích, kdy byly vzorky 1A, 1B, 3A, 3B a 4 zpracovány v laboratoři SZÚ (po 4 vzorkovnicích vzorku 1A a 1B; po 3 vzorkovnicích vzorků 3A, 3B a 4). Vzorkovnice (filtry) byly vybírány rovnoměrně v celém průběhu plnění. Vzorky 2A – 2D nebyly díky svému charakteru na homogenitu testovány.
Podmínky distribuce a uchování vzorků: Vzorek 1A, 1B, 3A, 3B a 4 přeprava a krátkodobé uchování v chladu a temnu; 2A - 2D bez zvláštních požadavků na přepravu a uchování.
Počet účastníků: mikroskopický obraz a sinice - 9, chlorofyl-a – 8
Způsob distribuce: Osobní převzetí účastnickou laboratoří 4. 10. 2016. Přílohy: Pokyny pro zpracování vzorků. Formulář pro zápis výsledků byl v elektronické podobě volně k dispozici na internetu.
Předání výsledků: Písemně do 20. 10. 2016 v elektronické podobě e-mailem a/nebo poštou.
Určení přijaté vztažné hodnoty a způsob vyhodnocení výsledků:
Kvantitativní rozbor sinic – stanovení počtu buněk. Vztažná hodnota byla stanovena z výsledků laboratoře SZÚ a všech zúčastněných laboratoří jako robustní aritmetický průměr. Vztažná odchylka byla rozšířena na ±50 % vztažné hodnoty. Vzorek 1A: vztažná hodnota: 42032 buněk/ml, meze pro správné hodnoty: 21016 – 63048 buněk/ml Vzorek 1B: vztažná hodnota: 191533 buněk/ml, meze pro správné hodnoty: 95767 – 287300 buněk/ml
Kvantitativní rozbor sinic – stanovení objemové biomasy. Vztažná hodnota byla stanovena z výsledků laboratoře SZÚ a všech zúčastněných laboratoří jako robustní aritmetický průměr. Vztažná odchylka byla rozšířena na ±50 % vztažné hodnoty. Výsledky u vzorku 1A však nejsou pro velký rozptyl hodnot součástí přílohy certifikátu Vzorek 1A: vztažná hodnota: 0,678 mm ³ /l, meze pro správné hodnoty: 0,34 - 1,02 mm³/l (hodnoceno pouze orientačně – velký rozptyl hodnot) Vzorek 1B: vztažná hodnota: 5,62 mm ³ /l, meze pro správné hodnoty: 2,81 - 8,43 mm³/l
Kvalitativní rozbor sinic. Hodnoty byly stanoveny podle pravidel SOP č. V/5 direktivně koordinátorem. Hodnocené taxony: vzorek 2A – <i>Cuspidothrix issatschenkoi</i> ; vzorek 2B – <i>Aphanizomenon</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i> a <i>Microcystis wesenbergii</i> ; vzorek 2C – <i>Planktothrix agardhii</i> a <i>Microcystis aeruginosa</i> ; 2D – <i>Dolichospermum lemmermannii</i> ; vzorek 1A – tenké vláknité sinice; vzorek 1B – <i>Woronichinia naegeliana</i> a <i>Microcystis</i> spp.
Stanovení chlorofylu-a a feopigmentů. Vztažná hodnota i vztažná odchylka byly stanoveny z výsledků laboratoře SZÚ a všech zúčastněných laboratoří jako robustní aritmetický průměr a robustní směrodatná odchylka. Vzorek 3A: Chlorofyl-a: vztažná hodnota: 74,1 µg/l, meze pro správné hodnoty: 61,5 – 86,7 µg/l Feopigmenty: vztažná hodnota: 30,0 µg/l, meze pro správné hodnoty: 17,4 – 42,6 µg/l Vzorek 3B: Chlorofyl-a: vztažná hodnota: 10,3 µg/l, meze pro správné hodnoty: 7,21 – 13,4 µg/l Feopigmenty: vztažná hodnota: 6,40 µg/l, meze pro správné hodnoty: 3,33 – 9,47 µg/l
Termín rozeslání zprávy účastníkům: listopad 2016
Termín semináře: 29. 11. 2016

1 Úvod

Tento program zkoušení způsobilosti je zaměřen především na stanovení sinic v přírodních koupalištích, a to jak na jejich správné určení, tak na mikroskopickou kvantifikaci podle ČSN 75 7717. S problematikou kvantifikace fytoplanktonu úzce souvisí stanovení chlorofylu-a, které je rovněž součástí programu. Účast v programu je vhodná také pro laboratoře vodárenských společností, které zpracovávají vzorky surové vody se sinicemi, i když množství sinic ve vydávaných vzorcích zpravidla značně přesahuje hodnoty obvyklé v surové vodě. Pro laboratoře, které sice nekvantifikují sinice podle ČSN 75 7717, ale mají zájem si vyzkoušet svoji schopnost správně určit přítomné zástupce, jsme v tomto kole připravili finančně zvýhodněnou možnost účastnit se programu pouze v ukazateli kvalitativní rozbor sinic.

Doplňující informace k této zprávě (fotodokumentace ke kvalitativnímu rozboru sinic, ve zprávě neuvedená hodnocení apod.) se nachází v prezentaci ze semináře k vyhodnocení kola, kterou lze volně stáhnout na internetové adrese <http://www.szu.cz/pzz-sinice>.

Budeme rádi, pokud nám k programu sdělíte Vaše připomínky a náměty na zlepšení (e-mail: petr.pumann@szu.cz; tel.: 267082220).

2 Příprava vzorků

Vzorek 1A byl připraven z vody odebrané dne 2. 10. 2016 v návesním rybníku v Pňovanech. V laboratoři bylo 1,5 litru vody filtrováno přes gázu k odstranění „špíny“ a zooplanktonu a případně velkých kolonií sinic, smícháno s cca 1 litrem dechlorované pražské vodovodní vody a rozplněno do 16 vzorkovnic po cca 150 ml.

Vzorek 1B byl připraven z vody odebrané dne 2. 10. 2016 z přehradní nádrže Hracholusky v lokalitě Na Radosti. V laboratoři byly tři litry vzorku obohaceny o cca 50 ml síťového planktonu z téže lokality (odebraného planktonní sítí s průměrem ok 20 µm). Následně byla provedena filtrace přes gázu k odstranění „špíny“ a zooplanktonu a velkých kolonií sinic. Po promíchání byl vzorek rozplněn do 16 vzorkovnic po cca 150 ml.

Vzorek 2A byl odebrán planktonní sítí s průměrem ok 20 µm dne 3. 10. 2016 v nádrži Slatina, která se nachází poblíž Dubče (východní okraj Prahy).

Vzorek 2B byl odebrán dne 3. 10. 2016 z vodního květu na dolní nádrži na Hájeckém potoce v blízkosti přírodního koupaliště na Hostivařské nádrži v Praze.

Vzorek 2C byl připraven z vody odebrané 30. 9. 2016 na nádrži České údolí v Plzni. V laboratoři byla voda zahuštěna planktonní sítí s průměrem ok 20 µm.

Vzorek 2D byl odebrán planktonní sítí s průměrem ok 20 µm dne 16. 6. 2013 na přírodním koupališti Lhota (nádrž po těžbě šterkopísku u Staré Boleslavi). Vzorek odebrala Hana Rybenská v rámci své diplomové práce.

Vzorky 2A – 2D byly konzervovány formalínem. Před vydáním byly rozplněny Pasteurovou pipetou do šroubovacích kryozkumavek (10 vzorkovnic po cca 1 ml vzorku)

Vzorek 3A pocházel z Hostivařské nádrže v Praze ze dne 3. 10. 2016. V laboratoři bylo 40 litrů vody přefiltrováno přes gázu.

Vzorek 3B byl směs zhruba 38 litrů vody odebrané 3. 10. 2016 z Botiče nad ústím do Hostivařské přehrady a dvou litrů vzorku 3A.

