

Česká republika – Ministerstvo životního prostředí

• • •

Povodí Moravy, s. p.

SMLOUVA O DÍLO

TATO SMLOUVA O DÍLO (dále jen „**Smlouva**“) je uzavřena ve smyslu ustanovení § 2586 a násl. zákona č. 89/2012 Sb., občanského zákoníku, ve znění pozdějších předpisů (dále jen „**Občanský zákoník**“),

MEZI

Českou republikou – Ministerstvem životního prostředí

sídlo: Vršovická 1442/65, 100 10 Praha 10
zastoupenou: Mgr. Lukášem Zárubou, ředitelem odboru ochrany vod
IČO: 00164801
bankovní spojení: ČNB Praha 1
číslo účtu: 7628001/0710
zástupce pro věcná jednání: Ing. Ivana Beděrková

DÁLE JEN „**Objednatel**“
NA STRANĚ JEDNÉ,

A

Povodím Moravy, s.p.

sídlo: Dřevařská 932/11, Veverí, 602 00 Brno
zastoupeným: MVDr. Václavem Gargulákem, generálním ředitelem
IČO: 70890013
DIČ: CZ70890013
bankovní spojení: Komerční banka, a. s., pobočka Brno – venkov
číslo účtu: 29639641/0100
zapsaným v obchodním rejstříku vedeném u Krajského soudu v Brně, v oddílu A, vložce 13565
zástupce pro věcná jednání: Ing. Marek Burian, Ph.D.

DÁLE JEN „**Zhotovitel**“
NA STRANĚ DRUHÉ,

OBJEDNATEL A ZHOTOVITEL SPOLEČNĚ JEN „**Smluvní strany**“
NEBO JEDNOTLIVĚ „**Smluvní strana**“.

1. PŘEDMĚT SMLOUVY

- 1.1 Předmětem Smlouvy je povinnost Zhotovitele provést dílo, kterým se rozumí posuzování 60 vzorků vod na parametry alachlor, terbutryn, diuron, isoproturon, quinoxifen a cybutryn dle platných standardních operačních postupů laboratoře, které budou předány pověřenou osobou Objednatele do laboratoře Zhotovitele, a dále provedení analýzy 2 vzorků fyto bentosu podle standardního operačního postupu, který je přílohou č. 1 této Smlouvy včetně přípravy a předání dokladového materiálu Objednateli: trvalého preparátu a konzervovaného vzorku. Výsledky analýz včetně nejistot předá Zhotovitel Objednateli v tabelární formě elektronicky ve formátu .xls dle specifikace Objednatele a formou protokolů o zkoušce vzorku dle požadavků Objednatele a za podmínek stanovených dále v této Smlouvě (dále jen „**Dílo**“), a to řádně, bez vad a nedodělků.
- 1.2 Předmětem této Smlouvy je dále povinnost Objednatele zaplatit Zhotoviteli za řádně a včas provedené Dílo cenu ve výši a za podmínek stanovených v čl. 3. této Smlouvy.

2. DOBA A MÍSTO PLNĚNÍ

- 2.1 Zhotovitel je povinen provést Dílo, tj. Dílo dokončit a předat ho Objednateli nejpozději do 15. září 2019. Zhotovitel se zavazuje zahájit realizaci Díla po nabytí účinnosti této Smlouvy a po předání

vzorků k analýze osobou určenou Objednatelem k předání vzorků (nebude-li dohodnuto jinak, po předchozí konkrétní domluvě na způsobu předání v červenci 2019).

- 2.2 Místem plnění je sídlo Objednatele uvedené v záhlaví této Smlouvy, není-li ujednáno jinak. Zhotovitel není oprávněn měnit místo plnění bez předchozího písemného souhlasu Objednatele.

