

METODIKA ODBĚRU A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ ZOOPLANKTONU STOJATÝCH VOD

I. Přikryl

Říjen 2006



1. Úvod

1.1 Princip metody

Zooplankton je důležitou skupinou organismů pro sledování stavu stojatých vod. Je v nich trvale přítomný, je relativně snadno a levně vzorkovatelný a jeho analýzou je možno získat mnoho informací, které vypovídají u každé nádrže o řadě vlastností s různě rychlou dynamikou změn. Většina druhů zooplanktonu má rozsáhlé areály, je schopna se efektivně šířit různými cestami mezi jednotlivými nádržemi a rychle osídlovat nádrže nově vzniklé. Umožňuje tak srovnatelné hodnocení i velmi vzdálených nádrží. Pro analýzu složení zooplanktonu a jeho interpretaci má proto význam nejen přítomnost jednotlivých druhů, ale i jejich absence, zastoupení různých vývojových stádií, velikost a kondice různých druhů, jejich zbarvení ap. Složení zooplanktonu může vypovídat o některých fyzikálně chemických vlastnostech vody a velikosti rybí obsádky. Pokud jsou však tyto informace získávány přímo, je možno citlivěji interpretovat zjištěné složení zooplanktonu ve srovnání s očekávaným.

Metodika je určena pro účely odběru a analýzy vzorků zooplanktonu v programech monitoringu pro Rámcovou směrnici o vodní politice (2000/60/ES). Je přizpůsobena potřebě získat informace spíše o dlouhodobém vývoji ekologického stavu monitorovaných nádrží, než o krátkodobých oscilacích jejich stavu. Metodika je určitým kompromisem mezi množstvím a kvalitou získaných informací a náročností jejich získání. Primárně je metodika zaměřena na monitoring útvarů povrchových vod stojatých (přehradní nádrže, rybníky, jezera ve zbytkových jamách po těžbě nerostů), může však být použita i pro stojaté vody, které jsou součástí útvarů povrchových vod tekoucích (menší přirozené i umělé nádrže). Postupy použité v této metodice přihlížejí k EN 15110 a jsou v souladu zejména s jejími částmi týkajícími se kvalitativních odběrů.

Princip hodnocení ekologického stavu nebo v podmínkách ČR spíše ekologického potenciálu spočívá v porovnání aktuálního složení zooplanktonu v hodnocené nádrži a stanovení odchylky od referenčních společenstev. Způsob vzorkování je tedy podřízen cíli zachytit co nejúplněji druhové spektrum zooplanktonu. Metoda je založena na určení druhů, příp. vyšších taxonomických skupin, a odhadu četnosti jejich výskytu v odebraných vzorcích s využitím semikvantitativní stupnice i na využití doplňujících informací o populacích dominantních druhů.

1.2 Odborné termíny

V pojetí této metodiky se za zooplankton považují tradiční skupiny mnohobuněčných živočichů trvale žijící ve vodním sloupci v pelagiálu nebo mezi vodními rostlinami, na něž se mohou dočasně přichycovat nebo po nich volně lézt, tzn. Rotifera, Cladocera a Copepoda. Pro jejich sledování je možno použít jednotnou metodiku odběrů a konzervace vzorků. Další organismy popsanou metodikou nejsou zachyceny dostatečně reprezentativně, jejich přítomnost je však rovněž registrována.

pelagiální zooplankton: Druhy zooplanktonu vyskytující se ve vodním sloupci v centrální části stojatých vod, kam významně nepronikají druhy vázané na břehovou linii a na litorální porosty ani druhy žijící na dně. Vedle druhů obligátně pelagiálních jsou v něm zastoupeny i druhy schopné žít v litorálu.

litorální zooplankton: Druhy zooplanktonu vyskytující se v litorálu stojatých vod, především v zárostech litorální makrovegetace. Převažují druhy plovoucí ve volné vodě mezi rostlinami a druhy zpravidla lezoucí po povrchu rostlin a občas plovoucí v jejich blízkém okolí. Nejsou v něm významně zastoupeny skutečné pelagiální druhy.

2. ZÁKLADNÍ POMŮCKY

2.1 Terénní pomůcky

- rybářské holinky
- loď a nezbytné bezpečnostní vybavení, záchranná vesta
- lodní kotva s označením hloubky na laně v metrech,
- GPS přístroj
- sonar
- Secchiho deska se značenými hloubkami
- hloubková měřicí sonda pro měření teploty vody, pH, kyslíku a vodivosti
- plastová vědra
- planktonní síť (planktonky) na šňůře s velikostí ok 80 μm s výpustním kohoutem, pro litorální zooplankton planktonka na tyči
- odběrák typu Schindler, Friedinger nebo Van Dorn , planktonní trubice nebo hadice
- planktonka nebo sítko s oky 40 μm
- cedník s oky 4 - 5 mm
- vzorkovnice – optimálně 100 ml objem nebo i větší, umělohmotná (PE) s uzávěrem
- permanentní fix na popisování vzorkovnic, samolepící štítky, nesmazatelná pera, grafitové tužky
- formaldehyd 40 % čistý nebo p.a
- etanol 96 % čistý
- chladič box
- fotoaparát

Optimální velikost ok planktonky je 80 μm , kdy jsou účinně zachycena i nejmladší vývojová stádia korýšů a alespoň částečně i nejdrobnější druhy vířníků. V případě menších ok se planktonka rychle zanáší planktonními částicemi, přestane filtrovat a hrne vodu před sebou. Při použití planktonky s oky většími než 100 μm nemusí být kvantitativně zachycena nejmenší vývojová stádia korýšů a drobné druhy vířníků nejsou zachyceny vůbec.

