



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
ORGANIZÁTOR PROGRAMŮ ZKOUŠENÍ ZPŮSOBILOSTI AKREDITOVANÝ ČIA, REG.Č. 7001
Šrobárova 48, 100 42 Praha 10 – Vinohrady
Tel. 267 082 220, e-mail: ppumann@szu.cz, internet <http://www.szu.cz/pzz-voda>



PROGRAM ZKOUŠENÍ ZPŮSOBILOSTI LABORATOŘÍ

PT#V/9/2010

**STANOVENÍ MIKROSKOPICKÉHO OBRAZU
V KOUPALIŠTÍCH VE VOLNÉ PŘÍRODĚ,
STANOVENÍ SINIC
A STANOVENÍ CHLOROFYLU-A**

PRAHA, LISTOPAD 2010

ZAŘAZENO DO NÁRODNÍHO PROGRAMU ZKOUŠENÍ ZPŮSOBILOSTI LABORATOŘÍ

Obsah

Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT # V/9/2010	2
1 Úvod.....	3
2 Obecný přístup k hodnocení ukazatelů	3
2.1 Kvalitativní rozbor	3
2.2 Kvantitativní ukazatele.....	3
3 Podrobný rozbor výsledků	3
3.1 Kvalitativní stanovení.....	3
3.1.1 Kvalitativní stanovení sinic ve vzorcích 2 A-D	4
3.1.2 Kvalitativní stanovení fytoplanktonu ve vzorcích 1A a 1B	4
3.1.3 Chyby ve jménech	5
3.1.4 Použitá determinační literatura	5
3.2 Kvantitativní stanovení sinic	5
3.2.1 Vzorek 1A	5
3.2.2 Vzorek 1B	5
3.2.3 Stanovení objemové biomasy	5
3.3 Stanovení chlorofylu-a a feopigmentů	6
Příloha č. 1 - Výsledky účastníků - kvalitativní rozbor sinic - vzorek 2A	7
Příloha č. 2 - Výsledky účastníků - kvalitativní rozbor sinic - vzorek 2B	7
Příloha č. 3 - Výsledky účastníků - kvalitativní rozbor sinic - vzorek 2C	8
Příloha č. 4 - Výsledky účastníků - kvalitativní rozbor sinic - vzorek 2D.....	9
Příloha č. 5: Slovní popis mikroskopického nálezu ve vzorcích 1A a 1B.....	10
Příloha č. 6: Kvalitativní rozbor sinic - souhrnné hodnocení účastníků	11
Příloha č. 7: Soupis determinační literatury používané účastníky	12
Příloha č. 8: Z-skóre pro kvantitativní stanovení sinic v buňkách/ml	13
Příloha č. 9: Z-skóre pro kvantitativní stanovení sinic v objemové biomase.....	14
Příloha č. 10: Z-skóre pro ukazatele chlorofyl-a a feopigmenty ve vzorku 3A	15
Příloha č. 11: Z-skóre pro ukazatele chlorofyl-a a feopigmenty ve vzorku 3B	16
Příloha č. 12: Souhrnné hodnocení výkonnosti účastníků	17
Příloha č. 13: Výsledky měření extraktů (vzorek 4)	17

Program zkoušení způsobilosti PT#V/9/2010 byl zaměřen na stanovení sinic v koupalištích ve volné přírodě podle ČSN 75 7717 a chlorofylu-a a feopigmentů podle ČSN ISO 10260 pro účely vyhlášky č. 252/2004 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 Pumann, Tereza Pouzarová

V Praze dne 11.11.2010

Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT # V/9/2010

Název: Stanovení mikroskopického obrazu v koupalištích ve volné přírodě, stanovení sinic a stanovení chlorofylu-a
Označení: PT#V/9/2010
Účel: Stanovení mikroskopického obrazu a sinic v koupalištích ve volné přírodě podle ČSN 75 7717 a chlorofylu-a a feopigmentů podle ČSN ISO 10260 pro účely vyhlášky č. 252/2004 Sb.
Organizátor: Státní zdravotní ústav, Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti Šrobárova 48, Praha 10, 100 42; tel.: + 420 267082220, fax.: + 420 267082271, e-mail: ppumann@szu.cz , internet: http://www.szu.cz/pzz-voda
Vedoucí ESPT: Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor: Mgr. Petr Pumann
Charakteristika materiálu: Vzorek 1A – povrchová voda s přidaným vodním květem; Vzorek 1B – povrchová voda; Vzorek 2A, 2B, 2C, 2D – formálně konzervované vzorky sinic; Vzorek 3A a 3B – částečně filtrovaná povrchová voda; Vzorek 4 – etanolový extrakt ze vzorků vodních květů
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 17 vzorkovnic po cca 90 ml; vzorky 2A-D (kvalitativní rozbor sinic) - připraveno 11 vzorkovnic po cca 1ml; vzorky 3A a 3B (chlorofyl-a a feopigmenty) – připraveno 15 vzorkovnic po cca 2l; vzorek 4 (extrakt) – připraveno 14 vzorkovnic po 30 ml.
Označení vzorkovnic: PT#V/9/2010 Vzorek 1A a 1B - Stanovení mikroskopického obrazu v koupalištích ve volné přírodě a stanovení sinic; PT#V/9/2010 Vzorek 2A - 2D - Stanovení sinic; PT#V/9/2010 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 (vždy 4 vzorkovnice). Vzorkovnice byly vybírány rovnoměrně v celém průběhu plnění. Vzorky 2A – D 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, vzorek 2A-D bez zvláštních požadavků na přepravu a uchování.
Počet účastníků: mikroskopický obraz a sinice - 10, chlorofyl-a - 9
Způsob distribuce: Osobní převzetí účastnickou laboratoří 14.9.2010. Přílohy: Pokyny pro zpracování vzorků a formulář pro zápis výsledků. Tyto dokumenty byly v elektronické podobě volně k dispozici na internetu.
Předání výsledků: Písemně do 1.10.2010 poštou a/nebo v elektronické podobě e-mailem.
Určení přijaté vztažné hodnoty a způsob vyhodnocení výsledků:
Kvantitativní rozbor sinic – stanovení počtu buněk. Vztažná hodnota byla stanovena z výsledků laboratoře SZÚ a dalších 4 (respektive 5) terčovými laboratoří jako robustní aritmetický průměr. Vztažná odchylka byla stanovena na 30% vztažné hodnoty. Vzorek 1A: vztažná hodnota: 310887 buněk/ml, meze pro správné hodnoty: 124355 – 497420 buněk/ml Vzorek 1B: vztažná hodnota: 138392 buněk/ml, meze pro správné hodnoty: 53357 – 221427 buněk/ml
Kvantitativní rozbor sinic – stanovení objemové biomasy. Vztažná hodnota byla stanovena jako robustní aritmetický průměr z výsledků laboratoře SZÚ a všech účastníků, kteří v tomto ukazateli dodali výsledky; vztažná odchylka jako robustní směrodatná odchylka z výsledků stejných laboratoří. Vzorek 1A: vztažná hodnota: 10,35 mm ³ /l, meze pro správné hodnoty: 3,93 – 16,77 mm³/l Vzorek 1B: vztažná hodnota: 7,81 mm ³ /l, meze pro správné hodnoty: 1,09- 14,53 mm³/l
Kvalitativní rozbor sinic. Hodnoty byly stanoveny podle pravidel SOP č. V/5 direktivně koordinátorem. Dominantní taxony: vzorek 2A – <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> ; vzorek 2B – <i>Microcystis viridis</i> ; vzorek 2C – <i>Planktohyngbya limnetica</i> a <i>Microcystis wesenbergii</i> ; vzorek 2D – <i>Planktothrix agardhii</i> ; vzorek 1A – <i>Microcystis</i> sp.; vzorek 1B – <i>Planktothrix agardhii</i> .
Stanovení chlorofylu-a a feopigmentů. Vztažná hodnota byla stanovena z výsledků laboratoře SZÚ a vybraných terčovými laboratoří jako robustní aritmetický průměr. Vztažná odchylka byla vypočítána jako robustní směrodatná odchylka z výsledků stejných laboratoří. Vzorek 3A: Chlorofyl-a: vztažná hodnota: 34,10 µg/l, meze pro správné hodnoty: 29,0 – 39,2 µg/l ; Feopigmenty: vztažná hodnota: 6,65 µg/l, meze pro správné hodnoty: 3,2 - 8,1 µg/l Vzorek 3B: Chlorofyl-a: vztažná hodnota: 98,00 µg/l, meze pro správné hodnoty: 76,2 – 119,8 µg/l ; Feopigmenty: vztažná hodnota: 27,70 µg/l, meze pro správné hodnoty: 17,0 - 38,4 µg/l
Termín rozeslání zprávy účastníkům: listopad 2010
Termín semináře: 11.11.2010

1 Úvod

Tento program zkoušení způsobilosti je zaměřen na stanovení sinic v koupalištích ve volné přírodě, a to jak na jejich správné určení, tak na jejich mikroskopickou kvantifikaci podle ČSN 75 7717. S problematikou kvantifikace fytoplanktonu také 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.