Před plněním jsme vzorky promíchávali v plastovém barelu pomocí plexisklové tyče po dobu 2 minut. Při přípravě jednotlivých zkušebních vzorků jsme vzorek nabrali do 2 litrové plastové odměrky a z ní přelávali do jednotlivých vzorkovnic, ve kterých jsme vždy ponechali vzduchovou bublinu. Po naplnění každé vzorkovnice jsme vzorek v barelu znovu krátce zamíchali. Celkem bylo naplněno 28 vzorkovnic (14 x 3A a 14 x 3B).

Vzorek 4 byl smíchán z různých etanolových extraktů, a to jak připravených speciálně pro vzorek 4, tak zbytků extraktů z různých měření chlorofylu-a. Před rozplněním do vzorkovnic pro účastníky byly extrakty filtrovány přes filtr ze skleněných vláken. Vzniklý čirý roztok byl pak naředěn, aby výsledná absorbance byla v plánovaném rozmezí a následně rozplněn do vzorkovnic z hnědého skla (celkem 14 vzorkovnic po 30 ml).

Kontrola homogenity

U stanovení sinic bylo připraveno 16 vzorkovnic od vzorku 1A i 1B. Homogenita byla kontrolována laboratoří SZÚ, která zpracovávala 4 vzorky odebrané rovnoměrně během celé přípravy vzorků (1., 6., 11. a 16. připravený) a dále dva vzorky před zpracováním nestandardně uchované.

U stanovení chlorofylu-a (3A a 3B, 4) byly kvůli kontrole homogenity zpracovány 3 vzorky rovnoměrně rozložené v průběhu přípravy (1., 8. a 14. připravený vzorek). Další vzorky tři vzorky byly zpracovány pro kontrolu stability. Jednak se jednalo o vzorky nestandardně skladované (při laboratorní teplotě v temnu i v

chladu) a dále o vzorky sice standardně uložené v lednici ale zpracované o den později (více v prezentaci ze semináře k vyhodnocení kola). Pro kontrolu homogenity byly vybrány také tři vzorkovnice s extraktem. Obdobně jako u vzorků 3A a 3B byla testována stabilita.

3 Obecný přístup k hodnocení ukazatelů

3.1 Kvalitativní stanovení sinic

U každého konzervovaného vzorku (2A - D) a obou vzorků pro kvantifikaci (1A a 1B) byl hodnocen jeden, až tři nejhojněji zastoupené taxony sinic. Určení každého taxonu bylo oceněno jednak 5 bodovou stupnicí a dále individuálně posouzeno na základě úvahy koordinátora kola, zda uvedené určení bylo dostatečné. Za dostatečné bývá obvykle považováno správné určení alespoň do rodu.

Způsob bodového hodnocení dominantních taxonů

- správné určení do druhu - 5 bodů
- správné určení do druhu s vyjádřením nejistoty - 4 body
- správné určení do rodu bez uvedení druhu - 3 body
- správné určení do rodu, nesprávné určení do druhu, s vyjádřením nejistoty - 3 body
- správné určení do rodu, nesprávné určení do druhu bez vyjádření nejistoty - 2 body
- nesprávné určení do rodu, ale jedná se o podobný rod - 1 bod
- vše ostatní (především přehlížení dominantního taxonu) - 0 bodů

V některých případech je obtížné uvedenou stupnicí důsledně použít. Proto je u každého vzorku vhodnost uvedeného bodového hodnocení posouzena individuálně a kritéria jsou případně operativně upravena.

Sinice z původních rodů *Aphanizomenon* a *Anabaena* uvádíme ve zprávě pod novými jmény, která vyplývají z nedávných taxonomických revizí (jsou shrnuty v nové příloze F revidované ČSN 75 7717 z prosince 2013). Nicméně uvedení pod původními jmény jsme nepovažovali za chybu.

3.2 Mikroskopický obraz

Tento ukazatel byl na žádost účastníků zařazený poprvé do programu v roce 2011 k úplnému pokrytí rozsahu ukazatelů požadovaných vyhláškou č. 238/2001 Sb. Je hodnocen direktivně koordinátorem na základě správného určení dominantních sinic a řas ve vzorcích 1A a 1B. Výsledky jsou patrné z přílohy 5.

3.3 Kvantitativní ukazatele

Pro stanovení vztažných hodnot u kvantitativních ukazatelů byly použity výsledky terčových laboratoří. Terčové laboratoře jsou vybírány z přihlášených účastníků. Výsledky laboratoře SZÚ (tzn. účastník 36) jsou rovněž použity pro stanovení vztažných hodnot. Protože laboratoř SZÚ zpracovává více vzorků (kvůli kontrole homogenity), je do souboru pro stanovení vztažných hodnot zařazen aritmetický průměr z těchto stanovení. Vztažné hodnoty jsou vypočítány jako robustní průměr. Informace o výpočtu robustního průměru a robustní směrodatné odchylky lze najít např. v ČSN ISO 5725-5. Hodnota cílové směrodatné odchylky (σ) je nejdříve vypočítána jako robustní směrodatná odchylka souboru výsledků terčových laboratoří. Následně může být na základě uvážení koordinátora rozšířena. Mezi důvody k rozšíření může figurovat např. dobrá shoda terčových laboratoří, malý počet terčových laboratoří nebo podezření na nedostatečnou homogenitu vzorků.

O úspěšnosti účastníka se usuzuje podle z-skore, které je přiřazeno každému výsledku a vypočítá se podle vztahu:

$$z = (X - x) / \sigma$$

kde X = výsledek uvedený laboratoří
 x = vztažná hodnota
 σ = cílová hodnota směrodatné odchylky

Z-score je interpretováno následujícím způsobem: $|z| \leq 2$ jako uspokojivé, $2 < |z| \leq 3$ jako sporné a $|z| > 3$ jako neuspokojivé. Z-score charakterizuje přesnost dat produkovaných laboratoří a je definováno jako systematická chyba laboratoře vztažená na cílovou hodnotu směrodatné odchylky.

4 Podrobný rozbor výsledků

4.1 Kvalitativní stanovení

Pro úspěšné hodnocení ukazatele kvalitativní rozbor sinic bylo potřeba určit dostatečně 9 z 10 hodnocených taxonů (7 ve vzorcích 2A - D a 3 ve vzorcích 1A a 1B) a obdržet alespoň 36 bodů ze 44 možných. Podrobnou analýzu výsledků pro kvalitativní rozbor lze najít v přílohách č. 1 - 6.

4.1.1 Kvalitativní stanovení sinic ve vzorcích 2 A-D

Každý účastník obdržel čtyři formalínem fixované vzorky sinic (vzorky 2A - 2D). Ve vzorcích měly být určeny všechny přítomné sinice a vyjádřeno jejich poměrné zastoupení v procentech. Správnost určení dominantních taxonů byla stanovena koordinátorem na základě vlastních výsledků.

Ve vzorku 2A byl dominantním taxonem *Cuspidothrix issatschenkoi*. Dále byly přítomny nárostové oscilatorální sinice a zástupci rodu *Microcystis*. Pravděpodobně kvůli tomu, že sinice byly ve vzorku zastoupeny poměrně řídko, došlo u některých účastníků (1208, 1255, 1305) k přehlédnutí dominantního taxonu, který navíc díky aerotopům plaval u krycího sklíčka a vlákna byla poměrně špatně zachovalá (většina rozlámana na krátké fragmenty). Kompletní výsledky lze najít v příloze č. 1.

Dominantním taxonem ve vzorku 2B byl zástupce rodu *Aphanizomenon* (buď *A. flos-aquae* nebo *A. klebahnii*). Přesné druhové určení jsme nebyli schopni rozhodnout, proto jsme všechna určení do rodu *Aphanizomenon* hodnotili třemi body. Dále se významně míře vyskytovaly sinice rodu *Microcystis* (*M. wesenbergii*, *M. aeruginosa*). Kompletní výsledky lze najít v příloze č. 2.