2.2 Laboratorní pomůcky

- binokulární mikroskop s křížovým stolkem a optimálně i s fotografickým nástavcem a fotoaparátem, mikrometrokulár (okulár s měřicí stupnicí)
- podložní a krycí mikroskopická sklíčka
- stereomikroskop
- sítko s oky 40 μm , koncentrační váleček
- Petriho misky různých velikostí
- preparační jehly
- baňka s kulatým dnem o objemu 250 ml, kalibrovaná na 50 ml a 100 ml
- skleněné pipetky s širokým ústím a balónkem
- 1% chlornan sodný (komerční přípravek SAVO), kyselina mléčná, glycerin, etylenglykol, mezokain
- 2% formaldehyd s kapkou detergentu
- determinační literatura

3. VZORKOVÁNÍ

3.1 Vzorkovací období

V závislosti na teplotě vody, na stratifikaci vodního sloupce, na vyžírácím tlaku rybí obsádky a na složení fytoplanktonu se druhové složení zooplanktonu v průběhu roku mění. U nádrží oligotrofních a mezotrofních jsou tyto změny méně výrazné a pomalejší, u nádrží úživnějších mohou být značně dynamické. K zachycení celého druhového spektra je proto zapotřebí provést odběr zooplanktonu vícekrát během roku.

- Z přehradních nádrží a jezer v užším slova smyslu se provádí odběr pelagiálního zooplanktonu v měsíčních intervalech v bezledovém vegetačním období od března do října, t.j. 8 odběrů. Doporučuje se zařadit odběry do druhé poloviny měsíce, čímž lze většinou zachytit stadium čiré vody.
- Z rybníků se odebírají vzorky pelagiálního zooplanktonu v měsíčních intervalech od dubna do září. V časnějším nebo naopak pozdějším období nemusí být rybníky na vodě nebo mohou být ovlivněny doznívajícím plněním či začínajícím vypouštěním pro podzimní výlov.
- Vzorky litorálního zooplanktonu se odebírají v červenci a srpnu.

3.2 Postup při výběru odběrových míst

Velké stojaté vody jsou obvykle horizontálně i vertikálně rozděleny na částečně oddělené prostory lišící se fyzikálně chemickými vlastnostmi i přítomnými společenstvy. V takových případech je proto třeba odebírat z jedné nádrže současně více samostatných vzorků na zdůvodněných místech nádrže, zpravidla z celého vodního sloupce. Z hlediska vzorkování je vhodné vodní útvary stojatých vod (jezera) rozdělit na:

- přehradní nádrže (jen výjimečně v dlouholetých intervalech vypouštěné, významný průtok vody a odpovídající horizontální gradient, významné ovlivnění přítoky, relativně autonomní vícedruhová rybí obsádka se zastoupením všech věkových skupin),
- rybníky (mělké, pravidelně každoročně nebo nejvýše v několikaletých intervalech vypouštěné, stejnověká rybí obsádka jednoho nebo několika druhů zcela závislá na řízeném vysazování a po vypuštění kompletně slovená, část roku bez vody) a
- vlastní jezera (zbytkové jámy bez významného průtoku vody a významných horizontálních gradientů, nevypustitelné, relativně autonomní vícedruhová rybí obsádka se zastoupením všech věkových skupin, mladé nádrže s vlastnostmi vody vyvíjejícími se k ustálenému stavu).

Pro pelagiální zooplankton **přehradních nádrží** volíme odběr poblíž místa s maximální hloubkou. Dbáme přitom, aby toto místo bylo vzdáleno alespoň 100 m od výpusti nebo vodárenského odběru a nebylo ovlivněno prouděním vody odtékající z nádrže. U **korytovitých nádrží** je potřebné zvolit další odběrová místa poblíž ústí přítoku. Pokud má nádrž další významné přítoky, je potřebné brát vzorky i poblíž jejich ústí. Ústím přítoků se rozumí místo, kde již není významný jednosměrný proud, ale které je významně ovlivněno přinášenými živinami a dalšími látkami, včetně inokula planktonních organismů. Objektivněji jde o místo, které přítékající voda při průměrném průtoku teoreticky dosáhne během 3 - 5 dnů.

U nádrží jezerního typu s povrchovým odtokem či bezodtokých je vhodné vedle vzorku z místa s největší hloubkou odebrat další 2 samostatné vzorky pelagiálního zooplanktonu z místa s průměrnou hloubkou a v příbřežní oblasti.

U rybníků je základním odběrovým místem pro pelagiální zooplankton okraj tzv. velkého loviště, kde bývá hloubka poněkud větší, než průměrná. Je vhodné odebrat další alespoň dva vzorky na místech směrem ke středu rybníka. Ze všech odebraných vzorků je u rybníků možno udělat jeden směsný vzorek. Bez velkého zkreslení je obvykle možno u rybníků

provést odběr i ze břehu, například z výpustního zařízení (pokud ovšem rybník silně neprotéká - v tom případě je nutno volit jiné místo poblíž maximální hloubky). Další podmínkou odběru ze břehu je vzdálenost alespoň 100 m od krmných míst, běžících aerátorů a dalších zařízení, ovlivňujících lokálně pobyt rybí obsádky a vlastností vody.