Doplňující informace k této zprávě (fotodokumentace ke kvalitativnímu rozboru sinic, ve zprávě neuvedená hodnocení apod.) lze získat 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 Obecný přístup k hodnocení ukazatelů

2.1 Kvalitativní rozbor

U každého formálně konzervovaného vzorku (2A - D) a obou vzorků pro kvantifikaci (1A a 1B) byl hodnocen jeden, dva nebo 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. V případě jakýchkoli pochybností o tom, co daná laboratoř považuje za hodnocený taxon, rozhoduje direktivně koordinátor kola.

2.2 Kvantitativní ukazatele

Pro stanovení vztažných hodnot u kvantitativních ukazatelů byly použity výsledky terčových laboratoří. Terčové laboratoře byly vybrány z přihlášených účastníků. Výsledky laboratoře SZÚ (tzn. účastník 232) byly také použity pro stanovení vztažných hodnot. Protože jsme však zpracovávali více vzorků (kvůli kontrole homogenity), byl do souboru pro stanovení vztažných hodnot zařazen aritmetický průměr z těchto stanovení. Vztažná hodnota byla vypočítána jako robustní průměr z výsledků terčových laboratoří (informace o výpočtu robustního průměru a robustní směrodatné odchylky lze najít např. v ČSN ISO 5725-5). Hodnota cílové směrodatné odchylky (σ) byla v tomto PZZ stanovena jako robustní směrodatná odchylka souboru výsledků terčových laboratoří, případně byla na základě uvážení koordinátora rozšířena. Každému výsledku laboratoře je přiřazeno z-skóre vypočítané 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. Z-skóre charakterizuje přesnost dat produkovaných laboratoří a je definováno jako systematická chyba laboratoře vztažená na cílovou hodnotu směrodatné odchylky.

3 Podrobný rozbor výsledků

3.1 Kvalitativní stanovení

Pro úspěšné hodnocení ukazatele kvalitativní rozbor sinic bylo potřeba určit dostatečně všech 7 hodnocených taxonů (5 ve vzorcích 2A - D a po jednom ve vzorcích 1A a 1B) a obdržet alespoň 21 bodů

z 33 možných. Uspěli všichni účastníci. Podrobnou analýzu výsledků pro kvalitativní rozbor lze najít v přílohách č. 1 – 6.

3.1.1 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.

Vzorek 2A

Příprava: Vzorek byl odebrán 3.8.2010 na nádrži Šeberák v Praze - Kunraticích. Do vzorkovnice byla nabrána jedna kolonie velká několik centimetrů.

Hodnocení: Kolonii tvořil *Aphanizomenon flos-aquae*, který sice netvořil akinety ale zato zde mohly být pozorovány koncové buňky „s plazmou ve formě provazce“, což je typický znak, podle něhož je možné odlišit tento „druh“ od *A. klebahnii*. Ve vzorku konzervovaném formalínem již samozřejmě nebylo možné sledovat typické svazečky vláken. Také populaci chyběly akinety, takže určování bylo poněkud ztěženo. S určením měl problém účastník 235, který sice správně určil *Aphanizomenon flos-aquae*, ale zároveň našel významný podíl vláknité sinice *Planktothrix agardhii*, což svědčí o tom, že laboratoř má problémy rozpoznat tyto dva rody u vláken bez akinet a heterocytů. Ve dvou případech byl určen dominantní taxon jako *Aphanizomenon gracile*. Kompletní výsledky lze najít v příloze č. 1.

Vzorek 2B

Příprava: Vzorek byl odebrán z vodního květu dne 5.9.2010 z rybníku Koryto v Dobříši.

Hodnocení: Dominantním a jediným hodnoceným taxonem v tomto vzorku byla *Microcystis viridis*. Ve vzorku se v menší míře vyskytovaly další „druhy“ rodu *Microcystis* - *M. aeruginosa*, *M. wesenbergii* a *M. flos-aquae* nebo *M. ichthyoblabe*. Velikost buněk by spíše svědčila pro *M. ichthyoblabe*, kulaté kolonie pro *M. flos-aquae*. Z vláknitých sinic se vyskytovala nejčastěji *Planktothrix agardhii*. S určením *Microcystis viridis* měli problém dva účastníci. Účastník 235 uvedl jako dominantní *M. aeruginosa* (90%) a *M. viridis* jen jako méně zastoupený taxon (10%), takže pravděpodobně část kolonií zařadil špatně. Účastník 1109 určil vše jako *M. cf. aeruginosa* a do protokolu uvedl: „Některé kolonie zařazené k *Microcystis aeruginosa* se podobají spíše *M. viridis*, ale nemají ostře ohraničené okraje slizu a netvoří zcela zřetelné "balíčky".“ Je pravda, že populace nebyla úplně typická, přesto se spíše kloníme k názoru, že se jednalo o *M. viridis*. Kompletní výsledky lze najít v příloze č. 2.

Vzorek 2C

Příprava: Vzorek byl odebrán dne 31.8.2010 planktonní sítí (průměr ok 20 µm) na jednom z Proboštských jezer u Staré Boleslavi (tzv. Očko).

Hodnocení: Ve vzorku dominovaly sinice *Planktolyngbya limnetica* a významně byla zastoupena též *Microcystis wesenbergii*. S určením *Microcystis wesenbergii* neměl žádný z účastníků problémy. S určením rodu *Planktolyngbya* problémy byly (záměna za jiné rody tenkých vláknitých sinic *Pseudanabaena*, *Limnothrix*, nebo *Leptolyngbya*). U mnoha vláken bylo možno pozorovat typické pochvy, takže o rodovém určení není sporu. Ve vzorku se také v nepřehlédnutelné míře vyskytovala zajímavá sinice, která není uvedena v žádném českém klíči k určování sinic. Jedná se o vláknitou sinici *Anabaena bergii*, která má konce vláken zakončené špičatou buňkou. O něco méně byla zastoupena další v českých klíčích neuváděná sinice *Anabaena tenericaulis*. Pro obrazovou dokumentaci odkazujeme na prezentaci z vyhodnocení kola. Kompletní výsledky lze najít v příloze č. 3.

Vzorek 2D

Příprava: Vzorek byl odebrán dne 13.9.2010 planktonní sítí (průměr ok 20 µm) na rybníku Vrah, což je nádrž mezi sídlištěm Háje a Petrovicemi na jižním okraji Prahy.

Hodnocení: Ve vzorku dominovala sinice *Planktothrix agardhii*. Méně se vyskytovaly další vláknité sinice rodů *Anabaena* a *Aphanizomenon* a kokální sinice rodu *Microcystis*. S určením dominantního taxonu nebyly problémy. Kompletní výsledky lze najít v příloze č. 4.

3.1.2 Kvalitativní stanovení fytoplanktonu ve vzorcích 1A a 1B

Příprava: Příprava vzorků je uvedena v části týkající se kvantitativního stanovení.