Ve vzorku 2C dominovala vláknitá sinice *Planktothrix agardhii*. Hojně se vyskytovaly také sinice rodu *Microcystis*. Z tohoto rodu jsme mezi hodnocené taxony vybrali druh *Microcystis aeruginosa*. Kompletní výsledky lze najít v příloze č. 3.

Ve vzorku 2D dominovala sinice *Dolichospermum lemmermannii*. Tato sinice byla dostatečně vyvinutá (typická pozice akinet), takže šla snadno určit. Dále se vyskytovaly sinice rodu *Microcystis*. Kompletní výsledky lze najít v příloze č. 4.

4.1.2 Kvalitativní stanovení fytoplanktonu ve vzorcích 1A a 1B a ukazatel mikroskopický obraz

U vzorku 1A jsme za dostatečné považovali, pokud bylo uvedeno, že dominovaly rozsivky a že jsou přítomny tenké vláknité sinice.

U vzorku 1B jsme za dostatečné považovali, když bylo uvedeno, že mezi sinicemi dominovaly kokální sinice *Woronichinia naegeliana* a *Microcystis* spp.

Soupis a náš komentář k výsledkům tohoto ukazatele je uveden v příloze č. 5.

4.1.3 Chyby ve jménech

Pravidelným jevem tohoto programu jsou chyby v latinských jménech. Ne vždy se jedná o pouhé překlipy z nepozornosti při rychlé práci (i když u některých nalezených chyb je to evidentní). V tomto kole nejčastěji chybovalo ve slovech lemmermannii a ichthyoblabe. Soupis chyb nalezených ve vzorcích 2A - 2D je uveden v tabulce č. 1. U vzorků 1A a 1B jsou chyby podbarveny v příloze č. 5.

Tabulka č. 1. Chyby ve jménech sinic ve vzorcích 2A - 2D.

kód	špatně	správně	počet
1221	lemmermannii	lemmermannii	1
1255	lemmermanni	lemmermannii	1
	Phormidium chalibeum	Phormidium chalybeum	1
	ichthyoblabe	ichthyoblabe	1
	Pseudanabaena muticola	Pseudanabaena mucicola	3
1281	redeke	redekei	1
	Dolchospermum	Dolichospermum	1
1301	wesenebergii	wesenbergii	1
1305	Aphanisomenon	Aphanizomenon	2
	ichthyoblabe	ichthyoblabe	1
1342	Planctothrix	Planktothrix	1
	Dolichospermum tenericaula	Dolichospermum tenericaule	1
1350	lemmermannii	lemmermannii	1
	issatchenkoi	issatschenkoi	1
	flos aquae	flos-aquae	1
	wesenbergii	wesenbergii	1
	agardhii	agardhii	1

4.1.4 Použitá determinační literatura

Tradiční součástí zprávy je soupis použité určovací literatury, který je uveden v příloze č. 7. U všech účastníků, kteří determinační literaturu uvedli, byla k dispozici alespoň jedna určovací pomůcka (tištěná či elektronická), ve které jsou podle našeho názoru planktonní sinice dostatečně zpracovány pro určování v praxi.

4.2 Kvantitativní stanovení sinic

V tomto roce stejně jako v předchozích letech jsme pro kvantitativní rozbor sinic vydávali dva různé vzorky. Ve vzorku 1A převládaly vláknité sinice, ve vzorku 1B kokální. Dva rozdílné vzorky mají postihnout dva základní metodické postupy z ČSN 75 7717 – Jakost vod – Stanovení planktonních sinic. Do této části programu bylo přihlášeno 7 účastníků. Vztažné lze je najít v tabulce č. 2.

Stanovení sinic v buňkách. Vztažné hodnoty byly stanoveny jako robustní aritmetický průměr z výsledků laboratoře SZÚ a všech účastníků. Vztažná odchylka byla rozšířena u obou vzorků na 25 % (meze pro správné výsledky v intervalu $\pm 50\%$ vztažné hodnoty). Letos jsme poprvé využili ke stanovení vztažných hodnot výsledky všech účastníků (zúčastněné laboratoře jsme buď dlouhodobě znali z předchozích kol programu, nebo jsme alespoň považovali jejich personální obsazení za dostatečně erudované). Podrobné zpracování výsledků lze najít v příloze č. 8.

Stanovení objemové biomasy. Výsledky objemové biomasy poprvé v historii zpracovali všichni účastníci, kteří se zúčastnili této části programu (tj. 7 účastníků a lab. SZÚ). Vztažné hodnoty byly stanoveny jako robustní aritmetický průměr z výsledků laboratoře SZÚ a všech účastníků. Vztažná odchylka byla rozšířena u obou vzorků ve shodě se stanovením v buňkách na 25 % (meze pro správné výsledky v intervalu $\pm 50\%$ vztažné hodnoty). Hodnoty některých účastníků u vzorku 1A však byly natolik rozdílné, že neumožňovaly odborně správné (ve shodě s metodickými postupy) hodnocení a pro je zde uvádíme pouze orientačně a nejsou součástí přílohy certifikátu. Podrobné zpracování výsledků lze najít v příloze č. 9.

Tabulka č. 2: Vztažné hodnoty pro kvantitativní rozbor sinic ve vzorku 1A a 1B. Objemová biomasa u vzorku 1A - pouze orientační hodnocení

	Vzorek 1A		Vzorek 1B	
	buňky/ml	mm ³ /l	buňky/ml	mm ³ /l
vztažná hodnota	42032	0,678	191533	5,62
vztažná odchylka	$\pm 50\%$	$\pm 50\%$	$\pm 50\%$	$\pm 50\%$
interval správných hodnot	21016 - 63048	0,34 - 1,02	95767 - 287300	2,81 - 8,43
počet účastníků	8	8	8	8
počet úspěšných	8	5	8	7

4.3 Stanovení chlorofylu-a a feopigmentů

V rámci stanovení chlorofylu jsme se rozhodli v tomto kole vydávat účastníkům dva živé vzorky a jeden etanolový extrakt. Od vydávání zmražených filtrů jsme v tomto kole ustoupili, protože tato část programu nepřinesla v minulých kolech očekávaný efekt.

Vztažné hodnoty a odchylky byly stanoveny jako robustní aritmetický průměr a robustní směrodatná odchylka z výsledků laboratoře SZÚ (průměr ze tří stanovení) a všech zúčastněných laboratoří, byť u vzorku 3A překročil účastník 1301 horní interval pro absorpenci (0,8). Vztažné hodnoty, odchylky a meze pro správné hodnoty jsou uvedeny v tabulce 3. Podrobné zpracování výsledků lze najít v přílohách č. 10 a 11.

Tabulka č. 3: Vztažné hodnoty pro chlorofyl-a a feopigmenty ve vzorcích 3A a 3B.

	Vzorek 3A		Vzorek 3B	
	chlorofyl-a	feopigmenty	chlorofyl-a	feopigmenty
vztažná hodnota ($\mu\text{g/l}$)	74,1	30,0	10,3	6,40
vztažná odchylka ($\mu\text{g/l}$)	$\pm 17\%$	$\pm 42\%$	$\pm 30\%$	$\pm 48\%$
interval správných hodnot ($\mu\text{g/l}$)	61,5 – 86,7	17,4 – 42,6	7,21 – 13,4	3,33 – 9,47
počet účastníků	9	9	9	9
počet úspěšných	9	9	7	8

Stanovení absorpance v extraktu pro stanovení chlorofylu-a: K ověření měření absorpací na spektrofotometru jsme připravili etanolové extrakty. Výsledky (jako rozdíl absorpací při 665 a 750 nm před okyselení a po něm) jsou uvedeny na grafu č. 1 (příloha 14).