3. CENA A PLATEBNÍ PODMÍNKY

- 3.1 Celková cena za realizaci Díla dle čl. 1. odst. 0 této Smlouvy činí 184 000,- Kč bez daně z přidané hodnoty (dále jen „**DPH**“). DPH činí v souladu s aktuálně platnou a účinnou právní úpravou 21 %, tj. 38 600,- Kč. Celková cena za realizaci Díla včetně DPH činí **222 640,- Kč** (dále jen „**Cena**“). Cena je stanovena pro celý rozsah předmětu této Smlouvy jako cena konečná, pevná a nepřekročitelná. V Ceně jsou zahrnuty veškeré náklady Zhotovitele spojené s realizací Díla, tedy veškeré práce, dodávky, služby, poplatky, výkony a další činnosti nutné pro řádné splnění předmětu této Smlouvy.
- 3.2 V případě, že v době, kdy bude předmět Smlouvy plněn, popř. dokončen a sazba DPH bude zákonem č. 235/2004 Sb., o dani z přidané hodnoty, ve znění pozdějších předpisů, zvýšena nebo snížena, je povinností Zhotovitele účtovat k Ceně DPH podle aktuálního znění příslušného právního předpisu.
- 3.3 Cena bude Zhotoviteli uhrazena bezhotovostním převodem v české měně na základě jediného účetního a daňového dokladu – faktury (dále jen „**faktura**“) po řádném splnění předmětu této Smlouvy. Zhotovitel je oprávněn vystavit fakturu do 7 dnů po převzetí a akceptaci Díla Objednatelem v souladu s čl. 4. této Smlouvy. Podmínkou pro vystavení faktury je řádné předání Díla a zároveň jeho vyúčtování; přílohou faktury proto musí být soupis skutečně provedených služeb, prací apod. a předávací protokol dle čl. 4. této Smlouvy.
- 3.4 Faktura bude obsahovat náležitosti daňového a účetního dokladu podle zákona č. 563/1991 Sb., o účetnictví, ve znění pozdějších předpisů, a zákona č. 235/2004 Sb., o dani z přidané hodnoty, ve znění pozdějších předpisů, (jedná se především o označení faktury a její číslo, identifikační údaje Objednatele a Zhotovitele, předmět Smlouvy, bankovní spojení, fakturovanou částku bez/včetně DPH) a bude mít náležitosti obchodní listiny dle § 435 Občanského zákoníku. Faktura bude označena evidenčním číslem Smlouvy z Centrální evidence smluv Objednatele 190106 (viz také záhlaví této Smlouvy).
- 3.5 Faktura bude zaslána ve dvou vyhotoveních na adresu Objednatele ve tvaru:
Odbor ochrany vod, Ministerstvo životního prostředí, Vršovická 1442/65, 100 10 Praha 10.
- 3.6 Objednatel je oprávněn vrátit fakturu do konce doby splatnosti, pokud bude obsahovat nesprávné náležitosti či údaje nebo pokud požadované náležitosti a údaje nebude obsahovat vůbec. V takovém případě se doba splatnosti přerušuje a nová doba splatnosti počíná běžet ode dne doručení opravené nebo doplněné faktury Objednateli. Objednatel není v takovém případě v prodlení.
- 3.7 Splatnost faktury je 60 dní ode dne jejího doručení Objednateli. Povinnost Objednatele zaplatit Cenu je splněna odepsáním příslušné částky z účtu Objednatele. Objednatel neposkytuje zálohy. Platby budou probíhat výhradně v Kč (CZK), rovněž veškeré cenové údaje na faktuře budou v této měně.

4. PŘEDÁNÍ A PŘEVZETÍ DÍLA

- 4.1 Dílo je provedeno, je-li dokončeno bez vad a nedodělků a předáno Objednateli v místě sídla Objednatele, o čemž Smluvní strany pořídí protokol o předání a převzetí Díla (dále jen „**předávací protokol**“). Předávací protokol bude obsahovat alespoň tyto náležitosti: označení předmětu plnění (Dílo), označení a identifikační údaje Objednatele a Zhotovitele, evidenční číslo Smlouvy přidělené z Centrální evidence smluv Objednatele a datum jejího uzavření, prohlášení Objednatele, že Dílo přejímá, popř. nepřejímá, soupis skutečně provedených prací a činností, datum a místo sepsání, jména a podpisy zástupců Objednatele a Zhotovitele. Budou-li při předání Díla zjištěny vady

a nedodělky, Objednatel Dílo nepřevzme a součástí předávacího protokolu bude soupis zjištěných vad a nedodělků s uvedením lhůty a způsobu jejich odstranění. Po odstranění vad a nedodělků uvedených v předávacím protokolu, vyzve Zhotovitel Objednatele k opětovnému převzetí Díla. V takovém případě bude sepsán nový předávací protokol (analogicky dle předchozích vět tohoto článku), který bude podepsán oběma Smluvními stranami.

- 4.2. Povinností Zhotovitele je dodat Dílo bezvadné, tzn. prosté všech vad a nedodělků. Povinnost Zhotovitele je splněna předáním bezvadného Díla, příp. až odstraněním vad a nedodělků. Není-li dohodnuto jinak, činí lhůta pro odstranění vad a nedodělků 10 dnů ode dne podpisu předávacího protokolu.