Hodnocení: U vzorku 1A jsme požadovali, aby účastník uvedl jako dominantní organismus *Microcystis* sp., u vzorku 1B pak *Planktothrix agardhii*.

Cílem této části programu je také sjednotit formu textové poznámky k ukazateli mikroskopický obraz (z přílohy č. 1 a 2 vyhlášky č. 135/2004 Sb.) pro zápis do IS PiVo. Jejich soupis a náš komentář k nim je uveden v příloze č. 5.

3.1.3 Chyby ve jménech

kód	špatně	správně	počet
161	neageliana	naegeliana	1
	Pseudoanabaena	Pseudanabaena	1
166	flos-aquae	flos-aquae	1
	raciborskii	raciborskii	1
235	agardii	agardhii	3
	flos aquae	flos-aquae	1
	wesenbergii	wesenbergii	1
586	flo-aquae	flos-aquae	1
1110	flos aquae	flos-aquae	1
	Planktorhrix	Planktothrix	1

Tabulka č. 1: Chyby ve jménech *sinic* ve výsledcích účastníků ze vzorků 2. Ve sloupci „Počet“ je uvedeno, kolikrát se chyba u účastníka objevila.

Pravidelným jevem v každém kole tohoto programu jsou chyby v latinských jménech organismů. Ne vždy se jedná o pouhé překlepy vzniklé z nepozornosti při rychlé práci. U sinic se v tomto kole nejčastěji chybovalo ve spojení flos-aquae. Soupis chyb nalezených ve vzorcích 2 je uveden v tabulce č. 1. Nalezené chyby v kvalitativním rozboru u vzorků 1A a 1B jsou podbarveny v příloze č. 5.

3.1.4 Použitá determinační literatura

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

3.2 Kvantitativní stanovení sinic

V tomto roce stejně jako v předchozích letech jsme pro kvantitativní rozbor sinic vydávali dva různé živé vzorky. Ve vzorku 1A převládaly kokální sinice, ve vzorku 1B vláknité sinice, i když zde byl i nezanedbatelný podíl sinic kokálních. Dva rozdílné vzorky mají postihnout dva základní metodické postupy z ČSN 75 7717 – Jakost vod – Stanovení planktonních sinic. Celkem bylo připraveno 17 vzorků. Homogenita byla kontrolována laboratoří SZÚ, která zpracovávala 4 vzorky odebrané rovnoměrně během celé přípravy vzorků (1., 6., 12. a 17. připravený). Vztažné hodnoty byly stanoveny na základě výsledků laboratoře SZÚ (232) a dalších 4 laboratoří u vzorku 1A a 5 laboratoří u vzorku 1B. Tyto laboratoře zpracovávaly po jednom vzorku a nebyly informovány o tom, že jejich výsledky budou použity pro výpočet vztažných hodnot. Do této části programu bylo přihlášeno 10 účastníků.

3.2.1 Vzorek 1A

Vzorek 1A byl odebrán dne 13.9.2010 na Olšanském rybníku, který se nachází jižně od Prahy poblíž Kunratic. K 7 litrům vody z nádrže bylo v laboratoři přidáno 20 ml vodního květu *Microcystis* z téže lokality. Vzorek byl standardně promíchán a rozplněn do vzorkovnic pro účastníky. Vztažná hodnota 310887 buněk/ml byla stanovena jako robustní aritmetický průměr z terčovými laboratoří, vztažná odchylka jako 30% vztažné hodnoty, meze pro správné hodnoty pak 124355 – 497420 buněk/ml. Z 10 zúčastněných laboratoří těmto mezím vyhovělo 6. Podrobné zpracování výsledků lze najít v příloze č. 8.

3.2.2 Vzorek 1B

Vzorek 1B byl odebrán v nádrži ve Voznici u Dobříše dne 12.9.2010. Ve vzorku dominovala vláknitá sinice *Planktothrix agardhii*. Vztažná hodnota (138392 buněk/ml) byla stanovena jako robustní aritmetický průměr z výsledků terčovými laboratoří, vztažná odchylka jako 30% vztažné hodnoty a meze pro správné hodnoty 53357 – 221427 buněk/ml. Z 10 zúčastněných laboratoří těmto mezím vyhovělo 8. Vzorek vzhledem k nezanedbatelnému výskytu kokálních sinic nebyl pro ověření postupu stanovení vláknitých sinic příliš vhodný. Podrobné zpracování výsledků lze najít v příloze č. 8.

3.2.3 Stanovení objemové biomasy

I v letošním roce jsme nabízel možnost zaslat výsledky pro kvantitativní stanovení sinic vyjádřené jako objemovou biomasu. Toho využilo 7 účastníků. Vztažné hodnoty byly stanoveny jako robustní aritmetický průměr z výsledků laboratoře SZÚ a všech účastníků, kteří zaslali výsledky. Podrobné zpracování výsledků lze najít v příloze č. 9.

Vztažná hodnota pro vzorek 1A, ve kterém se vyskytovaly dva druhy rodu *Microcystis* s různě velkými buňkami, byla 10,35 mm³/l. Pro vzorek 1B, který byl na zastoupení taxony sinic výrazně bohatší a tím i metodicky komplikovanější než vzorek 1A, byla vztažná hodnota stanovena na 7,81 mm³/l. Meze pro správné hodnoty pro vzorek 1A byly stanoveny na 3,93 – 16,77 mm³/l, pro vzorek 1B 1,09- 14,53 mm³/l. V obou případech jsou meze velmi široké, stejně jako ve většině předchozích kol. Pokud bude v budoucnu stanovení objemové biomasy více využíváno v praxi, bude nutné se soustředit i na sjednocení postupů pro měření mikroskopických objektů a jeho kalibraci. Pro rychlé použití během koupací sezóny připadá v úvahu také postup s předem definovanou velikostí buněk pro jednotlivé taxony.

3.3 Stanovení chlorofylu-a a feopigmentů

Příprava: Stejně jako vloni jsme připravili dva živé vzorky a jeden etanolový extrakt. Živé vzorky pro stanovení chlorofylu-a a feopigmentů jsme připravili z vody odebrané dne 13.9.2010. Vzorek 3A pocházel z rybníka Šeberák v Praze – Kunraticích, 3B pak z rybníka Vrah (nádrž mezi sídlištěm Háje a Petrovicemi na jižním okraji Prahy). V obou případech byla koncentrace chlorofylu-a v odebraných vzorcích vyšší než jsme zamýšleli. Pro její snížení jsme v laboratoři část obou vzorků filtrovali planktonní sítí o průměru ok 20 µm. Před plněním jsme vzorky promíchávali v plastovém barelu pomocí plexisklové tyče po dobu 5 minut. Při přípravě jednotlivých zkušebních vzorků jsme vzorek nabrali do odměrného plastového džbánku a z něj 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 15 vzorkovnic. Kvůli kontrole homogenity jsme v laboratoři SZÚ zpracovávali 4 vzorky rovnoměrně rozložené v průběhu přípravy (1., 6., 10. a 15. připravený vzorek). Další vzorky byly zpracovány pro kontrolu stability (při nestandardním uchování – více v prezentaci ze semináře k vyhodnocení kola). Vzorek 4 (etanolový extrakt) byl připraven ze vzorků z různých lokalit, především z různých vodních květů. Pro kontrolu homogenity byly vybrány také čtyři vzorkovnice.

Hodnocení: Vztažné hodnoty byly stanoveny jako robustní aritmetický průměr z výsledků laboratoře SZÚ (průměr ze čtyř stanovení) a 7 terčových laboratoří (pro vzorek 3A), resp. 6 (pro vzorek 3B). Mezi terčové laboratoře byly zařazeni všichni účastníci, u kterých jsme neshledali důvod k vyloučení. Důvodem k vyloučení mohly být zcela evidentně odlehle výsledky u jakéhokoli vzorku, nedodržení metodické normy (vyšší absorbance při 665 nm než 0,8), zjevné chyby (záporný výsledek pro feopigmenty, který však tyto laboratoře do protokolu neuvedly) nebo velmi rozdílné výsledky paralelních stanovení. Vztažné hodnoty, odchylky a meze pro správné hodnoty jsou uvedeny v tabulce 2. Podrobné zpracování výsledků lze najít v přílohách č. 10 a 11.