Stanovení chlorofylu-a pomocí fluorescenčních metod: Do této nově zařazené části programu dodal výsledky pouze účastník 1255 a SZÚ. Srovnání obou laboratoří je patrné z přílohy 12. Rozdíl je tentokrát velký, zvláště při stanovení podílu sinic. Metoda v laboratoři SZÚ však zatím není plně validována. Vzhledem k malému počtu účastníků není tato část programu zatím hodnocena standardními postupy ani není součástí přílohy certifikátu.

Příloha č. 1: Výsledky účastníků - kvalitativní rozbor sinic - vzorek 2A

Taxon	1208	1221	1255	1281	1301	1305	1329	1342	1350	SZÚ
<i>Aphanizomenon cf. yezoense</i>				77						
<i>Aphanizomenon sp.</i>	+				+					
<i>Aphanocapsa sp.</i>		+	+							
<i>Calothrix sp.</i>			+							
<i>cf. Planktolyngbya sp.</i>				2						
<i>Cuspidothrix cf. elenkinii (cf. Raphidiopsis sp.)</i>					95					
<i>Cuspidothrix issatschenkoi</i>		84					81	84		71
<i>Cuspidothrix cf. issatchenkoi</i>									49	
<i>Microcystis aeruginosa</i>	27			3					3	
<i>Microcystis cf. flos-aquae</i>	23									
<i>Microcystis wesenbergii</i>	5									
<i>Microcystis sp.</i>		4	2				3			
<i>Oscillatoria limosa</i>	22									
<i>Oscillatoria sp.</i>				14	4			5		7
<i>Oscillatoria tenuis</i>						99				
<i>Oscillatoriales g. sp.</i>								4		
<i>Phormidium cf. chalibeum</i>			70							
<i>Phormidium cf. tergestinum</i>									48	
<i>Phormidium sp.</i>		7					8			
<i>Planktothrix agardhii</i>		5		4	1		6			
<i>Planktothrix sp.</i>			8			1				5
<i>Pseudanabaena sp.</i>								7		
<i>Snowella sp.</i>	23									
tenká oscilatoriální sinice			20				2			17
<i>Cuspidothrix issatschenkoi</i>										
počet bodů	0	5	0	2	3	0	5	5	4	
úspěšnost	-	+	-	+	+	-	+	+	+	
sporný výsledek										

SZU - Státní zdravotní ústav

Příloha č. 2: Výsledky účastníků - kvalitativní rozbor sinic - vzorek 2B

Taxon	1208	1221	1255	1281	1301	1305	1329	1342	1350	SZÚ
<i>Aphanizomenon yezoense</i>						55				
<i>Aphanizomenon cf. flos-aquae</i>				73	78					
<i>Aphanizomenon cf. klebahnii</i>		73	20				89	87		83
<i>Aphanizomenon sp.</i>	35								77	
<i>Aphanocapsa incerta</i>								+		
<i>Coelomoron sp.</i>	+									
<i>Microcystis aeruginosa</i>	30	16	45	20		33	7	10	17	8
<i>Microcystis aeruginosa (vč. novacekii)</i>					8					
<i>Microcystis flos-aquae</i>			+			2	2	+	2	
<i>Microcystis cf. flos-aquae</i>	25									
<i>Microcystis ichthyoblabe</i>			30			5			3	6
<i>Microcystis cf. ichthyoblabe</i>		11		7	13			2		
<i>Microcystis wesenbergii</i>	10	+	5	+	1	5	2	1	1	4
<i>Pseudanabaena muticola</i>			P							P
<i>Woronichinia naegeliana</i>								+		
<i>Aphanizomenon</i>										
počet bodů	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
úspěšnost	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
sporný výsledek										
<i>Microcystis aeruginosa</i>										
počet bodů	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
úspěšnost	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
sporný výsledek										
<i>Microcystis wesenbergii</i>										
počet bodů	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
úspěšnost	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
sporný výsledek										

SZU - Státní zdravotní ústav

Hodnocení: + v pořádku; - nedostatečné; ? s výhradami

Příloha č. 3: Výsledky účastníků - kvalitativní rozbor sinic - vzorek 2C

Taxon	1208	1221	1255	1281	1301	1305	1329	1342	1350	SZÚ
<i>Aphanizomenon gracile</i>		7	6				24			3
<i>Aphanizomenon sp.</i>									5	2
<i>Cuspidothrix issatschenkoi</i>		5		1		2	4	+		3
<i>Cuspidothrix sp.</i>					2					
<i>Dolichospermum cf. circinale</i>								2		
<i>Dolichospermum compactum</i>									3	
<i>Dolichospermum flos-aquae</i>						1				
<i>Dolichospermum cf. flos-aquae</i>					1					
<i>Dolichospermum cf. tenericaule</i>								3		
<i>Dolichospermum sp.</i>			+	3			2			
<i>Limnothrix cf. planctonica</i>					8					
<i>Limnothrix redekei</i>		+		1			+			
<i>Limnothrix sp.</i>										3
<i>Microcystis aeruginosa</i>	27	2	6	4	4	20	1	6	9	12
<i>Microcystis cf. flos-aquae</i>	18			8						
<i>Microcystis ichthyoblabe</i>									1	
<i>Microcystis wesenbergii</i>							+			
<i>Microcystis sp.</i>		+			1	2				6
<i>Planktolyngbya limnetica</i>		+							+	
<i>Planktolyngbya sp.</i>					7	1				
<i>cf. Planktolyngbya sp.</i>				2						
<i>Planktothrix agardhii</i>	52	86	82	75	75	73	63	89	82	69
<i>Pseudanabaena limnetica</i>				6				+		
<i>Pseudanabaena mucicola</i>	3		P							
<i>Pseudanabaena sp.</i>	+		4		2		6			
<i>Romeria sp.</i>						1				
<i>Synechocystis sp.</i>	+									
tenké oscilatoriální sinice							+			
<i>Woronichinia naegeliana</i>			2							
<i>Planktothrix agardhii</i>										
počet bodů	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
úspěšnost	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
sporný výsledek										
<i>Microcystis aeruginosa</i>										
počet bodů	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
úspěšnost	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
sporný výsledek										

SZÚ - Státní zdravotní ústav

Příloha č. 4: Výsledky účastníků - kvalitativní rozbor sinic - vzorek 2D

Taxon	1208	1221	1255	1281	1301	1305	1329	1342	1350	SZÚ
<i>Aphanothece sp.</i>					+					
<i>Coelomoron sp.</i>	24									
<i>Dolichospermum lemmermannii</i>		90	85	86	95	75	87	84	79	80
<i>Dolichospermum sp.</i>	40									
<i>cf. Gomphosphaeria sp.</i>				1						
<i>Chroococcus sp.</i>							+			
<i>Limnococcus cf. dispersus</i>			+							
<i>Limnococcus limneticus</i>									+	
<i>Merismopedia cf. glauca</i>			3							
<i>Merismopedia cf. vangoorii</i>					+					
<i>Merismopedia sp.</i>	8	+							1	+
<i>Microcystis aeruginosa</i>	10	10	12	13	3	5	13	12	20	11
<i>Microcystis cf. ichthyoblabe</i>					1					
<i>Microcystis novacekii</i>					1					
<i>Microcystis cf. novacekii</i>	8									
<i>Microcystis wesenbergii</i>						5		+		
<i>Microcystis sp.</i>	10					15		4		6
<i>Pseudanabaena mucicola</i>	P		P		P		P			P
<i>Synechocystis sp.</i>	+									
<i>Tychonema sp.</i>	+									4
<i>Dolichospermum lemmermannii</i>										
počet bodů	3	5	5	5	5	5	5	5	5	
úspěšnost	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
sporný výsledek										

