

Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav botaniky a zoologie

Biologická analýza spoločenstiev vodných organizmov - počítanie cyanobaktérií a rias v komôrke

RNDr. Bohuslav Uher, Ph.D.
uherius@sci.muni.cz

Kvantifikácia biosestonu

- Technická norma
- Kvalita vody
- Biologický rozbor
- Stanovenie biosestónu
- Cieľ: kvantitatívne vyjadrenie spoločenstva všetkých živých organizmov prítomných vo vodnom stĺpci

Postup pri zisťovaní množstva organizmov

- Odber vzoriek
- Transport vzoriek
- Laboratórne spracovanie (zahustenie vzorky, počítanie organizmov)
- Vyhodnotenie výsledkov
- Dôležité: presne definované objemy vzorky, čo je nevyhnutný predpoklad presnej kvantifikácie organizmov na jednotku objemu!!!

Odber vzoriek

- V súlade s príslušnou technickou normou
- Čisté sklenené alebo plastové vzorkovnice
- Napĺňanie do $\frac{3}{4}$ objemu
- Transport v chladiacich fľašiach
- Spracovanie najneskôr do 24 hodín
- Do spracovania uchovávať pri teplote 4 C
- Před analýzov temperovat při teplote okolia na 20 C

Metódy zahustenia vzorky

- Príliš málo organizmov
- Preto zahusťujeme
- **1. Sedimentácia**
- Organizmy fixované Lugolovým roztokom
- Inverzná mikroskopia
- Utermöhlova metóda
- **2. Centrifugácia**
- 10 ml odobratej vzorky vody po dobu 5 minút pri 2000 otáčkach (polomer rotora 0,08 m)
- Problematické sú planktónové sinice tvoriace vodný kvet
- **3. Membránová filtrácia**
- 10 ml vzorky sa presaje cez filter
- Pozorovanie filtra pod imerziou

Mikroskopická analýza

- Zahustená alebo nezahustená vzorka
- Po temperovaní na teplotu 20°C
- Zväčš. 200x niekedy aj väčšom
- Počítacie komôrky
- Bürkerova (ešte sa používa v bakteriológii)
- **Cyrus I**
- **Cyrus II**

Cyrus I



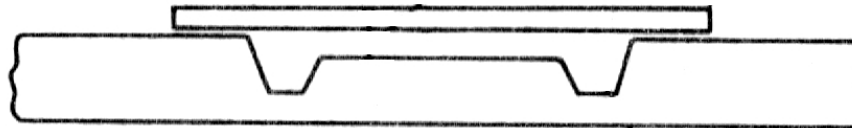
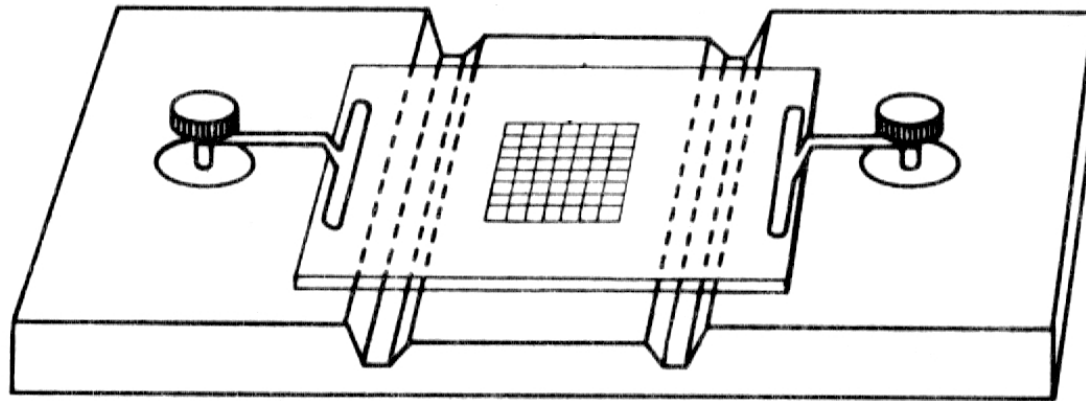
Hloubka 0,10mm
0,100 mm²