Pokud má nádrž více oddělených částí (samostatná jezera, hluboké zálivy), je potřebné v každé části odebrat další vzorek. Při výběru preferujeme místa, kde je prováděn odběr vzorků vody a fytoplanktonu a prováděna měření hloubkového profilu kvality vody a další terénní měření.

Litorální zooplankton se odebírá, pokud je rozsah (šířka) litorálních porostů dostatečný k utlumení vlnobítí a pokud v nich vzniká prostředí odlišné od pelagiálu. Je-li v nádrži více oddělených litorálních porostů, odebereme alespoň 2 - 3 dílčí vzorky, přičemž preferujeme místa s rozdílnou druhovou skladbou porostů při preferenci dominantních druhů rostlin. Litorální porost prolovujeme planktonkou na tyči v celém vodním sloupci pokud možno rovnoměrně od vnitřního okraje porostu směrem ke břehu.

Všechna zvolená odběrová místa zaměříme pomocí GPS pro zachování jejich lokalizace při následných odběrech. Zeměpisné souřadnice uvádíme v systému WGS-84 a v případě potřeby i v národní souřadnicové soustavě. Vedle lokalizace pomocí zeměpisných souřadnic uvádíme u vzorku i jméno nějakého blízkého zeměpisného místa. Pořizuje se fotodokumentace stavu sledovaných nádrží a odběrových míst, účelná je fotodokumentace zejména u vzorků z litorálních porostů a v případě odběru vzorků z rybníků ze břehu.

3.3 Vlastní odběr vzorku

Odběr vzorků z lodky musí provádět minimálně dva pracovníci, při souběžném odběru dalších vzorků i více. Odběru by se měl zúčastnit pokud možno vždy i pracovník, který bude vzorky zpracovávat.

Pelagiální zooplankton se získává vertikálním tahem planktonní sítě (planktonkou) ode dna k hladině, přičemž se dbá, aby nedošlo k nabrání zvířených sedimentů (tah začíná aspoň 0,5 m nade dnem, pro zjištění aktuální hloubky nádrže se použije sonar). U velmi hlubokých nádrží je možno prolovit pouze horní část vodního sloupce, minimálně však 25 m (při odběru pouze z epilimnia nebo z často používaných horních 5 m nemusí být ve světlé části dne kvůli cirkadiální migraci zachyceny velké druhy zooplanktonu - *Daphnia*, *Cyclops*, *Eudiaptomus*). Pro srovnatelnost sledování v různých obdobích je u jednotlivé nádrže potřebné zachovávat stejnou výšku prolovovaného vodního sloupce.

K odběru vzorku se používá planktonka s velikostí ok 80 μm a výpustním kohoutem. U hlubokých nádrží je vhodná planktonka s plechovým Apsteinovým nástavcem zužujícím vstupní otvor. Tah musí být přiměřeně rychlý a stejnoměrný: přibližně 0,2 - 0,3 m za sekundu, aby planktonka nehrnula vodu před ústím a profiltrovala celý protažený vodní sloupec. U mělkých nádrží, kde by byl vertikální tah kratší než 5 m, protahujeme planktonku celým vodním sloupcem šikmo ode dna k hladině.

Po vytažení planktonky nad hladinu pečlivě opláchneme stěny sítě opakovaným ponořením planktonky pod ústí a vytažením. Zachycené organismy se nahromadí ve spodní části planktonky. Vypouštěcím kohoutem převedeme zachycený materiál kvantitativně do plastové či skleněné sběrné nádoby se širokým hrdlem o objemu cca 100 ml, přičemž si pomáháme stříčkou naplněnou nejlépe vodovodní vodou, nebo vodou získanou v dané odběrové lokalitě přelitím přes sítko s velikostí ok 40 μm . Pak ještě dvakrát opakujeme opláchnutí stěn planktonky a převedení planktonu do sběrné nádoby. Pokud je zachyceného materiálu málo, tah se ještě alespoň jednou opakuje.

Je třeba udržovat filtrační schopnost planktonky a také zamezit kontaminaci vzorků materiálem z předchozího odběrového místa. Na každém odběrovém místě je nutno planktonku důkladně vyčistit opakovaným částečným ponořením do vody a rychlým vytažením při otevřeném výpustním kohoutu před odběrem i po něm. Při přesunech mezi odběrovými místy je vhodné planktonku nechat oschnout a případně i propláchnout v desinfekčním roztoku, pro zamezení přenosu vodních organismů mezi nádržemi. Po skončení odběru je vhodné ještě týž den planktonku vyprat v teplé vodě s detergentem nebo

s enzymatickým pracím práškem nebo v ultrazvukové myčce a před dalším odběrem zkontrolovat, zda planktonka nemá díry nebo trhlinky, zejména u výpustního kohoutu.

Pokud je ve vodním sloupci mnoho síťového fytoplanktonu (například sinic), nelze celý vodní sloupec reprezentativně profiltrovat planktonkou s doporučenou velikostí ok. V tom případě je nutno použít planktonní sběrače (odběráky typu Schindler, Van Dorn nebo Friedinger) a odebrat postupně dílčí vzorky od hladiny ke dnu tak, aby na sebe jednotlivé odebrané vrstvy vody bezprostředně navazovaly. Planktonku pak použijeme pouze ke koncentraci vzorků odebraných pomocí sběrače. V mělkých nádržích je v takovém případě výhodné použití planktonních trubic, v hlubokých nádržích dostatečně dlouhých planktonních hadic. Alternativním řešením může být použití planktonky s užším ústím Apsteinova nástavce nebo odebrání doplňkových vzorků protažením horních 5 m nebo 1 m.

