

METODICKÉ USMERNENIE

pre pracovníkov SVP š.p. a VÚVH
pre potreby zabezpečenia

Programu monitorovania stavu vôd Slovenska pre roky 2010-2015

Biologické prvky kvality – FYTOPLANKTÓN

Odber vzoriek

Odber vzoriek fytoplanktónu pre účely hodnotenia ekologického potenciálu sa vo vybraných vodných nádržiach vykonáva v odberových miestach uvedených červenými bodmi na mapách nasledovným postupom. Odberové miesta je potrebné dodržať s ohľadom na hydrologickú a meteorologickú situáciu v konkrétnej nádrži. Vzorky sa odoberajú v súlade s navrhnutým programom monitorovania pre roky 2011 – 2015 (vybrané vodné nádrže, ktoré sú presne vymedzené pre každý rok, následne je k nim určený počet odberových miest a ich približná lokalizácia). Vzorky je nutné odobrať z člna. Odberové miesto musí mať hĺbku minimálne 2 m. Vzorky sa odoberajú vo vegetačnom období v mesačných intervaloch od apríla do októbra (7 odberov). Na kvantitatívne stanovenie fytoplanktónu a stanovenie obsahu chlorofylu-a a feopigmentov sa na odberovom mieste odoberá voľná voda z hĺbkového horizontu **od 0 do 30 cm** (nutné mať zachytenú aj hladinu), pomocou rúrkového vzorkovača, napríklad typu Friedinger. Na odberovom mieste sa odoberie plošne zlievaná integrovaná vzorka z minimálne 3 čiastkových vzoriek v okruhu odberového miesta (do 4 m). Postupuje sa tak, že rúrkový vzorkovač sa vnorí do vodného stĺpca a v hĺbke 30 cm sa uzavrie. Čiastkové vzorky sa premiešajú a zlejú do vhodnej nádoby a zhomogenizujú. Minimálny objem jednej čiastkovej vzorky musí byť aspoň 0,5 l. Po premiešaní čiastkových vzoriek v nádobe sa následne naplní vzorkovnica pre kvantitatívne stanovenie fytoplanktónu. Používa sa vzorkovnica o objeme 0,5 l, naplnená do 4/5 objemu. Zvyšná zhomogenizovaná vzorka z nádoby sa využije na naplnenie vzorkovnice pre stanovenie obsahu chlorofylu-a a feopigmentov (vzorkovnica o objeme 1 l s ponechaním vzduchovej bubliny pri jej plnení). Pre kvalitatívne stanovenie fytoplanktónu sa na odberovom mieste odoberie navyše jedna bodová vzorka a to preliatím cca 10 litrov vody (získanej odobratím hladinovým vzorkovačom – vedrom) cez planktónovú sieť s veľkosťou ôk 10 µm. Takto získaná zahustená vzorka sa preleje do vzorkovnice o objeme 100 - 250 ml, naplnenej do 4/5 objemu.

Analýza vzoriek

Vzorky pre kvalitatívne a kvantitatívne stanovenie fytoplanktónu sa analyzujú podľa postupov v STN 75 7715. Pri kvalitatívnom stanovení fytoplanktónu sa odporúča určiť taxóny na najnižšiu možnú taxonomickú úroveň. Pri určení rozsievok vo vzorke fytoplanktónu je vhodné pripraviť si trvalý rozsievkový preparát podľa postupu v STN EN 13946. Pri vizuálnom zistení výskytu sinicového vodného kvetu vo vzorke fytoplanktónu a ak je predpoklad, že počty sú vyššie ako 100 000 buniek/ml nie je potrebná ich kvantifikácia. Pre nižšie koncentrácie siníc vo vzorke je podľa potreby vhodné použiť metódu ich dezintegrácie podľa postupu uvedeného v STN 75 7715 kap. 3.4.2. s korekciou podľa opravy STN 75 7715/O1 (2009). Na stanovenie koncentrácie chlorofylu-a a feopigmentov treba použiť postup podľa STN ISO 10260.