5. PRÁVA A POVINNOSTI SMLUVNÍCH STRAN

- 5.1 **Způsob plnění Smlouvy.** Zhotovitel je povinen provést a předat Objednateli Dílo svým jménem, na svůj náklad, na vlastní odpovědnost a nebezpečí v ujednaných termínech. Zhotovitel je povinen zpracovat Dílo v souladu s platnými právními předpisy. Objednatel je výlučným vlastníkem Díla a je oprávněn Dílo bez omezení využít pro svoji potřebu a pro potřebu svých resortních organizací.
- 5.2 **Odpovědnost za škodu, pojištění.** Zhotovitel odpovídá v plné výši za škody vzniklé Objednateli nebo třetím osobám v souvislosti s plněním, nedodržáním nebo porušením povinností vyplývajících z této Smlouvy. Takové škody budou řešeny dle platných právních předpisů.
- 5.3 **Překážky na straně Zhotovitele.** Zhotovitel je povinen Objednateli neprodleně oznámit jakoukoliv skutečnost, která by mohla mít, byť i částečně, vliv na schopnost Zhotovitele plnit jeho povinnosti vyplývající z této Smlouvy. Takovým oznámením však Zhotovitel není zbaven povinností nadále plnit povinnosti vyplývající mu z této Smlouvy.
- 5.4 **Použití Díla Zhotovitelem.** Zhotovitel se ve smyslu ustanovení § 2633 Občanského zákoníku zavazuje, že neužije žádný z výsledků jeho činnosti vzniklý při plnění této Smlouvy ani jakákoliv data shromážděná v souvislosti s plněním této Smlouvy k jiným účelům, než ke splnění povinností vyplývajících z této Smlouvy, a žádný z těchto výsledků neposkytne k užití žádné třetí osobě bez předchozího písemného souhlasu Objednatele. Zhotovitel se navíc zavazuje po předání Díla veškerá data poskytnutá mu Objednatelem v souvislosti s touto Smlouvou Objednateli vrátit, příp. na pokyn Objednatele zničit.
- 5.5 **Pokyny Objednatele.** Zhotovitel má povinnost a zavazuje se řídit se při plnění této Smlouvy pokyny Objednatele. Povinnost Zhotovitele dle ustanovení § 2594 odst. 1 Občanského zákoníku upozornit Objednatele na nevhodnost pokynů není tímto ustanovením dotčena. Objednatel na odůvodněné vyžádání poskytne Zhotoviteli podklady nutné pro řádnou realizaci Díla, a to jak v elektronické podobě, tak v tištěné podobě, pokud bude mít tyto k dispozici.
- 5.6 **Ochrana práv třetích osob.** Zhotovitel se při plnění Smlouvy zavazuje respektovat veškeré obecně závazné právní předpisy, zejména se zavazuje, že se svým jednáním nedopustí nekalé soutěže a že při plnění této Smlouvy nebude zasahovat do práv třetích osob, ani výsledek činnosti Zhotovitele nebude zasahovat nebo jakýmkoliv způsobem porušovat práva třetích osob.
- 5.7 **Součinnost.** Smluvní strany jsou povinny při plnění této Smlouvy vzájemně spolupracovat, poskytnout si vzájemně veškerou součinnost nezbytně nutnou pro plnění této Smlouvy a vzájemně se informovat o skutečnostech, které jsou nebo mohou být významné pro plnění této Smlouvy. Zhotovitel se též zavazuje k poskytnutí veškeré případné součinnosti při plnění povinností vyplývajících ze zákona č. 134/2016 Sb., o zadávání veřejných zakázek, ve znění pozdějších předpisů (dále jen „ZZVZ“). Zhotovitel je dále povinen umožnit kontrolu v místě plnění i kontrolu všech dokladů souvisejících s realizací Díla, a to zejména v souladu se zákonem č. 320/2001 Sb., o finanční kontrole, ve znění pozdějších předpisů, zákonem č. 255/2012 Sb., o kontrole (kontrolní řád), ve znění pozdějších předpisů, a Nařízením Komise (ES) č. 438/2001, kterým se stanoví prováděcí pravidla pro provádění nařízení Rady (ES) č. 1260/1999, ohledně řídicích

a kontrolních systémů pro pomoc poskytovanou v rámci strukturálních fondů. Tyto povinnosti trvají i po ukončení této Smlouvy.

- 5.8 **Mlčenlivost.** Zhotovitel se zavazuje v průběhu plnění Smlouvy i po jejím ukončení zachovávat mlčenlivost o všech skutečnostech, o kterých se dozví od Objednatele v souvislosti s plněním Smlouvy. Tato povinnost mlčenlivosti se vztahuje na všechny zaměstnance a spolupracovníky Zhotovitele i po skončení trvání této Smlouvy.
- 5.9 **Kontrola plnění.** Zhotovitel je povinen Objednateli umožnit provést kontrolu plnění dle této Smlouvy kdykoli po předchozí výzvě Objednatele, a to po celou dobu trvání této Smlouvy.
- 5.10 **Započtení, postoupení.** Zhotovitel není oprávněn bez předchozího písemného souhlasu Objednatele provádět jakékoliv zápočty svých pohledávek vůči Objednateli proti jakýmkoliv pohledávkám Objednatele vůči Zhotoviteli, ani postupovat jakákoliv svoje práva a pohledávky vůči Objednateli na třetí osoby.

6. PROHLÁŠENÍ SMLUVNÍCH STRAN

- 6.1 Zhotovitel prohlašuje, že se v plném rozsahu seznámil s obsahem a povahou předmětu plnění a že je způsobilý k řádnému a včasnému provedení Díla dle této Smlouvy. Dále prohlašuje, že jsou mu známy veškeré technické, kvalitativní a jiné nezbytné podmínky potřebné k bezchybnému plnění Smlouvy, a že disponuje takovými kapacitami a odbornými znalostmi, které jsou třeba k řádnému plnění předmětu Smlouvy.
- 6.2 Zhotovitel bude zhotovovat Dílo podle svých odborných znalostí, zkušeností, praxe, při jeho zhotovování bude postupovat s náležitou odbornou péčí, v souladu s touto Smlouvou, jejími přílohami a dle pokynů a požadavků Objednatele.
- 6.3 Zhotovitel prohlašuje, že se seznámil se všemi podklady, které mu byly Objednatelem poskytnuty a je si vědom, že nemůže v průběhu plnění předmětu Smlouvy uplatnit nároky na úpravu smluvních podmínek (zadání), a zavazuje se provést Dílo dle předaných podkladů, v souladu s obecně závaznými právními předpisy a pokyny Objednatele.
- 6.4 Smluvní strany prohlašují, že předmět Smlouvy není plněním nemožným a že Smlouvu uzavírají po pečlivém zvážení všech možných důsledků.
- 6.5 Zhotovitel prohlašuje, že není předlužen a není mu známo, že by bylo vůči němu zahájeno insolvenční řízení. Dále prohlašuje, že vůči němu není vydáno žádné soudní rozhodnutí, či rozhodnutí správního, daňového či jiného orgánu nebo rozhodce na plnění, které by mohlo být důvodem soudní exekuce na majetek Zhotovitele, nebo by mohlo mít jakkoliv negativní vliv na schopnost Zhotovitele splnit povinnosti vyplývající z této Smlouvy, a že takové řízení nebylo vůči němu zahájeno.