Značnou komplikací při odběru bývá vítr, podle časových možností je proto vhodné se příliš větrnému počasí vyhnout. Při odběru z hlubokých nádrží je třeba na zvoleném místě zakotvit loďku kotvou nebo přichycením k bóji, aby se dal provést vertikální tah planktonní sítě.

Litorální zooplankton odebíráme planktonní sítí na tyči a snažíme se přitom prolovit celou výšku litorálních porostů a podle možností po částech i celou šíři litorálu od břehu až k jeho vnitřnímu okraji. Používáme planktonku s velikostí ok 80 μm , avšak raději bez výpustního kohoutu. V litorálu se totiž v planktonce vedle zooplanktonu zpravidla zachytí i mnoho detritu, rostlinných úlomků, larev vodního hmyzu a dalších částic, které výpustní kohout ucpávají. Velké neplanktonní částice můžeme před zkoncentrováním vzorku z planktonky odstranit rukou nebo pomocí hrubého cedníku s oky cca 4 - 5 mm velkými. Koncentrovaný vzorek po okapání vody přeneseme do vzorkovnice a doplníme potřebným množstvím vody z nádrže. Odběr litorálního zooplanktonu je pouze kvalitativní.

V nádržích s malým množstvím zooplanktonu (oligotrofní nádrže, odběry na konci zimy) je vhodné brát na každém místě 2 paralelní fixované vzorky. První použijeme na determinaci a semikvantitativní zpracování (během laboratorního zpracování může být podstatná část vzorku destruována) a druhý na archivaci.

Pro přesnou determinaci některých rodů vířníků je třeba vzít paralelně ještě **živý vzorek**. K jeho odběru použijeme raději planktonku s oky 40 - 50 μm velkými nebo nějakého typu planktonního sběrače (hluboké vody optimálně planktonní hadice, mělké vody a litorál planktonní trubice nebo jiný běžný typ) a filtrujeme přes sítku s oky 40 μm velkými. Použití hustější sítě pro filtraci umožní efektivněji zachytit drobné druhy, neslouží však ke korekci četnosti druhů v základním fixovaném vzorku. Z odebraného vzorku odstraníme větší jedince zooplanktonu a nadbytek vodního květu pomocí sítky s oky 400 - 500 μm . Vzorek nebo jeho část přeneseme do 1 - 2 l velké PE nebo PET lahve tak, aby hustota organismů nebyla příliš velká.

3.4 Značení a další nakládání se vzorky

Po odběru vzorků **pelagiálního a litorálního zooplanktonu** doplníme vodu v nádobkách a přidáme takové množství 40 % formalínu, aby jeho výsledná koncentrace byla 2 - 4 %. Nádobky by měly být naplněny až k hrdlu. Pro další práci se vzorkem je vhodná nižší koncentrace formalínu, avšak při větším množství zooplanktonu je potřebné pro dobrou konzervaci vzorku volit horní mez. Objem odebraného planktonu po sedimentaci by měl být alespoň 0,5 - 1 ml a neměl by překročit 10 - 20 % objemu vzorkovnice. Vzorky konzervované formalínem se skladují při pokojové teplotě, nikoli v chladničce. Konzervaci provádíme bezprostředně po přemístění vzorku do vzorkovnice.

Živý vzorek se v terénu přechovává a do laboratoře transportuje v šeru a chladu (cca 4 - 6 $^{\circ}\text{C}$) a zpracuje se hned po návratu do laboratoře. V laboratoři se provede opětovné zahuštění sítkem s oky 40 μm velkými. Pokud je nezbytné zpracování až druhý den, uchováváme je ve tmě při teplotě 2 - 5 $^{\circ}\text{C}$.

Alternativně můžeme pro pozdější zpracování před konzervací zooplanktonu narkotizovat přilítím vody syčené oxidem uhličitým. To umožní, aby část vířníků bez krunýře zůstala po fixaci natažená a dala se určit. V optimálním případě pak není nutno zpracovávat živé vzorky.

Odběr vzorků zooplanktonu je vhodné kombinovat s odběrem vzorků fytoplanktonu, vzorků vody na fyzikálně chemickou analýzu a vertikálním měřením základních fyzikálně chemických ukazatelů pomocí terénní sondy. Pokud na nádrži probíhá rutinní monitoring zooplanktonu odlišnými metodami, je vhodné provést odběry pro obě sledování současně.

Popis odebraného vzorku provádíme vodou nesmyvatelným fixem přímo na vzorkovnici nebo na ni připevníme samolepící štítek. Označení vzorku musí být nezaměnitelné. V popisu uvádíme název nádrže, místo odběru, datum, délku proloveného vodního sloupce a počet tahů nebo objem vody odebrané odběrákem, velikost ok použité planktonky a případné další významné údaje včetně odlišení paralelních vzorků. Stejně údaje zaneseme do terénního odběrového protokolu, který musí být vždy řádně vyplněn a archivován. Odběrový protokol doplníme i dalšími údaji o stavu nádrže (výška vodní hladiny, teplota, průhlednost a zbarvení vody, výsledky případných dalších terénních měření, výskyt vodního květu, ryb, vodního ptactva, stav a druhové složení litorálních porostů a p.), o provedené fotodokumentaci, o počasí během odběru ap. a také zaznamenáme jména pracovníků provádějících odběr vzorků. Zaznamenáme rovněž jakékoli odchylky od standardního postupu vzorkování. Po návratu do laboratoře protokol přepíšeme nebo zkopírujeme. Odběrový protokol by měl vyplňovat pracovník, který bude vzorky determinovat.

4. ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

4.1 Zpracování živých vzorků

Zpracování živých vzorků je poměrně časově náročné, ale bez něj by správné určení některých běžných druhů vířníků bylo obtížné nebo i zcela nemožné. K jejich zpracování je vhodné přistoupit ihned po návratu z terénu. Zpracování musí být dokončeno nejpozději do 48 hodin. Je vhodné předem orientačně prohlédnout část odpovídajícího fixovaného vzorku, zda se některé druhy z dále uvedených vířníků ve vzorku vůbec vyskytují a co v něm máme hledat. Ušetříme tím dost času. Při zpracování se zaměříme na determinaci především vířníků z následujících taxonů: *Bdelloidea*, *Ascomorpha*, *Collotheca*, *Conochilidae*, *Epiphanidae*, *Filinia*, *Hexarthra*, *Liliferotrocha*, *Proalides* a *Synchaeta*.

Nejprve je třeba vzorek náležitě zahustit, přelitím přes sítko s oky 40 μm . Přitom je třeba zabezpečit, aby nebyli vířníci poškozeni tlakem vody a aby na sítku neoschli. Výhodné je použít k zahuštění váleček z umělé hmoty (výška cca 5 cm, vnitřní průměr cca 2 cm) s pevným dnem a oknem pokrytým sítkou ve výšce cca 2 cm nade dnem. V takovém válečku je možno postupným přiléváním z transportní nádoby dosáhnout dostatečné hustoty a současně si zachovat část nezahuštěného vzorku pro případ, že se práce protáhne.

Ze zahuštěného vzorku opakovaně odebíráme pipetkou kapku vody, kterou zpravidla pod krycím sklem prohlížíme pod mikroskopem a jednotlivá zvířata určujeme. Soustředíme se na nalezení všech přítomných druhů, nikoli na jejich kvantifikaci. Nalezené druhy zapisujeme do determinačního protokolu, ale četnost k nim přidáme až při zpracování fixovaného vzorku. Pro určení je důležitý celkový tvar těla a podoba a umístění různých výrůstků, tykadel ap. Živí vířníci se obvykle čile pohybují a je nesnadné je udržet dostatečně dlouho v zorném poli. Nejsnáze se toho dosáhne mírným tlakem krycího skla, které znemožní volný pohyb, ale živočicha přitom nerozmáčkne. U drobných druhů savým papírem opatrně odsáváme vodu pod krycím sklíčkem. U velkých druhů může být potřebné podložit rohy krycího sklíčka malým množstvím plastelíny nebo podobné hmoty. Je možné také pod krycí sklo umístit nějaký vláknitý materiál, který omezí prostor pro volný pohyb vířníků. Další možností je narkotizace, nejsnáze přidáním kapky mezokainu. Pokud nemáme dostatečnou praxi, je

vhodné přidáním trochy ředěného formalínu (4 %) ke kapce na sklíčku zjistit, jak vypadá příslušný druh po fixaci.

4.2 Zpracování konzervovaných vzorků

Konzervované vzorky je vhodné zpracovat alespoň částečně během několika dnů po odběru. To umožní v případě potřeby odběr zopakovat nebo odebrat doplňující vzorky. Lépe budou využity pro hodnocení vzorku také odběrové okolnosti.

Při manipulaci s konzervovaným vzorkem od okamžiku odběru až do zpracování dochází k víření sedimentovaného vzorku a k vyřídění organismů podle velikosti a specifické hmotnosti jejich těla. Podvzorek odebraný ke zpracování pod mikroskopem tudíž nemusí být reprezentativní pro celý vzorek. U vzorků s menším množstvím zooplanktonu je proto vhodné prohlédnout celý vzorek nebo jeho většinu. U bohatších vzorků, které vytvoří jen několik mm vysokou vrstvu na dně vzorkovnice, je vhodné ke zpracování vzít zooplankton z několika míst, a to vždy celou vrstvičku. U bohatých vzorků, kde je vrstva zooplanktonu vyšší než 5 mm, je vhodné opatrným obracením lahvičky vzorek dokonale promíchat a před vlastním zpracováním nechat aspoň hodinu znovu sedimentovat. Pro zpracování pak pipetkou odebereme celou výšku sedimentované vrstvy zooplanktonu. Jsou možné i další způsoby homogenizace vzorku, které se používají u kvantitativních metod, není však jednoduché zabezpečit přitom adekvátní množství (správnou hustotu) jedinců ke zpracování pod mikroskopem. Je třeba také zamezit zachytávání některých druhů na pomůckách použitých k odběru podvzorku přidáním nepatrného množství detergentu.

Před determinací konzervovaného zooplanktonu se provede stanovení objemové biomasy, která je nejjednodušším ukazatelem jeho čerstvé biomasy. Objem sedimentovaného zooplanktonu je možno ve vzorkovnicích se svislými stěnami a plochým dnem stanovit přímo (vnitřní plocha dna krát výška sedimentovaného vzorku) nebo je možno objem odečíst po převedení vzorku do kalibrovaného odměrného válce nebo zkumavky. Takto získaná objemová biomasa je v průměru asi dvakrát větší, než součet individuálních biomas jedinců zooplanktonu, protože mezi nimi zůstávají mezery vyplněné vodou, tzn. 1 ml sedimentu odpovídá přibližně 0,5 g čerstvé váhy. Pokud je ve vzorku ještě významný podíl síťového fytoplanktonu a/nebo detritu je nutno jejich podíl odečíst. Získanou hodnotu potom přepočítáme na biomasu pod jednotkou plochy nádrže nebo na jednotku objemu profiltrované vody.