Výsledky účastníků u vzorku 3B jsou poměrně variabilní, takže i meze pro správné hodnoty jsou dost široké. Příčinou mohlo být značné oživení, které mohlo způsobit sníženou stabilitu vzorků, i když kontrolní měření v laboratoři organizátora toto neprokázala.

Účastník 482 uváděl feopigmenty u vzorků 3A i 3B jako nulové, což ukazuje na významný problém v metodice a nutnost zjištění příčin a provedení nápravných opatření. Účastník 187 měl u obou vzorků velmi rozdílné paralelní výsledky pro stanovení feopigmentů. Účastník 592 u vzorku 3B měl hodnoty absorbance mnohem vyšší než normou připuštěných 0,8.

	Vzorek 3A		Vzorek 3B	
	chlorofyl-a	feopigmenty	chlorofyl-a	feopigmenty
vztažná hodnota (µg/l)	34,10	5,65	98,00	27,70
vztažná odchylka (µg/l)	2,59	1,25	10,91	5,38
interval správných hodnot (µg/l)	29,0 – 39,2	3,2 - 8,1	76,2 – 119,8	17,0 - 38,4
počet účastníků	9	9	9	9
počet úspěšných	6	8	9	9

Tabulka č. 2: Vztažné hodnoty pro chlorofyl-a a feopigmenty ve vzorcích 3A a 3B.

Stanovení absorbance v extraktu pro stanovení chlorofylu-a: K ověření měření absorbancí na spektrofotometru jsme připravili etanolové extrakty. Výsledky (jako rozdíl absorbancí při 665 a 750 nm před okyselení a po něm) jsou uvedeny na grafu č. 1 (Příloha 13). Účastníci 165, 205 a 588 se významně lišili od ostatních. Vzhledem k tomu, že u účastníka 205 došlo ke stejnému problému již v roce 2009, bylo by vhodné, aby provedl šetření, proč k této situaci došlo. U účastníka 588 došlo k zajímavému jevu, kdy absorbance před okyselením byla nižší než u většiny ostatních a po okyselení naopak vyšší. To by mohlo být způsobeno nedostatečným okyselením extraktu. Proti tomu však svědčí výsledky ze vzorků 3A a 3B, u kterých se tento problém neobjevil. Výsledky jednotlivých laboratoří jsou patrné z grafu 1 v příloze 13.

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

Taxon	161	166	187	205	235	586	592	1107	1109	1110	SZU
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>							100		100		100
<i>Aphanizomenon cf. flos-aquae</i>			100	100	60						
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i> ?		100									
<i>Aphanizomenon cf. gracile</i>						100		100			
<i>Aphanizomenon</i> sp.	100									100	
<i>Microcystis</i> sp.									+	+	
<i>Planktothrix agardhii</i>					40						
<i>Pseudanabaena mucicola</i>									P		
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>											
počet bodů	3	4	4	4	1	3	5	3	5	3	
úspěšnost	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
sporný výsledek											

SZÚ - Státní zdravotní ústav

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

Taxon	161	166	187	205	235	586	592	1107	1109	1110	SZU
<i>Anabaena cf. crassa</i>							1				
<i>Anabaena</i> sp.									+		
<i>Aphanizomenon</i> sp.		2				+					
<i>Aphanocapsa</i> sp.		+				+					6
<i>Microcystis aeruginosa</i>		14	15	20	90	44	8	15			7
<i>Microcystis cf. aeruginosa</i>	15								61		
<i>Microcystis firma</i>			2								
<i>Microcystis flos-aquae</i>		20	5			9	25				21
<i>Microcystis cf. flos-aquae</i>	30								1	45	
<i>Microcystis ichthyoblabe</i>			10	16				28	33		+
<i>Microcystis natans</i>			2								
<i>Microcystis viridis</i>		54	65	62	10	60	64	57			60
<i>Microcystis cf. viridis</i>	55									55	
<i>Microcystis wesenbergii</i>		2				2			2		2
<i>Microcystis</i> sp.		8									
<i>Planktolyngbya</i> sp.							1				
<i>Planktothrix agardhii</i>				2					2		2
<i>Planktothrix</i> sp.	+	1	1				2			+	
<i>Pseudanabaena cf. mucicola</i>							P				
<i>Pseudanabaena</i> sp.				+							
<i>Raphidiopsis mediterranea</i>				+							
<i>Woronichinia naegeliana</i>		1	+	+		+	+		1		1
<i>Microcystis viridis</i>											
počet bodů	4	5	5	5	5	5	5	5	3	4	
úspěšnost	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
sporný výsledek					?						

SZÚ - Státní zdravotní ústav

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

Taxon	161	166	187	205	235	586	592	1107	1109	1110	SZU
<i>Anabaena bergii</i>											+
<i>Anabaena cf. bergii</i>						+					
<i>Anabaena sp.</i>				+	5					+	
<i>Anabaena sp. div.</i>			+								
<i>Aphanizomenon elenkinii</i>			+				+				
<i>Aphanizomenon cf. elenkinii</i>				+							
<i>Aphanizomenon gracile</i>								+			
<i>Aphanizomenon sp.</i>	5	+		+		3	6		+	+	
<i>Aphanizomenon spp.</i>											2
<i>Aphanocapsa sp.</i>	5	2				3	6		+	+	1
<i>Coelomoron pusillum</i>						+					
<i>Cyanocatena</i>											+
<i>Cyanoduction cf. planctonicum</i>							7				
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>				+							
<i>Cylindrospermopsis raciborskii ?</i>		+				3					
<i>Chroococcus sp.</i>			+				+				
<i>Leptolyngbya sp.</i>					35						
<i>Limnothrix sp.</i>					30						
<i>Merismopedia glauca</i>							+				
<i>Merismopedia sp.</i>	+										
<i>Microcystis aeruginosa</i>		1		1				+			+
<i>Microcystis cf. aeruginosa</i>										10	
<i>Microcystis firma</i>			+								
<i>Microcystis viridis</i>		1	+	1	5	3	1	+	+		2
<i>Microcystis cf. viridis</i>										3	
<i>Microcystis wesenbergii</i>		2	+	5	20	10	6	2	4		12
<i>Microcystis cf. wesenbergii</i>	25									33	
<i>Oscillatoria sp.</i>											+
<i>Planktolyngbya limnetica</i>						82			96		83
<i>Planktolyngbya cf. limnetica</i>			100				69				
<i>Planktolyngbya planktonica ?</i>		94									
<i>Planktolyngbya sp.</i>				93			4				
<i>Planktothrix agardhii</i>					3						
<i>Planktothrix agardhii ?</i>		+									
<i>Pseudanabaena cf. mucicola</i>							P				
<i>Pseudanabaena sp.</i>	60							98		52	
<i>Snowella sp.</i>				+			+		+		
<i>Woronichinia naegeliana</i>	5				2	+	+				+
<i>Woronichinia sp.</i>										2	
Planktolyngbya limnetica											
počet bodů	1	3	4	3	1	5	4	1	5	1	
úspěšnost	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
sporný výsledek					?						
Microcystis wesenbergii											
počet bodů	4	5	5	5	5	5	5	5	5	4	
úspěšnost	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
sporný výsledek											