7. PRÁVA Z VAD, SANKCE A ODSTOUPENÍ OD SMLOUVY

- 7.1 Zhotovitel se zavazuje poskytnout Objednateli záruku za jakost Díla v délce 6 měsíců, a to počínaje dnem převzetí Díla Objednatelem.
- 7.2 Vady Díla, které se vyskytnou v záruční době, musí Objednatel uplatnit u Zhotovitele bez zbytečného odkladu poté, co je zjistil nebo při náležitě péči zjistit měl.
- 7.3 Oznámení o výskytu vady bude Objednatelem učiněno písemně a doručeno Zhotoviteli. V písemném oznámení o výskytu vady Objednatel vadu popíše a uvede požadovaný způsob odstranění vady. Zhotovitel je povinen vadu Díla odstranit nejpozději do 10 dnů ode dne doručení oznámení Objednatele, nebude-li dohodnuto mezi Smluvními stranami písemně jinak.

- 7.4 Je-li vadné plnění podstatným porušením této Smlouvy, má Objednatel právo na odstranění vady opravou nebo úpravou Díla, na přiměřenou slevu nebo má právo odstoupit od této Smlouvy. Smluvní strany se dohodly, že za podstatné porušení Smlouvy bude považováno zejména:
- prodlení Zhotovitele s provedením Díla o více než 30 dní;
 - jestliže Zhotovitel ujistil Objednatele, že Dílo má určité vlastnosti, zejména vlastnosti Objednatelem vymíněné, anebo že nemá žádné vady, a toto ujištění se následně ukáže nepravdivým.
- 7.5 Objednatel je dále oprávněn odstoupit od Smlouvy, jestliže zjistí, že Zhotovitel:
- nabízel, dával, přijímal nebo zprostředkoval určité hodnoty s cílem ovlivnit chování nebo jednání kohokoliv, ať již státního úředníka nebo někoho jiného, přímo nebo nepřímo, v zadávacím řízení nebo při provádění Smlouvy; nebo
 - zkresloval jakékoliv skutečnosti za účelem ovlivnění zadávacího řízení nebo provádění Smlouvy ke škodě Objednatele, včetně užití podvodných praktik k potlačení a snížení výhod volné a otevřené soutěže.
- 7.6 Zhotovitel je povinen provádět Dílo v souladu s touto Smlouvou a jejími přílohami, příkazy, pokyny a požadavky Objednatele, zadávací dokumentací na Veřejnou zakázku a v souladu s obecně závaznými právními předpisy. Jestliže Zhotovitel tyto povinnosti vyplývající ze Smlouvy poruší a nezjedná nápravu ani v dodatečně přiměřené lhůtě poskytnuté mu Objednatelem, má Objednatel právo od této Smlouvy odstoupit.
- 7.7 Odstoupení od Smlouvy musí být učiněno v písemné formě a doručeno Zhotoviteli. Odstoupením se závazek založený Smlouvou zrušuje od počátku a Smluvní strany se vypořádají podle příslušných ustanovení Občanského zákoníku o bezdůvodném obohacení. Účinky odstoupení od Smlouvy nastávají okamžikem doručení písemného oznámení o odstoupení od Smlouvy Zhotoviteli. Odstoupení od Smlouvy se nedotýká práva na zaplacení smluvní pokuty a úroku z prodlení, pokud již dospěl, práva na náhradu škody, ani ujednání, které má vzhledem ke své povaze zavazovat Smluvní strany i po odstoupení od Smlouvy, tj. zejména ani ujednání o způsobu řešení sporů a volbě práva. Obdobné platí i pro předčasné ukončení Smlouvy jiným způsobem.
- 7.8 V případě prodlení s úhradou faktury je Objednatel povinen uhradit Zhotoviteli úrok z prodlení z dlužné částky ve výši stanovené příslušnými právními předpisy.
- 7.9 V případě prodlení Zhotovitele s předáním Díla v dohodnutém termínu (viz čl. 2. této Smlouvy) či v případě prodlení Zhotovitele s odstraňováním vad a nedodělků dle čl. 4. odst. 4.2 této Smlouvy či v případě prodlení Zhotovitele s odstraňováním záručních vad dle odst. 7.3 tohoto článku je Zhotovitel povinen zaplatit Objednateli smluvní pokutu ve výši 0,5 % z Ceny za každý i započatý den prodlení.
- 7.10 V případě porušení povinností Zhotovitele vyplývajících z čl. 5. a 6. této Smlouvy je Zhotovitel povinen zaplatit Objednateli smluvní pokutu ve výši 0,5 % z Ceny za každý takový případ porušení povinnosti.

- 7.11 Smluvní pokuty jsou splatné do 28 dní ode dne doručení výzvy k jejich zaplacení povinné Smluvní straně. Zaplacením jakékoliv smluvní pokuty dle této Smlouvy není dotčena povinnost Zhotovitele nahradit újmu vzniklou Objednateli porušením smluvní povinnosti, které se smluvní pokuta týká. Objednatel je oprávněn požadovat náhradu škody v plné výši bez ohledu na ujednanou smluvní pokutu.

