

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET**  
**Horvatovac 102a, Zagreb**



**Analiza bioloških metoda ocjene ekološkog stanja za fitobentos,  
makrofita i makrozoobentos u europskim interkalibracijskim  
tipovima rijeka Dinaridske primorske ekoregije; Analiza utjecaja  
okolišnih čimbenika i antropogenih opterećenja na biološke  
elemente kakvoće**



**Voditelj Projekta:**

**Izv. prof. dr. sc. Marko Miliša** \_\_\_\_\_

**Dekan Prirodoslovno-matematičkog fakulteta:**

**Prof. dr. sc. Mirko Planinić** \_\_\_\_\_

**Zagreb, 2019./2020.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET**  
Horvatovac 102a, Zagreb

**Analiza bioloških metoda ocjene ekološkog stanja za fitobentos, makrofita i makrozoobentos u europskim interkalibracijskim tipovima rijeka Dinaridske primorske ekoregije; Analiza utjecaja okolišnih čimbenika i antropogenih opterećenja na biološke elemente kakvoće**

**Projektni tim:**

prof. dr. sc. Zlatko Mihaljević  
prof. dr. sc. Antun Alegro  
izv. prof. dr. sc. Marija Gligora Udovič  
izv. prof. dr. sc. Jasna Lajtner  
doc. dr. sc. Marija Ivković  
doc. dr. sc. Petar Žutinić  
dr. sc. Ivana Pozojević  
dr. sc. Nina Vuković  
mag. oecol. et prot. nat. Marina Šumanović  
mag. oecol. et prot. nat. Natalija Vučković  
mag. oecol. et prot. nat. Antonija Kulaš  
mag. oecol. Mirela Šušnjara  
dipl. ing. biol. Vedran Šegota  
mag. oecol. et prot. nat. Nikola Koletić  
mag. biol. exp. Anja Rimac  
Mirjana Dimnjaković  
Vladimir Bartovsky

Institut za istraživanje i razvoj održivih ekosustava, Velika Gorica, Jagodno 100a  
prof. dr. sc. Zoran Pišl

**Voditelji projektnih timova:**

Makrofita: prof. dr. sc. Antun Alegro  
Fitobentos: izv. prof. dr. sc. Marija Gligora Udovič

**Vanjski suradnici:**

dr. sc. Marina Vilenica  
dr. sc. Vlatka Mičetić Stanković  
mag. biol. exp. Valentina Dorić

**Suradničke institucije:**

Temeljem Ugovoru o uslugama (Klasa: 325-01/17-10/17 Urbroj: 374-1-2-17-6, Evid. broj ugovora: 10-055/17) Analiza bioloških metoda ocjene ekološkog stanja za fitobentos, makrofite i makrozoobentos u europskim interkalibracijskim tipovima rijeka Dinardske ekoregije; analiza utjecaja okolišnih čimbenika i antropogenih opterećenja na biološke elemente kakvoće, sklopljenog između Hrvatskih voda i Sveučilišta u Zagrebu, Prirodoslovno-matematičkog fakulteta od 26. listopada 2017. godine obavljene su ugovorom propisane usluge.

Temeljni cilj ugovornih istraživanja bio je postizanje dosljednosti i usporedivosti rezultata ocjene sustava monitoringa i ocjene ekološkog stanja u zemljama članicama Europske unije za biološke elemente kakvoće. U listopadu 2019. Naručitelju je predana radna verzija elaborata, budući da je valjalo provesti međunarodnu recenziju i prihvatanje novopredloženih metoda ocjene ekološkog stanja za tekućice. Tijekom listopada i studenog 2020. završeni su recenzijski postupci te su od nadležnog tijela Europske komisije prihvачene metode ocjene ekološkog stanja za sve biološke elemente kakvoće. Dorađeni elaborat predan je Naručitelju u studenom 2020. Nakon što je elaborat prihvaćen, završna verzija elaborata dostavljena je Naručitelju u prosincu 2020.

## Sadržaj

Uvod .....	1
1. Pregled nacionalnih metoda u zemljama članicama sudionicama interkalibracijskog procesa MED GIG, za ocjenu ekološkog stanja prema pojedinačnim modulima bioloških elemenata fitobentosa, makrofita i makrozoobentosa u rijekama .....	6
1.1. Biološki element: Makrozoobentos .....	9
1.2. Biološki element: Fitobentos .....	13
1.3. Biološki element: Makrofita .....	16
2. Pregled opterećenja koji su uzrokom nepostizanja dobrog stanja vodnih tijela rijeka u MED GIG .....	18
3. Pregled rezultata provedenih interkalibracijskih i post-interkalibracijskih postupaka (postupaka usklađenja) u MED GIG .....	20
3.1. Biološki element: Makrozoobentos .....	20
3.2. Biološki element: Fitobentos .....	22
3.3. Biološki element: Makrofita .....	23
4. Područje istraživanja i pregled postojećih hrvatskih bioloških metoda koje se koriste za ocjenu ekološkog stanja .....	24
4.1. Biološki element: Makrozoobentos .....	29
4.2. Biološki element: Fitobentos .....	34
4.3. Biološki element: Makrofita .....	43
5. Pregled ekoloških čimbenika i antropogenih opterećenja u hrvatskim interkalibracijskim tipovima rijeka MED GIG .....	46
5.1. Zemljivo iskorištavanje slivnog područja .....	46
5.2. Kemijski sastav vode .....	51
5.3. Hidromorfološke alternacije na vodotoku .....	54
6. Prikaz rezultata interkalibracije za svaki zajednički interkalibracijski tip rijeka i svaki biološki element, s detaljnim prikazom interkalibracijskog postupka i statističkih proračuna .....	60
6.1. Biološki element: Makrozoobentos .....	60
6.1.1. Interkalibracija tipova tekućica R-M1 i R-M2 .....	60
6.1.2. Interkalibracija tekućica tipa R-M5 .....	80
6.2. Biološki element: Fitobentos .....	97
6.2.1. Interkalibracija tipova tekućica R-M1, R-M2 i R-M5 .....	97
6.3. Biološki element: Makrofita .....	117
6.3.1. Interkalibracija tipova tekućica R-M1 i R-M2 .....	117
7. Prikaz revidiranih bioloških metoda ocjene ekološkog stanja, prema poglavljima definiranim u Metodologiji, ovisno o tome koji dio metode je revidiran .....	138

7.1. Biološki element: Makrozoobentos .....	138
7.2. Biološki element: Fitobentos.....	164
7.3. Biološki element: Makrofita .....	193
8. Granice klasa za fizikalno-kemijske elemente kakvoće .....	207
Prilog 1 .....	211
Prilog 2 .....	235
Prilog 3 .....	257
Prilog 4 .....	279
Prilog 5 .....	288

## Uvod

Okvirna direktiva o vodama Europske unije 2000/60/EK (ODV) propisuje da se nacionalna klasifikacija dobrog ekološkog stanja uskladi s normativnim definicijama kroz interkalibracijski postupak. Za izabrane zajedničke interkalibracijske tipove, interkalibracija velikog broja bioloških elemenata kakvoće na europskoj razini je završena, a rezultati su objavljeni u Odluci Europske komisije o utvrđivanju, u skladu s ODV, vrijednosti klasifikacijskih sustava zemalja članica kao rezultata interkalibracijskih postupaka (2018/229/EU). Svaki pojedinačni postupak je vođen u okviru geografskih interkalibracijskih grupa (Geographic Intercalibration Group - GIG) i slijedio je proceduru opisanu u CIS vodiču br. 14 o interkalibracijskom procesu (Guidance Document on the Intercalibration Process 2008-2011, Europska komisija, 2011.).

Za većinu metoda ocjene ekološkog stanja rijeka u Hrvatskoj bilo je potrebno provesti samostalni interkalibracijski postupak, u skladu s postupcima opisanim u CIS vodiču br. 30. (Procedure to fit new or updated classification methods to the results of a completed intercalibration, Europska komisija, 2015.).

Cilj interkalibracijskog procesa je postizanje dosljednosti i usporedivosti rezultata ocjene sustava monitoringa i ocjene ekološkog stanja u zemljama članicama Europske unije za biološke elemente kakvoće. Kako bi se to postiglo, svaka zemlja članica mora utvrditi omjere ekološke kakvoće (OEK) za granice između vrlo dobrog (VD) i dobrog (D) stanja te dobrog (D) i umjerenog (U) stanja, koje su u skladu s normativnim definicijama iz ODV.

Ciljevi ovog projekta su:

- provedba bioloških istraživanja i monitoringa fitobentosa, makrofita i makrozoobentosa u rijekama koje pripadaju zajedničkim interkalibracijskim tipovima MED GIG (Mediterranean Geographic Intercalibration Group),
- sažimanje svih postojećih podataka i podataka prikupljenih u okviru ovog projekta,
- analiza bioloških metoda ocjene ekološkog stanja za fitobentos, makrofita i makrozoobentos,
- uklapanje metoda u harmoniziranu definiciju dobrog ekološkog stanja uspostavljenu kroz interkalibracijski proces,
- izrada interkalibracijskih izvješća ili izvješća kada interkalibracija nije provedena, za biološke elemente kakvoće fitobentos, makrofita i makrozoobentos u svim zajedničkim interkalibracijskim tipovima rijeka,
- izrada metodologije uzorkovanja, laboratorijskih analiza i određivanja omjera ekološke kakvoće bioloških elemenata kakvoće te
- izrada prijedloga granica klasa za fizikalno-kemijske elemente kakvoće za tipove rijeka obuhvaćene projektom.

U svakoj od interkalibracijskih grupa formirani su zajednički tipovi tekućica za koje je izvršena harmonizacija nacionalnih sustava ocjene ekološkog stanja (Tablica1).

**Tablica 1.** Opis zajedničkih interkalibracijskih tipova u MED GIG.

	Karakterizacija vodotoka	Slivno područje (km <sup>2</sup> )	Nadmorska visina (m)	Geologija	Hidrološki režim
R-M1	Male prigorske tekućice	10-100	200 - 800	Mješovita podloga (osim silikatne)	Izražene sezonske oscilacije
R-M2	Male do srednje velike nizinske tekućice	10-1000	<400	Mješovita podloga (osim silikatne)	Izražene sezonske oscilacije
R-M3	Velike tekućice	1000-10000		Mješovita podloga	Izražene sezonske oscilacije
R-M4	Male do srednje velike gorske tekućice	10-1000	400-1500	Nema	Izražene sezonske oscilacije
R-M5	Povremene tekućice		200 - 500	Mješovita podloga	povremeni

Hrvatski dio MED GIG područja proteže se Dinaridskom primorskom ekoregijom, u kojoj je određeno 12 biotičkih tipova te 24 abiotička tipa rijeka. Izdvojeno je 14 abiotičkih tipova koji imaju istu veličinu sliva, nadmorskiju visinu, geološku i litološku podlogu te veličinu čestica supstrata kao i zajednički interkalibracijski tipovi definirani u Odluci Europske komisije. Njima su pridodani abiotički tipovi prigorskih i nizinskih velikih tekućica u vapnenačkoj podlozi i abiotički tipovi tekućica krških polja, te su ukupno određena 22 abiotička tipa koja su svrstana u zajedničke interkalibracijske tipove MED GIG.

Analizom nacionalne biotičke i abiotičke tipologije je utvrđeno da se određeni biotički tipovi s obzirom na abiotičke karakteristike trebaju raščlaniti, kako bi bili svrstani u odgovarajući interkalibracijski tip. Stoga je izrađen prijedlog nove biotičke tipologije, koji se u Dinaridskoj primorskoj ekoregiji sastoji od 15 biotičkih tipova. Dva tipa se prema abiotičkim svojstvima ne mogu svrstati niti u jedan interkalibracijski tip (označeni s N/A u Tablici 2).

**Tablica 2.** Zajednički interkalibracijski i hrvatski biotički i abiotički tipovi rijeka u MED GIG.

INTERKALIBRACIJSKI TIP		ABIOTIČKI TIP			
HRVATSKI TIP, 2013.		HRVATSKI TIP, PRIJEDLOG			
	11A	11	16B, 17B	M1	
	14A	14	17B5	M1	
	15A	15A/15B	16B4, 17B4	M1	
	17	17	22C, 23C	M1	
	12	12	18B, 20B	M2	
	13	13	19B, 21B	M2	
	13A	13A	21B7	M2	
	14B	14	19B5	M2	
	15B	15A/15B	18B4, 19B4	M2	
	18	18	24C	M2	
	16A	16A	16B6, 16C6, 18B6	M5	
	16B	16B	17B6, 17C6	M5	
	19	19	23C6	M5	
	11B	11	16C	N/A	
	14C	14	19C5	N/A	

### *Legenda:*

- provodi se samostalna interkalibracija metoda
- samostalna interkalibracija se ne provodi, razvija se metoda usklađena s ODV
- nišu zajednički interkalibracijski tipovi

Uzorci su prikupljeni i analizirani na način propisan Metodologijom uzorkovanja, laboratorijskih analiza i određivanja omjera ekološke kakvoće bioloških elemenata kakvoće (dalje u tekstu Metodologija). No, raspoloživi podaci su prikupljeni s postaja koje su u mreži nadzornog i operativnog monitoringa i u načelu ne pružaju dovoljnu informaciju o različitim okolišnim uvjetima i graduiranom utjecaju različitih antropogenih opterećenja u svakom tipu rijeke. Zbog navedenih nedostataka raspoloživih podataka, bilo je nužno planirati provedbu dalnjih bioloških istraživanja, koji su provedeni u okviru ovog projekta (Tablica 3).

**Tablica 3.** Mjerne postaje za provedbu bioloških istraživanja fitobentosa, makrofita i makrozoobentosa.

R. BR.	ŠIFRA	MJERNA POSTAJA	BIOTIČKI TIJEPRIJE IZMJENA	BIOTIČKI TIJEPRIJE NAKON IZMJENA	ABIOTIČKI TIJEPRIJE	IC TIP	ŠIFRA VODNOG TIJELA	X HTRS	Y HTRS	NM	OM	ZP	FITO- BENTOS	MAKRO- FITA	MAKRO- ZOOBENTOS
1	14006	Una, kod izvorišta Loskun	HR-R_12	HR-R_12	18B	R-M2	CSRI0005_005	456858,4	4950894				GVL	da	da
2	14007	Una, nizvodno od D. Kraja	HR-R_12	HR-R_12	18B	R-M2	CSRN0005_007	470923,5	4919964				GVL	da	GVL
3	30045	Sijaset-Kolan, Sv. Križ	HR-R_16A	HR-R_16A	16B6	R-M5	JKRN0181_001	378496	4982423				GVL	da	da
4	30081	Dubračina, Crikvenica (igralište)	HR-R_16B	HR-R_16B	17C6	R-M5	JKRN0089_001	358087,1	5005686				GVL	da	da
5	30082	Suha Novljanska Ričina, 1 km uzvodno od ušća	HR-R_16B	HR-R_16B	17C6	R-M5	JKRN0140_001	364611,5	5000950				GVL	da	da
6	30084	Suha Ričina Baščanska, poslije Jurandvora	HR-R_16B	HR-R_16B	17B6	R-M5	JORN002_001	361303,3	4982550				GVL	da	da
7	31008	Mufrin, Valenti	HR-R_17	HR-R_17	23C	R-M1	JKRN0203_001	292183	5025289				GVL	da	da
8	31009	Krvar, most na cesti Motovun - Pazin	HR-R_17	HR-R_17	23C	R-M1	JKRN0195_001	290176,3	5022520				GVL	da	da
9	31010	Mirna, Portonski most	HR-R_18	HR-R_18	24C	R-M2	JKRN0024_002	283589	5027891	da			GVL	da	da
10	31011	Mirna, Kamenita vrata	HR-R_18	HR-R_18	24C	R-M2	JKRN0024_004	299491	5031904				GVL	da	da
11	31013	Bračana, uzvodno od ceste Buzet - Motovun	HR-R_19	HR-R_19	23C6	R-M5	JKRN0115_001	296695	5031682				GVL	da	da
12	31014	Mala Huba, most na cesti Buzet - Motovun	HR-R_19	HR-R_19	23C6	R-M5	JKRN0157_001	300754	5032669				GVL	da	da
13	31016	Obuhvatni kanal Srednja Mirna	HR-R_18	HR-R_18	24C	R-M2	JKRN0024_002	283687,9	5027944				GVL	da	da
14	31017	Stara Mirna, Gradinje	HR-R_18	HR-R_18	24C	R-M2	JKRN0024_002	292884	5027921				GVL	da	da
15	31018	Draga Baredine, most Štuparija	HR-R_19	HR-R_19	23C6	R-M5	JKRN0170_001	305342	5030454				GVL	da	da
16	31021	Raša, most Potpičan	HR-R_19	HR-R_19	23C6	R-M5	JKRN0032_002	309687	5008110	da	da		GVL	da	da
17	31023	Mirna, Dionizijev most	HR-R_18	HR-R_18	24C	R-M2	JKRN0024_001	276847,5	5025660					da	da
18	31024	Raša, most Mutvica	HR-R_18	HR-R_18	24C	R-M2	JKRN0032_001	305124	4998030				GVL	da	da
19	31025	Obuhvatni kanal Krpanj, most u naselju Raša	HR-R_18	HR-R_18	24C	R-M2	JKRN0135_001	309821	4996195				GVL	da	da
20	31031	kanal Botonega, 200 m od utoka u Mirnu	HR-R_17	HR-R_17	23C	R-M1	JKRN0223_001	293345	5027369				GVL	da	da
21	31040	Dragonja, ušće, kod Kaštela	HR-R_19	HR-R_19	23C6	R-M5	JKRIO080_001	277426,1	5038680	da	da		GVL	da	da
22	31070	Pazinčica, Dubravica	HR-R_17	HR-R_17	22C	R-M1	JKRN0094_001	301112	5015038				GVL	da	da
23	31071	Pazinčica, ponor	HR-R_17	HR-R_17	22C	R-M1	JKRN0094_001	298173	5014351				GVL	da	da
24	31082	Boljunčica, nizvodno od mjesta Brus	HR-R_17	HR-R_17	23C	R-M1	JKRN0075_001	313222,5	5019300				GVL	da	da
25	40102	Cetina, Vinalić	HR-R_12	HR-R_12	18B	R-M2	JKRN0002_010	495384	4866238			da		da	da
26	40104	Cetina, Barišići	HR-R_12	HR-R_12	18B	R-M2	JKRN0002_010	495256,4	4869956					da	da
27	40106	Potok Rumin (pritok Cetine)	HR-R_11	HR-R_11A	16B	R-M1	JKRN0126_001	511925,5	4848479					da	da
28	40108	Vojskova (pritok Cetine), Čitluk	HR-R_11	HR-R_11A	16B	R-M1	JKRN0114_001	512202,9	4846898					da	da
29	40140	Pritok Cetine uzvodno od Vinalića	HR-R_16A	HR-R_16A	16B6	R-M5	JKRN0095_001	492147	4867579					da	da
30	40141	Zduški potok, prije utoka u Cetinu	HR-R_16A	HR-R_16A	16B6	R-M5	JKRN0205_001	494319	4866300					da	da
31	40142	Gornji kanal, pritok Cetine kod Trilja	HR-R_16A	HR-R_16A	16B6	R-M5	JKRN0123_001	517430	4833360					da	da
32	40143	Donji kanal, pritok Cetine kod Trilja	HR-R_16A	HR-R_16A	16B6	R-M5	JKRN0168_001	517532	4833476					da	da
33	40198	Kobilica (pritok Zrmanje), Kusac	HR-R_11	HR-R_11A	16B	R-M1	JKRN0260_001	466689	4887347					da	da
34	40199	Zrmanja, most na cesti Kostići-Vukmirice	HR-R_13	HR-R_13B	19B	R-M2	JKRN0013_002	462572,9	4883486					da	da
35	40200	Zrmanja, Butiga	HR-R_13	HR-R_13B	19B	R-M2	JKRN0013_002	454727,4	4885663					da	da
36	40203	Zrmanja, ispod brane Muškovci	HR-R_13	HR-R_13B	19B	R-M2	JKRN0013_001	439380,5	4896751					da	da
37	40204	Zrmanja, Berberov Buk	HR-R_13	HR-R_13B	19B	R-M2	JKRN0013_001	442116	4895311	da				da	da
38	40205	Zrmanja, Palanka	HR-R_12	HR-R_12	18B	R-M2	JKRN0013_003	465687	4889745					da	da
39	40208	Zrmanja, Žegar	HR-R_13	HR-R_13B	19B	R-M2	JKRN0013_002	448628	4891531					da	da
40	40209	Zrmanja, uzvodno od Obrovca	HR-R_13	HR-R_13B	19B	R-M2	JKRN0013_001	435905	4895790					da	da
41	40211	Jaruga, Ražanac	HR-R_16B	HR-R_16B	17B6	R-M5	JKRN0227_001	406607	4903234					da	da
42	40213	Krupa, Manastir	HR-R_14	HR-R_14A	17B5	R-M1	JKRN0029_001	450992	4894757					da	da
43	40214	Rivina Jaruga, Pavasovići	HR-R_16B	HR-R_16B	17B6	R-M5	JKRN0175_001	452684	4854837					da	da
44	40218	Krupa, u selu Mandići, 300 m nizvodno od izvorišta	HR-R_14	HR-R_14A	17B5	R-M1	JKRN0029_001	452787	4894920	da				da	da
45	40220	Jaruga/Mijanovac, Zverinac	HR-R_16A	HR-R_16A	16B6	R-M5	JKRN0169_001	476939	4867957					da	da

R. BR.	ŠIFRA	MJERNA POSTAJA	BIOTIČKI TIP RIJEKE PRIJE IZMJENA	BIOTIČKI TIP RIJEKE NAKON IZMJENA	ABIOTIČKI TIP RIJEKE	IC TIP	ŠIFRA VODNOG TIJELA	X HTRS	Y HTRS	NM	OM	ZP	FITO- BENTOS	MAKRO- FITA	MAKRO- ZOOBENTOS
46	40221	Vodotok Bokanjac, prije ulaska u tunel	HR-R_16B	HR-R_16B	17C6	R-M5	JKRN0113_001	398736	4895770	da				da	
47	40313	Baščica, Posedarje	HR-R_16B	HR-R_16B	17C6	R-M5	JKRN0092_001	417044	4897549	da				da	
48	40315	Jaruga, Benkovac	HR-R_16B	HR-R_16B	17B6	R-M5	JKRN0049_003	434020	4872389	da				da	
49	40318	Baščica, uzvodno od Posedarja	HR-R_16B	HR-R_16B	17C6	R-M5	JKRN0092_001	415267	4898295	da				da	
50	40319	Macavarina Draga	HR-R_16B	HR-R_16B	17B6	R-M5	JKRN0041_001	427978,2	4871327	da				da	
51	40416	Krka, nizvodno od Knina	HR-R_12	HR-R_12	18B	R-M2	JKRN0005_007	475128	4877295				da	da	
52	40426	Suvova, Donje Postinje	HR-R_16A	HR-R_16A	16B6	R-M5	JKRN0182_001	492784,6	4840583	da				da	
53	40427	Guduča, most na cesti Čista mala – Lađevci	HR-R_11	HR-R_11A	17B	R-M1	JKRN0049_002	443703	4861437	da				da	
54	40428	Bribišnica, Sv. Petar	HR-R_11	HR-R_11A	17B	R-M1	JKRN0049_003	441621	4864649	da				da	
55	40429	Vrba, kod mjesta Vrba	HR-R_11	HR-R_11A	16B	R-M1	JKRN0062_001	491942,3	4842501			da		da	
56	40430	Orašnica, prije utoka u Krku	HR-R_11	HR-R_11A	16B	R-M1	JKRN0171_001	476070	4877100	da				da	
57	40431	Orašnica, Kninsko polje	HR-R_11	HR-R_11A	16B	R-M1	JKRN0171_001	477102	4878466					da	
58	40432	Vrba, Ojdanići	HR-R_11	HR-R_11A	16B	R-M1	JKRN0062_001	485076	4850140					da	
59	40433	Vrba, nizvodno od Keruma	HR-R_11	HR-R_11A	16B	R-M1	JKRN0062_001	493956,6	4842450					da	
60	40441	Krka, Marasovine	HR-R_12	HR-R_12	18B	R-M2	JKRN0005_006	467503,4	4874596					da	
61	40442	Krka, uzvodno od Knina	HR-R_12	HR-R_12	18B	R-M2	JKRN0005_008	477977,1	4877832					da	
62	40443	Izvor Krke (pritok Une), granični prijelaz	HR-R_11	HR-R_11A	16B	R-M1	CSRIO109_001	471752,8	4920109					da	
63	40453	Butižnica, HE Golubić	HR-R_12	HR-R_12	18B	R-M2	JKRN0033_001	477586,4	4883288					da	
64	40454	Butižnica, Bulin most	HR-R_12	HR-R_12	18B	R-M2	JKRN0033_001	474910,2	4877930					da	
65	40507	Šipovača, Jelavića most	HR-R_16A	HR-R_16A	16B6	R-M5	JKRN0118_001	560950	4808384			da		da	
66	40515	Norin, Vid	HR-R_13	HR-R_13B	19B	R-M2	JKRIO093_001	591940	47711796	da				da	
67	40516	Norino, utok Kula Norinska, Romići	HR-R_13	HR-R_13B	19B	R-M2	JKRIO093_001	589270	4768728	da				da	
68	40701	Ombla, izvorište	HR-R_13	HR-R_13B	19B	R-M2	JKRN0057_001	634168,7	4727564					da	
69	40702	Taranta, uzvodno od Srebrenog	HR-R_16B	HR-R_16B	17B6	R-M5	JKRN0233_001	637943	4722357	da				da	

Legenda:

IC TIP – interkalibracijski tip

NM – nadzorni monitoring

OM – operativni monitoring

ZP – zaštićeno područje

GVL – Glavni vodnogospodarski laboratorij Hrvatskih voda

## 1. Pregled nacionalnih metoda u zemljama članicama sudionicama interkalibracijskog procesa MED GIG, za ocjenu ekološkog stanja prema pojedinačnim modulima bioloških elemenata fitobentosa, makrofita i makrozoobentosa u rijekama

Okvirna direktiva o vodama (ODV) je prvi međunarodni akt koji zahtjeva od zemalja članica uspostavu međusobnu harmonizaciju sustava ocjene ekološkog stanja za slatkovodne ekosustave. Neke zemlje članice Europske unije nisu interkalibrirale nacionalne klasifikacijske sustave zbog nedovoljne razvijenosti metoda u vrijeme interkalibracijskog postupka. Druge su pak unaprijedile klasifikacijske sustave, zbog čega žele revidirati prethodno interkalibrirane metode ocjene. U oba slučaja potrebno je dokazati da su metode u skladu s normativnim definicijama ODV i da su granice klase u skladu s rezultatima završenog interkalibracijskog procesa. U svrhu interkalibracije, odnosno ujednačavanja sustava ocjenjivanja ekološkog stanja na razini cijele EU, formirane su geografske interkalibracijske grupe zemalja, tzv. GIG-ovi (engl. Geographical Intercalibration Groups, Tablica 1.1.). GIG-ovi uključuju države/područja sličnih geoloških i geografskih podneblja s usporedivim tipovima vodnih tijela. Sustav evaluacije i tipizacije GIG-ova temelji se na ODV (2000/60/EC; Water Framework Directive: WFD). Interkalibracija pruža mehanizam usklađivanja i provjere granice ekoloških stanja između zemalja članica GIG-a. Svaki pojedinačni postupak je vođen u okviru geografskih interkalibracijskih grupa i slijedio je proceduru opisanu u CIS vodiču o interkalibracijskom postupku (Europska komisija, 2011.).

**Tablica 1.1.** Geografske interkalibracijske grupe (GIG) i države članice (MS).

GIG za kategoriju: tekućice	Zemlje članice
Alpski	Austrija, Francuska, Njemačka, Italija, Slovenija, Španjolska,
Istočno-kontinentalni	<b>Hrvatska</b> , Slovenija, Austrija, Bugarska, Mađarska, Rumunjska, Slovačka, Češka
Centralno-baltički	Austrija, Belgija, Češka, Danska, Estonija, Francuska, Njemačka, Irska, Italija, Latvija, Litva, Nizozemska, Poljska, Slovačka, Ujedinjeno Kraljevstvo, Španjolska, Švedska, Luksemburg
Mediteranski	<b>Hrvatska</b> , Cipar, Slovenija, Francuska, Grčka, Italija, Portugal, Rumunjska, Španjolska
Sjeverni	Finska, Irska, Norveška, Švedska, Ujedinjeno Kraljevstvo

U svakoj od interkalibracijskih grupa formirani su zajednički tipovi tekućica za koje je izvršena harmonizacija nacionalnih sustava ocjene ekološkog stanja (Tablica 1.2.).

**Tablica 1.2.** Opis interkalibracijskih tipova unutar MED GIG-a

IK tip	Karakterizacija vodotoka	Slivno područje (km <sup>2</sup> )	Nadmorska visina (m)	Geologija	Hidrološki režim
R-M1	Male prigorske tekućice	10-100	200 - 800	Mješovita podloga (osim silikatnih)	Izražene sezonske oscilacije
R-M2	Male do srednje velike nizinske tekućice	10-1000	<400	Mješovita podloga (osim silikatnih)	Izražene sezonske oscilacije
R-M3	Velike tekućice	1000-10000		Mješovita podloga	Izražene sezonske oscilacije
R-M4	Male do srednje velike gorske tekućice	10-1000	400-1500	Nema	Izražene sezonske oscilacije
R-M5	Povremene tekućice		200 - 500	Mješovita podloga	povremeni

Tip R-M1 prisutan u zemljama: Francuska, Grčka, Italija, Portugal, Slovenija, Španjolska.

Tip R-M2 prisutan u zemljama: Francuska, Grčka, Italija, Portugal, Španjolska.

Tip R-M3 prisutan u zemljama: Grčka, Portugal, Španjolska.

Tip R-M4 prisutan u zemljama: Cipar, Francuska, Grčka, Italija, Španjolska.

Tip R-M5 prisutan u zemljama: Cipar, Italija, Portugal, Slovenija, Španjolska.

Za mnoge biološke elemente kakvoće (BEK) izabranih interkalibracijskih (IK) tipova procedura interkalibracije uspješno je obavljena te je opisana u tehničkim izvještajima (Poikane, 2013, van de Bund, 2013). Biološki sustavi ocjene baziraju se na odazivu akvatičkih zajednica u odnosu na antropogene pritiske/stresore (Hering i sur., 2006). Najčešće je sustav ocjene ekološkog stanja temeljen na više metrika koje reagiraju na različite oblike pritisaka. Metrike predstavljaju određene karakteristike (segmente) zajednice koji se značajno mijenjaju (imaju najjači dogovor) duž gradijenta pritisaka. Kod razvoja multimetričkih indeksa, valja obratiti pozornost da odabранe metrike pripadaju u sljedeće kategorije/grupe metrika:

- a) abundancija (brojnost ili biomasa)
- b) bogatstvo i raznolikost zajednice
- c) osjetljivost / tolerantnost pojedinih svojstava
- d) funkcionalne / autekološke značajke (trofičke kategorije, preferencije prema pojedinim tipovima supstrata, brzini strujanja, dijelovima tekućice i sl.)

Prilikom razvoja sustava ocjene (posebice u nizinskim predjelima), najveći problem predstavlja nedostatak referentnih postaja, zbog dugotrajnih ljudskih aktivnosti i utjecaja na vodene ekosustave. Stoga većina razvijenih bioloških sustava za ocjenu ekološkog stanja tekućica (ali i ostalih vodenih ekosustava), referentne uvjete procjenjuje temeljem gotovo prirodnih referentnih postaja (engl. near-natural reference sites), najboljih raspoloživih postaja (engl. best available sites), modeliranjem iz postaja dobrog ekološkog stanja (engl. benchmarking) ili stručnom procjenom. Razvijeni multimetrički sustavi ocjene ekološke kakvoće generalno se odazivaju na sljedeće pritiske: eutrofikacija, organsko onečišćenje, hidromorfološka degradacija, acidifikacija i ostalo (teški metali, DDT, PCB, invazivne vrste).

#### Literatura:

- Birk, S., Willby, N., Kelly, M., Bonne, W., Borja, A., Poikane, S., & Van de Bund, W. (2013). Intercalibrating classifications of ecological status: Europe's quest for common management objectives for aquatic ecosystems. *Science of the Total Environment*, 454-455, 490-499.
- Hering D., Feld C.K., Moog O. & Ofenbock T. 2006. Cook book for the development of a Multimetric Index for biological condition of aquatic ecosystems: experiences from the European AQEM and STAR projects and related initiatives. *Hydrobiologia* 566: 311–324.
- Poikane S. (ed.) (2014). Water Framework Directive intercalibration technical report. JRC scientific and technical reports. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities.
- Van de Bund W. (ed.) (2014). Water Framework Directive River intercalibration technical report. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities.

### 1.1. Biološki element: Makrozoobentos

Službeni interkalibracijski postupak ekološkog stanja mediteranskih rijeka, na temelju biološkog elementa makrozoobentosa, završen u sklopu Med-GIG interkalibracije 2011. godine. U tome su postupku definirana 4 tipa tekućica Mediteranske Geografske Interkalibracijske Grupe (Med-GIG) te je sudjelovalo 6 zemalja članica i to su redom: Cipar, Francuska, Grčka, Italija, Portugal i Španjolska.

U svrhu usporedivosti procjene ekološkog stanja između Geografskih Interkalibracijskih Grupa te u skladu s normativnim definicijama ODV, utemeljen je ICMi (Intercalibration Commom Multimetric index). Tako je za Med-GIG metodologiju dodijeljen STAR\_ICMi, direktno usporediv s Centralnom i Nordijskom Geografskom Interkalibracijskom Grupom, ali i donekle prikladan Mediteranskoj. STAR\_ICMi uključuje 6 metrika: ASPT, Log10(sel\_EPTD), 1-GOLD, Ukupni broj porodica, Broj EPT porodica te Shannon-Wienerov indeks raznolikosti.

Italija, Cipar i Grčka koristile su STAR\_ICMi metodologiju, dok su preostale 3 države razvile nacionalne metodološke sustave (Tablica 1.1.1.), također u skladu s ODV. Francuska je koristila IBGN sustav, Španjolska IBMWP te Portugal koristi Rivers Biological Quality Assessment Method - Benthic Invertebrates. Međutim, za neke od navedenih država prvo uspostavljena interkalibracijska metodologija pokazala se nedovoljno prilagođenom i osjetljivom te se uspostavljuju nove.

Francuska uslijed ograničenosti prvotne IBGN metode (na distribuciju makrozoobentosa diljem longitudinalnog gradijenta rijeke, nedovoljne informiranosti o abundanciji i raznolikosti, odgovaranja samo na organsko zagađenje, isključujući ostala opterećenja poput hidromorfološke degradacije), uspostavlja novu metodu, MultiMetric Invertebrate Indeks (I2M2).

Grčka mijenja standardiziranu STAR\_ICMi metodologiju i uspostavlja Hellen Evaluation System (HESY), uzimajući u obzir taksonomski sastav, brojnost, osjetljive svojte, raznolikost te svojte koje ukazuju na onečišćenje.

Italija nadopunjuje STAR\_ICMi s metodom osjetljivom na brojnost i indikatorsku vrijednost vodencvjetova, tzv. Mayfly Total Score (MTS). Nova metoda naziva se ISA indeks i predstavlja srednju vrijednost između STAR\_ICMi i MTS.

Nakon službenog uspostavljenog procesa Med-GIG Interkalibracije, osim izmjena metodologije i revidiranja rezultata postojećih članica, pridružuju se i nove države, Slovenija i Bugarska.

Slovenija metodologiju vrši pomoću Slovenskog saprobnog indeksa i multimetričkog sustava osjetljivog na hidromorfološku i općenitu degradaciju.

Bugarska također pripada jednom od mediteranskih interkalibracijskih tipova, što je pokazala hidromorfološka usporedba.

**Tablica 1.1.1.** Opis interkalibriranih metoda koji koriste makrozobentos za ocjenu stanja tekućica korištenih u zemljama članicama MED GIG-a

DRŽAVA	NACIONALNE METODE	METRIKE
Grčka	Hellenic Evaluation System <b>(HESY)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hellen Evaluation Score ~ BMWP-type score (tolerancija prema onečišćenju)</li> <li>- Average HES (AHES) ~ ASPT (brojnost)</li> <li>- SemiHES ~ Habitat Richness Matrix (GHRM) (bogatstvo raznolikosti po staništu)</li> </ul>
	Interkalibracijski tipovi: <b>R-M1, R-M2, R-M4, R-M5</b>	
Francuska	Indice Biologique Global Normalise ( <b>IBGN</b> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bogatstvo vrsta</li> <li>- Osjetljivost svojti</li> <li>- Razredi po brojnosti</li> </ul>
	*MultiMetric Invertebrate Index ( <b>I<sub>2</sub>M<sub>2</sub></b> ) *predložena metoda	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Shannonov indeks raznolikosti</li> <li>- ASPT (brojnost)</li> <li>- raznolikost svojti</li> </ul>
	Interkalibracijski tipovi: <b>R-M1, R-M4</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- polivoltinizam</li> <li>- živorodnost</li> </ul>
Italija	<b>ISA index</b> (Indice per la classificazione sulla base dei Substrati Artificiali) = (STAR_ICMi + Ukupan broj vodencvjetova)/2	<p>STAR_ICMi:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ASPT (brojnost)</li> <li>- <math>\text{Log}_{10}(\text{sel\_EPTD}+1)</math></li> <li>- 1-GOLD</li> <li>- Broj EPT porodica</li> <li>- Ukupan broj porodica</li> <li>- Shannonov indeks raznolikosti</li> </ul>
	Interkalibracijski tipovi: <b>R-M1, R-M2, R-M4, R-M5</b>	Ukupan broj vodencvjetova: <ul style="list-style-type: none"> <li>- zbroj (1, 3, 5) rezultata za svaku operacijsku jedinicu (uglavnom rod ili vrsta)</li> </ul>
Španjolska	<b>Iberian Multimetric index based on Macroinvertebrates</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- IASPT - IBMWP vrijednost / broj porodica</li> <li>- Broj porodica</li> <li>- EPT (Broj Ephemeroptera, Plecoptera i Trichoptera porodica)</li> <li>- % Sel EPTCD (Udio porodica Leptophlebiidae, Ephemerellidae, Chloroperlidae, Nemouridae, Leuctridae, Philopotamidae, Limnephilidae, Psychomyiidae, Sericostomatidae, Elmidae, Dryopidae i Athericidae)</li> </ul>
	Interkalibracijski tipovi: <b>R-M1, R-M2, R-M4, R-M5</b>	
Cipar	<b>STAR Intercalibration Common Metric Index</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ASPT</li> <li>- <math>\text{Log}_{10}(\text{sel\_EPTD})</math>, tj. <math>[\text{Log}_{10} (\text{zbroj porodica Heptageniidae, Ephemeridae, Leptophlebiidae, Brachycentridae, Goeridae, Polycentropodidae, Limnephilidae, Odontoceridae, Dolichopodidae, Stratymidae, Dixidae, Empididae, Athericidae, Nemouridae})]</math></li> <li>- 1-GOLD, tj. <math>1 - [\text{Relativna brojnost Gastropoda, Oligochaeta, Diptera}]</math></li> <li>- Ukupan broj porodica</li> <li>- Broj EPT porodica [Zbroj Ephemeroptera, Plecoptera,</li> </ul>

DRŽAVA	NACIONALNE METODE	METRIKE
	Interkalibracijski tipovi: <b>R-M4, R-M5</b>	Trichoptera] - Shannonov indeks raznolikosti
Portugal	<b>Rivers Biological Quality Assessment Method - Benthic Invertebrates</b>	- Broj porodica - Broj EPT porodica - Ujednačenost vrsti - Iberski ASPT
	Interkalibracijski tipovi: <b>R-M1, R-M2, R-M5</b>	- log (EPTCD+1), tj. Chloroperlidae, Nemouridae, Leuctridae, Leptophlebiidae, Ephemerellidae, Philopotamidae, Limnephilidae, Psychomyiidae, Sericostomatidae, Elmidae, Dryopidae, Athericidae
Slovenija	<b>Ecological status assessment system for rivers using benthic invertebrates</b> (Vrednotenje ekološkega stanja rek z bentoškimi nevretencarji)	- Saprojni indeks ( $SI = \frac{\text{Zbroj (Brojnost indikatorskih svojti} \times \text{Saprobnna vrijednost} \times \text{Indikatorska snaga})}{\text{Brojnost indikatorskih svojti} \times \text{Indikatorska snaga}}$ ) - Slovenski multimetrčki za hidromorfološku izmijenjenost /opću degradaciju (SMEIH = Težinski prosjek 3 ili 4 metrike – ovisno o tipu tekućice)
Bulgarska	Interkalibracijski tipovi: <b>R-M1, R-M2, R-M5</b> <b>The Irish Biotic Index</b> Interkalibracijski tipovi: <b>R-M2</b>	- Ukupan broj svojti - Bogatstvo svojti indikatorskih grupa A (vrlo osjetljive), B, C, D, E (vrlo otporne)

**Literatura:**

- Artemiadou V. & Lazaridou M. 2005. Evaluation Score and Interpretation Index for the ecological quality of running waters in Central and Northern Hellas. Environmental Monitoring and Assessment, 110, 1–40.
- AFNOR (2004) NF T90-350: Qualité de l'eau - Détermination de l'indice biologique global normalisé (IBGN). AFNOR, Paris.
- Mondy C.P., Villeneuve B., Archaimbault V. & Usseglio-Polatera P. (2012) A new macroinvertebrate-based multimetric index (I2M2) to evaluate ecological quality of French wadeable streams fulfilling the WFD demands: A taxonomical and trait approach. Ecological Indicators 18, 452–467.
- Buffagni, A., Erba, S., Pagnotta, R. (2008) Definizione dello stato ecologico dei fiumi sulla base dei macroinvertebrati bentonici per la 2000/60/EC (WFD): il sistema di classificazione MacrOper. In: CNR-IRSA, 2008. Direttiva 2000/60/EC (WFD), condizioni di riferimento per fiumi e laghi, classificazione dei fiumi sulla base dei macroinvertebrati acquatici. Notiziario dei metodi analitici, numero speciale 2008: 24-42.
- Munne, A. & N. Prat, 2009. Hydrobiologia 680: 203-225.
- Ferreira, J., J.M. Bernardo & M.H. Alves, 2008. Exercicio de intercalibracao em rios no ambito da Directiva-Quadro da Agua. Acta do 9º Congresso da Agua, Lisboa., further information can also be found in Annex 2.4.1E from Intercalibration Technical Report - Rivers.

## 1.2.Biološki element: Fitobentos

Službena interkalibracijska vježba procjene ekološkog statusa rijeka unutar mediteranskog GIG-a temeljenih na fitobentosu uspješno je završena 2012. godine (Milestone 6 Report, 2012.). Rezultati prve faze bili su uključeni u prvu Odluku Komisije (COM DEC 2008/915/EC). U drugoj fazi vježba je ponovljena korištenjem većih skupova podataka kako bi u potpunosti bila usklađena sa zahtjevima novih smjernica, a njezini su rezultati uključeni u drugu Odluku Komisije (COM DEC 2013/480/EC). Hrvatska nije sudjelovala u navedenim fazama interkalibracijske vježbe s podacima za fitobentos.

U svrhu usporedivosti procjene ekološkog stanja između Geografskih Interkalibracijskih Grupa te u skladu s normativnim definicijama ODV, utemeljen je ICMi (Intercalibration Common Multimetric index). ICMi se sastoji od dvaju općekorištenih, statistički provjerениh dijatomejskih metrika (Kelly i sur., 2009.): IPS (indeks osjetljivosti na onečišćenje; Coste u CEMAGREF, 1982.) te TI (trofički indeks; Rott i sur., 1999.). Navedeni je multimetrički indeks uspješno korišten u različitim Geografskim Interkalibracijskim Grupama (pr. EC GIG grupa). Važno je napomenuti da je korištenje svakog pojedin(ačn)og indeksa iz ove multimetrijske metode u interkalibracijskoj vježbi, uz valjan razlog i primjenu, također u skladu s ODV.

Različite nacionalne metode država članica u završenoj interkalibracijskoj vježbi usmjerene su prema utvrđivanju sljedećih pritisaka: eutrofikacije, organskih tvari i opće razgradnje (Milestone 6 Report, 2012.). Nacionalne metode korištene u državama članicama, sudionicama interkalibracijskih procesa za ocjenu ekološkog stanja tekućica Dinaridske ekoregije za biološki element fitobentos prikazane su u tablici 1.2.1.

Bugarska, Cipar, Grčka i Portugal u svojim su interkalibriranim metodama koristile IPS indeks, odnosno Indeks stupnja zagađenosti.

Francuska je za potrebu interkalibracije razvila novi multimetrijski sustav nazvan IBD 2007 (Indice Biologique Diatomées), koji predstavlja inačicu ICMi indeksa budući da u obzir uzima osjetljivost i relativnu učestalost dijatomeja, a koji se pokazao osjetljivijim od prethodne inačice istog.

Italija se odlučila koristiti zajednički multimetrijski indeks IMCi koji se pokazao najprikladnjivijim za tipologiju.

Slovenska interkalibrirana metoda koristi sustav sa dva indeksa koji određuju stupanj saprobnosti (SI) i trofije (TI).

Španjolska u svojoj interkalibriranoj metodi također koristi dva indeksa, IPS indeks kao stupanj zagađenosti te multimetrijski indeks DIATome Multimetric Illes Balears indeks (DIATMIB), koji predstavlja inačicu ICMi indeksa, a razvijen je za područje Balearskog otočja zbog privremenih vodotokova uvjetovanih prvenstveno klimatskim podnebljem (padaline, temperatura).

Nacionalne metode korištene u državama članicama, sudionicama interkalibracijskih procesa za ocjenu ekološkog stanja tekućica Dinaridske ekoregije za biološki element fitobentos prikazane su u tablici 1.2.1.

**Tablica 1.2.1.** Opis interkalibriranih metoda koji koriste fitobentos za ocjenu stanja tekućica korištenih u zemljama članicama MED GIG-a.

Zemlja	IK tip	Indeks	Opis
Bugarska	R-M1 R-M2	IPS indeks	Indeks zagađenja, temeljen na vrijednostima osjetljivosti i relativnim abundancijama indikatorskih svojti
Cipar	R-M4 R-M5	IPS indeks	Indeks zagađenja, temeljen na vrijednostima osjetljivosti i relativnim abundancijama indikatorskih svojti
Francuska	R-M1 R-M2	Biološki indeks dijatomeja (IBD 2007)	Multimetrijski indeks temeljen na vrijednostima osjetljivosti i relativnim abundancijama indikatorskih svojti dijatomeja
Grčka	R-M1 R-M2 R-M4	IPS indeks	Indeks zagađenja, temeljen na vrijednostima osjetljivosti i relativnim abundancijama indikatorskih svojti
Italija	R-M1 R-M2 R-M4 R-M5	Zajednički IK metrički indeks (ICMI)	Multimetrijski indeks temeljen na vrijednostima osjetljivosti na organsko opterećenje i hranjive tvari te na relativnim abundancijama indikatorskih svojti (kombinacija IPS i TI indeksa)
Portugal	R-M1 R-M2 R-M5	IPS indeks	Indeks zagađenja, temeljen na vrijednostima osjetljivosti i relativnim abundancijama indikatorskih svojti
Slovenija	R-M1 R-M2 R-M5	Trofički indeks (TI); Saproben Indeks (SI)	Trofički indeks temeljen je na vrijednostima za osjetljivost na hranjive tvari i abundancijama indikatorskih svojti dijatomeja; Saproben indeks temeljen je na vrijednostima saprobnosti (tolerantnosti i osjetljivosti) indikatorskih svojti dijatomeja
Španjolska	R-M1 R-M2 R-M4 R-M5	IPS indeks; DIATome Multimetric Illes Balears indeks (DIATMIB)	IPS je indeks zagađenja, temeljen na vrijednostima osjetljivosti i relativnim abundancijama indikatorskih svojti; DIATMIB je multimetrijski indeks temeljen na vrijednostima osjetljivosti i abundanciji indikatorskih svojti dijatomeja

**Literatura:**

- CEMAGREF, 1982. Etude des méthodes biologiques d'appréciation quantitative de la qualité des eaux. Rapport QE Lyon Bassin Rhône-Méditerranée-Corse.
- Delgado C, Pardo I & García L (2012). Diatom communities as indicators of ecological status in Mediterranean temporary streams (Balearic Islands, Spain). Ecological Indicators 15:131–139.
- Kelly, M., Bennett, C., Coste, M., Delgado, C., Delmas, F., Denys, L., Ector, L., Fauville, C., Ferréol, M., Golub, M., Jarlman, A., Kahlert, M., Lucey, J., Ní Chatháin, B., Pardo, I., Pfister, P., Picinska-Faltynowicz, J., Rosebery, J., Schranz, C., Schaumburg, J., van Dam, H., Vilbaste, S. (2009). A comparison of national approaches to setting ecological status boundaries in phytobenthos assessment for the European Water Framework Directive: results of an intercalibration exercise. Hydrobiologia 621:169–82.
- Mancini L, Sollazzo C. (Ed.). Metodo per la valutazione dello stato ecologico delle acque correnti: comunità diatomiche. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2009. (Rapporti ISTISAN 09/19).
- Rott E., P. Pfister, H. Van Dam, E. Pipp, K. Pall, N. Binder, K. Ortler (1999). Indikationslisten für Aufwuchsalgen. Teil 2: Trophieindikation sowie geochemische Präferenz, taxonomische und toxikologische Anmerkungen. Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Wien, 248 pp.
- WFD Intercalibration Phase 2: Milestone 6 report. Rivers / Mediterranean GIG / Phytobenthos (2012). European Commission Directorate General, JRC, Institute of Environment and Sustainability, JRC, 42 pp.