SZU - Státní zdravotní ústav

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

Taxon	161	166	187	205	235	586	592	1107	1109	1110	SZU
<i>Anabaena flos-aquae</i> ?											+
<i>Anabaena</i> cf. <i>planctonica</i>						2					
<i>Anabaena</i> sp.	+	1	+	2		2	+	1	2	+	+
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>						4					
<i>Aphanizomenon</i> cf. <i>flos-aquae</i>							2				
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i> ?		2									
<i>Aphanizomenon gracile</i>							1				
<i>Aphanizomenon</i> sp.			2	+					7	10	
<i>Aphanizomenon</i> spp.											6
<i>Aphanothece floccosa</i>						2					
<i>Jaaginema</i> sp.			3								
<i>Microcystis aeruginosa</i>		3	3	5		8	4	6			3
<i>Microcystis flos-aquae</i>		+				3	4				+
<i>Microcystis</i> cf. <i>flos-aquae</i>	4										
<i>Microcystis ichthyoblabe</i>								3			4
<i>Microcystis novacekii</i>		10									
<i>Microcystis</i> sp.									10	40	
<i>Microcystis viridis</i>			2								
<i>Microcystis</i> cf. <i>viridis</i>	10										
<i>Microcystis wesenbergii</i>		+									
<i>Planktolyngbya</i> cf. <i>limnetica</i>							10				
<i>Planktothrix agardhii</i>		84		93	100	79	78	89	81		87
<i>Planktothrix</i> cf. <i>agardhii</i>			90								
<i>Planktothrix</i> sp.	86									50	
<i>Pseudanabaena</i> sp.							1	1			
<i>Woronichinia naegeliana</i>					+						
<i>Planktothrix agardhii</i>											
počet bodů	3	5	4	5	5	5	5	5	5	3	
úspěšnost	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
sporný výsledek											

SZU - Státní zdravotní ústav

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

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

kód			vzorek 1B	
161	Ve vzorku dominuje koloniální sinice <i>Microcystis</i> . Z ostatních organismů jsou zastoupeny zelené řasy, penátní i centrické rozsivky, krásnoočka, skrytěnky a obrněnky.	+	Ve vzorku dominuje vláknitá sinice <i>Planktothrix</i> , méně zastoupené jsou sinice Pseudoanabaena , <i>Microcystis</i> , <i>Woronichinia</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Lemmermaniella</i> , <i>Snowella</i> a <i>Chroococcus</i> . Z ostatních organismů jsou zastoupeny zelené řasy, skrytěnky, penátní i centrické rozsivky, krásnoočka a obrněnky.	+
166	Mikroskopický obraz: Ve fytoplanktonu převažovaly sinice - více jak 50 %. Řasy: Z řas byly přítomny především zástupci skupiny Euglenophyceae , <i>Cryptophyceae</i> , <i>Chlamydomonadales</i> , v menší míře např. <i>Bacillariophyceae</i> , <i>Chlorophyta</i> . Sinice: Mezi sinicemi dominovaly sinice rodu <i>Microcystis</i> - <i>M. aeruginosa</i> , <i>M. ? flos-aquae</i> (475 250 buněk /ml; 19,708 mm ³ /l), ojedinělý výskyt byl zaznamenán u sinic <i>Planktothrix? agardhii</i> a <i>Anabaena</i> sp. Stanovení objemové biomasy je nutno považovat za orientační.	+	Mikroskopický obraz: Ve fytoplanktonu převažovaly sinice - více než 50 %. Řasy: Z řas byly přítomny především zástupci skupiny Bacillariophyceae , méně pak <i>Dinophyceae</i> , <i>Cryptophyceae</i> , <i>Chlorophyta</i> . Sinice: Mezi sinicemi dominovaly vláknité sinice <i>Planktothrix ? agardhii</i> (215 000 buněk /ml; 17,088 mm ³ /l), dále byl zaznamenán výskyt sinic <i>Anabaena</i> sp., Pseudanabaena sp., <i>Aphanizomenon</i> sp., <i>Microcystis aeruginosa</i> , ojediněle se vyskytovaly <i>Merismopedia</i> sp., <i>Snowella</i> sp., <i>Aphanocapsa</i> sp. Stanovení objemové biomasy je nutno považovat za orientační.	+
187	<i>Cryptophyceae</i> (<i>Cryptomonas</i> sp.) 3350, <i>Chlorophyta</i> (<i>Phacotus lenticularis</i> , <i>Coelastrum</i> sp., <i>Kirchneriella</i> sp.) 680, <i>Euglenophyceae</i> (<i>Euglena</i> sp.div.) 600, <i>Bacillariophyceae</i> (<i>Aulacoseira</i> sp., <i>Stephanodiscus</i> sp., <i>Synedra</i> sp.) 280, <i>Cyanophyta</i> (jedinci) 80, <i>Chrysophyceae</i> (<i>Chrysococcus</i> sp.) 40, bezbarví bičíkovci 120, <i>Rotatoria</i> (<i>Keratella cochlearis</i> , <i>Asplanchna</i> sp.) 8 (vše v jednotkách jedinci/ml)	+	Chlorophyceae (<i>Oocystis</i> sp., <i>Dictyosphaerium</i> sp., <i>Scenedesmus</i> sp.div., <i>Tetraedron</i> sp.) 5280, <i>Cyanophyta</i> (jedinci) 4220, <i>Bacillariophyceae</i> (<i>Fragilaria crotonensis</i> , <i>Asterionella formosa</i> , <i>Aulacoseira</i> sp.) 2000, <i>Cryptophyceae</i> (<i>Cryptomonas</i> sp.) 240, <i>Euglenophyceae</i> (<i>Trachelomonas</i> sp.div.) 200, <i>Conjugatophyceae</i> (<i>Cosmarium</i> sp., <i>Staurastrum</i> sp.) 120, <i>Dinophyceae</i> (<i>Ceratium hirundinella</i> , <i>Peridinium</i> sp.) 40, <i>Chrysophyceae</i> (<i>Chrysococcus</i> sp.) 40 (vše v jednotkách jedinci/ml)	+
205	Dominují skrytěnky (<i>Cryptomonas</i> sp.), méně krásnoočka (<i>Euglena</i> sp., <i>Phacus</i> sp., <i>Trachelomonas</i> sp.), zelené řasy (<i>Phacotus lenticularis</i> , <i>Scenedesmus</i> sp.), rozsivky (centrické), sinice (<i>Microcystis</i> sp.), ojediněle zlaté řasy (<i>Chrysococcus</i> sp.) a vířníci.	+	Dominují sinice (<i>Planktothrix</i> cf. <i>agardhii</i> , <i>Aphanizomenon</i> sp., <i>Pseudanabaena</i> sp.), méně rozsivky (centrické, <i>Fragilaria crotonensis</i> , <i>Nitzschia</i> sp.), zelené řasy (<i>Scenedesmus</i> sp., <i>Cosmarium</i> sp., <i>Tetraedron</i> sp.), krásnoočka (<i>Trachelomonas</i> sp.), skrytěnky (<i>Cryptomonas</i> sp.), ojediněle obrněnky (<i>Ceratium</i> sp., <i>Peridinium</i> sp.)	+
232	Ve vzorku jsou hojně zastoupené sinice rodu <i>Microcystis</i> (<i>M. aeruginosa</i> a <i>M. flos-aquae</i>), skrytěnky, zelené řasy (bičíkovci <i>Phacotus lenticularis</i> , <i>Chlamydomonas</i> sp., kokální řasy) a krásnoočka (<i>Euglena</i> spp., <i>Lepocinclis</i> , <i>Trachelomonas</i>), méně jsou pak zastoupeny rozsivky. Poměr biomasy sinic a řas je zhruba 1:1 (odhadem)	+	Ve vzorku dominují sinice <i>Planktothrix agardhii</i> , méně pak <i>Aphanizomenon</i> (pravděpodobně <i>A. gracile</i>). Zastoupeny jsou rovněž sinice rodu <i>Microcystis</i> (<i>M. aeruginosa</i> a <i>M. flos-aquae</i>) a nanoplanktonní sinice (<i>Aphanocapsa</i> , <i>Cyanogranis</i> , <i>Snowella</i> , ...). Hojně zastoupené jsou též rozsivky a obrněnky.	+
235	Dominantní organismus - různé druhy skrytěnek a krásnooček. V menším počtu jsou zastoupeny centrické rozsivky a chlorokokální řasy a sinice tvořící kolonie. Komentář SZU: Zde ani v tabulce, kde se kvantifikují sinice, není uveden taxon dominantních sinic (tzn. <i>Microcystis</i>).	- ?	Dominantní - různé vláknité sinice (<i>Pseudanabaena</i> cf. <i>catenata</i> , <i>Planktothrix agardhii</i> , <i>Aphanizomenon</i> sp.) a sinice tvořící kolonie (<i>Woronichinia naegeliana</i> , <i>Microcystis wesenbergii</i>), méně početné obrněnky (<i>Ceratium</i> cf. <i>hirundinella</i>), centrické a penátní rozsivky.	+
586	Ve vzorku jsou výrazně dominují sinice zastoupené téměř výhradně potenciačně toxickým druhem <i>Microcystis aeruginosa</i> . Ve výrazně menším množství byly zjištěny tyto druhy sinic - potenciačně toxické <i>Aphanizomenon</i> sp., <i>Anabaena</i> sp., <i>Planktothrix agardhii</i> a netoxická <i>Planktolyngbya limnetica</i> . (za každým druhem by byly uvedeny počty) Z řas se ve větším množství vyskytovaly především krásnoočka - rod <i>Euglena</i> a <i>Trachelomonas</i> , zelené volkokální řasy - <i>Phacotus lenticularis</i> a skrytěnky - <i>Cryptomonas</i> sp. Z heterotrofních organismů byly zjištěny bezbarví bičíkovci a nálevníci. Poměrně výrazný byl výskyt detritu - cca 20%.	+	Ve vzorku jsou výrazně dominují sinice zastoupené téměř výhradně potenciačně toxickým druhem <i>Planktothrix agardhii</i> . Ve výrazně menším množství byly zjištěny tyto druhy sinic - dalšími potenciačně toxickými druhy jsou - <i>Woronichinia naegeliana</i> , <i>Microcystis</i> sp.. Z netoxických druhů se vyskytovaly - <i>Snowella</i> cf. <i>lacustris</i> , <i>Planktolyngbya limnetica</i> , <i>Coelomonon pusillum</i> a <i>Cyanonephron elegans</i> . (za každým druhem by byly uvedeny počty) Z řas se ve větším množství vyskytovaly především krásnoočka - rod <i>Trachelomonas</i> , zelené chlorokokální řasy, skrytěnky - rozsivky druh <i>Cyclotella radiosa</i> a obrněnky rodu <i>Peridinium</i> sp.. Z heterotrofních organismů byly zjištěny bezbarví bičíkovci a nálevníci.	+
592	Ve společenstvu početně <i>Cryptophyceae</i> (<i>Cryptomonas</i> cf. <i>erosa</i>); <i>Euglenophyceae</i> (<i>Euglena</i> spp.), <i>Chlamydomonadales</i> (<i>Phacotus lenticularis</i>) a rozsivky (<i>Aulacoseira granulata</i>); nepočetně další skupiny řas (<i>Chrysophyceae</i> a <i>Chlorophyceae</i>). Vodní květ tvoří chlorokokální planktonní sinice (viz níže); ve vzorku řídce také pikoplanktonní rod <i>Aphanocapsa</i> .	+	Ve společenstvu početně rozsivky (<i>Fragilaria cottonensis</i> a <i>acus</i> , <i>Asterionella formosa</i> , <i>Aulacoseira</i> spp., <i>Cyclotella radiosa</i> , <i>Stephanodiscus</i> sp.) a chlorokokální zelené řasy (<i>Desmodesmus</i> spp., <i>Dictyosphaerium</i> spp. atd.). Časté jsou skrytěnky (<i>Cryptomonas</i> spp.), krásnoočka (<i>Trachelomonas</i> spp.), obrněnky (<i>Peridinium</i> sp., <i>Ceratium hirundinella</i>) a spájivky (<i>Cosmarium</i> spp., <i>Staurastrum</i> cf. <i>planctonicum</i>). Ve vzorku populace vzácně se vyskytující řasy <i>Paulschulzia</i> cf. <i>pseudovolvox</i> . Vodní květ tvoří převážně vláknité planktonní sinice (viz níže) a řídce <i>Anabaena</i> spp., <i>Aphanizomenon</i> spp. a <i>Chroococcus</i> cf. <i>limneticus</i> ; ve vzorku hojně také pikoplanktonní sinice <i>Aphanocapsa</i> cf. <i>incerta</i> , početně rody Canogranis , <i>Merismopedia</i> , <i>Cyanodictyon</i> atd.	+

