



Terenski postupci u akvatičkom biomonitoringu

Field practice in aquatic monitoring

The European Commission's support for the production of this publication does not constitute an endorsement of the contents, which reflect the views only of the authors, and the Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein.

Erasmus + Project No ECOBIAS_609967-EPP-1-2019-1-RS-EPPKA2-CBHE-JP
Development of master curricula in ecological monitoring and aquatic bioassessment for Western Balkans HEIs

Co-funded by the
Erasmus+ Programme
of the European Union



Field practice in aquatic monitoring

Course objective: Fieldwork is the basis of all monitoring processes across the world. Through this course, we will provide students with sampling methods used in aquatic bioassessment for all biotic quality elements (BQE) – macroinvertebrates, phytobenthos, macrophytes and fish. We will focus on methods applied in the neighboring countries, but we will offer insights in all EU applied methods. We will also provide insight into sampling site selection process, in respect to environmental setup and more importantly in respect to anthropogenic pressures. Course outcome: students will be able to select adequate sites and accordingly apply adequate sampling procedures *in situ* for all BQEs and all water bodies. Reading list: Hauer, F. R., Lamberti, G. A. 2007. Methods in stream ecology, Elsevier; Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC) Guidance document N° 7 - Monitoring under the Water Framework Directive

Uvod

Ekološko stanje vodnih tijela moguće je narušiti nizom različitih tipova onečišćenja i alternacija. S obzirom na tip onečišćenja, razlikujemo i cijeli niz odgovora zajednice i kemijskog sastava vode koji su uzrok nepostizanja dobrog stanja. Lokalno onečišćenje (engl. *point source pollution*) može uzrokovati promjene u abundanciji pojedinih svojti, koncentracije kisika, fosfata i/ili nitrata (dušika). Difuzni tip onečišćenja (eng. *diffuse source pollution*) posljedica je poljoprivrednih aktivnosti u slivnom području vodnog tijela, koje utječu na povećanje koncentracija fosfata i/ili nitrata (dušika) u ekosustavu. Narušavanje zone riparijske vegetacije podrazumijeva iskorištavanja i alternacije riječne obale koje uz lokalne posljedice kao što su smanjenje lokalne heterogenosti mikrostaništa, može uzrokovati i hidrološke promijene kao što su smanjenje lateralne i longitudinalne povezanosti vodenog toka. Hidromorfološke promjene su izazvane antropogenim utjecajem na hidrološki režim, odnosno morfologiju rijeka. Uključuju izgradnju brana, ustave, kanaliziranje rijeka i vodotoka, obaloutvrde, hidrotehničke stepenice, regulaciju obala i prekidanje veza s poplavnim nizinama i rukavcima, plovidbu i s njom povezane mjere te izuzimanje vode za potrebe vodoopskrbe, poljoprivrede i dr. Hidromorfološko opterećenja vodnog tijela uzrokuje slijedeće promjene u riječnim i povezanim ekosustavima: a) Prekid riječnog i stanišnog kontinuiteta (longitudinalne povezanosti), b) Razdvajanje susjednih močvarnih/poplavnih područja, c) Hidrološke promjene, d) Morfološke promjene. Pod pojmom bioloških opterećenja podrazumijevao prisustvo invazivnih vrsta, biomanipulaciju te intenzivnu akvakulturu i/ili uzgoj i izlov riba. Mogući pritisak na vodeno tijelo također je intenzivno korištenje istog u rekreacijske svrhe.

U tablici 1. prikazan je popis opterećenja prisutan u tekućicama nekih mediteranskih zemalja.

Tablica 1. Popis opterećenja u tekućicama nekih mediteranskih zemalja.

OPTEREĆENJE	GRČKA	FRANCUSKA	ITALIJA	ŠPANJOLSKA	CIPAR	PORTUGAL	SLOVENIJA	BUGARSKA
Opća degradacija	+	+	+		+	+	+	+
Korištenje slivnog područja	+	+	+		+			+
Hidro-morfološka degradacija	+		+		+	+	+	+
Promijenjenost toka	+		+		+	+		+

Degradacija staništa			+		+	+		+
Promijenjenost riparijske vegetacije								+
Promijenjenost riparijskog staništa			+		+	+		+
Eutrofikacija		+				+		
Onečišćenje organskim spojevima						+		+
Onečišćenje organskim tvarima	+	+	+	+	+	+	+	+
Acidifikacija						+		

Pristup procjeni ekološkog stanja odnosno onečišćenja zasnovan na kvaliteti vode zahtijeva različite vrste podataka. Tehnike biološke procjene stanja, najbolje su za otkrivanje oštećenja odnosno poremećaja u životnih zajednica i staništa vodenih ekosustava u vodi. Nadalje, radi graduiranih svojstava pojedinih svojta analizom životnih zajednica može se razviti plastična slika koja služi i za procjenu relativne težine oštećenja odnosno poremećaja. Nakon ovako utvrđene promjene u ekosustavu, dodatni ekološki podaci, poput kemijskih analiza i bioloških ispitivanja toksičnosti, pomažu u identificiranju uzročnika, izvora i provedbi odgovarajućeg ublažavanja (USEPA 1991c). Integriranje podataka iz ovih analiza, kao i hidroloških istraživanja i saznanja o korištenju zemljišta korisno je za pružanje sveobuhvatne dijagnostičke procjene utjecaja (vidi Karr i sur. 1986, Karr 1991, Gibson i sur. 1996.) za opis kvalitete vode, strukture staništa, izvora energije, režima protoka i čimbenika biotske interakcije. Biološke analize su važne i za procjenu učinkovitosti mjera kontrole, suzbijanja i ublažavanja stanja uslijed nepovoljnih, a najčešće antropogenih, utjecaja. Naposljetku biološke metode mogu se koristiti u okviru planiranja i upravljanja primjerice u dokumentiranju stanja prije i poslije određenog zahvata odnosno evaluiranju oporavka okoliša.

Glavne prednosti korištenja bioloških istraživanja za akvatiki biomonitoring su:

- Biološke zajednice odražavaju sveukupni ekološki integritet (tj. Kemijski, fizički i biološki integritet). Stoga rezultati biološke ankete izravno procjenjuju status vodnog tijela.
- Biološke zajednice integriraju učinke različitih stresora i na taj način pružaju široku mjeru njihovog ukupnog utjecaja.
- Zajednice i vremenom integriraju stresove i pružaju informacije o ekološkim promijenama fluktuirajućih uvjeta okoliša.
- Rutinsko praćenje bioloških zajednica može biti relativno jeftino, posebno u usporedbi s troškovima kemijske analize (npr. toksičnih onečišćujućih tvari).
- Status bioloških zajednica izravno je zanimljiv za javnost posebno kao mjera okoliša bez zagađenja.
- Tamo gdje ne postoje kriteriji za specifične utjecaje na okoliš (npr. Utjecaji koji nemaju točku izvora koji degradiraju staništa), biološke zajednice mogu biti jedino praktično sredstvo vrednovanja.

Makrozoobentos kao biološki element analize kakvoće vode

Makrozoobentos je zajednica vodenih beskralješnjaka vidljivih golim okom koji većinu života provode na i u sedimentu vodenog tijela. Radi se o organizmima većima od 300 mikrometara. Bentički makrobekralješnjaci predstavljaju važnu poveznicu između primarnih proizvođača, mrtve organske tvari - detritusa i viših trofičkih razina u vodenim prehranbenim mrežama (Brinkhurst, 1974). Makrozoobentos ima veliki utjecaj u trofičkoj strukturi stajaćica budući da sudjeluje u kruženju nutrijenata, razgradnji, produktivnosti te u dinamici lanaca prehrane (Reice i Wohlenberg, 1993). Stoga svaka promjena u okolišu, kao što su promjena u količini nutrijenata, ima utjecaj na sastav i strukturu zajednice bentičkih makrobekralješnjaka (Carvalho i sur., 2002), a time i cjelokupnog ekosustava.

Skupine koje predstavljaju makrozoobentos su kolutićavci maločetinaši (Oligochaeta) i pijavice (Hirudinea), ličinke kukaca kao što su, Diptera (najbrojniji među njima Chironomidae i Simuliidae), Coleoptera, Trichoptera, Ephemeroptera, Odonata, Plecoptera i Neuroptera. Bentičkim makrobekralješnjacima mogu pripadati i, mekušci kao što su puževi (Gastropoda) i školjkaši (Bivalvia), rakovi jednakonošci (Isopoda) i rakušci (Amphipoda), rašljonošci (Mysida).

Na sastav i strukturu zajednice makrozoobentosa utječu mnogi abiotički faktori kao što su fizikalno-kemijska svojstva vode, tip supstrata i vegetacija te biotički faktori kao što su kompeticija i predatorstvo (Trush, 1999).

Prostorni raspored i sastav makrozoobentosa određuju abiotički čimbenici (npr. vrsta podloge, brzina strujanja vode, intezitet osvjetljenja, koncentracija kisika u prirodnim slojevima, alkalinitet) i biotički čimbenici (npr. interspecijska i intraspecijska kompeticija) (Pringle i sur., 1988).

Sastav zajednice makrozoobentosa ovisi i o tipu staništa (Costa i Melo, 2008). Različita staništa nude resurse koji odgovaraju pojedinim vrstama pa čak i pojedinim razvojnim stadijima iste vrste, primjerice zaštitu od predatorskog pritiska ili izvora hrane (Špoljar i sur., 2012). Brojnost i raznolikost jedinki je manja na sitnijem supstratu budući da takav supstrat ima manju površinu za pričvršćivanje životinja (Allan i Castillo, 2007). Najveća brojnost jedinki makrozoobentosa je na mikrostaništima mahovinama i makrovegetacijom koje služe za zaštitu i kao izvor hrane (Minshall i Minshall, 1977, Miliša i sur., 2006).

Prednosti makrozoobentosa pred drugim skupinama vodenih organizama u ocjeni ekološkog stanja voda su:

- relativno se lagano prikupljaju uz pomoć različitih tipova bentosmreža,
- relativno su veliki što olakšava prikupljanje, razvrstavanje i determinaciju,
- mnoge vrste su brojne i široko rasprostranjene što omogućava usporedbu rezultata na širem području,
- relativno se brzo mogu determinirati zbog postojanja prikladnih priručnika,
- dobro su poznate reakcije mnogih uobičajenih vrsta na različite tipove onečišćenja te stupanj njihove tolerancije prema onečišćenju,
- žive dovoljno dugo da je njihovo prisustvo ili odsustvo iz zajednice posljedica promjena u okolišu, a ne izmjene generacija ili posljedica specifičnih životnih ciklusa,
- ograničeno su pokretni pa ne mogu napustiti stanište kod pogoršanja ekoloških prilika u vodi.