Výsledkom kvalitatívneho stanovenia fytoplanktónu (zahustená vzorka) bude zoznam determinovaných taxónov s priradením relatívnej abundancie vyjadrenej stupňom hojnosti (od 1 po 9), podľa odhadovej stupnice uvedenej v nasledovnej tabuľke:

výskyt		stupeň hojnosti
slovne	v %	
veľmi vzácny	pod 1	1
vzácny	1 až 3	2
bežný	4 až 10	3
hojný	11 až 20	5
veľmi hojný	21 až 40	7
masový	nad 41	9

Výsledkom kvantitatívneho stanovenia fytoplanktónu (vzorka voľnej vody) bude zoznam determinovaných taxónov s priradením hodnoty abundancie pre každý determinovaný taxón, vyjadrenej počtom buniek v 1 ml vzorky. V prípade čiastkového výsledku, s počtom buniek siníc vyšším ako 100 000 buniek na ml sa výsledok daného taxónu siníc uvedie > 100 000 buniek/ml.

Príklad:

Scenedesmus acuminatus	20 b/ml
Navicula lanceolata	1000 b/ml
Woronichinia naegeliana	4 000 b/ml
Microcystis aeruginosa	> 100 000 b/ml
Celková abundancia :	105 020 b/ml

Výsledkom stanovenia obsahu chlorofylu-a a feopigmentov bude vyjadrenie ich hodnôt v jednotkách $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ s presnosťou na jedno desatinné miesto.

BIOLOGICKÉ PRVKY KVALITY – FYTOBENTOS A VLÁKNITÉ BAKTÉRIE

A.

Stanovenie celkovej štruktúry spoločenstva nárastov na odberovom úseku pri terénnom pozorovaní

Cieľom je odhad štruktúry nárastov viditeľnej časti dna v % (určených na najnižšiu možnú taxonomickú úroveň). Počas terénneho prieskumu sa do odberového protokolu zaznamenávajú skupiny spoločenstva nárastov, ktoré sa dajú na lokalite identifikovať voľným okom a približne sa určí aké percento substrátu pokrývajú. Týmto spôsobom sa stanovujú len skupiny, ktoré sú viditeľné voľným okom. Ak nie je možné niektoré viditeľné skupiny voľným okom determinovať, odoberú sa sub-vzorky na preurčenie pri mikroskopickej analýze, pričom je nevyhnutné pri terénnom pozorovaní odhadnúť, akú časť substrátu pokrývajú. Takýmto spôsobom je možné odhadnúť percento rozsievok (aj keď nie vždy), vláknitých baktérií, vláknitých zelených rias, siníc/cyanobaktérií, červených rias, spájaviek a podobne. V princípe sa jedná o rovnaký princíp stanovenia ako v prípade vláknitých baktérií s tým rozdielom, že tento údaj má len informatívny charakter, neodvodzuje sa z neho ekologický stav, ale môže mať význam pre interpretáciu výsledkov, čiže je potrebné vedieť, aké nárastové skupiny sú prítomné na lokalite, akú časť substrátu pokrývajú a či nemôžu ovplyvniť výpovednú hodnotu bentických rozsievok.

Do databázy Infosys sa zadávajú skupiny (taxóny) nárastového spoločenstva, ktoré sú identifikovateľné voľným okom pri terénnom pozorovaní a percento pokryvnosti substrátu na odberovom mieste.

B

Mikroskopická analýza živej vzorky fytobentosu odobratej za účelom analýzy bentických rozsievok

Mikroskopická analýza živej vzorky odobratej pre účely analýzy bentických rozsievok má slúžiť výlučne na **stanovenie druhového zloženia a relatívnej početnosti prázdnych schránok rozsievok a nemôže slúžiť na stanovenie iných skupín fytobentosu**, lebo vzorka nebola odobratá s ohľadom na tieto skupiny.

(Poznámka.: V norme STN 757715 je stanovenie celkového perifýtonu uvedené len pre prípad, že by sa z nejakého dôvodu takáto analýza mala robiť a v tomto prípade by bolo potrebné tomu prispôbiť aj odber. Pre účely hodnotenia ekologického stavu táto analýza však nie je potrebná.)

Čiže na základe mikroskopickej analýzy vzorky odobratej pre účely analýzy bentických rozsievok, sa do databázy Infosys zadáva druhové zloženie a relatívna početnosť (v %) prázdnych schránok rozsievok.