SZÚ - Státní zdravotní ústav

Hodnocení: + v pořádku; - nedostatečné; ? s výhradami

Příloha č. 5: Slovní popis mikroskopického nálezu ve vzorcích 1A a 1B

Podbarveny jsou chyby ve jménech a případný komentář SZÚ. Hodnocení: + v pořádku; - nedostatečné; ? s výhradami

kód			vzorek 1B	
36	Ve vzorku dominovaly řasy, především rozsivky rodu <i>Nitzschia</i> (<i>N. acicularis</i> ?) a centrické rozsivky, méně pak zelené řasy a skrytěny. Ze sinic byly zastoupeny především sinice s tenkými vlákny (<i>Pseudanabaena</i>), méně pak <i>Planktothrix</i> a <i>Microcystis</i> .	+	Ve vzorku dominovaly kokální sinice <i>Woronichinia naegeliana</i> a <i>Microcystis</i> spp. Dále zastoupeny rozsivky <i>Fragilaria crotonensis</i> , krásivky (<i>Staurastrum</i> , <i>Cosmarium</i>), zelený bičíkovec <i>Pandorina</i> .	+
1208	90% zelené řasy a 10% sinice. Řasy: 1-dominantní: <i>Fragilaria</i> sp., <i>Acanthosphaera</i> sp., rozsivky <i>Centrales</i> (<i>Cyclotella</i> sp., <i>Stephanodiscus</i> sp., <i>Aulacoseira</i> sp.), <i>Desmodesmus quadricauda</i> , <i>Desmodesmus</i> sp., krásnoočka <i>Euglena</i> sp., <i>Phacus</i> sp. 2- menší výskyt: <i>Cryptomonas</i> sp., <i>Flagellata apochromatica</i> sp., <i>Micratinium</i> sp., <i>Pandorina</i> sp., <i>Monoraphidium</i> sp., vířníci, slunivky, <i>Trachelomonas</i> sp., <i>Oocystis</i> sp., zelenivky. 3- ojediněle výskyt: nálevníci, navicla sp., <i>Cymbella</i> sp., <i>Pediastrum</i> sp., <i>Goniochloris</i> sp., <i>Kirchneriella</i> sp. Sinice dominantní <i>Microcystis</i> sp., <i>Microcystis wesenbergii</i> a dále vláknité sinice, drobné buňky, blíže neurčeno.	+	87% zelené řasy a 13% sinice. Řasy: 1-dominantní: rozsivky <i>Fragilaria crotonensis</i> , zelené řasy <i>Staurastrum tetracerum</i> , bezbarvý bičíkovec <i>Flagellata aspochromatica</i> . 2- menší výskyt: <i>Pandorina</i> sp., <i>Coelastrum</i> sp., <i>Oocystis</i> sp., <i>Chlamydomonas</i> sp., <i>Karettella cochlearis</i> , <i>Cymbella</i> sp., <i>Cryptomonas</i> sp., <i>Trachelomonas</i> sp., <i>Navicula</i> sp., <i>Cosmarium</i> sp., <i>Scenedesmus</i> sp. 3- ojediněle výskyt: <i>Mallomonas</i> sp., <i>Slunivka</i> , <i>Penium</i> sp., <i>Pediastrum duplex</i> , <i>Aulacoseira</i> sp., <i>Closterium</i> sp., <i>Goniochloris</i> sp. Sinice dominantní <i>Woronichinia naegeliana</i> a dále méně <i>Snowella</i> sp., <i>Oscillatoria</i> sp., <i>Microcystis</i> sp., <i>Dolichospermum</i> sp., <i>Merismopedia</i> sp., <i>Synechocystis</i> sp.	+
1221	Ve vzorku dominuje rozsivka (<i>Bacillariophyceae</i>) <i>Nitzschia gracilis</i> a skrytěny rodu <i>Cryptomonas</i> . Byl zjištěn výskyt sinic (<i>Cyanobacteria</i>) při dominanci vláknitých druhů <i>Pseudanabaena</i> cf. <i>limnetica</i> a <i>Planktothrix agardhii</i> s příměsí kokální sinice rodu <i>Microcystis</i> .	+	Ve vzorku se vyskytují kokální sinice s dominancí druhu <i>Woronichinia naegeliana</i> . Dále byly zjištěny druhy <i>Microcystis</i> cf. <i>ichthyoblabe</i> a <i>M. aeruginosa</i> . Z řas dominují skrytěny (<i>Cryptophyceae</i>) rodu <i>Cryptomonas</i> a rozsivka <i>Fragilaria crotonensis</i> .	+
1255	Početní dominantu ve vzorku tvořily rozsivky (<i>Chromophyta</i> , třída <i>Bacillariophyceae</i>), konkrétně <i>Nitzschia acicularis</i> a centrické druhy. Dále se ve vzorku hojně vyskytovala různá <i>Chlorophyta</i> (e.g. <i>Golenkinia radiata</i> , <i>Desmodesmus</i> sp., <i>Monoraphidium</i> sp., <i>Schroederia</i> sp.), <i>Cryptophyta</i> (<i>Cryptomonas</i> sp.) a <i>Euglenophyta</i> . Sinice (<i>Cyanobacteria</i>) byly zastoupeny dvěma vláknitými druhy (<i>Pseudanabaena limnetica</i> a <i>Planktothrix agardhii</i>) a koloniálním druhem <i>Coelomonoron</i> sp.	+	Ve vzorku dominovaly koloniální sinice <i>Woronichinia naegeliana</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i> a <i>Microcystis</i> cf. <i>ichthyoblabe</i> . Z dalších druhů sinic byly ve vzorku nalezeny <i>Microcystis</i> cf. <i>viridis</i> a <i>Pseudanabaena</i> sp. Dále se ve vzorku vyskytovaly penátní rozsivky (<i>Fragilaria crotonensis</i> , <i>Nitzschia acicularis</i> , <i>Cymbella</i> sp.) a řidčeji také zástupci oddělení <i>Chlorophyta</i> (e.g. <i>Eudorina</i> sp., <i>Staurastrum</i> sp., <i>Coelastrum</i> sp.), <i>Cryptophyta</i> (<i>Cryptomonas</i> sp.) a <i>Euglenophyta</i> (<i>Trachelomonas</i> sp.)	+
1281	Ve vzorku dominují penátní rozsivky <i>Nitzschia acicularis</i> , méně hojně jsou centrické rozsivky, skrytěny (<i>Cryptomonas</i> sp.) a chlorokokální řasy. Byl zjištěn výskyt sinic, zejména vláknité druhy <i>Pseudanabaena limnetica</i> a <i>Planktothrix agardhii</i> , méně kolonie tvoří druhy rodu <i>Microcystis</i> a <i>Snowella</i> .	+	Ve vzorku dominují skrytěny (<i>Cryptomonas</i> sp.) a penátní rozsivky (<i>Fragilaria crotonensis</i>). Byly zjištěny sinice, zejména <i>Woronichinia naegeliana</i> a rod <i>Microcystis</i> , jiné druhy jen jako příměs.	+
1301	Jako dominantní složka vegetačního zákalu jsou ve vzorku rozsivky: <i>Nitzschia</i> cf. <i>acicularis</i> , <i>Cyclotella meneghiniana</i> a <i>Stephanodiscus</i> spp. Hojně jsou také chlorokokální řasy (rody <i>Golenkinia</i> , <i>Micratinium</i> a <i>Desmodesmus</i>), skrytěny (rod <i>Cryptomonas</i>) a krásnoočka (rod <i>Euglena</i>). Sinice jsou zastoupeny především vláknitými morfotypy (rody <i>Limnothrix</i> a <i>Planktolyngbya</i>) a netvoří "sensu stricto" vodní květ. Ostatní planktonní sinice jsou ve vzorku zastoupeny řidče (rod <i>Microcystis</i>) až ojediněle (<i>Pseudanabaena</i> sp. a <i>Planktothrix agardhii</i>).	+	Vodní květ ve vzorku tvoří kokální sinice <i>Woronichinia naegeliana</i> a rodu <i>Microcystis</i> (viz níže). Hojně je zastoupena také endogleická sinice <i>Pseudanabaena mucicola</i> . Ostatní planktonní sinice jsou ve vzorku řidče až ojediněle (<i>Dolichospermum crassum</i> , <i>Dolichospermum</i> sp. a <i>Aphanizomenon</i> sp.). Významnou složkou společenstva fytoplanktonu jsou dále rozsivky (<i>Fragilaria crotonensis</i> a <i>Cymbella</i> sp.) a skrytěny (rody <i>Cryptomonas</i> a <i>Rhodomonas</i>). Nepoččetně jsou zastoupeny zelené řasy (např. rod <i>Eudorina</i> , <i>Planktosphaeria</i> a <i>Oocystis</i>) a krásnoočka (rod <i>Trachelomonas</i>).	+
1305	Ve vzorku významně dominantní rozsivky r. <i>Nitzschia</i> a zelená řasa <i>Golenkinia radiata</i> , dále se v menší míře vyskytovaly další zelené řasy rodů <i>Pandorina</i> , <i>Micratinium</i> , <i>Desmodesmus</i> , <i>Monoraphidium</i> , <i>Gonium</i> , <i>Pediastrum</i> a <i>Scenedesmus</i> . Zastoupeny dvojčátkovité řasy (r. <i>Staurastrum</i>), z euglenophyt se vyskytovaly řasy rodů <i>Euglena</i> , <i>Trachelomonas</i> a <i>Phacus</i> . Ze skupiny skrytěk zastoupeny rody <i>Rhodomonas</i> a <i>Cryptomonas</i> . V kvalitativním rozboru detekovány sinice druhů <i>Pseudanabaena limnetica</i> , <i>Planktothrix agardhii</i> , <i>Coelomonoron pusillum</i> , <i>Limnothrix redekei</i> , <i>Snowella</i> cf. <i>lacustris</i> a rodů <i>Merismopedia</i> a <i>Microcystis</i> . Nalezeni byli i bezbarví bičíkovci.	+	Ve vzorku dominovaly sinice rodů <i>Microcystis</i> a <i>Woronichinia</i> a planktonní rozsivka <i>Fragilaria crotonensis</i> . Ze sinic bylo nalezeno ještě několik vláken <i>Limnothrix redekei</i> , <i>Aphanizomenon</i> sp. a <i>Anabaena</i> sp. Ve vzorku se dále vyskytovaly kryptomonády, bezbarví bičíkovci, dvojčátkovité řasy (<i>Staurastrum</i> , <i>Cosmarium</i>). Zelené řasy nehojně; zastoupeny bičíkovci r. <i>Pandorina</i> , <i>Eudorina</i> , <i>Chlamydomonas</i> , dále chlorokokální <i>Tetraedron</i> , <i>Scenedesmus</i> , <i>Desmodesmus</i> . Nepříliš hojně zastoupeny další planktonní rozsivky - <i>Asterionella formosa</i> , <i>Aulacoseira</i> sp. ve vzorku dále nalezeny nárostové rozsivky rodů <i>Encyonema</i> , <i>Navicula</i> a <i>Caloneis</i> . Ze skupiny krásnooček nalezeny trachelomonády. 1 ks <i>Alona</i> sp. a několik vířníků.	+