Do sada je makrozoobentos bio najčešće korištena skupina vodenih organizama za praćenje promjena vodnog okoliša u rijekama, dok je u monitoringu jezera bio manje zastupljen. Strukturalni elementi koji su najpouzdaniji i koji se najčešće koriste za određivanje trofičkog stanja jezera su broj i bogatstvo vrsta indikatora te njihova relativna brojnost. U jezerima je prisutna manja raznolikost svojti u odnosu na rijeke, a u zajednici dominiraju predstavnici Oligochaeta i Diptera-Chironomidae. Budući da je eutrofikacija (antropogenog ili prirodnog uzroka) najznačajniji utjecaj u našim jezerima, analizira se zajednica profundala stratificiranih jezera, jer ona najbolje ukazuje na navedeni utjecaj (Solimini i sur., 2006.).

Metode

Uzorci makrozoobentosa sabiru se tijekom travnja ili svibnja, jer je tada obično najveća brojnost i raznolikost svojti, posebice ako u kasno ljeto nastupa hipoksija u pridnom sloju vode. Svakako treba voditi računa da se u umjetnim stajaćicama i akumulacijama uzorkuje u vrijeme niskih vodostaja te uzorkovanje valja uskladiti, posebice kod akumulacija kojima je namjena hidroenergetsko iskorištavanje, s radom hidroenergetskih postrojenja.

Najpovoljnije vrijeme uzorkovanja za velike i vrlo velike rijeke je ljetno-ranojesensko razdoblje (srpanj-rujan), kada većina rijeka u regiji ima nizak vodostaj. Međutim, ovo može odstupati u nekih rijeka koje su primjerice izuzetno regulirane. Cilj je uzorkovanja obuhvatiti nizak vodostaj i dobro razvijenu zajednicu makrozoobentosa.

Za tekućice koje presušuju najbolje je vrijeme uzorkovanja razdoblje ožujak – svibanj, prije nego presuše.

Za sve ostale tipove tekućica najpovoljnije vrijeme uzorkovanja je u proljetnom razdoblju (ožujak - travanj), tj. prije masovnog izlijetanja odraslih kukaca koje se događa tijekom svibnja i lipnja.

Prije početka uzorkovanja potrebno je da razdoblje stabilnog i niskog vodostaja bude dovoljno dugo kako bi se makrozoobentoska zajednica mogla dobro razviti.

Uzorkovati se ne smije:

- u vrijeme visokih voda i do 3 tjedna nakon visokih voda,
- u vrijeme svih drugih poremećaja izazvanih prirodnim procesima.

Mjesto uzorkovanja treba biti reprezentativno za tijelo tekućice. Dužina uzorkovanog odsječka ovisi o površini sliva i iznosi:

- 25 m, ako je površina sliva od 10 do 100 km² (male tekućice),
- 50 m, ako je površina sliva od 100 do 1 000 km² (srednje velike tekućice),
- 100 m, ako je površina sliva od 1 000 do 10 000 km² (velike tekućice),
- 250 m, za one površine sliva veće od 10 000 km² (vrlo velike rijeke).

Treba izbjegavati uzorkovanje blizu hidro-tehničkih objekata (mostova, preljeva, obaloutvrda, brana). Ove strukture izazivaju promjene u brzini toka, karakteru podloge, kao i zajednici beskralješnjaka pa

struktura zajednice nije reprezentativna za određeno tijelo površinske vode.

Oprema

Uzorkovanje se obavlja mrežom za grebanje podloge, ručnom bentos mrežom ili mrežom po Surberu

Mreža za grebanje podloge (njem. *Krazer*)

- dimenzija metalnog okvira: širina 25 cm, visina 25 cm,
- mreža je pričvršćena za dršku duljine 1,5 m radi uzorkovanja dubokih staništa (slika)
- dužina mreže je 50 cm s promjerom okašca 0,5 mm,
- veličina uzorkovane površine je 0,25 m x 0,25 m (0,0625 m²).

Ručna bentos mreža

- dimenzija metalnog okvira: širina 25 cm, visina 25 cm,
- okvir mora biti pričvršćen za metalno ili drveno držalo,
- dužina mreže je minimalno 50 cm s promjerom okašca 0,5 mm,
- veličina uzorkovane površine je 0,25 m x 0,25 m (0,0625 m²).

NAPOMENA: ručna bentos mreža koristi se posebno za uzorkovanje najvećeg supstrata (vidi XXXXRUKAMA!!!!)

NAPOMENA: Za uzorkovanje u malim ili plitkim tekućicama s krupnijim supstratom pogodna je i uporaba mreža po Surberu, za dublje tekućice nije pogodna.

Dodatna oprema:

- posude širokog grla za uzorke,
- kadica,
- pinceta,
- papir za etikete (paus papir),
- olovka,
- vodoodporni flomaster,
- koncentracija 4% formaldehida ili 96 % etilnog alkohola,
- gumene čizme (ribarske duge, sa i bez naramenica),
- zaštitna i terenska oprema: kabanica, jakna, hlače, terenske cipele, kapa ili šešir, krema sa zaštitnim faktorom protiv UV zračenja,
- gumene rukavice koje dosežu do ramena,

- odvijač ili uska špatula,
- četka,
- terenski obrazac i terenski ključevi za određivanje pojedinih skupina koje se samo zabilježe i vraćaju na stanište (potočni rakovi, veliki školjkaši ...),
- terenska torbica s prvom pomoći i
- pojas za spašavanje za uzorkovanje na velikim rijekama.



Uzorkuju se sva raspoloživa mikrostaništa (engl. „*multi-habitat sampling*“) na mjernoj postaji, pri čemu se prikuplja 20 poduzoraka raspoređenih razmjerno udjelu mikrostanišnih tipova, s time da se mikrostanište koje je zastupljeno s manje od 5% ne uzorkuje, ali se zabilježi u protokolu. Mikrostanišni tip predstavlja kombinaciju anorganskog i organskog supstrata. Poduzorak se uzorkuje podizanjem podloge koju čini supstrat s pripadajućim životinjama s površine veličine 25 x 25 cm (0,0625 m²). Dubina uzorkovanog sloja mora biti odgovarajuća kako bi se prikupile sve prisutne vrste, a ovisi o tipu supstrata.

Dubina uzorkovanog sloja prema tipu supstrata je:

- 5 - 10 cm u slučaju mekane podloge i finog organskog materijala: psamal, fine organske čestice (FPOM),

- 10 - 15 cm u slučaju srednje veličine podloge: akal, mikrolital, velike čestice organske tvari (CPOM)
- 15 - 20 cm u slučaju velike podloge: makrolital, živi dijelovi kopnenih biljaka

Zbroj 20 poduzoraka predstavlja kompozitni uzorak s uzorkovane površine od 1,25 m².

Način uzorkovanja

Prvi korak je detaljna klasifikacija mikrostaništa (mineralnog supstrata i organske podloge), prikazana u Tablici

Tablica xxx. Klasifikacija mikrostaništa (supstrata)

Mineralna mikrostaništa	Organska mikrostaništa
Megalital (> 40 cm) - Mg (veliko kamenje, blokovi i stijene)	Fital - F (nitaste alge, slojevi algi na kamenju)
Makrolital (20 cm - 40 cm) - Ma (veće kamenje)	Fital - F (submerzne alge, mahovine i makrofiti)
Mezolital (> 6,3 cm - 20 cm) - Mz (kamen veličine šake, oblutak)	Fital - F (emerzna makrofitska vegetacija, npr. <i>Typha</i> sp., <i>Carex</i> sp., <i>Pragmites</i> sp.)
Mikrolital (> 2 cm – 6,3 cm) - Mi (srednji i krupni šljunak do veličine šake, valutice)	Fital - F (živi dijelovi kopnenog bilja, korijenje johe, priobalna vegetacija)
Akal (> 0,2 - 2 cm) - Ak (sitni šljunak)	Ksilal - X (veliki trupci, grane, korijenje u vodotoku)
Psamal/Psamopelal (> 6,3 μ m - 2 mm) - P (organski mulj, pijesak)	CPOM - POM (velike čestice organske tvari; lišće)
Argilal (< 6,3 μ m) - Ar (anorganski mulj, glina)	FPOM (fine čestice organske tvari)
Teh nolital 1 (umjetna podloga, npr. beton)	Kanalizacijske gljivice i bakterije (npr. <i>Sphaerotilus</i> i organski mulj)
Teh nolital 2 (umjetno betonirano korito)	Krhotine (nakupine kućica puževa i školjkaša)







1. Drugi korak je procjena prosječne zastupljenosti svakog tipa mikrostaništa, koja se unosi u terenski protokol, uključujući i supstrat nastao pod utjecajem čovjeka (tehnotital), ukoliko je prisutan. Za procjenu zastupljenosti mikrostaništa uzorkovani odsječak se podijeli na pododsječke od 25 m (za rijeke s veličinom sliva do 100 km²). Preporučuje se odrediti zastupljenost mikrostaništa s obale rijeke, bez ulaženja u rijeku.
 - Anorganski i organski supstrat u potopljenom dijelu korita rijeke se promatraju kao jedan sloj. Utvrđuje se udio jednog i drugog supstrata, a zbroj udjela obje vrste supstrata mora biti 100%. To znači da se procjena zastupljenosti anorganskog supstrata kombinira s procjenom zastupljenosti organskog supstrata te kod uzorkovanja organskog supstrata uzima se u obzir i temeljni anorganski supstrat na kojem se nalazi.
2. Treći korak je definiranje broja poduzoraka, prema udjelu svakog tipa mikrostaništa. Jedan poduzorak treba biti prikupljen za svakih 5% zastupljenosti mikrostaništa, pri čemu ukupno 20 poduzoraka treba biti rasprostranjeno po uzorkovanom odsječku. Primjerice, ako na odsječku mezolital čini 50%, akal 30% i psamal 20% površine dna, potrebno je prikupiti 10 poduzoraka mesolitala, 6 poduzoraka akala i 4 poduzoraka psamala. Mikrostanišne tipove zastupljene s manje od 5% u terenskom protokolu se označi samo oznakom plus.
3. Četvrti korak je uzorkovanje, a preporuke su sljedeće:
 - Uzorkovanje se započinje s najnižvodnijeg dijela odsječka koji se uzorkuje.
 - U plićim dijelovima tekućice uzorkovanje se može obavljati Surberovom mrežom. Za prebacivanje supstrata iz horizontalnog okvira u mrežu koriste se metalne ili plastične lopatice.
 - Ako se uzorkuje ručnom mrežom, uzorak se može prikupljati na dva načina, ovisno o dubini tekućice:
 - U plićim dijelovima, mreža se povlači po dnu 25 cm (ili se krupniji supstrat s površine 25 x 25 cm rukom prebacuje u mrežu). Nakon što su prikupljena 3-4 poduzorka, odvajanje makrofaune od organskih i anorganskih čestica vrši se na obali gdje se prikupljeni materijal prebacuje u plastičnu kantu s vodom te se pregledava veće kamenje i fital uz odvajanje životinja. Preostala makrofauna odvaja se od sedimenta metodom ispiranja i dekantiranja kroz mrežu promjera oka 500 µm, a postupak se

ponavlja nekoliko puta.