8. TRVÁNÍ SMLOUVY

- 8.1 Tato Smlouva se uzavírá na dobu určitou, a to do splnění všech povinností vyplývajících z této Smlouvy.
- 8.2 Před uplynutím doby dle odst. 8.1 tohoto článku lze tuto Smlouvu ukončit na základě vzájemné písemné dohody obou Smluvních stran, písemnou výpovědí Smlouvy ze strany Objednatele dle čl. 8.3 či ze strany Zhotovitele dle čl. 8.4 nebo odstoupením od Smlouvy dle článku 7. odst. 7.4, 7.5 a 7.6 Smlouvy, a dále v souladu s příslušnými ustanoveními Občanského zákoníku.
- 8.3 Objednatel je oprávněn vypovědět Smlouvu kdykoliv, a to i bez udání důvodu. Výpověď Smlouvy musí být Objednatelem učiněna písemně a doručena Zhotoviteli, přičemž výpovědní doba v délce 14 pracovních dnů počíná běžet dnem následujícím po dni doručení písemné výpovědi Zhotoviteli.
- 8.4 Zhotovitel je oprávněn vypovědět Smlouvu kdykoli v jejím průběhu, pokud není schopen plnit své povinnosti z důvodu na straně Objednatele (např. neposkytnutí součinnosti Objednatele, neplnění povinností Objednatele). Výpovědní doba bude v takovém případě činit 14 pracovních dnů a počne běžet následující den po doručení písemné výpovědi Objednateli.
- 8.5 V případě předčasného ukončení Smlouvy dohodou, výpovědí či odstoupením jsou Smluvní strany povinny provést vypořádání vzájemných práv a povinností v souladu s právními předpisy.

9. ZÁVĚREČNÁ USTANOVENÍ

- 9.1 Tato Smlouva a práva a povinnosti z ní vyplývající se řídí právním řádem České republiky. Práva a povinnosti Smluvních stran, pokud nejsou upraveny touto Smlouvou, se řídí Občanským zákoníkem a předpisy souvisejícími.
- 9.2 Veškeré případné spory vzniklé mezi Smluvními stranami na základě nebo v souvislosti s touto Smlouvou budou primárně řešeny jednáním Smluvních stran. V případě, že tyto spory nebudou v přiměřené době vyřešeny, budou k jejich projednání a rozhodnutí příslušné obecné soudy České republiky.
- 9.3 Tato Smlouva může být měněna nebo doplňována pouze formou písemných vzestupně číslovaných dodatků podepsaných oběma Smluvními stranami. Ke změnám či doplnění neprovedeným písemnou formou se nepřihlíží.
- 9.4 V případě, že některé ustanovení této Smlouvy je nebo se stane v budoucnu neplatným, neúčinným či nevymahatelným nebo bude-li takovým shledáno příslušným orgánem, zůstávají ostatní ustanovení této Smlouvy v platnosti a účinnosti, pokud z povahy takového ustanovení nebo z jeho obsahu anebo z okolností, za nichž bylo uzavřeno, nevyplývá, že jej nelze oddělit od ostatního obsahu této Smlouvy. Smluvní strany se zavazují bezodkladně nahradit neplatné, neúčinné nebo nevymahatelné ustanovení této Smlouvy ustanovením jiným, které svým obsahem a smyslem odpovídá nejlépe ustanovení původnímu a této Smlouvě jako celku.
- 9.5 Smluvní strany na sebe přebírají nebezpečí změny okolností v souvislosti s právy a povinnostmi smluvních stran vzniklými na základě této Smlouvy. Smluvní strany vylučují uplatnění ustanovení § 1765 odst. 1 a § 1766 Občanského zákoníku na svůj smluvní vztah založený touto Smlouvou.
- 9.6 Smluvní strany bezvýhradně souhlasí s uveřejněním této Smlouvy v plném znění včetně Ceny a veškerých metadat v souladu s příslušnými právními předpisy, které se na uveřejnění Smlouvy

vztahují, tj. zejména v souladu se zákonem č. 340/2015 Sb., o zvláštních podmínkách účinnosti některých smluv, uveřejňování těchto smluv a o registru smluv (zákon o registru smluv), ve znění pozdějších předpisů.

- 9.7 Tato Smlouva nabývá platnosti dnem jejího podpisu oběma Smluvními stranami a účinnosti dnem jejího uveřejnění dle odst. 9.6 tohoto článku. Uveřejnění Smlouvy v registru smluv provede Objednatel.
- 9.8 Tato Smlouva je sepsána ve 4 vyhotoveních s platností originálu, z nichž 2 vyhotovení si ponechá Zhotovitel a 2 vyhotovení obdrží Objednatel.
- 9.9 Nedílnou součástí této Smlouvy je příloha:
Příloha č. 1: SOP (Standardní operační postup) pro analýzu fyto bentosu – Phytobenthos: Method for sampling, processing, preservation and storage, identification and quantification, data processing.
- 9.10 Smluvní strany prohlašují, že tato Smlouva vyjadřuje jejich svobodnou, vážnou, určitou a srozumitelnou vůli prostou omylu. Smluvní strany si Smlouvu přečetly, s jejím obsahem souhlasí, což stvrzují vlastnoručními podpisy.

ZHOTOVITEL

V Brně, dne 28. 05. 2019

Povodí Moravy, s.p.
MVDr. Václav Gargulák
generální ředitel

OBJEDNATEL

V Praze, dne 16. 05. 2019

**Česká republika – Ministerstvo životního
prostředí**
Mgr. Lukáš Záruba
ředitel odboru ochrany vod

Příloha č. 1:

Phytobenthos

Method for sampling, processing, preservation and storage, identification and quantification, data processing

Version 3

October 24, 2018

Dana Fidlerová

dana.fidlerova@vuvh.sk

Jarmila Makovinská

jarmila.makovinska@vuvh.sk

Introduction

As the phytobenthos is one of the biological quality element (together with macrophytes) required by the WFD to be monitored for the ecological status assessment it is recommended to use it for the following Joint Danube Survey (JDS4).