kód	vzorek 1B			
1329	<p>Mikroskopický obraz: Ve vzorku dominovaly penátní rozsivky rodu <i>Nitzschia</i>, zelené řasy (<i>Desmodesmus</i> sp., cf. <i>Acanthosphaera</i> sp., <i>Monoraphidium contortum</i>), skrytěnky (<i>Cryptomonas</i> sp.) a centrické rozsivky. Méně se vyskytovaly vláknité sinice a ojediněle sinice kokální (viz níže).</p> <p>Sinice: dominovaly vláknité sinice, zřejmě druh <i>Pseudanabaena limnetica</i>. V menším množství se vyskytoval druh <i>Planktothrix agardhii</i> a tenká vlákna vypadající jako oscilatoriální sinice (cca 10 000 buněk/ml), ale vlákna nevykazovala fluorescenci (viz foto v příloze), jednalo se tedy zřejmě o bakteriální vlákna. Z kokálních sinic byl zaznamenán výskyt druhů <i>Microcystis wesenbergii</i> a <i>Microcystis aeruginosa</i>.</p>	+	<p>Mikroskopický obraz: Ve vzorku dominovaly kokální sinice (viz níže). Z ostatních planktonních organismů se vyskytovaly skrytěnky rodu <i>Cryptomonas</i>, penátní rozsivky <i>Fragilaria crotonensis</i>, ojediněle spájivky rodu <i>Closterium</i> a <i>Staurastrum</i>.</p> <p>Sinice: nejhojněji byl zastoupen druh <i>Woronichinia naegeliana</i>. V menším množství se vyskytovaly různé druhy rodu <i>Microcystis</i> -nejhojněji <i>Microcystis aeruginosa</i>, méně <i>Microcystis ichthyoblabe</i> a ojediněle <i>M. wesenbergii</i>. Ojediněle zaznamenán také výskyt kokální sinice rodu <i>Chroococcus</i>.</p>	+
1342	<p>Mikroskopický obraz: početný fytoplankton, stanoven 27026 jedinců v 1 ml. Dominovaly rozsivky, z nich centrické rozsivky 1200, penátní, převážně <i>Nitzschia acicularis</i> 19120. Dále zastoupeny Chlorophyceae, převážně Chlorococcales 2520, kryptomonády 2960. Sinice jsou zastoupeny vláknitými typy, druhy <i>Pseudanabaena limnetica</i> 1093 jedinců v 1 ml a <i>Planctothrix agardhii</i> 133 jedinců v 1 ml.</p>	+	<p>Mikroskopický obraz: chudý fytoplankton, stanoven 1330 jedinců v 1 ml. Zastoupeny zejména drobné kryptomonády a rozsivky (<i>Fragilaria crotonensis</i>), dále zastoupeny zelené řasy a dvočatky. Ze skupiny sinic dominuje druh <i>Woronichinia naegeliana</i>, méně <i>Microcystis</i> sp.div.. Vláknité sinice zastoupeny ojediněle.</p>	+
1350	<p>Dominantou biomasy jsou skrytěnky rodu <i>Cryptomonas</i> a penátní rozsivka <i>Nitzschia gracilis</i>.</p>	+	<p>Hlavní dominantou fytoplanktonu je - mimo sinice - rozsivka <i>Fragilaria crotonensis</i>, dále významněji koloniální bičíkovec <i>Eudorina elegans</i> a krásivka <i>Staurastrum manfeldtii</i>.</p>	+

Příloha č. 6: Kvalitativní rozbor sinic - souhrnné hodnocení účastníků**Body**

vzorek	taxon	kód účastníka									
		1208	1221	1255	1281	1301	1305	1329	1342	1350	MAX
2A	<i>Cuspidothrix issatschenkoi</i>	0	5	0	2	3	0	5	5	4	5
2B	<i>Aphanizomenon</i>	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
2B	<i>Microcystis aeruginosa</i>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2B	<i>Microcystis wesenbergii</i>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2C	<i>Planktothrix agardhii</i>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2C	<i>Microcystis aeruginosa</i>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2D	<i>Dolichospermum lemmermannii</i>	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1A	tenké vláknité sinice	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
1B	<i>Woronichinia naegeliana</i>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1B	<i>Microcystis</i> spp.	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Celkem		37	44	39	41	42	39	44	44	43	44

Dostatečné určení

vzorek	taxon	kód účastníka									
		1208	1221	1255	1281	1301	1305	1329	1342	1350	MAX
2A	<i>Cuspidothrix issatschenkoi</i>	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+
2B	<i>Aphanizomenon</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2B	<i>Microcystis aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2B	<i>Microcystis wesenbergii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2C	<i>Planktothrix agardhii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2C	<i>Microcystis aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2D	<i>Dolichospermum lemmermannii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1A	tenké vláknité sinice	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1B	<i>Woronichinia naegeliana</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1B	<i>Microcystis</i> spp.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Celkem		9	10	9	10	10	9	10	10	10	10

Výsledná úspěšnost	kód účastníka									
	1208	1221	1255	1281	1301	1305	1329	1342	1350	
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

K úspěchu v kvalitativním rozboru sinic musel účastník získat alespoň 36 bodů ze 44 možných a zároveň dostatečně určit z 10 hodnocených taxonů alespoň 9.

