

Revize normy ČSN 75 7717 Kvalita vod – Stanovení planktonních sinic

Petr Pumann, Tereza Pouzarová

Vodárenská biologie 2014

5.-6.2.2014, Praha

Standardní metodiky pro mikroskopickou kvantifikaci sinic a předpisy pro hodnocení přírodních vod ke koupání

- 2000 – vyhláška č. 464/2000 Sb. – bez sinic (jen „v případě vodního květu koupání zakázáno“)
- 2001 – první návrh metodického doporučení Botanický ústav AV (Brno) + SZÚ – obsahuje metodiku pro odběr i laboratorní zpracování a také limity (nikdy oficiálně nevydáno)
- 2004 – TNV 75 7717 + vyhláška č. 135/2004 Sb.
- 2008 – ČSN 75 7717
- 2011 – vyhláška č. 238/2004 Sb.
- 2013 – prosince vydání revize ČSN 75 7717

1. Problematika odběru



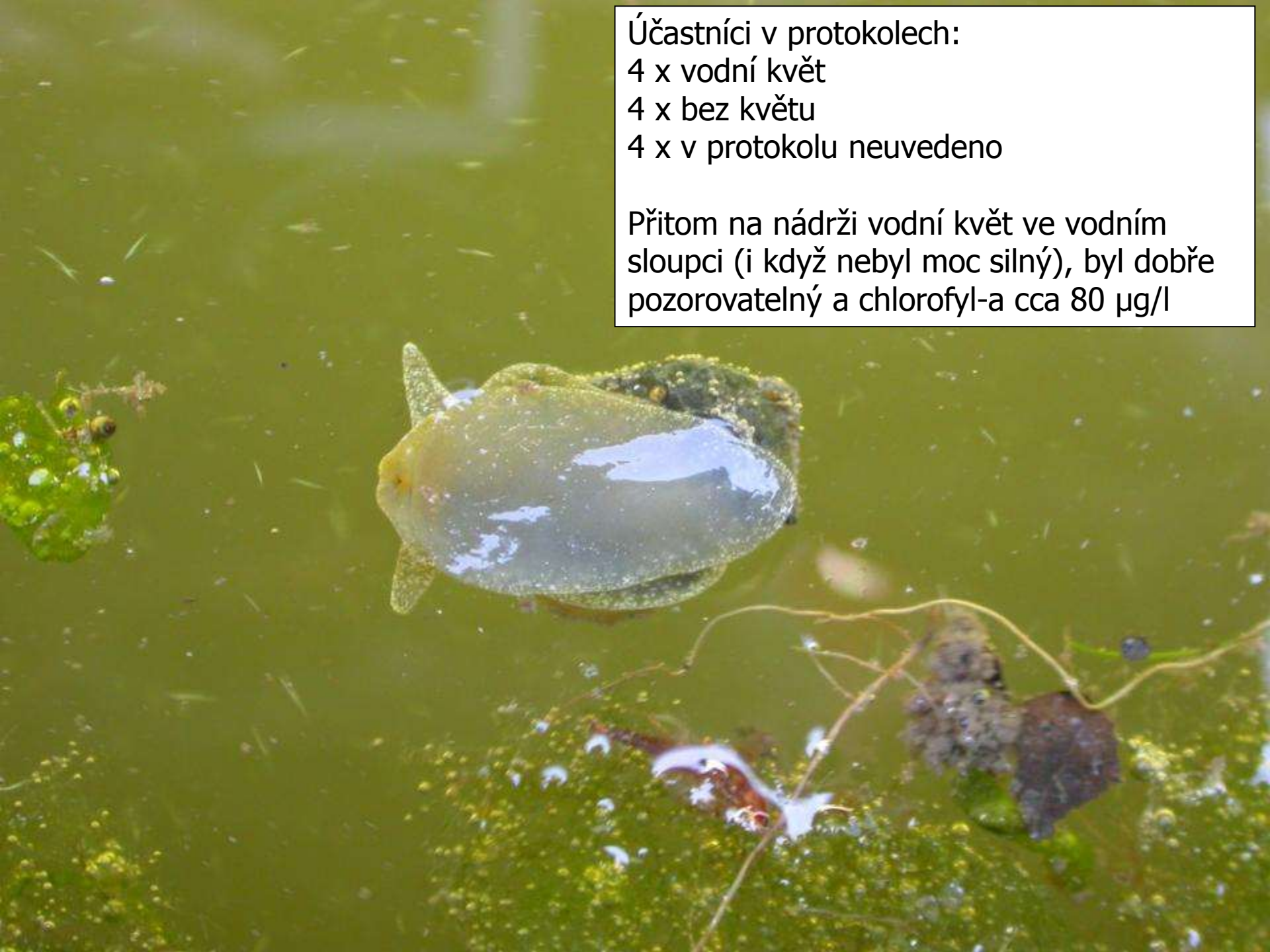
Jak byste popsali do odběrového protokolu, kdyby na odběrovém místě bylo velké množství materiálu/organismů, jako se nachází v lahvičkách?