- U dubljim dijelovima tekućice, uzorak se može prikupljati i tako da se mreža postavi uspravno i čvrsto na supstrat s otvorom u suprotnom smjeru toka te se vrteći petama čizme uznemiruje dno korita i podiže supstrat najmanje 10 – 15 cm duboko (engl. kick and sweep sampling). Pričeka se da struja vode podignuti sediment i organizme otplavi u mrežu. Postupak se na istom mjestu ponovi još jednom kada se voda razbistri. Mreža treba biti dovoljno blizu da bi makrozoobentos struja vode otplavila u nju, ali dovoljno daleko da pijesak i šljunak u velikoj količini ne uđe u mrežu. Preporučeno je također pokupiti drvene ostatke u kadicu, da bi se kasnije pincetom mogle odvojiti pričvršćene životinje na njima. Nakon tri, četiri poduzorkovanja, ispere se sabrani materijal potezanjem mreže po vodi suprotno smjeru struje vode i miješanjem rukom, kako bi se odstranile sitne čestice (mulj). Zatim se iz mreže odstrani veći supstrat s kojeg su prethodno odstranjeni svi organizmi. Na taj se način smanji volumen uzorka.

Uzorkovanje se razlikuje u ovisnosti o tipu mikrostaništa, što je prikazano u Tablici 3.4.1.-2.

Tablica 3.4.1.-2. Način uzorkovanja pojedinih tipova mikrostaništa/supstrata

Tip mikrostaništa	Način uzorkovanja
Megalital	Sa stijene se rukom, četkom ili nekim drugim oštrim predmetom odstrane organizmi i isperu u mrežu. Kada se na stijeni uzorkuje s različitih mjesta, posebno se uzorkuje svaki dio (prednja strana, stražnja strana, rub stijene), a potom se sa svih dijelova stijene
Makrolital i mezolital	Najprije se s kamenja prikupe pričvršćeni organizmi i isperu u mreži. Zatim se kamenje pomakne, veće kamenje stavi u mrežu i u njoj rukom ili pincetom sabere svi prisutni organizmi, dok se ostali supstrat pomakne i promiješa. U različitim dijelovima tekućice
Mikrolital	Ispred mreže se miješa i podigne supstrat. Za miješanje supstrata do dubine od 15 – 20 cm može se koristiti i odvijač ili sličan čvrsti predmet. Mrežu se drži dovoljno blizu podignutog supstrata i nastoji se da u mreži bude što manje anorganskog supstrata. U
Ksilal	Kod uzorkovanja se preporučuje izbjegavati svježe palo drvo u vodu, jer još nema dobro razvijenu biološku zajednicu. Veći komadi drveta se isperu, sabere organizmi te se vrati natrag u rijeku, a korijenje se protrese i dobro ispere u mreži kako bi se odstranili
Velike čestice organske tvari; lišće	Kod uzorkovanja se preporučuje izbjegavati svježe palo lišće u vodu, jer još nema dobro razvijenu biološku zajednicu. Lišće se ispere na terenu i ne nosi u laboratorij.
Makrofiti	Makrofiti se po potrebi mogu donositi u laboratorij na daljnju analizu, jer se neki organizmi, primjerice dvokrilci iz porodica Simuliidae i Chironomidae, ponekad teško odvajaju na terenu. Preporučuje se kvantitativno uzorkovanje jednakih dijelova korijena,

- Iz uzorka se odstranjuje veliko kamenje, uz provjeru da nema zaostalih organizama. Općenito, osjetljiviji organizmi, poput virnjaka (*Turbellaria*) se oštećuju ili kontrahiraju konzerviranjem te se trebaju razvrstati i prema mogućnosti determinirati odmah na terenu, ili ih žive spremi u odvojene bočice bez supstrata kako se ne bi oštetili tijekom transporta. Te uzorke tijekom transporta u laboratorij treba držati u hladnjaku.
- Velike, rijetke i zaštićene organizme, koje je lako determinirati na terenu, zabilježi se u terenskom protokolu i vraća u tekućicu (veliki školjkaši, potočni rak).
- Uzorkovani se materijal odmah po obavljenom uzorkovanju spremi u posudu ili vrećicu gdje se konzervira formaldehidom (4% konačna koncentracija formaldehida) ili 96%-nim etilnim alkoholom (70% konačna koncentracija etilnog alkohola). Kada se za konzerviranje koristi etilni alkohol iz uzorka se najprije odstrani voda, a tek onda se dodaje etilni alkohol. Organizmi koji prijanjaju uz mrežu odstrane se pincetom. U ili na bocu s uzorkom obavezno dolazi vodootporna etiketa sa svim potrebnim podacima.

- Vodootporna etiketa mora sadržavati sljedeće podatke napisane grafitnom olovkom ili uljnim flomasterom koji je otporan na vodu i alkohol:
 - naziv tekućice,
 - mjernu postaju,
 - datum uzorkovanja.

Na posudi za uzorkovanje također se napišu isti podaci kao i na etiketi. Ako se uzorak s jedne mjerne postaje sprema u nekoliko posuda, etikete i posude se numeriraju (npr. 1/2, 2/2 itd.).

- Po završetku uzorkovanja cijela korištena oprema se dobro opere i pregleda kako ne bi zaostali neki organizmi te pripremi za sljedeće uzorkovanje. Ponekad opremu treba i sterilizirati potapanjem u alkohol, ako je uzorkovanje obavljeno na mjestima moguće zaraze npr. račjom kugom.

Po obavljenom uzorkovanju terenski obrazac se pregleda i provjeri sadrži li sve potrebne podatke te se upišu i mogući problemi nastali tijekom uzorkovanja, koji bi mogli utjecati na kvalitetu uzorka.

TERENSKI obrazac

Terenski obrazac za uzorkovanje makrozoobentosa u tekućicama treba sadržavati:

- broj protokola/šifra uzorka,
- naziv vodotoka i najbližeg naselja,
- datum uzorkovanja,
- ime osobe koja je uzorkovala,
- šifra i naziv tipa tekućice,
- šifra vodnog tijela,
- šifra i naziv mjerne postaje,
- koordinate mjerne postaje (geografska širina i dužina),
- slivna površina mjerne postaje,
- nadmorska visina mjerne postaje,
- dužina uzorkovanog odsječka,
- fotografija mjesta uzorkovanja,
- opis mjesta uzorkovanja,
- obala (lijeva, sredina, desna),

- dio vodotoka (izvor, potok, rijeka, ušće, rukavac, kanal),
- oblik riječne doline (kanjon, korito, meandri, poplavna nizina),
- zasjenjenost (%),
- ☒ brzina vodnog toka (cm/s), (0-10, 10-30, 30-60, više od 60),
- je li moguće uzorkovati cijelom širinom vodotoka (da ili ne),
- zastupljenost prirodnih mikrostaništa (ukupno 100%), (%):

Anorganski supstrat	Pokrovnost (%)	Broj uzorkovanih poduzoraka
Teh nolital (označiti s x)		
Megalital		
Makrolital		
Mezolital		
Mikrolital		
Akal		
Psamal		
Psamopelal		
Pelal		
Argilal		
Organski supstrat		
Makroalge		
Potopljeni makrofiti		
Emergentni (ukorijenjeni) makrofiti		
Živi dijelovi kopnenih biljaka		
Ksilal – neživi biljni dijelovi		
Veće organske čestice (CPOM)		
Naslage čestica organske tvari (POM)		
Saprofitske i makrobakterije i gljive		
Naplavine		
UKUPNO	100%	20

- razina vode (poplava, visoka voda, normalna razina, niska voda, teče, neteče),
- procijenjeni protok (m^3/s) (niski, srednji, visoki),
- zamućenost (0 – nema, 1 – mala, 2 – srednja, 3 – velika),
- temperatura vode ($^{\circ}C$), temperatura zraka ($^{\circ}C$), otopljeni kisik (mg/L), zasićenje kisikom (%) el. vodljivost pri $25^{\circ}C$ ($\mu S/cm$), pH,
- boja, miris, pjena, vidljivi otpad,
- vidljivi znakovi redukcijskog procesa (crni sediment/sapropel, miris na H_2S),
- onečišćenje
 - otpadne vode kućanstva, voda iz uređaja za pročišćavanje, utjecaj poljoprivrede, industrijski ispusti, sumnja na iznenadno onečišćenje i dr.,
 - nema onečišćenja
- posebni uvjeti (ekstremni protoci/padaline),

- fizička ometanja: obaloutvrde, uzvodno brana ili ustava, nizvodno brana ili ustava,
- uzorkovanje makrozoobentosa:
 - ručna bentos mreža, Surberova mreža
- uzorkovano mikrostanište
 - dubina (cm)
 - brzac/ujezerenje ili lotički (LOT)/lentički (LEN)
- ostala opažanja koja nisu obuhvaćena gore navedenim unose se u rubriku napomene

JEZERA

Vrijeme uzorkovanja

Uzorci makrozoobentosa sabiru se tijekom travnja ili svibnja, jer je tada obično najveća brojnost i raznolikost svojti, posebice ako u kasno ljeto nastupa hipoksija u pridnom sloju vode. Svakako treba voditi računa da se u umjetnim stajaćicama i akumulacijama uzorkuje u vrijeme niskih vodostaja te uzorkovanje valja uskladiti, posebice kod akumulacija kojima je namjena hidroenergetsko iskorištavanje, s radom hidroenergetskih postrojenja.

Oprema

- karta u mjerilu 1:25 000 ili 1:50 000,
- terenski protokol,
- ručna bentos mreža veličine okvira 25x25 cm, promjera oka 500 µm,
- grafitna i kemijska olovka,
- metar
- bočice minimalnog volumena 0,5 l,
- uljni flomaster (otporan na alkohol i vodu),
- vodootporne etikete,
- plastična kadica,
- mrežica za prosijavanje s promjerom pora od 0,5 mm,
- pinceta,
- 96 % etilni alkohol,
- fotoaparata,
- GPS aparat,
- gumene čizme (ribarske duge, sa i bez naramenica),
- zaštitna i terenska oprema: kabanica, jakna, hlače, terenske cipele, kapa ili šešir, krema sa zaštitnim faktorom protiv UV zračenja,
- terenska torbica za prvu pomoć i
- pojas za spašavanje.