For the JDS4 the different approach for sampling, analysis and data processing has been decided as it has been provided during JDS1 – JDS3. During last three JDSs the sampling of phytobenthos has been done by the core team expert from the whole stretch of the Danube and selected tributaries. In the frame of JDS4 the Danubian countries themselves will take samples at their stretch of the Danube and selected tributaries through nominated national experts as well as they will provide the sample processing and analysis in their national laboratories.

Therefore, for the upcoming JDS4 the benthic diatoms as a part of phytobenthos are proposed to be used for the survey. The reason is that most of European countries use benthic diatoms as a representative assemblage for phytobenthos. Additionally benthic diatoms have served for status indication during last two surveys.

To ensure the harmonization, comparability and suitability of the data that will be obtained the precise methodology was elaborated and annotated. Detail method of the sampling, sample processing and analysis was explained and discussed during the JDS4 Biological workshop focused on Phytobenthos & Macrophytes for national experts realized in Bratislava 5-7 June 2018. Sampling of benthic diatoms was demonstrated in the field as well.

Sampling, preservation and storage

Sampling date is set from 29 June 2019 (DD) and all sampling should be done within 2 weeks; in the case of inappropriate environmental conditions (e.g. floods) the sampling date could be postponed.

Generally, samples with benthic diatoms should be taken from both river banks (left and right) at all sampling sites where it is possible (e.g. present suitable substratum, safe entrance to the river etc.). Samples from both banks have to be taken separately (two separate samples, two sampling protocols, different code of JDS4 subsite). However, there are some specific cases. In wadeable rivers, the whole watercourse stretch should be sampled without separation to left and right bank (one sample, one sampling protocol, one code of JDS4 subsite). In case of sampling sites which are located on the boundaries and these sites were nominated by two or three countries, samples with benthic diatoms

should be taken by particular country on their side of river. However, details are dependent on individual bilateral agreements of related countries. In case of sampling sites which are located on the boundaries and they were nominated only by one country, samples with benthic diatoms should be taken only on one side of river by particular country.

Sampling and preservation of benthic diatoms for JDS4 will be done based on EN 13946 (2014): Water quality. Guidance for the routine sampling and preparation of benthic diatoms from rivers and lakes.

SAMPLING

A river segment that has substrate suitable for sampling will be selected. The length of the site stretch depends on the character of the bank and availability of substrata and it should be at least 10 m long but greater lengths may be appropriate.

Preferably and ideally, the same type of substrate should be used at all sites included in the JDS4. It should be hard substrates (cobbles, pebbles and boulders). In case that hard substrate cannot be sampled (because of its absence on site) it was decided to exclude sampling sites without suitable substrate from survey.

At least five substrate objects should be sampled. An area of minimum 10 cm² should be scraped thoroughly. The following microhabitat conditions should be fulfilled:

- Areas of heavy shade and areas very close to the bank should be avoided,
- Substrates shall be submerged for long enough to ensure that assemblages are in equilibrium with their environment. All depths that can be sampled by wading are usually suitable, so long as these remain in euphotic zone.

The upper surface of the substrate will be brushed vigorously to remove the diatoms. A knife or another sharp instrument can be also used to remove biofilm.

SAMPLE PROCESSING AND PRESERVATION

Each well homogenized sample of benthic diatoms will be transferred from tray to three sample plastic or glass containers (e.g. 5-10 ml, 100 ml and 500 ml) and labelled (JDS4 site number, subsite and the sampling date).

One sample (e.g. 5-10 ml) will be used for benthic diatoms analysis in the native stage, which should be provided in the laboratory after sampling. The aim of this is to check the physiological status of the cells of diatoms.

Second sample (e.g. 100 ml) will be preserved by formaldehyde (final solution should be 1 - 4 %) because of the long-term storage of the sample. Eventually, the other preservative (e.g. ethanol) may be used for conservation in appropriate concentration. This sample will be used after pre-treatment for identification and quantification of benthic diatoms.

Third sample (e.g. 500 ml) will be preserved in $\geq 70\%$ undenaturated ethanol and used for molecular identification of benthic diatoms. The sample should be kept at a cool and dark place and quickly delivered to the respective molecular processing labs.

Samples will be transferred to the laboratories. Native sample of benthic diatoms should be checked as soon as possible after sampling, preferably after 24 - 48 hours.

All field information needed should be recorded to the standardised field protocol. Revised version of field protocol for benthic diatoms filled with example data is showed in Fig. 1A and B. Revised version of field protocol will be sent to national experts responsible for phytobenthos in JDS4. All field data recorded in field protocol is necessary to put into prepared excel template for field data.

Each sampling site, subsite (bank specification), date of sampling should be recorded by the ODK Collect application (Open Data Kit). The application also allows to send one or more photos taken by the device where the application is installed. If the surveyor does not want or is not able to use the ODK application it is necessary to determine geographical coordinates by handheld GPS device and

write them into the sampling protocol immediately. Each sampling site should be documented using the ODK application or by any other camera.

Sample pre-treatment

Pre-treatment of benthic diatom samples for JDS4 will be carried out based on EN 13946 (2014): Water quality. Guidance for the routine sampling and preparation of benthic diatoms from rivers and lakes.