### 1.3.Biološki element: Makrofita

Završeni interkalibracijski postupak za ocjenu ekološkog stanja rijeka na temelju makrofita uključio je sedam zemalja, odnosno dvije metode ocjene sa sličnim načinom prikupljanja podataka i sličnim konceptom ocjene u Mediteranskom geografskom području (Tablica 2.5). Prva metoda je *Macrophyte Biologocal Indeks for Rivers* (IBMR) koja je originalno razvijena u Francuskoj (Haury et al. 2006), no široko je prihvaćena u Sredozemlju, tako da se uz Francusku koristi na Cipru, u Grčkoj, Italiji, Portugalu i Španjolskoj. Druga metoda je *River Macrophyte Indeks* (RMI) koji se koristi u Sloveniji (Kuhar et al. 2010). Kasnije je u postupak usklađenja uključen i *Reference Index* koji se koristi u Bugarskoj (Pall et al. 2016)

Tablica 1.3.1. Opis interkalibriranih metoda koje koriste makrofita za ocjenu stanja tekućica korištenih u zemljama članicama Mediteranskog geografskog područja (Med GIG).

DRŽAVA	NACIONALNE METODE	METRIKE
Cipar Francuska Grčka Italija Portugal Španjolska	<i>Macrophyte Biologocal Indeks for Rivers</i> (IBMR)	Ponderirani prosjek abundancija indikatorskih vrsta
	Interkalibracijski tipovi: <b>R-M1, R-M2</b>	
Slovenija	<i>River Macrophyte Index</i> (RMI)	Ponderirani prosjek abundancija indikatorskih vrsta
	Interkalibracijski tipovi: <b>R-M1, R-M2</b>	
Bugarska	<i>Reference index</i> (RI)	Ponderirani prosjek abundancija indikatorskih vrsta
	Interkalibracijski tipovi: <b>R-M1, R-M2</b>	

**Literatura:**

Haury, J., Peltre, M.-C., Trémolières, M., Barbe, J., Thiébaut, G., Berbez, I., Daniel, H., Chatenet, P., Haan-Archipof, G., Muller, S., Dutartre, A., Laplace-Treyture, C., Cazaubon, A., Lambert-Servien, E., 2006: A new method to assess water trophy and organic pollution – the Macrophyte Biological Index for Rivers (IBMR): its application to different types of river and pollution. *Hydrobiologia* 570: 153-158.

Kuhar, U., Germ, M., Gaberščik, A., Urbanič, G., 2010: Development of a River Macrophyte Index (RMI) for assessing river ecological status. *Limnologica* 41: 235-243.

Pall, K., Gecheva, G., Todorov, E., 2016: Bulgaria – Report on fitting a classification method to the results of the completed intercalibration of Med GIG (R-M1 and R-M2). Ministry of Environment and Water, Bulgaria & Consortium DICON – UBA, Sofia – Vienna.

## 2. Pregled opterećenja koji su uzrokom nepostizanja dobrog stanja vodnih tijela rijeka u MED GIG

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 svojstvi, 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 promjene 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 rekreativske svrhe. U tablici 3.1. prikazan je popis opterećenja prisutan u tekućicama MED GIG-a.

**Tablica 2.1.** Popis opterećenja prisutnih u tekućicama MED GIG-a.

OPTEREĆENJE	GRČKA	FRANCUSKA	ITALIJA	ŠPANJOLSKA	CIPAR	PORUGAL	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						+		

### 3. Pregled rezultata provedenih interkalibracijskih i post-interkalibracijskih postupaka (postupaka usklađenja) u MED GIG

Okvirna direktiva o vodama Europske unije zahtijeva da se nacionalna klasifikacija dobrog ekološkog stanja uskladi s normativnim definicijama kroz interkalibracijski postupak. Neke zemlje članice Europske unije nisu interkalibrirale nacionalne klasifikacijske sustave zbog nedovoljne razvijenosti metoda u vrijeme interkalibracijskog postupka. Druge su pak unaprijedile klasifikacijske sustave, zbog čega žele revidirati prethodno interkalibrirane metode ocjene. U oba slučaja potrebno je dokazati da su metode u skladu s normativnim definicijama ODV i da su granice klasa u skladu s rezultatima završenog interkalibracijskog procesa.

Svaki pojedinačni postupak je vođen u okviru geografskih interkalibracijskih grupa i slijedio je proceduru opisanu u CIS vodiču br. 14 o interkalibracijskom postupku (Europska komisija, 2011.).

#### 3.1.Biološki element: Makrozoobentos

Službeni interkalibracijski postupak ekološkog stanja mediteranskih rijeka, na temelju biološkog elementa makrozoobentosa, završen u sklopu Med-GIG interkalibracije 2011. godine. U tome su postupku definirana 4 tipa tekućica Mediteranske Geografske Interkalibracijske Grupe (Med-GIG) te je sudjelovalo 6 zemlji članica i to su redom: Cipar, Francuska, Grčka, Italija, Portugal i Španjolska.

U svrhu usporedivosti procjene ekološkog stanja između Geografskih Interkalibracijskih Grupa te u skladu s normativnim definicijama ODV, utemeljen je ICMi (Intercalibration Commom Multimetric index). Tako je za Med-GIG metodologiju dodijeljen STAR\_ICMi, direktno usporediv s Centralnom i Nordijskom Geografskom Interkalibracijskom Grupom, ali i donekle prikladan Mediteranskoj. STAR\_ICMi uključuje 6 metrika: ASPT, Log10(sel\_EPTD), 1-GOLD, Ukupni broj porodica, Broj EPT porodica te Shannon-Wienerov indeks raznolikosti.

Italija, Cipar i Grčka koristile su STAR\_ICMi metodologiju, dok su preostale 3 države razvile nacionalne metodološke sustave, također u skladu s ODV. Francuska je koristila IBGN sustav, Španjolska IBMWP te Portugal koristi Rivers Biological Quality Assessment Method - Benthic Invertebrates. Međutim, za neke od navedenih država prvo uspostavljena interkalibracijska metodologija pokazala se nedovoljno prilagođenom i osjetljivom te se uspostavljaju nove.

Također, Španjolska po posebnom programu i pristupu izrađuje metodologiju za Balearsko otočje, donoseći INVMIB metodu, baziranu na brojnosti i taksonomskom sastavu zajednice, osjetljivosti ili toleranciji zajednice na okolišna opterećenja te bogatstvu svojti.

Francuska uslijed ograničenosti prvotne IBGN metode (na distribuciju makrozoobentosa diljem longitudinalnog gradijenta rijeke, nedovoljne informiranosti o abundanciji i raznolikosti, odgovaranja samo na organsko zagađenje, isključujući ostala opterećenja poput hidromorfološke degradacije), uspostavlja novu metodu, MultiMetric Invertebrate Indeks (I2M2).

Grčka mijenja standardiziranu STAR\_ICMi metodologiju i uspostavlja Hellen Evaluation System (HESY), uzimajući u obzir taksonomski sastav, brojnost, osjetljive svojte, raznolikost te svojte koje ukazuju na onečišćenje.

Italija nadopunjuje STAR\_ICMi s metodom osjetljivom na brojnost i indikatorsku vrijednost vodencvjetova, tzv. Mayfly Total Score (MTS). Nova metoda naziva se ISA indeks i predstavlja srednju vrijednost između STAR\_ICMi i MTS.

Nakon službenog uspostavljenog procesa Med-GIG Interkalibracije, osim izmjena metodologije i revidiranja rezultata postojećih članica, pridružuju se i nove države, Slovenija i Bugarska.

Slovenija metodologiju vrši pomoću Slovenskog saprobnog indeksa i multimetričkog sustava osjetljivog na hidromorfološku i općenitu degradaciju.

Bugarska također pripada jednom od mediteranskih interkalibracijskih tipova, što je pokazala hidromorfološka usporedba.

**Tablica 3.1. Pregled rezultata provedenih interkalibracijskih procesa.**

	Biološki element		
<b>Država članica</b>			
<b>Bugarska</b>	The Irish Biotic Index metodologija izvršena		
<b>Cipar</b>	STAR ICMI metodologija izvršena		
<b>Španjolska</b>	IBMWP metodologija izvršena		
<b>Španjolska, Balearsko otočje</b>	IBMWP metodologija izvršena s ostatom Španjolske	DIATMIB u procesu donošenja	INVMIB u procesu donošenja
<b>Francuska</b>	IBGN metodologija revidirana i izvršena		
<b>Grčka</b>	HESY metodologija revidirana i izvršena		
<b>Hrvatska</b>	Očekuje se u 2019.		
<b>Italija</b>	ISA metodologija izvršena		
<b>Malta</b>	Interkalibracijski postupak nije primjenjiv		
<b>Portugal</b>	Rivers Biological Quality Assessment Method metodologija izvršena		
<b>Slovenija</b>	Ecological status assessment system for rivers metodologija izvršena		

### 3.2.Biološki element: Fitobentos

Službeni interkalibracijski postupak ekološkog stanja sredozemnih rijeka, na temelju biološkog elementa fitobentos, završen je u sklopu MED-GIG interkalibracije u kojoj je sudjelovalo šest zemalja (Milestone 6 Report, 2012.). Pritom je definirano pet zajedničkih tipova tekućica Sredozemne geografske grupe (R-M1, R-M2, R-M3, R-M4 i R-M5). Tipovi R-M1, R-M2 i R-M4 tretirani su zajedno slijedeći iste principne tijekom postupka interkalibracije fitobentosa, dok je R-M5 tretiran odvojeno. Tip R-M3 nije interkalibriran zbog nedostatne usporedivosti metoda država članica i nedovoljnog broja referentnih točaka. U postupku je sudjelovalo šest zemalja članica: Cipar, Francuska, Italija, Portugal, Slovenija i Španjolska. Naknadno je 2016. godine u postupku uskladjenja interkalibrirana metoda za Bugarsku (Hlúbiková i sur., 2016.).

Na početku interkalibracijskog postupka zaključeno je da svih šest zemalja koristi iste ili slične metode za ocjenu ekološkog stanja koje uključuju taksonomski sastav dijatomeja na razini vrsta te vrijednosti osjetljivosti i relativnu brojnost (učestalost) vrsta. Osim toga, sve države članice za interkalibraciju su koristile uzorke epilitske zajednice, osim Slovenije koja je koristila uzorke s više tipova staništa. Uzorkovanje se u nekim slučajevima odvijalo u nekoliko sezona godišnje. Slijedom navedenog, usvojena je zajednička metrika ICMi (Intercalibration Common Multimetric index), koja se sastoji od indeksa IPS (indeks osjetljivosti na onečišćenje; Coste u CEMAGREF, 1982.) te TI (trofički indeks; Rott i sur., 1999.). Nadalje, definirani su i prihvaćeni zajednički referentni uvjeti (Milestone 6 Report, 2012.). Interkalibracija je provedena kao oblik *Case A for the fit-in procedure: „IC Option 2 using reference/benchmark sites“* (Willby i sur., 2014.) za sve zemlje prema Priručniku za interkalibraciju (*CIS Guidance Document n°30: “Procedure to fit new or updated classification methods to the results of a completed intercalibration exercise”*).

Uskladene vrijednosti granica vrlo dobro/dobro i dobro/umjерено (zajednički za tipove R-M1, R-M2 i R-M4 te odvojeno za tip R-M5) interkalibrirane su koristeći prosjeke granica za vrste unutar svake države članice, a zatim izračunavanjem zajedničke srednje vrijednosti uzimajući u obzir jednu granicu za svaku državu članicu. Nakon provedenog interkalibracijskog postupka sve zemlje su zadržale postojeće metode uz podešavanje granica klasa s obzirom na dobivene interkalibracijske rezultate ukoliko je odstupanje bilo veće od 25 %.

Bugarska metoda, koja je koristila metriku IPS, uskladena je naknadno slijedeći *Case A for the fit-in procedure: „IC Option 2 using reference/benchmark sites“* (Hlúbiková i sur., 2016.).

Literatura:

CEMAGREF, 1982. Etude des méthodes biologiques d'appréciation quantitative de la qualité des eaux. Rapport QE Lyon Bassin Rhône-Méditerranée-Corse.

Hlúbková D., Isheva T., Wolfram G., Donabaum K., Todorov E., Todorov D. (2016) Report on fitting a new classification method to the results of the completed intercalibration of the MED GIG (R-M1 and R-M2). BQE: Phytobenthos. Version: 2.2 (Revised)

Rott E., P. Pfister, H. Van Dam, E. Pipp, K. Pall, N. Binder, K. Ortler (1999). Indikationslisten für Aufwuchsalgen. Teil 2: Trophieindikation sowie geochemische Präferenz, taxonomische und toxikologische Anmerkungen. Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Wien, 248 pp.

WFD Intercalibration Phase 2: Milestone 6 report. Rivers / Mediterranean GIG / Phytobenthos (2012). European Commission Directorate General, JRC, Institute of Environment and Sustainability, JRC, 42 pp.

Willby, N., S. Birk, S. Poikane & W. van de Bund 2014. Water Framework Directive Intercalibration Manual – Procedure to fit new or updated classification methods to the results of a completed intercalibration. JRC Technical Report, Luxembourg, Ispra.

### 3.3.Biološki element: Makrofita

Službeni interkalibracijski postupak ekološkog stanja sredozemnih rijeka, na temelju biološkog elementa makrofita, završen je u sklopu MED GIG interkalibracije u kojoj je sudjelovalo sedam zemalja (Aguiar et al. 2013). Pritom su definirana dva zajednička tipa tekućica Sredozemne geografske grupe (R-M1 i R-M2) na kojima je moguće provesti zajednički interkalibracijski postupak. U tome je sudjelovalo sedam zemalja članica: Cipar, Francuska, Grčka, Italija, Portugal, Slovenija i Španjolska. Naknadno je 2016. godine u postupku usklađenja interkalibrirana metoda za Bugarsku (Pall et al. 2016). Na početku interkalibracijskog postupka zaključeno je da šest od sedam zemalja koristi istu metodu za ocjenu ekološkog stanja na temelju makrofita (IBMR), te je ona prihvaćena kao zajednička metrika. Nadalje, definirani su i prihvaćeni zajednički referentni uvjeti (Feio et al. 2014). S obzirom da sve zemlje osim Slovenije koriste isti indeks, interkalibracija je provedena kao kombinacija Opcije 1 (za sve zemlje koje koriste IBMR) i prilagođene Opcije 3 (za Sloveniju) prema Priručniku za interkalibraciju (*CIS Guidance Document n°30: "Procedure to fit new or updated classification methods to the results of a completed intercalibration exercise"*). S obzirom da su usklađene vrijednosti granica vrlo dobro/dobro i dobro/umjерено interkalibrirane prethodno koristeći Opciju 1 i *fixed benchmarks* (Aguiar et al. 2013), način interkalibracije slovenske metode odgovarao je postupku „*fit-in procedure*“. Nakon provedenog interkalibracijskog postupka sve zemlje su zadržale postojeće metode (IBMR, odnosno RMI) uz podešavanje granica klasa s obzirom na dobivene interkalibracijske rezultate ukoliko je odstupanje bilo veće od 25 %.

Bugarska metoda (RI) usklađena je naknadno sljedeći *Case A1 for the fit-in procedure: „IC Option 1 or 2 using reference/benchmark sites“* (Papp et al. 2016).

## 4. Područje istraživanja i pregled postojećih hrvatskih bioloških metoda koje se koriste za ocjenu ekološkog stanja

### TIPOLOGIJA I PODRUČJE

Hrvatski dio MED-GIG područja proteže se Dinaridskom primorskom ekoregijom, u kojoj je određeno 12 biotičkih tipova te 24 abiotička tipa rijeka. Izdvojeno je 14 abiotičkih tipova koji imaju istu veličinu sliva, nadmorsku visinu, geološku i litološku podlogu te veličinu čestica supstrata kao i zajednički interkalibracijski tipovi definirani u Odluci Europske komisije. Tih 14 abiotičkih tipova raspodijeljeni su u 9 nacionalnih biotičkih tipova. Ovih 9 biotičkih tipova pripadaju jednom od 3 interkalibracijska tipa: R-M1, R-M2 ili R-M5 (Tablica 4.1.1.).

### TERENSKI RAD

U tekućicama Dinaridske ekoregije glavnina terenskih istraživanja sukladno projektnom zadatku obavljena su u razdoblju od 9. 5. do 12. 7. 2017. za makrozoobentos i 18. 5. do 12. 10. 2017 za makrofitsku vegetaciju.

Od 22 postaje za istraživanje Makrozoobentosa uzorkovanje je obavljeno za 17 postaja. Postaje br 2. Sijaset-Kolan 30045 i br. 7. Krvar, most na cesti Motovun – Pazin (31009) jer su bile suhog korita. Postaje br 6. Mufrin, Valenti (31008), br. 13. Stara Mirna, Gradinje (31017) i br. 18. kanal Botonega, 200 m od utoka u Mirnu (31031), nismo uzorkovali radi izuzetno obilnih padalina koje su onemogućile reprezentativno uzorkovanje te ćemo ove postaje uzorkovati u sljedećem razdoblju. Na svakoj postaji zabilježeni su opći podaci o stanju vodotoka, GPS koordinate, analiziran je sastav i struktura podlage (dna), te su obavljena standardna mjerenja fizikalno-kemijskih parametara. Svaka postaja je fotografirana.

U istraživanju makrofita uzorkovanje je obavljeno na 65 postaja. Postaja, Rivina jaruga – Pavasovići (40214) nije uzorkovana iz subjektivnih razloga. Postaja Butižnica – Bulin most (40454) nije uzorkovana zbog građevinskih radova na mostu koji su trajali cijelo ljeto, a po završetku radova u jesen makrofitska vegetacija nije se stigla obnoviti, pogotovo ne u mjeri da bila reprezentativna. Nadalje, vodotoku Bokanjac – prije ulaska u tunel (40221) pristup nije bio moguć zbog karantene goveda. Na dijelu postaja nije bilo vode, često se radilo o povremenim vodotocima u kojima se voda zadržava vrlo kratko, pa se u njima ni ne razvija makrofitska vegetacija i ne mogu ući u sustav ocjene kakvoće vode na temelju makrofita, pa time ni poslužiti u postupku interkalibracije.

Na svakoj postaji zabilježeni su opći podaci o stanju vodotoka i makrofitske vegetacije, te sve ostalo što bi moglo pomoći o razumijevanju uvjetovanosti makrofitske vegetacije i njenog odgovora na kakvoću vode. Svaka postaja je i višestruko fotografirana. Popisane su sve vrste makrofita uključujući i helofite, te obalna vegetacija ukoliko je važna za razumijevanje stanje vodotoka i geneze makrofitske vegetacije. Sve vrste koje se nisu mogle odrediti na terenu su sabrane, te su, ovisno o skupini, herbarizirane ili spremljene u konzervans radi naknadne determinacije u laboratoriju. Za svaku vrstu je procijenjena abundancija prema za to propisanim skalamama.

U tekućicama Dinaridske ekoregije dovršena su tijekom 2018. godine sva terenska istraživanja i laboratorijska istraživanja odnosno svi izlasci na teren te uzimanje uzoraka na svim postajama na kojima je uzimanje uzoraka bilo moguće za makrozoobentos i za makrofitsku vegetaciju. Za obje komponente obavljen je i sav laboratorijski posao pročišćavanja i odvajanja uzorka te taksonomska analiza svojstva zajednica makrozoobentosa i makrofita, a za makrozoobentos su svi podaci unijeti u bazu podataka.

Od 22 postaje za istraživanje Makrozoobentosa, uzorkovanje je obavljeno za 21 postaju. Postaje koje u prethodnom razdoblju tijekom 2017. godine nisu uzorkovane ponovo su posjećene tijekom 2018. godine. Na postaji br. 2 Sijaset-Kolan 30045 je i u 2018. godini utvrđeno potpuno isušivanje. Preostale

postaje koje nisu bile uzorkovane u proteklom razdoblju (br. 7. Krvar, most na cesti Motovun – Pazin (31009), br 6. Mufrin, Valenti (31008), br. 13. Stara Mirna, Gradinje (31017) i br. 18. kanal Botonega, 200 m od utoka u Mirnu (31031) uzorkovali smo u proljeće 2018. godine. Na svakoj postaji zabilježeni su opći podaci o stanju vodotoka, GPS koordinate, analiziran je sastav i struktura podloge (dna), te su obavljena standardna mjerenja fizikalno-kemijskih parametara. Svaka postaja je fotografirana. Svi izuzeti uzorci su laboratorijski obrađeni u dvije etape sukladno projektnom zadatku. Sva fauna je izuzeta i odvojena od ostalog materijala u postupku separacije uzoraka. Sva, na ovaj način izdvojena fauna je taksonomski određena do odgovarajuće razine. Svi podaci o biocenotičkom sastavu zajednice makrozoobentosa su sukladno projektnom zadatku uneseni u tablice (MS excel). Radi opsega, a u svrhu racionalizacije tiska, tablicu utvrđenih svojta po interkalibracijskoj postaji za ovo privremeno izvješće šaljem zasebno elektroničkom poštom.

Tijekom vegetacijske sezone 2017. u dinaridskoj ekoregiji makrofita su uzorkovani na 60 postaja od predviđenih 68. Na tri postaje uzorkovanje nije obavljeno zbog specifičnih situacija na terenu, a na njih pet se ne razvija makrofitska vegetacija zbog kratkog zadržavanja vode.

Jedna postaja, Rivina jaruga – Pavasovići (40214) nije uzorkovana iz subjektivnih razloga. Postaja Butičnica – Bulin most (40454) nije uzorkovana zbog građevinskih radova na mostu koji su trajali cijelo ljeto, a po završetku radova u jesen makrofitska vegetacija nije se stigla obnoviti, pogotovo ne u mjeri da bila reprezentativna. Nadalje, vodotoku Bokanjac – prije ulaska u tunel (40221) pristup nije bio moguć zbog karantene goveda.

Na dijelu postaja (Sijaset-Kolan, Sv. Križ (30045), Krvar, most na cesti Motovun – Pazin (31009), Pritok Cetine uzvodno od Vinalića (40140), Suvova, Donje Postinje (40426), Vrba, nizvodno od Keruma (40433)) nije bilo vode, često se radilo o povremenim vodotocima u kojima se voda zadržava vrlo kratko, pa se u njima ni ne razvija makrofitska vegetacija i ne mogu ući u sustav ocjene kakvoće vode na temelju makrofita, pa time ni poslužiti u postupku interkalibracije.

Na 30 postaja gdje su uzorci uzeti nije bila potrebna dodatna separacija uzoraka radi ili slabo razvijenih ili male količine makrofita ili obilježja vegetacije koja ne ulazi neposredno u postupak ocjenjivanja (helofiti).

Na svakoj postaji uzorkovane su sve vrste makrofita potrebnih za ocjenu, ali i helofiti zbog potpunijeg uvida u vegetaciju i razumijevanja ekoloških odnosa i mogućih poremećaja. Uzorkovanje je obavljeno na odsječku obale od minimalno 50 m koji je po potrebi produživan dok se nije zaustavio prirast novih vrsta. Abundancija je procijenjena korištenjem devetstupanjske proširene Braun-Blanquet skale te petostupanjske skale po Kohleru. Granice istraživane plohe određene su krajnjim pojavljivanjem makrofita prema sredini rijeke. Sve vrste koje se nisu mogle odrediti na terenu sakupljene kao herbarski primjerici (većina vaskularnih biljaka i mahovina) ili kao mokri preparati (uskolisni mrijesnjaci, parožine i ostale makroalge). Nakon determinacija podaci su organizirani u tablice i pripremljeni za izračun makrofitskog indeksa, odnosno za određivanje omjera ekološke kakvoće.

**Tablica 4.1.** Pregled postaja na kojima su uzeti uzorci tijekom projektnog razdoblja. \* označava postaje na kojima nije bilo moguće uzeti adekvatne uzorke makrozoobentosa.

R. BR.	ŠIFRA	MJERNA POSTAJA
1	14006	Una, kod izvorišta Loskun
*2	30045	Sijaset-Kolan, Sv. Križ
3	30081	Dubračina, Crikvenica (igralište)
4	30082	Suha Novljanska Ričina, 1 km užvodno od ušća
5	30084	Suha Ričina Bašćanska, poslije Jurandvora
6	31008	Mufrin, Valenti
7	31009	Krvar, most na cesti Motovun - Pazin
8	31010	Mirna, Portonski most
9	31011	Mirna, Kamenita vrata
10	31013	Bračana, užvodno od ceste Buzet - Motovun
11	31014	Mala Huba, most na cesti Buzet - Motovun
12	31016	Obuhvatni kanal Srednja Mirna
13	31017	Stara Mirna, Gradinje
14	31018	Draga Baredine, most Štuparija
15	31021	Raša, most Potpićan
16	31024	Raša, most Mutvica
17	31025	Obuhvatni kanal Krpanj, most u naselju Raša
18	31031	kanal Botonega, 200 m od utoka u Mirnu
19	31040	Dragonja, ušće, kod Kaštela
20	31070	Pazinčica, Dubravica
21	31071	Pazinčica, ponor
22	31082	Boljunčica, nizvodno od mjesta Brus

**Tablica 4.2.** Pregled postaja na kojima su uzeti uzorci tijekom projektnog razdoblja. \* označava postaje na kojima nije bilo moguće uzeti adekvatne uzorke makrofita.

R. BR.	ŠIFRA	MJERNA POSTAJA
1	14006	Una, kod izvorišta Loskun
2	14007	Una, nizvodno od D. Kraja
3	30045	Sijaset-Kolan, Sv. Križ
4	30081	Dubračina, Crikvenica (igralište)
5	30082	Suha Novljanska Ričina, 1 km uzvodno ot ušća
6	30084	Suha Ričina Bašćanska, poslije Jurandvora
7	31008	Mufrin, Valenti
8	31009	Krvar, most na cesti Motovun - Pazin
9	31010	Mirna, Portonski most
10	31011	Mirna, Kamenita vrata
11	31013	Bračana, uzvodno od ceste Buzet - Motovun
12	31014	Mala Huba, most na cesti Buzet - Motovun
13	31016	Obuhvatni kanal Srednja Mirna
14	31017	Stara Mirna, Gradinje
15	31018	Draga Baredine, most Štuparija
16	31021	Raša, most Potpićan
17	31023	Mirna, Dionizijev most
18	31024	Raša, most Mutvica
19	31025	Obuhvatni kanal Krpanj, most u naselju Raša
20	31031	kanal Botonega, 200 m od utoka u Mirnu
21	31070	Pazinčica, Dubravica
22	31071	Pazinčica, ponor
23	31082	Boljunčica, nizvodno od mjesta Brus
24	40102	Cetina, Vinalić
25	40104	Cetina, Barišići
26	40106	Potok Rumin (pritok Cetine)
27	40108	Vojskova (pritok Cetine), Čitluk
28	40140	Pritok Cetine uzvodno od Vinalića
29	40141	Zduški potok, prije utoka u Cetinu
30	40142	Gornji kanal, pritok Cetine kod Trilja
31	40143	Donji kanal, pritok Cetine kod Trilja
32	40198	Kobilica (pritok Zrmanje), Kusac
33	40199	Zrmanja, most na cesti Kostići-Vukmirice
34	40200	Zrmanja, Butiga
35	40203	Zrmanja, ispod brane Muškovci
36	40204	Zrmanja, Berberov Buk
37	40205	Zrmanja, Palanka
38	40208	Zrmanja, Žegar

R. BR.	ŠIFRA	MJERNA POSTAJA
39	40209	Zrmanja, uzvodno od Obrovca
40	40211	Jaruga, Ražanac
41	40213	Krupa, Manastir
*42	40214	Rivina Jaruga, Pavasovići
43	40218	Krupa, u selu Mandići, 300 m nizvodno od izvorišta
44	40220	Jaruga/Mijanovac, Zvjerinac
*45	40221	Vodotok Bokanjac, prije ulaska u tunel
46	40313	Bašćica, Posedarje
47	40315	Jaruga, Benkovac
48	40318	Bašćica, uzvodno od Posedarja
49	40319	Macavarina Draga
50	40416	Krka, nizvodno od Knina
51	40426	Suvova, Donje Postinje
52	40427	Guduća, most na cesti Čista mala – Lađevci
53	40428	Bribišnica, Sv. Petar
54	40429	Vrba, kod mjesta Vrba
55	40430	Orašnica, prije utoka u Krku
56	40431	Orašnica, Kninsko polje
57	40432	Vrba, Ojdanići
58	40433	Vrba, nizvodno od Keruma
59	40441	Krka, Marasovine
60	40442	Krka, uzvodno od Knina
61	40443	Izvor Krke (pritok Une), granični prijelaz
62	40453	Butižnica, HE Golubić
63	40454	Butižnica, Bulin most
*64	40507	Šipovača, Jelavića most
65	40515	Norin, Vid
66	40516	Norino, utok Kula Norinska, Romići
67	40701	Ombla, izvorište
68	40702	Taranta, uzvodno od Srebrenog

#### 4.1. Biološki element: Makrozoobentos

Direktiva 2000/60/EZ Europskog parlamenta i Vijeća od 23. listopada 2000. o uspostavi okvira za djelovanje Zajednice u području vodne politike (Okvirna direktiva o vodama) (SL L 327, 22. 12. 2000.) donijela je novi pristup u ocjenjivanju stanja voda koji se temelji na činjenici da različiti tipovi voda imaju različite ekološke karakteristike. Iz tog razloga uvedena je tipizacija površinskih voda kojoj je glavna svrha definiranje referentnih uvjeta specifičnih za određene tipove površinskih voda i predstavlja temelj klasifikacije ekološkog stanja voda. Jedan od bioloških elemenata nužnih za procjenu ekološkog stanja podrazumijeva zajednicu bentičkih makrobeskralješnjaka.

**Tablica 4.1.1.** Zajednički interkalibracijski i hrvatski abiotički tipovi rijeka u MED GIG

NAZIV TIPA	ABIOTIČKI TIP	BIOTIČKI TIP	NOVI BIOTIČKI TIP	INTER- KALIBRACIJSKI TIP
<b>DINARIDSKA PRIMORSKA EKOREGIJA</b>				
<b>11. NIZINSKE I PRIGORSKE MALE TEKUĆICE</b>				
<b>11.a. vapnenačka podloga</b>				
<i>Prigorske male tekućice u vapnenačkoj podlozi</i>	16B	HR-R_11	HR-R_11A	R-M1
<i>Nizinske male tekućice u vapnenačkoj podlozi</i>	17B	HR-R_11	HR-R_11A	R-M1
<b>11.b. vapnenačko-silikatna podloga</b>				
<i>Prigorske male tekućice u vapnenačko-silikatnoj podlozi</i>	16C	HR-R_11	HR-R_11B	
<b>12. PRIGORSKE SREDNJE VELIKE I VELIKE TEKUĆICE</b>				
<i>Prigorske srednje velike tekućice u vapnenačkoj podlozi</i>	18B	HR-R_12	HR-R_12	R-M2
<i>Prigorske velike tekućice u vapnenačkoj podlozi</i>	20B	HR-R_12	HR-R_12	R-M2
<b>13. NIZINSKE SREDNJE VELIKE I VELIKE TEKUĆICE</b>				
<i>Nizinske srednje velike tekućice u vapnenačkoj podlozi</i>	19B	HR-R_13	HR-R_13	R-M2
<i>Nizinske velike tekućice vapnenačkoj podlozi</i>	21B	HR-R_13	HR-R_13	R-M2
<b>13.a. s baražnim ujezerenjem</b>				
<i>Nizinske velike tekućice u vapnenačkoj podlozi s baražnim ujezerenjem</i>	21B7	HR-R_13A	HR-R_13A	R-M2
<b>14. NIZINSKE TEKUĆICE KRATKIH TOKOVA S PADOM &gt;5 %</b>				
<b>14.a. male</b>				
<i>Nizinske male tekućice u vapnenačkoj podlozi s padom &gt; 5 %</i>	17B5	HR-R_14	HR-R_14A	R-M1
<b>14. b. srednje velike, vapnenačka podloga</b>				
<i>Nizinske srednje velike tekućice u vapnenačkoj podlozi s padom &gt; 5 %</i>	19B5	HR-R_14	HR-R_14B	R-M2
<b>14. c. srednje velike, vapnenačko-silikatna podloga</b>				
<i>Nizinske srednje velike tekućice u vapnenačko-silikatnoj podlozi s padom &gt; 5 %</i>	19C5	HR-R_14	HR-R_14C	
<b>15. MALE I SREDNJE VELIKE TEKUĆICE KRŠKIH POLJA</b>				
<b>15.a. male</b>				
<i>Prigorske male tekućice krških polja u vapnenačkoj podlozi</i>	16B4	HR-R_15B	HR-R_15A	R-M1
<i>Nizinske male tekućice krških polja u vapnenačkoj podlozi</i>	17B4	HR-R_15A	HR-R_15A	R-M1
<b>15.b. srednje velike</b>				
<i>Prigorske srednje velike tekućice krških polja u vapnenačkoj podlozi</i>	18B4	HR-R_15B	HR-R_15B	R-M2
<i>Nizinske srednje velike tekućice krških polja u vapnenačkoj podlozi</i>	19B4	HR-R_15A	HR-R_15B	R-M2
<b>16.POVRMENE TEKUĆICE</b>				
<b>16.a. prigorske male i srednje velike</b>				
<i>Prigorske male povremene tekućice u vapnenačkoj podlozi</i>	16B6	HR-R_16A	HR-R_16A	R-M5
<i>Prigorske male povremene tekućice u vapnenačko-silikatnoj podlozi</i>	16C6	HR-R_16A	HR-R_16A	R-M5

NAZIV TIPA	ABIOTIČKI TIP	BIOTIČKI TIP	NOVI BIOTIČKI TIP	INTER- KALIBRACIJSKI TIP
<b>DINARIDSKA PRIMORSKA EKOREGIJA</b>				
<i>Prigorske srednje velike povremene tekućice u vapnenačkoj podlozi</i>	18B6	HR-R_16A	HR-R_16A	R-M5
<b>16.b. nizinske</b>				
<i>Nizinske male povremene tekućice u vapnenačkoj podlozi</i>	17B6	HR-R_16B	HR-R_16B	R-M5
<i>Nizinske male povremene tekućice u silikatno-vapnenačkoj podlozi</i>	17C6	HR-R_16B	HR-R_16B	R-M5
<b>DINARIDSKA PRIMORSKA EKOREGIJA - ISTRA</b>				
<b>17.NIZINSKE I PRIGORSKE MALE TEKUĆICE ISTRE</b>				
<i>Prigorske male tekućice u vapnenačko-flišnoj podlozi Istre</i>	22C	HR-R_17	HR-R_17	R-M1
<i>Nizinske izvorišne male tekućice u vapnenačko-flišnoj podlozi Istre</i>	23C	HR-R_17	HR-R_17	R-M1
<b>18.NIZINSKE SREDNJE VELIKE TEKUĆICE ISTRE</b>				
<i>Nizinske srednje velike u vapnenačko-flišnoj podlozi Istre</i>	24C	HR-R_18	HR-R_18	R-M2
<b>19.POVRMENE TEKUĆICE ISTRE</b>				
<i>Povremene nizinske male tekućice u vapnenačko-flišnoj podlozi Istre</i>	23C6	HR-R_19	HR-R_19	R-M5

#### METODOLOGIJA UZORKOVANJA

Metodologija uzorkovanja ista je za sve tipove tekućica, za oba GIG-a.

##### Vrijeme uzorkovanja

Najpovoljnije vrijeme uzorkovanja za velike i vrlo velike rijeke je ljetno-ranojesensko razdoblje (srpanj-rujan), kada većina hrvatskih rijeka ima nizak vodostaj. 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 izljetanja 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.

##### Način uzorkovanja

Uzorkovanje se vrši pomoću Surberove mreže, s porama dimenzije 500 µm i veličinom uzorkovane površine od 0,0625 m<sup>2</sup>. Uzorkuju se sva raspoloživa mikrostaništa (eng. „multi-habitat sampling“) na mjernoj postaji, pri čemu se prikuplja 20 poduzoraka raspoređenih razmjerno udjelu mikrostanišnih tipova. Zbroj 20 poduzoraka predstavlja kompozitni uzorak s uzorkovane površine od 1,25 m<sup>2</sup>. Uzorci su fiksirani 96 %-tним alkoholom i potom analizirani i identificirani u laboratoriju, pomoću lupe. Kod većih uzoraka s gušćim zajednicama, uzimani su poduzorci. Determinacija se izvršavala do najniže moguće taksonomske razine.

#### PROCJENA EKOLOŠKOG STANJA

Za procjenu ekološkog stanja, razmatrana su dva modula: modul opće degradacije i modul saprobnosti. Ovisno o biotičkim tipovima rijeka, ovi su moduli podrazumijevali omjere ekološke kakvoće različitih metrika.

Općenito, modul saprobnosti ukazuje na opterećenje tekućica organskim tvarima te uzima u obzir sljedeće metrike: Ukupan broj svojti (UBS), Udio oligosaprobnih indikatora (OSI %), BMWWP bodovni indeks (BMWWP), Prošireni biotički indeks (PBI) te Hrvatski saprobni indeks (SIHR). Hrvatski saprobni

indeks je omjer zbroja indikatorske vrijednosti pojedine vrste sa zbrojem jedinki preračunatih po metru kvadratnom.

Modul opće degradacije ukazuje na ukupne antropogene promjene i uključuje ove metrike: Shannon-Wiener indeks raznolikosti (H), Ritron indeks (RI), Udio svojtvi koje preferiraju šljunak, litoral i pjeskoviti tip supstrata Akal+Lit+Psa (ALP%), Udio pobirača/sakupljača (P/S%), Indeks biocenotičkog podučja (IBR), Broj svojtvi Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera (EPT-S), Udio predstavnika skupina Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera u makrozoobentosu (EPT%), Broj porodica (BP) i Udio Oligochaeta u makrozoobentosu (OLI %).

U nastavku teksta nalaze se formule izračuna po hrvatskog metodologiji za sve biotičke tipove koji su svrstani u zajedničke interkalibracijske tipove.

## MED GIG

HR-R\_11 (R-M1)

$$Sapr. = \frac{OEK_{UBS} + OEK_{SIHR} + OEK_{BMW} + OEK_{PBI}}{4}$$

$$OpDeg. = \frac{OEK_H + OEK_{RI} + OEK_{ALP\%} + OEK_{EPT-S} + OEK_{IBR}}{5}$$

HR-R\_12 (R-M2)

$$Sapr. = \frac{OEK_{UBS} + OEK_{SIHR} + OEK_{BMW} + OEK_{PBI}}{4}$$

$$OpDeg. = \frac{OEK_H + OEK_{RI} + OEK_{ALP\%} + OEK_{\frac{P}{S}\%} + OEK_{EPT-S}}{5}$$

HR-R\_13 (R-M2)

$$Sapr. = \frac{OEK_{UBS} + OEK_{OSI\%} + OEK_{SIHR} + OEK_{BMW} + OEK_{PBI}}{5}$$

$$OpDeg. = \frac{OEK_H + OEK_{RI} + OEK_{\frac{P}{S}\%} + OEK_{EPT-S} + OEK_{IBR}}{5}$$

HR-R\_14 (R-M1)

$$Sapr. = \frac{OEK_{UBS} + OEK_{SIHR} + OEK_{BMW} + OEK_{PBI}}{4}$$

$$OpDeg. = \frac{OEK_H + OEK_{RI} + OEK_{\frac{P}{S}\%} + OEK_{EPT\%} + OEK_{EPT-S} + OEK_{IBR}}{6}$$

HR-R\_16A (R-M5)

$$Sapr. = \frac{OEK_{UBS} + OEK_{SIHR} + OEK_{BMW}}{3}$$

$$OpDeg. = \frac{OEK_{EPT\%} + OEK_{EPT-S}}{2}$$

HR-R\_16B (R-M5)

$$Sapr. = \frac{OEK_{UBS} + OEK_{SIHR} + OEK_{BMW P}}{3}$$

$$OpDeg. = \frac{OEK_{EPT\%} + OEK_{EPT-S}}{2}$$

HR-R\_17 (R-M1)

$$Sapr. = \frac{OEK_{UBS} + OEK_{SIHR} + OEK_{BMW P} + OEK_{PBI}}{4}$$

$$OpDeg. = \frac{OEK_H + OEK_{RI} + OEK_{ALP\%} + OEK_{\frac{P}{S}\%} + OEK_{EPT\%} + OEK_{EPT-S} + OEK_{IBR}}{7}$$

HR-R\_18 (R-M2)

$$Sapr. = \frac{OEK_{UBS} + OEK_{OSI\%} + OEK_{SIHR} + OEK_{BMW P} + OEK_{PBI}}{5}$$

$$OpDeg. = \frac{OEK_H + OEK_{\frac{P}{S}\%} + OEK_{EPT-S} + OEK_{IBR}}{4}$$

HR-R\_19 (R-M5)

$$Sapr. = \frac{OEK_{SIHR} + OEK_{BMW P} + OEK_{PBI}}{3}$$

$$OpDeg. = OEK_{IBR}$$

## 4.2. Biološki element: Fitobentos

Fitobentos se kao element kakvoće u ocjeni ekološkog stanja koristi iz nekoliko razloga: lako ga je uzorkovati, predvidljivo reagira na promjene kakvoće vode jer objedinjuje taksonomske vrlo raznolike skupine unutar vodenih zajednica. Fitobentos, ima kratko generacijsko vrijeme u trajanju od nekoliko sati do nekoliko dana što ga čini skupinom koja prva reagira na promjene u okolišu. Fitobentoske alge su dominantna komponenta obraštaja (perifitona), a s obzirom da su pričvršćene za supstrat, zajednica u sebi objedinjuje fizikalna i kemijska svojstva tekućice. 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). Alge kremenjašice ili dijatomeje dobri su indikatori kakvoće vode s obzirom da su ubikvisti i obitavaju u svim vrstama biotopa te je razvijen sustav metoda ocjene koji se temelji na saprobnom i trofičkom sustavu i autokologiji. Metode ocjene ekološkog stanja su specifične za određene tipove tekućica, što znači da su granice kategorija za pojedino ekološko stanje ovisne o tipu tekućice.

### UZORKOVANJE

#### *Vrijeme uzorkovanja*

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.

#### *Mjesto uzorkovanja*

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 odsjećima različite dužine:

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

#### *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 kamenom 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 protokol prema skali u Tablici 4.2.1. Također, morfološki različit obraštaj ili makroskopske nakupine algi potrebno je sakupiti u zasebne bočice i zasebno analizirati pod mikroskopom.

**Tablica 4.2.1.** Skala za procjenu pokrovnosti (terenske brojnosti) algi prema normi HRN EN 15708:2010.

Ocjena pokrovnosti (terenska brojnost)	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 4.2.2.** Postupci uzorkovanja fitobentosa (dijatomejskog i nedijatomejskog uzorka) s pojedinih vrsta supstrata

Tip supstrata	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 bilja, lisne plojke	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

Tip supstrata	Postupak uzorkovanja				
Mekani sediment: pijesak, mulj, fini organski materijal, glina	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 ispuni cijeli volumen unutrašnjeg dijela posude/Petrijeve zdjelice <i>Napomena: Ako voda ne teče brzo, moguće je gornji dio sedimenta uzeti žličicom</i>			
	2	Lagano podvući metalnu ili plastičnu pločicu (površine veće od promjera zdjelice) pod posudu ispunjenu sedimentom			
	3	Sabrani sediment u cijelosti prenijeti u staklenu čašu te dodati po potrebi destilirane vode. Uzorak dobro protresti i kratko sedimentirati. Supernatant dekanrirati i pohraniti u pravilno označenu bočicu			
	4	Postupak ispiranja sedimenta destiliranom vodom i dekaniranja supernatanta ponoviti 4 puta			
	5	Fiksirati uzorak			

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

- a) Dijatomejski uzorci – konzervirati sa 70%-tним etilnim alkoholom neovisno o vremenu skladištenja;
- b) Nedijatomejski 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.

#### *Laboratorijska obrada uzorka*

#### *Čišćenje dijatomejskog uzorka i izrada trajnih preparata*

Za precizno određivanje dijatomeja potrebno je pripremiti trajne preparate.

*Ispiranje uzorka* - trajni preparati dijatomeja izrađuju se iz živog ili konzerviranog materijala. Ukoliko se za izradu preparata koristi konzervirani materijal, radi uklanjanja formaldehida, uzorci se ispiru destiliranom vodom. Ispiranje se provodi na sljedeći način: u uzorak se doda toliko destilirane vode koliki je volumen uzorka. Razrijeđena se suspenzija protrese i ostavi da se materijal sedimentira tijekom najmanje 6 do 8 sati ili se centrifugira 2 minute na 2 000 okretaja. Postupak se ponavlja 4 puta. Nakon svakog sedimentiranja, vrlo pažljivo se otkloni supernatant (dekaniranjem pomoću staklenog štapića ili aspiriranjem pomoću vakuum sisaljke) pazеći da se uzorak ne zamuti. Kod pripreme trajnih preparata iz živog materijala ispiranje destiliranom vodom nije potrebno.

*Uklanjanje karbonata iz uzorka* - da bi se iz materijala uklonio kalcijev ili magnezijev karbonat uzorku se dodaje u jednakom volumenu 25%-tna klorovodična kiselina. Uzorak se kuha oko 30 minuta na 200°C. Nakon završene reakcije (pjenjenje uzorka) kalcijevog ili magnezijevog karbonata i klorovodične kiseline uzorak se ponovno ispire destiliranom vodom prema prethodno opisanom postupku koji se ponavlja 4 puta. Ukoliko je uzorak sakupljen u vodotoku s niskom koncentracijom karbonatnih iona, dodavanje klorovodične kiseline nije potrebno.

*Uklanjanje organske tvari iz uzorka* - provodi se u epruvetama s debelim dnom dodavanjem 96% sumporne kiseline u dvostrukom omjeru u odnosu na talog (uzorak). Smjesa uzorka i kiseline pažljivo se zagrijava na plinskom plameniku do pojave bijelih para, kada se uzorak zacrni. Uzorak se potom malo ohladi, doda se H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (2 mL ili više, ovisi o uzorku), pa se opet zagrijava. Ukoliko u uzorku ima malo organske tvari smjesa se sama obezboji, a ukoliko ima puno organske tvari smjesa ostaje crna te se uzorku doda još H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> koji će smjesu obezbojiti. Obezbojeni se uzorak ponovo ispire destiliranom vodom prema prethodno opisanom postupku, koji se ponavlja 8 puta.

#### *Mikroskopiranje, determinacija i kvantifikacija dijatomeja*

Trajni preparati dijatomeja se mikroskopiraju svjetlosnim mikroskopom. Određivanje i brojenje vrsta obavlja se pod mikroskopom s imerzijskim objektivom pri povećanju od 1000 puta. Izbroji se 400 stanica dijatomeja (valvi, odnosno frustula) koje se determiniraju i odrede vrste. Učestalost pojedine vrste u uzorku izražava se kao postotak od 400 izbrojenih stanica u uzorku ili trajnom preparatu. Određivanje svih vrsta koje se nalaze u uzorku s relativnom zastupljeničću većom od 5% treba nastojati odrediti do razine vrste.

#### *Mikroskopiranje, determinacija i kvantifikacija nedijatomejskih skupina*

Za analizu nedijatomejskih skupina u obraštaju, uzorkom se smatra jedna bočica uzeta prema strukturi i boji obraštaja u vodotoku. U slučaju kada je supstrat uniforman moguće je uzeti samo jedan uzorak, a u slučaju obraštaja različite strukture i boje moguće je imati više uzoraka s jedne istraživane postaje.