Način uzorkovanja

Na reprezentativnoj postaji uzorkuje se područje litorala. Mjesto uzorkovanja obuhvaća transekt od 25 m širine obale jezera, sve do udaljenosti od 10 m prema otvorenoj vodi ili, alternativno, do točke u kojoj dubina vode doseže 1 m. Maksimalna površina koja može biti uzorkovana iznosi 250 m². Definiraju se četiri dubinska razreda: 0 - 0,25 m, 0,25 - 0,5 m, 0,5 - 0,75 m i 0,75 – 1,00 m. Na svakoj postaji se uzima deset poduzoraka ovisno o postotku zastupljenosti određene dubine i supstrata. Poduzorci s površine 25×25 cm (0,0625 m²) uzimaju se standardnom ručnom bentos mrežom veličine oka 500 µm (AQEM CONSORTIUM 2002). Ručna bentos mreža se postavi uspravno i čvrsto na supstrat s otvorom okrenutim prema smjeru gibanja vode koje je postignuto vrtnjom petama čizme pri čemu se uznemiruje dno supstrata, podiže ga se i takav se hvata u mrežu (eng. kick and sweep sampling). Preporučeno je također pokupiti drvene ostatke u kadicu, da bi se kasnije pincetom mogle odvojiti pričvršćene životinje na njima. Sadržaj mreže se prebacuje u kantu, uklanja se veći supstrat s kojeg su prethodno odstranjeni svi organizmi. Na taj se način smanji volumen uzorka. Potom se na terenu sediment ispire i prosijava kroz mrežicu veličine oka 500 µm, pri čemu se pincetama vrši gruba separacija makrofaune. Iz takvog kompozitnog uzorka odstranjuje se voda, prebacuje se u već prethodno označenu bočicu i dodaje se 96 % etilni alkohol kako bi se uzorak konzervirao. Ako se uzorak s jedne mjerne postaje sprema u nekoliko bočica onda se one numeriraju oznakom (npr. 1/2, 2/2, itd.). Po završetku uzorkovanja cijela korištena oprema se dobro opere i pregleda kako ne bi zaostali neki organizmi te pripremi za sljedeće uzorkovanje. Po obavljenom uzorkovanju terenski obrazac se pregleda i provjeri sadržava li sve potrebne podatke te se upišu i mogući problemi nastali tijekom uzorkovanja, koji bi mogli utjecati na kvalitetu uzorka.

Na bočice treba napisati:

- datum uzorkovanja,
- naziv umjetne stajaćice ili akumulacije,
- oznaka mjesta uzorkovanja,
- oznaku bočice ako je potrebno (1/2, 2/2).

Profundal

Vrijeme uzorkovanja

Uzorci makrozoobentosa sabiru se tijekom travnja ili svibnja, jer je tada obično najveća brojnost i raznolikost svojti, posebice ako u kasno ljeto nastupa hipoksija u pridnom sloju vode.

Oprema

- karta u mjerilu 1:25 000 ili 1:50 000,
- terenski protokol,
- Eckman-ovo grabilo,
- čamac,
- grafitna i kemijska olovka,
- dubinomjer,
- gumene čizme,
- staklenka sa širokim grlom,
- uljni flomaster (otporan na alkohol i vodu),
- vodootporne etikete,
- plastična kadica,
- mrežica za prosijavanje s promjerom pora od 0,5 mm,
- pinceta,
- otopina za fiksiranje,
- fotoaparata,
- GPS aparat,
- gumene čizme (ribarske duge, sa i bez naramenica),
- zaštitna i terenska oprema: kabanica, jakna, hlače, terenske cipele, kapa ili šešir, krema sa zaštitnim faktorom protiv UV zračenja,
- terenska torbica za prvu pomoć i
- pojas za spašavanje.

Način uzorkovanja

Uzorci u stratificiranim jezerima se sabiru s dna najdubljeg dijela jezera, iz profundala, pomoću Eckman-ovog grabila. U nestratificiranim, plitkim jezerima, uzorci se uzimaju u središnjem dijelu jezera. Sabire se po 5 poduzoraka dna zahvatne površine $0,0225 \text{ m}^2$ (ukupno $0,1125 \text{ m}^2$). Uzorci se na terenu isperu kroz mrežicu veličine oka od 0,5 mm, radi smanjivanja volumena odstranjivanjem mulja i ostalih sitnih čestica. Uzorci se spremaju u boce širokog grla te odmah konzerviraju 70%-nim etilnim alkoholom.

Svaki sabrani uzorak pohranjen u boci mora biti pravilno označen. U tu se svrhu koriste etikete od paus papira ispisane grafitnom olovkom, koje se stavljaju u bočice s uzorkom te oznake na bočici, koje moraju sadržavati sljedeće podatke:

- naziv jezera,
- oznaka mjesta uzorkovanja,
- dubina uzorkovanja i
- datum i vrijeme uzorkovanja.



TERENSKI OBRAZAC

Terenski obrazac za uzorkovanje makrozoobentosa u jezerima se obavezno popunjava na terenu, a mora sadržavati sljedeće podatke:

- naziv jezera/akumulacije,
- šifra i naziv tipa jezera,
- šifra vodnog tijela,
- nadmorska visina,
- koordinate mjerne postaje (geografska širina i dužina),

- ime osobe koja uzorkuje,
- datum uzorkovanja,
- fotografija mjesta uzorkovanja,
- dubina mjesta uzorkovanja (m),
- vrsta grabila (Eckmanovo, Petersonov, ..),
- zahvatna površina uzorkivača (m²),
- broj poduzorka,
- vidljivo onečišćenje (nema onečišćenja, malo, srednje, jako),
- razina vode (suho, niska, srednja, visoka) i
- ostala opažanja koja nisu obuhvaćena gore navedenim unose se u rubriku Napomene.

Oprema

- karta u mjerilu 1:25 000 ili 1:50 000,
- terenski protokol,
- ručna bentos mreža veličine okvira 25x25 cm, promjera oka 500 µm,
- grafitna i kemijska olovka,
- metar
- bočice minimalnog volumena 0,5 l,
- uljni flomaster (otporan na alkohol i vodu),
- vodootporne etikete,
- plastična kadica,
- mrežica za prosijavanje s promjerom pora od 0,5 mm,
- pinceta,
- 96 % etilni alkohol,
- fotoaparat,
- GPS aparat,
- gumene čizme (ribarske duge, sa i bez naramenica),
- zaštitna i terenska oprema: kabanica, jakna, hlače, terenske cipele, kapa ili šešir, krema sa zaštitnim faktorom protiv UV zračenja,
- terenska torbica za prvu pomoć i
- pojas za spašavanje.



Fitobentos

Fitobentos je ukupnost algi koje žive na površini supstrata u koritu rijeke, čineći tako uglavnom autotrofne organizme (Rott, 1991.). Ekološku nišu alga fitobentosa može karakterizirati dugačak popis okolišnih varijabli (hidrologija, supstrat, svjetlost, kemija vode, temperatura i druga biota) koja pokazuje raspone varijacija specifičnih za neki tip rijeke. Odgovor određene vrste uglavnom je određen vrstama specifičnim tolerancije, to je raspon između minimalnih i optimalnih zahtjeva za skup kriterija kakvoće vode i okoliša. Svojstva koja su svojstvena vrstama, poput veličine, morfologije kolonija i prosječnog životnog vijeka, mogu se temeljito izmijeniti svojstvima sustava. Fitobentos je obično dobro strukturirana zajednica koja se sastoji od organizama velikih dimenzija, od nekoliko mikrona do nekoliko centimetara. Međutim, u mnogim studijama fitobentosa u rijekama, zanemaren je značajan dio vrsta makroalgi koje pripadaju različitim taksonomskim skupinama. Dugoročno, zajednice fitobentosa reagiraju na okolišni stres (npr. Abrazija, siltacija, nestabilnost supstrata, sezonski i vodoravni obrazac sjene, zamućenost, tvrdoća, sadržaj hranjivih sastojaka, dnevne i sezonske varijacije, ispaša zooben-tosom. , riba, zasjenjenje priobalnom vegetacijom) prvenstveno promjenama u sastavu vrsta Identifikacija fitobentoskih organizama. Određivanje fitobentoskih organizama treba provesti do najniže moguće razine (uglavnom na razini vrste). Neki se problemi mogu pojaviti kod identifikacije pojedinih taksa, jer su za njihovo određivanje žive jedinice, te katkad konzervirani uzorci nisu pogodni. Utvrđene su vrste iz skupina Cyanobacteria, Rhodophyta, Heteroconthophyta i Chlorophyta. Za utvrđivanje su korišteni dostupni zapisi iz literature. O identifikaciji nekih problematičnih taksa razgovarano je sa stručnjacima iz Slovačke i Češke. Analizirano je ukupno 223 boce uzoraka Dunava i njegovih pritoka.

Alge kremenjašice ili dijatomeje su najraznolikija skupina jednostaničnih eukariotskih protista. Nastanjuju sve vrste vodenih staništa, kao i vlažna kopnena staništa. Odgovorne su za približno polovicu primarne produkcije i gotovo četvrtinu svjetske fiksacije ugljika (Smetacek, 1999).

Fitobentoske alge su dominantna komponenta obraštaja (perifitona), a s obzirom da su pričvršćene za supstrat, zajednica u sebi objedinjuje fizikalna i kemijska svojstva tekućice.

Fitobentos se kao element kakvoće u ocjeni ekološkog stanja koristi iz nekoliko razloga:

- lako se uzorkuje već ustaljenim i provjerenim metodama,
- predvidljivo reagira na promjene kakvoće vode te predstavlja taksonomski vrlo raznoliku skupinu unutar vodenih zajednica,
- ima generacijsko vrijeme u trajanju od nekoliko sati do nekoliko dana što ga čini skupinom koja prva reagira na promjene u okolišu,
- dominantna je komponenta perifitona, a s obzirom da je pričvršćen uz supstrat, u sebi objedinjuje fizikalna i kemijska svojstva vode,
- zajednica prirodno sadrži veliki broj vrsta čime podaci postaju dobri za detaljne statističke analize i numeričke aplikacije,
- vrijeme odgovora na stres je brzo, kao i oporavak od njega,
- ponovno naseljavanje je daleko brže nego kod ostalih skupina,
- većina alga se može odrediti do razine vrste (od strane stručnjaka algologa), a za mnoge vrste su poznate granice tolerancije ili osjetljivosti na specifične promjene okolišnih uvjeta.