In the laboratory diatoms have to be treated before preparation of permanent slides for identification and quantification.

Pre-treatment consists of following steps:

- ✓ Elimination of large inorganic particles;
- ✓ Concentration of diatoms using sedimentation or centrifugation;
- ✓ Treatment of diatoms:
 - Elimination of organic content of frustules using strong solution for oxidation (30% hydrogen peroxide - H_2O_2 is recommended, however other suitable solution may be applied);
 - Use of diluted hydrochloric acid (HCl) for removing carbonates, e.g. $c(HCl) = 1 \text{ mol/l}$. Eventually, other acids may be used (e.g. sulfuric acid) which are in accordance with the standard EN 13946 (2014).
- ✓ Mounting of diatom solution on slides:
 - Prepare suitable solution;
 - Move the small amount of homogenous sample on the cover slide. Ideally, the preparation should have between 10 to 15 valves per field at a magnification of 1000 x (too dense or too coarse slide might have slight influence on counting of diatom valves);
 - Let it dry on air (do not heat);
 - Mount with suitable medium (Naphrax, Pleurax, StyraX);
- ✓ Labelling of the base slide.

It is required to prepare two identical permanent slides from each diatom sample. One of them will serve for a possible confirmation of determination of dominant species in case when it would be necessary.

Analysis

Analyses of benthic diatoms for JDS4 will be done based on EN 14407 (2014): Water quality. Guidance for the identification and enumeration of benthic diatom samples from rivers and lakes.

Prior to the analysis of the permanent slide, the presence of empty cells of the diatoms in the native sample should be checked. This step is recommended according to the EN 13946 (2014), because high portion of empty cells may influence reliability of results.

Short description of the procedure: Portion of native, well homogenized sample with diatoms is dropped on the microscope glass and covered with the cover glass. Under a light microscope with at least magnification 400x is checked presence of empty chloroplast-free diatom cells in each sample. In case, there are present empty cells in the sample, their proportion in percentage has to be estimated. Proportion of empty cells in the native sample should be inscribed into the excel template prepared for field data on phytobenthos.

Identification and enumeration of the diatoms should be done using permanent slides at the highest magnification usually using oil immersion and Nomarski contrast (magnification 1000 times is

required). Species level determination is needed because of calculation pollution indices. Counting of diatom valves in the slide is defined in the range of 300-500 valves.

The result of analysis is the list of species determined benthic diatoms with relative abundance of each species.

Although these will be samples taken from the periphyton, all diatom taxa shall be determined regardless whether they are primarily benthic species.

Counting of broken diatoms:

- including a broken individual only if more than one half of the valve is present;
- in case of large sized valves which are mostly broken to smaller pieces than the half ones, the counting criterion depends on the size of particular broken part;
- counting of fragments should be proportional so that they correspond to the real number of whole unbroken valves.

Analysts are encouraged to make photo-documentation (using magnification of 1000 x) of any doubtful taxa with relative abundance over 5% which will serve for a possible confirmation of determination of dominant species. Measurement of all photographed objects is necessary (e.g. length, width, striae density etc.).

An essential literature for determination of diatoms in JDS4:

- Diatomeen in Süßwasser-Benthos von Mitteleuropa by Hofmann et al. 2013

An additional recommended literature for determination:

- Diatoms of Europe, Volume 5, Amphora sensu lato by Levkov 2009 (for Amphora species)
- Süßwasserflora von Mitteleuropa by Krammer & Lange-Bertalot 1986-1991 (especially part 3: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae for centric diatoms; or other appropriate literature for determination of centric diatoms)
- scientific papers especially for species from the genus *Achnantheidium* (useful list was provided during the workshop).

In case of difficulties with determination of small centric diatoms (with diameter less than 5 µm) with relative abundance at least 5% in the sample Hungarian national team has offered very valuable help with determination using electron microscopy. For using this alternative it is necessary to contact Hungarian national team.

Data processing

The diatom species data will be processed with the OMNIDIA ver. 6.0 (Lecoq et al. 1993, 1999) to calculate all the 18 diatom indices included in the software (one or more the best appropriate indices will be apply for ecological assessment). The community structure can be further explored by calculating the proportion of species belonging to three ecological guilds (low profile, high profile and motile) adopted from Passy (2007) and Berthon et al. (2011) and to two life forms (planktonic, benthic). The diatom community structure will be probably explore using several statistical methods as well (e.g. ordinations).

National experts are responsible for collection, finalization and delivery sampled data to the Core team expert.

Assumed required outputs:

- copy or scan of sampling protocol and excel template with field data (will be provided)

- export files from OMNIDIA with filename extension „prn“ (way of export depends on the used version):
 - file with diatom codes and abundances
 - file with species names and abundances in cross-format
 - file with diatom indices just from experts who use OMNIDIA ver. 6.0, diatom indices from older versions will be recalculated using OMNIDIA ver. 6.0 for each sample by Core team expert
- in case of import difficulties and uncertainty with diatom codes (synonyms) respectively will be probably raw data from analyses required to assure harmonization

Laboratories which do not have OMNIDIA software can send only an excel file with determined species and their abundances. Results will be processed using OMNIDIA by Core team expert.

Results of analyses (list with determined species together with their relative abundances) have to be uploaded into online database as well.

In the case that the ODK application is not used during the field work national experts send geographical coordinates, date of sampling for each sampling site and subsite as soon as possible to the database expert (to be confirmed).