Iz uzorka se pomoću kapalice uzme nekoliko kapi za reprezentativan poduzorak i stavi na predmetno stakalce te pokrije pokrovnicom. Takav poduzorak se mikroskopira na srednjem povećanju od 400x pri čemu se zabilježe sve utvrđene alge, uključujući i dijatomeje (samo stanice s kloroplastom). Svim utvrđenim svojstvima se procijeni brojnost. Analiza je gotova kada su pregledana tri reprezentativna poduzorka iz svih sakupljenih uzoraka s jedne postaje.

**Tablica 4.2.3.** Opisna skala za određivanje relativne brojnosti algi u mikroskopiranom preparatu prema normi HRN EN 15708:2010.

Relativna brojnost	Opis
1	Rijetko – utvrđena jedna ili samo nekoliko stanica, cenobija ili kratkih filamenata
2	Povremeno – svojta je utvrđena nekoliko puta tijekom pregledavanja preparata, ali nikada u velikom broju
3	Često – pojedinačni predstavnici svojte su prisutni u većini vidnih polja tijekom pregledavanja preparata
4	Brojno – više od jedne stanice ili cenobija svojte su prisutni u većini vidnih polja tijekom pregledavanja preparata
5	Dominantno – najbrojniji organizam utvrđen u svim pregledanim vidnim poljima preparata

Za izračun ukupne brojnosti koja se koristi za računanje nedijatomejskog indeksa treba uključiti terensku procjenu pokrovnosti (brojnosti) algi. Time se dobije jedinstvena lista svojiti utvrđenih na istraživanoj postaji s konačnim ukupnim relativnim brojnostima (mikroskopska + terenska brojnost). Takva lista kasnije služi za računanje nedijatomejskog indeksa (NeD).

**Tablica 4.2.4.** Izračun ukupne brojnosti na temelju terenske i laboratorijske peterostupanske skale prema HRN EN 15708:2010.

A. Brojnost na terenu	B. Brojnost u laboratoriju				
	1 Rijetko	2 Povremeno	3 Često	4 Brojno	5 Dominantno
	C: Kombinirana procjena brojnosti				
1 (< 1%)	1	1	1	1	1
2 (1% do < 5%)	1	2	2	2	2
3 (5% do < 25%)	1	2	3	3	3
4 (25% do < 50%)	1	2	3	4	4
5 ( $\geq$ 50%)	1	2	3	4	5

**Tablica 4.2.5.** Opis ukupne brojnosti na temelju terenske i laboratorijske peterostupanske skale iz

Skala	Konačna ocjena brojnosti	Opis
1	Rijetko	Makroskopske nakupine algi s terenskom brojnošću 1 (pokrivaju < 1% riječnog korita). Mikroskopske alge utvrđene u makroskopskim nakupinama s terenskom brojnošću 1. Mikroskopske alge koje su tijekom laboratorijske analize utvrđene kao rijetke (laboratorijska brojnost 1) u makroskopskim nakupinama s većom terenskom brojnošću (od 2 do 5).
2	Povremeno	Makroskopske nakupine algi s terenskom brojnošću 2 (pokrivaju 1% do < 5% riječnog korita). Mikroskopske alge koje su barem povremene (laboratorijska brojnost 2 do 5) u makroskopskim nakupinama s terenskom brojnošću 2. Mikroskopske alge koje su tijekom laboratorijske analize utvrđene kao povremene (laboratorijska brojnost 2) u makroskopskim nakupinama s većom terenskom brojnošću (od 3 do 5).
3	Često	Makroskopske nakupine algi s terenskom brojnošću 3 (pokrivaju 5% do < 25% riječnog korita). Mikroskopske alge koje su barem česte (laboratorijska brojnost 3 do 5) u makroskopskim nakupinama s terenskom brojnošću 3. Mikroskopske alge koje su tijekom laboratorijske analize utvrđene kao česte (laboratorijska brojnost 3) u makroskopskim nakupinama s većom terenskom brojnošću (od 4 do 5).
4	Brojno	Makroskopske nakupine algi s terenskom brojnošću 4 (pokrivaju 25% do < 50% riječnog korita). Mikroskopske alge koje su barem brojne (laboratorijska brojnost od 4 do 5) u makroskopskim nakupinama s terenskom brojnošću 4. Mikroskopske alge koje su tijekom laboratorijske analize utvrđene kao brojne (laboratorijska brojnost 4) u makroskopskim nakupinama s većom terenskom brojnošću (5).
5	Dominantno	Makroskopske nakupine algi s terenskom brojnošću 5 (pokrivaju $\geq$ 50% riječnog korita). Dominantne mikroskopske alge (laboratorijska brojnost 5) u makroskopskim nakupinama s terenskom brojnošću 5.

## *Izračunavanje indeksa/pokazatelja za ocjenu ekološkog stanja*

### *Pokazatelji/indeksi za ocjenu ekološkog stanja na temelju fitobentosa*

Za ocjenu ekološkog stanja na temelju biološkog elementa fitobentosa potrebno je odrediti dva modula uzimajući u obzir:

- a) dijatomejske vrste algi
  - razina opterećenja hranjivim tvarima izražena kao Trofički indeks dijatomeja
  - stupanj organskog opterećenja izražen kao Indeks saprobnosti dijatomeja
- b) nedijatomejske vrste algi
  - razina opterećenja hranjivim tvarima izražena kao Nedijatomejski indeks

**Tablica 4.2.6.** Pokazatelji/indeksi i moduli za ocjenu ekološkog stanja na temelju fitobentosa

Biološki element kakvoće	Pokazatelj/indeks	Opterećenje na koje ukazuje pojedini biološki indeks	Modul
Fitobentos	Trofički indeks dijatomeja (TID <sub>HR</sub> )	Opterećenje hranjivim tvarima	Trofičnost
	Nedijatomejski indeks (NeD)	Opterećenje hranjivim tvarima	Trofičnost
	Saprobeni indeks (SI <sub>HR</sub> )	Opterećenje organskim tvarima	Saprobnost

### *Mjerna postaja za fitobentos*

Za ocjenjivanje ekološkog stanja, mjesto uzorkovanja potrebno je uvrstiti u odgovarajući tip tekućice.

#### *Određivanje trofičnosti i saprobnosti na temelju dijatomejskih algi*

Trofički indeks dijatomeja je pokazatelj koji ukazuje na opterećenje vodnog tijela hranjivim tvarima tj. na njegov stupanj trofije na osnovi zastupljenosti dijatomejskih vrsta (Rott i sur., 1999).

Indikatorske veličine za svaku dijatomejsku vrstu definirane su s obzirom na specifičnosti hrvatskih tekućica te je za svaku vrstu izračunata indikatorska vrijednost (tolerantnost) i indikatorska težina (osjetljivost).

Saprobeni indeks je pokazatelj opterećenja (saprobnosti) koji ukazuje na količinu organskih tvari u tekućici. Saprobeni indeks (Pantle i Buck, 1955.; Zelinka i Marvan, 1961.) izračunava se na temelju saprobnih indikatorskih vrijednosti (tolerantnosti) za svaku dijatomejsku vrstu uz određenu indikatorsku težinu (osjetljivost) svake vrste.

#### **Operativna lista svojti dijatomeja (OLS - TID<sub>HR</sub> i OLS - SI<sub>HR</sub>)**

Operativna lista svojti sadrži numeričke podatke o indikatorskim vrijednostima i težinama trofičkog i saprobnog indeksa za 615 vrsta dijatomeja koje se mogu naći u hrvatskim tekućicama i stajaćicama (DODATAK 2). Vrste, kojima za sada nisu dodijeljeni numerički podaci, ne uzimaju se u obzir kod izračunavanja indeksa.

## Izračunavanje Trofičkog (TID<sub>HR</sub>) i Saprobnog indeksa (SI<sub>HR</sub>) dijatomeja

Za determinirane vrste u svakom uzorku odrede se trofičke, odnosno saprobne indikatorske vrijednosti i težine prema Operativnoj listi svojtih dijatomeja za rijeke i jezera (OLS - TID<sub>HR</sub> i OLS - SI<sub>HR</sub>) navedene u DODATKU 2.

Za izračunavanje Trofičkog indeksa dijatomeja (TID<sub>HR</sub>) i Saprobnog indeksa (SI<sub>HR</sub>) koristi se modificirana jednadžba Zelinka-Marvan (1961.):

$$INDEKS = \frac{\sum_{i=1}^n A_i \times IV_i \times IT_i}{\sum_{i=1}^n A_i \times IT_i}$$

gdje je:

A<sub>i</sub> = ukupan broj stanica/valvi neke vrste u uzorku

IV<sub>i</sub> = indikatorska vrijednost (tolerantnost) pojedine vrste

IT<sub>i</sub> = indikatorska težina ('osjetljivost') pojedine vrste

Ukupan broj stanica/valvi (A<sub>i</sub>) neke vrste u uzorku predstavlja broj pojedine vrste na 400 izbrojenih dijatomeja.

### *Određivanje trofičnosti na temelju nedijatomejskih algi*

Nedijatomejski indeks (NeD) daje informaciju o prisutnosti i postotnoj zastupljenosti svih skupina algi na istraživanoj postaji s ciljem utvrđivanja postotnog udjela Cyanobacteria i Chlorophyta/Charophyta u odnosu na druge skupine u pojedinom uzorku. Naime, značajnije prisustvo posebice nekih predstavnika navedenih skupina ukazuje na povećanje stupnja trofije.

## Izračunavanje Nedijatomejskog indeksa (NeD)

NeD indeks se određuje na temelju odnosa (izraženog u postocima) relativne brojnosti fitobentoskih vrsta na istraživanoj postaji i ukupne brojnosti svake skupine, a računa se na slijedeći način:

- temelj za računanje NeD indeksa je popis svojta s ukupnim relativnim brojnostima (relativna brojnost dobivena kombinacijom procjene pokrovnosti na terenu i zastupljenosti u mikroskopskom preparatu);
- ukupne relativne brojnosti se kubiraju te se takve vrijednosti zbroje za svaku pojedinu skupinu algi pri čemu se izračuna njihova postotna zastupljenost koja se zaokružuje na jednu decimalu;
- za izračunavanje NeD indeksa zbroje se postotne zastupljenosti skupina cijanobakterija (CYAN) i Chlorophyta/Charophyta (CHCH).

**Tablica 4.2.7.** Vrijednosti NeD indeksa prema postotnoj zastupljenosti skupina Cyanobacteria (CYAN) i Chlorophyta/Charophyta (CHCH).

	Vrijednost NeD				
	9	7	5	3	1
Postotna zastupljenost skupina cijanobakterija (CYAN) i Chlorophyta/Charophyta (CHCH)	$\leq 10,0\%$	10,1 – 20,0%	20,1 – 40,0%	40,1-70,0%	$\geq 70,1\%$

*Referentne i najlošije vrijednosti, pokazatelja/indeksa biološkog elementa kakvoće fitobentosa, specifične za određeni tip tekućice*

U DODATKU 3. nalaze se referentne i najlošije vrijednosti pokazatelja fitobentosa TID<sub>HR</sub> i SI<sub>HR</sub>, specifične za određeni tip tekućice. Referentna i najlošija vrijednost NeD indeksa nisu specifične za tipove tekućica, a navode se u Tablici 4.1.9.

**Tablica 4.2.8.** Referentna i najlošija vrijednost NeD indeksa

Indeks	Referentna vrijednost	Najlošija vrijednost
NeD	10	0

#### *Izračunavanje omjera ekološke kakvoće (OEK)*

Kako se vrijednosti svakog pojedinog indeksa brojčano značajno razlikuju, za sumarnu ocjenu se njihove vrijednosti transformiraju tako da su svi indeksi međusobno usporedivi. Za ocjenu ekološkog stanja se za svaki indeks izračunava omjer njegove ekološke kakvoće (OEK) po formuli:

$$OEK = \frac{Vrijednost indeksa - najlošija vrijednost}{Referentna vrijednost - najlošija vrijednost}$$

Vrijednost indeksa brojčana je vrijednost dobivena modificiranim jednadžbom po Zelinka-Marvan (1961.), osim za NeD indeks. Referentne i najlošije vrijednosti svakog od indeksa očitavaju se iz Tablica referentnih i graničnih vrijednosti za svaki tip vodotoka (DODATAK 3.).

Ukupna ocjena ekološkog stanja na temelju biološkog elementa kakvoće fitobentosa je lošija od vrijednosti OEK-a modula trofičnosti i vrijednosti OEK-a modula saprobnosti. OEK modula saprobnosti je OEK Saprobnog indeksa dijatomeja, a OEK modula trofičnosti se izračunava kao srednja vrijednost OEK-a Trofičkog indeksa dijatometa i OEK-a Nedijatomejskog indeksa, odnosno  $OEK_{fitobentos-trofičnost} = (OEK_{TID} + OEK_{NeD})/2$ . Kategorije ekološkog stanja i granične vrijednosti kategorija ekološkog stanja, izražene kao omjer ekološke kakvoće se određuju prema Tablici 5. iz Priloga 2.C. Uredbe o standardu kakvoće voda.

## **U NOVOJ METODOLOGIJI:**

1. Ne koristi se više Nedijatomejski indeks (NeD)
2. Ne koristi se više Saproben indeks ( $SI_{HR}$ )
3. Neovisno o veličini slivne površine mjerne postaje, uzorkovanje će se obavljati na odsjećima od 25–50 m.
4. Revidirana je i nadopunjena oprema potrebna za uzorkovanje.
5. U uputama za uzorkovanje obraštaja za dijatomejski uzorak dodana je preferirana veličina kamena od 6–25 cm odnosno mezolital te je dodana uputa za tvrdi nepomični, umjetni vertikalni supstrat
6. Pri fiksiranju uzorka izmijenjeno je da konačna koncentracije alkohola mora biti najmanje 20%, neovisno o vremenu skladištenja.
7. Revidirana je oprema potrebna za laboratorijski rad.
8. Pri čišćenju dijatomejskog uzorka nadodana je još jedna metoda ( $KMnO_4$ ) .
9. Preporučamo da za vrste, kojima za sada nisu dodijeljeni numerički podaci, ne uzimaju se u obzir kod izračunavanja indeksa, osim ako njihova učestalost prelazi 60 valvi, odnosno njihova relativna učestalost je viša od 15%, tada uzimamo indikatorsku vrijednost i težinu roda.
10. Pri izračunavanju Trofičkog indeksa dijatomeja ( $TDI_{HR}$ ) ispravljena je formula i umjesto ukupnog broja koristi se relativna učestalost vrste.
11. Revidiran je i nadopunjjen Terenski protokol za uzorkovanje fitobentosa u tekućicama.

## **OBJAŠNJENJE za primjenu samo TROFIČKOG INDEKSA DIJATOMEJA**

Stupanj organskog opterećenja izražen kao Indeks saprobnosti dijatomeja ( $SI_{HR}$ ) neće se koristiti u daljnjoj metodologiji jer je utvrđena korelacija između  $SI_{HR}$  indeksa i okolišnih pritisaka, te  $SI_{HR}$  indeksa u kombinaciji s  $TDI_{HR}$  indeksom, pokazivala lošije rezultate u odnosu na dobivene korelacije između  $TDI_{HR}$  i okolišnih pritisaka. Također, razina opterećenja hranjivim tvarima izražena kao Nedijatomejski indeks (NeD) neće se koristiti u daljnjoj metodologiji je se NeD primjenjivao kroz šest uzastopnih godina korištenja Metodologije i nije dao rezultate koji su bili u skladu sa ekološkim stanjem istraživanog vodnog tijela te je na temelju nerelevantnosti rezultata izbačen iz daljnje metodologije.

### 4.3. Biološki element: Makrofita

#### METODOLOGIJA UZORKOVANJA

##### Vrijeme uzorkovanja

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.

##### Odabir i veličina mjesta uzorkovanja

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. 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.

Za procjenu pokrovnosti vodenih makrofita koristi se peterostupanska skala po Kohler-u (detaljnije informacije u Metodologiji). Uzorkovanje makrofita se obavlja na uzdužnim odsječcima.

#### OCJENA EKOLOŠKOG STANJA

Za ocjenu ekološkog stanja na temelju biološkog elementa makrofita potrebno je odrediti modul opće degradacije na temelju dva indeksa:

- Stupanj degradacije određen biocenološkom metodom - biocenološki indeks ( $BM_{HR}$ ) i
- Referentni indeks ( $RI-M_{HR}$ ).

**Biocenološka metoda/biocenološki indeks** modificirana prema van de Weyer-u (2008.) se temelji na određivanju stupnja degradacije prepostavljene referentne makrofitske zajednice. Stanje zajednice određuje se na temelju njenog sastava, odnosno prisustva karakterističnih vrsta za tu zajednicu, ukupnog broja vrsta i morfoloških tipova te prisustva tzv. „pokazatelja poremećaja“ ili „pokazatelja dobrog stanja“. Pokazatelji poremećaja kompleksna su grupa koja se može raščlaniti na pokazatelje eutrofikacije, pokazatelje potamalizacije (tj. pokazatelje usporenenja toka) i pokazatelje ritralizacije (tj. pokazatelje ubrzanja toka). Iz odnosa suma učestalosti pojedinih grupa i ukupnog broja različitih morfoloških tipova određuje se ekološka kategorija.

Za izračun **referentnog indeksa** (Schaumburg i sur., 2006.) potreban je popis makrofita s procijenjenim brojnostima izraženima peterostupanskom skalom po Kohleru (Tablica 3.3.1.-1.).

- Prije računanja referentnog indeksa, brojnosti (A) valja pretvoriti u količine (Q) prema formuli:

$$Q = A^3$$

- Sve submerzne vrste razvrstati u tri kategorije:
  - kategoriju A čine vrste referentne zajednice i one koje ukazuju na dobro stanje vodotoka,
  - kategoriju B čine vrste širih ekoloških amplituda koje se mogu javljati u različitim zajednicama i pri različitim uvjetima, no načelno ne ukazuju na neki poremećaj i
  - kategoriju C čine vrste koje se redovno ne javljaju u referentnim zajednicama te ukazuju na neki poremećaj, najčešće eutrofifikaciju ili usporenje vodotoka.

Kategorije A, B i C ovise o zajednici u kojoj se biljka javlja i navedene su u Tablici 3.3.3.-9. Metodologije. Sustav biljnih zajednica korišten pri izračunu referentnog indeksa jednak je onom korištenom u biocenološkom sustavu. Opisi svih zajednica i kratice iz Tablice 3.3.3.-9. nalaze se u Poglavlju 3.3.3.4. Metodologije.

Referentni indeks (RI) računa se prema sljedećoj formuli:

$$RI = \frac{\Sigma Q_{Ai} - \Sigma Q_{Ci}}{\Sigma Q_{gi}} \cdot 100$$

gdje su:

$Q_{Ai}$  – količina i-te vrste iz grupe A

$Q_{Ci}$  – količina i-te vrste iz grupe C

$Q_{gi}$  – količina i-te vrste iz svih grupa (A+B+C)

referentni indeks preračuna se u skalu od 0 do 1 prema formuli za izračunavanje omjera ekološke kakvoće:

$$M(OEK) = \frac{(RI + 100) \cdot 0,5}{100}$$

Granične vrijednosti indeksa M za pojedine kategorije ekološkog stanja prema tipskim zajednicama makrofita detaljno su opisane u Metodologiji.

Literatura:

Aguiar, F. C., Cambra, J., Chauvin, C., Ferreira, T., Germ, M., Kuhar, U., Manolaki, P., Minciadri, M. R., Papastergiadou, E., 2010: Floristic and functional gradients of river plant communities: a biogeographical study across the Mediterranean Basin. XV Congress of Iberian Association of Limnology, 5-7 July 2010, Azores: 55.

Feio, M. J., Aguiar, F. C., Almeida, S. F. P., Ferreira, J., Ferreira, M. T., Elias C. et al., 2014: Least disturbed condition for European Mediterranean rivers. *Science of the total environment*, 476-477: 745-756.

Haury, J., Peltre, M.-C., Trémolières, M., Barbe, J., Thiébaut, G., Berbez, I., Daniel, H., Chatenet, P., Haan-Archipof, G., Muller, S., Dutartre, A., Laplace-Treyture, C., Cazaubon, A., Lambert-Servien, E., 2006: A new method to assess water trophy and organic pollution – the Macrophyte Biological Index for Rivers (IBMR): its application to different types of river and pollution. *Hydrobiologia* 570: 153-158.

Kohler, A., 1978: Methoden der Kartierung von Flora und Vegetation von Süßwasserbiotopen. *Landschaft & Stadt*, 10: 73-85.

Kuhar, U., Germ, M., Gaberščik, A., Urbanič, G., 2010: Development of a River Macrophyte Index (RMI) for assessing river ecological status. *Limnologica* 41: 235-243.

Mihaljević, Z., Kerovec, M., Mrakovčić, M., Plenković, A., Alegro, A. & Primc-Habdija, B. (2011): Testiranje bioloških metoda ocjene ekološkog stanja (Okvirna direktiva o vodama, 2000/60/EC) u reprezentativnim slivovima Panonske i Dinaridske ekoregije. PMF, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb. (Testing of biological methods for ecological status assessment (Water framework directive 2000/60/EC) in representative river basins of the Pannonic and Dinaric ecoregions).

Pall, K., Gecheva, G., Todorov, E., 2016: Bulgaria – Report on fitting a classification method to the results of the completed intercalibration of Med GIG (R-M1 and R-M2). Ministry of Environment and Water, Bulgaria & Consortium DICON – UBA, Sofia – Vienna.

Schaumburg, J., Schranz, C., Foerster, J., Gutowski, A., Hofmann, G., Meilinger, P., Schneider, S., Schmedtje, U., 2004: Ecological classification of macrophytes and phytobenthos for rivers in Germany according to the Water Framework Directive. *Limnology* 34: 283-301.

Schaumburg, J., Schranz, C., Stelzer, D., Hofmann, G., Gutowski, A., Foerster, J., 2006: Instruction Protocol for the Ecological Assessment of running Waters for Implementation of the EC Water Framework Directive: Macrophytes and Phytobenthos. Bavarian Environment Agency, Munich.

Schaumburg, J., Schranz, C., Stelzer, D., Vogel, A., Gutowski, A., 2012: Verfahrensanleitung für die ökologische Bewertung von Fließgewässern zur Umsetzung der EG-Wasserrahmenrichtlinie: Makrophyten und Phytobenthos (PHYLIB). Bayerisches Landesamt für Umwelt, Wielenbach.

Willby, N., Birk, S., Poikane, S., van de Bund, W. 2015: Water Framework Directive Intercalibration manual. Procedure to fit new or updated classification methods to the results of a completed intercalibration. Guidance Document No. 30. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.

## 5. Pregled ekoloških čimbenika i antropogenih opterećenja u hrvatskim interkalibracijskim tipovima rijeka MED GIG

### 5.1. Zemljivođe iskorištavanje slivnog područja

#### TIPOLOGIJA I PODRUČJE

Hrvatski dio MED-GIG područja proteže se Dinaridskom primorskom ekoregijom, u kojoj je određeno 12 biotičkih tipova te 24 abiotička tipa rijeka. Izdvojeno je 14 abiotičkih tipova koji imaju istu veličinu sliva, nadmorskou visinu, geološku i litološku podlogu te veličinu čestica supstrata kao i zajednički interkalibracijski tipovi definirani u Odluci Europske komisije. Tih 14 abiotičkih tipova raspodijeljeni su u 9 nacionalnih biotičkih tipova. Ovih 9 biotičkih tipova pripadaju jednom od 3 interkalibracijska tipa: R-M1, R-M2 ili R-M5 (Tablica 4.1.1.).

Opća degradacija, kao posljedica antropogenog opterećenja, je prisutna u hrvatskim mediteranskim tipovima rijeka, što se može uočiti kroz značajno smanjenje prirodnog udjela i izvornog stanja staništa. Prirodni udjeli zastupljeni s manje od 30% zabilježeni su kod postaja Bašćica, uzvodno od Posedarja (21.34%) (Slika 5.1.1.) te Zduškog potoka, prije utoka u Cetinu (29.9%) (Slika 5.1.2.) (Tablica 5.1.1.). Obje ove postaje pripadaju interkalibracijskom tipu R-M5 ili tipu povremenih vodotoka te se općenito R-M5 odlikuje najnižim stupnjem prirodnog udjela toka, uspoređujući se s velikim i malim stalnim vodotocima R-M1 i R-M2. Presušujući period ujedno je i period lakše dostupnosti i pristupa za čovjekovo djelovanje, zahvate i mijenjanje staništa. S druge pak strane, komplementarno degradaciji povremenih vodotokova, više od 91% prirodnog staništa očitano je na rijeci Krupi, R-M1 tipa ili velikih stalnih vodotokova. R-M2 tip ili mali stalni vodotoci mjere 97% prirodnog udjela staništa na rijeci Cetini, kod Barišića. Sveukupno, prosjek prirodnog udjela postaja R-M1 tipa iznosi 77.5%, prosjek R-M2 tipa je 75.6% te R-M5 mjeri 61.9% (Tablica 5.1.1.).

Iskorištavanje slivnog područja u poljoprivredne svrhe zabilježeno je kod svih triju interkalibracijskih tipova. Ekstenzivna poljoprivreda ima značajnu prevlast nad intenzivnom kod R-M1 i R-M2 tipa, dok su ekstenzivna i intenzivna poljoprivreda približno podjednako zastupljene kod R-M5. Tako će najviši stupanj od 32.6% ekstenzivne poljoprivrede R-M1 tipa imati postaja Krvar, most na cesti Motovun-Pazin (Slika 5.1.3.) (Tablica 5.1.1.).



Slika 5.1.1. Bašćica, uzvodno od Posedarja.



**Slika 5.1.2.** Zduški potok, prije utoka u Cetinu.



**Slika 5.1.3.** Krvar, most na cesti Motovun-Pazin.

R-M2 tip mjeri najviši stupanj ekstenzivne poljoprivrede na postaji Obuhvatni kanal Srednja Mirna, s 34.17% (Slika 5.1.4.) (Tablica 5.1.1.).



**Slika 5.1.4.** Obuhvatni kanal Srednja Mirna.

Projekti ekstenzivne poljoprivrede svih triju tipova međusobno su vrlo slični i iznose oko 16%. Najviša vrijednost kod R-M5 također ne nadilazi previše maksimume R-M1 i R-M2 sa svojih 38.6%, na postaji Bašćica, uzvodno od Posedarja (Tablica 5.1.1.).

Intenzivna poljoprivreda kod R-M1 i R-M2 tipa ne prelazi 13% kao maksimalnu vrijednost, a u prosjeku iznosi oko 5%. Intenzivna poljoprivreda u R-M5 tipu ima srednju vrijednost 17.5%, a najvišu vrijednost od čak 52.2% postiže na postaji Zduški potok, prije utoka u Cetinu.

Općenito, ukupno zemljишno korištenje slivnog područja izraženo kroz Land Use Index (LUI), u R-M1 ima maksimalnu vrijednost 68.9% na postaji Orašnica, prije utoka u Krku (Slika 5.1.5.). Prosječna vrijednost LUI-a za R-M1 iznosi 31.8% (Tablica 5.1.1.).



**Slika 5.5.** Orašnica, prije utoka u Krku.

Maksimalni LUI za R-M2 iznosi čak 142.6%, na postaji Obuhvatni kanal Krapanj, most u naselju Raša (Slika 5.1.6.), dok je prosječna vrijednost 36.4% (Tablica 5.1.1.).



**Slika 5.1.6.** Obuhvatni kanal Krapanj, most u naselju Raša.

U R-M5 maksimalan LUI postignut je na postaji Zduški potok s 134.8%, što i ne čudi s obzirom na otprije spomenuto visoku vrijednost intenzivne poljoprivrede i smanjenog prirodnog udjela staništa ove postaje (Slika 5.1.7.). Prosjek LUI-a za R-M5 iznosi 69.1% (Tablica 5.1.1.). Ovakav značajno viši prosjek

ukupnog iskorištenja slivnog područja R-M5 u odnosu na R-M1 i R-M2 potvrđuje izraženiju opterećenost ljudskim djelovanjem povremenih vodotokova u odnosu na stalne.



**Slika 5.1.7.** Zduški potok, prije utoka u Cetinu.

**Tablica 5.1.** Pregled vrijednosti za zemljivo iskorištenje po tipovima.

tip		Prirodni udio (%)	Intenzivna poljoprivreda (%)	Ekstenzivna Poljoprivreda (%)	LUI
R-M1	prosjek	77.5	4.1	16.7	31.8
	minimum	63.8	0	0	0.9
	maksimum	99.1	10.6	35.4	68.9
R-M2	prosjek	75.6	5.3	16.9	36.4
	minimum	46.3	0	2.3	3.14
	maksimum	97.3	12.9	34.2	142.6
R-M5	prosjek	61.9	17.5	16	69.1
	minimum	21.3	0	1.1	20.7
	maksimum	89.7	52.2	38.6	134.8

## 5.2. Kemijski sastav vode

Ljudsko zadiranje, osim kroz zemljivo promjenjenost, može se pratiti i kemijskim sastavom vode. Kemijski sastav vode neposredno ukazuje na poljoprivredne posljedice kao što su eutrofikacija te onečišćenje gnojivima i organskim spojevima. Tako ćemo za praćenje možebitnih kemijskih prinosa mjeriti sljedeće spojeve: amonijeve ione, nitrate, fosfatne te ukupni fosfor.

Amonijevi, nitratni i fosfatni spojevi te ukupni fosfor u R-M1 zabilježeni su najviši na postaji Pazinčica, ponor, sa sljedećim vrijednostima: 5.97 mg/l, 1.94 mg/l, 0.37 mg/l te 0.47 mg/l (Slika 5.2.1.) (Tablica 5.2.1.). U R-M1, prosječna vrijednost amonijevih iona iznosi 0.42 mg/l, nitratnih spojeva je 0.49 mg/l, a fosfatnih 0.04 mg/l te ukupnog fosfora 0.064 mg/l (Tablica 5.2.1.).

U R-M2, postaja s najvišim vrijednostima je već spomenuti obuhvatni kanal Krpanj (Slika 5.1.6.): amonijevi spojevi s 3.56 mg/l, nitratni s 2.87 mg/l, fosfatni s 1.18 mg/l te ukupni fosfor s 1.66 mg/l (Tablica 5.2.1.). Za R-M2 prosječne vrijednosti su sljedeće: amonijevi spojevi s 0.19 mg/l, nitratni s 0.63 mg/l, fosfatni s 0.09 mg/l te ukupni fosfor s 0.11 mg/l (Tablica 5.2.1.).

R-M5 maksimume vrijednosti amonijevih i fosfatnih spojeva te ukupnog fosfora bilježi kod postaje Donji kanal, pritoka Cetine kod Trilja (Slika 5.2.2.): 1.19 mg/l, 0.21 mg/l te 0.36 mg/l (Tablica 5.2.1.). Najvišu vrijednost nitratnih spojeva od 1.69 mg/l, ali i umjereno visokih ostalih spojeva nalazimo kod postaje Jaruga, Benkovac. Srednje vrijednosti spojeva za R-M5 su sljedeće: amonijevi spojevi s 0.16 mg/l, nitratni s 0.54 mg/l, fosfatni s 0.03 mg/l te ukupni fosfor s 0.05 mg/l (Tablica 5.2.1.).



**Slika 5.2.1.** Pazinčica, ponor.



**Slika 5.2.2.** Donji kanal, pritok Cetine kod Trilja.

**Tablica 5.2.1.** Prosječne i maksimalne vrijednosti kemijskih spojeva po tipovima.

tip		N-NH4+ (mg/L)	N-NO3- (mg/L)	P-PO43- (mg/L)	P-Ukupni (mg/L)
R-M1	prosjek	0.42	0.49	0.04	0.06
	maksimum	5.97	1.94	0.37	0.47
R-M2	prosjek	0.19	0.63	0.09	0.11
	maksimum	3.56	2.87	1.18	1.66
R-M5	prosjek	0.16	0.54	0.03	0.05
	maksimum	1.19	1.69	0.21	0.36

### 5.3. Hidromorfološke alternacije na vodotoku

Sustav ocjenjivanja hidromorfologije na pojedinoj postaji sastoji se od 17 točaka gdje procjenitelj stanja dodjeljuje vrijednost između 1 i 5 (Slika 5.3.1.). U ovom slučaju ocjena 1 označava prirodno stanje, dok ocjena 5 označava potpuno degradirano hidrološko ili morfološko stanje na postaji. Tri glavne hidromorfološke karakteristike izračunavaju se kao srednja vrijednost nekoliko točaka: Hidrologija (hidrološki režim, četiri točke), Uzdužna povezanost (jedna točka) i Morfologija (dvanaest točaka). Srednja vrijednost svih točaka hidromorfoloških karakteristika daje konačnu hidromorfološku ocjenu.

JKRN0033_001_Butiznica_Bulin_most_40454							
				Tip: R_12. Prigorske srednje velike i velike tekućice			Šifra mjerene postaje: 40454
				Odjedak		Vodno tijelo	
Hidromorfološko obilježe koje se ocjenjuje	Ocjena		Obrazloženje	Ocjena		Obrazloženje	
<b>1. Hidrologija (hidrološki režim)</b>	<b>3,50</b>			<b>3,50</b>			
1.1. Učinci umjetnih građevina u kontu unutar dionice	B	5	Obilježja toka uvelike izmijenjena	B	5	Obilježja toka uvelike izmijenjena	
1.2. Učinci promjena širok sliva na karakter prirodnog toka	A	2	Protok pada <5 ili raste >10%	A	2	Protok pada <5 ili raste >10%	
1.3. Učinci promjene u dnevnom protoku	A	N.O.	Nema podataka	A	N.O.	Nema podataka	
1.4. Utjecaj građevina i zahvata na povezanost podzemnih i površinskih voda		NE	Nema značajnog utjecaja na povezanost podzemnih i površinskih voda		NE	Nema značajnog utjecaja na povezanost podzemnih i površinskih voda	
<b>2. Uzdužna povezanost</b>	<b>/</b>			<b>5,00</b>			
2.1. Uzdužna povezanost pod utjecajem umjetnih građevina	/	/	/	B	5	Hidrotehničke građevine sprječavaju migraciju riba	
		<b>2,18</b>			<b>2,50</b>		
3.1. Geometrija korita							
3.1.1. Tlocrtni oblik	/	/	/	A	3	15-35% dužine dionice s prom. tlocrtnim oblikom	
3.1.2. Presjek korita (uzdužni i poprečni presjek)	A	3	15-35% dužine dionice s prom. presjekom korita	A	3	15-35% dužine dionice s prom. presjekom korita	
3.2. Podoge							
3.2.1. Količina umjetnih tvrdih materijala ispod vodnog tla	A	1	0-5% tvrdog umjetnog materijala	A	1	0-5% tvrdog umjetnog materijala	
3.2.2. Prirodnost sedimenta na istraživanom odsječku	B	1	Gotovo prirodna mješavina	B	1	Gotovo prirodna mješavina	
3.2.3. Struktura sedimenta i promjene na pokusu obale odsječka i vodnog tijela	A	3	Obale pod utjecajem 15 - 35% teških, ili 50% - 100% mekih, tvrdih materijala	A	3	Obale pod utjecajem 15 - 35% teških, ili 50% - 100% mekih, tvrdih materijala	
3.3. Vegetacija i organski ostaci u kontu							
3.3.1. Uklanjanje/odzdravanje vodenе vegetacije na odsječku i vodnom tijelu	B	1	Vodena vegetacija se ne uklanja iz korita	B	1	Vodena vegetacija se ne uklanja iz korita	
3.3.2. Količina drvenih ostataka, na odsječku i vodnom tijelu (ukoliko se isti očekuju)	B	1	Gotovo prirodna količina i veličina drvenih ostataka, nema aktivnog uklanjanja ili dodavanja	B	1	Gotovo prirodna količina i veličina drvenih ostatak, nema aktivnog uklanjanja ili dodavanja	
3.3.3. Obilježja erozije/talozanja na odsječku i vodnom tijelu	B	3	umjereno odstupanje od gotovo prirodnog stanja (odsutno 10% do 50% očekivanih elemenata)	B	3	umjereno odstupanje od gotovo prirodnog stanja (odsutno 10% do 50% očekivanih elemenata)	
3.3.4. Vrsta/struktura vegetacije na obalama i na okolnom zemljištu unutar zadane buffer zone (10 m) na odsječku i vodnom sjelu	A	1	Neprekiniti pojas drenaste i zeljaste vegetacije	A	2	Mazaci drenaste i zeljaste vegetacije	
3.3.5. Korisnjenje zemljišta (u prirodnoj poplavnoj zoni) i s time povezana obilježja na odsječku i vodnom sjelu	A	2	5 - 15% neprirodnog zemljишnog pokrova iza obalnog pojasa	A	4	35 - 75% neprirodnog zemljишnog pokrova iza obalnog pojasa	
3.4. Interakcija između konta i poplavnog područja							
3.4.1. Lateralna povezanost rjeke i poplavnog područja (dužinski iznos) na cijelom vodnom tijelu	A	3	> 15 - 35% vodnog tijela pod utjecajem nasipa ili ostalih mjera koje sprječavaju plavljenje poplavnog područja (npr. regulacija korita i obale)	A	3	> 15 - 35% vodnog tijela pod utjecajem nasipa ili ostalih mjera koje sprječavaju plavljenje poplavnog područja (npr. regulacija korita i obale)	
3.4.2. Stupanj lateralnog kretanja rječnog korita	A	5	> 75% odsječka ograničeno	A	5	> 75% odsječka ograničeno	
<b>UKUPNA OCJENA OD SJECKA/VODNO TIJELO</b>	<b>2,38</b>		Neznatno promijenjeno	<b>2,80</b>		Umjereno promijenjeno	
<b>OD SJECKA REPREZENTATIVAN ZA HIDROMORFOLOŠKU OCJENU</b>	<b>DA*</b>		Istraživani odsječak je reprezentativan				
<b>KATEGORIJA VODNOG TIJELOA</b>			PRIRODNO VODNO TIJELO				

A-Kvantitativna ocjena; B-Kvalitativna ocjena

Slika 5.3.1. Primjer ispunjenog protokola za ocjenu hidromorfološkog stanja.

Mijenjanje izvornog staništa vodotoka čest je kod sva tri tipa te se najčešće provodi u svrhu gradnje kanala, ali i drugih vodoopskrbnih/vododrenažnih ciljeva. Za takve će namjene riparijska i obalna vegetacija često bivati uklonjena te tok promijenjen. Za podrobniju analizu hidromorfoloških zahvata

nad vodotocima naglasit ćemo sljedeće parametre: srednja ocjena opisana stanjem, uklanjanje riparijske i obalne vegetacije te uzdužna povezanost.

Prvenstveno, kroz srednju ocjenu opisanu stanjem, izražava se koliko je izmijenjen prvobitni vodotok. Tako će u R-M1 najveći stupanj promjene, sa srednjom ocjenu od 3.57, imati kanal Botonega, 200 metara od utoka u Mirnu (Slika 5.3.2.). Prosječna srednja ocjena R-M1 je 2.10, tj. neznatno izmijenjeno stanje.



**Slika 5.3.2.** Kanal Botonega, 200 m od utoka u Mirnu.

Za R-M2 ne čudi što najlošiju ocjenu od 4.29 i u velikoj mjeri promijenjeno stanje ima obuhvatni kanal Krapanj (Slika 5.1.6.). Prosječna ocjena je nešto viša od R-M1, iznosi 2.37 te također znači neznatnu izmijenjenost.

R-M5 najlošiju ocjenu od 4.07, u velikoj mjeri promijenjenog stanja bilježi kod postaje Donji kanal, pritok Cetine kod Trilja (Slika 5.3.3.). Za ovaj tip prosječna ocjena je 2.89, lošija od prosjeka prethodna dva tipa te predstavlja umjerenu promijenjenost.



**Slika 5.3.3.** Donji kanal, pritok Cetine kod Trilja.



**Slika 5.3.4.** Šipovača, Jelavića most.

Važan element promjene ishodišnog stanja kao što je uklanjanje riparijske i obalne vegetacije bit će također od interesa. Sva tri tipa odlikuju se povoljnom situacijom po tom pitanju te se vegetacija ili ne

uklanja ili se to čini umjereno. Iznimka tomu je unutar R-M5 tipa, postaja Šipovača, Jelavića most, na kojoj se vegetacija uklanja (Slika 5.3.4.).

Za zajednice životinja ekosustava vodotokova važna je mogućnost kretanja niz vodno tijelo, stoga će varijabla promatranja biti i uzdužna povezanost. Gradnjom brana ili drugih poprečnih umjetnih struktura prekida se normalan tok te utoliko i naseljavanje zajednice mimo pregrađenih dijelova toka. Tako će u R-M1 većina postaja imati umjerenu pregrađenost na pojedinim dijelovima dok će na postaji Boljunčica, nizvodno od mjesta Brus, biti prisutna znatna pregrađenost (Slika 5.3.5.).



**Slika 5.3.5.** Boljunčica, nizvodno od mjesta Brus.

U R-M2, pregrađenost je zastupljenija nego u prethodnom tipu te je izražena kod postaja Butižnica, Bulin most te Butižnica, HE Golubić (Slika 5.3.6.), u kojima hidrotehničke građevine i zahvati priječe selidbu riba i drugih životinja.



**Slika 5.3.6.** Butižnica, HE Golubić

R-M5 ima najbolju uzdužnu povezanost, većina postaja ili je sasvim nepregrađena ili blago pregrađena. Jedina iznimka tome je već prethodno u tekstu spominjana Bašćica, uzvodno od Posedarja, koja je i po drugim aspektima objekt ljudske intervencije (Slika 5.1.1.).

## 6. Prikaz rezultata interkalibracije za svaki zajednički interkalibracijski tip rijeka i svaki biološki element, s detaljnim prikazom interkalibracijskog postupka i statističkih proračuna

### 6.1. Biološki element: Makrozoobentos

#### 6.1.1. Interkalibracija tipova tekućica R-M1 i R-M2

Analizirani su potpuni skupovi podataka za R-M1 tip ( $n = 14$ ) i za R-M2 tip ( $n = 18$ ). Od 22 postaje predviđene za istraživanje makrozoobentosa koje je bilo predmet ovog ugovora uzorkovanje je uspješno obavljeno za 21 postaju. Podatke za preostale postaje dostavio je naručitelj. Postaju Sijaset-Kolan 30045 smatramo nepouzdanom radi potpunog dugotrajnog isušivanja.

Potpuni skup podataka obuhvaćao je u konačnici 51 postaju. Podacima su obuhvaćeni sljedeći hrvatski tipovi: R-M1 = HR-R\_11A; HR-R\_14A; HR-R\_15A; HR-R\_17; R-M2 = HR-R\_12; HR-R\_13; HR-R\_13A; HR-R\_14B; HR-R\_15B; HR-R\_18 i R-M5 = HR-R\_16A; HR-R\_16B; HR-R\_19. S obzirom na relativno male skupove podataka u odnosu na preporuke za analize u interkalibracijskom postupku pristupili smo zajedničkom (objedinjenom) pristupu analizama za tipove R-M1 i R-M2.

Ovo smatramo opravdanim radi sličnosti dvaju tipova (obje mediteranske izrazito sezonske rijeke sa sličnom geologijom), njihovi se podaci mogu smatrati komplementarnim za statističku analizu. Multimetrički indeks koristi iste mjerne podatke za obje vrste rijeka, ali s različitim referentnim vrijednostima za svaku vrstu. Metoda je u skladu s normativnim definicijama ODV-a i njezine granice klase u skladu su s rezultatima dovršenog postupka interkalibracije.

Sukladno rezultatima analiza razvijena je nova metoda procjene za procjenu ekološkog stanja rijeka pripadnika IK tipova na temelju beskralješnjaka. Hrvatska metoda ocjenjivanja koja se temelji na makrozoobentusu je modularnog tipa s dva modula: modulom saprobnosti i modulom opće degradacije. Metoda je uspješno interkalibrirana za velike rijeke, a temeljila se na istom pristupu (Birk i sur., 2016). Sustav se sastoji od mjernih podataka s dokazanim odnosima prema pritiscima (stresorima).

U MED GIG-u referentne postaje izjednačene su s tzv. benchmark postajama jer predstavljaju najbolje dostupne vrijednosti određene za abiotske podatke za mediteransku regiju (Feio, 2011) te ćemo u ovom izvještaju ova dva izraza koristiti kao sinonime. Postavljanje nacionalnih referentnih uvjeta za opću degradaciju slijedi one MED-GIG definirane za IK tipove R-M1 i R-M2 (Tablica 6.1.1.1).

**Tablica 6.1.1.1.** Kriteriji za određivanje referentnih (benchmark) postaja MED GIG (R-M1 + R-M2).

Pritisak	Referentni uvjeti
Kanaliziranost (1-4)	$\leq 2$
Promjena obale (1-4)	$\leq 2$
Povezanost (1-4)	$\leq 2$
Lokana promjena staništa (1-4)	$\leq 2$
Tok (1-4)	$\leq 2$
Utjecaj uzvodnih brana (1-4)	$\leq 2$
<i>Hydropeaking</i> (1-4)	$\leq 2$
Priobalna (riparijska) vegetacija (1-4)	$\leq 2$
[O <sub>2</sub> ] (mg/L) <sup>1</sup>	6,39-13,70
O <sub>2</sub> (%)	73,72-127,92
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	$\leq 0,09$
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	$\leq 1,15$
P-uk (mg/L)	$\leq 0,07$
P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg/L)	$\leq 0,06$
% Umjetnog zemljišnog pokrova (sliv)	$\leq 1$
% Intenzivne poljoprivredne površine (sliv)	$\leq 11$
% Estenzivne poljoprivredne površine (sliv)	$\leq 32$
% Poluprirodni pokrov (sliv)	$\geq 68$

U IK tipovima R-M1 i R-M2 transformirane su granice modula saprobnosti. To znači da konačni OEK predstavlja „klasične“ granice (0,8; 0,6; itd.).

#### Indeks saprobnosti

##### R-M1

Donja granica indeksa saprobnosti predstavlja najgoru teorijsku vrijednost na temelju operativnog popisa svojti i iznosi 3,6 (za sve abiotičke tipove). Vrijednost indeksa saprobnosti tipa R-M1 kretala se u rasponu od 1,06 do 2,40 (tablica 6.1.1.4). Gornja granica u R-M1 izračunata je tako što je od medijana tzv. „benchmark“ postaja oduzeto 20% vrijednosti. Referentna vrijednost iznosi indeksa saprobnosti za tip R-M1: 1,21.

**Tablica 6.1.1.2.** Okolišni podaci postaja interkalibracijskog tipa R-M1 s vrijednostima saprobnog indeksa, prema kriterijima za referentne (*benchmark*) postaje (Feio, 2011). *Benchmark* postaje su osjenčane zeleno, dok su referentne postaje prema nacionalnom programu osjenčane plavo.