Odpověď	Hodnocení
přirozený vodní plankton	ano, ale nedostatečné
řasa - shluky	ne
vodní květ	ano
řasa	ne
jiný druh zelené řasy	ne
shluky vodních řas	ne
zelená řasa	ne
zelená řasa	ne
vodní květ	ano
sinice, tvořící shluk	ano
sinice, Dafnie sp.	ano
vodní řasy	ne

Účastníci v protokolech:
4 x vodní květ
4 x bez květu
4 x v protokolu neuvedeno

Přítom na nádrži vodní květ ve vodním sloupci (i když nebyl moc silný), byl dobře pozorovatelný a chlorofyl-a cca 80 µg/l



Nová informativní příloha E

ČSN 75 7717

Příloha E (informativní)

Příklady hodnocení výskytu sinic

E.1 Příklady jednotlivých stupnic pro hodnocení výskytu sinic podle článku 7.6

Na obrázcích není uveden stupeň 0 – žádný.



a) Stupeň 1 – pozorovatelný



b) Stupeň 2 – hojný



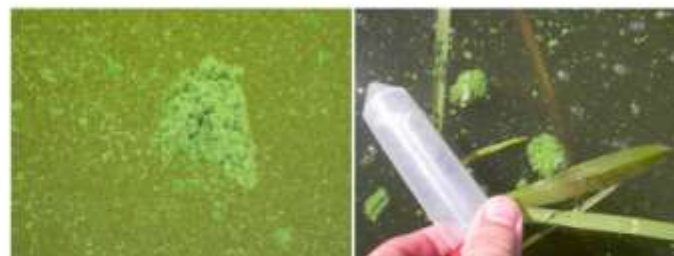
c) Stupeň 3 – masový

Obrázek E.1 – Příklady jednotlivých stupnic pro hodnocení výskytu sinic

ČSN 75 7717



d) Vlevo typické jehlicovité kolonie sinice *Aphanizomenon flos-aquae* (velikost misky 3,5 cm), uprostřed směs kolonií *Microcystis* sp. a *Aphanizomenon flos-aquae*, vpravo kolonie *Microcystis aeruginosa*



e) Vlevo kolonie *Microcystis* spp. (největší kolonie *M. ichthyoblabe*, ale podobně mohou vypadat i kolonie *M. aeruginosa*). Vpravo velké kolonie *Microcystis ichthyoblabe*.



f) Reálné situace v okolí odběrových míst. Vlevo shluk tvořený vložkami *Aphanizomenon flos-aquae*. Vpravo velké kolonie *Microcystis ichthyoblabe*.

POZNÁMKA V případě nabrání jedné kolonie nebo shluku dojde k významnému ovlivnění abundance sinic ve vzorku.

Obrázek E.2 – Příklady některých okem pozorovatelných sinic (dokončení)



11



12

Až několik centimetrů velké kulaté kolonie sinice *Microcystis ichthyoblabe* na pražském hypertrofním rybníku Šeberák v roce 2008. Tyto kolonie sice vypadají kompaktněji než ty na předchozí straně, příliš stabilní však nejsou. Není pravděpodobné, že budou dopraveny do laboratoře, aniž by se rozpadly na velké množství fragmentů.



29

30



31

Velmi dobře rozpoznatelnou hojnou sinicí je *Aphanizomenon flos-aquae*. Vytváří kolonie podobné kouskům trávy nebo modřínovému jehličí. Mikroskopicky se jedná o rovnoběžná vlákna spojená do vloček velkých až několik cm. Misky mají průměr 3,5 cm.

Pumann P., Duras J. (2013). Atlas makroskopických jevů spojených s výskytem vodních květů sinic a dalších organismů v přírodních koupacích vodách. Státní zdravotní ústav. Volně dostupný na <http://www.szu.cz/tema/zivotni-prostredi/koupaliste-metody>



104



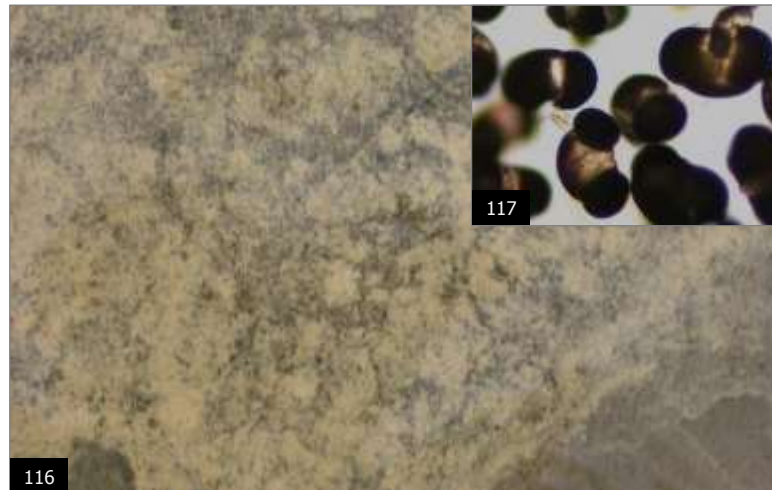
106

105

Bílý povlak sirmé bakterie *Beggiatoa* vzniklý na dně přírodního koupaliště na rybníku Šeberák koncem koupací sezóny 2011 jako následek rozkladu silného vodního květu *Aphanizomenon flos-aquae*, který se této lokalitě vyskytoval téměř celou koupací sezónou. Dole detail při fotografování v laboratoři na Petriho misce a ve světelném mikroskopu.