kód			vzorek 1B	
1107	Ve vzorku dominují skrytěnky (<i>Cryptomonas</i> sp.), dále se vyskytují zelené řasy (<i>Pandorina morum</i> , <i>Phacotus lenticularis</i>), krásnoočka (<i>Euglena</i> sp., <i>Phacus</i> sp.), rozsivky (<i>Aulacoseira</i> sp.) a kokální sinice <i>Microcystis</i> cf. <i>ichthyoblabe</i> .	+	Ve vzorku tvoří dominantu vláknitá sinice <i>Planktothrix agardhii</i> , dále se ojediněle vyskytují vláknité sinice rodu <i>Aphanizomenon</i> a <i>Pseudanabaena</i> a kokální sinice rodu <i>Microcystis</i> a <i>Snowella</i> . Ve vzorku se dále vyskytují rozsivky (<i>Cyclotella</i> sp., <i>Asterionella formosa</i>) a skrytěnky (<i>Cryptomonas</i> sp.).	+
1109	Mikroskopický obraz: Ve vzorku dominovaly kokální sinice (viz níže), krásnoočka (<i>Euglena</i> , <i>Trachelomonas</i>) a skrytěnky (<i>Cryptomonas</i>). Dále se vyskytovaly centrické rozsivky (neurč. druh, <i>Aulacoseira</i> , <i>Melosira</i>), chlorokokální zelené řasy (<i>Desmodesmus</i> , <i>Pediastrum</i> , <i>Tetrastrum</i> , <i>Didymocystis</i> , <i>Monoraphidium</i>), obrněnky (<i>Peridinium</i>) a z konzumentů nálevníci. Sinice: dominoval rod <i>Microcystis</i> se dvěma morfologicky odlišitelnými druhy: zřejmě <i>Microcystis flos-aquae</i> (266 300 buněk/ml; 7,06 mm ³ /l) s menšími buňkami a dále blíže neurčený druh <i>Microcystis</i> (morfologicky se nejvíce podobá <i>M. smithii</i> , ale ekologie neodpovídá) s většími buňkami a rozvolněnějšími koloniemi (51 160 buněk/ml; 4,96 mm ³ /l). Dále se vyskytoval druh rodu <i>Anabaena</i> se spirálními vlákny, tenké oscilatoriální sinice a endogloieická <i>Pseudanabaena mucicola</i> . Stanovení objemové biomasy je nutno považovat za orientační.	+	Mikroskopický obraz: Ve vzorku dominovaly sinice (viz níže), rozsivky centrické (<i>Rhizosolenia</i>) a penátní (<i>Fragilaria</i> , <i>Asterionella</i>), skrytěnky (<i>Cryptomonas</i> , <i>Plagioselmis</i>), krásnoočka (<i>Trachelomonas</i>), zelené řasy (<i>Dictyosphaerium</i> , <i>Desmodesmus</i> , <i>Tetraedron</i> , <i>Coelastrum</i>). Ojediněle krásivky (<i>Staurastrum</i> , <i>Cosmarium</i>) a obrněnky (<i>Ceratium</i> , <i>Peridinium</i>). Sinice: Mezi sinicemi byl nejvýznamněji zastoupen vláknitý druh - <i>Planktothrix agardhii</i> (98 130 buněk/ml; 6,79 mm ³ /l). V malém množství se vyskytovala sinice rodu <i>Aphanizomenon</i> s podobnými vlákny jako <i>Planktothrix</i> . Řídce byl zaznamenán výskyt sinic rodu <i>Snowella</i> , <i>Microcystis</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Chroococcus</i> a pikoplanktonní sinice (<i>Aphanocapsa</i> , Cyanoduction), které se nekvantifikují. Stanovení objemové biomasy je nutno považovat za orientační.	+
1110	Drobné chlorokokální řasy, centrické a penátní rozsivky, skrytěnky, krásnoočka, ojed. vířníci, koryši	+	Drobné chlorokokální řasy, skrytěnky, centrické a penátní rozsivky, krásnoočka, ojed. vířníci, krásivky	+