C

Stanovenie prítomnosti/absencie vláknitých baktérií v nárastoch

Princípom je odhad prítomnosti vláknitých baktérií na odberovom úseku počas terénneho prieskumu vyjadrený v percentách. Tento údaj predstavuje percento povrchu substrátu pokrytého vláknitými baktériami. Keďže sa jedná o odhad z úseku, v ktorom sa nachádzajú bakteriálne nárasty, odoberie sa sub-vzorka a prítomnosť baktérií v tejto vzorke sa

potvrdí aj mikroskopicky. Z toho vyplýva, že **mikroskopickou analýzou sa len potvrdzuje, či ide skutočne o vláknité baktérie, čiže baktérie sa v tejto vzorke nekvantifikujú, pretože slúži výlučne na potvrdenie správnosti identifikácie (teda prítomnosti) baktérií pri terénnom pozorovaní.** Môže vzniknúť niekoľko prípadov:

1. Ak sú vláknité baktérie na odberovom úseku prítomné

V prípade, že sú vláknité baktérie na odberovom úseku pri terénnom pozorovaní **prítomné**, do databázy Infosys sa nahadzuje toto číslo, t. j. **percento voľným okom viditeľných bakteriálnych nárastov na odberovom úseku**. Do tohto podielu sa však zarátavajú iba vláknité baktérie schopné vytvárať nárasty. Kvantitatívny údaj odhadnutý pri terénnom pozorovaní je možné upraviť len vtedy, ak sa pri mikroskopickej analýze v laboratóriu zistí, že podiel baktérií vo vzorke je omnoho nižší ako sa predpokladalo (napríklad, že sa pri terénnom pozorovaní determinuje daný nárast ako vláknité baktérie a pri mikroskopickej analýze sa zistí, že ide o sinice). Výsledok je potom možné upraviť, teda **znížiť stanovené percento** vláknitých baktérií z terénneho pozorovania. V prípade, že sa vláknité baktérie v žiadnej odobratej sub-vzorke nezaznamenajú, kvantitatívny údaj z terénneho pozorovania sa zníži na **nulovú hodnotu**, ktorá sa zadáva do databázy Infosys. V týchto prípadoch je ale potrebné opraviť stanovené percento pokryvnosti vláknitými baktériami aj v odberovom protokole. Podmienkou správneho stanovenia je preto dôkladný odhad pokryvnosti substrátu v teréne.

2. Ak sú vláknité baktérie na odberovom úseku neprítomné

V prípade, že pri odbere budú označené vláknité baktérie za **neprítomné** a pri mikroskopickej analýze vzorky (vzorky odobratej pre účely stanovenia percenta prázdnych schránok rozsievok) sa zistí, že sa vo vzorke zaznamenali, do databázy Infosys sa zadáva, že **vláknité baktérie boli identifikované pri mikroskopickej analýze bez priradenia percenta pokryvnosti substrátu**. V prípade, že sa prítomnosť vláknitých baktérií pri terénnom pozorovaní ani pri mikroskopickej analýze vo vzorke nezaznamenala, do databázy Infosys sa zadáva **nulová hodnota**.

3. Ak sú vláknité baktérie na odberovom úseku neidentifikovateľné

V prípade, že sa pri odbere označia vláknité baktérie za **neidentifikovateľné** (napríklad v dôsledku vysokého zákalu vody) do odberového protokolu do poznámky sa musí uviesť, že **stanovenie nebolo možné v teréne vykonať a uvedie sa dôvod**. Ak sa však pri mikroskopickej analýze vzorky (vzorky odobratej pre účely stanovenia percenta prázdnych schránok rozsievok) vláknité baktérie zaznamenajú, do databázy Infosys sa zadáva, že vláknité baktérie boli **identifikované pri mikroskopickej analýze bez priradenia percenta pokryvnosti substrátu**. Ak sa vo vzorke odobratej pre účely stanovenia percenta prázdnych schránok rozsievok zistí, že sa vo vzorke vláknité baktérie nezaznamenali, do databázy Infosys sa zadáva, že boli **nestanovené**. Neodporúča sa kvantifikovať baktérie len na základe mikroskopickej analýzy, keďže sa môže jednať o značne nepresný údaj, ktorý nemusí zodpovedať situácii na odberovom mieste a analyzovaná vzorka nemusí byť reprezentatívna pre celý odberový úsek.

V Bratislave, 16.8.2010

Vypracovala: Ing. Dana Fidlerová

RNDr. Jarmila Makovinská, CSc.

Národné referenčné laboratórium pre oblasť vôd na Slovensku