115



117

116

Žluté „vodní květy“ v jarních měsících mohou být způsobeny pylem (především jehličnatých stromů). Na snímcích situace na Orlíku – Radavě v květnu 2011.

Pumann P., Duras J. (2013). Atlas makroskopických jevů spojených s výskytem vodních květů sinic a dalších organismů v přírodních koupacích vodách. Státní zdravotní ústav. Volně dostupný na <http://www.szu.cz/tema/zivotni-prostredi/koupaliste-metody>

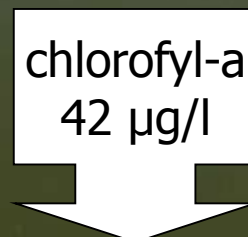
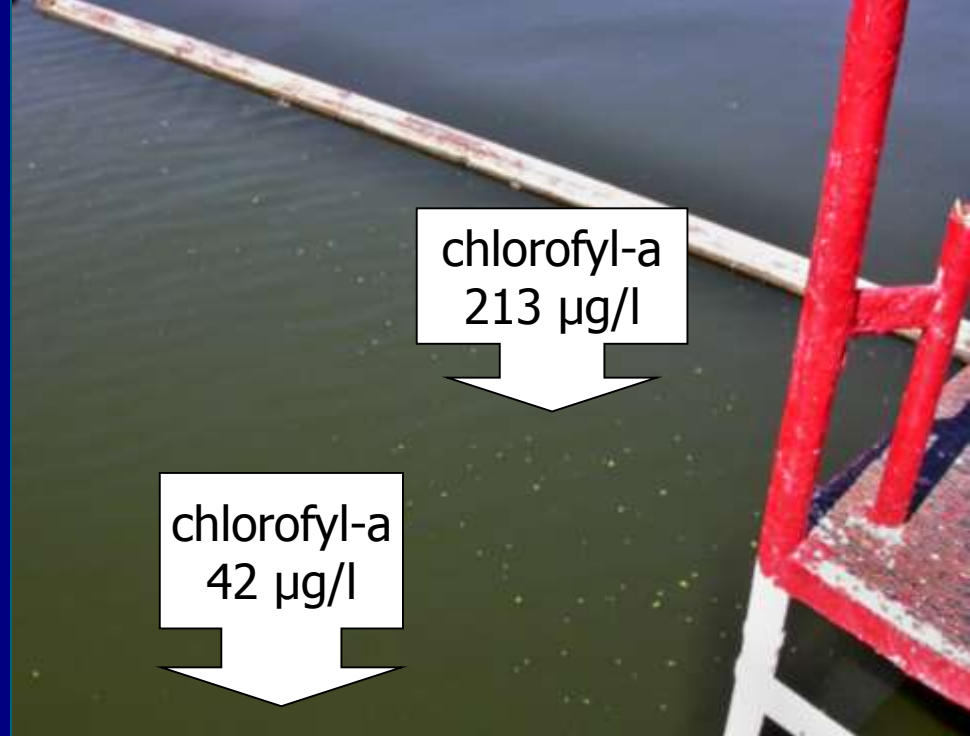
Odběr při výskytu sinic ve formě utržených nárostů

Při větším výskytu utržených nárostů bývá zpravidla nemožné odebrat pro následnou kvantifikaci reprezentativní vzorek, který by výskyt nárostů zohlednil. Pokud je do vzorkovnice náhodně odebrán větší kus utrženého nárostu, musí to být zaznamenáno do protokolu o odběru vzorků. V každém případě by do samostatné vzorkovnice měla být odebrána alespoň jedna část plovoucího nárostu. Pro tento účel je možné použít i vzorkovnice o menším objemu, např. 100 ml



Odběr při výskytu sinic velkých kolonií sinic

*V některých případech dosahují kolonie sinic rodu *Microcystis* (typicky *M. aeruginosa*, *M. ichthyoblabe* nebo *M. wesenbergii*) velikosti několika cm a shluky vloček *Aphanizomenon flos-aquae* až několika desítek cm. V těchto případech je rovněž nutné zaznamenat do protokolu o odběru vzorků, zda nebyla odebrána taková velká kolonie nebo shluk. Pokud je velkých kolonií nebo shluků v místě odběru významné množství, je vhodné odebrat do jedné vzorkovnice vzorek bez kolonií a shluků a jeden s nimi.*