U fitobentos pripadaju dijatomeje (Ochrophyta: Bacillariophyceae), cijanobakterije (Cyanobacteria), zeleni bičaši (Euglenozoa), ksantofiti (Xanthophyta), zlatnožute alge (Ochrophyta: Chrysophyceae), crvene alge (Rhodophyta), veliki dio algi jarmašica i harofita (Charophyta) i zelene alge (Chlorophyta).

U zajednici fitobentosa posebno dobri pokazatelji dugo- i kratkoročnih okolišnih promjena u jezeru su alge kremenjašice ili dijatomeje jer su ubikvisti i obitavaju u svim vrstama biotopa, a metode ocjene ekološkog stanja samo na temelju dijatomeja, koje se baziraju na trofičkom sustavu, daju dobru informaciju o ekološkom stanju vode.

Uzorkovanje fitobentosa u rijekama treba obaviti u proljetnom razdoblju, u vrijeme niskog vodostaja i stabilnih hidroloških prilika, najmanje dva (optimalno tri) tjedna nakon visokog vodostaja. Izuzetak su vrlo velike rijeke Drava i Mura u kojima se uzorkovanje obavlja u zimskom razdoblju pri niskom vodostaju.

Uzorkovati treba u glavnom koritu rijeke (zona rijeke koja je konstantno pod vodom) te izbjegavati mjesta s usporenim tokom jer se tamo može formirati netipična zajednica. Neophodno je prilikom

odabira mjesta uzorkovanja pomno promotriti dionicu na kojoj se planira uzorkovanje (brzina toka, osvjetljenost, sastav i zastupljenost vrsta podloge i sl.), jer količina svjetla, dubina vodotoka, vrsta supstrata i brzina strujanja vode direktno utječu na kvalitativni sastav fitobentosa. Promjene u kvalitativnoj zastupljenosti vrsta algi često se mogu makroskopski vidjeti kao promjene boje i teksture samog supstrata (tamno zelene, zelene ili smeđe nakupine).

S obzirom na veličinu tekućice uzorkuje se na odsječcima različite dužine:

- 25 m, kada je slivna površina mjerne postaje od 10 do 100 km²
- 50 m, kada je slivna površina mjerne postaje od 100 do 1 000 km²
- 100 m, kada je slivna površina mjerne postaje od 1 000 do 2 500 km²
- 250 m, za sve velike i vrlo velike rijeke.

Oprema

- topografske karte u mjerilu 1:25 000 i 1:50 000,
- terenski obrazac za uzorkovanje fitobentosa u rijekama, s pratećim terenskim sitnim priborom (grafitna olovka, vodootporni flomaster, pinceta i sl.),
- gumene čizme (ribarske, duge sa i bez naramenica),
- zaštitna i terenska oprema: kabanica, jakna, hlače, terenske cipele, terenske sandale, kapa ili šešir, krema sa zaštitnim faktorom protiv UV zračenja,
- boce sa širokim grlom za spremanje uzoraka označene odgovarajućom oznakom (150 mL),
- mali oštar nož,
- tvrda četkica za zube,
- plastična kadica i boca za ispiranje,
- žlica ili lopatica,
- pinceta,
- gumene rukavice – male i duge do ramena,
- otopina za fiksiranje uzorka,
- fotoaparata,
- GPS uređaj,
- elektronička naprava za mjerenje osnovnih fizikalno-kemijskih pokazatelja u vodi (pH metar, konduktometar, oksimetar),
- prijenosni hladnjak,
- terenska torbica s prvom pomoći i

- pojas za spašavanje za uzorkovanje na velikim tekućicama.



Način uzorkovanja

U ocjenjivanju ekološkog stanja na temelju fitobentosa koriste se dijatomeje i nedijatomejske skupine fitobentosa (Cyanobacteria i Chlorophyta/Charophyta), a informativno i ostale skupine fitobentosa. Reprezentativno mikrostanište za uzorkovanje je površina potopljenog kamena. Uzorkovanje obraštaja za dijatomejski i nedijatomejski uzorak se djelomično razlikuje.

Uzorkovanje obraštaja za dijatomejski uzorak

Uzorkovanje se obavlja po načelu „uzorkovanje jednog mikrostaništa“ („single habitat sampling“), odnosno s 5 kamena uzetih na različitim mjestima uzorkovanog odsječka. U slučaju kada u riječnom koritu nema reprezentativnog mikrostaništa (površine kamena), treba uzorkovati alternativna mikrostaništa, poput makrofitske vodene vegetacije, nepomičnih stijena te finih supstrata poput mulja i pijeska.

Uzorkovanje obraštaja za nedijatomejski uzorak

Prije uzorkovanja potrebno je promotriti istraživanu postaju i utvrditi je li obraštaj morfološki identičan ili postoje razlike u boji i strukturi na pojedinim mjestima riječnog korita. Također je potrebno utvrditi prisutnost makroalgi, primjerice *Nostoc* spp., *Cladophora* spp., *Spirogyra* spp. i slično. Relativnu pokrovnost morfološki različitog obraštaja ili makroskopskih nakupina algi na istraživanoj postaji potrebno je zabilježiti u terenski obrazac prema skali u Tablici 3.2.1.-1. Također, morfološki različit obraštaj ili makroskopske nakupine algi potrebno je sakupiti u zasebne bočice i zasebno analizirati pod mikroskopom.

Tablica 3.2.1.-1. Skala za procjenu pokrovnosti (terenske brojnosti) algi prema normi HRN EN 15708:2010.

Ocjena pokrovnosti	Opis
1	Rijetka: jedva vidljive na odsječku, pokrovnost < 1% riječnog korita
2	Povremena: pokrovnost od 1 – 5% riječnog korita
3	Česta: pokrovnost od 5 – 25% riječnog korita
4	Brojna: pokrovnost od 25 – 50% riječnog korita
5	Dominantna: pokrovnost ≥ 50% riječnog korita

Tablica 3.2.1.-2. Postupci uzorkovanja fitobentosa (dijatomejskog i nedijatomejskog uzorka) s pojedinih vrsta supstrata

Tip	Postupak uzorkovanja	
Tvrdi pomični supstrat: kamenje, oblutci	1	Izvaditi reprezentativne supstrate iz tekućice (pet kamena veličine 6 - 25 cm)
	2	Supstrat staviti u plastičnu kadicu uz dodatak vode iz tekućice
	3	Supstrat u kadici fotografirati
	4	Skalpelom ili četkicom potpuno sastrugati gornju površinu supstrata uz ispiranje korištenog alata i supstrata vodom koja se nalazi u kadici
	5	Supstrat vratiti u vodotok, a sastrugani materijal (ukoliko u kadici ima previše vode) nakon sedimentiranja pažljivo dekantirati
	6	Uzorak pohraniti u pravilno označenu bočicu i fiksirati
Mekani pomični supstrat: mahovina, makrofita, manje korijenje	1	Izvaditi reprezentativne supstrate iz tekućice
	2	Supstrat staviti u plastičnu kadicu/kantu/bocu uz dodatak vode iz tekućice
	3	Supstrat dobro ručno protresti/sastrugati ili iscijediti (postupak ponoviti 4 - 5 puta) u vodi koja se nalazi u kadici/kanti/boci
	4	Supstrat vratiti u vodotok, a isprani materijal (ukoliko u kadici/kanti/boci ima previše vode) nakon sedimentiranja pažljivo dekantirati
	5	Uzorak pohraniti u pravilno označenu bočicu i fiksirati
Mekani	1	Posudu ili donji dio Petrijeve zdjelice postaviti na supstrat tako da njen otvor prekrije površinu koja se uzorkuje. Zdjelicu lagano pritisnuti na supstrat tako da sediment ispunji cijeli volumen unutrašnjeg dijela posude/Petrieve zdjelice
	2	Lagano podvući metalnu ili plastičnu pločicu (površine veće od promjera zdjelice) pod posudu ispunjenu sedimentom

sediment: pijesak,	3	Sabrani sediment u cijelosti prenijeti u staklenu čašu te dodati po potrebi destilirane vode. Uzorak dobro protresti i kratko sedimentirati. Supernatant dekantirati i pohraniti u pravilno označenu bočicu
mulj, fini	4	Postupak ispiranja sedimenta destiliranom vodom i dekantiranja supernatanta ponoviti 4 puta
organski materijal	5	Fiksirati uzorak

Svaki uzorak neophodno je pohraniti u bočice koje moraju biti označene etiketom na kojoj je naznačeno:

- naziv tekućice,
- naziv mjerne postaje,
- datum i vrijeme uzorkovanja i
- tip supstrata s kojega je uzet uzorak.

Ukoliko se za struganje fitobentosa koristi četkica, svakako ju je za svako naredno uzorkovanje neophodno dobro očistiti i isprati. No, zbog moguće kontaminacije sljedećeg uzorka, preporučuje se koristiti uvijek novu četkicu.

Odabir otopine za fiksiranje definiran je vremenskim razdobljem na koje se uzorak pohranjuje i vrstom uzorka:

- a) Dijatomejski uzorci – konzervirati sa 70%-tnim etilnim alkoholom neovisno o vremenu skladištenja;
- b) Nedijski uzorci – za kratkoročno čuvanje u hladnjaku na temperaturi od 1 do 5°C ako će analiza biti obavljena u roku od 72 sata mogu biti svježi i nekonzervirani, a za dugoročno čuvanje uzorka na sobnoj temperaturi koristiti otopinu formaldehida do konačne koncentracije od 4%.

Tijekom uzorkovanja fitobentosa, na mjestu uzorkovanja izmjeri se temperatura vode, pH, električna vodljivost, zasićenost vode kisikom i koncentracija u vodi otopljenog kisika.

Terenski obrazac za uzorkovanje fitobentosa u tekućicama treba pripremiti prije odlaska na teren kao obrazac u klasičnom (papirnatom) ili u elektroničkom obliku (primjerice na tabletu) te treba sadržavati podatke navedene u Poglavlju 3.2.5.