Příloha č. 7: Soupis determinační literatury používané účastníky

Publikace	1208	1221	1255	1281	1301	1305	1329	1342	1350	Celkem
Hindák F. a kol. (1978)	X	X	X	X			X	X	X	7
Komárek J. (1996)	X	X		X	X		X	X	X	7
Hindák F. (2008)	X				X	X	X	X		5
Komárek J. & Anagnostidis, K. (2005)		X	X		X		X		X	5
Komárek J. & Anagnostidis K. (1999)		X	X		X		X		X	5
Hindák, F. (2001)		X		X			X			3
Komárek J. (1999)		X			X		X			3
Šejnohová L. a kol. (2005)			X			X	X			3
Komárek J (2013)			X		X		X			3
Hindák, F. a kol. (1975)		X		X						2
John, D., M., a kol. (2005)					X	X				2
Sládeček V. a Sládečková A. (1996)	X									1
www.cyanodb.cz		X								1
www.sinicearasy.cz							X			1
Li, Watanabe, Watanabe (2000)					X					1
Joosten (2006)					X					1
Komárek, Komárková (2006)					X					1
Komárek, Zapomělová (2008)					X					1
Komárek J., Komárková J. (2002)					X					1
Komárek J., Zapomělová E. (2007)					X					1

Poznámka: Do soupisu byly zahrnuty pouze publikace k určování sinic.

Citace:

Hindák F (2001): Fotografický atlas mikroskopických sinic. Veda, Bratislava.

Hindák F (2008): Colour Atlas of Cyanophytes, Veda, Bratislava.

Hindák F a kol. (1975): Klíč na určování výtrusných rostlin, díl 1. - Riasy, SPN Bratislava.

Hindák F a kol. (1978): Sladkovodné riasy, SPN, Bratislava.

John DM a kol. (2005): The freshwater algal flora of British Isles.

Joosten T (2006): Flora of the blue-green algae of the Netherlands. I The non-filamentous species of inland waters.

Komárek J & Anagnostidis K (1999): Cyanoprokaryota 1. Teil Chroococcales, in Süßwasserflora von Mitteleuropa Band 19/1, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Komárek J & Anagnostidis K (2005): Cyanoprokaryota 2. Teil Oscillatoriales, in Süßwasserflora von Mitteleuropa Band 19/2, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Komárek J & Komárková J (2002): Review of the European Microcystis morphospecies (Cyanoprokaryotes) from nature. (Přehled evropských přírodních druhů rodu r. Microcystis (Cyanoprokaryota)). - Czech Phycology 2: 1-24.

Komárek J & Komárková J (2006): Diversity of Aphanizomenon-like cyanobacteria, Czech Phycology 2006: 1-32.

Komárek J & Zapomělová E (2007): Planktic morphospecies of the cyanobacterial genus Anabaena = subg. Dolichospermum – 1. part: coiled types. Fottea 7(1): 1-31.

Komárek J & Zapomělová E (2008): Planktic morphospecies of the cyanobacterial genus Anabaena = subg. Dolichospermum – 2. part: straight types, Fottea 8 (1): 1-14.

Komárek J (1996): Klíč k určování vodních květů sinic v České republice. - pp. 22-85 in Maršálek et al.: Vodní květy sinic. Nadtatio Flos-aquae, Brno.

Komárek J (1999): Přehled planktonních sinic v povodí Labe. Mezinárodní komise pro ochranu Labe, Magdeburk.

Komárek J (2013): Cyanoprokaryota 3. Teil Nostocales, in Süßwasserflora von Mitteleuropa Band 19/3, Spektrum Akademischer Verlag.

Li R, Watanabe M, Watanabe MM (2000): Taxonomic studies of planktic species of Anabaena based on morphological characteristics in cultured strains. Hydrobiologia 438(1): 117-138.

Sládeček V & Sládečková A (1996): Atlas vodních organismů se zřetelem na vodárenství, povrchové vody a čistírny odpadních vod, I. díl, ČSVTS vodohospodářská Praha.

Šejnohová L a kol. (2005): Interaktivní klíč k určování sinic vodních květů, BÚ AV ČR & MU Brno, CD.

www.cyanodb.cz

www.sinicearasy.cz

Příloha č. 8: Z-skóre pro kvantitativní stanovení sinic v buňkách/ml**Tabulka Z-score pro kvantitativní rozbor sinic - vz. 1A (buňky)**

terč, účastník

V	lab	výsledek (buňky/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1255	28790	-1.26					■				
X	1305	33412	-0.82				■					
X	1301	34110	-0.75				■					
X	1281	37785	-0.40				■					
X	36	49000	0.66					■				
X	1221	49028	0.67					■				
X	1350	49275	0.69					■				
X	1329	54854	1.22					■				

počet laboratoří: 8

z toho vyhovuje: 8

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 42032 buňky/ml

vztažná odchylka: ±50%

interval správných hodnot: 21016 - 63048 buňky/ml

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

terč, účastník

V	lab	výsledek (buňky/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1281	130840	-1.27				■					
X	1305	144400	-0.98				■					
X	1221	180960	-0.22				■					
X	1350	194050	0.05					■				
X	1329	196300	0.10					■				
X	36	197000	0.11					■				
X	1301	203500	0.25					■				
X	1255	278000	1.81					■				

počet laboratoří: 8

z toho vyhovuje: 8

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 191533 buňky/ml

vztažná odchylka: ±50%

interval správných hodnot: 95767 - 287300 buňky/ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Příloha č. 9: Z-skóre pro kvantitativní stanovení sinic v objemové biomase**Vzorek 1A vyhodnocen pouze orientačně – není součástí přílohy certifikátu****Tabulka Z-score pro kvantitativní rozbor sinic - vz. 1A (objemová biomasa)**

V	lab	výsledek (mm ³ /l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
?	1301	0.33	-2.04			■						
X	1255	0.52	-0.93			■						
X	36	0.57	-0.64			■						
X	1305	0.58	-0.61			■						
X	1281	0.68	0.00					■				
X	1350	0.82	0.85					■				
!	1329	1.30	3.67					■				
!	1221	1.57	5.27					■				

počet laboratoří: 8

z toho vyhovuje: 5

z toho nevyhovuje: 3

vztažná hodnota: 0,678 mm³/l

vztažná odchylka: ±50%

interval správných hodnot: 0,34 - 1,02 mm³/l**Tabulka Z-score pro kvantitativní rozbor sinic - vz. 1B (objemová biomasa)**

V	lab	výsledek (mm ³ /l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1221	4.45	-0.83				■					
X	1329	4.96	-0.47				■					
X	1350	5.22	-0.29				■					
X	1301	5.38	-0.17				■					
X	36	5.72	0.07					■				
X	1281	5.94	0.23					■				
X	1305	6.75	0.80					■				
!	1255	15.15	6.78					■				

počet laboratoří: 8

z toho vyhovuje: 7

z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 5,62 mm³/l

vztažná odchylka: ±50%

interval správných hodnot: 2,81 - 8,43 mm³/l

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Příloha č. 10: Z-skóre pro ukazatele chlorofyl-a a feopigmenty ve vzorku 3A**Tabulka Z-score pro chlorofyl-a vzorek 3A**

terč, účastník

V	lab	výsledek (µg/l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1301	65.6	-1.36									
X	1221	69.0	-0.82									
X	1255	71.8	-0.36									
X	36	73.6	-0.08									
X	1305	74.5	0.06									
X	1350	74.5	0.06									
X	1281	77.0	0.46									
X	1329	77.6	0.56									
X	1337	82.1	1.27									