Šifra	Postaja/kriterij	O2 (%)	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg/L)	P-uk (mg/L)	% Umjetnog zemljишnog pokrova (sliv)	% Intenzivne poljoprivredne površine (sliv)	% Estenzivne poljoprivredne površine (sliv)	% Poluprirodni pokrov (sliv)	Saprobeni indeks
		73,72-127,92	≤0,09	≤1,15	≤0,06	≤0,07	≤1	≤11	≤32	≥68	
40106	Potok Rumin (pritok Cetine)	117,30	0,044	0,479	0,043	0,019	0	1,274	15,68	83,048	1,21
40108	Vojskova (pritok Cetine), Čitluk	109,17	0,036	0,404	0,023	0,012	8,826	10,653	0,02	80,49	1,25
40198	Kobilica (pritok Zrmanje), Kusac	110,56	0,006	0,273	0,007	0,002	0	0	35,41	64,58	1,34
40429	Vrba, kod mjesta Vrba	165,06	0,0472	0,071	0,033	0,020	0,396	6,043	8,37	85,18	1,55
40430	Orašnica, prije utoka u Krku	78,41	0,139	0,287	0,023	0,008	11,955	6,769	7,61	73,65	1,82
40431	Orašnica, Kninsko polje	98,08	0,048	0,348	0,029	0,016	2,430	7,988	6,38	83,20	1,58
40432	Vrba, Ojdanići	104,25	0,06733 <sub>3</sub>	0,284	0,032	0,011	0,721	6,096	7,56	85,61	1,48
40443	Izvor Krke (pritok Une), granični prijelaz	106,07	0,193	0,376	0,005	0,005	0	7,658	21,30	71,03	1,58
40213	Krupa, Manastir	103,84	0,013	0,236	0,010	0,007	0	0	8,43	91,56	1,97
40218	Krupa, u selu Mandići, 300 m nizvodno od	100,24	0,012	0,257	0,010	0,003	0	0	0,91	99,08	2,13
31008	Mufrin, Valenti	90,44	0,039	1,18	0,059	0,019	0	1,082	32,59	66,32	2,40
31031	kanal Botonega, 200 m od utoka u Mirnu	98,84	0,041	0,606	0,075	0,025	0	1,664	28,40	69,93	2,01
31070	Pazinčica Dubravica	93,13	0,015	0,3812	0,061	0,043	0,683	4,726	26,38	68,20	2,11
31071	Pazinčica, ponor	77,69	5,968	1,94433 <sub>3</sub>	0,47691 <sub>7</sub>	0,368	2,534	4,440	25,28	67,73	1,05
31082	Boljunčica, nizvodno od mjesta Brus	107,41	0,034	0,21466 <sub>7</sub>	0,058	0,012	0,196	1,105	12,84	85,85	1,10

Medijan „benchmark“ postaja:

1,52

Referentna vrijednost:

1,21

## R-M2

Donja granica indeksa saprobnosti (najgora teorijska vrijednost metrike) iznosi 3,6 (za sve interkalibracijske tipove). Vrijednost indeksa saprobnosti u tipu R-M2 kretala se u rasponu od 1,17 do 3,32 (tablica 6.1.1.5). Gornj granica indeksa saprobnosti u R-M2 izračunata je kao medijan vrijednosti indeksa saprobnosti s referentnih mjesto i jednaka je 1,62.

**Tablica 6.1.1.4.** Okolišni podaci postaja interkalibracijskog tipa R-M2 s vrijednostima saprobnog indeksa, prema kriterijima za referentne (*benchmark*) postaje (Feio, 2011). *Benchmark* postaje su osjenčane zeleno, dok su referentne postaje prema nacionalnom programu osjenčane plavo.

		O2 (%)	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg/L)	P-uk (mg/L)	% Umjetnog zemljišnog pokrova (sliv)	% Intenzivne poljoprivredne površine (sliv)	% Estenzivne poljoprivredne površine (sliv)	% Poluprirodni pokrov (sliv)	Saproben indeks
Code	Site/ criteria	73,72-127,92	≤0,09	≤1,15	≤0,06	≤0,07	≤1	≤11	≤32	≥68	
14006	Una, kod izvorišta Loskun	99,56	0,011	0,501	0,011	0,011	0,35	6,57	15,98	77,09	1,642
31010	Mirna, Portonski most	105,04	0,0157	0,609	0,009	0,066	0,74	4,49	24,38	70,37	1,902
31011	Mirna, Kamenita vrata	111,18	0,035	0,627	0,022	0,064	2,53	5,04	21,62	70,80	2,219
31016	Obuhvatni kanal Srednja Mirna Stara Mirna, Gradinje	84,52	0,033	0,556	0,016	0,049	0	1,55	34,16	64,28	2,469
31017	Raša, most Mutvica	91,31	0,036	0,746	0,044	0,107	2,10	2,03	29,44	66,41	2,366
31024	Obuhvatni kanal Krpanj, most u naselju Raša	100,68	0,0152	1,144	0,010	0,040	0,35	12,89	16,58	70,17	2,393
31025	Cetina, Vinalić	101,16	3,562	2,876	1,181	1,659	25,70	11,75	16,27	46,26	3,316
40102	Cetina, Barišići	91,66	0,0155	0,316	0,003	0,012	0,53	6,81	11,30	81,35	1,292
40104	Zrmanja, Butiga	106,89	0,025	0,372	0,002	0,004	0	0,43	2,26	97,30	1,166
40200	Zrmanja, Palanka	110,52	0,03	0,357	0,002	0,005	0	3,11	21,70	75,18	1,605
40205	Zrmanja, Žegar	100,60	0,015	0,361	0,003	0,014	0	0	26,84	73,16	1,622
40208	Krka, nizvodno od Knina	101,40	0,015	0,271	0,003	0,012	0	3,42	20,95	75,63	1,874
40416	Krka, Marasovine	99,17	0,029	0,353	0,003	0,011	1,64	11,65	9,17	77,52	1,829
40441	Butižnica, HE Golubić	91,57	0,030	0,361	0,007	0,015	1,05	7,19	13,10	78,64	1,598
40453	Butižnica, Bulin most	97,50	0,015	0,181	0,003	0,013	0,19	0,16	10,51	89,13	1,523
40454	Norin, Vid	99,12	0,021	0,231	0,007	0,022	0,72	2,54	15,87	80,86	1,574
40515		76,11	0,019	0,932	0,012	0,019	5,15	11,68	6,34	76,81	1,701

Referentna vrijednost

1,62

## Opća degradacija

### R-M1

Modul opće degradacije sastoji se od 5 metrika: prosječna ocjena po svojti (ASPT = average score per taxon), r-dominacija, EPT [%], raznolikost (Margalefov indeks) i indeks riječne faune (RFI). Gornje vrijednosti u R-M1 izračunate su projekcijom iz tzv „benchmark“ postaja prema interkalibacijskom modelu za MED GIG, budući da su u ovom tipu bile prisutne samo dvije referentne postaje. (Tablica 6.1.1.6.). Najniža vrijednost za sve metrike utvrđena je kao najniža vrijednost u cijelom skupu podataka obje vrste IC (M1 i M2).

**Tablica 6.1.1.6.** Metrike i njihove granice korištene za proračun modula opće degradacije za IK tip R-M1. Označene su referentne (*benchmark*) postaje osjenčane zeleno, dok su referentne postaje prema nacionalnom programu osjenčane plavo.

Šifra	Postaja	EPT [%]	Margalefov Indeks	r-dominacija	ASPT	RFI
40198	Kobilica (pritok Zrmanje), Kusac	26,027	2,574	2,142	7	0,124
40106	Potok Rumin (pritok Cetine)	26,19	2,591	1,747	5,429	0,109
40108	Vojskova (pritok Cetine), Čitluk	37,5	4,342	3,287	6,45	0,116
40429	Vrba, kod mjesta Vrba	28,767	5,044	16,86	6	0,104
40430	Orašnica, prije utoka u Krku	11,538	5,115	38,614	4,87	0,107
40431	Orašnica, Kninsko polje	15,894	3,764	9,592	4,938	0,094
40432	Vrba, Ojdanići	20,625	4,891	5,884	5,905	0,079
40443	Izvor Krke (pritok Une), granični prijelaz	44,828	5,484	21,488	7,25	0,141
31008	Mufrin, Valenti	10,784	3,129	9,286	5,267	0,081
31031	kanal Botonega, 200 m od utoka u Mirnu	24,706	4,811	20,833	6,333	-0,033
31070	Pazinčica Dubravica	19,149	2,132	14,158	4,75	0,097
31071	Pazinčica, ponor	25,203	2,694	39,24	5,667	0,119
31082	Boljunčica, nizvodno od mjesta Brus	26,389	2,031	25	5,625	0,084
40213	Krupa, Manastir	26,496	3,177	0,219	7,05	0,119
40218	Krupa, u selu Mandići	37,864	2,368	0,511	7,235	0,122
	Gornja / referentna vrijednost	33,12	3,97	1,4	7,5	0,137
	Najlošija vrijednost	0	1,27	68,18	3,14	-0,857

## R-M2

Modul opće degradacije sastoји се од 5 metrika: prosječna ocjena po svojti (ASPT = average score per taxon), r-dominacija, EPT [%], raznolikost (Margalefov indeks) i indeks riječne faune (RFI). Gornje vrijednosti u R-M2 izračunali smo kao medijan indeksnih vrijednosti s referentnih mjesta (Tablica 6.1.1.7.). Najniža vrijednost svih metrika utvrđena je kao najniža vrijednost u cijelom skupu podataka obje vrste IC (M1 i M2).

**Tablica 6.1.1.7.** Metrike i njihove granice korištene za proračun modula opće degradacije za IK tip R-M2. Istaknute su benchmark postaje osjenčane zeleno, dok su referentne postaje prema nacionalnom programu osjenčane plavo.

Šifra	Postaja	EPT [%]	Margalefov indeks	r-dominacija	ASPT	RFI
14006	Una, kod izvorišta Loskun	35,849	4,118	12,032	6,333	0,129
31010	Mirna, Portonski most	29,054	3,639	39,264	6,684	-0,164
31011	Mirna, Kamenita vrata	27,811	5,048	21,674	5,632	0,092
31016	Obuhvatni kanal Srednja Mirna	13,861	3,074	5,737	4,625	-0,223
31017	Stara Mirna, Gradinje	24,46	4,561	18,389	5,412	-0,146
31024	Raša, most Mutvica	22,892	4,08	28,723	5,389	-0,215
31025	Obuhvatni kanal Krpanj, most u naselju Raša	0	1,265	68,183	3,143	-0,857
40102	Cetina, Vinalić	33,077	3,821	4,609	6	0,097
40104	Cetina, Barišići	38,938	2,418	4,363	7	0,111
40200	Zrmanja, Butiga	30	5,349	2,951	6,053	0,111
40205	Zrmanja, Palanka	30	5,136	4,507	6,682	0,138
40208	Zrmanja-Žegar	24,823	7,91	9,793	5,821	0,118
40416	Krka, nizvodno od Knina	2,837	4,495	5,813	4,214	0,107
40441	Krka, Marasovine	30,631	3,811	2,521	6,722	0,116
40453	Butižnica, HE Golubić	18,889	2,403	4,98	5,273	0,078
40454	Butižnica, Bulin most	26,667	3,873	2,035	6,368	0,081
40515	Norin, Vid	13,043	7,066	17,163	4,903	0,089
	Gornja / referentna vrijednost	30,63	4,12	4,61	6,33	0,119
	Najlošija vrijednost	0	1,27	68,18	3,14	-0,857

#### PRITISCI

Hrvatska metoda usredotočuje se na: 1) uporabu zemljišta, 2) opterećenjem organskom tvari i 3) ugrožavanjem staništa (hidromorfološka izmjena).

Modul saprobnosti uzima u obzir organsko onečišćenje, dok su ostali pritisci uključeni u modul opće degradacije. Grafički prikazi uzimaju u obzir reakcije pokazatelja na pritiske u oba IK tipa, s obzirom da su tipovi prilično slični po svim ekološkim značajkam (razlikuju se samo nominalno po veličinama sliva gdje su većina postaja u djelovima sliva iznimno sličnih ekoloških svojstava).

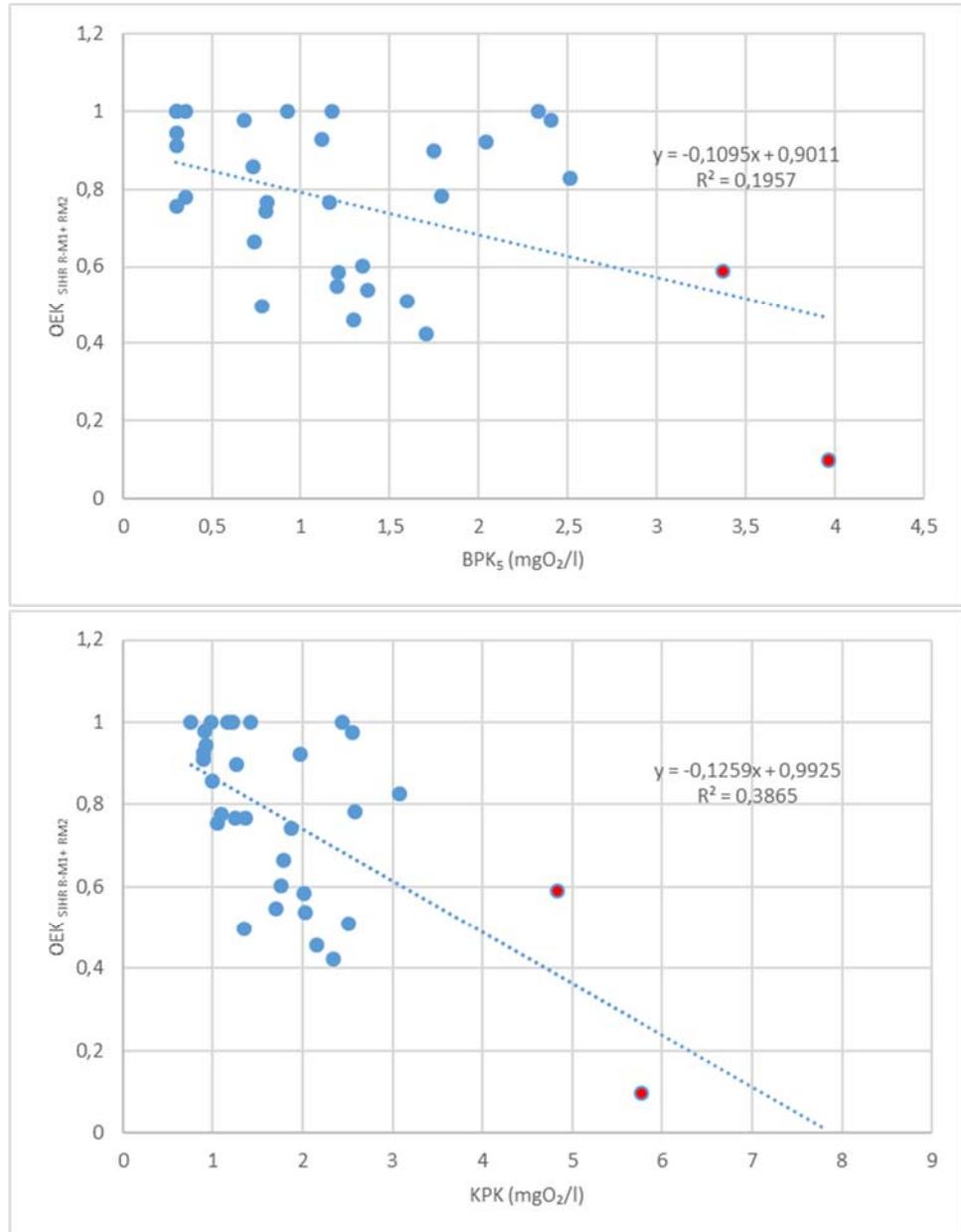
Nadalje, sam broj mjernih točaka je relativno nizak: R-M1 tip n = 15, i R -M2 tip n = 18.

Napomena: Najniža vrijednost obaju modula smatrali smo konačnom donjom vrijednošću i predlažemo sukladno odgovarajući pritisak ključnim u slučaju nezadovoljavajuće ocjene stanja za pojedinu lokaciju. Stoga je ova metoda usporediva s metodama koje su već uspješno interkalibrirane.

Navedeni su sljedeći odnosi pritiska i reakcije za hrvatsku metodu ocjenjivanja:

- 1) Saprobnost

Korelacije između hrvatske metode ocjenjivanja i  $BPK_5$  ( $r = -0,442$ ) te KPK ( $r = 0,622$ ) obje su statistički značajne ( $p < 0,05$ ). Pri isključivanju ekstremnih vrijednosti (obojene u crveno) iz analize, korelacija nacionalne metode i KPK je i dalje statistički značajna te vrijednost indeksa korelacije iznosi  $r = 0,421$ , dok u tom slučaju korelacija s  $BPK_5$  više nije statistički značajna ( $r = 0,01$ ;  $p > 0,05$ ).

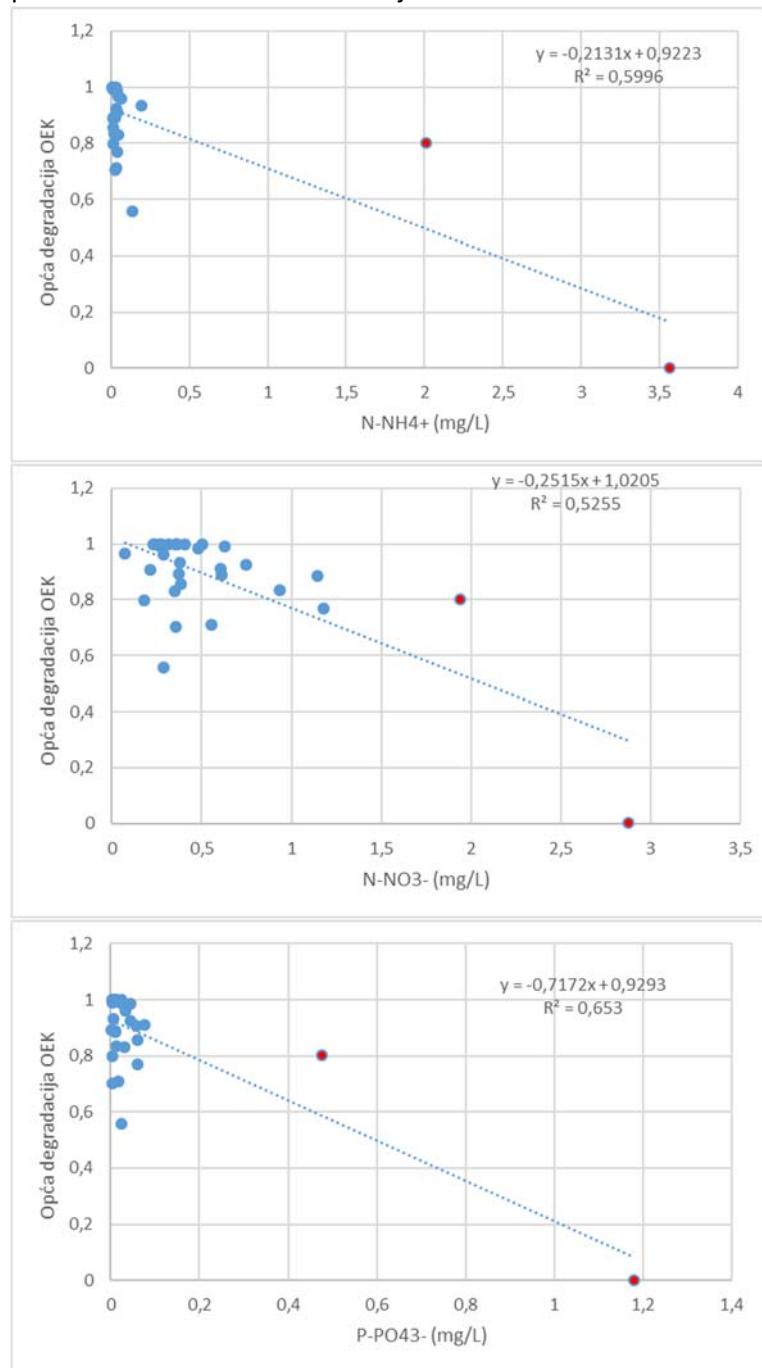


**Slika 6.1.1.1.** Odnos pritisaka i reakcija između biološke potrebe za kisikom ( $BPK_5$ ) i kemijske potrebe za kisikom (KPK) u odnosu na SIHR vrijednosti u riječnim tipovima R-M1 i R-M2.

## 2) Opća degradacija

### A) Kemija vode

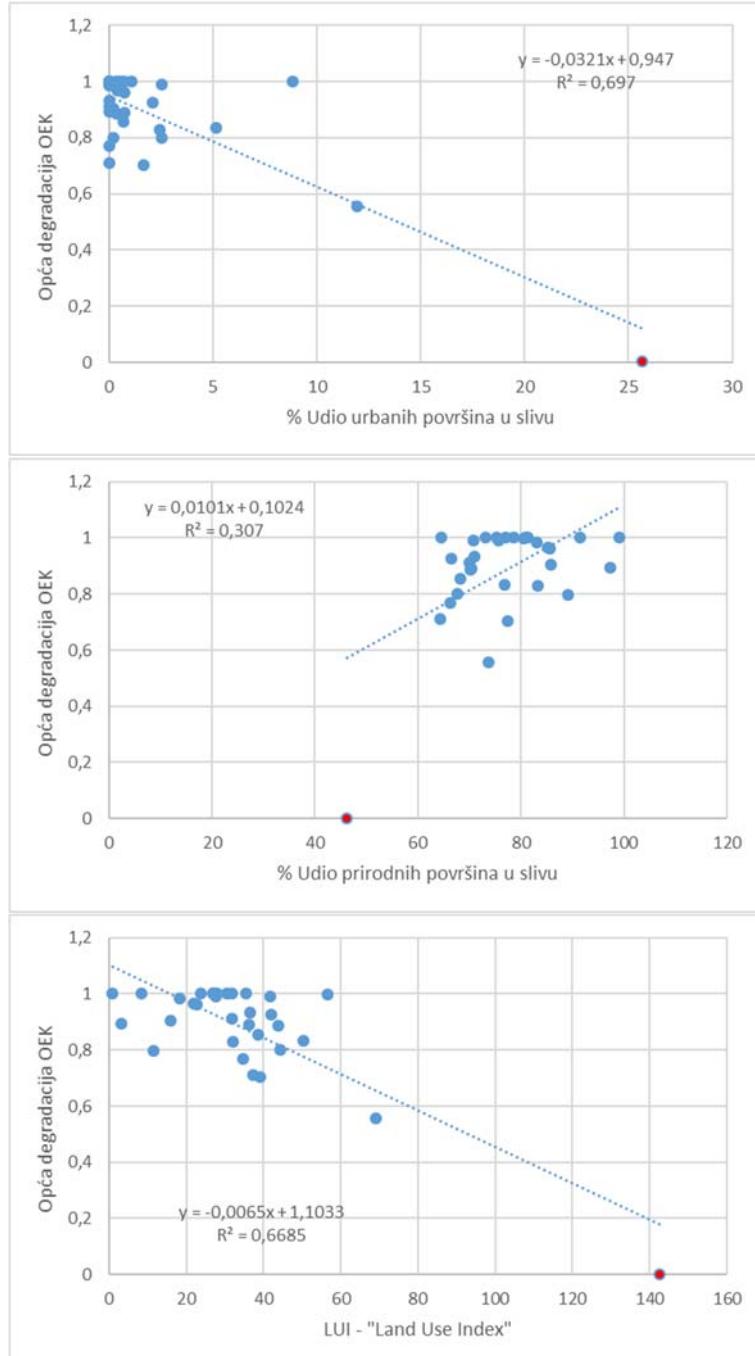
Korelacije između hrvatske metode ocjenjivanja i koncentracija amonijaka ( $r = -0,774$ ), nitrata ( $r = -0,725$ ) te ortofosfata ( $r = 0,808$ ) su statistički značajne ( $p < 0,05$ ). Pri isključivanju ekstremnih vrijednosti (obojene u crveno) iz analize, korelacije nacionalne metode i koncentracija amonijaka ( $r = -0,327$ ), nitrata ( $r = -0,279$ ) te ortofosfata ( $r = 0,209$ ) više nisu statistički značajne ( $p > 0,05$ ), premda je negativan trend i dalje prisutan u među navedenim varijablama.



**Slika 6.1.1.2.** Odnos pritisaka i reakcija između kemijskih svojstava vode i ocjene opće degradacije za IK tipove R-M1 and R-M2.

## B) Zemljjišni pokrov

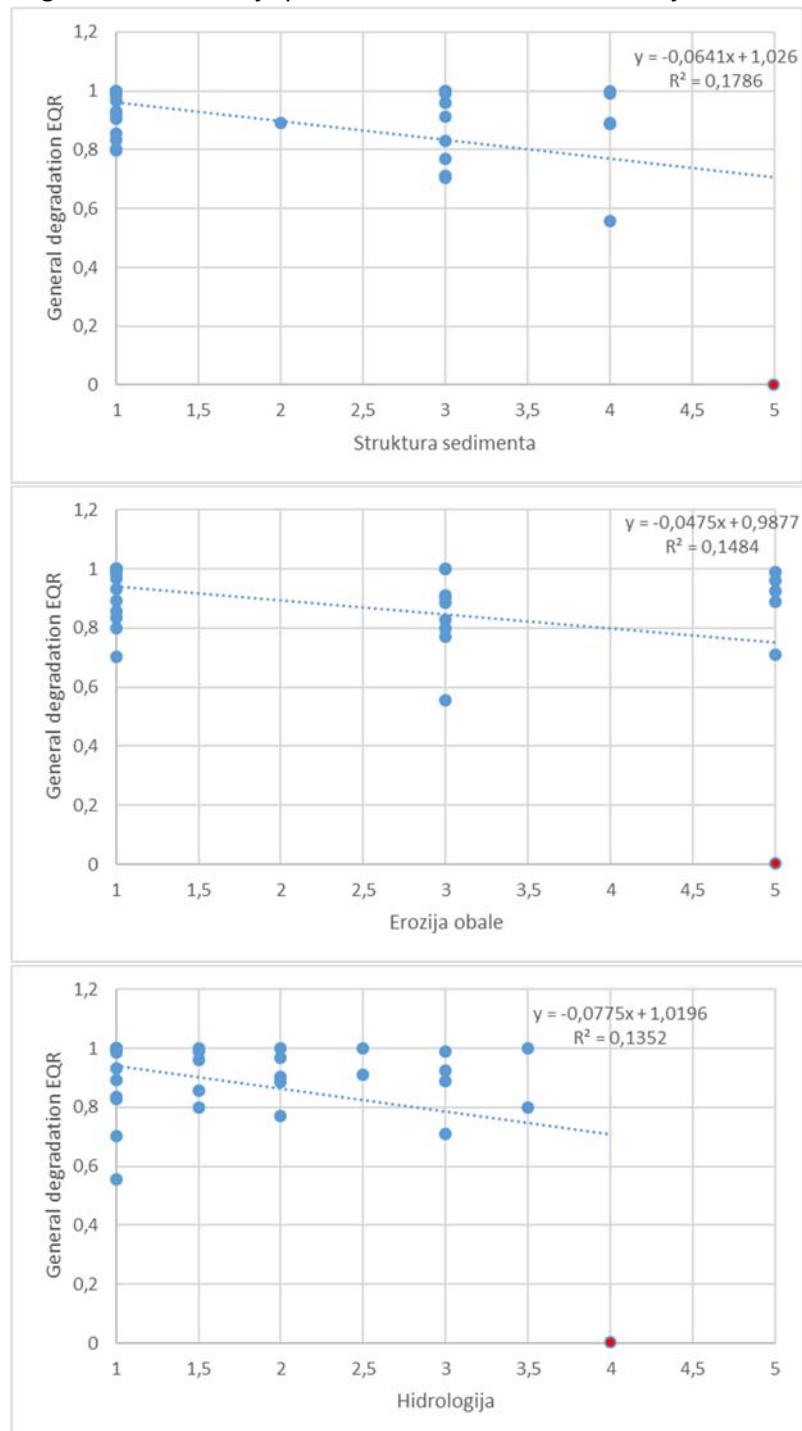
Korelaciije između hrvatske metode ocjenjivanja i udjela urbanih područja ( $r = -0,835$ ), udjela prirodnih područja u sливу ( $r = 0,554$ ) te LUI - a „Land Use Indeks“ ( $r = -0,818$ ) su statistički značajne ( $p < 0,05$ ). Pri isključivanju ekstremnih vrijednosti (obojene u crveno) iz analize, korelacije nacionalne metode i udjela urbanih područja ( $r = -0,447$ ) te LUI - a „Land Use Indeks“ ( $r = -0,458$ ) su i dalje statistički značajne, dok u tom slučaju korelacija s udjelom prirodnih područja više nije statistički značajna ( $r = 0,26$ ;  $p > 0,05$ ).



**Slika 6.1.1.3.** Odnosi između pritisaka zemljjišnog pokrova (urbano CLC-urbano; CLC-prirodno), Indeksa zemljjišnog pokrova (Land Use Indeks; LUI) prema Corine Land Cover, u odnosu na ocjene opće degradacije za IK tipove R-M1 and R-M2.

### C) Hidromorfologija

Korelacija između hrvatske metode ocjenjivanja i strukture sedimenta ( $r = -0,423$ ), erozije obale ( $r = -0,385$ ) te ocjene hidrologije ( $r = -0,365$ ) su statistički značajne ( $p < 0,05$ ). Pri isključivanju ekstremnih vrijednosti (obojene u crveno) iz analize, korelacije nacionalne metode i strukture sedimenta ( $r = -0,250$ ), erozije obale ( $r = -0,239$ ) te ocjene hidrologije ( $r = -0,205$ ) više nisu statistički značajne ( $p > 0,05$ ), premda je negativan trend i dalje prisutan u među navedenim varijablama.



**Slika 6.1.1.4.** Odnos pritisaka i odgovora između hidromorfološke ocjene i ocjene opće degradacije- za IK tipove R-M1 and R-M2.

## ZAKLJUČAK

Za sve tri skupine pritisaka (upotreba zemljišta, kemija vode i hidromorfološke promjene) utvrdili smo značajne regresijske odgovore. Zaključeno je da i indeks saprobnosti i opći degradacijski multimetrijski indeks jasno reagiraju na antropogene utjecaje i mogu se koristiti za procjenu ekološkog stanja.

## SUKLADNOST S ODV-OM

Prvi korak u postupku interkalibracije zahtjeva provjeru nacionalnih metoda uzimajući u obzir sljedeće kriterije sukladnosti s ODV-om.

**Tablica 6.1.1.8.** Popis kriterija i ocjena sukladnosti sukladnosti s ODV.

Kriterij	Izvršeno
Ekološko stanje razvrstano je u jedan od pet razreda	da
Vrlo dobro, dobro i umjereni ekološko stanje postavljeno je u skladu s normativnim definicijama ODV-a (postupak postavljanja granica)	da
Uključeni su svi relevantni parametri koji utječu na biološke elemente kakvoće (BEK)	da
Procjena je prilagođena interkalibracijskim uobičajenim tipovima koji su definirani u skladu s tipološkim zahtjevima ODV, a odobreni od WG ECOSTAT.	da
Vodno se tijelo procjenjuje na temelju tipičnih tipičnih, gotovo prirodnih referentnih uvjeta.	da
Rezultati procjene izražavaju se kao OEK	da
Postupak uzorkovanja omogućava reprezentativne informacije o kvaliteti vode / ekološkom stanju u prostoru i vremenu	da
Svi podaci relevantni za procjenu bioloških parametara navedenih u normativnim definicijama ODV obuhvaćeni su postupkom uzorkovanja	da
Odabrana taksonomska razina postiže odgovarajuću pouzdanost i preciznost u razvrstavanju	da

## PROVJERA IZVODLJIVOSTI INTERKALIBRACIJSKOG POSTUPKA

Cilj interkalibracijskog postupka je i da se stvarna interkalibracijska analiza ograniči na metode koje se bave istim uobičajenim tipovima i antropogenim pritiscima i slijede sličan koncept procjene.

**Tablica 6.1.1.9.** Zajednički interkalibracijski tipovi obuhvaćeni ovim izvještajem.

Zajednički IK tipovi	Obilježja
R-M1	<b>Sliv &lt;100 km<sup>2</sup>; mješovita geologija (osim silikatne); vrlo sezonski</b>
R-M2	<b>Sliv 100-1000 km<sup>2</sup>; mješovita geologija (osim silikatne); vrlo sezonski</b>
R-M5	Povremeni vodotoci

Tipologija u Hrvatskoj je preciznija, razlikujući mediteranske rijeke tipa R-M1 i R-M2, ne samo po veličini sliva, već i nadmorskoj visini. Rijeke subekoregije Istra (poluotok Istarska; HR-R-17 i HR-R-18) procjenjuju se odvojeno od ostalih rijeka dinarskog obalnog subekoregija zbog nekih geoloških razlika (Vidi Tablicu 6.1.1.1).

### Analizirani pritisci

Gradijent pritisaka procjenjen je sukladno CORINE zemljavičnom pokrovu (CLC) definiran kao:

Indeks zemljavičnog pokrova (LUI = Land use index);

LUI = 4 \* CLC urbana + 2 \* CLC intenzivna poljoprivreda + CLC ekstenzivna poljoprivreda

Rasponi za zemljavični pokrov su:

**Tablica 6.1.1.10.** Raspon IK tipova R-M1 i R-M2 za CLC/LUI.

CLC/LUI	Raspon za R-M1	Raspon za R-M2
CLC urban	0 – 11,96	0 – 25,70
CLC int. polj.	0 – 10,65	0 – 12,89
CLC ekst. polj.	0,02 – 35,42	2,26 – 34,17
CLC prirodno	63,85 – 99,08	46,26 – 97,30
LUI	0,92 – 68,98	3,14 – 142,60

Hidromorfološka skala izmjene kreće se od 1 (bez izmjene) do 5 (vrlo izmjenjeno) i sastoji se od više ocjena podijeljenih u tri glavna indeksa: hidrološki režim, morfologija i kontinuitet protoka kretali su se u rasponu od 1 do 5 za oba tipa rijeka, dok je srednji hidromorfološki rezultat u rasponu od 1 do 3,57 u M1 i od 1 do 4,29 u M2.

Rasponi za ispitivane kemijske pokazatelje su:

**Tablica 6.1.1.11.** Raspon IK tipova R-M1 i R-M2 za kemijske pokazatelje.

pokazatelj	Raspon za R-M1	Raspon za R-M2
BPK <sub>5</sub> [mg L <sup>-1</sup> ]	0,3 – 3,376	0,3 – 3,971
KPK [mg L <sup>-1</sup> ]	0,756 – 4,836	0,892 – 5,775
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> P [mg L <sup>-1</sup> ]	0,003 – 0,368	0,002 – 1,181
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> N [mg L <sup>-1</sup> ]	0,072 – 1,944	0,181 – 2,877
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> N [mg L <sup>-1</sup> ]	0,006 – 5,968	0,011 – 3,563
Ukupni P [mg L <sup>-1</sup> ]	0,006 – 0,477	0,005 – 1,659

#### DEMONSTRACIJA SUKLADNOSTI SA ZAVRŠENIM POSTUPKOM INTERKALIBRACIJE

Slijedom smjernica br. 30 CIS-a (Willby i sur. 2014), za metodu procjene prema BEK makrozoobentos primijenili smo u rijekama Med GIG tipa R-M1 i R-M2 inačicu A1.

Pritom su upotrijebljeni setovi podataka kako slijedi:

1. Podaci uobičajenih metrika (npr. indikatorske i težinske vrijednosti svoja)
2. Podaci prikladnih postaja i skupina podataka koja pokriva kvalitete okoliša iz kojeg se može izračunati nacionalni OEK i zajednička metrika
3. Prateće podatke o pritiscima u istom formatu kao one korištene u dovršenom postupku
4. Informacije o specifičnim granicama koji su već korišteni u postupku odrđivanja referentnih/benchmark postaja (npr. opseg poljoprivrednog zemljišta u slivu, koncentracije hranjivih tvari itd.)
5. Pojedinosti o tome kako je točno izvedeno definiranje referentnih/benchmark postaja (npr. stvaranje zajedničkog metričkog OEK-a dijeljenjem opažene vrijednosti medijanom iz nacionalnog seta podataka referentnih/benchmark postaja).
6. Vrijednosti granica vrlo dobrog i dobrog te dobrog i umjerenog stanja na zajedničkoj metričkoj skali za države članice koje su sudjelovale u završenom IK postupku.

#### Opis postupka interkalibracije

1. Izračunati zajedničku interkalibracijsku metriku na temelju nacionalnog seta podataka
2. Temeljem podataka o pritiscima odrediti referentne i benchmark postaje.
3. Standardizirati (normalizirati) vrijednosti zajedničke interkalibracijske metrike prema naputcima interkalibrirane skupine. Ako standardizacija benchmark-a nije potrebna u interkalibracijskoj grupi, potrebno je utvrditi da srednja vrijednost benchmark postaja leži unutar granica srednjih vrijednosti ostalih zemalja članica te interkalibracijske grupe.
4. Linearnom regresijom utvrditi odnos između zajedničke interkalibracijske metrike i nacionalnog OEK.
5. Projicirati pozicije nacionalnih granica (dobro/vrlo dobro; umjерено/dobro; loše/ umjерeno i referentno) prema linearnej regresiji sa zajedničkom interkalibracijskom metrikom.
6. Koristiti kriterij kompatibilnosti prema Poglavlju 6 Interkalibracijskog priručnika.

#### „Benchmark“ standardizacija

Izračunavanje interkalibracijskih zajedničkih mjerila/metrika (ICM) ili najbolje povezane interkalibracijske nacionalne klasifikacije (Best-Related Intercalibrated National Classification BRINC);

ICM uključuje sljedećih 6 metrika: ASPT, log10 (sel\_EPTD + 1), 1-GOLD, ukupan broj porodica, broj EPT svojti i Shannonov indeks raznolikosti. Indeks je opisan u Buffagni i sur. (2006). Glavni su koraci:

Normalizacija pojedinih mjerila dijeljenjem vrijednošću 75. percentila iz postaja vrlo dobrog stanja

Izračun ICM-a:

$$ICM = a * ASPT + b * \log_{10}(sel\_EPTD + 1) + c * 1-GOLD + d * br.Fam + e * EPT + f * H'$$

a – f – težinske mjere/vrijednosti

ASPT	a = 0,333
------	-----------

Log10 (sel_EPTD + 1)	b = 0,266
----------------------	-----------

1-GOLD	c = 0,067
--------	-----------

br.Fam	d = 0,167
--------	-----------

EPT	e = 0,083
-----	-----------

Shannon-Wiener H'	f = 0,083
-------------------	-----------

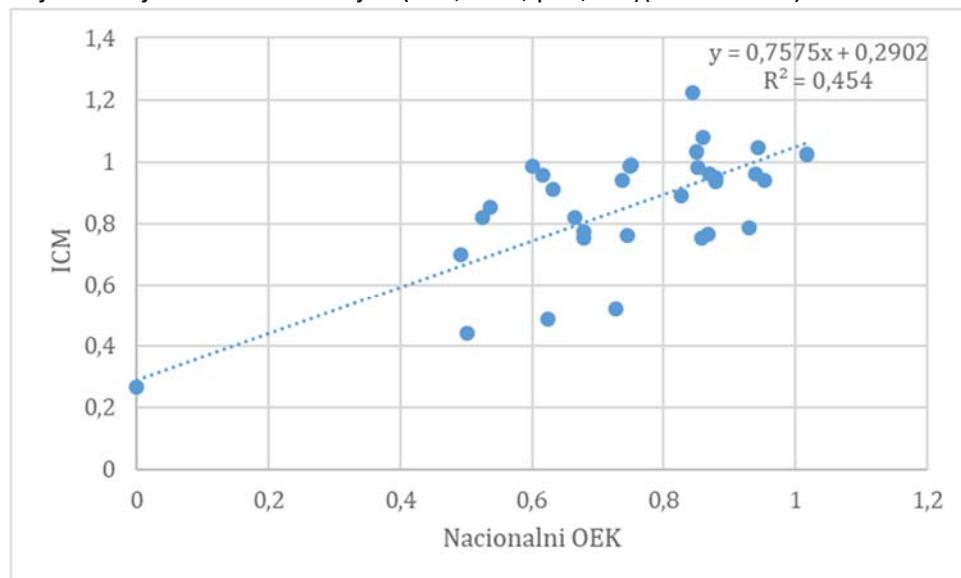
Normalizacija ICM-a (\_norm. ICM) i OEK-a (\_ norm. OEK) dijeljenjem izvornih vrijednosti sa 75. percentilom referentnih/benchmark postaja

**Tablica 6.1.1.12.** Normalizacija mjerila/metrika i izračun iCM (intercalibration common metric) za usporedbu s nacionalnim sustavom ocjene u IK tipovima R-M1 i R-M2.

IC Type	Code	Site	Average score per Taxon				Norm log(sel EPTD+1)	(1-GOLD)	Norm (1-GOLD)	Number of Families	Norm. Num. Of Fam.	Diversity (Shannon-Wiener-Index)			National EQR	iCM	norm iCM
			Norm. ASPT	log(sel EPTD+1)	Norm log(sel EPTD+1)	- EPT-Taxa						Norm. EPT					
M1	40198	Kobilica (pritok Zrmanje), Kusac	7,00	1,03	0,33	0,60	0,96	1,08	17,00	0,64	8,00	0,67	0,39	0,16	0,93	0,75	0,78
M1	40106	Potok Rumin (pritok Cetine)	5,43	0,80	0,40	0,73	0,91	1,02	17,00	0,64	6,00	0,50	1,20	0,51	0,86	0,72	0,75
M1	40108	Vojškova (pritok Cetine), Čitluk	6,45	0,95	0,51	0,94	0,93	1,04	29,00	1,08	18,00	1,50	1,59	0,68	0,94	1,00	1,04
M1	40429	Vrba, kod mjesta Vrba	6,00	0,88	0,54	0,99	0,75	0,84	26,00	0,97	11,00	0,92	2,46	1,05	0,85	0,94	0,98
M1	40430	Orašnica, prije utoka u Krku	4,87	0,72	0,53	0,98	0,21	0,23	39,00	1,46	6,00	0,50	2,00	0,86	0,63	0,87	0,91
M1	40431	Orašnica, Kninsko polje	4,94	0,73	0,34	0,64	0,85	0,95	24,00	0,90	5,00	0,42	1,93	0,83	0,75	0,73	0,76
M1	40432	Vrba, Ojdanići	5,91	0,87	0,34	0,64	0,78	0,87	32,00	1,20	9,00	0,75	2,05	0,88	0,83	0,85	0,89
M1	40443	Izvor Krke (pritok Une), granični prijelaz	7,25	1,07	0,62	1,14	0,67	0,75	34,00	1,27	21,00	1,75	2,87	1,23	0,84	1,17	1,22
M1	31008	Mufrin, Valenti	5,27	0,78	0,42	0,78	0,86	0,97	23,00	0,86	4,00	0,33	1,12	0,48	0,68	0,74	0,77
M1	31031	kanal Botonega, 200 m od utoka u Mirnu	6,33	0,93	0,41	0,75	0,55	0,61	30,00	1,12	11,00	0,92	2,83	1,21	0,62	0,91	0,96
M1	31070	Pazinčica Dubravica	4,75	0,70	0,00	0,00	0,05	0,06	14,00	0,52	5,00	0,42	1,82	0,78	0,50	0,42	0,44
M1	31071	Pazinčica, ponor	5,67	0,83	0,51	0,95	0,08	0,09	19,00	0,71	8,00	0,67	2,10	0,90	0,66	0,78	0,82
M1	31082	Boljunčica, nizvodno od mjesta Brus	5,63	0,83	0,00	0,00	0,08	0,09	13,00	0,49	6,00	0,50	1,76	0,75	0,62	0,47	0,49
M1	40213	Krupa, Manastir	7,05	1,04	0,49	0,91	0,71	0,80	23,00	0,86	12,00	1,00	1,54	0,66	0,94	0,92	0,96
M1	40218	Krupa, u selu Mandići	7,24	1,07	0,63	1,17	0,99	1,10	19,00	0,71	10,00	0,83	1,51	0,65	1,02	0,98	1,03
M2	40205	Zrmanja, Palanka	6,68	0,98	0,55	1,02	0,76	0,85	29,00	1,08	14,00	1,17	2,78	1,19	0,86	1,03	1,08
M2	40200	Zrmanja, Butiga	6,05	0,89	0,20	0,38	0,42	0,47	24,00	0,90	11,00	0,92	2,23	0,95	0,87	0,73	0,77
M2	14006	Una, kod izvorišta Loskun	6,33	0,93	0,56	1,03	0,84	0,94	26,00	0,97	15,00	1,25	2,10	0,90	0,85	0,99	1,03
M2	31010	Mirna, Portonski most	6,68	0,98	0,45	0,84	0,58	0,65	25,00	0,93	11,00	0,92	2,01	0,86	0,74	0,90	0,94
M2	31011	Mirna, Kamenita vrata	5,63	0,83	0,51	0,94	0,57	0,64	30,00	1,12	14,00	1,17	2,55	1,09	0,60	0,94	0,99
M2	31016	Obuhvatni kanal Srednja Mirna	4,63	0,68	0,31	0,57	0,82	0,91	25,00	0,93	3,00	0,25	1,46	0,62	0,49	0,67	0,70
M2	31017	Stara Mirna, Gradinje	5,41	0,80	0,40	0,74	0,73	0,82	24,00	0,90	8,00	0,67	2,65	1,13	0,54	0,82	0,85
M2	31024	Raša, most Mutvica	5,39	0,79	0,36	0,67	0,62	0,69	23,00	0,86	10,00	0,83	2,29	0,98	0,52	0,78	0,82
M2	31025	Obuhvatni kanal Krpanj, most u naselju Raša	3,14	0,46	0,00	0,00	0,00	0,00	10,00	0,37	0,00	0,00	1,10	0,47	0,00	0,26	0,27
M2	40515	Norin, Vid	4,90	0,72	0,48	0,88	0,59	0,66	45,00	1,68	8,00	0,67	2,63	1,12	0,75	0,95	0,99
M2	40453	Butižnica, HE Golubić	5,27	0,78	0,00	0,00	0,94	1,05	14,00	0,52	5,00	0,42	1,34	0,57	0,73	0,50	0,52
M2	40454	Butižnica, Bulin most	6,37	0,94	0,47	0,86	0,96	1,07	24,00	0,90	10,00	0,83	1,77	0,76	0,88	0,90	0,94
M2	40441	Krka, Marasovine	6,72	0,99	0,47	0,88	0,89	0,99	21,00	0,79	11,00	0,92	2,30	0,98	0,87	0,92	0,96
M2	40416	Krka, nizvodno od Knina	4,21	0,62	0,38	0,70	0,71	0,79	28,00	1,05	2,00	0,17	2,43	1,04	0,68	0,72	0,75
M2	40102	Cetina, Vinalić	6,00	0,88	0,45	0,84	0,94	1,05	29,00	1,08	13,00	1,08	1,10	0,47	0,95	0,90	0,94
M2	40104	Cetina, Barišići	7,00	1,03	0,50	0,93	0,85	0,95	18,00	0,67	12,00	1,00	1,69	0,72	0,88	0,91	0,95
M2	40208	Zrmanja-Zegar	5,82	0,86	0,38	0,70	0,57	0,63	37,00	1,38	18,00	1,50	3,02	1,29	0,75	0,98	0,99
$75^{\text{th}}$ percentile of the high status M1 and M2 sites			6,79		0,54		0,89		26,75		12,00		2,34			0,96	

Prevođenje nacionalnih granica u ICM ili BRINC:

Linearna regresija (obična metoda najmanjih kvadrata; eng. Ordinary Least Squares) između normaliziranih OEK vrijednosti nacionalne metode ocjene ekološkog stanja i normaliziranih ICM vrijednosti je statistički značajna ( $R=0,6738$ ;  $p<0,001$ )(Slika 6.1.1.5).



Slika 6.1.1.5. Linearna regresija (obična metoda najmanjih kvadrata; eng. Ordinary Least Squares) između normaliziranih OEK vrijednosti nacionalne metode ocjene ekološkog stanja i normaliziranih ICM vrijednosti za postaje na rijeckama IK tipova R-M1 i R-M2. Prikazane su i vrijednosti statističke značajnosti regresije (p) i Pearsonovog korelacijskog koeficijenta (r).

#### IZRAČUN KLASNIH GRANICA

Globalne srednje klasne granice vrlo dobrog i dobrog (V / D) te dobrog i umjerenog stanja (D / U) IK tipova tekućica R-M1 i R-M2 u MedGIG mogu se izvesti iz konačne tablice usklađenih klasnih granica (Feio, 2011). Srednja vrijednost prema težinskim srednjim kvadratima:

$$V / D \text{ globalni prosječni prikaz ICM-a je: } 0.87928 \pm 0.25 = 0.8962 - 1.0477$$

$$D / U \text{ globalni prosječni prikaz ICM-a je: } 0.70831 \pm 0.25 = 0.8962 - 0.7447$$

Izračun klasnih granica za tekuće IK tipa R-M1 i R-M2:

**Tablica 6.1.1.13.** Klasne granice za R-M1 i R-M2.

OEK	IK-norm OEK	Norm.ICM R-M1	Globalna srednja vrijednost	Odstupanje od globalne srednje vrijednost	Širina klase	Odstupanje u postocima
1	1.0477					1.0477
0,8	0.8962	0.87928	0.01692	0.1515	11%	0.8962
0,6	0.7447	0.70831	0.03639	0.1515	24%	0.7447
0,4	0.5932					0.5932
0,2	0.4417					0.4417

#### Harmonizacija granica

Nacionalne hranice vrlo dobrog i dobrog stanja (V / D) te dobrog i umjerenog stanja (D / U) su u okvirima globalnih vrijednosti na zajedničkoj metričkoj skali.. Količina odstupanja izražena u omjeru širine klase (nacionalnog) vrlo dobrog i dobrog stanja na zajedničkoj metričkoj skali iznosi < 0,25 za sve granice. Stoga nema potrebe prilagođavati granice.