TERENSKI OBRAZAC

Terenski obrazac za uzorkovanje fitobentosa u tekućicama sadrži sljedeće podatke:

- broj protokola/šifra uzorka,
- naziv tekućice i najbližeg naselja,
- šifra vodnog tijela,
- šifra i naziv tipa tekućice,

- šifra i naziv mjerne postaje,
- koordinate mjerne postaje (geografska širina i dužina),
- slivna površina mjerne postaje (km²),
- nagib (‰),
- nadmorska visina mjerne postaje,
- dužina uzorkovanog odsječka (m),
- datum uzorkovanja,
- ime osobe koja je uzorkovala,
- fotografija mjesta uzorkovanja,
- opis mjesta uzorkovanja,
- obala (lijeva, sredina, desna),
- dio tekućice (izvor, potok, rijeka, ušće, rukavac, kanal),
- oblik riječne doline (kanjon, korito, meandri, poplavna nizina),
- zasjenjenost (%),
- ☐ brzina vodenog toka, (m/s) - (0 - 10, 10 - 30, 30 - 60, više od 60),
- je li moguće uzorkovati cijelom širinom vodotoka (da ili ne),
- pokrivenost dna algama (rijetko, povremeno, često, brojno, dominantno),
- pokrivenost vodenom vegetacijom (%) - (nadpovršinska, podpovršinska, plutajuća, slobodno plutajuća),
- boja makroskopski vidljivih nakupina algi (tamno zelene, zelene, smeđe, crvenkasto smeđe),
- tekstura makroskopski vidljivih nakupina algi (po opipu čvrsta, po opipu sluzava, plutajuće niti, nitasti čuperci, amorfn (jastučić, zakrpa), loptasta, korasta),
- potopljeni supstrati (%):
 - megalital,
 - makrolital,
 - mezolital,
 - mikrolital,
 - akal,
 - psamal i
 - pelal;
- razina vode (poplava, visoka voda, normalna razina, niska voda, teče, ne teče),
- zamućenost (0 – nema, 1 – mala, 2 – srednja, 3 – velika),
- temperatura vode (°C), temperatura zraka (°C), otopljeni kisik (mg/L), zasićenje kisikom (%), el. vodljivost pri 25°C (μS/cm), pH,

- boja, miris, pjena, vidljivi otpad,
- vidljivi znakovi redukcijskog procesa (crni sediment/sapropel, miris na H₂S),
- onečišćenje
 - otpadne vode kućanstva, voda iz uređaja za pročišćavanje, utjecaj poljoprivrede, industrijski ispusti, sumnja na iznenadno onečišćenje i dr.,
 - nema onečišćenja;
- posebni uvjeti (ekstremni protoci/padaline),
- fizička ometanja (obaloutvrde, uzvodno brana ili ustava, nizvodno brana ili ustava),
- uzorkovanje fitobentosa:
 - špatula, četkica, mreža za struganje i dr.,
- uzorkovano mikrostanište
 - dubina (cm),
 - brzac/ujezerenje ili lotički (LOT)/lentički (LEN),
- rukovanje uzorcima:
 - konzerviranje na terenu,
 - bez konzerviranja,
- ostala opažanja koja nisu obuhvaćena gore navedenim, unijeti u rubriku napomene.



FITOPLANKTON

Fitoplankton je jedan od bioloških elemenata kakvoće za ocjenjivanje ekološkog stanja jezera. Taksonomski je to raznolika grupa fotosintetskih mikroorganizama prilagođenih životu u pelagijalu voda na kopnu i mora. Kao fotoautotrofi, odgovorni su za glavnu primarne proizvodnje kisika i organskog ugljika u vodenim ekosustavima. Fitoplankton je temeljna karika u vodenim hranidbenim lancima i baza trofičke piramide. Kao biološki indikator u procjeni kakvoće vode jezerskih staništa koristi se zbog svoje brojnosti i raznolikosti vrsta te kratkog generacijskog vremena (brza stopa reprodukcije i vrlo kratki životni ciklus). Čimbenici koji utječu na strukturu fitoplanktonske zajednice u slatkovodnim ekosustavima direktno proizlaze iz odnosa kemijskih, fizikalnih i bioloških pokazatelja u određenom ekosustavu. Sukcesija fitoplanktona je slijed izmjena zajednica, tj. promjena njegovog kvalitativnog sastava, brojnosti i biomase u određenom vremenu i prostoru te je pod izravnim utjecajem niza ekoloških čimbenika, poput dostupnosti hranjivih tvari, vremena retencije/zadržavanja vode, temperature, svjetlosti i prozirnosti. Antropogeni utjecaj na prirodnu strukturu staništa mijenja čimbenike koji utječu na biološku raznolikost. Tako promijenjeni ekološki čimbenici utječu na strukturu i funkciju vodenih ekosustava, narušavajući time funkcioniranje prirodnih ekosustava. Fitoplankton kao jedan od bioloških indikatora najizravnije i u najkraćem vremenskom roku promjenom svog kvalitativnog sastava i brojnosti ukazuje na varijacije fizikalno- kemijskih čimbenika u okolišu.

UZORKOVANJE

Uzorkovanje fitoplanktona u jezerima obavlja se tijekom dana, jednom mjesečno od travnja do rujna tekuće godine.

Uzorci za kvalitativnu i kvantitativnu analizu fitoplanktona uzimaju se iz čamca, na najdubljem mjestu u stajaćem vodnom tijelu, tj. prirodnom ili akumulacijskom jezeru.

Oprema

Popis potrebne terenske opreme za uzorkovanje:

- topografske karte u mjerilu 1:25 000 i 1:50 000,
- čamac,
- batimetrijska karta,
- GPS uređaj,
- fotoaparata,
- Secchi disk,

- vitlo s užetom,
- integrirani uzorkivač za kompozitni uzorak stupca vode,
- dubinski uzorkivač za vodu,
- cijev za uzorkovanje u plitkim jezerima,
- planktonska mreža s promjerom oka 10 do 25 μm ,
- plastična kanta volumena 10 - 15 L,
- tamne boce sa širokim grlom i podčepom (200 - 250 mL) za spremanje direktnog uzorka označene vodootpornom etiketom,
- plastične bočice (do 100 mL) za spremanje kvalitativnog mrežnog uzorka,
- prijenosni hladnjak,
- terenski dnevnik (protokol) s pratećim terenskim sitnim priborom (olovka, flomaster, pinceta, nožić i sl.),
- elektronička naprava za mjerenje osnovnih fizikalno-kemijskih pokazatelja u vodi (pH metar, konduktometar, oksimetar),
- gumene čizme (ribarske duge, sa i bez naramenica),
- zaštitna i terenska oprema: kabanica, jakna, hlače, terenske cipele, terenske sandale, kapa ili šešir, krema sa zaštitnim faktorom protiv UV zračenja,
- kožne rukavice sa ili bez prstiju,
- papirnati ručnici,
- pojas za spašavanje i
- terenska torbica s prvom pomoći.

Način uzorkovanja

Koordinate mjesta uzorkovanja svaki puta treba zabilježiti GPS-om kako bi se redovito moglo uzorkovati na istom vertikalnom profilu.

Bez obzira uzorkuje li se duboko ili plitko jezero, prije početka uzorkovanja uvijek je obavezno izmjeriti temperaturu i koncentraciju kisika u stupcu vode. U plitkim jezerima temperaturu i koncentraciju kisika treba izmjeriti na svakom metru dubine do 1 m od dna, a u dubokim jezerima do dubine od 30 m.

Prije početka uzorkovanja fitoplanktona u dubokim stratificiranim jezerima potrebno je odrediti dubinu eufotičke zone te temperaturnu stratifikaciju u stupcu vode. Dubina eufotičke zone se izračuna tako što se Secchi dubina pomnoži s koeficijentom 2,5 ($Z_{eu} = \text{Secchi dubina} \times 2,5$).

Reprezentativan uzorak fitoplanktona uzorkuje se prikladnim uzorkivačem (vidi Poglavlje 4.1.1.4.3.). Tijekom uzorkovanja oprema za uzorkovanje (uzorkivač) ne smije dotaknuti dno jezera kako se ne bi kontaminirao uzorak. U tom slučaju uzorkovanje treba ponoviti podalje od mjesta na kojem je uznemiren sediment kako bi se uzeo ispravan uzorak.

Uzorak fitoplanktona treba odmah ili nakon miješanja poduzoraka biti prebačen u odgovarajuće bočice i konzerviran za kasniju mikroskopsku analizu.

Bočice za uzorke moraju biti označene prije uzorkovanja kako bi se izbjegla zamjena uzoraka. Za označavanje treba koristiti vodootporne flomastere. Vodootporne etikete na bočicama mogu biti i prethodno računalno ispisane s praznim prostorom za dodatne podatke koji se upisuju na terenu. Upisivanje podataka direktno na bočice nije preporučljivo.

Bočice s uzorcima trebaju biti dopremljene do laboratorija u neprozirnom, tamnom prijenosnom hladnjaku.

Poduzorci za dodatne analize fitoplanktona te poduzorci za druge pokazatelje (npr. klorofil *a* i hranjive tvari) trebaju biti uzeti iz istog izmiješanog uzorka iz kojeg je uzet uzorak fitoplanktona. To znači da uzorkovani volumen kompozitnog uzorka treba biti dovoljno velik za sve prateće analize.

Terenski obrazac za uzorkovanje fitoplanktona u jezerima treba pripremiti prije odlaska na teren kao obrazac u klasičnom (papieratom) obliku ili u elektroničkom obliku (primjerice na tabletu) te treba sadržavati podatke navedene u Poglavlju 4.1.5.

Rijeke

Porijeklo fitoplanktona u rijekama može biti posredno i neposredno. U manjim rijekama fitoplankton je prisutan zahvaljujući okolnim izvorima poput jezera, starih rukavaca i obraštaja, odakle bude doplavljen u rijeku zahvaljujući povećanom vodostaju i protoku. Međutim, u velikim nizinskim rijekama, gdje je vrijeme zadržavanja vode dovoljno dugo, fitoplankton će se prirodno razvijati i pridonositi primarnoj produkciji u vodenom ekosustavu rijeke.

Ekološko stanje rijeka na temelju fitoplanktona, u rijekama u kojima je fitoplankton relevantan biološki element kakvoće, ocjenjuje se na dva načina: indirektno i direktno. Indirektan način ocjene ekološkog stanja je pomoću koncentracije klorofila a , a direktan pomoću multimetrijskog indeksa koji obuhvaća sastav i biomasu fitoplanktona. Obje metode ocjene ekološkog stanja su specifične za određene tipove tekućica, tj. granice kategorija ekološkog stanja ovise o tipu tekućica.

Uzorkovanje fitoplanktona u rijekama se obavlja jednom mjesečno od travnja do rujna tijekom jedne godine.

Mjerna postaja za uzorkovanje fitoplanktona i osnovnih fizikalno-kemijskih pokazatelja treba biti zajednička, a fitoplankton treba uzorkovati na mjestu najdubljeg toka rijeke, tzv. „thalweg“.