počet laboratoří: 9

z toho vyhovuje: 9

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 74,1 µg/l

vztažná odchylka: ±17%

interval správných hodnot: 61,503 - 86,697 µg/l

Tabulka Z-score pro feopigmenty vzorek 3A

terč, účastník

V	lab	výsledek (µg/l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1305	25.5	-0.71									
X	1301	25.9	-0.66									
X	1337	26.6	-0.55									
X	1329	28.0	-0.31									
X	36	29.5	-0.08									
X	1221	30.6	0.09									
X	1281	32.0	0.32									
X	1255	39.9	1.56									
X	1350	42.0	1.90									

počet laboratoří: 9

z toho vyhovuje: 9

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 30 µg/l

vztažná odchylka: ±42%

interval správných hodnot: 17,4 - 42,6 µg/l

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Příloha č. 11: Z-skóre pro ukazatele chlorofyl-a a feopigmenty ve vzorku 3B**Tabulka Z-score pro chlorofyl-a vzorek 3B**

terč, účastník

V	lab	výsledek (µg/l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
?	1255	7.0	-2.12									
X	1221	9.5	-0.52									
X	1301	9.7	-0.42									
X	36	10.0	-0.19									
X	1305	10.1	-0.13									
X	1337	10.5	0.10									
X	1281	11.5	0.78									
X	1350	13.3	1.94									
?	1329	13.6	2.12									

počet laboratoří: 9

z toho vyhovuje: 7

z toho nevyhovuje: 2

vztažná hodnota: 10,3 µg/l

vztažná odchylka: ±30%

interval správných hodnot: 7,21 - 13,39 µg/l

Tabulka Z-score pro feopigmenty vzorek 3B

terč, účastník

V	lab	výsledek (µg/l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
?	1329	2.1	-2.81									
X	1305	5.8	-0.39									
X	1221	5.9	-0.33									
X	1337	5.9	-0.33									
X	1281	6.0	-0.26									
X	36	6.8	0.29									
X	1301	7.0	0.36									
X	1255	7.3	0.59									
X	1350	8.1	1.11									

počet laboratoří: 9

z toho vyhovuje: 8

z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 6,4 µg/l

vztažná odchylka: ±48%

interval správných hodnot: 3,328 - 9,472 µg/l

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Příloha č. 12: Stanovení chlorofylu a sinic pomocí fluorescence

vzorek	Kód	Chlorofyl (µg/l)	Sinice (µg/l)
3A	1255	62	7,18
	SZU	45,2	20,3
3B	1255	10,56	2,3
	SZU	12,1	4,4

Metody:

1255 - AlgaeOnlineAnalyser, BBE Molksdaenke,

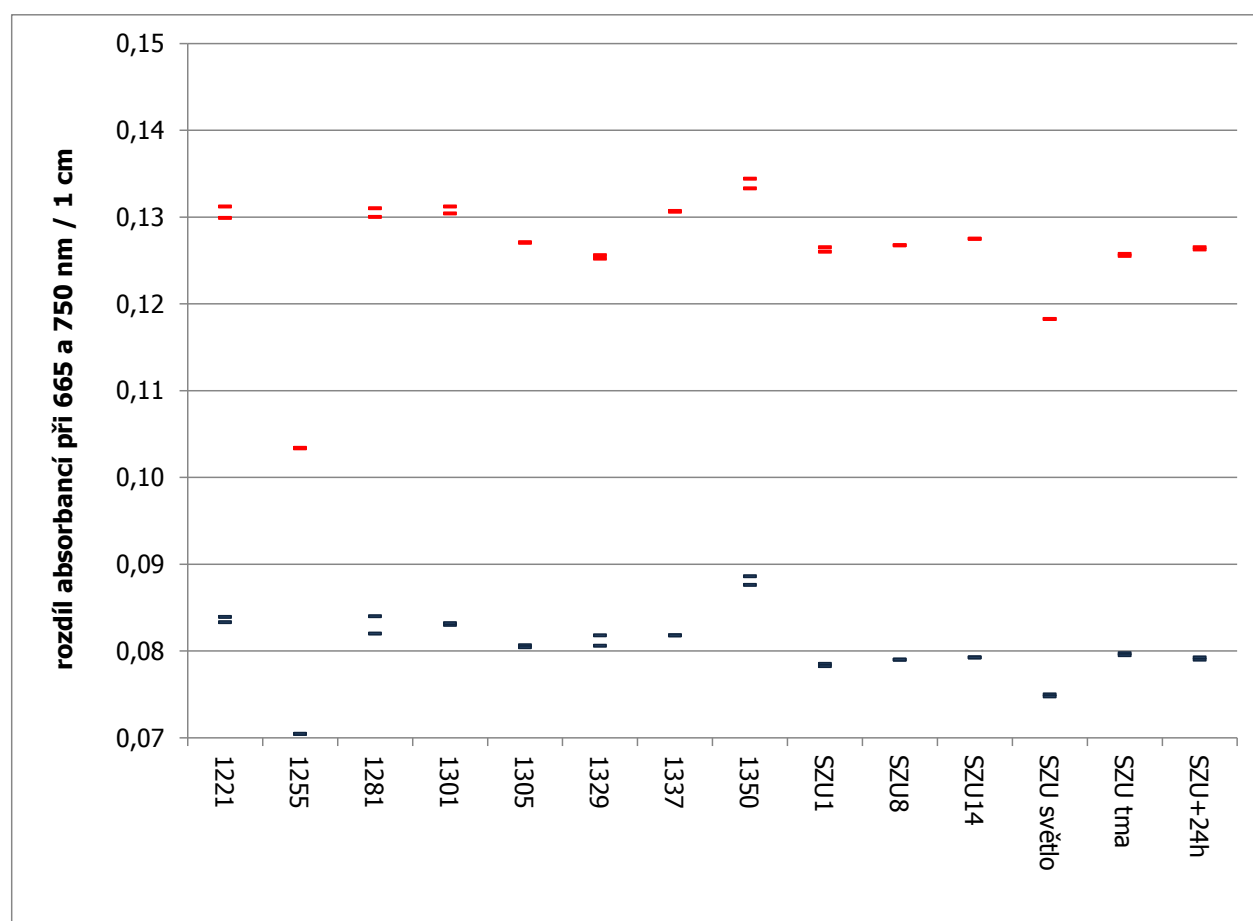
SZU - AquaPen-C AP-C 100 (PSI) – k měření koncentrací chlorofylu-a doposud plně nevalidovaný postup

Příloha č. 13: Souhrnné hodnocení výkonnosti účastníků

ukazatel	Kód									
	1208	1221	1255	1281	1301	1305	1329	1337	1342	1350
kvantitativní rozbor sinic - vz. 1A (buňky)	X	●	●	●	●	●	●	X	X	●
kvantitativní rozbor sinic - vz. 1B (buňky)	X	●	●	●	●	●	●	X	X	●
kvantitativní rozbor sinic - vz. 1B (objemová biomasa)	X	●	○	●	●	●	●	X	X	●
kvalitativní rozbor sinic	+	+	+	+	+	+	+	X	+	+
mikroskopický obraz	+	+	+	+	+	+	+	X	+	+
chlorofyl-a - vz. 3A	X	●	●	●	●	●	●	●	X	●
feopigmenty - vz. 3A	X	●	●	●	●	●	●	●	X	●
chlorofyl-a - vz. 3B	X	●	⊙	●	●	●	⊙	●	X	●
feopigmenty - vz. 3B	X	●	●	●	●	●	⊙	●	X	●

Legenda

●	z-score $ z \leq 2$
⊙	z-score $2 < z < 3$
○	z-score $ z \geq 3$
?	výsledek nemohl být zpracován
+	vyhovuje
-	nevyhovuje
x	výsledek nedodán

Příloha č. 14: Výsledky měření extraktů (vzorek 4)

Červené značky představují rozdíl absorbancí při 665 a 750 nm, který byl přepočítaný na optickou dráhu kyvety 1 cm před okyselením vzorku. Modré totéž po okyselení.