Poznámka ke konzervaci

*V případě dominance velkých jehlicovitých kolonií *Aphanizomenon flos-aquae* se doporučuje odebrat 500 ml vzorku. To je vhodné především v případech, kdy jejich výskyt ještě není masový. Menší objem (např. 100 ml) nemusí být v těchto případech pro vzorkované místo reprezentativní.*



2. Dezintegrace některých taxonů



Dezintegrace

ČSN 75 7717 z roku 2008 obsahovala 4 způsoby dezintegrace:
1) automatickou pipetou, 2) injekční stříkačkou s tupou jehlou
3) homogénizátorem Potter-Evehjem, 4) ultrazvukovým homogénizátorem



Dezintegrace

MPZ 2008 -2013 – pomůcky k dezintegraci

rok	2008	2009	2010	2011	2012	2013
počet účastníků	15	15	10	13	10	10
bez dezintegrace	4	2	0	2	4	0
stříkačka (obvykle s KOH)	9	10	9	10	5	5
ultrazvuk	2	2	1	1	1	4
jen KOH	0	1	0	0	0	0
automatická pipeta	0	0	0	0	0	1

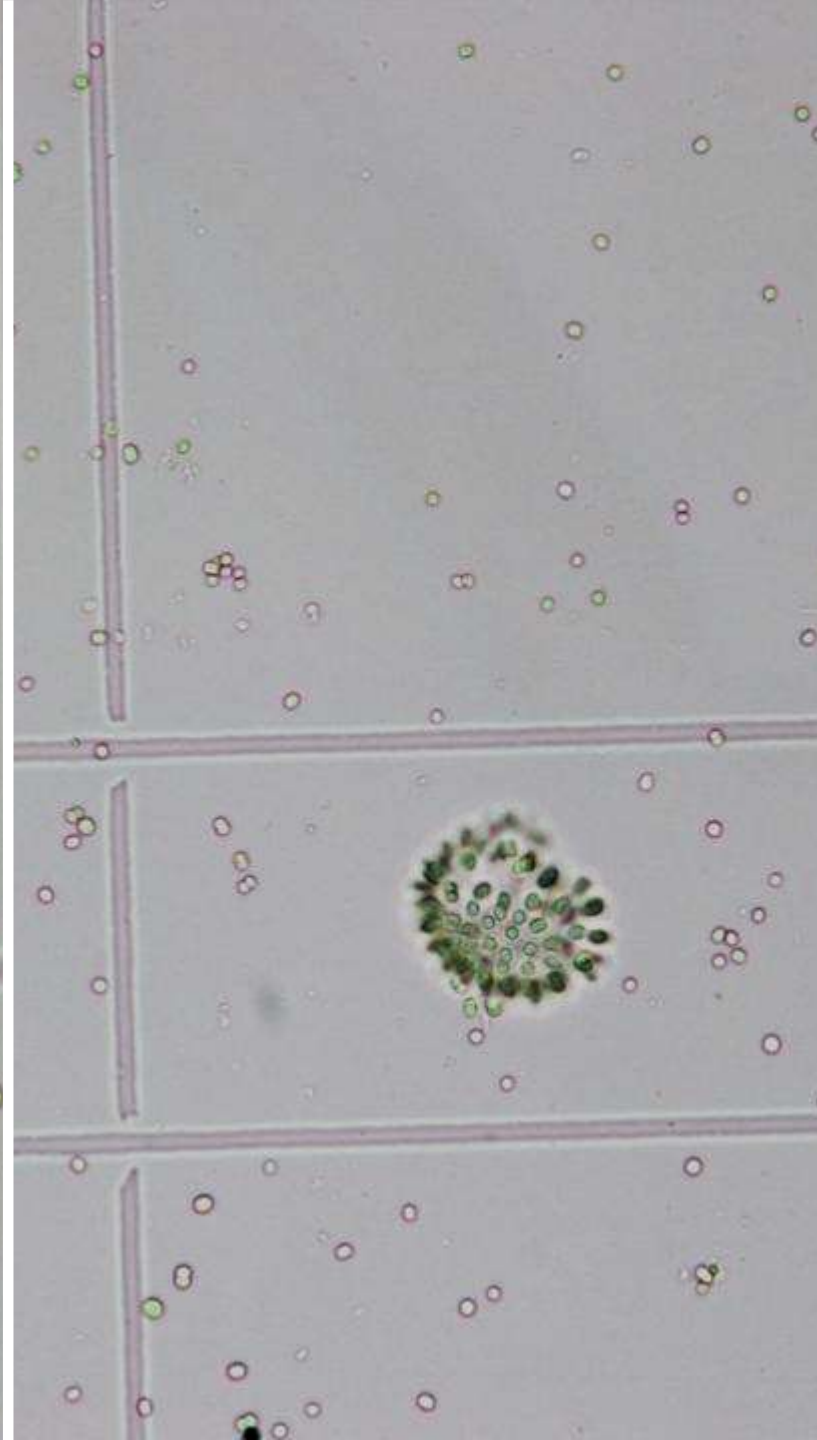
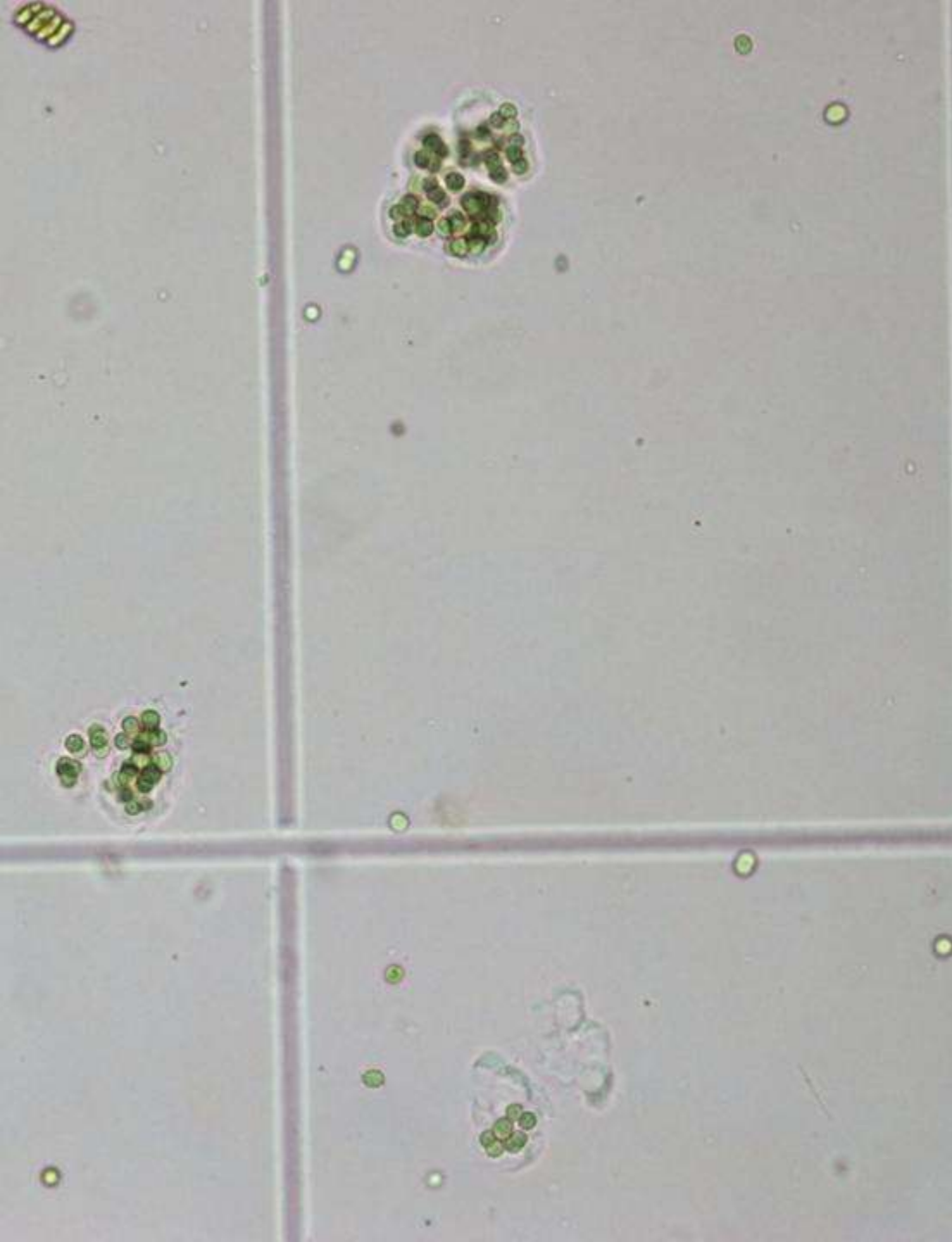
Dezintegrace