Završne granice:

Za R-M1 i R-M2:

**Tablica 6.1.1.14.** Završne klasne granice za R-M1 i R-M2.

OEK	Norm. ICM R-M1 and R-M2
1	1.0477
0,8	0.8962
0,6	0.7447
0,4	0.5932
0,2	0.4417

## OPIS BIOLOŠKIH ZAJEDNICA

### OPIS BIOLOŠKIH ZAJEDNICA U TEKUĆICAMA VRLO DOBROG STANJA

Na postajama vrlo dobrog ekološkog stanja u IK tipu R-M1, jedinke Ephemeroptera, Plecoptera i Trichoptera predstavljaju oko 30 % (ili više) ukupnog sastava zajednice makrozoobentosa. Na tim je mjestima prisutna velika lokalna raznolikost (Margalef indeks oko 4 ili više). Udio r-vrsta relativno je nizak (oko 5 % ili manji). Svojte osjetljiva na hidromorfološku degradaciju i svojstva te vrlo osjetljiva na organsko onečišćenje obilno su prisutne.

Na postajama vrlo dobrog ekološkog stanja u IK tipu R-M2, jedinke Ephemeroptera, Plecoptera i Trichoptera predstavljaju oko 35 % (ili više) ukupnog sastava zajednice makrozoobentosa. Na tim je mjestima prisutna velika lokalna raznolikost (Margalef indeks oko 5 ili više). Udio r-vrsta relativno je nizak (oko 5 % ili manji). Svojte osjetljiva na hidromorfološku degradaciju i vrlo osjetljiva na organsko onečišćenje obilno su prisutne.

### OPIS BIOLOŠKIH ZAJEDNICA U TEKUĆICAMA DOBROG STANJA

Na postajama dobrog ekološkog stanja u IK tipu R-M1, jedinke Ephemeroptera, Plecoptera i Trichoptera predstavljaju oko 25 % (ili više) ukupnog sastava zajednice makrozoobentosa. Na tim je mjestima prisutna velika lokalna raznolikost (Margalef indeks oko 4). Udio r-vrsta relativno je nizak (oko 15 %). Prisutne su svojte osjetljive na hidromorfološku degradaciju i svojstvo vrlo osjetljive na organsko onečišćenje.

Na postajama dobrog ekološkog stanja u IK tipu R-M2, jedinke Ephemeroptera, Plecoptera i Trichoptera predstavljaju oko 25 % ukupnog sastava zajednice makrozoobentosa. Na tim mjestima postoji relativno velika lokalna raznolikost (Margalef indeks oko 4). Udio r-vrsta relativno je nizak (oko 10 %). Prisutne su svojte osjetljive na hidromorfološku degradaciju i svojstvo vrlo osjetljive na organsko onečišćenje.

### OPIS BIOLOŠKIH ZAJEDNICA U TEKUĆICAMA UMJERENOGL EKOLOŠKOG STANJA

Na postajama umjerenog ekološkog stanja u IK tipu R-M1, jedinke Ephemeroptera, Plecoptera i Trichoptera predstavljaju oko 20 % ukupnog sastava zajednice makrozoobentosa. Na tim je mjestima prisutna relativno velika lokalna raznolikost (Margalef indeks oko 3). Udio r-vrsta relativno je nizak (oko 20 %). Prisutne su i svojte osjetljive na hidromorfološku razgradnju i vrlo osjetljive na organsko onečišćenje, ali u manjoj mjeri nego tolerantne svojte.

Na postajama umjerenog ekološkog stanja u IK tipu R-M2, jedinke Ephemeroptera, Plecoptera i Trichoptera predstavljaju oko 20 % ukupnog sastava zajednice makrozoobentosa. Na tim je mjestima prisutna relativno velika lokalna raznolikost (Margalef indeks oko 3). Udio r-vrsta relativno je nizak (oko 20 %). Prisutne su i svote osjetljive na hidromorfološku razgradnju i vrlo osjetljive na organsko onečišćenje, ali u manjoj mjeri nego tolerantne svojte.

### 6.1.2. Interkalibracija tekućica tipa R-M5

Donesena je nova metoda ocjenjivanja procjene ekološkog stanja rijeka interkalibracijskog tipa R-M5 (pripadajućih sljedećih hrvatskih tipova: HR-R\_16A, HR-R\_16B, HR-R\_19), temeljena na makrobeskralješnjacima i predstavljena u ovome izvještaju. Ovaj interkalibracijski tip zastupljen je s malenim, ali dostatnim setom podataka (n=19), sastavljenim od bioloških podataka i svih pritisaka nužnih za usklađenje tijeka interkalibracije sa svim zahtjevima. Novopredstavljeni multimetrički indeks je u skladu s normativnim definicijama Okvirne direktive o vodama te su njegove granice kategorija na razini rezultata izvršenih interkalibracijskih postupaka.

Hrvatska metoda ocjenjivanja temeljena na makrobeskralješnjacima modularnog je tipa, s dva modula: saprobnost i opća degradacija. Metoda ocjenjivanja hrvatskih velikih rijeka na makrobeskralješnjacima temelji se također na istom pristupu i uspješno je interkalibrirana (Birk i sur., 2016.). Sustav je građen od metrika dokazano vezanih za stresore/pritiske.

Klasifikacijskoj metodi potvrđena je usklađenost s Okvirnom direktivom o vodama, izvedivost interkalibracije te su granice među kategorijama uspoređene s prihvaćenim granicama MED GIG interkalibracijskih postupaka, koji su slijedili upute CIS vodiča za interkalibraciju 30: „Procedure to fit new or updated classification methods to the results of a completed intercalibration exercise“ (Willby i sur., 2014.).

#### METODE I POTREBNI PARAMETRI BIOLOŠKIH ELEMENATA KAKVOĆE

Modul saprobnosti predstavlja normaliziranu vrijednost Hrvatskog saprobnog indeksa (SIHR), baziranog na Pantle-Buckovom indeksu, ali s prilagođenim indikatorskim vrijednostima. Modul opće degradacije je multimetrički indeks (opća degradacija MI) sastavljenog od 3 metrike: prosječna ocjena po svojti (ASPT = Average Score Per Taxon), Ritron indeks (RI = Rhithron Typie Index) i Indeks biocenotičkog područja (IBR = Index of Biocoenotic Region).

Multimetrički sustav nema sve metričke grupe uključene u izračun (Tablica 6.1.2.1.) zato što učestalo pojedine taksonomske grupe pokazuju veliku kovarijancu u odgovorima na hidrološka (u ovome slučaju abiotički opis rijeke) i antropogena opterećenja. Imajući na umu da odsustvo određene indikatorske svojstva može ukazivati bilo na antropogeno opterećenje bilo na nesposobnost indikatora da opstaje u povremenih vodotocima, procjena ekološke kakvoće može biti nesigurna i potencijalno netočna.

**Tablica 6.1.2.1.** Pregled metričkih grupa uključenih u Hrvatsku nacionalnu metodu procjenu IK tipa R-M5.

Država	Taksonomski sastav	Abundancija	Osjetljive/tolerantne svojste	Raznolikost	Odsustvo velikih taksonomskih grupa
HR	x	x	x	x	x

Kombinacija pravila korištenih u ovoj metodi:

Modul saprobnosti baziran je isključivo na OEK-u Hrvatskog saprobnog indeksa (SIHR). Modul opće degradacije je multimetrički indeks (opća degradacija MI), koji se računa na temelju OEKa četiriju metrika:  $0,2 * \text{EPT taxa} + 0,2 * \text{broj porodica} + 0,4 * \text{IBR} + 0,2 \text{ Shannonov indeks raznolikosti}$ . Za konačni rezultat za daljnju procjenu uzima se niži OEK od ovih dvaju modula. SIHR odgovara na parametre vezane na organsko onečišćenje kao što je biološka potrošnja kisika, ASPT odgovara na sve oblike pritisaka zemljишnog iskorištavanja slivnog područja (Corine Land Cover), RI odgovara uglavnom na hidromorfološke promjene te IBR ukazuje na kemijske pritiske.

Zaključak po pitanju usklađenosti s ODV-om:

Najindikativniji parametri uključeni.

## Obrada podataka

Metrike ASPT, RI i IBR izračunate su pomoću programa ASTERICS 4.04, gdje je SIHR izračunat zasebno.

SIHR je prilagođen saprobnii indeks prema Pantle-Bucku (1955):

$$SI_{HR} = \frac{\sum SI u_i}{\sum u_i}$$

gdje je:

SIHR = Hrvatski saprobnii indeks

Slui = indikatorska vrijednost pojedine vrste/svojte

ui = broj jedinki preračunat na m<sup>2</sup>

Indikatorske vrijednosti svojti makrobeskralješnjaka (SI) specifične su za Hrvatsku.

### Razina identifikacije

Preporučeno je da se identifikacija provodi što detaljnije, do razine vrste ukoliko je moguće. Potreban stupanj identifikacije makrobeskralješnjaka:

**Tablica 6.1.2.2.** Stupanj identifikacije potreban za Hrvatsku nacionalnu metodu ocjenjivanja.

Sistematska grupa	Stupanj identifikacije	Sistematska grupa	Stupanj identifikacije
Porifera	rod	Ephemeroptera	rod, vrsta
Hydrozoa	rod	Trichoptera	rod, vrsta
Bryozoa	prisustvo	Odonata	rod, vrsta
Turbellaria	rod, vrsta	Megaloptera	rod, vrsta
Oligochaeta	porodica, rod, vrsta	Heteroptera	rod, vrsta
Hirudinea	rod, vrsta	Coleoptera	rod, vrsta
Mollusca	rod, vrsta	Diptera	porodica, rod, vrsta
Crustacea	rod, vrsta	Hydrachnidia	prisustvo
Plecoptera	rod, vrsta		

## NACIONALNI REFERENTNI UVJETI

U MED GIG-u referentne postaje izjednačene su s tzv. benchmark postajama jer predstavljaju najbolje dostupne vrijednosti određene za abiotske podatke za mediteransku regiju (Feio, 2011) te ćemo u ovom izvještaju ova dva izraza koristiti kao sinonime. Postavljanje nacionalnih referentnih uvjeta za opću degradaciju slijedi one MED-GIG definirane za interkalibracijski tip R-M5 (Tablica 6.1.2.3.).

**Tablica 6.1.2.3.** Kriteriji za utvrđivanje referentnih postaja za MED GIG.

Pritisak	Referentni uvjeti
Kanaliziranost (1-4)	≤ 2
Promjena obale (1-4)	≤ 2
Povezanost (1-4)	≤ 2
Lokana promjena staništa (1-4)	≤ 2
Tok (1-4)	≤ 2
Utjecaj uzvodnih brana (1-4)	≤ 2
Hydropeaking (1-4)	≤ 2
Priobalna (riparijska) vegetacija (1-4)	≤ 2
[O <sub>2</sub> ] (mg/L) <sup>1</sup>	6,39-13,70
O <sub>2</sub> (%)	60,34-127,92

N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	≤0,09
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	≤1,15
P-uk (mg/L)	≤0,07
P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg/L)	≤0,06
% Umjetnog zemljišnog pokrova (sliv)	≤1
% Intenzivne poljoprivredne površine (sliv)	≤11
% Estenzivne poljoprivdne površine (sliv)	≤32
% Poluprirodni pokrov (sliv)	≥68

### Saprobnii indeks

Donja granica indeksa saprobnosti predstavlja najgoru teorijsku vrijednost na temelju operativnog popisa svojti i iznosi 3,6 (za sve abiotičke tipove). Vrijednost indeksa saprobnosti tipa R-M5 kretala se u rasponu od 1,28 do 2,60 (tablica 6.1.2.4). Gornja granica u R-M5 izračunata je tako što je od medijana tzv. „benchmark“ postaja oduzeto 20% vrijednosti. Referentna vrijednost indeksa saprobnosti za tip R-M5 jednaka je 1,19.

**Tablica 6.1.2.4.** Postaje interkalibracijskog tipa R-M5, prema uvjetima za referentne postaje (prema Feio, 2011.) te njihove vrijednosti saprobnog indeksa. „Benchmark“ postaje su osjenčane.

<b>R-M5</b>		O <sub>2</sub> (%)	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg/L)	P-Total (mg/L)	% Prirodna područja u slivu	% Urbana područja u slivu	Vrijednosti saprobnog indeksa
Code	Site/ criteria	73.72-127.92	≤0.09	≤1.15	≤0.06	≤0.07	≥68	≤1	
30081	Dubračina. Crikvenica (igralište)	106.69	0.02	0.43	0.01	0.02	89.77	3.51	1.29
30082	Suha Novljanska Ričina. 1 km uzvodno od ušća	123.95	0.02	0.35	0.01	0.04	88.86	7.05	1.45
30084	Suha Ričina Bašćanska. poslije Jurandvora	88.30	0.01	0.40	0.00	0.01	78.30	2.76	2.37
31009	Kvar. most na cesti Motovun-Pazin	98.00	0.01	0.43	0.00	0.07	63.85	0.00	1.94
31013	Bračana. uzvodno od ceste Buzet-Motovun	106.51	0.04	0.53	0.04	0.07	75.97	0.00	2.05
31014	Mala Huba. most na cesti Buzet-Motovun	100.61	0.05	0.83	0.02	0.05	52.52	4.91	2.35
31018	Draga Baredine. most Štuparija	94.64	0.02	0.35	0.01	0.07	68.67	0.00	1.30
31021	Raša. most Potpićan	97.77	0.01	0.44	0.01	0.05	66.85	0.54	2.60
31040	Dragonja. ušće. kod Kaštela	99.78	0.02	0.14	0.07	0.11	65.43	0.10	2.25
40140	Pritok Cetine uzvodno od Vinalića	88.67	0.02	0.39	0.01	0.01	68.05	1.30	1.37
40141	Zduški potok. prije utoka u Cetinu	107.88	0.03	0.48	0.02	0.03	29.90	4.18	1.28
40143	Donji kanal. pritok Cetine kod Trilja	58.14	1.19	0.77	0.21	0.36	77.22	0.82	1.83
40211	Jaruga. Ražanac	100.45	0.93	0.20	0.00	0.00	37.60	5.87	2.07
40220	Jaruga/Mijanovac. Zvjerinac	100.81	0.03	0.17	0.02	0.03	70.77	0.62	1.54
40221	Vodotok Bokanjac. prije ulaska u tunel	90.36	0.30	0.79	0.00	0.01	66.09	6.27	2.17
40315	Jaruga. Benkovac	82.63	0.18	1.69	0.06	0.07	51.79	9.22	1.50
40318	Bašćica. uzvodno od Posedarja	93.34	0.01	0.62	0.00	0.01	21.34	5.90	1.92
40507	Šipovača. Jelavića most	78.22	0.06	0.55	0.00	0.02	52.95	10.41	2.23
40702	Taranta. uzvodno od Srebrenog	117.40	0.03	0.65	0.03	0.04	53.03	17.69	1.88

### Opća degradacija

Modul opće degradacije sastavljen je od četiriju metrika: Indeks biocenotičke regije, EPT taxa, Ukupan broj porodica i indeks raznolikosti (Shannon-Wiener-Indeks). Referentna vrijednost svake metrike tipa R-M5 izračunata je tako što je od medijana tzv. „benchmark“ postaja vrijednost dobivena inverzijom formule (ref = H/G granica / 0.8) (Tablica 6.1.2.6.). Najlošija vrijednost svih metrika bila je najlošija vrijednost u ukupnom setu podataka.

**Tablica 6.1.2.6.** Metrike i njihove najlošije vrijednosti korištene u izračunu modula Opće degradacije R-M5 tipa. „Benchmark“ postaje su osjenčane.

Naziv postaje	Index of Biocoenotic Region	EPT taxa	Number of families	Diversity (Shannon-Wiener-Index)
Zduški potok, prije utoka u Cetinu	5.85	2	17	1.31
Potok Kotluša - pritok Cetine uzvodno od Vinalića	4.70	17	33	1.87
Šipovača, Jelavića most	5.59	9	25	2.83
Donji kanal, pritok Cetine kod Trilja	6.80	5	20	2.59
Dubračina, Crikvenica (igralište)	6.00	21	26	2.62
Suha Ričina Baščanska, poslijе Jurandvora	6.36	9	19	1.86
Suha Novljanska Ričina, 1 km uzvodno od ušća	6.60	5	19	1.80
Taranta, uzvodno od Srebrenog	5.71	3	14	1.46
Baščica, uzvodno od Posedarja	7.60	6	20	1.84
Jaruga/Mijanovac, Zvjerinac	4.70	5	33	2.12
Jaruga (Krivac), Benkovac	4.70	2	16	1.36
Vodotok Bokanjac, prije ulaska u tunel	9.00	2	11	1.31
Jaruga, Ražanac	7.14	11	16	3.22
Mala Huba, most na cesti Buzet-Motovun	6.83	5	20	2.27
Bračana, uzvodno od ceste Buzet-Motovun	5.78	21	18	2.62
Dragonja, ušće, kod Kaštela	6.72	14	31	2.93
Draga Baredine, most Štuparija	6.45	15	31	2.34
Raša, most Potpićan	5.52	6	22	1.76
Krvar, most na cesti Motovun-Pazin	3.93	14	21	2.37
Referentna vrijednost	6.25	20	32.5	2.93
Najlošija vrijednost	9	2	11	1.31
Min	9	2	11	1.31
Max	3.93	21	33	3.22
Medijan „benchmark“ postaja	5.24	16	26	2.35

## PRITISCI

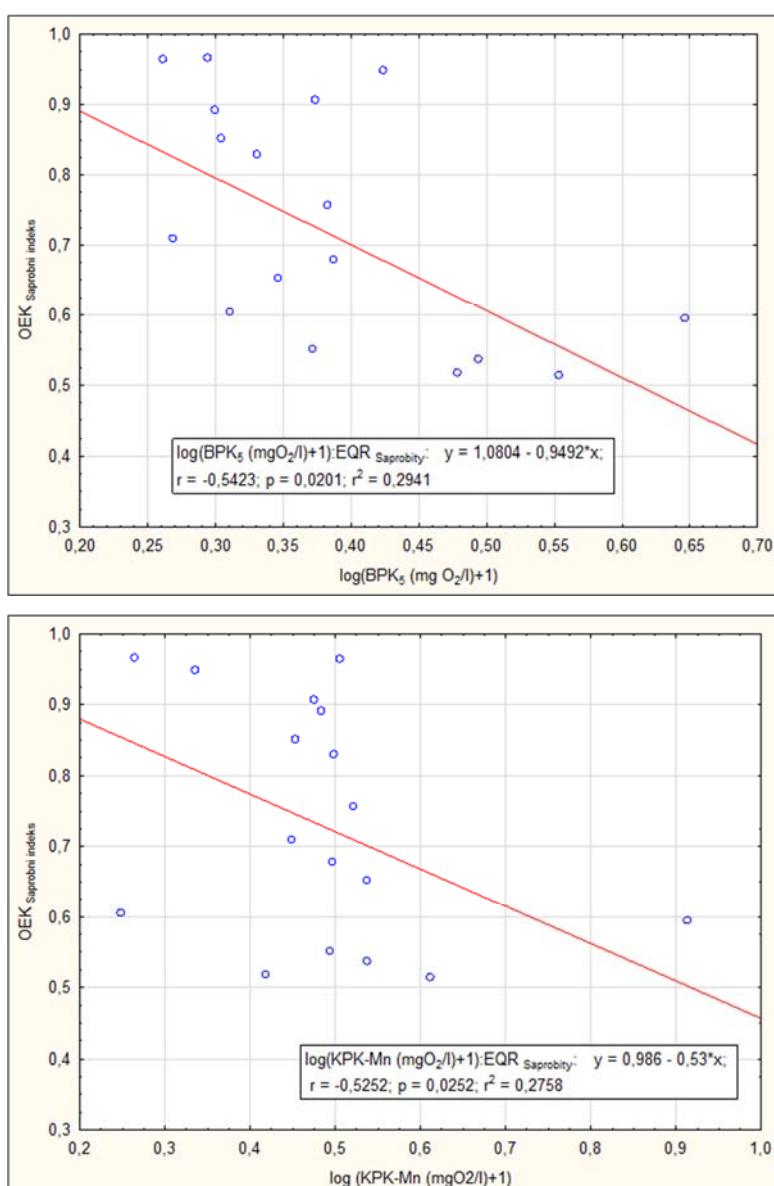
Hrvatska metoda usredotočuje se na: 1) uporabu zemljišta, 2) opterećenje organskom tvari te 3) ugrožavanje staništa (hidromorfološka izmjena).

Modul saprobnosti uzima u obzir organsko onečišćenje, dok su ostali pritisci obuhvaćeni modulom opće degradacije.

Najniža vrijednost obaju modula smatrali smo konačnom donjom vrijednošću i predlažemo sukladno odgovarajući pritisak ključnim u slučaju nezadovoljavajuće ocjene stanja za pojedinu lokaciju. Stoga je ova metoda usporediva s metodama koje su već uspješno interkalibrirane.

Sljedeće su veze između pritisaka i odgovora za hrvatsku metodu ocjenjivanja izražene preko:

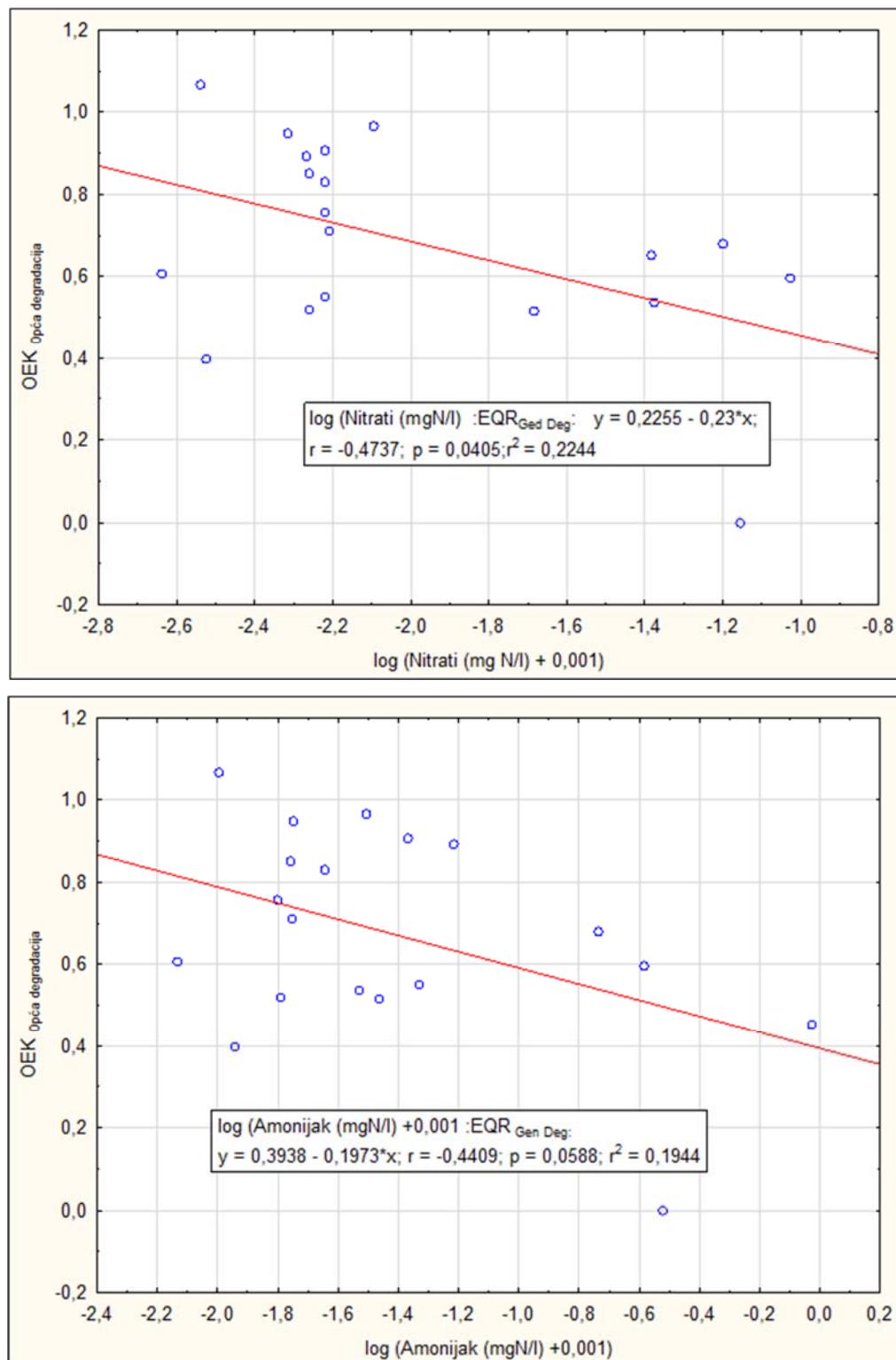
- 1) Saprobnost:



**Slika 6.1.2.1.** Odnos pritisaka i reakcija između biološke potrošnje kisika (BOK<sub>5</sub>) i kemijske potrošnje kisika (KPK) u odnosu na SIHR vrijednosti u riječnom tipu R-M5.

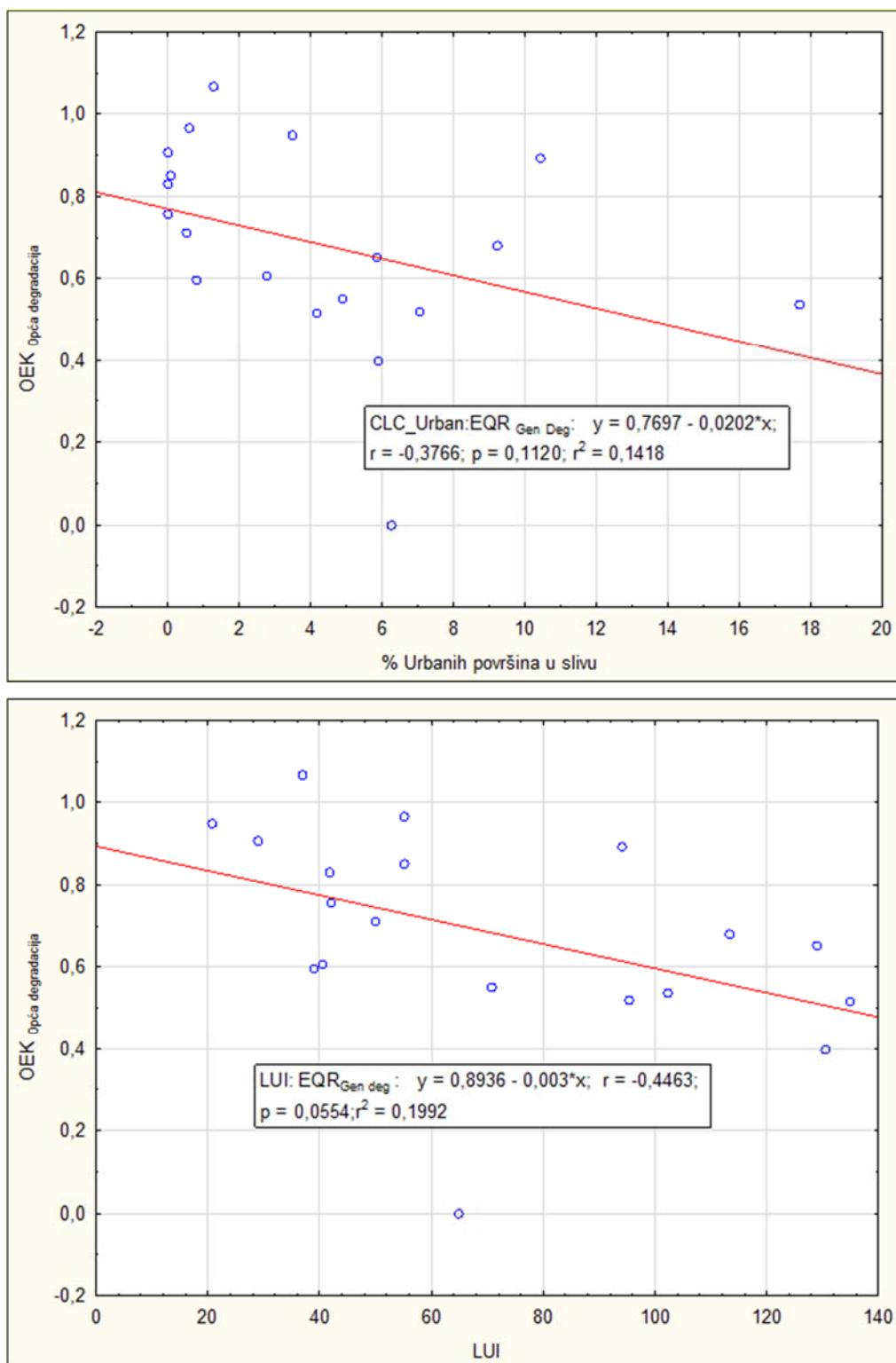
2) Opća degradacija:

A) Kemija vode:



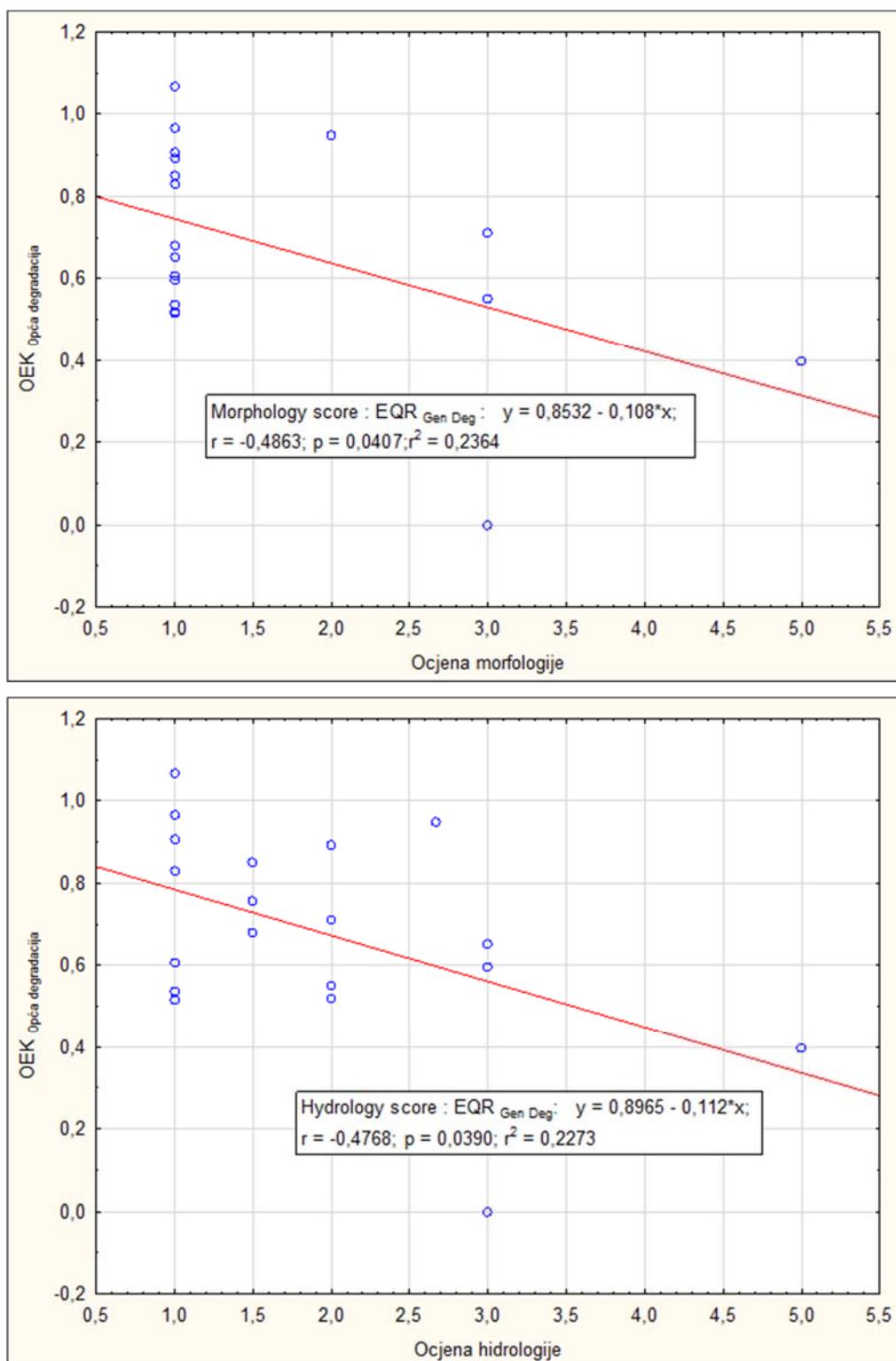
Slika 6.1.2.2. Odnos pritisaka i reakcija između kemijskih svojstava vode i ocjene opće degradacije za IK tip R-M5.

B) Zemljjišni pokrov



Slika 6.1.2.3. Odnosi između pritisaka zemljjišnog pokrova (urbano CLC-urbano) te Indeksa zemljjišnog pokrova (Land Use Indeks; LUI) prema Corine Land Cover, u odnosu na ocjene opće degradacije za IK tip R-M5.

C) Hidromorfologija



**Slika 6.1.2.4.** Odnos pritisaka i odgovora između morfološke i hidrološke ocjene te ocjene opće degradacije za IK tip R-M5.

## ZAKLJUČAK

Za kemijske i zemljivođe pritiske nađene su značajne regresije. U slučaju hidromorfološke promjene, uočen je jasan trend, premda nije statistički značajan. Zaključeno je da Saprobnii indeks, kao i Multimetrički indeks opće degradacije jasno odgovaraju na antropogeni utjecaj te stoga mogu vjerodostojno poslužiti procjeni ekološkog stanja.

## PROVJERA USKLAĐENOSTI S ODV

Prvi korak interkalibracijskog procesa zahtijeva provjeru nacionalnih metoda po sljedećim kriterijima ODV-a.

**Tablica 6.1.2.7.** Popis kriterija i ocjena sukladnosti s ODV.

Kriteriji	Izvršeno
Ekološko stanje razvrstano je u jedan od pet razreda	da
Vrlo dobro, dobro i umjereni ekološko stanje postavljeno je u skladu s normativnim definicijama ODV-a (postupak postavljanja granica)	da
Uključeni su svi relevantni parametri koji utječu na biološke elemente kakvoće (BEK)	da
Procjena je prilagođena interkalibracijskim uobičajenim tipovima koji su definirani u skladu s tipološkim zahtjevima ODV, a odobreni od WG ECOSTAT	da
Vodeno se tijelo procjenjuje na temelju tipičnih tipičnih, gotovo prirodnih referentnih uvjeta	da
Rezultati procjene izražavaju se kao OEK	da
Postupak uzorkovanja omogućava reprezentativne informacije o kvaliteti vode / ekološkom stanju u prostoru i vremenu	da
Svi podaci relevantni za procjenu bioloških parametara navedenih u normativnim definicijama ODV obuhvaćeni su postupkom uzorkovanja	da
Odabrana taksonomska razina postiže odgovarajuću pouzdanost i preciznost u razvrstavanju	da

## PROVJERA IZVODLJIVOSTI INTERKALIBRACIJE

Interkalibracijski postupak u idealnom smislu obuhvaća sve nacionalne metode ocjenjivanja unutar GIG-a. Međutim, usporedba različitih metoda ("jabuke i kruške") bi se naravno trebala izbjegći. Interkalibracijski postupak je usredotočen na specifični tip/biološki element kakvoće/kombinacija pritisaka. Drugi korak procesa predstavljen je kao "Provjera interkalibracijske izvedivosti" u svrhu ograničavanja interkalibracijske analize na metode svojstvene zajedničkom tipu i antropogenim opterećenjima, slijedivši sličan concept ocjenjivanja.

## Tipologija

**Tablica 6.1.2.8.** Usporedba interkalibracijskih tipova unutar hrvatske tipologije.

Interkalibracijski tip	Hrvatski tip	Obilježja hrvatskog tipa
<b>R-M5</b>	HR-R_16A	Male i srednje velike povremene prigorske tekućice Dinaridske obalne subekoregije
	HR-R_16B	Male nizinske povremene tekućice Dinaridske obalne subekoregije
	HR-R_19	Male povremene tekućice Istarske subekoregije

## Analizirani pritisci

Gradijent pritisaka procjenjen je sukladno CORINE zemljavičnom pokrovu (CLC) definiran kao:

Indeks zemljavičnog pokrova (LUI = Land use index);

$LUI = 4 * CLC \text{ urbana} + 2 * CLC \text{ intenzivna poljoprivreda} + CLC \text{ ekstenzivna poljoprivreda}$ :

$LUI = 4 * CLC \text{ urbana} + 2 * CLC \text{ intenzivna poljoprivreda} + CLC \text{ ekstenzivna poljoprivreda}$

Rasponi CLC-a i LUI-a su sljedeći:

**Tablica 6.1.2.9.** Raspon vrijednosti u R-M5 za CLC.

CLC/LUI	raspon R-M5
CLC urban	0 – 17,69
CLC int.polj.	0 – 52,17
CLC ekst.polj.	1,11 – 38,61
CLC prirodno	21,34 – 89,77
LUI	20,75 – 134,81

Rasponi za ispitivane kemijske pokazatelje su:

**Tablica 6.1.2.10.** Raspon vrijednosti u R-M5 za kemijske pokazatelje.

pokazatelj	raspon za R-M5
BPK <sub>5</sub> [mg/l]	0,825 – 3,431
KPK [mg/l]	0,768 – 7,816
PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> P [mg/l]	0,00 – 0,368
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> N [mg/l]	0,171 – 1,689
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> N [mg/l]	0,006 – 0,931
Ukupni P [mg/l]	0,365 – 18,516

## Koncept ocjenjivanja

Slijedi li nacionalna metodologija isti koncept ocjenjivanja kao i ostale metodologije unutar Interkalibracijske grupe? Potrebno je omogućiti procjenu izvodljivosti interkalibracije po pitanju koncepta ocjenjivanja drugih interkalibracijskih metoda.

**Tablica 6.1.2.11.** Kriteriji za prihvatljivost podataka potrebni za kontrolu kvalitete podataka i opis procesa prihvatanja podataka te rezultata (Feio, 2011.).

Kriteriji za prihvatljivost podataka	Provjera prihvatljivosti podataka za Hrvatsku	
Zahtjevi za podatke (obavezni i izborni)	Podaci o opterećenju, okolišni podaci, ispravno unesene tipologije i geografske loakcije i biološki podaci, sve prikladno predstavljeno u Excel datotekama	+

Metodologija uzorkovanja i analize	Metodologije svih država članica koriste „multi-habitat“ pristup. Sve države članice izrazile su odgovore na opterećenja preko statističkih alata	+
Potrebna razina taksonomske preciznosti i lista svojti sa šifrom	Potrebna je razina porodice	+
Minimalni broj postaja/uzoraka po interkalibracijskom tipu	Minimalno 15 referentnih postaja po interkalibracijskom tipu	-*
Potrebno obuhvaćanje svih relevantnih razreda kakvoće po tipu	Da	-*
*značajno za prethodni postupak interkalibracije, ali ne i za postupak pridruživanja		

#### Zaključak o izvodljivosti provedbe interkalibracije

Broj postaja u potpunosti odgovara uvjetima tipa te je dovoljno visok za provedbu postupka interkalibracije. Zaključeno je da je postupak interkalibracije izvediv za tip R-M5.

#### DEMONSTRACIJA SUKLADNOSTI SA ZAVRŠENIM POSTUPKOM INTERKALIBRACIJE

Pritom su upotrijebljeni setovi podataka kako slijedi:

- i. Podaci uobičajenih metrika (npr. indikatorske i težinske vrijednosti svojta)
- ii. Podaci prikladnih postaja i skupina podataka koja pokriva kvalitete okoliša iz kojeg se može izračunati nacionalni OEK i zajednička metrika
- iii. Prateće podatke o pritiscima u istom formatu kao one korištene u dovršenom postupku
- iv. Informacije o specifičnim granicama koji su već korišteni u postupku odrđivanja referentnih/benchmark postaja (npr. opseg poljoprivrednog zemljišta u slivu, koncentracije hranjivih tvari itd.)
- v. Pojedinosti o tome kako je točno izvedeno definiranje referentnih/benchmark postaja (npr. stvaranje zajedničkog metričkog OEK-a dijeljenjem opažene vrijednosti medijanom iz nacionalnog seta podataka referentnih/benchmark postaja)
- vi. Vrijednosti granica vrlo dobrog i dobrog te dobrog i umjerenog stanja na zajedničkoj metričkoj skali za države članice koje su sudjelovale u završenom IK postupku

#### Opis postupka interkalibracije

1. Izračunati zajedničku interkalibracijsku metriku na temelju nacionalnog seta podataka.
2. Temeljem podataka o pritiscima odrediti referentne i benchmark postaje.
3. Standardizirati (normalizirati) vrijednosti zajedničke interkalibracijske metrike prema naputcima interkalibrirane skupine. Ako standardizacija benchmark-a nije potrebna u interkalibracijskoj grupi, potrebno je utvrditi da srednja vrijednost benchmark postaja leži unutar granica srednjih vrijednosti ostalih zemalja članica te interkalibracijske grupe.
4. Linearnom regresijom utvrditi odnos između zajedničke interkalibracijske metrike i nacionalnog OEK.
5. Projicirati pozicije nacionalnih granica (dobro/vrlo dobro; umjерено/dobro; loše/ umjereni i referentno) prema linearnej regresiji sa zajedničkom interkalibracijskom metrikom.
6. Koristiti kriterij kompatibilnosti prema Poglavlju 6 Interkalibracijskog Priručnika.

#### Standardizacija „benchmark“ postaja:

Referentne/“benchmark“ postaje istovjetne su unutar R-M5 tipa, sukladno Feio, 2011.

Izračunavanje interkalibracijskih zajedničkih mjerila/metrika (ICM) ili najbolje povezane interkalibracijske nacionalne klasifikacije (Best-Related Intercalibrated National Classification BRINC);

ICM uključuje sljedećih 6 metrika: ASPT, log10 (sel\_EPTD + 1), 1-GOLD, ukupan broj porodica, broj EPT svojti i Shannonov indeks raznolikosti. Indeks je opisan u Buffagni i sur., 2006. Glavni su koraci:

Normalizacija pojedinih mjerila dijeljenjem vrijednošću 75. percentila iz postaja vrlo dobrog stanja.

Izračun ICM-a:

$$ICM = a * ASPT + b * \log_{10}(sel\_EPTD + 1) + c * 1-GOLD + d * br.Fam + e * EPT + f * H'$$

a – f – težinske mjere/vrijednosti

ASPT	a = 0,333
------	-----------

Log10 (sel_EPTD + 1)	b = 0,266
----------------------	-----------

1-GOLD	c = 0,067
--------	-----------

br.Fam	d = 0,167
--------	-----------

EPT	e = 0,083
-----	-----------

Shannon-Wiener H'	f = 0,083
-------------------	-----------

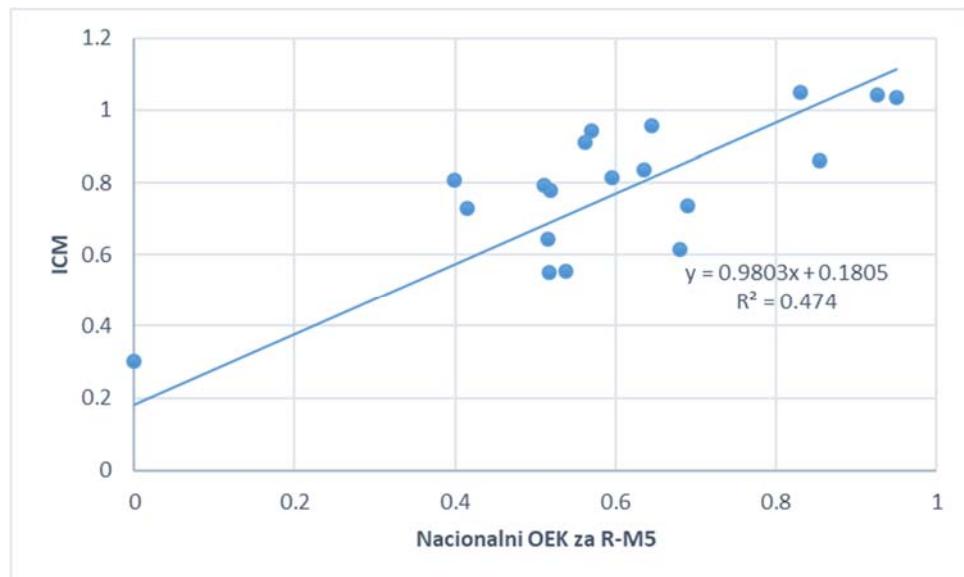
Normalizacija iCM (\_norm. ICM) i OEK (\_ norm. OEK) dijeljenjem izvornih vrijednosti sa 75. percentilom referentnih/benchmark postaja (Tablica 6.1.2.12.).

**Tablica 6.1.2.12.** Normalizacija metrika i izračun interkalibracijske zajedničke metrike ICM za usporedbu unutar nacionalne metodologije ocjenjivanja.

Šifra	Naziv postaje	Average score per Taxon	Norm. ASPT	log(sel EPTD+1)	Norm log(sel EPTD+1)	(1-GOLD)	Norm (1-GOLD)	Number of Families	Norm. Num. Of Fam.	- EPT-Taxa	Norm. EPT	Diversity (Shannon-Wiener-Index)	Norm H'	National EQR	iCM	norm ICM
<b>M5</b>																
40141	Zduški potok, prije utoka u Cetinu	4.23	0.67	0.51	0.97	0.08	0.12	17.00	0.65	2.00	0.13	1.31	0.56	0.51	0.65	0.64
40140	Potok Kotluša - pritok Cetine uzvodno od Vinalića	6.70	1.06	0.56	1.05	0.61	0.96	33.00	1.27	17.00	1.06	1.87	0.80	0.93	1.06	1.04
40507	Šipovača, Jelavića most	6.17	0.98	0.51	0.95	0.71	1.11	25.00	0.96	9.00	0.56	2.83	1.20	0.57	0.96	0.94
40143	Donji kanal, pritok Cetine kod Trilja	5.39	0.85	0.56	1.05	0.21	0.33	20.00	0.77	5.00	0.31	2.59	1.10	0.60	0.83	0.82
30081	Dubračina, Crikvenica (igralište)	5.78	0.92	0.57	1.08	0.89	1.40	26.00	1.00	21.00	1.31	2.62	1.11	0.95	1.05	1.03
30084	Suha Ričina Baščanska, poslije Jurandvora	5.42	0.86	0.42	0.80	0.71	1.12	19.00	0.73	9.00	0.56	1.86	0.79	0.51	0.81	0.79
30082	Suha Novljanska Ričina, 1 km uzvodno od ušća	5.30	0.84	0.41	0.78	0.89	1.40	19.00	0.73	5.00	0.31	1.80	0.76	0.52	0.79	0.78
40702	Taranta, uzvodno od Srebrenog	4.31	0.68	0.29	0.55	0.34	0.54	14.00	0.54	3.00	0.19	1.46	0.62	0.54	0.57	0.56
40318	Baščica, uzvodno od Posedarja	5.67	0.90	0.54	1.01	0.29	0.46	20.00	0.77	6.00	0.38	1.84	0.78	0.40	0.82	0.81
40220	Jaruga/Mijanovac, Zvjerinac	4.91	0.78	0.50	0.94	0.54	0.85	33.00	1.27	5.00	0.31	2.12	0.90	0.85	0.88	0.86
40315	Jaruga (Krivac), Benkovac	4.25	0.67	0.43	0.80	0.26	0.41	16.00	0.62	2.00	0.13	1.36	0.58	0.68	0.63	0.61
40221	Vodotok Bokanjac, prije ulaska u tunel	3.03	0.48	0.00	0.00	0.08	0.12	11.00	0.42	2.00	0.13	1.31	0.56	0.00	0.30	0.29
40211	Jaruga, Ražanac	5.48	0.87	0.46	0.86	0.58	0.91	16.00	0.62	11.00	0.69	3.22	1.37	0.64	0.85	0.84
31014	Mala Huba, most na cesti Buzet-Motovun	4.82	0.76	0.00	0.00	0.68	1.06	20.00	0.77	5.00	0.31	2.27	0.96	0.52	0.56	0.55
31013	Bračana, uzvodno od ceste Buzet-Motovun	6.42	1.02	0.51	0.95	0.63	0.99	18.00	0.69	21.00	1.31	2.62	1.11	0.64	0.98	0.96
31040	Dragonja, ušće, kod Kaštela	5.81	0.92	0.42	0.79	0.34	0.54	31.00	1.19	14.00	0.88	2.93	1.24	0.56	0.93	0.91
31018	Draga Baredine, most Štuparija	6.20	0.98	0.57	1.08	0.89	1.40	31.00	1.19	15.00	0.94	2.34	1.00	0.83	1.07	1.05
31021	Raša, most Potpićan	5.17	0.82	0.36	0.68	0.52	0.81	22.00	0.85	6.00	0.38	1.76	0.75	0.42	0.74	0.73
31009	Krvar, most na cesti Motovun-Pazin	4.67	0.74	0.29	0.55	0.64	1.01	21.00	0.81	14.00	0.88	2.37	1.00	0.69	0.75	0.74
Metric median of benchmark sites		6.31		0.53		0.64		26.00		16.00		2.35			1.02	

Prevođenje nacionalnih granica u ICM ili BRINC:

Linearna regresija (obična metoda najmanjih kvadrata; eng. Ordinary Least Squares) između normaliziranih OEK vrijednosti nacionalne metode ocjene ekološkog stanja i normaliziranih ICM vrijednosti je statistički značajna ( $R = 0,688$ ;  $p < 0,05$ ), poštujući zahtjeve provedbe interkalibracije ( $R \geq 0,5$ ). Linearna regresija dviju varijabli prikazana je na slici 6.1.2.5.