Oprema

Potrebna je sljedeća oprema za uzorkovanje fitoplanktona:

- topografske karte u mjerilu 1:25 000 i 1:50 000,
- terenski obrazac za uzorkovanje fitoplanktona u rijekama,
- planktonska mrežica veličine oka 10 do 25 μm ,
- plastična kanta,
- tamne boce sa širokim grlom i podčepom (200 -250 mL) za spremanje direktnog uzorka, označene voodootpornom etiketom,
- plastične bočice (do 100 mL) za spremanje kvalitativnog mrežnog uzorka,
- otopina za fiksiranje uzorka (Lugolova otopina),
- terenska torbica s prvom pomoći,
- fotoaparata,

- GPS uređaj,
- elektronička naprava za mjerenje osnovnih fizikalno-kemijskih pokazatelja u vodi (pH metar, konduktometar, oksimetar),
- grafitne i kemijske olovke, vodootporni flomaster,
- gumene čizme (ribarske duge, sa i bez naramenica),
- zaštitna i terenska oprema: kabanica, jakna, hlače, terenske cipele, terenske sandale, kapa ili šešir, krema sa zaštitnim faktorom protiv UV zračenja,
- kožne rukavice sa ili bez prstiju,
- papirnati ručnici,
- putni hladnjak,
- terenska torbica s prvom pomoći,
- čamac i pojas za spašavanje za uzorkovanje na velikim rijekama.

Način uzorkovanja

Bočice za uzorke moraju biti označene prije uzorkovanja (vidi Poglavlje 3.1.1.6.) kako bi se izbjegla zamjena uzoraka. Za označavanje treba koristiti vodootporne flomastere. Vodootporne etikete na bočicama mogu biti i prethodno računalno ispisane s praznim prostorom za dodatne podatke koji se upisuju na terenu. Upisivanje podataka direktno na bočice nije preporučljivo.

Bočice s uzorcima trebaju biti dopremljene do laboratorija u neprozirnom, tamnom, prijenosnom hladnjaku.

Poduzorci za dodatne analize fitoplanktona te poduzorci za druge pokazatelje (npr. klorofil *a* i hranjive tvari) trebaju biti uzeti iz istog izmiješanog uzorka iz kojeg je uzet uzorak fitoplanktona. To znači da uzorkovani volumen kompozitnog uzorka treba biti dovoljno velik za sve prateće analize.

Terenski obrazac za uzorkovanje fitoplanktona u tekućicama treba pripremiti prije odlaska na teren kao obrazac u klasičnom (papirnatom) obliku ili u elektroničkom obliku (primjerice na tabletu) te treba sadržavati podatke navedene u Poglavlju 4.1.5.

Uzorkovanje fitoplanktona se obavlja na dva načina, ovisno o tome hoće li uzorak biti kvalitativno ili kvantitativno analiziran, a obavlja se prema Savjetodavnoj normi za kvantitativno i kvalitativno uzorkovanje fitoplanktona u kopnenim vodama (HR EN 16698:2015).

MAKROFITI

Vodeni makrofiti imaju značajnu ekološku ulogu u rijekama. Određene vrste i skupine makrofita čine zajednice koje su svojstvene za pojedine tipove tekućica. Pod antropogenim utjecajem sastav makrofitskih zajednica se mijenja i kvantitativno i kvalitativno. Nepostojanje makrofita je prirodno za neke tipove tekućica (npr. za jako zasjenjene, bujične, duboke, prirodno mutne tokove). No, može ukazivati i na antropogeno uzrokovane promjene, prije svega promjene u hidromorfologiji tekućice kad zbog produbljivanja korita, utvrđivanja i stvaranja obala strmijih no što su bile prirodno, nestaju pogodna staništa za makrofite. Uzrok tomu su prije svega dublja, time i slabije osvijetljena korita te brži protok vode koji ne dozvoljava naseljavanje makrofita.

Makrofiti su vrlo dobri bioindikatori stanja voda. Prednosti pred nekim drugim biološkim elementima kakvoće su:

- obično su pričvršćeni za podlogu i relativno su veliki,
- broj vrsta je u usporedbi s makrozoobentosom ili fitobentosom relativno mali,
- omogućuju ocjenu stanja vode i sedimenta i
- kod pregledavanja/uzorkovanja uglavnom se ne oštećuje mjesto uzorkovanja.

UZORKOVANJE

Uzorkovanje makrofita potrebno je obaviti tijekom ljeta i rane jeseni kada su makrofiti optimalno razvijeni, tj. razdoblje od lipnja do rujna (srpanj i kolovoz) je najbolje za uzorkovanje. Prerano uzorkovanje može uzrokovati teškoće jer biljke još nisu optimalno razvijene ili su tek započele s razvojem te će pri tom procijenjene brojnosti biti manje, a neke vrste će i promaći. Određivanje nepotpuno razvijenih biljaka će biti vrlo teško ili čak nemoguće. Zbog prekasnog uzorkovanja, kada vegetativni dijelovi mnogih vrsta nestaju pred zimu, a biljka preživljava u obliku trajnih organa, uzorak također neće biti dobar.

Uzorkovanje se obavlja jednokratno u vrijeme vegetacijske sezone.

U vrijeme optimalnog razdoblja za uzorkovanje treba izbjegavati vrijeme visokih voda. Pogodan je srednji ili nizak vodostaj kada je vidljivost za određivanje vrsta i njihove gustoće dobra. Preporučljivo je da između pojave visoke vode i uzorkovanja makrofita prođu barem četiri tjedna.

U slučaju kada se uzorkuje na nekoliko odsječaka iste tekućice, potrebno je uzorkovanje obaviti u isto vrijeme zbog usporedivosti rezultata jer pojedine vrste imaju različitu dinamiku razvoja.

Potrebno je odabrati reprezentativni odsječak obale duljine 50 - 100 m bez vidljivih vanjskih poremećaja (npr. mostovi i druge gradnje, utoci, poremećena obala i sl.) tj. onaj koji najbolje predstavlja opće prilike vodotoka u istraživanom dijelu. Ako se uzorkuje u blizini mosta tada uzorkovanje treba započeti uzvodno od mosta ili neke druge umjetne fizičke prepreke te dalje uzvodno duž toka rijeke.

Duljina odsječka ovisi o općim ekološkim prilikama tekućice. Ukoliko su ekološke prilike toka ujednačene može se odabrati dulji odsječak, a ukoliko se ekološke prilike češće mijenjaju duž toka (npr. slapovi, promjene nagiba, supstrata, okolne vegetacije i zasjenjenosti itd.) valja odabrati kraći odsječak s manje više ujednačenim prilikama. U uvjetima veće raznolikosti potrebno je napraviti više manjih uzorkovanja.

Općenito, uzorkovanje treba započeti u jednoj točki i kretati se u predviđenom smjeru uzvodno duž toka rijeke. Ukoliko na odabranom odsječku od 50 m daljnje kretanje od ishodišta u sljedećih 25 m ne donosi nove vrste, s uzorkovanjem se može prestati.

Prirast broja vrsta kod velikih rijeka može biti vrlo spor tako da se uzorkovani odsječak može protegnuti i do 500 m, a kod vrlo velikih rijeka 1 – 3 km. Također, kod velikih i vrlo velikih rijeka, ako je moguće, treba uzorkovati lijevu i desnu stranu zasebno (osim u slučaju da se rijeka proteže duž granice pa je nemoguće obići drugu obalu). Kada se uzorkuje lijevu i desnu obalu zasebno, u rezultatima se prikazuje srednja vrijednost obje.

Oprema

- topografske karte 1:25 000 ili 1:50 000,
- GPS uređaj,
- grablje na užetu,
- teleskopske grablje s različitim nastavcima,
- terenski protokol,
- dalekozor,

- grafitne i kemijska olovke, voodootporni flomaster, uljni marker otporan na etilni alkohol,
- polarizacijske naočale,
- fotoaparati s polarizacijom lećom,
- podvodni fotoaparati,
- dalekozor,
- Secchi disk,
- papirnati ručnici,
- herbar,
- dubinomjer,
- ručna lupa (povećanje 10 - 20x),
- plastične vrećice od 1 L sa zatvaračem,
- plastične vrećice od 25 L,
- papirnate vrećice za uzorkovanje mahovina,
- bijela izolir traka,
- plastične posude za uzorke (otvor širokog grla volumena 500 – 1 000 mL),
- putni hladnjak (za osjetljive uzorke),
- etikete od paus papira,
- naprava za gledanje pod vodom (plastična cijev sa staklenim dnom tzv. aquaskop),
- oprema za ronjenje na dah (maska, dihalica, peraje, ronilačko odijelo),
- oprema za ronjenje na boce,
- bijela plastična kadica za pregled uzoraka i fotografiranje,
- čamac za uzorkovanje na velikim rijekama,
- konzervansi (50%-ni etilni alkohol i glicerol u omjeru 1:1) ili FOA (30 dijelova destilirane vode, 15 dijelova 96%-tnog etilnog alkohola, 5 dijelova cca. 35%-tne otopine formaldehida i 1 dio ledene octene kiseline),
- terenski ključevi za determinaciju,
- gumene čizme (ribarske duge sa i bez naramenica),

- zaštitna i terenska oprema: kabanica, jakna, hlače, terenske cipele, terenske sandale, kapa ili šešir, krema sa zaštitnim faktorom protiv UV zračenja i
- terenska torbica s prvom pomoći i
- pojas za spašavanje za uzorkovanje na velikim rijekama.

Način uzorkovanja

- U prvom koraku mjesto uzorkovanja se precizno označi na karti. Dobro je navesti nepromjenljive orijentacijske podatke, primjerice granice njiva, drveće, zidovi, mostovi, ceste, mlinovi i ostale građevine, itd
- GPS uređaj se drži konstantno upaljen kako bi zapamtio trasu kretanja i na njemu se upamte točke početka i kraja odsječka
- U terenski obrazac se unesu fizičke karakteristike odsječka tekućice
- Mjesto uzorkovanja se fotografira
- Na plitkim mjestima se tekućica pregleda u cik-cak liniji ili transektu. Uzorkuje se u smjeru protivnom smjeru struje kako zamućenje vode ne bi ometalo pregledavanje. Kada zbog prirode toka ili supstrata nije sigurno pregaziti vodotok, opažanje se obavi s obale ili se uzorkuje grabljama na teleskopskoj dršci i/ili grabljama na užetu
- Odsječci s dubljom vodom pregledavaju se iz čamca, popisuju se vaskularne biljke (Tracheophyta), mahovine (Bryophyta), parožine (Charophyceae). Popis makrofita, koji se uzorkuje za ocjenu ekološkog stanja prikazan je u Tablici 3.3.3.-10

Od taksonomskih skupina u vodene makrofite uključene su vaskularne biljke (*Tracheophyta*), mahovine (Bryophyta) i parožine (Charophyceae). Na mjernoj postaji se popisuje vegetacija koja raste u vodi (pri srednjem vodostaju): hidrofiti i amfifiti (vidi u Pojmovniku stručnih izraza i kratica). U odvojeni dio popisa preporučljivo je navesti i vrste koje su samo manjim dijelom uronjene u vodu (tzv. helofiti) i one koje čine obalnu vegetaciju. Te vrste valja jasno odvojiti, jer se ne koriste direktno u ocjeni stanja voda, ali mogu dati dodatne korisne informacije o stanju i ekološkim prilikama tekućice. Zabilježi se također prisutnost makroalgi te svi prisutni makrofiti (sastav vrsta) na mjestu uzorkovanja i njihova gustoća prema 5 razreda skale gustoće (Tablica 3.3.1.-1.).