Determinaci zooplanktonu a stanovení podílu jednotlivých druhů provádíme nejnázorněji pod mikroskopem při použití 10x zvětšujícího objektivu v nezakryté kapce konzervační tekutiny na podložním sklíčku. Při tomto zvětšení je možná přímá determinace většiny přítomných jedinců zooplanktonu. Je současně možno z prohlíženého vzorku pipetkou nebo jemnou pinzetou odebrat k samostatnému zpracování na jiném podložním skle jedince, u nichž je pro pozorování nezbytných detailů nutná úprava - prosvětlení, oddělení částí těla ap. Při použití nezakryté kapky se zooplanktonem však zpravidla není možno použít silnějších objektivů, kvůli riziku namočení nebo orosení objektivu.

Zooplankton ze vzorkovnice na mikroskopické sklíčko přenášíme nejlépe pipetou zhotovenou ze skleněné trubičky s vnitřním průměrem 4 - 5 mm, aby bylo možno nasát i velké jedince perlooček. Odebíráme jen cca 0,05 - 0,1 ml vzorku (to odpovídá přibližně 0,5 - 1 cm vysokému sloupci v pipetě), aby se jednotlivé planktonní organismy po rozprostření tekutiny se vzorkem po celé délce podložního skla co nejméně překrývaly. V tomto objemu vzorku jsou obvykle tisíce až desetitisíce jedinců zooplanktonu. Prohlédnutí celého odebraného podílu vzorku tedy umožňuje zaznamenat i řídké druhy se zastoupením menším než 0,1 %. Vzorek na sklíčku opatrně promícháme pomocí pipety tak, aby byl zooplankton rovnoměrně a náhodně rozmístěn po celé ploše kapky. Během zpracování vzorku dáváme pozor, aby nedošlo k jeho vyschnutí a případně přidáváme trochu tekutiny ze vzorku.

Při zpracování vzorku začneme nejprve zaznamenáním výskytu přítomných druhů prohlédnutím malé části vzorku. Vývojová stadia klanonožců jsou obtížně určitelná a zpravidla se sledují hromadně jen jako *nauplii* a *copepodites*. Zpravidla je však možné je

určit alespoň do rodů a přiřadit k druhům zjištěným podle dospělců. Následně stanovíme četnost nejhojnějších taxonů. Poté je vhodné systematicky prohlédnout v navazujících pruzích na šířku zorného pole celý vzorek a pokračovat v zaznamenávání dalších nalezených druhů a ve stanovení četnosti pro všechny taxony. Současně do protokolu zaznamenáváme i výskyt dalších organismů, které nejsou pravidelnou součástí planktonu (parazitické buchanky, různé hmyzí larvy, další bezobratlí, rybí plůdek, pylová zrna, samostatná vajíčka, statoblasty aj. a zejména také výskyt síťového fytoplanktonu). U korýšů je vhodné zaznamenat velikost adultních jedinců obou pohlaví a množství vajíček připadajících na dospělou samici. U velkých perlooček je významný i podíl juvenilních a adultních jedinců a také výskyt samců a efipiálních samic. U velkých dominantních druhů, které mohou být relativně málo početné, je vhodné odhadnout i jejich podíl na biomase zooplanktonu. U druhů s proměnlivým tvarem těla zaznamenáváme výskyt tvarových forem. Významné je i nestandardní zbarvení, parazitace a případný výskyt deformací těla nebo regenerace poškozených částí těla. Zaznamenáme také nápadný výskyt jedinců, kteří byli při odběru již uhynulí.

Pokud je to potřebné, dokončíme determinaci vířníků v konzervovaném vzorku na základě tvaru kousacího ústrojí, jejich rozpuštěním pomocí chlornanu sodného v menší kapce tekutiny pod krycím sklem a při větším zvětšení. Obdobně dokončíme determinaci těch druhů korýšů, kde je nutné pozorování detailů po oddělení částí těla nebo jejich prosvětlení. Výsledky doplníme do protokolu a zkontrolujeme jeho úplnost. Na závěr do protokolu přidáme hodnocení zpracovaného vzorku, zejména těch aspektů, které by při následném souhrnném hodnocení mohly být přehlednuty. Je vhodné udělat i fotodokumentaci vzorku - celkový charakter vzorku při menším zvětšení a vybrané druhy pro případnou konzultaci se specialistou na danou skupinu, druhy vytvářejících různé tvarové formy a nalezené vzácné druhy.

Pro stanovení četnosti odhadní stupnicí procentické zastoupení přítomných druhů pouze odhadujeme. To je nejsnadnější, pokud se v zorném poli mikroskopu vyskytuje cca 10 - 30 jedinců zooplanktonu. Prohlédnutím několika zorných polí tak snadno stanovíme stupeň četnosti hojných druhů. U méně početných druhů potom jednotlivě při systematickém prohlížení celého vzorku porovnáváme jejich výskyt s hranicemi stupňů četnosti tzn. například, zda se mezi každými 10, 20, 100 jedinci v průměru příslušný druh vyskytne. U hustých vzorků je třeba dát pozor, abychom nepřehlíželi zejména drobnější jedince a nepodcenili jejich výskyt. U řídkých vzorků, kde v zorném poli je jen několik nebo i méně než 1 jedinec, je odhad četnosti nesnadný. To se týká zejména případů, kdy ve vzorku převažuje silně síťový fytoplankton nebo detritus. V tom případě je vhodné při systematickém prohlížení počítat všechny pozorované jedince (například pomocí čárek vedle jména v protokolu) a po spočítání cca 200 jedinců přiřadit nalezeným druhům příslušný stupeň četnosti. Četnost dalších nalezených druhů se pak dá už stanovit poměrně snadno.