Revize ČSN 75 7717 z roku 2013 obsahuje již jen 2 způsoby dezintegrace:

- 1) injekční stříkačkou s tupou jehlou
- 2) ultrazvukovým homogenizátorem



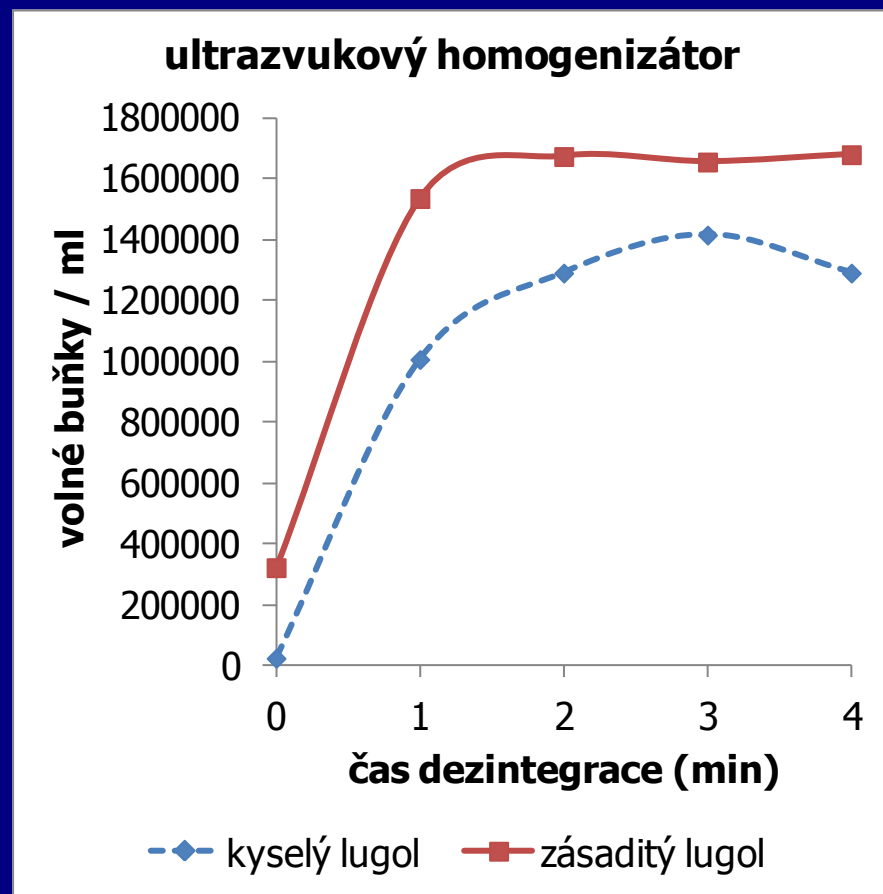
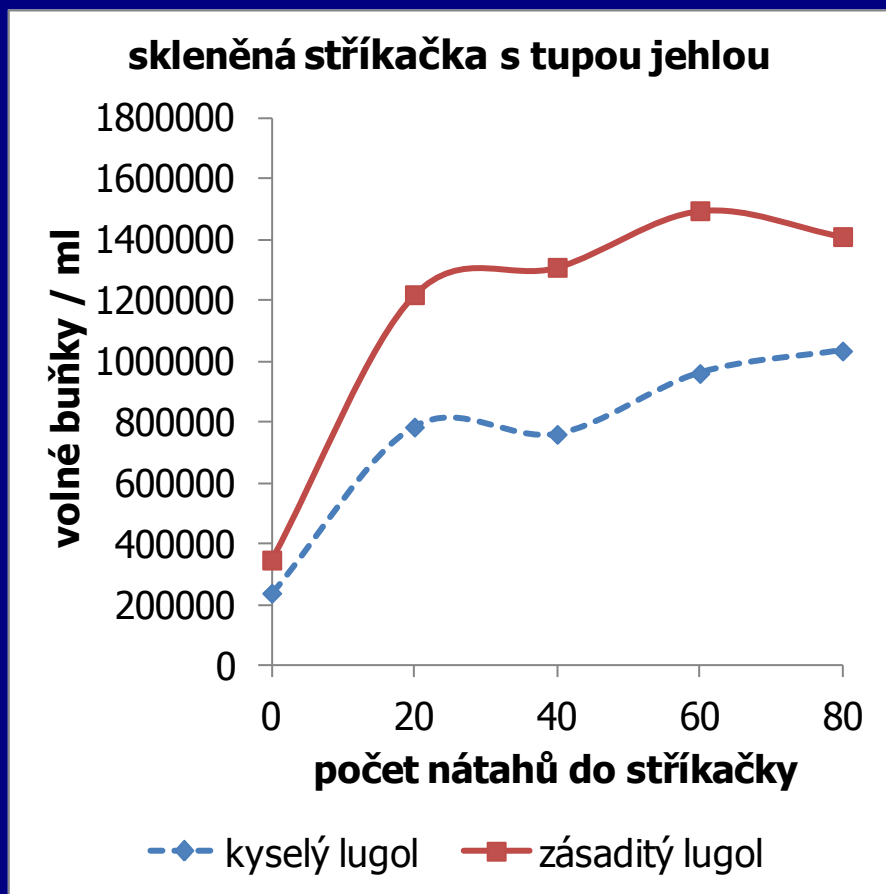




Dezintegrace po přidání zásaditého Lugolova roztoku

Funguje na obtížně dezintegrovatelné taxony (počítání až druhý den po přidání zásaditého Lugolova roztoku).