Quality assurance

The validity of ecological assessments based on benthic diatoms depends on accuracy and precision of all activities involved in the collection and analysis of data. For this reason EN 14996 (Water quality – Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment) should be applied.

Permanent slides which represent a permanent record should be stored for future re-analysis. Slide labels should contain sufficient information.

The suspension of cleaned diatoms should be preserved with a few drops of formaldehyde, labelled and stored in order to allow further slides to be prepared, if necessary, in the future.

One from two permanent slides from each diatom sample shall be sent to Water Research Institute in Bratislava for possible harmonization of determination of the most abundant species. Photo-documentation of any doubtful taxa with relative abundance over 5% shall be created together with measurement of all photographed species.

Joint Danube Survey (JDS4)

SAMPLING PROTOCOL FOR BENTHIC DIATOMS

| | |
|---|---|
| Sample number: JDS4-99-L | Date of sampling: 6.6.2018 |
| River: Danube | Sampling site name: Bratislava |
| Country: Slovakia | Estimated width of river: 200 m |
| Latitude: 49,940860 | Estimated depth of river: 1,5 m |
| Longitude: 17,430124 | Photodocumentation: <input checked="" type="checkbox"/> by ODK Collect app in smartphone <input type="checkbox"/> by camera |
| Altitude: 110 m a. s. l. | |
| River kilometer: 1832 | |
| Comments: e.g. sampling site is located downstream the sewage tank | |
| Characterization of sampling site | |
| Type of present substrata (estimation in sampled stretch): | |
| hard stony substratum 50 % | water macrophytes % |
| sand 40 % | necrotic vegetation % |
| fine sediment (silt, clay) 10 % | others % |
| Estimated speed of flow: | |
| <input type="checkbox"/> slow | <input checked="" type="checkbox"/> medium |
| | <input type="checkbox"/> fast |
| Estimated obscuration of sampled stretch: | |
| <input type="checkbox"/> total | <input type="checkbox"/> major (above 50%) |
| | <input checked="" type="checkbox"/> partial (up to 50%) |
| | <input type="checkbox"/> no |
| Estimated turbidity of water: | |
| <input type="checkbox"/> no turbidity | <input checked="" type="checkbox"/> low turbidity |
| | <input type="checkbox"/> high turbidity |
| Character of riverbanks and riverbed: | |
| <input checked="" type="checkbox"/> natural | |
| <input type="checkbox"/> modified: | <input type="checkbox"/> reinforced riverbanks |
| | <input type="checkbox"/> canalized riverbed |
| | <input type="checkbox"/> cross damming |
| | <input type="checkbox"/> others |
| Estimated percentage of visible substratum of total bottom substratum in sampled stretch 100 % | |
| Character of growth | |
| Visual assessment of growth biomass: | |
| <input type="checkbox"/> almost no growth | <input type="checkbox"/> few |
| | <input checked="" type="checkbox"/> mediumly |
| | <input type="checkbox"/> many |
| | <input type="checkbox"/> massive |
| Comments: | |
| Presence of bacteria filamentous: | |
| <input type="checkbox"/> unidentified | |
| <input checked="" type="checkbox"/> absent | |
| <input type="checkbox"/> present: | <input type="checkbox"/> on the bottom side of substratum |
| | <input type="checkbox"/> on the upper side of substratum coverage of bacteria filamentous in sampled stretch (%) |
| Comments: | |
| Structure of growth – description of groups visible with naked eye in % of coverage of substratum: | |
| Chlorophyta 10 % | |
| Cyanophyta 5 % | |
| Chromophyta 20 % | |
| Rhodophyta % | |
| Bryophyta 5 % | |
| Comments: e.g. dominant taxa from Chlorophyta is <i>Cladophora</i> spp. | |

Fig. 1A Sampling protocol for benthic diatoms filled with example data in red; page 1

| Sampling of benthic diatoms | |
|---|--|
| Type of sampled substratum: | |
| boulders (above 256 mm) | pc |
| cobbles (64-256 mm) | 5 pc |
| pebbles (16-64 mm) | pc |
| gravel | pc |
| Comments | |
| Sampled habitat: | |
| <input type="checkbox"/> streamline | |
| <input checked="" type="checkbox"/> littoral | |
| Estimated size of scraped area: 150 cm ² | |
| Number of sampling bottles: 3 | |
| Sample preservation: | |
| Sample used for fast check of physiological status of diatoms: | |
| <input checked="" type="checkbox"/> cooling | <input type="checkbox"/> formaldehyde |
| <input type="checkbox"/> ethanol | <input type="checkbox"/> another: |
| Sample used for identification and enumeration of benthic diatoms | |
| <input type="checkbox"/> cooling | <input checked="" type="checkbox"/> formaldehyde |
| <input type="checkbox"/> ethanol | <input type="checkbox"/> another: |
| Sample used for molecular identification of benthic diatoms | |
| <input type="checkbox"/> cooling | <input type="checkbox"/> formaldehyde |
| <input checked="" type="checkbox"/> ethanol | <input type="checkbox"/> another: |
| Special abiotic conditions: | |
| <input type="checkbox"/> extremely high river flow | <input checked="" type="checkbox"/> extremely low river flow |
| <input type="checkbox"/> others | |
| Another field observation (possible disturbance of diatom assemblage etc.): | |
| | |

Name of researcher who performed sampling: ...**Dana Fidlerová**.....
 Name Signature

Fig. 1B Sampling protocol for benthic diatoms filled with example data in red; page 2