V praxi se používá více odhadních stupnic s rozdílně vymezenými a pojmenovanými stupni. Pro semikvantitativní hodnocení zooplanktonu nejlépe vyhovuje stupnice podle Hrbáčka (Hrbáček a kol. 1972), kterou je však vhodné pro následné grafické nebo i statistické hodnocení modifikovat. Výhodou je jemnější rozdělení četnosti početnějších druhů i zachycení případů naprosté dominance některého druhu. Je možno používat i mezistupně (například 1 - 2 odpovídá 1,5). Stupně modifikované stupnice jsou blízké lineární závislosti logaritmů středů tříd četnosti, tzn. dají se přímo využít pro grafické znázornění výsledků.

Tab.1: Odhadní stupnice podle Hrbáčka (Hrbáček a kol. 1972) a její modifikace.

podíl v %	Hrbáček a kol.	modifikovaná
0 (druh nezjištěn)		0
< 1 %	+	1
1 - 5	1	2
5 - 10	2	3
10 - 20	3	4
20 - 40	4	5
40 - 80	5	6
> 80	M	7

5. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Je nutno samostatně hodnotit pelagiální a litorální zooplankton. Litorální zooplankton je méně významný z hlediska dějů v nádrži, ale výrazně zvýší citlivost při hodnocení stavu nádrže. Samostatně je třeba také hodnotit vzorky odebrané u ústí přítoků, které mohou být výrazně ovlivněny zooplanktonem přineseným přítokem a srovnat je se základním odběrovým místem.

Pro výsledné hodnocení je důležitá možnost přiřadit k analýzám i maximum dalších údajů o nádrži a jejím vývoji v předchozím období (morfologické a hydrologické parametry nádrže, nadmořská výška, povodí a jeho vlastnosti, rybí obsádka, fytoplankton, fyzikálně chemické analýzy vody, vývoj počasí, případná manipulace s hladinou,...). Jejich využití umožní citlivější interpretaci výsledků monitoringu.

6. ODBĚROVÝ A DETERMINAČNÍ PROTOKOL

Viz přílohy.

7. ARCHIVACE

Zpracované vzorky pevně uzavřeme a na vhodném místě uložíme pro případné pozdější přehodnocení determinace, zejména s ohledem na současný dynamický vývoj taxonomie. Vzorky skladujeme a veškerou prvotní dokumentaci uchováváme alespoň 6 let po skončení monitoringu a jeho vyhodnocení. Je vhodné zavést si nějaký systém názvů (kódování), který umožní snadné nalezení a přiřazení fyzických vzorků k fyzickému protokolu i k jeho elektronickým formám a případné fotodokumentaci.

8. BEZPEČNOST PRÁCE

Práce ve vodě nebo v její blízkosti může být nebezpečná. Je nutno stanovit náležitá bezpečnostní a i zdravotní opatření a zajistit shodu se všemi podmínkami národních i případných interních předpisů. Pro vlastní odběry je potřebné zajistit dostatečný počet poučených pracovníků a vhodné ochranné a záchranné pomůcky.

Při práci v laboratoři je třeba dbát zejména na bezpečnost při používání chemických preparátů a vhodné větrání pracovních prostor.

9. LITERATURA

ČSN 75 77 12 Jakost vod - Biologický rozbor - Stanovení biosestonu

EN 15110 Water quality - Guidance standard for the sampling of zooplankton from standing waters, May 2006

Hrbáček J. a kol., 1972: Limnologické metody, SPN Praha

Straškraba M. a kol., 1992: Metodika sledování a hodnocení jakosti vody vodárenských nádrží, HBÚ ČSAV České Budějovice