1
1 mm²

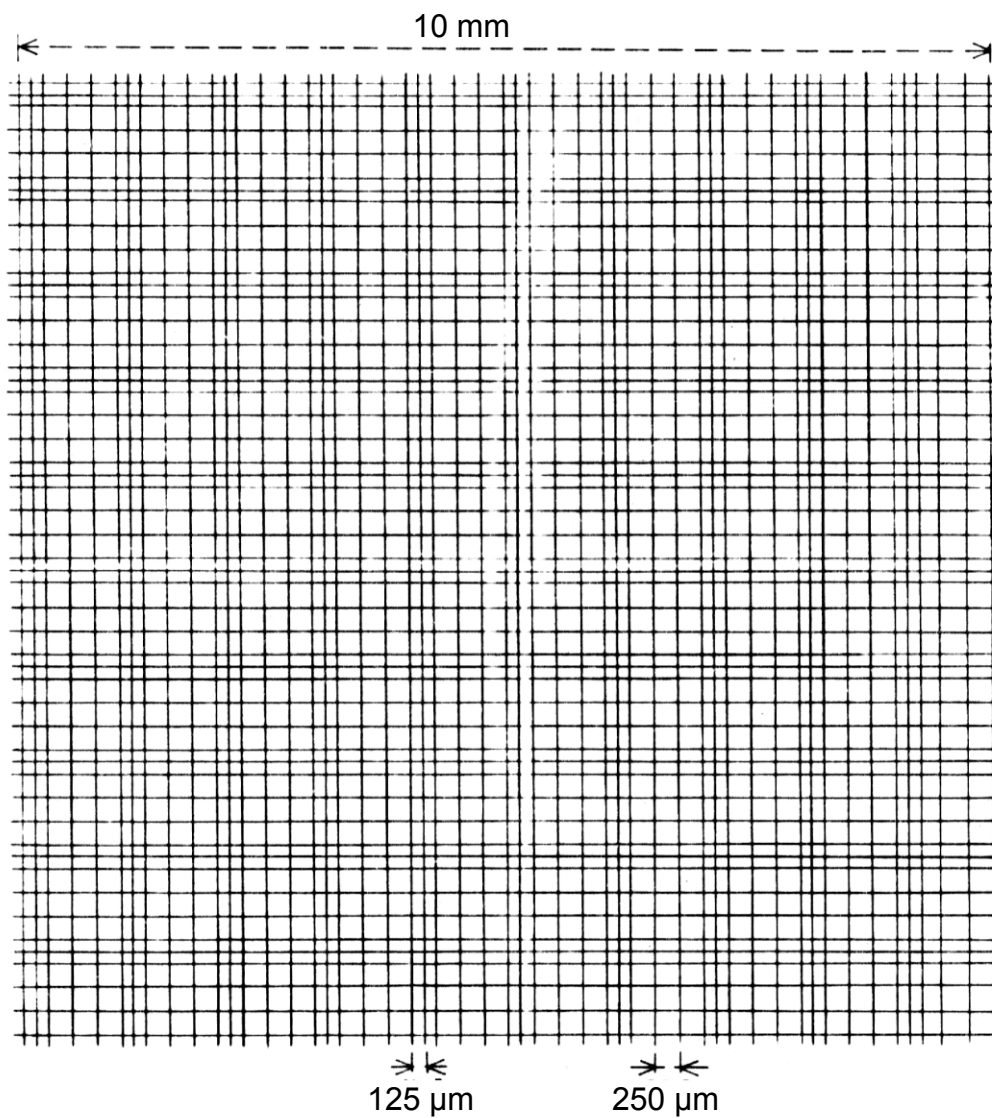
CYRUS
1034

mal

Cyrus I, schéma



Mriežka počítacej komôrky Cyrus I



Počítacia komôrka Cyrus I

- Homogenizácia vzorky pomocou preparačnej ihly alebo pomalým viacnásobným nasatím do pipety a jej vypustením bez bublania pred prenesením na mriežku komôrky
- Prykryje se krycím sklíčkom
- Upevní svorkami
- Prebytočná voda sa dostane do kanálikov
- Tá sa vyfúkne
- Nezabudnúť na čistení počítacej komôrky 70% Etanolom před a po použití!!!
- Mriežka, dĺžka strany malého štvorca 125 μm

Počítanie organizmov

- Vychádza sa z definície jedinca
- Jedinec je samostatne žijúci organizmus jednobunkový a viacbunkový
- Jedinec = bunka rias, siníc, baktérií, bičíkovcov a nálevníkov, cenóbiá siníc a rias, kolónie do priemeru 60 μm
- Vlákna húb, siníc a rias do dĺžky 100 μm
- Spôsob počítania zvolíme podľa hustoty buniek vo vzorke (malá hustota - celá mriežka, väčšie štvorce, vysoká hustota – 3-4 pásy štvorcov)
- Organizmy dotýkajúce sa spodnej a ľavej strany sa nepočítajú!!!
- Prepočítanie organizmov na 1 ml

Stanovenie počtu jedincov na 1 ml

- Počet jedincov x v 1 ml vzorky:
- $x = a.K / n.z.V$;
- a → počet jedincov v n štvorcoch
 n → počet vyšetrených štvorcov
 z → zahustenie vzorky
 K → celkový počet štvorcov v komôrke
 V → objem komôrky v ml

Pre komôrku Cyrus I

- 10 10 mm, 0,01 ml, 1600 štvorcov
- Pri zahustení vzorky z 10 ml na objem 0,1 ml ($z=100$, $K=1600$, $V=0,01$)
- Vzorec: $x = a \cdot 1600 / n \cdot 100 \cdot 0,01$
 $x = 1600 \cdot a / n$

Rušivé vplyvy stanovenia

- Chyby a neistoty
- Homogenizácia vzorky (deštrukcia drobných druhov)
- Veľkosť počítacej plochy (rozdiely v počtoch organizmov)
- Ľudský faktor
- Dodržiavanie správneho postupu a požiadaviek príslušných noriem

Ďakujem za pozornosť