M. viridis:



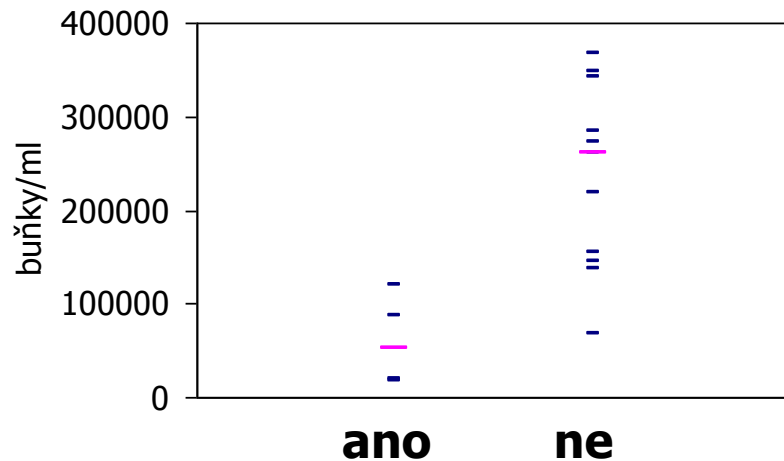
3. Zahušťování

- zahustit odstředěním
každý vzorek z 10 na 0,2
ml – v praxi zažitý postup
- alternativně filtrace
(aparatura Petra Marvana)
- významné ztráty (i vzorků
fixovaných Lugolem)
- výtěžnost SZÚ obvykle
mezi 60 – 90 %

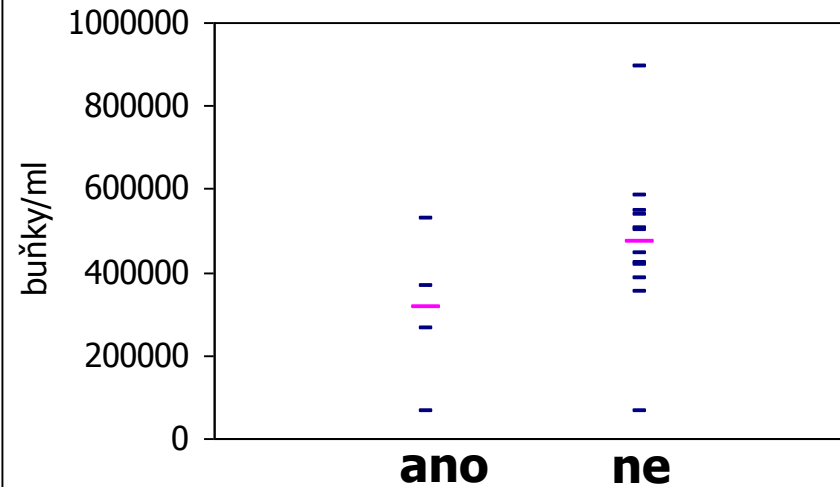


Zahušťování vzorku s *Microcystis* během mezilaboratorních zkoušek SZÚ v letech 2008 – 2011 (modré – jednotliví účastníci, růžová – medián)

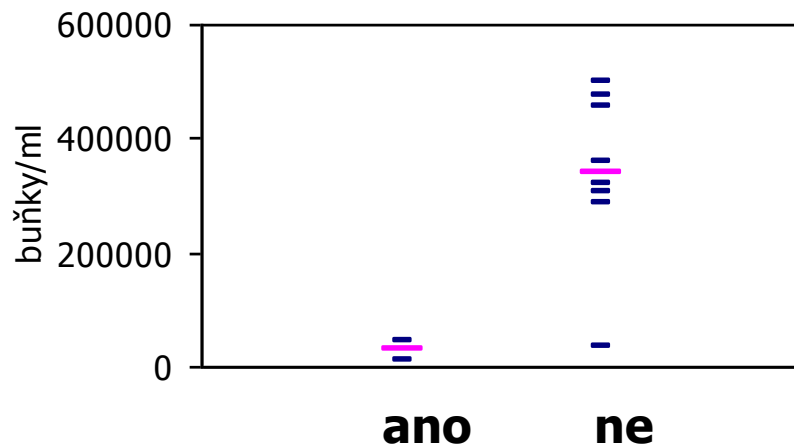
2008



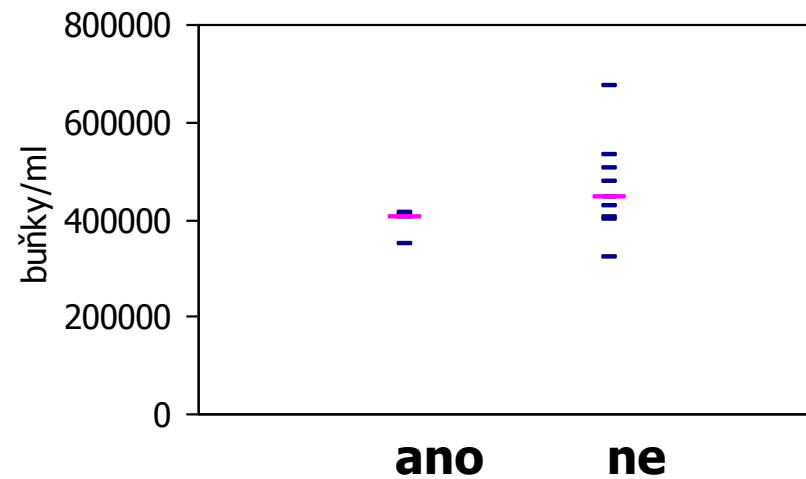
2009



2010



2011



Změna v revizi ČSN 75 7717

- odstraněno Limni jako výrobce aparatury
- odstředování
 - prodloužen čas z **10 na 15** minut a
 - zvýšena odstředivá síla **ze 700 na 1 100 g**
 - pečlivě vyvažovat!
- přednostně nezahušťovat