Wetzel, R.G., Likens E.G., 1995. Limnological analyses

METODIKA ODBĚRU A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ ZOOPLANKTONU STOJATÝCH VOD

PROTOKOL O ODBĚRU BIOTY STOJATÝCH VOD - ZOOPLANKTON																																																																																							
vodní útvar		kód odběru		datum		vzorkaři																																																																																	
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>srážky</td><td></td></tr> <tr><td>ne</td><td></td></tr> <tr><td>ano - mrholení</td><td></td></tr> <tr><td>ano - déšť</td><td></td></tr> <tr><td>ano - mrznoucí</td><td></td></tr> <tr><td>ano - sněhové</td><td></td></tr> </table>		srážky		ne		ano - mrholení		ano - déšť		ano - mrznoucí		ano - sněhové		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>oblačnost</td><td></td></tr> <tr><td>< 20%</td><td></td></tr> <tr><td>20 - 40 %</td><td></td></tr> <tr><td>40 - 60%</td><td></td></tr> <tr><td>60 - 80%</td><td></td></tr> <tr><td>> 80%</td><td></td></tr> </table>		oblačnost		< 20%		20 - 40 %		40 - 60%		60 - 80%		> 80%		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>vodní květ</td><td>ano</td><td>ne</td></tr> <tr><td colspan="3">výška vodní hladiny</td></tr> <tr><td>zvýšená</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>normální</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>snížená</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>silně snížená</td><td></td><td></td></tr> </table>		vodní květ	ano	ne	výška vodní hladiny			zvýšená			normální			snížená			silně snížená			<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>zbarvení vody</td><td></td></tr> <tr><td>bezbarvá</td><td></td></tr> <tr><td>zelená</td><td></td></tr> <tr><td>hnědá</td><td></td></tr> <tr><td>šedá</td><td></td></tr> <tr><td>žlutá</td><td></td></tr> <tr><td>červená</td><td></td></tr> </table>		zbarvení vody		bezbarvá		zelená		hnědá		šedá		žlutá		červená		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>pach</td><td></td></tr> <tr><td>žádný</td><td></td></tr> <tr><td>slabý</td><td></td></tr> <tr><td>intenzivní</td><td></td></tr> <tr><td colspan="2">popis pachu</td></tr> </table>		pach		žádný		slabý		intenzivní		popis pachu		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td colspan="2">fotodokumentace</td></tr> <tr><td>provedl:</td><td></td></tr> <tr><td>popis:</td><td></td></tr> <tr><td colspan="2">průhlednost</td></tr> <tr><td></td><td>m</td></tr> </table>		fotodokumentace		provedl:		popis:		průhlednost			m
srážky																																																																																							
ne																																																																																							
ano - mrholení																																																																																							
ano - déšť																																																																																							
ano - mrznoucí																																																																																							
ano - sněhové																																																																																							
oblačnost																																																																																							
< 20%																																																																																							
20 - 40 %																																																																																							
40 - 60%																																																																																							
60 - 80%																																																																																							
> 80%																																																																																							
vodní květ	ano	ne																																																																																					
výška vodní hladiny																																																																																							
zvýšená																																																																																							
normální																																																																																							
snížená																																																																																							
silně snížená																																																																																							
zbarvení vody																																																																																							
bezbarvá																																																																																							
zelená																																																																																							
hnědá																																																																																							
šedá																																																																																							
žlutá																																																																																							
červená																																																																																							
pach																																																																																							
žádný																																																																																							
slabý																																																																																							
intenzivní																																																																																							
popis pachu																																																																																							
fotodokumentace																																																																																							
provedl:																																																																																							
popis:																																																																																							
průhlednost																																																																																							
	m																																																																																						
teplota vzduchu		°C																																																																																					
poznámky																																																																																							
KÓD VZORKU		místo odběru		zaměření GPS				přesnost GPS (m)																																																																															
aktuální hloubka		čas odběru		GPS zem. délka N		GPS - zem. šířka E		m																																																																															
fyz-chem. ukazatele (proměření vodního sloupce)																																																																																							
		hladina	dno epil.	stř.metal.	dno metal.	stř.hypol.	dno	paralelní vzorek																																																																															
hloubka pro měření	m							ano	ne																																																																														
t vody	°C							živý vzorek																																																																															
pH								ano	ne																																																																														
vodivost	µS/cm							typ odběráku																																																																															
rozpuštěný kyslík	mg/l							Friedinger																																																																															
nasycení kyslíkem	%							Schindler																																																																															
chlorofyl	µg/l							Van Dorn																																																																															
				popis použití odběráku				planktonní hadice																																																																															
								jiný																																																																															
dokonalost filtrace		planktonka						odběrák																																																																															
dobrá		průměr ústí	cm					objem odběráku																																																																															
zhoršená		délka tahu	m					počet odběráků																																																																															
nevyhovující		počet tahů																																																																																					
KÓD VZORKU		místo odběru		zaměření GPS				přesnost GPS (m)																																																																															
aktuální hloubka		čas odběru		GPS zem. délka N		GPS - zem. šířka E		m																																																																															
fyz-chem. ukazatele (proměření vodního sloupce)																																																																																							
		hladina	dno epil.	stř.metal.	dno metal.	stř.hypol.	dno	paralelní vzorek																																																																															
hloubka pro měření	m							ano	ne																																																																														
t vody	°C							živý vzorek																																																																															
pH								ano	ne																																																																														
vodivost	µS/cm							typ odběráku																																																																															
rozpuštěný kyslík	mg/l							Friedinger																																																																															
nasycení kyslíkem	%							Schindler																																																																															
chlorofyl	µg/l							Van Dorn																																																																															
				popis použití odběráku				planktonní hadice																																																																															
								jiný																																																																															
dokonalost filtrace		planktonka						odběrák																																																																															
dobrá		průměr ústí	cm					objem odběráku																																																																															
zhoršená		délka tahu	m					počet odběráků																																																																															
nevyhovující		počet tahů																																																																																					
KÓD VZORKU		místo odběru		zaměření GPS				přesnost GPS (m)																																																																															
aktuální hloubka		čas odběru		GPS zem. délka N		GPS - zem. šířka E		m																																																																															
fyz-chem. ukazatele (proměření vodního sloupce)																																																																																							
		hladina	dno epil.	stř.metal.	dno metal.	stř.hypol.	dno	paralelní vzorek																																																																															
hloubka pro měření	m							ano	ne																																																																														
t vody	°C							živý vzorek																																																																															
pH								ano	ne																																																																														
vodivost	µS/cm							typ odběráku																																																																															
rozpuštěný kyslík	mg/l							Friedinger																																																																															
nasycení kyslíkem	%							Schindler																																																																															
chlorofyl	µg/l							Van Dorn																																																																															
				popis použití odběráku				planktonní hadice																																																																															
								jiný																																																																															
dokonalost filtrace		planktonka						odběrák																																																																															
dobrá		průměr ústí	cm					objem odběráku																																																																															
zhoršená		délka tahu	m					počet odběráků																																																																															
nevyhovující		počet tahů																																																																																					