**Slika 6.1.2.5.** Linearna regresija (obična metoda najmanjih kvadrata; eng. *Ordinary Least Squares*) između normaliziranih OEK vrijednosti nacionalne metode ocjene ekološkog stanja i normaliziranih ICM vrijednosti za postaje IK tipa R-M5. Prikazane su i vrijednosti statističke značajnosti regresije ( $p$ ) i Pearsonovog korelacijskog koeficijenta ( $r$ ).

#### Izračun i postavljanje klasnih granica

Globalne srednje granice klasa vrlo dobrog i dobrog (V / D) te dobrog i umjerenog stanja (D / U) IK tipa tekućica R-M5 u MED GIG mogu se izvesti iz konačne tablice usklađenih klasnih granica (Feio, 2011). Srednja vrijednost prema težinskim srednjim kvadratima:

V / D globalni srednja vrijednost ICM-a je 0.975

D / U globalni srednja vrijednost ICM-a je 0.722

#### Izračun klasnih granica za R-M5:

**Tablica 6.1.2.13.** Klasne granice između kategorija ekološkog stanja.

Nacionalni OEK	Norm. ICM R-M5	Globalna srednja vrijednost	Odstupanje od globalne srednje vrijednosti	Širina razreda	Odstupanje izražen kao omjer
1	1.1608				
0,8	0.96474	0.975	-0.01026	0.19606	-5%
0,6	0.76868	0.722	0.04668	0.19606	24%
0,4	0.57262				
0,2	0.37656				

### Usklađivanje graničnih vrijednosti

Nacionalne granice vrlo dobrog i dobrog stanja (V / D) na zajedničkoj metričkoj skali pada ispod globalne srednje vrijednosti te su granice dobrog i umjerenog stanja (D / U) iznad globalne srednje vrijednosti za R-M5. Količina odstupanja izražena u omjeru širini klase (nacionalnog) vrlo dobrog i dobrog stanja na zajedničkoj metričkoj skali iznosi  $\leq 0.25$  za sve granice. Stoga nema potrebe prilagođavati granice.

Završne granice:

Završne granice za R-M5:

**Tablica 6.1.2.14.** Prikaz klasnih granica.

OEK	Norm. ICM R-M5
1	1.1608
0,8	0.96474
0,6	0.76868
0,4	0.57262
0,2	0.37656

### OPIS BIOLOŠKIH ZAJEDNICA

#### OPIS BIOLOŠKIH ZAJEDNICA TEKUĆICA VRLO DOBROG STANJA

Na postajama vrlo dobrog ekološkog stanja u IK tipu R-M5, dominiraju reofilne svoje beskralješnjaka, pokazujući vrijednosti Rhithron Typie Indeksa od 8 ili više. Svoje osjetljive na hidromorfološku degradaciju i svoje vrlo osjetljive na organsko onečišćenje zastupljene su velikom brojnošću.

#### OPIS BIOLOŠKIH ZAJEDNICA TEKUĆICA DOBROG STANJA

Na postajama dobrog ekološkog stanja u IK tipu R-M5, reofilni beskralješnjaci prisutni su u velikom broju, pokazujući vrijednost Rhithron Typie Indeksa oko 6. Svoje osjetljive na hidromorfološku degradaciju i svoje osjetljive na organsko onečišćenje su prisutne.

#### OPIS BIOLOŠKIH ZAJEDNICA TEKUĆICA UMJERENOG EKOLOŠKOG STANJA

Na postajama umjerenog ekološkog stanja u IK tipu R-M5, reofilni beskralješnjaci su brojni, ali također su i generalisti prisutni u relativno velikom broju te su vrijednosti Rhithron Typie Indeksa oko 5. Svoje osjetljive na hidromorfološku degradaciju i svoje osjetljive na organsko onečišćenje su idalje pristune, ali smanjenom brojnošću u odnosu na tolerantne svoje.

### Literatura:

AQEM Consortium 2002. Manual for the application of the AQEM system. A comprehensive method to assess European streams using benthic macroinvertebrates, developed for the purpose of the Water Framework Directive. Version 1, February 2002: 198 pp.

Birk S, Böhmer J, Schöll F. 2016. XGIG Large River Intercalibration Exercise - Milestone 6 Report - Intercalibrating the national classifications of ecological status for very large rivers in Europe – Biological Quality Element: Benthic Invertebrates - Version 2, 228 p.

Buffagni A, Erba S, Cazzola M, Murray-Bligh J, Soszka H, Genoni P (2006). The STAR common metrics approach to the WFD intercalibration process: Full application for small, lowland rivers in three European countries. *Hydrobiologia* 566: 379-399.

CIS Guidance Document No. 14. 2011. Guidance document on the intercalibration process 2008–2011. Implementation strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC). European Commission, Technical report-2011-045.

Feio M J (ed., 2011). WFD Intercalibration Phase 2: Milestone 6 report – River/Med GIG /Benthic Invertebrates (30th Decemebr 2011). European Commission Directorate General, JRC, Institute of Environment and Sustainability.

Willby, N., S. Birk, S. Poikane & W. van de Bund 2014. Water Framework Directive Intercalibration Manual – Procedure to fit new or updated classification methods to the results of a completed intercalibration. JRC Technical Report, Luxembourg, Ispra.

## 6.2. Biološki element: Fitobentos

### 6.2.1. Interkalibracija tipova tekućica R-M1, R-M2 i R-M5

#### INTERKALIBRACIJSKI POSTUPAK ZA FITOBENTOS

Službeni postupak interkalibracije metoda procjene ekološkog stanja tekućica temeljenih na BEK fitobentos unutar mediteranskog GIG-a uspješno je završen u 2012. godini (WFD Intercalibration Phase 2: Milestone 6 report. Rivers/Mediterranean GIG/Phytobenthos, 2012). Rezultati prve faze uključeni su u prvu odluku Komisije (COM DEC 2008/915/EK). U drugoj fazi interkalibracijski postupak je ponovljen korištenjem većih skupova podataka kako bi se u potpunosti udovoljilo zahtjevima novih smjernica, a njeni rezultati uključeni su u drugu Odluku Komisije (COM DEC 2013/480/EK). Hrvatska nije sudjelovala niti u jednom krugu interkalibracijske vježbe s podacima za fitobentos.

Cilj ovog izvješća je utvrditi da je sadašnja hrvatska metoda procjene ekološkog stanja mediteranskih tekućica IK tipova R-M1, R-M2 i R-M5 utemeljena na bentoskim algama kremenjašicama (dijatomejama) u skladu s normativnim definicijama ODV i da su granice klase u skladu s rezultatima dovršenog postupka interkalibracije.

Konkretno, provjerena je sukladnost metoda klasifikacije s ODV i izvodljivost interkalibracijskog postupka, a granice klase uspoređene su s dogovorenim granicama iz postupka interkalibracije za MED-GIG slijedeći upute smjernice CIS br. 30: „Postupak uklapanja u novu ili ažuriranu klasifikaciju metode do rezultata završene interkalibracijskog postupka vježbe” (Willby i sur., 2014.).

#### TIPOLOGIJA

Unutar MED-GIG interkalibracijske grupe razmatrano je pet zajedničkih IK tipova tekućica za interkalibraciju fitobentosa (Tablica 6.2.1.1.). Tipovi R-M1, R-M2 i R-M4 grupirani su zajedno slijedeći iste principe tijekom procesa interkalibracije fitobentosa, dok je R-M5 tretiran zasebno. Tip R-M3 nije interkalibriran zbog nedostatka usporedivosti metoda zemalja članica i nedovoljnog broja referentnih točaka.

**Tablica 6.2.1.1.** Zajednički IK tipovi tekućica u mediteranskom GIG-u prema izvještaju WFD Intercalibration Phase 2: Milestone 6 report. Rivers / Mediterranean GIG / Phytobenthos, 2012.

IK tip	Obilježja	Države kojima pripadaju zajednički IK tipovi
R-M1	sliv <100 km <sup>2</sup> ; mješovita geologija (osim nesilikatne); izražena sezonalnost	Španjolska, Francuska, Italija, Portugal, Slovenija
R-M2	sliv 100-1000 km <sup>2</sup> ; mješovita geologija (osim nesilikatne)); izražena sezonalnost	Španjolska, Italija, Portugal, Slovenija
R-M3	sliv 1000-10000 km <sup>2</sup> ; mješovita geologija (osim silikatne); izražena sezonalnost	Nije moguće interkalibrirati uslijed slabe usporedivosti nacionalnih metoda i malog broja referentnih postaja
R-M4	Tekućice nesilikatne podloge; izražena sezonalnost	Italija, Francuska, Španjolska, Cipar
R-M5	Povremene tekućice	Španjolska, Italija, Portugal, Slovenija, Cipar

Hrvatske tekućice uključene u ovo izvješće grupirane su u 9 nacionalnih tipova s pripadajućim podtipovima (HR-R\_11, HR-R\_12, HR-R\_13, HR-R\_13A, HR-R\_14A, HR-R\_14B, HR-R\_15A, HR-R\_15B,

HR-R\_16A, HR-R\_16B, HR-R\_17, HR-R\_18 i HR-R\_19), kao dio dinarske ekoregije zapadnog Balkana (ER5; prema Illies, 1978.). Nacionalni su tipovi, kao dio jadranskoga sliva, svrstani u 3 zajednička IK tipa: R-M1, R-M2 i R-M5 (Tablica 6.2.1.2.). Na rijeke utječe uglavnom mediteranska i dijelom kontinentalna klima sa značajnim sezonskim kolebanjima protoka.

**Tablica 6.2.1.2.** Hrvatski tipovi tekućica Dinarske ekoregije uključeni u zajedničke IK tipove mediteranskog GIG-a, zajedno s referentnim i najlošijim vrijednostima hrvatskog trofičkog indeksa dijatomeja (TDI<sub>HR</sub>).

<i>Nacionalni naziv</i>	<i>Nacionalni tip</i>	<i>Referentna vrijednost</i>	<i>Najlošija vrijednost</i>	<i>IK tip</i>
Nizinske i prigorske male tekućice	HR-R_11A	1,8	4,78	M1
Prigorske srednje velike tekućice u vapnenačkoj podlozi	HR-R_12	1,8	4,8	M2
Nizinske srednje velike i velike tekućice	HR-R_13	1,8	4,78	M2
Nizinske velike tekućice s baražnim ujezerenjem	HR-R_13A			
Nizinske male tekućice u vapnenačkoj podlozi s padom > 5 %	HR-R_14A	1,8	4,8	M1
Nizinske srednje velike tekućice u vapnenačkoj podlozi s padom > 5 %	HR-R_14B	1,8	4,8	M2
Nizinske male i srednje velike tekućice krških polja	HR-R_15A	1,8	4,8	M1
Prigorske male i srednje velike tekućice krških polja	HR-R_15B	1,8	4,8	M2
Povremene tekućice	Prigorske male i srednje velike povremene tekućice	HR-R_16A	1,8	4,8
	Nizinske male povremene tekućice	HR-R_16B		
Nizinske i prigorske male tekućice Istre	HR-R_17	1,5	4	M1
Nizinske srednje velike tekućice Istre	HR-R_18	1,8	4,8	M2
Povremene tekućice Istre	HR-R_19	1,7	4,6	M5

Nacionalna metoda za procjenu ekološkog stanja rijeka koristi bentoske dijatomeje kao izravne pokazatelje stanja ukupne zajednice fitobentosa. Metoda je u skladu s normativnim definicijama ODV koje koriste druge države članice te uzima u obzir taksonomski sastav i relativnu brojnost vrsta. Uzorkovanje, obrada uzoraka, identifikacija dijatomeja i obrada podataka temelje se na europskim standardima EN 13946: 2014 i EN 14407: 2014 (European Committee for Standardization, 2014a, b). Ekološki status procjenjuje se primjenom Hrvatskog trofičkog indeksa dijatomeja TDI<sub>HR</sub>, dijatomejske metrike prilagođene prema Rottovom indeksu (Rott i sur., 1999.). Postupak je detaljno opisan u „Metodologiji za uzorkovanje, laboratorijskim analizama i utvrđivanju ekoloških omjera kvalitete za biološke elemente kvalitete“ (Narodne novine, br. 73/13, 151/14, 78/15, 61/16, 80/18, 96/19).

Uzorkovanje bentoskih dijatomeja obavlja se struganjem sa čvrste podloge (s najmanje pet kamena) u glavnom toku (struji) tekućice, u dobro izloženoj eufotičkoj zoni. Uzorkovanje se provodi jednom godišnje, uglavnom u proljeće, za vrijeme povoljnog i stabilnog vodostaja.

Uzorci dijatomeja u laboratoriju se obrađuju prema normi HRN EN 13946: 2014, gdje se klorovodična kiselina koristi za uklanjanje anorganskog materijala, a sumporna kiselina ili vrući vodikov peroksid za uklanjanje organske tvari. Trajni mikroskopski preparati se pripremaju postavljanjem čiste dijatomejske suspenzije s Naphraxom. Pregledava se oko 400 valvi dijatomeja koje se određuju do najniže moguće taksonomske razine pomoću svjetlosnog mikroskopa s diferencijalnim kontrastom interferencije pri povećanju od 1000 puta.

Trofičke indikatorske vrijednosti i težine svih identificiranih dijatomejskih vrsta definirane su u skladu s proširenim operativnim popisom uključenom u „Metodologiju za uzorkovanje, laboratorijske analize i određivanje omjera ekološke kvalitete za biološke elemente kvalitete“ (Narodne novine 73/13, 151/14, 78/15, 61/16, 80/18, 96/19). Izračun se obavlja modificiranim postupkom prema Zelinka-Marvan (1961.):

$$TDI_{HR} = \frac{\sum_{i=1}^n Ai \times IVi \times IW_i}{\sum_{i=1}^n Ai \times IW_i}$$

gdje su:

$A_i$  = Ukupni broj stanica/valva pojedine vrste u uzorku

$IV_i$  = indikatorska vrijednost (tolerancija) vrste

$IW_i$  = indikatorska težina (osjetljivost) vrste

Ekološko stanje procjenjuje se na temelju vrijednosti OEK prema  $TDI_{HR}$ .  $OEK\_TDI_{HR}$  izračunava se sukladno Metodologiji uzorkovanja, laboratorijskim analizama i utvrđivanju ekoloških omjera kvalitete za elemente biološke kvalitete (NN 73/13, 151/14, 78/15, 61/16, 80/18, 96/19) :

$$OEK\_TDI_{HR} = \frac{vrijednost TDI_{HR} - najlošija vrijednost TDI_{HR}}{referentna vrijednost TDI_{HR} - najlošija vrijednost TDI_{HR}}$$

Nacionalni skup podataka koji se koristio za interkalibraciju sadrži podatke 56 uzoraka iz 37 tekućica (Tablica 6.2.1.3.). Fizikalno-kemijski podaci (ukupni fosfor, ortofosfati, nitrati, amonij, kisik, BPK<sub>5</sub>) i podaci o korištenju zemljišta u slivu (umjetna područja, intenzivna i neintenzivna poljoprivreda, poluprirodna područja), kao i biološki podaci ( $TDI_{HR}$ , popis vrsta s relativnim brojnostima) dostupni su za sve predmetne uzorke (Tablica 6.2.1.4.). Gradijent pritisaka smatra se dovoljnim, iako je dio gradijenta lošeg i vrlo lošeg ekološkog stanja slabije zastupljen.

**Tablica 6.2.1.3.** Popis podataka dostupnih u nacionalnom skupu podataka koji su uključeni u interkalibraciju.

IK tip	Uzoraka	Fizikalno-kemijskih podataka	HyMo podataka	Bioloških podataka	Ukupno
R-M1	15	15	15	15	15
R-M2	22	22	22	22	22
R-M5	19	19	19	19	19

**Tablica 6.2.1.4.** Raspon vrijednosti okolišnih čimbenika na postajama uključenim u interkalibraciju.

(N=56)	MIN	MAX
P-Total [mg L <sup>-1</sup> ]	0,0034	0,3880

P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> [mg L <sup>-1</sup> ]	0,0015	0,1660
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [mg L <sup>-1</sup> ]	0,0020	2,6200
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> [mg L <sup>-1</sup> ]	0,0010	1,1230
O <sub>2</sub> %	41,5	143,9
BPK <sub>5</sub> [mg L <sup>-1</sup> ]	0,3	8,2
Umjetni zemljivođeni pokrov [%]	0,0	25,7
Intenzivna poljoprivreda [%]	0,0	52,2
Ekstenzivna poljoprivreda [%]	0,0	38,6
Poluprirodni pokrov [%]	21,3	99,1
TDI <sub>HR</sub>	1,33	4,58

Odabir referentnih postaja zasnovan je na zajedničkim kriterijima sukladno izvještaju (WFD Intercalibration Phase 2: Milestone 6 report. Rivers / Mediterranean GIG / Phytobenthos, 2012). Kriteriji za usporedbu odabrani su i za abiotičke (kemija vode i zemljivođeni pokrov) i biotičke čimbenike (TDI<sub>HR</sub>) kako bi se osiguralo da je intenzitet ljudskih aktivnosti na odabranim mjestima nizak i da ima samo vrlo mali utjecaj na zajednice dijatomeja.

Referentni kriteriji abiotičkih čimbenika (zemljivođeni pokrov i kemijska svojstva vode) usvojeni su iz MED GIG interkalibracije dijatomeja i makrofita (Tablica 6.2.1.5.).

**Tablica 6.2.1.5.** Kriteriji za utvrđivanje referentnih točaka za MED GIG (prema izvještaju WFD Intercalibration Phase 2: Milestone 6 report. Rivers/Mediterranean GIG/Phytobenthos, 2012).

	Prihváćeno ako	
Pritisici	RM1+RM2	RM5
<b>Morfologija</b> (ocjene 1-3)	≤ 2	
<b>Hidrologija</b> (ocjene 1-3)		
<b>Vegetacija (priobalna/riparijska)</b> (ocjene 1-3)		
[O <sub>2</sub> ] (mg/L)	6,39-13,70	
O <sub>2</sub> (%)	73,72-127,92	60,34-127,92
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	≤0,09	
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	≤1,15	
P-Ukupni (mg/L)	≤0,07	
P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg/L)	≤0,06	
% Umjetni pokrov (sliv)	≤1	
% Intenzivna poljoprivreda (sliv)	≤11	
% Ekstenzivna poljoprivreda (sliv)	≤32	
% Poluprirodni pokrov (sliv)	≥68	
% Urbanizacija (odsječak)	≤1	
% Antropogeno korištenje zemljišta (odsječak)	≤20	
% Poljoprivreda (odsječak)	≤20	

U protokol postavljanja granica uključene su samo postaje koje su uđovoljavale i kriterijima za korištenje zemljišta i fizikalno-kemijskim kriterijima stanja vode.

Određivanje referentnih i najlošijih vrijednosti:

Referentne vrijednosti nacionalnih tipova uključenih u IK prilagođene su za daljnji postupak IK. Stoga je izračunat 10. percentil TDI<sub>HR</sub> svih referentnih (benchmark) postaja i ta je vrijednost postavljena kao referentna vrijednost.

Najlošija vrijednost TDI<sub>HR</sub> uzeta je kao najniža vrijednost svih 9 nacionalnih tipova.

Granica OEK-a između vrlo dobrog i dobrog stanja izvedena je iz raspona vrijednosti OEK-a referentnih postaja. Ostale granice postavljene su u jednakom brojčanom odstojanju (Tablica 6.2.1.6.).

V / D = medijan na referentnim (benchmark) postajama

D / U = V / D \* 0,75

U / L = V / D \* 0,50

L / V = V / D \* 0,25

**Tablica 6.2.1.6.** Granice klasa za vrijednosti OEK\_TDI<sub>HR</sub>.

	R-M1	R-M2	R-M5
Referentna vrijednost TDI <sub>HR</sub>	1,90	1,83	2,45
Relativna referentna vrijednost	1,00	1,00	1,00
Granica vrlo dobrog i dobrog stanja	0,83	0,83	0,85
Granica dobrog i umjerenog stanja	0,55	0,55	0,59
Granica umjerenog i lošeg stanja	0,41	0,41	0,48
Granica lošeg i vrlo lošeg stanja	0,21	0,21	0,24

OEK\_TDI<sub>HR</sub> koristi se kao završni mjerni podatak (metrika) u usporedbi sa zajedničkom interkalibracijskom metrikom (eng. ICM; *intercalibration common metric*).

#### RAZMATRANI PRITISCI

Nacionalne metode u završenom interkalibracijskom postupku u obzir su uzimale pritiske vezane uz eutrofikaciju, organsku tvar/opterećenje i opću degradaciju (WFD Intercalibration Phase 2: Milestone 6 report. Rivers / Mediterranean GIG / Phytobenthos, 2012).

Kako bi se istražio odgovor nacionalne metode ocjene ekološkog stanja tekućica u Med-GIG-u temeljem bentičkih dijatomeja (TDI<sub>HR</sub>) provedene su statističke analize na različite antropogene pritiske. Odnosi između pritisaka i učinaka testirani su:

(1) Spearmanovim koeficijentom korelacije između vrijednosti TDI<sub>HR</sub> i kemijskih čimbenika (P-TP, P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, zasićenje kisikom, BPK<sub>5</sub>) te općih čimbenika zemljišnog pokrova i hidrologije

(2) linearnom regresijom vrijednosti TDI<sub>HR</sub> i pritisaka.

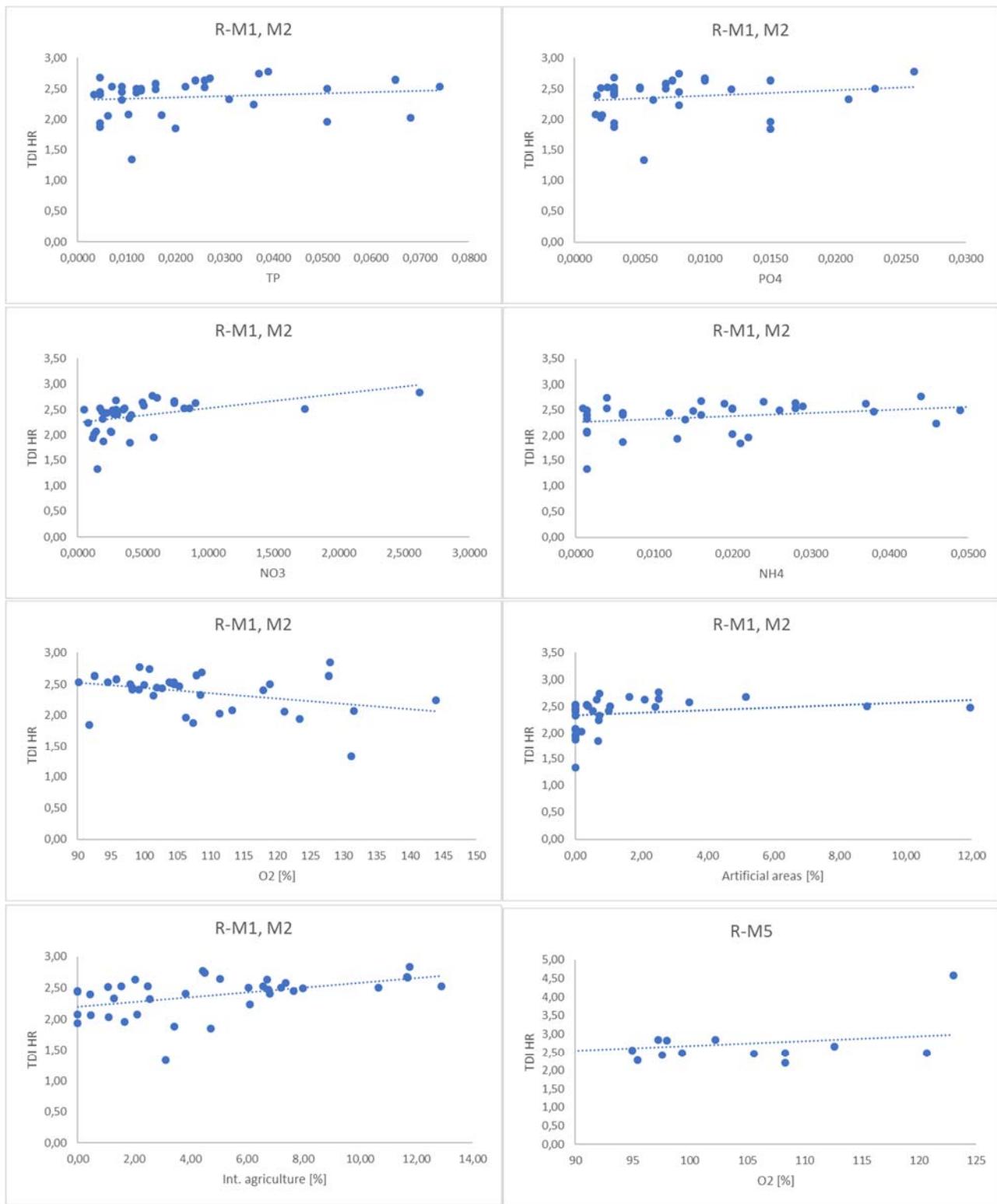
**Tablica 6.2.1.7.** Spearmanovi koeficijenti korelacije između vrijednosti TDI<sub>HR</sub> i pritisaka iz okoliša.

Korelacije označene crvenom bojom su značajne na razini p < 0,05.

	R-M1,M2	R-M5
	TDI <sub>HR</sub>	TDI <sub>HR</sub>
P-Ukupni (mg/L)	0,3491	-0,1835
	p=0,034	p=0,452
P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg/L)	0,3374	-0,1557

	<b>p=0,041</b>	p=0,524
<b>N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (mg/L)</b>	<b>0,6085</b>	0,0248
	<b>p=0,0001</b>	p=0,920
<b>N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (mg/L)</b>	<b>0,3957</b>	-0,1942
	<b>p=0,015</b>	p=0,426
O <sub>2</sub> [%]	<b>-0,3296</b>	<b>0,4630</b>
	<b>p=0,046</b>	<b>p=0,046</b>
BPK <sub>5</sub> [mg L <sup>-1</sup> ]	-0,1624	0,2361
	<b>p=0,337</b>	p=0,330
Umjetni zemljišni pokrov [%]	<b>0,5898</b>	-0,1160
	<b>p=0,0001</b>	p=0,636
Intenzivna poljoprivreda [%]	<b>0,5094</b>	0,0501
	<b>p=0,001</b>	p=0,839
Ekstenzivna poljoprivreda [%]	0,0092	-0,1489
	<b>p=0,957</b>	p=0,543
Poluprirodni pokrov [%]	-0,2894	0,0605
	<b>p=0,082</b>	p=0,806
Morfološka ocjena (opća)	0,3223	-0,2642
	<b>p=0,052</b>	p=0,274
Hidrološka ocjena (opća)	0,1733	0,3214
	<b>p=0,305</b>	p=0,180
Obalna vegetacija	0,2014	-0,0858
	<b>p=0,232</b>	p=0,727

Pritisici koji pokazuju najjači odnos s nacionalnom metrikom ( $TDI_{HR}$ ) prikazani su na slici 6.2.1.1. Općenito, dijatomejske zajednice hrvatskih tipova tekućica razvrstanih u IK tipove R-M1 i R-M2 dobro su reagirale na sve pritiske određene količinom hranjivih tvari, posebno na opterećenja ukupnim fosforom (P-Total), ortofosfatima ( $P-PO_4^{3-}$ ), nitratima ( $N-NO_3^-$ ) i amonijem ( $N-NH_4^+$ ), kao i zasićenosti kisikom i korištenjem zemljišnih čimbenika kao što su udio umjetnog zemljišnog pokrova i intenzivna poljoprivreda.



Slika 6.2.1.1. Odnosi (linearne regresije) pritisaka i učinaka na TDI<sub>HR</sub> u IK tipovima.

## USKLAĐENOST S ODV-OM

Kriteriji sukladnosti podataka za MED-GIG definirani su izvještajem MED-GIG Rivers Milestone 6 report: Phytobenthos, 2012 (Tablica 6.2.1.8.). U nacionalnoj su bazi podataka ispunjeni svi kriteriji osim broja klasa kakvoće vode predstavljenih u skupu podataka (posljednji kriterij). Ovaj kriterij, međutim, nije strogo relevantan za postupak usklađivanja. Očekuje se da skup podataka obuhvaća najmanje tri ekološke klase, što je i ispunjeno, stoga se smatra da je skup podataka dovoljan za interkalibraciju.

**Tablica 6.2.1.8.** Popis kriterija sukladnosti i opis provjere usklađenosti s ODV-om.

Kriterij	Provjera
Eколоško stanje je razvrstano u 5 razreda (vrlo dobro, dobro, umjereno, loše i vrlo loše)	Da
Vrlo dobro, dobro i umjereno ekološko stanje postavljeno je u skladu s normativnim definicijama ODV-a (postupak postavljanja granica)	Da. Jednolično (ekvidistalno) raspodijeljen OEK raspon granica. Granica V / D dobivena je iz metričke varijabilnosti <i>benchmark</i> postajama.
Uključeni su svi relevantni čimbenici koji utječu na biološke elemente kakvoće (BEK)	Da; uzimaju se u obzir i taksonomski sastav i relativna brojnost svojti; TDI <sub>HR</sub>
Ocjena je prilagođena zajedničkim interkalibracijskim tipovima koji su definirani u skladu s tipološkim zahtjevima ODV-a, a odobreni od WG ECOSTAT.	Da; korišteni su zajednički IK tipovi: R-M1, R-M2, R-M5
Vodno se tijelo procjenjuje na temelju tipičnih tipičnih, gotovo prirodnih referentnih uvjeta	Da
Rezultati ocjene izražavaju se kao OEK	Da
Postupak uzorkovanja omogućava reprezentativne informacije o kvaliteti vode / ekološkom stanju u prostoru i vremenu	Da; jedno uzorkovanje godišnje tijekom povoljnih i stabilnih hidroloških uvjeta, s čvrste podloge
Svi podaci relevantni za ocjenu bioloških čimbenika navedenih u normativnim definicijama ODV obuhvaćeni su postupkom uzorkovanja	Da; loše i vrlo loše su podzastupljene
Odabrana taksonomska razina postiže odgovarajuću pouzdanost i preciznost u razvrstavanju	Da; razina vrste

## Provjera izvedivosti interkalibracije

Interkalibracijski postupak u idealnom smislu obuhvaća sve nacionalne metode ocjenjivanja unutar GIG-a. Međutim, trebalo bi izbjegći usporedbu različitih metoda ("jabuke i kruške"). Interkalibracijski postupak je usredotočen na specifični tip/biološki element kakvoće/kombinaciju pritisaka. Drugi korak procesa predstavljen je kao "provjera interkalibracijske izvedivosti" u svrhu ograničavanja interkalibracijske analize na metode svojstvene zajedničkom tipu i antropogenim opterećenjima, slijedivši sličan koncept ocjenjivanja.

## Tipologija

R-M tipološki sustav unutar MED-GIG-a najprikladniji je za opisivanje hrvatskih tekućica. Od ukupno 5 tipova unutar MED GIG-a, tipovi R-M1, R-M2 i R-M5 primjenjivi su na hrvatske tekućice (Tablice 6.2.1.1., 6.2.1.2.). Referentne postaje za velike riječne tipove nisu uključene u provedbu MED-GIG interkalibracijskog postupka, jer su navedeni tipovi interkalibrirani zasebno

## Pritisici

Obraštaji dijatomeja izraženi su kroz nacionalnu metriku (TDI<sub>HR</sub>), koja odgovara na onečišćenje hranjivim tvarima, osobito dušikovim spojevima, na pritiske vezane uz kisik, kao i uz korištenje zemljišta u poljoprivredne

svrhe i umjetni pokrov. Navedeni pritisci također su davali značajne korelacije sa zajedničkim metrikama drugih država članica prilikom interkalibracijskog postupka.

#### Koncept ocjenjivanja

Nacionalni sustav ocjenjivanja temeljen na dijatomejama sastoji se od Hrvatskog trofičkog dijatomejskog indeksa (Croatian Trophic Diatom Index = TDI<sub>HR</sub>), koji predstavlja modificirani Rottov trofički indeks (Rott i sur., 1999.). Indeks TDI<sub>HR</sub> daje informacije o opterećenju hranjivim tvarima istraživanom vodnom tijelu, tj. njegov trofički stupanj koji je baziran na prisutnim vrstama dijatomeja. TDI<sub>HR</sub> uzima u obzir relativnu brojnost dijatomeja u obraštaju te vrijednosti tolerancije (indikatorsku vrijednost) i osjetljivosti (indikatorska snaga) dijatomejskih vrsta. Indeks daje dobar odgovor na nekolicinu važnih antropogenih pritisaka (pogledati sekciju "Pritisci").

#### Zaključak o izvedivosti interkalibracije

R-M tipološki sustav odabran je kao prikladan za tekuće Dinarske ekoregije Republike Hrvatske. TDI<sub>HR</sub> uzima u obzir toleranciju i osjetljivost vrsta prisutnih u obraštaju te njihovu relativnu brojnost. Indeks se usredotočuje na različite pritiske (pogledati gornju sekciju "Pritisci"). Zaključeno je da je postupak uklapanja TDI<sub>HR</sub> indeksa izvediv u provedbi interkalibracije tekućica MED GIG-a.

### DEMONSTRACIJA SUKLADNOSTI SA ZAVRŠENIM POSTUPKOM INTERKALIBRACIJE

Koristeći se smjernicama slike 1. u dokumentu CIS br. 30 (Willby i sur., 2014.), primijenjen je slučaj A1 (opcija 2) za prilagođavanje hrvatske metode ocjene ekološkog stanja tekućica MED-GIG tipa R-M1, R- M2 i R-M5 temeljem fitobentosa.

Zahtjevi za slučaj A1 su:

i. Detalji o zajedničkoj metrici

ICM primijenjen u MED-GIG sastoji se od dvije dijatomejske metrike (prema Kelly i sur., 2009):

- IPS (Coste u CEMAGREF-u, 1982.): ova metrika mjeri "opću kvalitetu vode", s niskim vrijednostima koje odgovaraju visokim koncentracijama pritisaka i niskim vrijednostima OEK-a
- TI (Rott i sur., 1999.): trofički indeks koji je potrebno prilagoditi tako da visoke vrijednosti predstavljaju visoke vrijednosti OEK-a

ICM = (OEK-IPS + OEK-TI) / 2

ii. Dostatan set uzorkovanih postaja i bioloških podataka koji pokrivaju gradijent kakvoće okoliša, a iz kojih se mogu izračunati nacionalni OEK i zajednička metrika

Dostupno je ukupno 56 uzoraka koji pokrivaju 4 razreda ekološkog statusa (vidi odjeljak "2.3.

Postavljanje nacionalnih granica")

iii. Prateće podatke o pritiscima u istom formatu kao one korištene u dovršenom postupku

Dostupni su svi popratni podaci o pritiscima (vidi tablicu DDD).

iv. Informacije o specifičnim granicama koji su već korišteni u postupku određivanja

referentnih/benchmark postaja (npr. opseg poljoprivrednog zemljišta u slivu, koncentracije hranjivih tvari itd.)

Referentni kriteriji za abiotske čimbenike (zemljišni pokrov i hidrokemijski kriteriji) usvojeni su iz MED-GIG interkalibracijskog postupka za dijatomeje i makrofitsku vegetaciju (vidi Tablicu RRR).

v. Pojedinosti o tome na koji je način napravljen benchmarking (npr. stvaranje zajedničkog metričkog OEK-a dijeljenjem opažene vrijednosti s medijanom iz nacionalnog seta podataka referentnih/benchmark postaja). Ukoliko u sklopu završene IK vježbe benchmarking nije bio potreban, potrebno je navesti srednju vrijednost benchmark postaja iz svake države članice kako bi pridružena država članica mogla procijeniti ima li potrebu za benchmarkingom vlastite metode.

Svaka je država članica primijenila zadane referentne kriterije kako bi identificirala benchmark postaje unutar svakog nacionalnog skupa podataka. Vrijednosti medijana  $TDI_{HR}$  nacionalnog benchmark skupa podataka korištene su za izračunavanje zajedničkog metričkog OEK-a ( $OEK\_TDI_{HR}$ ).

Uspostavljena je linearna regresija između vrijednosti nacionalne metode i ICM-a kako bi se nacionalne granice mogle prevesti u ICM pomoću jednadžbe.

Ako se broj nacionalnih benchmark postaja pokaže nedovoljnim, koristi se ukupni medijan svih država članica koje su sudjelovale u IK.

- vi. Ukupne srednje vrijednosti granica  $V / D$  i  $D / U$  na zajedničkoj metričkoj ljestvici za države članice koje su sudjelovale u završenoj IK vježbi.

Srednja vrijednost  $V / D$  (primjenjivo za R-M1, R-M2): 0,896

Srednja vrijednost  $D / U$  (primjenjivo za R-M1, R-M2): 0,688

Srednja vrijednost  $V / D$  (primjenjivo za R-M5): 0,914

Srednja vrijednost  $D / U$  (primjenjivo za R-M5): 0,688

Postupak usklađivanja nacionalne metode sa završenim interkalibracijskim postupkom:

Prema Wilby i sur. (2014.) koraci trebaju biti sljedeći:

- i. Izračunati zajedničku metriku (common metric = CM) za nacionalnu bazu podataka.

ICM primjenjen u MED GIG-u sastoji se od dvije dijatomejske metrike (prema Kelly i sur., 2009.):

- IPS (Coste u CEMAGREF, 1982.): ova metrika mjeri 'opću kvalitetu vode', s visokim stupnjem pritisaka izraženim niskim vrijednostima te stoga i niskim OEK vrijednostima:

$OEK\_IPS$  = zabilježena vrijednost /referentna vrijednost

- TI (Rott i sur., 1999.): trofički indeks, s višim stupnjem eutrofikacije izraženim visokim vrijednostima te stoga i visokim OEK vrijednostima:

$OEK\_TI$  =  $(4 - \text{zabilježena vrijednost}) / (4 - \text{referentna vrijednost})$

$ICM = (OEK - IPS + OEK - TI) / 2$

- ii. Koristiti podatke vezanih pritisaka u svrhu identifikacije uklapa li se nacionalna baza podataka s kriterijima određenim u GIG-u za odabir referentnih ili "benchmark" postaja.

"Benchmark" postaje identificirane su na temelju okolišnih pritisaka gore navedenih (pogledati sekciju 2.3. Postavljanje nacionalnih klasnih granica)

- iii. Standardizirati zajedničku metriku ( $CM_{bm}$ ) po "benchmark" postaji, prema pristupu korištenim u završenom interkalibracijskom postupku.

Zajednička metrika izračunata je za "benchmark" postaje nacionalne baze podataka. Za interkalibracijske tipove R-M1, R-M2 i R-M5 srednja vrijednost  $ICM_{R-M1, M2, M5}$  iznosi 1,001. Ove vrijednosti su unutar raspona srednjih vrijednosti država članica, koje su sudjelovale u interkalibraciji te stoga, nikakva standardizacija nije potrebna.

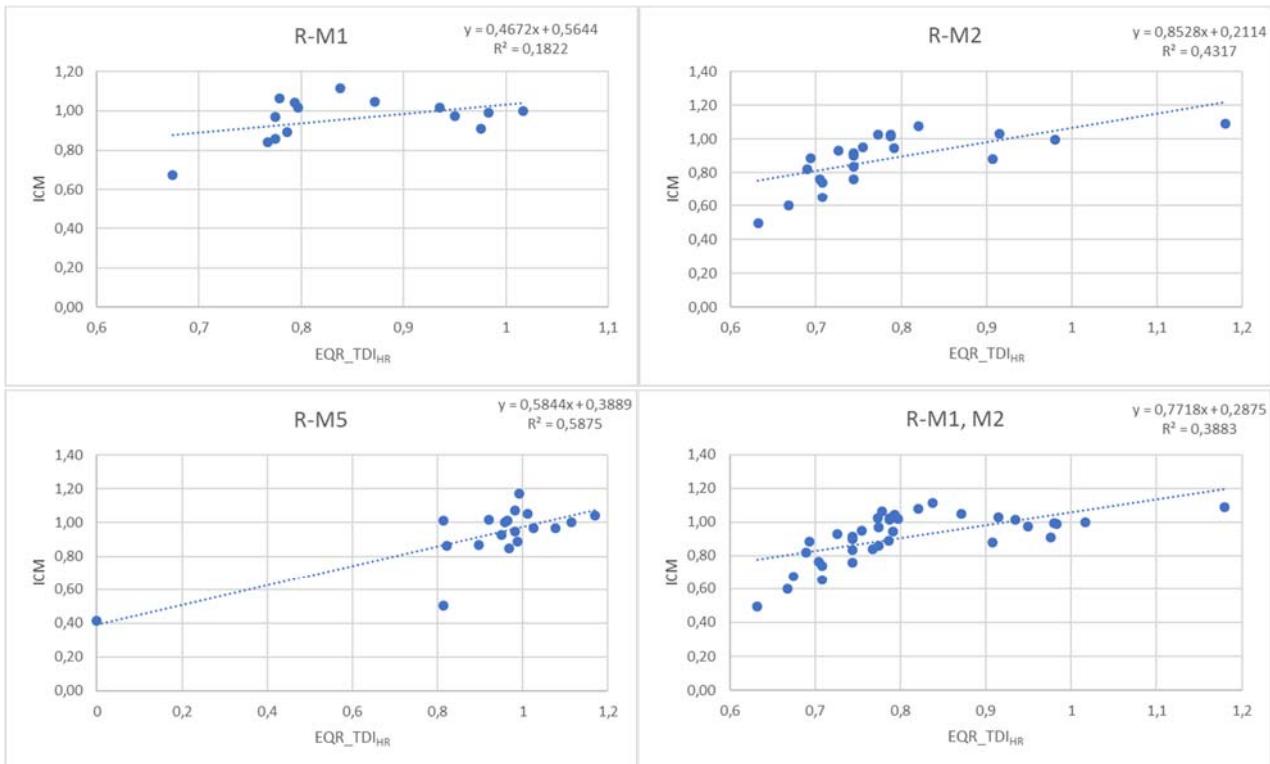
- iv. Koristiti linearu regresiju (obična metoda najmanjih kvadrata; eng. Ordinary Least Squares = OLS) za prikazivanje odnosa između  $CM_{bm}$ -a (y) i OEK-a pridružujuće metode (x).

Odnos između  $OEK\_TDI_{HR}$  i ICM za svaki interkalibracijski tip rijeke i kombinirane tipove R-M1, R-M2 i R-M5 su prikazani (Tablica 6.2.1.9.)(Slika 6.2.1.2.).

**Tablica 6.2.1.9.** OLS rezultati za odnose između ICM-a i nacionalnog OEK-a.

IK tip	Broj uzoraka	Broj postaja	Linearna regresija	$R^2$
R-M1	15	15	$ICM = 0,4672 OEK\_TDI_{HR} + 0,5644$	0,182
R-M2	22	22	$ICM = 0,8528 OEK\_TDI_{HR} + 0,2114$	0,432
R-M5	19	19	$ICM = 0,5844 OEK\_TDI_{HR} + 0,3889$	0,588

R-M1, M2	37	37	$ICM = 0,7718 \text{OEK\_TDI}_{HR} + 0,2875$	0,388
----------	----	----	--	-------



**Slika 6.2.1.2.** OLS regresijski prikaz odnosa između ICM-a i OEK-a za svaki interkalibracijski riječni tip posebno te zajedno za tipove R-M1, R-M2.

Budući da su tipovi R-M1 i R-M2 su grupirani i računati zajedno, prevođenje referentnih i klasnih granica nacionalne metode na ICM skali rađeno je prema zajedničkoj linearnej regresiji za tipove R-M1 i R-M2. R-M5 je izračunat odvojeno zbog različitosti u hidrološkim uvjetima.

v. Predvidjeti poziciju nacionalnih klasnih granica (umjereno-loše, dobro-umjereno, vrlo dobro-dobro i referentno) na CM\_bm skali

Predviđene klasne granice na skali CM-a rađene su koristeći OLS jednakosti odnosa između nacionalne i zajedničke metrike (Tablice 6.2.1.10.-6.2.1.12.).

**Tablica 6.2.1.10.** Prevođenje referentnih i klasnih granica nacionalne metode, bazirane na OLS regresiji (Slika 6.2.1.2., Tablica 6.2.1.9.) u ICM.

IK tip	R-M1, M2		R-M5	
Klasna granica	OEK	Predviđene klasne granice na ICM skali	OEK	Predviđene klasne granice na ICM skali
Referentno	1,00	1,06	1,00	0,97
Vrlo dobro / dobro	0,83	0,93	0,96	0,94
Dobro / umjereno	0,62	0,77	0,72	0,79
Umjereno / loše	0,41	0,61	0,48	0,64
Loše / vrlo loše	0,21	0,45	0,24	0,49

**Tablica 6.2.1.11.** Referentne vrijednosti i klasnica granica Vrlo dobrog/dobrog ekološkog stanja ICM vrijednosti proizašlih iz OLS regresije (Slika 6.2.1.2.) za svaki interkalibracijski tip.

	R-M1	R-M2	R-M5
<b>V Maks (maksimum nacionalnog OEK-a)</b>	<b>1,198</b>	<b>1,198</b>	<b>0,967</b>
V/D Klasna granica + 0.25H	0,995	0,995	0,948
<b>V/D Klasna granica (za države članice)</b>	<b>0,927</b>	<b>0,927</b>	<b>0,941</b>
V/D Klasna granica - 0.25H	0,887	0,887	0,903
<b>V/D MedGIG zajednička srednja vrijednost</b>	<b>0,896</b>	<b>0,896</b>	<b>0,914</b>
V/D četvrtina (+)	0,068	0,068	0,007
V/D četvrtina (-)	0,040	0,040	0,038

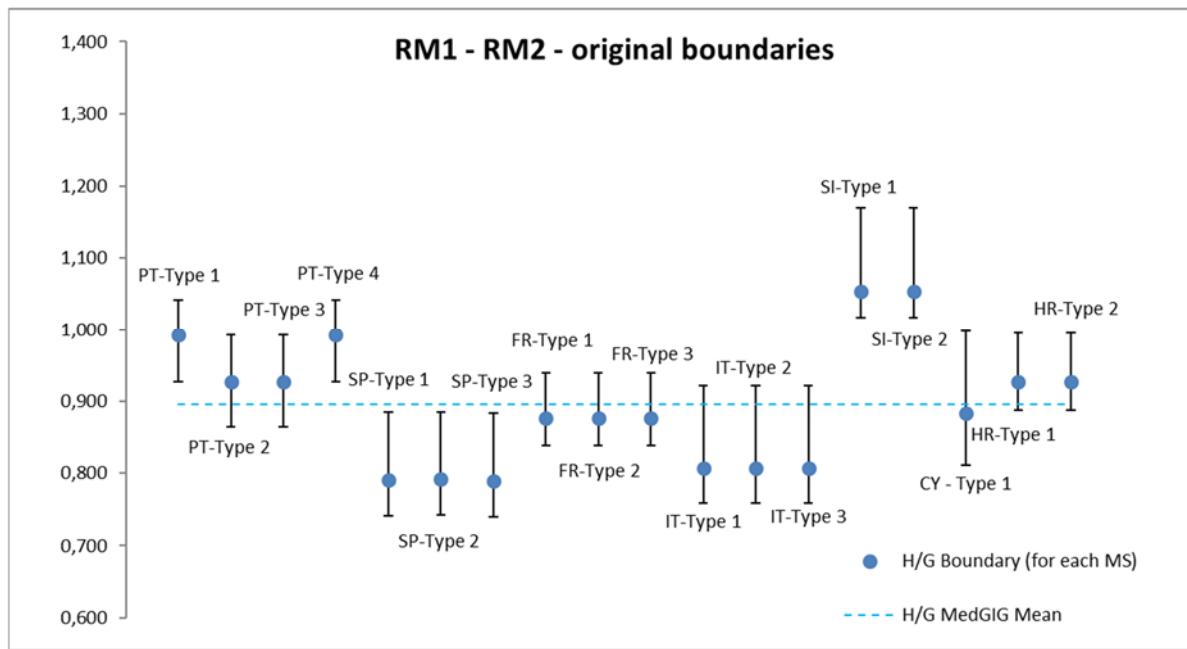
**Tablica 6.2.1.12.** Klasna granica Dobrog/umjerenog ekološkog stanja ICM vrijednosti proizašlih iz OLS regresije (Slika 6.2.1.2.) za svaki interkalibracijski tip.