Vrste makrofita koje je teže determinirati (mahovine, žabnjaci (*Ranunculus* spp.), uskolisni

mrijesnjaci (*Potamogeton* spp.), žabovlatke (*Calitriche* spp.) i parožine (Charophyceae)) potrebno je pohraniti za kasnije određivanje u laboratoriju.

Procjena pokrovnosti na terenu

Za procjenu pokrovnosti vodenih makrofita koristi se peterostupanjska skala po Kohler-u (Tablicax).

Tablica 3.3.1.-1. Skala po Kohler-u (1978.) za procjenu brojnosti vodenih makrofita

Ocjena brojnosti taksa	Opis	Objašnjenje
1	Vrlo rijetko, pojedinačno	Samo pojedinačne biljke, do 5 jedinki
2	Rijetko	Od 6 do 10 jedinki, rahlo razdijeljenih po istraživanoj površini ili do 5 pojedinačnih sastojina (10%)
3	Rašireno	Ne može se previdjeti, ali nije česta vrsta; "može se naći a da se posebno ne traži" (10 - 25%)
4	Često	Česta vrsta, ali ne masovna; nepotpuna pokrovnost s velikim prazninama (25 - 50%)
5	Vrlo često, masovno	Dominantna vrsta, manje-više posvuda; pokrovnost znatno veća od 50%

RIBE

S obzirom na njihove složene ekološke zahtjeve, ribe su osjetljiv indikator kakvoće vodenih staništa. Kao potrošači i/ili grabežljivci, one integriraju informacije o trofičkom stanju u hranidbenom lancu. Postoji duga tradicija povezivanja zdravlja populacije riba s kakvoćom vode. Prema Uredbi o standardu kakvoće voda ribe su jedan od bioloških elemenata za ocjenjivanje ekološkog stanja tekućica. Razmatraju se tri osnovna elementa ihtipopulacije: sastav vrsta, zastupljenost pojedinih vrsta i starosna struktura. Promjene u sastavu i brojnosti vrsta, opadanje broja vrsta specifičnih za određene tipove tekućica kao i promjene u starosnoj strukturi znakovi su poremećaja u reprodukciji i razvoju određenih vrsta u populaciji riba i ukazuju na opću degradaciju vodotoka.

Svaka riblja vrsta ima specifične potrebe za kakvoćom vodenog staništa i okolišnih značajki potrebnih za razmnožavanje, hranjenje, rast, razvoj i preživljavanje. Ove specifičnosti se koriste u klasifikaciji vrsta riba u funkcionalne skupine, odnosno skupine vrsta koje se koriste iste okolišne uvjete na isti način.

UZORKOVANJE

Za ocjenjivanje ekološkog stanja voda na temelju riba koristi se metodologija uzorkovanja koja daje najbolju informaciju o trenutnom stanju ihtipopulacija na određenom odsječku tekućice. Prilikom uzorkovanja ključno je izabrati dobro mjesto uzorkovanja sa svim reprezentativnim mikrostaništima, najpovoljnije vrijeme uzorkovanja te uzorkovanje obavljati sa stručno osposobljenom ekipom za izvođenje elektroribolova.

Uzorkovanje riba daje informaciju o:

- sastavu vrsta i raznolikosti riba,
- trofičkim odnosima u zajednici,
- zastupljenosti pojedinih vrsta riba i
- reprodukcijom i stanju zajednice.

Uzorkovanje se obavlja u kasno ljeto ili ranu jesen u kontinentalnom dijelu Hrvatske (vodno područje rijeke Dunav), dok se u mediteranskoj regiji (jadransko vodno područje) uzorkovanje obavlja u proljeće zbog ljetnih suša i presušivanja tekućica. Kako bi se omogućila usporedba dobivenih

rezultata, ponovljena uzorkovanja na pojedinim mjernim postajama treba obaviti u isto doba godine.

Mjesto uzorkovanja se određuje na način da se na odsječku koji se uzorkuje obuhvati raznolikost svih tipova prirodnih mikrostaništa i mikrostaništa nastalih pod antropogenim utjecajem. Mjesto uzorkovanja mora biti dovoljno veliko da uključuje životni prostor dominantnih vrsta i obuhvati sva karakteristična staništa rijeke (brži i sporiji dijelovi, rukavci...), odnosno da bude reprezentativno za riblju zajednicu kako bi se mogla procijeniti gustoća i dobna struktura svake vrste u ihtiopopulaciji. Uz obuhvaćanje što većeg broja staništa prilikom izbora postaje uzorkovanja, treba uzeti u obzir i što lakši pristup samom mjestu uzorkovanja te prethodno poznavanje određene postaje.

Odabrana postaja predstavlja stanje na odsječku tekućice čija je dužina (prema FAME, 2004.):

- 1 km, za male tekućice (veličina slivnog područja < 100 km²),
- 5 km, za srednje velike tekućice (veličina slivnog područja 100 – 1 000 km²) i
- 10 km, za velike tekućice (veličina slivnog područja > 1 000 km²).

Na maloj tekućici odsječkom se smatra 500 m uzvodno i 500 m nizvodno od početnog mjesta uzorkovanja.

Uzorkovanjem provedenim na ovaj način dobiju se podaci o gustoći ribljih populacija, sastavu vrsta i starosnoj strukturi populacije. Brojnost se izražava kao relativna (postotni udio vrste u uzorku) ili apsolutna (broj jedinki vrste u uzorku koji služi za izračun indeksa raznolikosti). Svako ponovno uzorkovanje treba obavljati na istom mjestu, u isto doba godine, u uvjetima sličnog hidrološkog režima, jednakim ribolovnim naporom i jednakom ili ekvivalentnom ribolovnom opremom. Na mjestu uzorkovanja odrede se geografske koordinate (pomoću GPS-a), mjesto uzorkovanja se fotografira i navede naziv postaje (prema geografskim značajkama ili lokalnom imenu).

Način uzorkovanja

Elektroribolov predstavlja univerzalnu standardnu metodu uzorkovanja na rijekama. Ova metoda uzorkovanja omogućuje najbolju procjenu gustoće populacija, bogatstva vrsta, naseljenosti (broj primjeraka i biomase riba), starosne strukture te međusobnih odnosa uzorkovanih vrsta riba, a predstavlja ujedno i najmanje štetan način ribolova u usporedbi s drugim metodama.

Ribolovnim elektroagregatom se lovi na tri načina:

- hodanjem po rijeci,
- s obale rijeke ili
- iz čamca.

Tekućice koje se mogu prehodati, plitki vodotoci do širine 15 m, uzorkuju se po cijeloj širini leđnim elektroagregatom, a prije početka uzorkovanja se uzorkovani odsječak pregradi mrežama kako ribe ne bi pobjegle. Na tako omeđenoj površini izlov se obavlja dva puta s istim ribolovnim naporom. Ako je vjerojatnost ulova tipskih vrsta u prva dva izlova manja od 50%, potrebno je uzorkovanje ponoviti još jednom. Ako se ne uzorkuje leđnim elektroagregatom, može se elektroagregat postaviti na obalu rijeke i koristiti anodu s dugim električnim kabelom na dršku od stakloplastike.

Na većim tekućicama gdje je zbog dubine (> 0,7 m) i raznolikosti staništa nemoguće obaviti kvalitetno uzorkovanje s obale ili hodanjem po koritu, koristi se poseban čamac za elektroribolov. Za lov u tekućicama različite veličine i dubine koriste se elektroagregati različite snage:

- najmanje 2,5 kW - male tekućice i lov hodanjem po rijeci i s obale,
- najmanje 5 kW – srednje velike tekućice i lov iz čamca,
- najmanje 7,5 kW (preporučeno ≥ 10 kW) – velike i vrlo velike tekućice i lov iz čamca.

Elektroagregat mora omogućiti lov i pulsirajućom strujom, a koristiti treba istosmjernu struju (sa ili bez mogućnosti pulsiranja), jer je najmanje štetna za ribe, a daje najbolje rezultate dok se izmjenična struja ne koristi. Izlov riba, ovisno o veličini tekućice, može se obavljati s:

- jednom anodom poznatog promjera obruča (npr. 50 cm) s mrežom na dršku od stakloplastike dužine 2,5 m,
- četiri ili više anoda međusobno udaljenih 50 cm, smještenih na konstrukciji montiranoj na čamcu prilagođenom za elektroribolov (veća efikasnost ulova moguća je povećanjem električnog polja i to najčešće povećanjem broja elektroda kojima se lovi).

Ribolov se obavlja nizvodno kretanjem čamca uzduž obale na način da su u najvećoj mjeri pokrivenasva postojeća staništa, a posebno mjesta gdje se ribe mogu sakriti.

- Potrebno je loviti uz obje obale u razdobljima većima od 20 minuta ili 250 m dužine, ovisno o veličini tekućice: preporučuje se u dužinu uzorkovati koliko iznosi 10 širina

vodotoka te nastojati obuhvatiti sva dostupna mikrostaništa, a na velikim i vrlo velikim rijekama uzorkovati i do 1000 m dužine rijeke kako bi se obuhvatio reprezentativni uzorak zajednice riba.

Prilikom svakog uzorkovanja potrebno je mjeriti vrijeme tijekom kojeg se lovi elektroagregatom, a GPS-om se odredi prijeđena udaljenost. Na temelju tih podataka se izračuna lovni napor (CPUE) i površina zahvaćena uzorkovanjem. Ključno je prilikom svakog ponovljenog elektroribolova koristiti elektroagregat iste snage, te njime prijeći istu površinu u jednakom vremenu kao i prvi puta.

Elektroribolov se ne izvodi u slučaju:

- temperature vode ispod 5 °C (zbog smanjene aktivnosti riba te smanjene učinkovitosti uzorkovanja),
- jake kiše,
- velike zamućenosti vode,
- kada postoji opasnosti za terensku ekipu zbog radova na vodotoku,
- noći.

The European Commission's support for the production of this publication does not constitute an endorsement of the contents, which reflect the views only of the authors, and the Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein.

Erasmus + Project No ECOBIAS_609967-EPP-1-2019-1-RS-EPPKA2-CBHE-JP
Development of master curricula in ecological monitoring and aquatic bioassessment for Western Balkans HEIs

Co-funded by the
Erasmus+ Programme
of the European Union