Neukázněné chování *Planktothrix* v komůrce

- pásy s výrazně vyšší hustotou vláken než na zbytku komůrky

A

0	5	3	2	2	4	4	1	3	3
4	1	3	4	2	3	2	2	2	6
1	2	4	4	2	5	6	7	11	15
1	1	2	6	8	16	17	38	41	31
1	3	6	3	6	15	21	31	17	20
7	6	5	3	2	4	1	3	2	3
1	1	3	3	1	3	3	2	4	7
1	3	6	1	2	3	2	2	2	5
1	2	3	3	1	3	5	3	3	5
3	4	2	2	0	5	7	5	2	3

B

2	3	3	4	1	1	3	2	0	1
1	3	1	3	1	0	3	1	1	2
1	3	0	2	3	1	0	1	5	2
6	2	7	2	4	4	3	7	4	4
2	3	1	6	2	4	1	1	3	0
1	4	4	2	3	0	3	4	5	4
3	1	2	2	3	2	6	0	3	5
2	1	3	0	2	2	4	5	2	5
2	6	1	2	2	5	2	4	2	5
2	1	1	4	3	4	3	1	0	3

Planktothrix – v revizi 2013

POZNÁMKA Při dominanci vláknitých sinic (především *Planktothrix agardhii*) se poměrně často stává, že jsou vlákna na mřížce komůrky rozmístěna velmi nerovnoměrně. V těchto případech se vyskytují oblasti (pásky) s výrazně větší hustotou vláken než v ostatních částech komůrky. **V takovém případě je nutné komůrku naplnit znovu.** Tento jev se vyskytuje častěji, pokud je kapka vzorku na mřížce komůrky přikryta krycím sklem s časovým odstupem (deset sekund a déle). Proto je vhodné přikrýt kapku krycím sklem co nejrychleji (během několika sekund).

Objemová biomasa

- podle vyhlášky č. 238/2011 Sb. je nutno stanovit objemovou biomasu v případech kdy dominují tenké vláknité sinice
- do přílohy A.3 revidované normy vložena tabulka se šířkou vláken (na horní hranici uváděné velikosti) pro případ, že není dostatek času proměřovat nebo laboratoř není technicky vybavena
- na <http://www.szu.cz/tema/zivotni-prostredi/koupaliste-metody> ke stažení soubor ve formátu MS Excel na přepočítání objemové biomasy sinic

Tabulka A.2 – ~~Parametry měřené u jednotlivých typů sinic~~

Taxon	Šířka vlákna μm
<i>Pseudanabaena</i>	2
<i>Limnothrix</i>	2,5
<i>Planktolyngbya</i>	2
<i>Planktothrix agardhii</i>	5

Informativní příloha F

Původní jméno	Nové jméno
<i>Anabaena mendotae</i>	<i>Dolichospermum mendotae</i>
<i>Anabaena affinis</i>	<i>Dolichospermum affine</i>
<i>Anabaena bergii</i>	<i>Chrysochlorium bergii</i>
<i>Anabaena circinalis</i>	<i>Dolichospermum circinale</i>
<i>Anabaena compacta</i>	<i>Dolichospermum compactum</i>
<i>Anabaena crassa</i>	<i>Dolichospermum crassum</i>
<i>Anabaena curva</i>	<i>Dolichospermum curvum</i>
<i>Anabaena danica</i>	<i>Dolichospermum danicum</i>
<i>Anabaena flos-aquae</i>	<i>Dolichospermum flos-aquae</i>
<i>Anabaena lemmermannii</i>	<i>Dolichospermum lemmermannii</i>
<i>Anabaena mucosa</i>	<i>Dolichospermum mucosum</i>
<i>Anabaena planctonica</i>	<i>Dolichospermum planctonicum</i>
<i>Anabaena reniformis</i>	<i>Sphaerospermopsis reniformis</i>
<i>Anabaena sigmoidea</i>	<i>Dolichospermum sigmoideum</i>
<i>Anabaena smithii</i>	<i>Dolichospermum smithii</i>
<i>Anabaena spiroides</i>	<i>Dolichospermum spiroides</i>

Závěrem

- změn je sice v ČSN 75 7717 větší počet, většina z nich však jen formálního charakteru
- základní postup zůstává nezměněn
- změna SOP pro odběry není nutná
- změna SOP pro laboratorní zpracování být musí, rozsahem je však drobná (zásaditý Lugolův roztok, změna u odstředování)

Děkujeme za pozornost



Příspěvek byl vytvořen v rámci projektu „Nové Metodické přístupy pro kontrolu a hodnocení povrchových vod ke koupání“ (TA 01020675).