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

vzorek	taxon	kód účastníka									
		161	166	187	205	235	586	592	1107	1109	1110
2A	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	3	4	4	4	1	3	5	3	5	3
2B	<i>Microcystis viridis</i>	4	5	5	5	5	5	5	5	3	4
2C	<i>Planktolyngbya limnetica</i>	1	3	4	3	1	5	4	1	5	1
2C	<i>Microcystis wesenbergii</i>	4	5	5	5	5	5	5	5	5	4
2D	<i>Planktothrix agardhii</i>	3	5	4	5	5	5	5	5	5	3
1A	<i>Microcystis</i> sp.	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3
1B	<i>Planktothrix agardhii</i>	3	4	4	4	5	5	5	5	5	3
Celkem		21	29	29	29	23	31	32	27	31	21

Dostatečné určení

vzorek	taxon	kód účastníka									
		161	166	187	205	235	586	592	1107	1109	1110
2A	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
2B	<i>Microcystis viridis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2C	<i>Planktolyngbya limnetica</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2C	<i>Microcystis wesenbergii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2D	<i>Planktothrix agardhii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1A	<i>Microcystis</i> sp.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
1B	<i>Planktothrix agardhii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Celkem		7	7	7	7	5	7	7	7	7	7

Výsledná úspěšnost	kód účastníka									
	161	166	187	205	235	586	592	1107	1109	1110
	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+

K úspěchu v kvalitativním rozboru sinic musel účastník získat alespoň 21 bodů z 33 možných a zároveň dostatečně určit všech 7 hodnocených taxonů.

Příloha č. 7: Soupis determinační literatury používané účastníky

Publikace	161	166	187	205	235	586	592	1107	1109	1110	Počet
Komárek, J. (1996)		X	X	X		X	X	X	X	X	8
Hindák, F. (2001)	X	X		X		X			X	X	6
Komárek, J. (1999)			X	X		X	X	X	X		6
Sládeček V. a Sládečková A. (1996)	X	X	X	X	X					X	6
Hindák F. a kol. (1978)	X	X	X			X			X		5
Šejnohová L. a kol. (2005)			X	X	X			X	X		5
Hindák F. (2008)							X	X	X		3
Hindák, F. a kol. (1975)			X			X					2
Komárek, J. & Anagnostidis, K. (1999)						X	X				2
Komárek, J. & Anagnostidis, K. (2005)						X	X				2
www.sinicearasy.cz	X								X		2
CD z biologických kurzů					X						1
Fott B. (1967):			X								1
Hindák F. (2005)					X						1
John, D., M., a kol. (2005)							X				1
Renhui a kol. (2000)							X				1

Citace:

CD z biologických kurzů

Fott B. (1967): Sinice a řasy. ČSAV, Praha.

Hindák 2008: Colour Atlas of Cyanophytes, Veda, Bratislava

Hindák F. (2005): Zelené kokálné riasy, CD, BÚ SAV, Bratislava

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

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

Hindák, F. a kol. (1975): Klíč na určovanie výtrusných rastlín, diel 1. - Riasy, SPN Bratislava.

John, D., M., a kol. (2005): The freshwater algal flora of British Isles

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

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

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

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

Renhui Li a kol. (2000): Taxonomic studies of planktic species of Anabaena... , Hydrobiologia 438, 117-138, 2000

Sládeček V. a 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.sinicearasy.cz

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

účastník

V	lab	výsledek (buněk/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
!	187	11550	-3,21									
?	235	33800	-2,97									
?	205	41677	-2,89									
X	1107	287000	-0,26									
X	592	303875	-0,08									
X	1109	320060	0,10									
X	586	358800	0,51									
X	1110	452500	1,52									
X	166	475500	1,76									
?	161	498000	2,01									

počet laboratoří: 10

z toho vyhovuje: 6

z toho nevyhovuje: 4

vztažná hodnota: 310887 buněk/ml

vztažná odchylka: 30%

interval správných hodnot: 124355 – 497420 buněk/ml

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

účastník

V	lab	výsledek (buněk/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
?	187	55000	-2,01									
X	1109	115510	-0,55									
X	205	134571	-0,09									
X	592	141855	0,08									
X	1107	157500	0,46									
X	586	210184	1,73									
X	166	215000	1,85									
X	1110	218000	1,92									
X	161	219650	1,96									
!	235	859000	17,36									

počet laboratoří: 10

z toho vyhovuje: 8

z toho nevyhovuje: 2

vztažná hodnota: 138392 buněk/ml

vztažná odchylka: 30%

interval správných hodnot: 53357 – 221427 buněk/ml

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

terč

V	lab	výsledek (buněk/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1107	287000	-0,26									
X	592	303875	-0,08									
X	232	305000	-0,06									
X	1109	320060	0,10									
X	586	358800	0,51									

počet laboratoří: 5

z toho vyhovuje: 5

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 310887 buněk/ml

vztažná odchylka: 30%

interval správných hodnot: 124355 – 497420 buněk/ml

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

terč

V	lab	výsledek (buněk/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	232	96000	-1,02									
X	1109	115510	-0,55									
X	205	134571	-0,09									
X	592	141855	0,08									
X	1107	157500	0,46									
X	586	210184	1,73									

počet laboratoří: 5

z toho vyhovuje: 5

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 138392 buněk/ml

vztažná odchylka: 30%

interval správných hodnot: 53357 – 221427 buněk/ml

Příloha č. 9: Z-skóre pro kvantitativní stanovení sinic v objemové biomase**Tabulka Z-score pro kvantitativní rozbor sinic - vz. 1A (objemová biomasa) účastník**

V	lab	výsledek (mm ³ /l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
?	187	2.08	-2.58									
X	1107	6.44	-1.22									
X	592	9.70	-0.20									
X	232	10.55	0.06									
X	1109	12.08	0.54									
X	586	12.25	0.59									
?	166	19.72	2.92									

počet laboratoří: 7
z toho vyhovuje: 5
z toho nevyhovuje: 2

vztažná hodnota: 10,35 mm³/l
vztažná odchylka: 3,21 mm³/l
interval správných hodnot: 3,93 – 16,77 mm³/l

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

V	lab	výsledek (mm ³ /l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	232	3.88	-1.17									
X	187	5.71	-0.63									
X	592	5.79	-0.60									
X	1109	7.21	-0.18									
X	1107	9.12	0.39									
X	586	11.83	1.19									
?	166	17.09	2.76									

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

vztažná hodnota: 7,81 mm³/l
vztažná odchylka: 3,36 mm³/l
interval správných hodnot: 1,09- 14,53 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)**

účastník

V	lab	výsledek (µg/l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	592	30,5	-1,39				■					
X	1110	32,7	-0,54				■					
X	586	33,4	-0,27				■					
X	205	33,5	-0,25				■					
X	1109	35,2	0,41					■				
X	166	36,3	0,83					■				
?	588	40,0	2,26					■	■			
!	187	43,1	3,47					■	■	■		
!	482	45,3	4,32					■	■	■	■	

počet laboratoří: 9

z toho vyhovuje: 6

z toho nevyhovuje: 3

vztažná hodnota: 34,10 µg/l

vztažná odchylka: 2,59 µg/l

interval správných hodnot: 29,0 – 39,2 µg/l

Tabulka Z-score pro feopigmenty (vzorek 3A)