	R-M1	R-M2	R-M5
<b>Dobro/Umjereno Maks</b>	<b>0,927</b>	<b>0,927</b>	<b>0,941</b>
D/U+0.25H	0,807	0,807	0,827
<b>D/U Klasna granica (za države članice)</b>	<b>0,767</b>	<b>0,767</b>	<b>0,789</b>
D/U Klasna granica - 0.25H	0,727	0,727	0,751
D/U Min	0,607	0,607	0,637
<b>D/U MedGIG zajednička srednja vrijednost</b>	<b>0,688</b>	<b>0,688</b>	<b>0,688</b>
D/U četvrtina (+)	0,040	0,040	0,038
D/U četvrtina (-)	0,040,	0,040,	0,038,

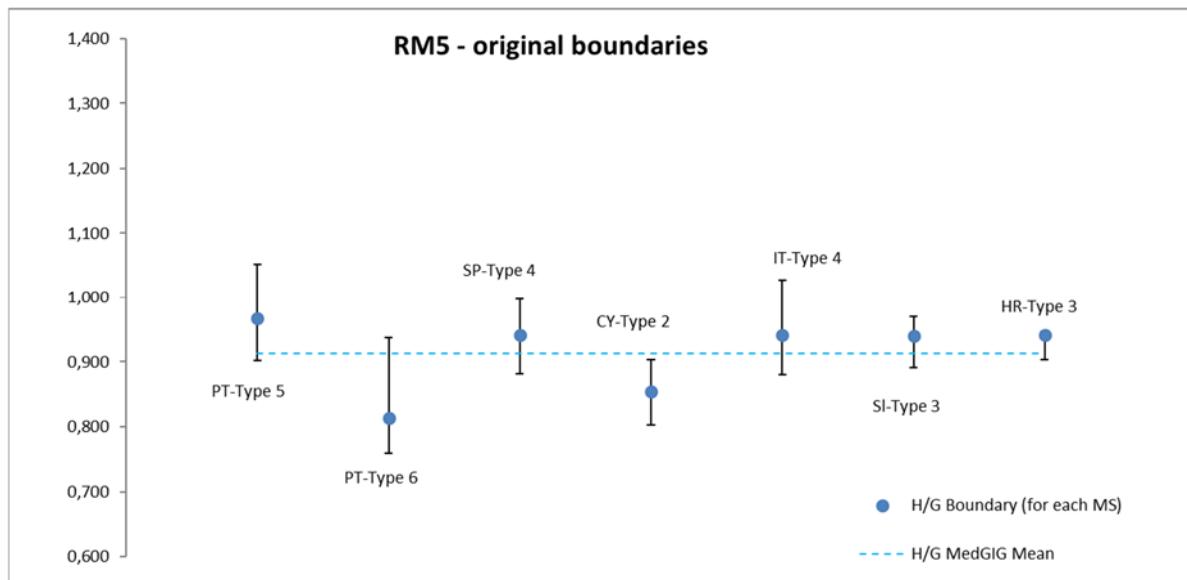
Usporedba V/D i D/U prvotnih vrijednosti klasnih granica za tipove R-M1, R-M2 i R-M5 s ostalim državama članicama u MED GIG-u prikazana je na slikama 6.2.1.3.-6.2.1.6. Objašnjenje tipoloških šifri dano je u tablici 6.2.1.13.

**Tablica 6.2.1.13.** Tipološke šifre korištene u analizi klasnih granica.

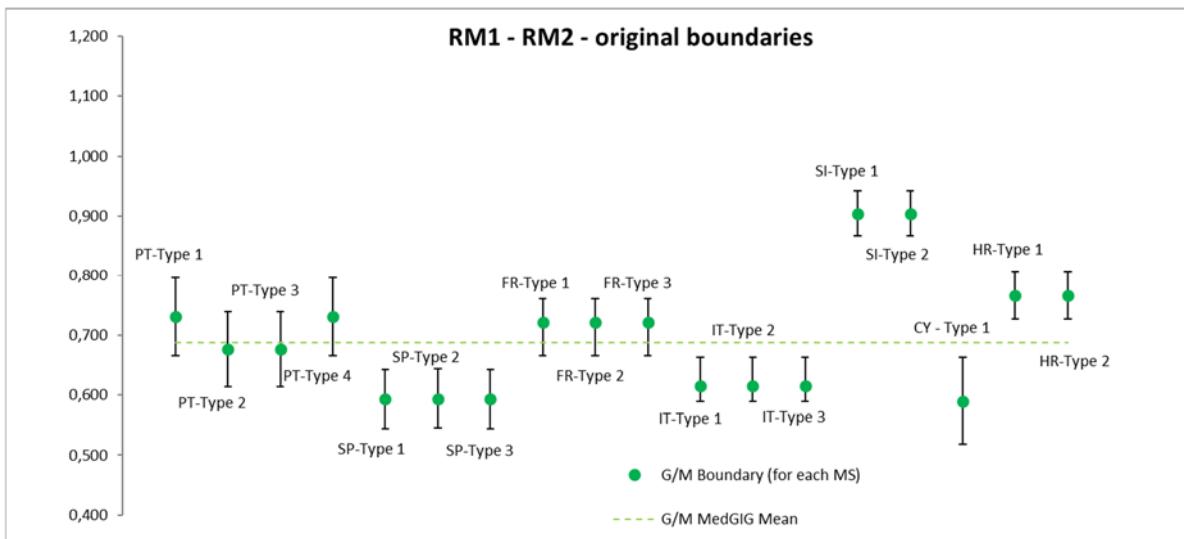
Šifra	Državni tipovi	Šifra	Državni tipovi
PT-Type 1	N1≤100	SP1-Type 3	IBMW P R-M4
PT-Type 2	N2	SP1-Type 4	SP1 R-M5
PT-Type 3	N3	SP2-Type 1	IMM R-M1
PT-Type 4	N1≥100	SP2-Type 2	IMM R-M2
PT-Type 5	S1<100	SP2-Type 3	IMM R-M4
PT-Type 6	S3	SP2-Type 4	SP2 R-M5
FR-Type 1	FR R-M1	SI-Type 1	SL R-M1
FR-Type 2	FR R-M2	SI-Type 2	SL R-M2
FR-Type 3	FR R-M4	SI-Type 3	SI R-M5
IT-Type 1	IT R-M1	CY-Type 1	CY R-M4
IT-Type 2	IT R-M2	CY-Type 2	CY R-M5
IT-Type 3	IT R-M4	HR-Type 1	HR R-M1
IT-Type 4	IT R-M5	HR-Type 2	HR R-M2
SP1-Type 1	IBMW P R-M1	HR-Type 3	HR R-M5
SP1-Type 2	IBMW P R-M2		



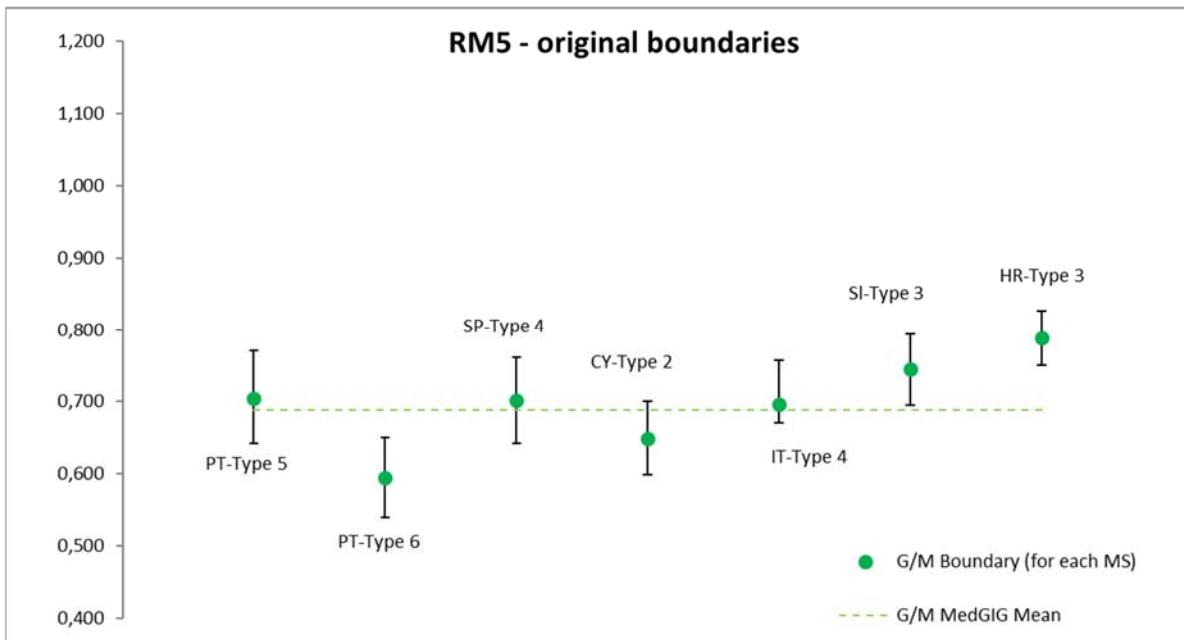
Slika 6.2.1.3. Usporedba V/D prvotnih klasnih granica za tipove R-M1 i R-M2 između Hrvatske i ostalih država članica.



Slika 6.2.1.4. Usporedba V/D prvotnih klasnih granica za tip R-M5 između Hrvatske i ostalih država članica.



Slika 6.2.1.5. Usporedba D/U prvotnih klasnih granica za tipove R-M1 i R-M2 između Hrvatske i ostalih država članica.



Slika 6.2.1.6. Usporedba D/U prvotnih klasnih granica za tip R-M5 između Hrvatske i ostalih država članica.

v. Primijeniti kriterije za usporedbu prema Poglavlju 6.

Prilagođavanje klasnih granica slijedi prilagođavanje navedeno u Poglavlju 6, Vodiča za interkalibraciju (Willby i sur., 2014.). Glavni princip je da granice klase V/D i D/U statistički ne smiju prelaziti iznad vrijednosti raspona  $>|0.25|$ . Granice klase V/D tipova R-M1 i R-M2 bile su unutar raspona  $|0.25|$ , stoga nije bilo potrebno raditi dodatna prilagođavanja. Granice klase D/U tipova R-M1 i R-M2 prelazile su vrijednost raspona  $>0.25$ , stoga ih je bilo potrebno prilagoditi (Tablica 6.2.1.14., označeno crvenom) spuštanjem do traženog raspona (Tablica 6.2.1.15., Tablica 6.2.1.16., Tablica 6.2.1.17., Slika 6.2.1.7., Slika 6.2.1.9.). Granica klase V/D za tip R-M5 bila je unutar raspona  $|0.25|$ , stoga nije bilo potrebno raditi dodatna prilagođavanja.

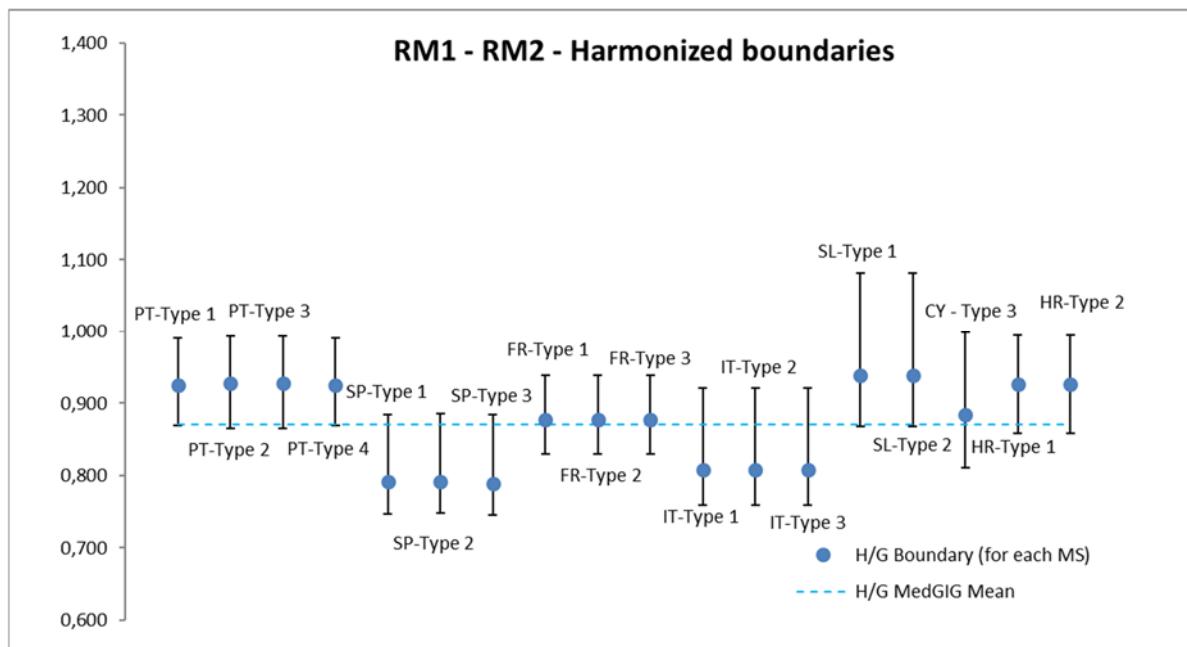
klasne granice i D/U su bile  $>0.25$  (crveno označeno na Tablici 6.2.1.14.) te je prilagođavanje bilo nužno, dodavajući vrijednosti klasnim granicama V/D i D/U dok ne dosegnu prikladnu granicu (Tablice 6.2.1.15., 6.2.1.16., slike 6.2.1.7.-6.2.1.10.). Konačne klasne granice nakon harmonizacije prikazane su u Tablici 6.2.1.17.

**Tablica 6.2.1.14.** Klasne statističke granice V/D i D/U za svaki interkalibracijski tip. Crvena boja označava statističke vrijednosti  $>|0.25|$ .

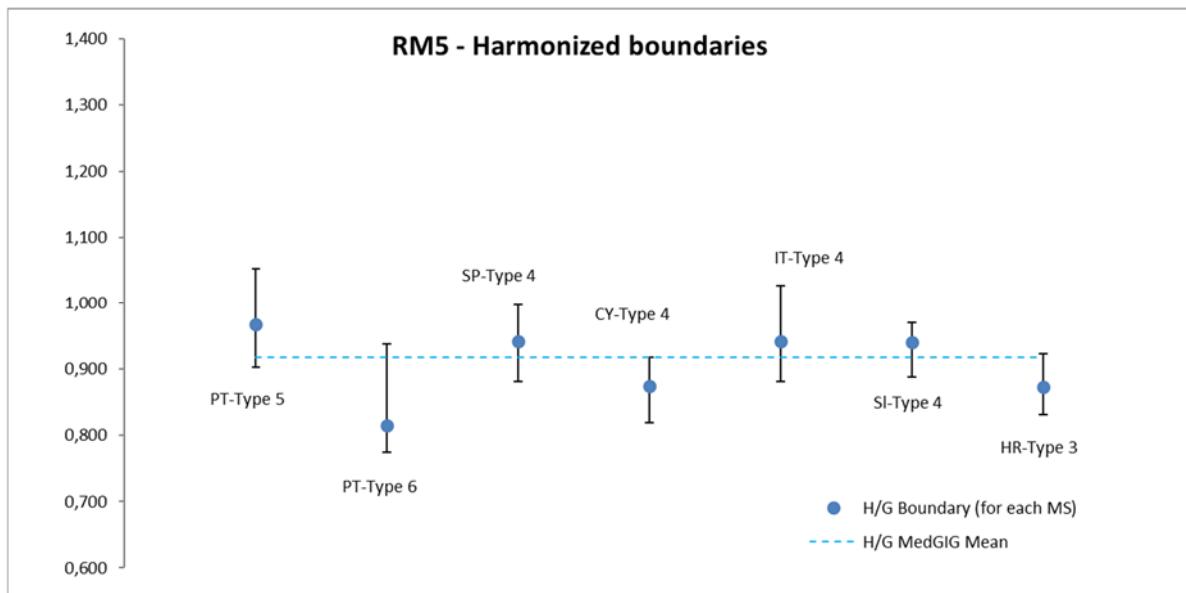
Klasna granica	R-M1	R-M2	R-M5
V/D	0,200,	0,200,	0,178
D/U	<b>0,487</b>	<b>0,487</b>	<b>0,665</b>

**Tablica 6.2.1.15.** Harmonizirane klasne granice V/D ekološkog stanja za svaki interkalibracijski tip.

	R-M1	R-M2	R-M5
<b>Vrlo dobro Maks (maksimum nacionalnog OEK-a)</b>	<b>1,198</b>	<b>1,198</b>	1,075
V/D Klasna granica + 0.25H	0,996	0,996	0,918
<b>V/D Klasna granica (za države članice)</b>	<b>0,928</b>	<b>0,928</b> , <b>0,872</b>	
V/D Klasna granica - 0.25H	0,875	0,875	0,826
<b>V/D MedGIG zajednička srednja vrijednost</b>	<b>0,871</b>	<b>0,871</b>	<b>0,917</b>
V/D četvrtina (+)	0,067	0,067	0,052
V/D četvrtina (-)	0,053	0,053	0,040



**Slika 6.2.1.7.** Usporedba harmoniziranih klasnih granica V/D za tipove R-M1 i R-M2 između Hrvatske i drugih država članica.



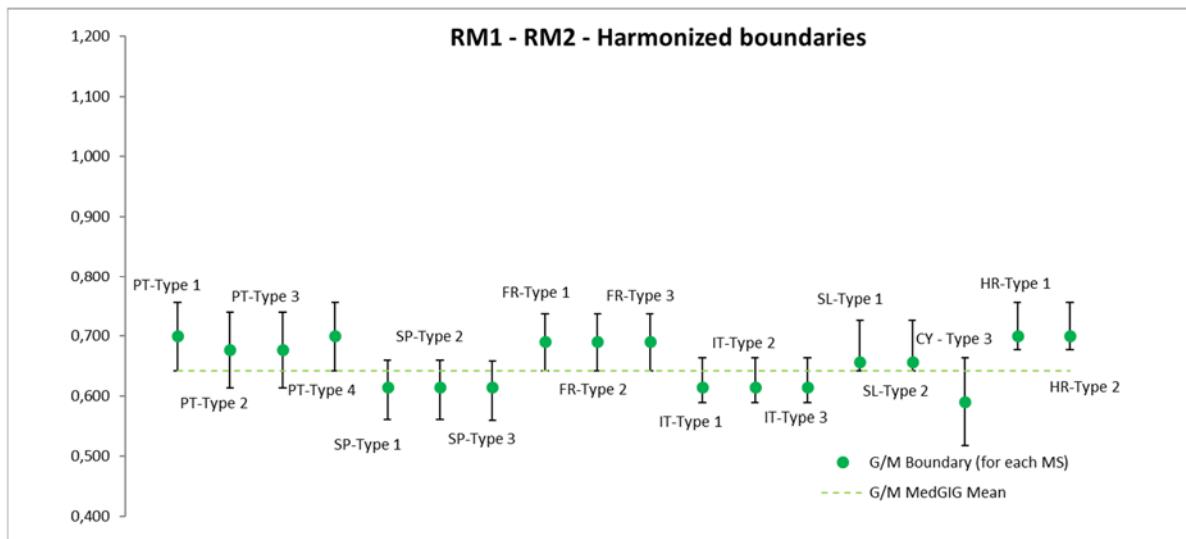
**Slika 6.2.1.8.** Usporedba harmoniziranih klasnih granica V/D za tip R-M5 između Hrvatske i drugih država članica..

**Tablica 6.2.1.16.** Harmonizirane klasne granice Dobrog i Umjerenog ekološkog stanja za svaki interkalibracijski tip.

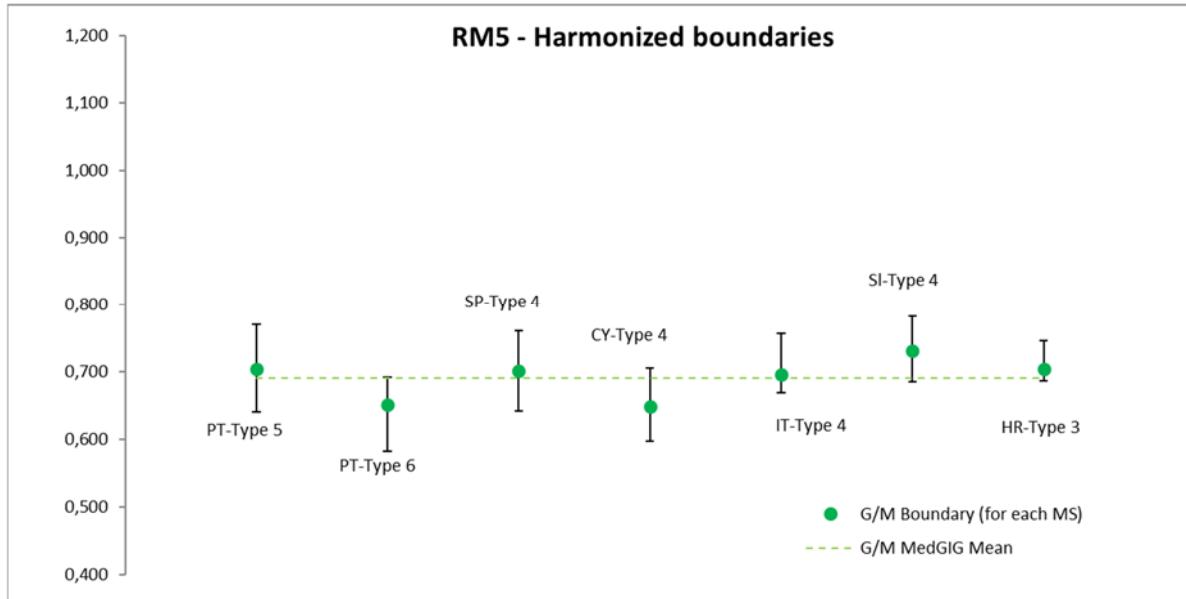
	R-M1	R-M2	R-M5
<b>Dobro/Umjерено Maks</b>	<b>0,927</b>	<b>0,927</b>	<b>0,872</b>
D/U+0.25H	0,722	0,722	0,747
<b>D/U Klasna granica (za države članice)</b>	<b>0,716</b>	<b>0,716</b>	<b>0,704</b>
D/U Klasna granica - 0.25H	0,642	0,642	0,687
D/U Min	0,607	0,607	0,637
<b>D/U MedGIG zajednička srednja vrijednost</b>	<b>0,642</b>	<b>0,642</b>	<b>0,691</b>
D/U četvrtina (+)	0,068	0,068	0,042
D/U četvrtina (-)	0,012	0,012	0,017

**Tablica 6.2.1.17.** Klasne statističke granice V/D i D/U za svaki interkalibracijski tip nakon provedene harmonizacije.

Klasna granica	R-M1	R-M2	R-M5
V/D	0,150	0,150	-0,249
D/U	0,238	0,238	0,241



Slika 6.2.1.9. Usporedba harmoniziranih klasnih granica D/U za tipove R-M1 i R-M2 između Hrvatske i drugih država članica.



Slika 6.2.1.10. Usporedba harmoniziranih klasnih granica D/U za tip R-M5 između Hrvatske i drugih država članica.

**Tablica 6.2.1.18.** Konačne klasne granice usvojene za nacionalnu metriku ICM (- nije primjenjivo, \* nisu potrebna dodatna prilagođavanja).

	Klasna granica	Prvotne vrijednosti ICM-a	Harmonizirane vrijednosti ICM-a	Prvotne vrijednosti nacionalne metrike	Harmonizirane vrijednosti nacionalne metrike
HR-Tip 1	Referentna vrijednost	1,059	-	1,000	-
	V/D	0,927	*	0,829	*
	D/U	0,767	0,716	0,622	0,555

HR-Tip 2	Referentna vrijednost	1,059	-	1,000	-
	V/D	0,927	*	0,829	*
	D/U	0,767	0,716	0,622	0,555
HR-Tip 3	Referentna vrijednost	0,967	-	1,000	-
	V/D	0,941	0,872	0,959,	0,850
	D/U	0,789	0,704	0,719	0,585

## ZAKLJUČAK

Ovaj izvještaj opisuje proceduru usklađivanja hrvatske metode ocjenjivanja temeljene na fitobentosu za tipove tekućica R-M1, R-M2 i R-M5 s rezultatima izvršene interkalibracije mediteranskih tekućica. Dokumentirali smo izvedivost interkalibracije, usklađenost metoda ocjenjivanja te prikazali dostatan odnos pritisaka i odgovora. Slijedeći kriterije i korake definirane u proceduri prema Willby i sur. (2014), u tipovima R-M1 i R-M2 granice klase vrlo dobrog i dobrog ekološkog stanja ulazile su unutar prihvativog harmoniziranog okvira, dok su granice klase dobrog i umjerenog ekološkog stanja zahtijevale dodatno prilagođavanje (Tablica 6.2.1.18). U tipu R-M5, granica klase vrlo dobrog i dobrog te dobrog i umjerenog ekološkog stanja zahtijevale su dodatno prilagođavanje (Tablica 6.2.1.18). Nakon prilagođavanja navedenih granica klase, nacionalna metoda ocjenjivanja smatra se usporedivom s već izvršenim interkalibracijama te se uklapa u kriterije uspoređivanja. Preporučeno je da se metoda potvrdi unutar ECOSTAT grupe za službeno odobrenje.

## OPIS BIOLOŠKIH ZAJEDNICA

Razlike u zajednicama dijatomeja pri uvjetima različitog ekološkog stanja ocijenjene su prema istoim principu kao i u završenoj interkalibracijskoj vježbi MED GIG-a. SIMPER analiza (Primer v7, 2015.) korištena je za izdvajanje dijatomejskih vrsta koje najviše doprinose (do 90% kumulativnog doprinosu) različitosti (eng. dissimilarity) postaja vrlo dobrog i dobrog ekološkog stanja te sličnosti (eng. similarity) unutar pojedinih grupa ekološkog stanja.

Jedna ili dvije vrste najviše doprinose uočenoj sličnosti, dok ostale značajne vrste imaju nižu zastupljenost (Tablica 6.2.1.19). Sličnosti među grupama (ekološkim klasama) su relativno niske, ukazujući na visok stupanj različitosti/raznolikosti unutar ekološkog stanja. *Achnanthidium minutissimum* (Kützing) vrsta je odgovorna za sličnosti klase vrlo dobrog i dobrog ekološkog stanja, te u manjoj mjeri i vrste *Navicula cryptotenella* Lange-Bertalot te *Cocconeis placentula* Ehrenberg. Dvije grupe su se razlikovale po doprinosu sljedećih vrsta: *Achnanthidium biasolettianum* (Grunow) Bukhtiyarova, *Encyonopsis minuta* Krammer & E.Reichardt i *Cymbella parva* (W.Smith) Kirchner za kasu vrlo dobrog ekološkog stanja, odnosno vrste *Gomphonema* sp. Ehrenberg za klasu dobro ekološko stanje. Značajan doprinos vrste *A. minutissimum* zabilježen je također i u drugim državama članicama tijekom interkalibracijskog postupka.

**Tablica 6.2.1.19.** Doprinos vrsta sličnosti i različitosti između grupa ekoloških stanja. Predstavljene su 4 vrste s najvećim doprinosom.

Grupa: Vrlo dobro ekološko stanje			
Prosječna sličnost: 30,51			
Vrsta	Prosječna učestalost	Doprinos %	Cjelokupni doprinos %
<i>Achnanthidium minutissimum</i>	4,40	25,51	25,51
<i>Navicula cryptotenella</i>	2,11	8,98	34,49
<i>Achnanthidium biasolettianum</i>	1,86	5,26	39,76
<i>Cocconeis placentula</i>	1,42	4,02	43,77

Grupa: Dobro ekološko stanje			
Prosječna sličnost: 28,98			
Vrsta	Prosječna učestalost	Doprinos %	Cjelokupni doprinos %
<i>Achnanthidium minutissimum</i>	4,47	26,25	26,25
<i>Navicula cryptotenella</i>	1,83	8,32	34,57
<i>Cocconeis placentula</i>	1,81	6,53	41,10
<i>Gomphonema</i> sp.	1,39	4,50	45,60

Grupe: Vrlo dobro i Dobro stanje ekološko stanje				
Prosječna različitost = 69,81				
	Grupa Dobro stanje	Grupa Vrlo dobro stanje		
Vrsta	Prosječna učestalost	Prosječna učestalost	Doprinos %	Cjelokupni doprinos %
<i>Achnanthidium biasolettianum</i>	1,86	1,24	3,18	3,18
<i>Encyonopsis minuta</i>	1,60	0,99	2,64	5,83
<i>Cocconeis placentula</i>	1,42	1,81	2,35	8,18
<i>Denticula tenuis</i>	1,29	1,03	2,28	10,46
<i>Cymbella parva</i>	1,23	0,88	2,21	12,67
<i>Achnanthidium minutissimum</i>	4,40	4,47	2,12	14,79
<i>Gomphonema</i> sp.	1,04	1,39	2,03	16,82
<i>Encyonema ventricosum</i>	1,10	1,10	1,95	18,77
<i>Amphora pediculus</i>	1,13	1,18	1,87	20,64
<i>Cymbella excisa</i>	1,01	0,98	1,83	22,47
<i>Navicula cryptotenella</i>	2,11	1,83	1,82	24,29
<i>Gomphonema pumilum</i>	0,93	1,15	1,72	26,01
<i>Gomphonema minutum</i>	1,12	1,10	1,71	27,72
<i>Navicula veneta</i>	0,65	0,94	1,69	29,42
<i>Cocconeis pediculus</i>	0,35	1,07	1,64	31,06
<i>Nitzschia</i> sp.	1,03	0,86	1,63	32,69
<i>Nitzschia dissipata</i>	1,03	1,01	1,62	34,31

**Literatura:**

Clarke, K. R., Gorley, R. N. (2015) PRIMER v7: User Manual/Tutorial. PRIMER-E Plymouth.

- European Commission (2011). Guidance document on the intercalibration process 2008–2011. Guidance Document No. 14. Implementation strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC). European Commission, Technical report-2011-045.
- European Committee for Standardization (2014a). EN 13946: 2014. Water quality – Guidance standard for the routine sampling and preparation of benthic diatoms from rivers and lakes.
- European Committee for Standardization (2014b). EN 14407: 2014. Water quality – Guidance standard for the identification and enumeration of benthic diatom samples from rivers and lakes.
- Illies, J., 1978. Limnofauna Europaea. A checklist of the animals inhabiting European Inland Waters, with an account of their distribution and ecology. 2nd Edition. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 552 pp.
- Kelly, M., Bennett, C., Coste, M., Delgado, C., Delmas, F., Denys, L., Ector, L., Fauville, C., Ferréol, M., Golub, M., Jarlman, A., Kahlert, M., Lucey, J., Ní Chatháin, B., Pardo, I., Pfister, P., Picinska-Faltynowicz, J., Rosebery, J., Schranz, C., Schaumburg, J., van Dam, H., Vilbaste, S. (2009). A comparison of national approaches to setting ecological status boundaries in phytoplankton assessment for the European Water Framework Directive: results of an intercalibration exercise. *Hydrobiologia* 621:169–82.
- Lecointe, C., Coste, M., Prygiel, J. (1993). “Omnidia”: software for taxonomy, calculation of diatom indices and inventories management. *Hydrobiologia* 269/270: 509-513.
- Official Gazette (2013) Regulation on Water Quality Standard, Official Gazette of the Republic of Croatia No. 73/13, 151/14, 78/15, 61/16, 80/18.
- Rott, E., Pfister, P., van Dam, H., Pipp, E., Pall, K., Binder, N., Ortler, K. (1999). Indikationslisten für Aufwuchsalgen. Teil 2: Trophieindikation sowie geochemische Präferenz, taxonomische und toxikologische Anmerkungen. Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Wien, 248 pp.
- Schöll, F., Birk, S., Böhmer, J. (2012) WFD Intercalibration Phase 2: Milestone 6 report - XGIG Large Rivers. European Commission Directorate General, JRC, Institute of Environment and Sustainability, 45 pp.
- Water quality - Guidance standard for the routine sampling and pretreatment of benthic diatoms from rivers (HRN EN 13946:2014).
- Wilby, N., Birk, S., Poikane, S., van de Bund, W. (2014). Water Framework Directive Intercalibration Manual – Procedure to fit new or updated classification methods to the results of a completed intercalibration. JRC Technical Report, Luxembourg, Ispra, 33 pp.
- WFD Intercalibration Phase 2: Milestone 6 report. Rivers / Mediterranean GIG / Phytobenthos (2012). European Commission Directorate General, JRC, Institute of Environment and Sustainability, JRC, 42 pp.
- Zelinka, M., Marvan, P. (1961) Zur Präzisierung der biologischen klassifikation der Reinheit fließender Gewässer. *Archiv für Hydrobiologie* 57:

## 6.3. Biološki element: Makrofita

### 6.3.1. Interkalibracija tipova tekućica R-M1 i R-M2

Službeni interkalibracijski postupak ekološkog stanja sredozemnih rijeka, na temelju biološkog elementa makrofita, završen je u sklopu MED GIG interkalibracije u kojoj je sudjelovalo sedam zemalja (Aguiar et al. 2013). Pritom su definirana dva zajednička tipa tekućica Sredozemne geografske grupe (R-M1 i R-M2) na kojima je moguće provesti zajednički interkalibracijski postupak. U tome je sudjelovalo sedam zemalja članica: Cipar, Francuska, Grčka, Italija, Portugal, Slovenija i Španjolska. Naknadno je 2016. godine u postupku usklađenja interkalibrirana metoda za Bugarsku (Pall et al. 2016). Na početku interkalibracijskog postupka zaključeno je da šest od sedam zemalja koristi istu metodu za ocjenu ekološkog stanja na temelju makrofita (IBMR), te je ona prihvaćena kao zajednička metrika. Nadalje, definirani su i prihvaćeni zajednički referentni uvjeti (Feio et al. 2014). S obzirom da sve zemlje osim Slovenije koriste isti indeks, interkalibracija je provedena kao kombinacija Opcije 1 (za sve zemlje koje koriste IBMR) i prilagođene Opcije 3 (za Sloveniju) prema Priručniku za interkalibraciju (CIS Guidance Document n°30: "Procedure to fit new or updated classification methods to the results of a completed intercalibration exercise"). S obzirom da su usklađene vrijednosti granica vrlo dobro/dobro i dobro/umjereni interkalibrirane prethodno koristeći Opciju 1 i fixed benchmarks (Aguiar et al. 2013), način interkalibracije slovenske metode odgovarao je postupku „fit-in procedure“. Nakon provedenog interkalibracijskog postupka sve zemlje su zadržale postojeće metode (IBMR, odnosno RMI) uz podešavanje granica klasa s obzirom na dobivene interkalibracijske rezultate ukoliko je odstupanje bilo veće od 25 %.

Bgarska metoda (RI) usklađena je naknadno sljedeći Case A1 for the fit-in procedure: „IC Option 1 or 2 using reference/benchmark sites“ (Papp et al. 2016).

#### NACIONALNI REFERENTNI UVJETI

Referentni uvjeti za rijeke u Hrvatskoj koje pripadaju Sredozemnom geografskom području postavljeni su prema kriterijima koje su postavili Feio i sur. (2014), a koje su prihvatile sve zemlje koje pripadaju u MED GIG. U tim uvjetima prepoznate su dvije makrofitske zajednice bez obzira o kojem interkalibracijskom riječnom tipu se radi (R-M1 ili R-M2):

- zajednica u kojoj dominiraju mahovine (PF)
- zajednica u kojoj dominiraju herbidi i drugi morfološki oblici vaskularnih biljaka (mirofilidi i magnopotamidi prije svega) (BN).

#### GRANICE KLASA

Ekološki status raspodijeljen je u pet klasa: vrlo dobar, dobar, umjeren, loš i vrlo loš.

Granice klasa (Tablica 6.3.1) postavljene su u zone izrazite promjene sastava makrofitske zajednice analizom diskontinuiteta u odnosu okolišnih pritisaka i odgovora zajednice (*pressure-response relationship*) koji su podešeni ekspertnom procjenom temeljenom na promjenama u pridolasku tip specifičnih referentnih vrsta te tolerantnih vrsta.

**Tablica 6.3.1.** Klasifikacija OEK vrijednosti u kategorije ekološke kakvoće.

Kategorija	Zajednica	Raspon OEK	Tumačenje
Vrlo dobro	PF	>0.70	Granica VD/D predstavlja četvrtinu (0,25) ispod vrijednosti medijana pri kojoj su vrste grupe A (referentne vrste) u jasnoj dominaciji, a vrste grupe C potpuno odsutne.
	BN	>0.65	

Kategorija	Zajednica	Raspon OEK	Tumačenje
Dobro	PF	0.69-0.50	Granica D/U je točka u kojoj vrste grupe B (indiferentne vrste) postaju dominantne, a vrste grupe A još uvijek dominiraju nad vrstama grupe C.
	BN	0.64-0.50	
Umjereno	PF	0.30-0.49	Granica U/L je postavljena kao srednja vrijednost gdje u zajednici počinju dominirati vrste grupe C (pokazatelji poremećaja), a vrste grupe A nestaju.
	BN	0.25-0.49	
Loše	PF	0.29-0	Granica L/VL je točka u kojoj se gubi makrofitska vegetacija.
	BN	0.24-0	
Vrlo loše	PF	-	Potpuni nestanak makrofitske vegetacije zbog antropogenog pritiska.
	BN	-	

#### **Detektirani pritisci**

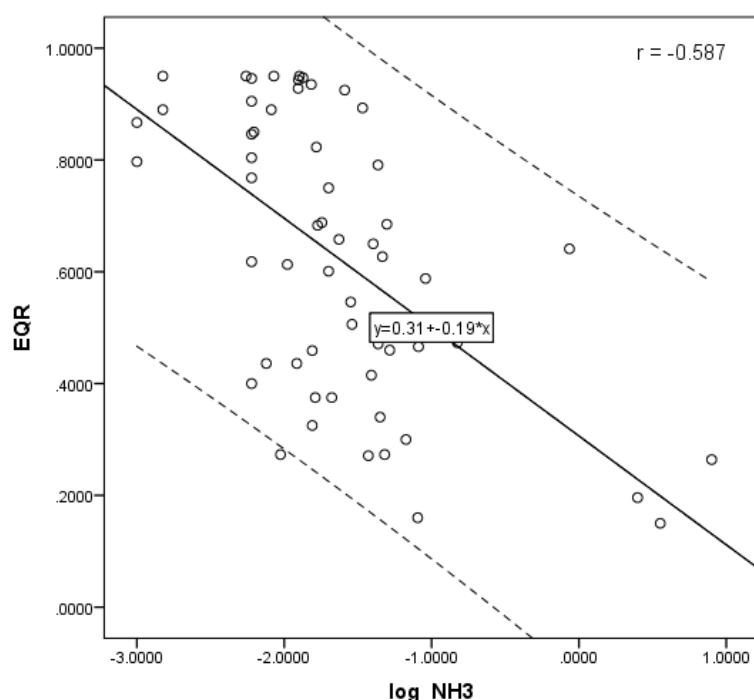
Pritisici koje detektira metoda ocjene ekološkog stanja na temelju makrofita su eutrofikacija i opća degradacija. Na temelju rezultata analiza korelacije (Tablice 6.3.2a i 3.3.2b, Slike 6.3.1. i 6.3.2.) može se zaključiti da je postupak usklađenja provediv s obzirom odgovora metode ocjene na pritiske.

**Tablica 6.3.2a.** Korelacijski koeficijenti između OEK vrijednosti i fizikalno-kemijskih parametara vode.

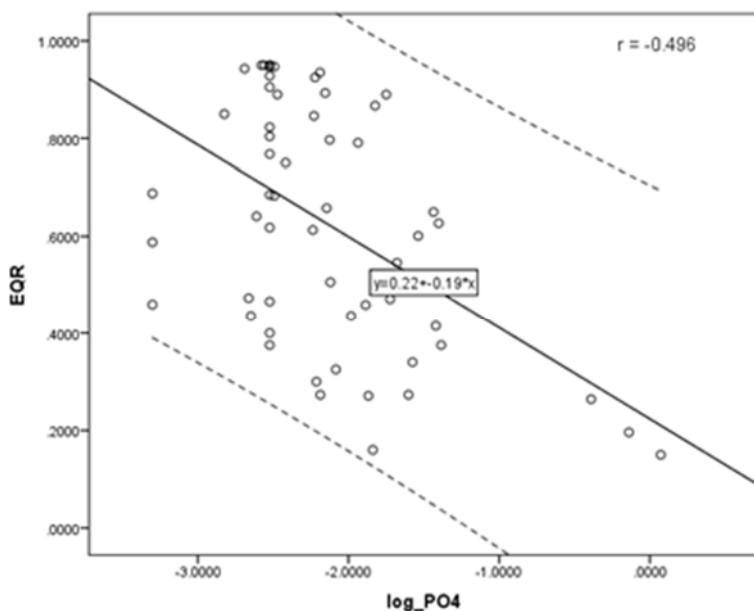
	OEK			OEK	
	Pearsonov koeficijent korelacije	Značajnost		Spearmanov koeficijent korelacije	Značajnost
log_t	-.241*	.035	t	-.177	.093
log_pH	.079	.279	pH	.101	.228
log_električna vodljivost	-.085	.266	električna vodljivost	-.343**	.005
log_ukupne suspendirane tvari	-.327**	.007	ukupne suspendirane tvari	-.340**	.005
log_alkalitet	-.266*	.023	alkalitet	-.371**	.002
log_tvrdoća	-.128	.172	tvrdoća	-.323**	.007
log_O2_otopljeni	.297*	.012	O2_otopljeni	.318**	.008
log_O2_zasićenost	.220*	.050	O2_zasićenost	.180	.091
log_NH4+	-.586**	.000	NH4+	-.579**	.000
log_NO2-	-.464**	.000	NO2-	-.413**	.001
log_NO3-	-.300*	.012	NO3-	-.265*	.023
log_N_ukupni	-.468**	.000	N_ukupni	-.372**	.002
log_PO43-	-.496**	.000	PO43-	-.455**	.000

\*\*. Korelacija je značajna na razini 0.01.

\*. Korelacija je značajna na razini 0.05.



**Slika 6.3.1.** Odgovor nacionalne metode na koncentraciju amonija (iscrtkano – linija pouzdanosti od 95%).



**Slika 6.3.2.** Odgovor nacionalne metode na koncentraciju ortofosfata (iscrtkano – linija pouzdanosti od 95%).

**Tablica 6.3.2b.** Korelacijski koeficijenti između OEK vrijednosti i različitih mjera opće degradacije (PST – površina sливног područja, POE\_T – % ekstenzivna poljoprivreda, POI\_T – % intenzivna poljoprivreda, PRI\_T – % prirodna i poluprirodna područja, URB\_T – % urbanizirana područja; long\_con – uzdužna povezanost, morph – opća morfologija, hydro – hidrološka degradacija, total – ukupna hidromorfološka degradacija).

	OEK			
	Pearsonov koeficijent korelaciјe	Značajnost	Spearmanov koeficijent korelaciјe	Značajnost
PST	-.048	.361	.001	.497
POE_T	-.210	.058	-.193	.075
POI_T	-.084	.266	-.274*	.019
PRI_T	.278*	.018	.333**	.006
URB_T	-.276*	.019	-.208	.061
long_con	-.091	.251	-.083	.270
morph	-.376**	.002	-.353**	.004
hydro	-.204	.064	-.239*	.036
total	-.393**	.001	-.354**	.003

\*\*. Korelacija je značajna na razini 0.01.

\*. Korelacija je značajna na razini 0.05.

#### PROVJERA USKLAĐENOSTI S ODV

Prvi korak interkalibracijskog procesa zahtijeva provjeru nacionalnih metoda po sljedećim kriterijima ODV-a (6.3.3).

**Tablica 6.3.3.** Popis kriterija i ocjena sukladnosti s ODV-om.

Kriteriji	Izvršeno
Ekološko stanje razvrstano je u jedan od pet razreda	da

Vrlo dobro, dobro i umjereni ekološko stanje postavljeno je u skladu s normativnim definicijama ODV-a (postupak postavljanja granica)	da
Uključeni su svi relevantni parametri koji utječu na biološke elemente kakvoće (BEK)	da
Procjena je prilagođena interkalibracijskim uobičajenim tipovima koji su definirani u skladu s tipološkim zahtjevima ODV-a, a odobreni od WG ECOSTAT-a	da
Vodeno se tijelo procjenjuje na temelju tipičnih, gotovo prirodnih referentnih uvjeta	da
Rezultati procjene izražavaju se kao OEK	da
Postupak uzorkovanja omogućava reprezentativne informacije o kvaliteti vode / ekološkom stanju u prostoru i vremenu	da
Svi podaci relevantni za procjenu bioloških parametara navedenih u normativnim definicijama ODV obuhvaćeni su postupkom uzorkovanja	da
Odabrana taksonomska razina postiže odgovarajuću pouzdanost i preciznost u razvrstavanju	da

#### PROVJERA IZVODLJIVOSTI INTERKALIBRACIJE

Interkalibracijski postupak u idealnom smislu obuhvaća sve nacionalne metode ocjenjivanja unutar GIG-a. Interkalibracijski postupak je usredotočen na specifični tip/biološki element kakvoće/kombinacija pritisaka. Drugi korak procesa predstavljen je kao "Provjera interkalibracijske izvedivosti" u svrhu ograničavanja interkalibracijske analize na metode svojstvene zajedničkom tipu i antropogenim opterećenjima, slijedeći sličan koncept ocjenjivanja.

#### TIPOLOGIJA

Nacionalni tipovi su validirani u zajedničke interkalibracijske tipove na temelju: srednje nadmorske visine, površine slivnog područja i kvalitativnih podataka o hidrološkim svojstvima rijeka. Na temelju toga zaključeno je da se nacionalni tipovi mogu grupirati u dva zajednička interkalibracijska tipa za koje je interkalibracijski postupak završen (Aguiar et al. 2014) – R-M1 i R-M2, dok interkalibracijski tip R-M5 nije interkalibriran zbog velikih strukturalnih i funkcionalnih razlika unutar članica MED GIG-a (Aguiar et al. 2010). U Tablici 1 dat je pregled hrvatskih abiotičkih tipova i njihova pripadnost u interkalibracijske tipove Mediteranske geografske grupe.

#### ANALIZIRANI PRITISCI

Hrvatska metoda za ocjenu ekološkog stanja rijeka temelji se na odgovoru indikatorskih vrsta na eutrofikaciju i opću degradaciju. Metoda je slična već interkalibriranim metodama. Sve metode temelje se na indikatorskim vrstama koje odgovaraju na antropogene pritiske, posebice eutrofikaciju. Odnosi između omjera ekološke kakvoće i okolišnih parametara prikazani su u poglavljju o pritiscima.

## KONCEPT OCJENJVANJA

Nacionalna metoda za ocjenu ekološkog stanja na temelju makrofita temelji se na uzorkovanju makrofita sa svih staništa koja se nalaze u koritu rijeke i riječnim obalama. Referentni indeks definira vrste za tip specifična referentna stanja i vrste koje indiciraju poremećaje, odnosno nespecifična stanja za određeni riječni tip. Vrste koje se uzimaju u obzir pripadaju parožinama i ostalim makroalgama, mahovinama i vaskularnim biljkama.