účastník

V	lab	výsledek (µg/l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
!	482	0,0	-4,52	■	■	■	■	■				
X	205	3,4	-1,80				■					
X	187	4,4	-1,01				■					
X	1110	5,1	-0,48				■					
X	592	5,6	-0,08				■					
X	166	6,5	0,69					■				
X	586	6,6	0,72					■				
X	588	6,7	0,86					■				
X	1109	6,9	1,02					■				

počet laboratoří: 9

z toho vyhovuje: 8

z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 5,65 µg/l

vztažná odchylka: 1,25 µg/l

interval správných hodnot: 3,2 - 8,1 µg/l

Tabulka Z-score pro chlorofyl-a (vzorek 3A)

terč

V	lab	výsledek (µg/l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	592	30,5	-1,39				■					
X	1110	32,7	-0,54				■					
X	586	33,4	-0,27				■					
X	205	33,5	-0,25				■					
X	1109	35,2	0,41					■				
X	166	36,3	0,83					■				
X	232	37,6	1,35					■	■			

počet laboratoří: 7

z toho vyhovuje: 7

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 34,10 µg/l

vztažná odchylka: 2,59 µg/l

interval správných hodnot: 29,0 – 39,2 µg/l

Tabulka Z-score pro feopigmenty (vzorek 3A)

terč

V	lab	výsledek (µg/l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	205	3,4	-1,80				■					
X	1110	5,1	-0,48				■					
X	232	5,2	-0,36				■					
X	592	5,6	-0,08				■					
X	166	6,5	0,69					■				
X	586	6,6	0,72					■				
X	1109	6,9	1,02					■				

počet laboratoří: 7

z toho vyhovuje: 7

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 5,65 µg/l

vztažná odchylka: 1,25 µg/l

interval správných hodnot: 3,2 - 8,1 µg/l

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

účastník

V	lab	výsledek (µg/l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	592	82,1	-1,46									
X	1110	83,3	-1,35									
X	588	88,4	-0,88									
X	586	90,5	-0,69									
X	1109	98,9	0,08									
X	166	100,4	0,22									
X	205	108,1	0,92									
X	187	108,4	0,95									
X	482	115,5	1,60									

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

vztažná hodnota: 98,00 µg/l
vztažná odchylka: 10,91 µg/l
interval správných hodnot: 76,2 – 119,8 µg/l

Tabulka Z-score pro feopigmenty (vzorek 3B)

účastník

V	lab	výsledek (µg/l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
!	482	0,0	-5,15									
X	187	18,8	-1,66									
X	1110	19,9	-1,45									
X	205	25,1	-0,48									
X	588	28,4	0,12									
X	166	29,6	0,36									
X	586	31,0	0,61									
X	592	34,5	1,26									
X	1109	35,9	1,53									

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

vztažná hodnota: 27,70 µg/l
vztažná odchylka: 5,38 µg/l
interval správných hodnot: 17,0 - 38,4

Tabulka Z-score pro chlorofyl-a (vzorek 3B)

terč

V	lab	výsledek (µg/l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1110	83,3	-1,35									
X	586	90,5	-0,69									
X	1109	98,9	0,08									
X	166	100,4	0,22									
X	232	107,0	0,82									
X	205	108,1	0,92									

počet laboratoří: 6
z toho vyhovuje: 6
z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 98,00 µg/l
vztažná odchylka: 10,91 µg/l
interval správných hodnot: 76,2 – 119,8 µg/l

Tabulka Z-score pro feopigmenty (vzorek 3B)

terč

V	lab	výsledek (µg/l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1110	19,9	-1,45									
X	205	25,1	-0,48									
X	232	25,4	-0,43									
X	166	29,6	0,36									
X	586	31,0	0,61									
X	1109	35,9	1,53									

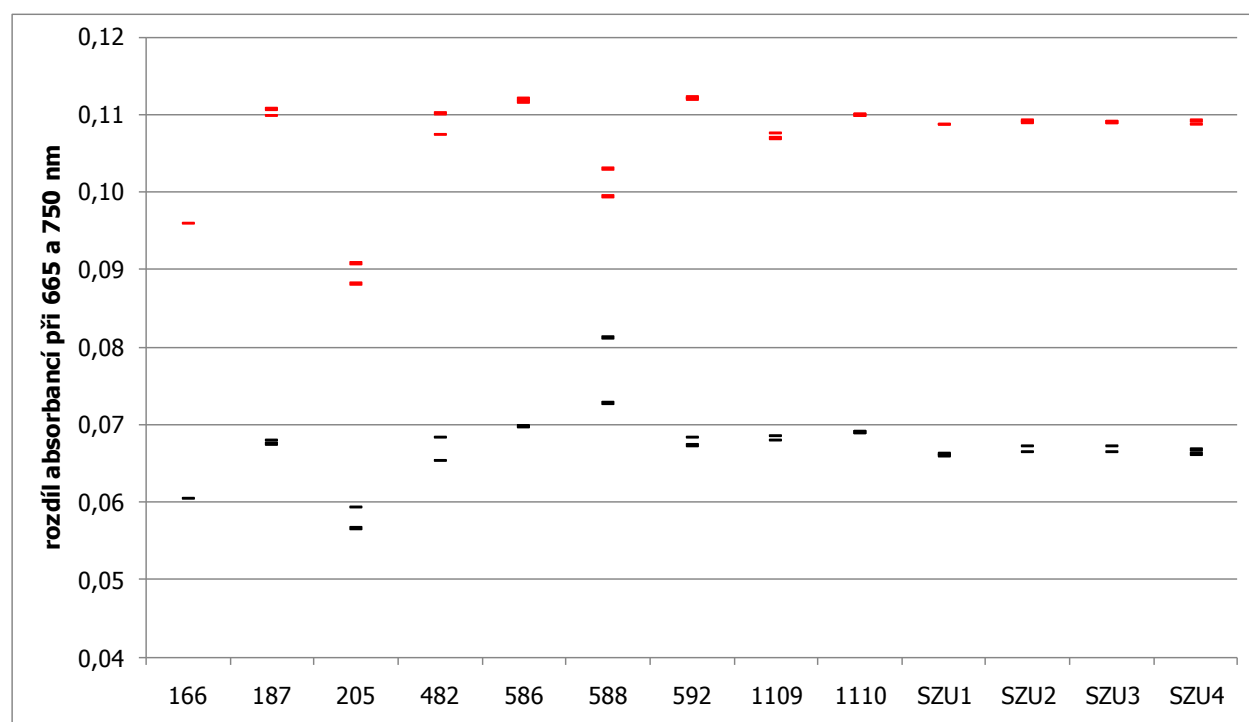
počet laboratoří: 6
z toho vyhovuje: 6
z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 27,70 µg/l
vztažná odchylka: 5,38 µg/l
interval správných hodnot: 17,0 - 38,4

Příloha č. 12: Souhrnné hodnocení výkonnosti účastníků

ukazatel	Kód											
	161	166	187	205	235	482	586	588	592	1107	1109	1110
kvantitativní rozbor sinic - vzorek 1A (buňky)	⊙	●	○	⊙	⊙		●		●	●	●	●
kvantitativní rozbor sinic - vzorek 1A (objemová biomasa)	x	⊙	⊙	x	x		●		●	●	●	x
kvantitativní rozbor sinic - vzorek 1B (buňky)	●	●	⊙	●	○		●		●	●	●	●
kvantitativní rozbor sinic - vzorek 1B (objemová biomasa)	x	⊙	●	x	x		●		●	●	●	x
kvalitativní rozbor sinic	+	+	+	+	-		+		+	+	+	+
chlorofyl-a - vzorek 3A		●	○	●		○	●	⊙	●		●	●
feopigmenty - vzorek 3A		●	●	●		○	●	●	●		●	●
chlorofyl-a - vzorek 3B		●	●	●		●	●	●	●		●	●
feopigmenty - vzorek 3B		●	●	●		○	●	●	●		●	●

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. 13: Výsledky měření extraktů (vzorek 4)

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