Interkalibrirane metode u MED GIG-u, RMI (Slovenija) i IBMR (Cipar, Grčka, Francuska, Italija, Portugal i Španjolska), kao i naknadno usklađena RI-BG (Bugarska) također su metode koje se temelje na sustavima indikatorskih vrsta. Izračun OEK vrijednosti razlikuje se između tih metoda, no može se svesti na ponderirani (težinski) prosjek abundancije indikatorskih vrsta, a to je koncept koji slijedi i hrvatska metoda.

## ZAKLJUČAK O PROVEDIVOSTI INTERKALIBRACIJE

Na temelju iznesenog zaključujemo da je moguće provesti postupak usklađenja hrvatskog referentnog indeksa s rezultatima završenog interkalibracijskog postupka za Mediteransku geografsku grupu.

### **Utvrđivanje podudarnosti s provedenim interkalibracijskim postupkom**

#### **Uvod**

Metode temeljene na makrofitima za Mediteransku geografsku grupu interkalibrirane su prije nego što je Hrvatska postala članica EU. Stoga je potrebno provesti postupak usklađenja za hrvatsku metodu. Prvo, treba pokazati da nacionalna metoda odgovara normativnim definicijama ODV-a, te da je interkalibracija provediva s obzirom na tipologiju rijeka, odnosno postojanje zajedničkih interkalibracijskih tipova, što je prikazano u prethodnim odjeljcima. U drugom koraku treba pokazati da granice klase nacionalne metode odgovaraju onima proizišlim iz završenog interkalibracijskog postupka za geografsku grupu.

MED GIG grupa za makrofite 2013. godine uspješno je završila interkalibraciju metoda za rijeke. Bilo je uključeno sedam zemalja članica (Portugal, Grčka, Francuska, Španjolska, Cipar, Slovenija i Italija). S jednim izuzetkom sve zemlje koriste francuski IBMR (*Indice Biologique Macrophytique en Rivière*) (Haury et al.) kao metodu za ocjenu ekološkog stanja. Samo Slovenija koristi drugu metodu – slovenski RMI (*River Macrophyte Indeks*) (Kuhar et al. 2011).

Stoga je kombinacija Opcije 1 (za sve zemlje koje koriste IBMR) i Opcije 3 (medijani vrijednosti granica klase svih zemalja nasuprot slovenskoj metodi) korištena za interkalibracijski postupak. No, za interkalibraciju slovenske metode nije korištena „prava“ Opcija 3. S obzirom da su harmonizirane vrijednosti medijana granica vrlo dobro/dobro i dobro/umjерено prethodno interkalibrirane koristeći Opciju 1 korištene kao fiksne *benchmark* vrijednosti (Aguiar et al. 2013), način interkalibracije je zapravo odgovarao postupku „fit-in procedure“, odn. postupku usklađenja (Pall et al. 2016).

U slučaju da je Opcija 3 primjenjena u prethodno završenom interkalibracijskom postupku, Priručnik za postupak usklađenja „Instruction manual to fit new or revised national classifications to the completed IC exercise“ određuje Slučaj B1 „IC Opcija 3, koristeći referentne/benchmark postaje“ kao metodu za postupak usklađenja (*fit-in procedure*). No, kako je prethodno opisano to u stvarnosti nije bio slučaj u Mediteranskoj geografskoj grupi. Stoga je odlučeno da ne slijedimo Slučaj B1 (*Case B1*). Nadalje, tokom testiranja slovenske metode kod pripreme postupka usklađenja bugarske metode pokazalo se da zbog malog broja indikatorskih vrsta na mnogim bugarskim postajama tu metodu nije moguće primjeniti na bugarskom uzorku (Pall et al. 2016). Slična situacija bila je i u ostalim članicama MED GIG-a jer se samo na neke postaje iz Francuske, Španjolske i Cipra mogla primjeniti slovenska metoda.

Zbog svega toga odlučeno je da slijedimo slučaj A1 (*Case A1*) za postupak usklađenja (*fit-in procedure*): „IC Opcija 1 ili 2 koristeći referentne/benchmark postaje“.

*Benchmark* standardizacija korištena u završenom interkalibracijskom postupku za MED GIG slijedi granične vrijednosti koje su predložili Feio i sur. (2016), a navedene su u 6.3.4.

**Tablica 6.3.4.** Granične vrijednosti za *benchmark* postaje u Mediteranskoj geografskoj grupi (Feio et al. 2014).

Varijabla	Granična vrijednost
Kanaliziranost	$\leq 2$
Promjena obale (1-4)	$\leq 2$
Promjena staništa (1-4)	$\leq 2$
Riparijska vegetacija (1-4)	$\leq 2$
Povezanost (1-4)	$\leq 2$
Protočnost (1-4)	$\leq 2$
Utjecaj uzvodnih brana (1-4)	$\leq 2$
Vodni valovi ( <i>Hydropeaking</i> ) (1-4)	$\leq 2$
Otopljeni kisik (mg/l)	6.39-13.70
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/l)	$\leq 0.09$
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	$\leq 1.15$
P-Total (mg/l)	$\leq 0.07$
P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg/l)	$\leq 0.06$
% artificijelnih područja u slivu	$\leq 1$
% intenzivne poljoprivrede u slivu	$\leq 11$
% ekstenzivne poljoprivrede u slivu	$\leq 32$
% (polu-)prirodnih područja u slivu	$\geq 68$

Svi biološki podaci korišteni u postupku usklađenja prikupljeni su 2017. godine. Reprezentativni odsječci rijeka istraženi su tokom vegetacijske sezone (od lipnja do rujna) direktnim sakupljanjem, te grabljanjem uz pomoć grablji na užetu ili štapu. U analize su uključeni i godišnji prosjeci mjesecnih mjerena fizikalno-kemijskih parametara i parametri o korištenju zemljišta u slivnom području dobiveni iz CORINE baze podataka (European Environmental Agency 2006).

#### Skup podataka korišten u postupku usklađenja

Skup podataka (bioloških i nebioloških) obuhvaća 57 postaja iz zajedničkih interkalibracijskih tipova za Mediteransku geografsku grupu – R-M1, R-M2 i R-M5 (6.3.5.). S obzirom da je tip R-M5 isključen i postupka interkalibracije kako je objašnjeno u uvodu, za postupak usklađenja preostale su 42 postaje koje pripadaju tipovima R-M1 i R-M2. Postupak usklađenja proveden je na temelju pouzdanog skupa podataka iz programa nacionalnog monitoringa tekućica Hrvatskih voda provedenog 2017. godine. Taj skup podataka obuhvaća čitav sredozemni dio Hrvatske uključen u Mediteransku geografsku grupu. Skup podataka sadrži podatke o makrofitima, godišnjim prosjecima fizikalnih i kemijskih parametrima mjerjenih svaki mjesec na istim postajama, te podatke o korištenju zemljišta i hidromorfološkoj degradaciji, također za svaku od postaja. Može se zaključiti da taj skup podataka obuhvaća postaje s gotovo čitavog gradijenta pritisaka i stoga čitav gradijent ekološke kakvoće.

**Tablica 6.3.5.** Broj postaja s uzorkovanim makrofitima u mediteranskom dijelu Hrvatske obuhvaćenom Mediteranskom geografskom grupom prema interkalibracijskim tipovima i klasama ekološke kakvoće.

	ukupno	vrlo dobro	dobro	umjereno	loše	vrlo loše
R-M1	17	7	2	6	2	-

R-M2	<b>25</b>	<b>12</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	-
R-M5	15	4	7	-	4	-

### Opis postupka usklađenja (interkalibracijskog postupka)

#### Korak 1: Izračun zajedničke metrike (common metric) na nacionalnom skupu podataka

Metoda korištena za interkalibracijsku Opciju 1 unutar MED GIG-a bio je francuski IBMR (Haury et al. 2006). Detalji o tome kako je ta metoda primijenjena kao zajednička metrika za interkalibraciju unutar MED GIG-a nalaze se u dokumentu MED GIG IC report (Aguiar et al. 2013) i u publikaciji Aguiar et al. (2014).

Zajednička MED GIG metoda IBMR (*common metric* ili ICM) izračunata je za cijeli nacionalni skup podataka. Izračun je napravljen pomoću *Formularie saisie liste floristique calcul IBMR v.3.3.* (<https://hydrobio-dce.irstea.fr/telecharger/macrophytes-rivieres-2/>).

Kako bi se izračunale ICM-OEK vrijednosti, IBMR vrijednosti nacionalnog skupa podataka podijeljene su s medijanom vrijednosti za *benchmark* postaje koji iznosi 12,09.

**Korak 2:** Na temelju podataka o pritiscima odredi postaje iz nacionalnog skupa podataka koje zadovoljavaju kriterije postavljene za odabir referentnih ili *benchmark* postaja unutar GIG-a.

Na temelju graničnih vrijednosti navedenih u Tablici 6.3.4 (Feio et al. 2014) odabrano je osam postaja koje zadovoljavaju uvjete da bi se mogle smatrati referentnim ili *benchmark* postajama (Tablica 6.3.6).

**Tablica 6.3.6.** Benchmark postaje iz hrvatskog dijela Mediteranske geografske grupe koje zadovoljavaju granične vrijednosti prema Feiou i sur. (2014).

Šifra postaje	Ime postaje	IC-tip	HR-OEK	IBMR
40106	Potok Rumin (pritok Cetine)	R-M1	0.688	11.850
40443	Izvor Krke (pritok Une), granični prijelaz	R-M1	0.947	9.500
14006	Una, kod izvorišta Loskun	R-M2	0.797	12.050
14007	Una, nizvodno od D. Kraja	R-M2	0.750	8.730
40102	Cetina, Vinalić	R-M2	0.823	12.130
40104	Cetina, Barišići	R-M2	0.943	14.820
40205	Zrmanja, Palanka	R-M2	0.946	14.710
40199	Zrmanja, most na cesti Kostići-Vukmirice	R-M2	0.950	15.250

**Korak 3:** Standardiziraj zajedničku metriku (CM-bm) prema benchmark postajama u skladu s postupkom korištenom u završenom postupku...

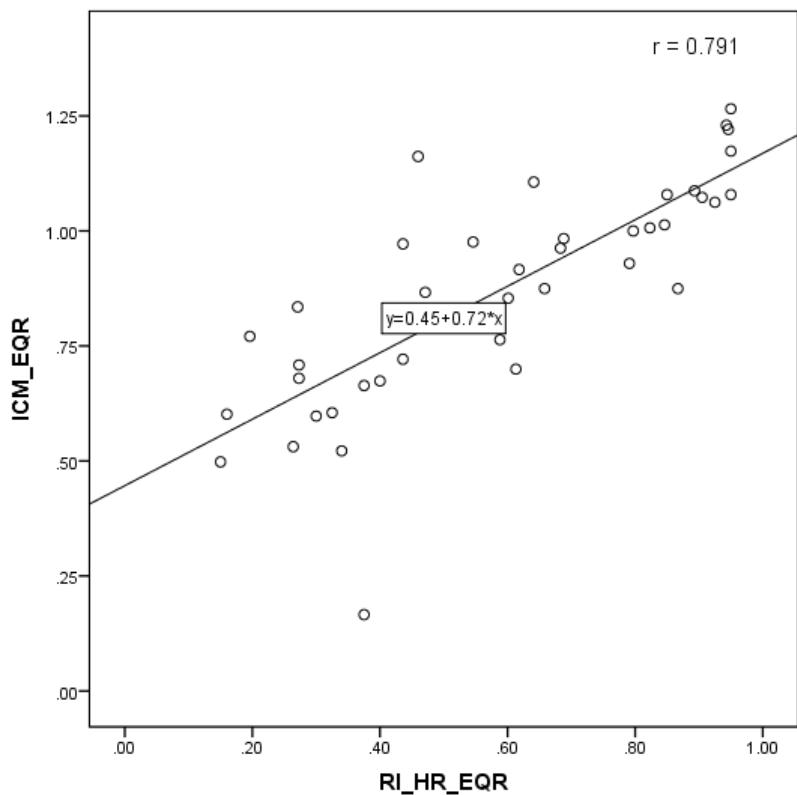
Pregled kako je benchmark standardizacija provedena u MED GIG-u nalazi se u Tablici 6.3.7.

**Tablica 6.3.7.** Benchmarking pristup u MED GIG-u i benchmarking hrvatske nacionalne metode.

	Država	Broj BM postaja	Srednji ICM	Zaključak	
Završena interkalibracija	Španjolska	21	1.04	0.05	<i>Benchmark</i> standardizacija ICM-a za svaku zemlju provodi se oduzimanjem pomaka ( <i>offset</i> ) njihovih <i>benchmark</i> postaja
	Portugal	13	0.98	-0.01	
	Italija	15	1.02	0.03	
	Francuska	16	0.97	-0.02	
	Grčka	10	0.91	-0.08	
	Cipar	3	1.03	0.04	
	Slovenija	0			
	<b>Ukupna srednja vrijednost</b>		<b>0.99</b>		
	<b>Raspon</b>		<b>0.91-1.04</b>		
Pridružena država	Hrvatska	8	1.02	0.03	<i>Benchmark</i> standardizacija ICM-a za hrvatsku metodu provodi se oduzimanjem pomaka ( <i>offset</i> ) od ukupne srednje vrijednosti u skladu sa završenom interkalibracijom.

**Korak 4:** Upotrijebi linearnu regresiju kako bi se dobio odnos između CM\_bm (y) i OEK za metodu koja se uskladjuje (x)...

Regresija zadovoljava minimalne kriterije koje definira EC, 2011 ( $r^2 > 0,25$ ;  $p > 0,01$ ;  $r > 0,5$ ). Na Slici 6.3.3. prikazan je regresijski pravac između CM i RI-OEK.



**Slika 6.3.3.** Regresija između ICM (IBMR) i nacionalnog RI-HR OEK ( $r^2 = 0.625$ ,  $p = 0.000$ ;  $r = 0.791$  – Pearsonov korelacijski koeficijent).

**Korak 5:** *Predvidi pozicije nacionalnih granica klasa (umjerenlo/loše, dobro/umjerenlo, vrlo dobro/dobro, referentno) na CM-bm skali.*

Koristeći formulu iz Slike 6.3.3. nacionalne granice klasa prevedene su u ICM granice klasa kako je prikazano u Tablici 6.3.7a.

**Tablica 6.3.7a.** Konverzija nacionalnih granica klasa u ICM granice klasa.

Granice / referentno stanje	Nacionalni tipovi	RI-HR-OEK	Predviđeni ICM-OEK	ICM-OEK MED GIG	Odstupanje
Max	PF	1	1.17		
	BN	1	1.17		
H/G	PF	0.7	0.954	0.9127	0.0413
	BN	0.65	0.918	0.9127	0.0413
G/M	PF	0.49	0.8028	0.7543	0.0485
	BN	0.49	0.8028	0.7543	0.0485
M/P	PF	0.29	0.6588		
	BN	0.24	0.6228		

**Korak 6:** Primjeni kriterije komparabilnosti kako su sumarizirani u Poglavlju 6.

**6.1.** Odredi smjer otklona nacionalnih granica vrlo dobro/dobro i umjerenodobro nacionalne metode koja se uskladjuje na skali zajedničke metrike u odnosu na global mean view definiran u završenom interkalibracijskom postupku.

Nacionalne granice vrlo dobro/dobro i dobro/umjerenodobro padaju iznad global view (Tablica Xa).

**6.2.** Ako nacionalna granica dobro/umjerenodobro na skali zajedničke metrike pada ispod global view...

Nije relevantno.

**6.3.** Ako nacionalna granica dobro/umjerenodobro na skali zajedničke metrike pada iznad općeg stajališta (global view), izračunaj veličinu otklona i izrazi je kao udio širine klase za umjereni status na skali zajedničke metrike. Ako je ta vrijednost  $\leq 0,25$  granica zadovoljava kriterije kompatibilnosti. Ako je  $< 0,25$  granica dobro umjerenodobro se može snižavati dok otklon između nacionalne granice dobro/umjerenodobro na skali zajedničke metrike i opće stajalište na istoj skali ne bude  $\leq 0,25$  širine klase. Naravno, ne postoji obaveza da se napravi ta prilagodba. Ako je odstupanje  $< 0,5$  od širine klase za umjereni status, prilagodba se snažno preporučuje...

**Tablica 6.3.8.** Izračun odstupanja granice klasa dobro/umjerenog izraženog kao udio širine klase prije i poslije harmonizacije granice dobro/umjerenog.

	Nacionalni tipovi	Širina klase	Apsolutno odstupanje	Relativno odstupanje
dobro/umjerenog originalno	PF	0.1512	0.0485	0.3208
	BN	0.1152	0.0485	0.4210
dobro/umjerenog prilagođeno	PF	0.1656	0.0341	0.2059
	BN	0.1368	0.0269	0.1966

Granicu klase dobro/umjerenog za nacionalni tip PF (mahovinska zajednica) treba spustiti s 0,49 na 0,47. Granicu klase dobro/umjerenog za nacionalni tip BN (herbidna zajednica) treba spustiti s 0,49 na 0,46.

**6.4.** Ove korake treba zatim ponoviti za granicu klase vrlo dobro/dobro. Stoga, ako nacionalna granica klase vrlo dobro/dobro na skali zajedničke metrike pada ispod općeg stajališta (common view), izračunaj količinu tog otklona i izrazi je kao udio širine klase za vrlo dobar status na skali zajedničke metrike. Ako je ta vrijednost  $\leq 0,25$ , granica zadovoljava kriterije kompatibilnosti. Ako je  $< 0,25$  granicu treba povisivati dok otklon između nacionalne granice vrlo dobro/dobro na skali zajedničke metrike i opće stajalište na istoj skali ne postane  $\leq 0,25$  širine klase. Ako nacionalna granica klase vrlo dobro/dobro na skali zajedničke metrike pada iznad općeg stajališta, izračunaj količinu tog otklona izrazi ga kao udio širine klase za dobar status na skali zajedničke metrike. Ako je ta vrijednost  $\leq 0,25$  granica zadovoljava kriterije kompatibilnosti. Ako je  $< 0,25$ , granica vrlo dobro/dobro se može snižavati dok otklon između nacionalne granice vrlo dobro/dobro na skali zajedničke metrike i opće stajalište na istoj skali ne postane  $\leq 0,25$  širine klase. Naravno, nije obavezno provesti tu prilagodbu. Ako je otklon  $> 0,5$  širine klase za dobar status prilagodba se snažno preporučuje...

**Tablica 6.3.9.** Izračun odstupanja granice klase vrlo dobro/dobro izraženog kao udio širine klase.

	Nacionalni tipovi	Širina klase	Apsolutno odstupanje	Relativno odstupanje
vrlo dobro/dobro	PF	0.2160	0.0413	0.1912
	BN	0.2520	0.0053	0.0210

Količina odstupanja izraženog kao udio širine klase je  $\leq 0,25$  i stoga granice klase zadovoljavaju kriterije kompatibilnosti i nije ih potrebno korigirati.

#### Ujednačivanje granica klasa

S obzirom da su u referentnim uvjetima u interkalibracijskim tipovima R-M1 i R-M2 u Hrvatskoj prepoznate dvije specifične zajednice ovisne o lokalitetima (PF i BN), granice klasa su ujednačene pomoću transformacijskih formula navedenih u tablici 6.3.10.

**Tablica 6.3.10.** Klasifikacija vrijednosti OEK prema granicama klasa ekološke kakvoće i pripadajuće transformacijske jednadžbe kako bi se postigle ujednačene zajedničke granice klasa.

Klasa ekološke kakvoće	Zajednica	Raspon OEK	Ujednačeni raspon OEK	Jednadžba
Very good	PF	>0.65	>0.8	$0.8+0.2*(OEK-0.65)/0.35$
	BN	>0.60	>0.8	$0.8+0.2*(OEK-0.60)/0.40$
Good	PF	0.42-0.64	0.6-0.79	$0.6+0.2*(OEK-0.42)/0.23$
	BN	0.41-0.59	0.6-0.79	$0.6+0.2*(OEK-0.41)/0.19$
Moderate	PF	0.24-0.41	0.4-0.59	$0.4+0.2*(OEK-0.24)/0.18$
	BN	0.19-0.40	0.4-0.59	$0.4+0.2*(OEK-0.19)/0.22$
Bad	PF	0-0.23	0.2-0.39	$0.2+0.2*(OEK)/0.24$
	BN	0-0.18	0.2-0.39	$0.2+0.2*(OEK)/0.19$
Poor	PF	-	<0.2	-
	BN	-	<0.2	-

## ZAKLJUČAK

Nacionalna metoda za ocjenu ekološkog stanja na temelju makrofita uspoređena je s rezultatima završenog interkalibracijskog postupka za Mediteransku geografsku grupu (MED GIG) slijedeći postupak usklađenja (*fit-in procedure*) (Willby et al. 2014). Analiza je pokazala dobru podudarnost nacionalne metode s metodama ostalih zemalja koje pripadaju u MED GIG. Slijedeći kriterije definirane u postupku usklađenja, u hrvatskoj nacionalna metodi prilagođene su granice za granice klasa dobro/umjereni kako bi bile komparabilne s granicama u ostalim metodama koje se koriste u Mediteranskoj geografskoj grupi.

## LITERATURA

Aguiar, F. C., Cambra, J., Chauvin, C., Ferreira, T., Germ, M., Kuhar, U., Manolaki, P., Miniciadri, M. R., Papastergiadou, E., 2010: Floristic and functional gradients of river plant communities: a biogeographical study across the Mediterranean Basin. XV Congress of Iberian Association of Limnology, 5-7 July 2010, Azores: 55.

Aguiar, F. C., Segundo, P., Urbanić, G., Cambra, J., Chauvin, C., Ciadamidaro, S. et al., 2013: Mediterranean River GIG – Macrophytes. 2012 Intercalibration Technical Report, unpublished.

Aguiar, F. C., Segundo, P., Urbanić, G., Cambra, J., Chauvin, C., Ciadamidaro, S., Dörflinger, G., Ferreira, J., Germ, M., Manolaki, P., Miniciardi, M. R., Munné, A., Papastergiadou, E., Ferreira, M. T. 2014: Comparability of river quality assessment using macrophytes: A multi-step procedure to overcome biogeographical differences. Science of the total environment, 476-477: 757-767.

Feio, M. J., Aguiar, F. C., Almeida, S. F. P., Ferreira, J., Ferreira, M. T., Elias C. et al., 2014: Least disturbed condition for European Mediterranean rivers. Science of the total environment, 476-477: 745-756.

Haury, J., Peltre, M.-C., Trémolières, M., Barbe, J., Thiébaut, G., Berbez, I., Daniel, H., Chatenet, P., Haan-Archipof, G., Muller, S., Dutartre, A., Laplace-Treyture, C., Cazaubon, A., Lambert-Servien, E.,

2006: A new method to assess water trophy and organic pollution – the Macrophyte Biological Index for Rivers (IBMR): its application to different types of river and pollution. *Hydrobiologia* 570: 153-158.  
Kohler, A., 1978: Methoden der Kartierung von Flora und Vegetation von Süßwasserbiotopen. *Landschaft & Stadt*, 10: 73-85.

Kuhar, U., Germ, M., Gaberščik, A., Urbanič, G., 2010: Development of a River Macrophyte Index (RMI) for assessing river ecological status. *Limnologica* 41: 235-243.

Mihaljević, Z., Kerovec, M., Mrakovčić, M., Plenković, A., Alegro, A. & Primc-Habdija, B. (2011): Testiranje bioloških metoda ocjene ekološkog stanja (Okvirna direktiva o vodama, 2000/60/EC) u reprezentativnim slivovima Panonske i Dinaridske ekoregije. PMF, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb. (Testing of biological methods for ecological status assessment (Water framework directive 2000/60/EC) in representative river basins of the Pannonic and Dinaric ecoregions).

Pall, K., Gecheva, G., Todorov, E., 2016: Bulgaria – Reprot on fitting a classification method to the results of the completed intercalibration of Med GIG (R-M1 and R-M2). Ministry of Environment and Water, Bulgaria & Consortium DICON – UBA, Sofia – Vienna.

Schaumburg, J., Schranz, C., Foerster, J., Gutowski, A., Hofmann, G., Meilinger, P., Schneider, S., Schmedtje, U., 2004: Ecological classification of macrophytes and phytobenthos for rivers in Germany according tot he Water Framework Directive. *Limnology* 34: 283-301.

Schaumburg, J., Schranz, C., Stelzer, D., Hofmann, G., Gutowski, A., Foerster, J., 2006: Instruction Protocol for the Ecological Assessment of running Waters for Implementation of the EC Water Framework Directive: Macrophytes and Phytobenthos. Bavarian Environment Agency, Munich.

Schaumburg, J., Schranz, C., Stelzer, D., Vogel, A., Gutowski, A., 2012: Verfahrensanleitung für die ökologische Bewertung von Fließgewässern zur Umsetzung der EG-Wasserrahmenrichtlinie: Makrophyten und Phytobenthos (PHYLIB). Bayerisches Landesamt für Umwelt, Wielenbach.

Willby, N., Birk, S., Poikane, S., van de Bund, W. 2015: Water Framework Directive Intercalibration manual. Procedure to fit new or updated classification methods to the results of a completed intercalibration. Guidance Document No. 30. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.

### **Tip R-M5 koji nije obuhvaćen interkalibracijskim postupkom**

U Mediteranskom geografskom području (Med-GIG) završeni interkalibracijski postupak za ocjenu ekološkog stanja rijeka na temelju makrofita uključio je sedam zemalja (Cipar, Francuska, Grčka, Italija, Portugal, Španjolska i Slovenija), a 2016. u post-interkalibracijski postupak usklađenja uključena i Bugarska. Hrvatska je postupku usklađenja pristupila 2019. kada su provedeni post-interkalibracijski postupci usklađenja za tipove R-M1 i R-M2 (Alegro 2019).

Kako za neke tipove nisu provedeni interkalibracijski postupci unutar odgovarajućih geografskih područja, uglavnom zbog velike heterogenosti tekućica koje u njih ulaze, tako je i dio tipova tekućica iz Hrvatske ostao neobuhvaćen post-interkalibracijskim postupcima usklađenja. Kako je i tekućicama iz tih tipova potrebno određivati ekološku kakvoću na temelju makrofita, ovdje donosimo metodu za ocjenu tekućica iz Mediteranske subregije Dinaridske ekoregije neobuhvaćenih interkalibracijskim postupkom. Tim tekućicama osnovno je svojstvo da im je tok povremen i obuhvaćene su u veliku i heterogenu grupu R-M5 koja obuhvaća mrđusobno vrlo različite mediteranske povremene tekućice. Ovdje opisana metoda je na temelju iskustava s post-interkalibracijskim postupcima usklađenja modificirana u odnosu dosadašnju metodu opisanu u *Metodologiji uzorkovanja, laboratorijskih analiza i određivanja omjera ekološke kakvoće bioloških elemenata kakvoće* (Hrvatske vode 2015). U analizu je uključeno ukupno 58 postaja iz interkalibracijskih tipova R-M1, RM-2 i R-M5 radi dokazivanja veze između OEK i fizikalno-kemijskih te hidromorfoloških pritisaka, dok se preostale analize temelje na 20 postaja sa povremenih tekućica.

**Tablica 1.** Pregled interkalibracijskog tipa tekućica R-M5 prema nacionalnoj biotičkoj klasifikaciji.

Naziv biotičkog tipa rijeke	Oznaka abiotičkog tipa rijeke	Oznaka biotičkog tipa rijeke	Oznaka interkalibracijskog tipa rijeke
16.POVRMENE TEKUĆICE			
16.a. Prigorske male i srednje velike			
Prigorske male povremene tekućice u vapnenačkoj podlozi	16B6	HR-R_16A	R-M5
Prigorske male povremene tekućice u vapnenačko-silikatnoj podlozi	16C6	HR-R_16A	R-M5
16.b. Nizinske			
Nizinske male povremene tekućice u vapnenačkoj podlozi	17B6	HR-R_16B	R-M5
Nizinske male povremene tekućice u silikatno-vapnenačkoj podlozi	17C6	HR-R_16B	R-M5
19.POVRMENE TEKUĆICE ISTRE			
Povremene nizinske male tekućice u vapnenačko-flišnoj podlozi Istre	23C6	HR-R_19	R-M5

**Tablica 2.** Broj postaja s uzorkovanim makrofitima u neinterkalibriranim tekućicama R-M5 prema klasama ekološke kakvoće.

	ukupno	vrlo dobro	dobro	umjereno	loše	vrlo loše	bez makrofita
R-M5	20	4	7	-	4	-	5

### 1. Opis metode za određivanje ekološke kakvoće na temelju makrofita

Podaci o makrofitskoj vegetaciji rijeka Hrvatske prikupljaju se od 2009. godine. Nakon što su isprobane različite metode i metrike temeljene na makrofitima, referentni indeks (RI) razvijen za određivanje ekološkog stanja njemačkih srednje velikih nizinskih rijeka (Schaumburg i sur. 2006, 2012), odabran je uz manje modifikacije za određivanje ekološkog stanja rijeka u Hrvatskoj.

Važeći dokument kojim se između ostalog propisuje postupak određivanju omjera ekološke kakvoće na temelju makrofita je *Metodologija uzorkovanja, laboratorijskih analiza i određivanja omjera ekološke kakvoće bioloških elemenata kakvoće*, koja je donesena Odlukom Hrvatskih voda sukladno 6. Uredbi o standardu kakvoće voda (Narodne novine, br. 73/13, 151/14 i 78/15) prema Zakonu o vodama (Narodne novine, br. 153/09, 63/11, 130/11, 56/13 i 14/14).

Na temelju dosadašnjih iskustava u ocjeni ekološke kakvoće, usporedbe s drugim sustavima ocjenjivanja iz Istočnokontinentalnog i Mediteranskog geografskog područja i provedenog post-interkalibracijskog postupka usklađenja, predlažemo da se nadalje koristi samo referentni indeks (RI), te da se odustane od daljnje upotrebe biocenološke metode opisane u *Metodologiji* (Hrvatske vode 2015) koja se pokazala teška za praktičnu upotrebu većini koja nije usko profesionalno specijalizirana za makrofitske zajednice. Nadalje, sve zemlje iz navedenih geografskih područja imaju samo po jednu metodu za ocjenu ekološke kakvoće na temelju makrofita, pa se time usklađujemo s praksom iz drugih zemalja. Vrijeme, mjesto, potrebna oprema i način uzorkovanja, kao i opis postupka laboratorijske obrade uzoraka za biološki element makrofita ostaju isti kako su opisani u *Metodologiji*.

Na svakoj postaji uzorkovane su sve vrste makrofita potrebne za ocjenu, ali i helofiti zbog potpunijeg uvida u vegetaciju i razumijevanja ekoloških odnosa i mogućih poremećaja. Uzorkovanje je obavljeno na odsječku obale od minimalno 50 m koji je po potrebi produživan dok se nije zaustavio prirast novih vrsta. Abundancija je procijenjena korištenjem devetstupanjske proširene Braun-Blanquet skale te petostupanjske skale po Kohleru. Granice istraživane plohe određene su krajnjim pojavljivanjem makrofita prema sredini rijeke. Sve vrste koje se nisu mogle odrediti na terenu sakupljene su kao herbarski primjerci (većina vaskularnih biljaka i mahovina) ili kao mokri preparati (uskolisni mrijesnjaci, parožine i ostale makroalge). Nakon determinacija podaci su organizirani u tablice i pripremljeni za izračun makrofitskog indeksa, odnosno za određivanje omjera ekološke kakvoće.

Ocjena ekološkog stanja na temelju biološkog elementa makrofita temelji se na izračunu referentnog indeksa (RI) koji uključuje tri indikatorske grupe makrofita i njihove abundancije. Indikatorsku grupu A čine vrste referentne zajednice i one koje ukazuju na dobro stanje vodotoka, grupu B čine vrste širih ekoloških amplituda koje se mogu javljati u različitim zajednicama i konačno grupu C čine vrste koje se redovno ne javljaju u referentnim zajednicama te ukazuju na neki poremećaj, najčešće eutrofikaciju ili hidromorfološki poremećaj.

Prije računanja referentnog indeksa, brojnosti (A) valja pretvoriti u količine (Q) prema formuli:

$$Q = A^3$$

Referentni indeks (RI) računa se prema sljedećoj formuli:

$$RI = \frac{\sum Q_{Ai} - \sum Q_{Ci}}{\sum Q_{gi}} \cdot 100$$

gdje su:

$Q_{Ai}$  – količina i-te vrste iz grupe A

$Q_{ci}$  – količina i-te vrste iz grupe C

$Q_{gi}$  – količina i-te vrste iz svih grupa (A+B+C)

referentni indeks preračuna se u skalu od 0 do 1 prema formuli za izračunavanje omjera ekološke kakvoće:

$$M(OEK) = \frac{(RI + 100) 0,5}{100}$$

Dobivena vrijednost EQR se usporedi s graničnim vrijednostima (Tablica 3).

## 2. Referentni uvjeti

Referentni uvjeti određeni su za svaki nacionalni biotički riječni tip na tamelju ekspertne procjene i najmanje poremećenih lokaliteta (*least disturbed sites*), ukoliko su postojali. U tim uvjetima možemo razlikovati dva osnovna tipa makrofitskih zajednica unutar interkalibracijskog tipa R-M5. Samo na jednoj postaji zabilježena je još jedna dodatna zajednica.

- zajednica u kojoj dominiraju mahovine (PF) – ova zajednica u referentnom stanju, ovisno u uvjetima u kojima se razvija, može biti vrlo bogata vrstama ili pak građena od svega nekoliko vrsta (npr. ukoliko je brzina vode jaka ili zasjena znatna).
- zajednica u kojoj dominiraju herbidi i drugi morfološki oblici vaskularnih biljaka (miriofilidi i magnopotamidi prije svega) (BN). Najčešća i konstantna vrsta u ovoj zajednici je *Berula erecta*, a često je javljaju i druge vrste kao što su *Mentha aquatica*, *Veronica anagalis-aquatica*, *V. beccabunga*, *Myosotis scorpioides*, *Nasturtium officinale*, *Juncus effusus*, *Apium repens*, *Myriophyllum spicatum* i druge.
- zajednica u kojoj dominiraju morfološki tipovi nimfeide i valisneride (Sp) – tj. *Nuphar lutea*, *Potamogeton lucens*, *P. perfoliatus*, *Sparganium emersum*, *Sagittaria sagittifolia*, *Nymphaea alba* te vrste oligotrofnih i slabo eutrofnih voda: *Callitricha hamulata*, Characeae, *Lemna trisulca*, *P. gramineus*, *Riccia fluitans*, *Utricularia* spp., *Hippuris vulgaris* i druge. Ova zajednica zabilježena je samo na jednoj postaji, Donji kanal, pritok Cetina kod Trilja i predstavlja izuzetak U Mediteranskoj subregiji.)

### 3. Granice klasa

Ekološki status raspodijeljen je u pet klasa: vrlo dobar, dobar, umjereno, loš i vrlo loš.

Granice klasa (Tablica 3) postavljene su u zone izrazite promjene sastava makrofitske zajednice analizom diskontinuiteta u odnosu okolišnih pritisaka i odgovora zajednice (pressure-response relationship) koji su podešeni ekspertnom procjenom temeljenom na promjenama u pridolasku tip specifičnih referentnih vrsta te tolerantnih vrsta. Granice klasa naknadno su modificirane na temelju provedenog post-interkalibracijskog postupka usklađenja za tekućice iz mediteranskog geografskog područja. Granice klasa određene su na ukupnom interkalibracijskom uzorku za Mediteransko geografsko područje u Hrvatskoj, a zatim dobivene granice za povremene tekućice umanjene za 0,5 s obzirom da se u njima ne može očekivati potpuno razvijena zajednica kao u stalnim vodotocima. Razlog takvom pristupu je bio mali broj postaja koje ne pokrivaju čitav gradijent degradacije. S druge strane, postojanje načelno istih zajednica omogućilo je takav pristup.

**Tablica 3.** Klasifikacija OEK vrijednosti u kategorije ekološke kakvoće.

Kategorija	Zajednica	Raspon OEK	Tumačenje
Vrlo dobro	PF	>0.65	Granica VD/D predstavlja četvrtinu (0,25) ispod vrijednosti medijana pri kojoj su vrste grupe A (referentne vrste) u jasnoj dominaciji, a vrste grupe C potpuno odsutne.
	BN	>0.60	
	Sp	>0.74	
Dobro	PF	0.42-0.64	Granica D/U je točka u kojoj vrste grupe B (indiferentne vrste) postaju dominantne, a vrste grupe A još uvek dominiraju nad vrstama grupe C.
	BN	0.41-0.59	
	Sp	0.50-0.73	
Umjereno	PF	0.24-0.41	Granica U/L je postavljena kao srednja vrijednost gdje u zajednici počinju dominirati vrste grupe C (pokazatelji poremećaja), a vrste grupe A nestaju.
	BN	0.19-0.40	
	Sp	0.25-0.49	
Loše	PF	0-0.23	Granica L/VL je točka u kojoj se gubi makrofitska vegetacija.
	BN	0-0.18	
	Sp	0-0.24	
Vrlo loše	PF	-	Potpuni nestanak makrofitske vegetacije zbog antropogenog pritiska.
	BN	-	
	Sp	-	

#### 4. Detektirani pritisci

Pritisci koje detektira metoda ocjene ekološkog stanja na temelju makrofita su eutrofikacija i opća degradacija. Na temelju rezultata analiza korelacijske (Tablice 4 i 5) može se zaključiti da metoda detektira okolišne pritiske.

**Tablica 4.** Korelacijski koeficijenti između OEK vrijednosti i fizikalno-kemijskih parametara vode.

	OEK			OEK	
	Pearsonov koeficijent korelacijske	Značajnost		Spearmanov koeficijent korelacijske	Značajnost
log_t	-.241*	.035	t	-.177	.093
log_pH	.079	.279	pH	.101	.228
log_električna vodljivost	-.085	.266	električna vodljivost	-.343**	.005
log_ukupne suspendirane tvari	-.327**	.007	ukupne suspendirane tvari	-.340**	.005
log_alkalitet	-.266*	.023	alkalitet	-.371**	.002
log_tvrdoča	-.128	.172	tvrdoča	-.323**	.007
log_O <sub>2</sub> _otopljeni	.297*	.012	O <sub>2</sub> _otopljeni	.318**	.008
log_O <sub>2</sub> _zasićenost	.220*	.050	O <sub>2</sub> _zasićenost	.180	.091
log_NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	-.586**	.000	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	-.579**	.000
log_NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	-.464**	.000	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	-.413**	.001
log_NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-.300*	.012	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-.265*	.023
log_N_ukupni	-.468**	.000	N_ukupni	-.372**	.002
log_PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	-.496**	.000	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	-.455**	.000

\*\*. Korelacija je značajna na razini 0.01.

\*. Korelacija je značajna na razini 0.05.

**Tablica 5.** Korelacijski koeficijenti između OEK vrijednosti i različitih mjera opće degradacije (EXT – % ekstenzivna poljoprivreda, INT – % intenzivna poljoprivreda, NAT – % prirodna i poluprirodna područja, ART – % urbanizirana područja).

	OEK			
	Pearsonov koeficijent korelacijske	Značajnost	Spearmanov koeficijent korelacijske	Značajnost
PST	-.048	.361	.001	.497
POE_T	-.210	.058	-.193	.075
POI_T	-.084	.266	-.274*	.019
PRI_T	.278*	.018	.333**	.006
URB_T	-.276*	.019	-.208	.061
long_con	-.091	.251	-.083	.270
morph	-.376**	.002	-.353**	.004
hydro	-.204	.064	-.239*	.036
total	-.393**	.001	-.354**	.003

\*\*. Korelacija je značajna na razini 0.01.

\*. Korelacija je značajna na razini 0.05.

## 5. Provjera usklađenosti s ODV

Da bi metoda za ocjenu ekološke kakvoće bila prihvatljiva potrebna je usklađenost s kriterijima ODV-a (Tablica 6).

**Tablica 6.** Popis kriterija i ocjena sukladnosti s ODV-om.

Kriteriji	Izvršeno
Ekološko stanje razvrstano je u jedan od pet razreda	da
Vrlo dobro, dobro i umjereno ekološko stanje postavljeno je u skladu s normativnim definicijama ODV-a (postupak postavljanja granica)	da
Uključeni su svi relevantni parametri koji utječu na biološke elemente kakvoće (BEK)	da
Procjena je prilagođena interkalibracijskim uobičajenim tipovima koji su definirani u skladu s tipološkim zahtjevima ODV-a, a odobreni od WG ECOSTAT-a	da
Vodeno se tijelo procjenjuje na temelju tipičnih, gotovo prirodnih referentnih uvjeta	da
Rezultati procjene izražavaju se kao OEK	da
Postupak uzorkovanja omogućava reprezentativne informacije o kvaliteti vode / ekološkom stanju u prostoru i vremenu	da
Svi podaci relevantni za procjenu bioloških parametara navedenih u normativnim definicijama ODV obuhvaćeni su postupkom uzorkovanja	da
Odabrana taksonomska razina postiže odgovarajuću pouzdanost i preciznost u razvrstavanju	da

## 6. Ujednačavanje granica klasa

Kako je vidljivo iz Tablice 3 granice klasa na temelju vrijednosti OEK nisu jedinstvene, već se razlikuju ovisno o tipovima makrofitskih zajednica. Kako bi se granice klasa ujednačile, provedene su linearne transformacije (*piecewise linear transformation*) navedene u Tablici 7.

**Tablica 7.** Klasifikacija OEK vrijednosti u kategorije ekološke kakvoće i pripadajuće transformacijske jednadžbe kako bi se dobili ujednačeni i jedinstveni rasponi klasa za sve zajednice makrofita.

Kategorija	Zajednica	Raspon OEK	Ujednačeni raspon OEK	Transformacijske jednadžbe
Vrlo dobro	PF	>0.65	>0.8	$0.8+0.2*(OEK-0.65)/0.35$
	BN	>0.60	>0.8	$0.8+0.2*(OEK-0.60)/0.40$
	Sp	>0.74	>0.8	$0.8+0.2*(OEK-0.74)/0.26$
Dobro	PF	0.42-0.64	0.6-0.79	$0.6+0.2*(OEK-0.42)/0.23$
	BN	0.41-0.59	0.6-0.79	$0.6+0.2*(OEK-0.41)/0.19$
	Sp	0.50-0.73	0.6-0.79	$0.6+0.2*(OEK-0.50)/0.24$
Umjereno	PF	0.24-0.41	0.4-0.59	$0.4+0.2*(OEK-0.24)/0.18$
	BN	0.19-0.40	0.4-0.59	$0.4+0.2*(OEK-0.19)/0.22$
	Sp	0.25-0.49	0.4-0.59	$0.4+0.2*(OEK-0.25)/0.25$
Loše	PF	0-0.23	0.2-0.39	$0.2+0.2*(OEK)/0.24$
	BN	0-0.18	0.2-0.39	$0.2+0.2*(OEK)/0.19$
	Sp	0-0.24	0.2-0.39	$0.2+0.2*(OEK)/0.25$
Vrlo loše	PF	-	<0.2	-

Kategorija	Zajednica	Raspon OEK	Ujednačeni raspon OEK	Transformacijske jednadžbe
	BN	-	<0.2	-
	Sp	-	<0.2	-

Na temelju transformacija granice klasa ekološke kakvoće za sve makrofitske zajednice u povremenim tekućicama Mediteranske subregije navedene su u Tablici 8.

**Tablica 8.** Klasifikacija OEK vrijednosti u kategorije ekološke kakvoće nakon provedenih polinomijalnih transformacija.

Kategorija	granica
H/G	0.8
G/M	0.6
M/P	0.4

## 7. Zaključak

Nacionalna metoda za ocjenu ekološkog stanja na temelju makrofita temelji se na uzorkovanju makrofita sa svih staništa koja se nalaze u koritu rijeke i riječnim obalama. Referentni indeks definira vrste za tip specifična referentna stanja i vrste koje indiciraju poremećaje, odnosno nespecifična stanja za određeni riječni tip. Vrste koje se uzimaju u obzir pripadaju parožinama i ostalim makroalgama, mahovinama i vaskularnim biljkama.

Na temelju abundancije makrofita u pojedinoj od tri indikatorske grupe računa se referentni indeks (RI) koji se transformira u omjer ekološke kakvoće (OEK). Korelacijske analize pokazuju da OEK odgovara na fizikalno-kemijske i hidromorfološke pritiske. Granice klasa postavljene u skladu sa zahtjevima Okvirne direktive o vodama i modificirani na temelju provedenih post-interkalibracijskih usklađivanja za tekućice istočnokontinentalnog i mediteranskog geografskog područja. Granice klasa naknadno su ujednačene između svih makrofitskih zajednica transformacijskim jednadžbama.

## 8. Literatura

- Alegro, A., 2019: Report on fitting of Croatian classification method for macrophytes in rivers to the results of the completed intercalibration of the Med GIG (R-M1 and R-M2) 1.0. Hrvatske vode, Zagreb.
- Anonymous, 2015: Metodologija uzorkovanja, laboratorijskih analiza i određivanja omjera ekološke kakvoće bioloških elemenata kakvoće. Hrvatske vode, Zagreb.
- Schaumburg, J., Schranz, C., Stelzer, D., Hofmann, G., Gutowski, A., Foerster, J., 2006: Instruction Protocol for the Ecological Assessment of running Waters for Implementation of the EC Water Framework Directive: Macrophytes and Phytobenthos. Bavarian Environment Agency, Munich.
- Schaumburg, J., Schranz, C., Stelzer, D., Vogel, A., Gutowski, A., 2012: Verfahrensanleitung für die ökologische Bewertung von Fließgewässern zur Umsetzung der EG-Wasserrahmenrichtlinie: Makrophyten und Phytobenthos (PHYLIB). Bayerisches Landesamt für Umwelt, Wielenbach.

## 7. Prikaz revidiranih bioloških metoda ocjene ekološkog stanja, prema poglavljima definiranim u Metodologiji, ovisno o tome koji dio metode je revidiran

### 7.1. Biološki element: Makrozoobentos

Makrozoobentos predstavlja važnu komponentu unutar biocenotičkih struktura i ciklusa hranjivih tvari te je važan dio hranidbenih lanaca i jedan je od ključnih bioloških elemenata kakvoće u ocjeni ekološkog stanja tekućica. Zbog relativno dugog životnog vijeka i ograničene pokretljivosti, veće ili manje promjene ekoloških uvjeta u okolišu, primjerice promjena fizikalnih svojstava vode (brzina strujanja vode, temperatura, svjetlo), kemijskih svojstava vode (količina hranjivih tvari, kisika i ugljikovog dioksida te sezonske i dnevne promjene režima protoka vode) imaju za posljedicu promjenu u kvalitativnoj i kvantitativnoj strukturi zajednice. Prednosti makrozoobentosa pred drugim skupinama vodenih organizama u ocjeni ekološkog stanja voda su:

- relativno se lagano prikupljaju uz pomoć različitih tipova bentos mreža,
- 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.

#### UZORKOVANJE

##### *Vrijeme uzorkovanja*

Najpovoljnije vrijeme uzorkovanja za velike i vrlo velike rijeke je ljetno-ranojesensko razdoblje (srpanj, rujan), kada većina hrvatskih rijeka ima nizak vodostaj. Međutim za rijeke Muru i Dravu najpovoljnije vrijeme uzorkovanja je zimsko razdoblje (prosinac-veljača) kada imaju najniži vodostaj. Za tekućice koje presušuju i tekućice s nadmorskom visinom  $> 200$  m najbolje vrijeme uzorkovanja je razdoblje veljača-ožujak, tj. prije nego povremene tekućice presuše. Za sve ostale tipove tekućica najpovoljnije vrijeme uzorkovanja je u proljetnom razdoblju (ožujak - travanj), tj. prije masovnog izljetanja 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.

### *Odabir i veličina mesta uzorkovanja*

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 km<sup>2</sup> (male tekućice),
- 50 m, ako je površina sliva od 100 do 1 000 km<sup>2</sup> (srednje velike tekućice),
- 100 m, ako je površina sliva od 1 000 do 10 000 km<sup>2</sup> (velike tekućice),
- 250 m, za one površine sliva veće od 10 000 km<sup>2</sup> (vrlo velike rijeke).

Treba izbjegavati uzorkovanje blizu hidro-tehničkih objekata (mostova, preljeva, obaloutruda, 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 potrebna za uzorkovanje*

(Uzorkovanje se obavlja ručnom bentos mrežom ili Surberovom mrežom.)

- 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 m<sup>2</sup>).
- Surberova mreža
- Za uzorkovanje u malim ili plitkim tekućicama s krupnjim supstratom:
- dimenzija metalnog okvira: širina 25 cm, visina 25 cm,
- dužina mreže je 50 cm s promjerom okašca 0,5 mm,
- veličina uzorkovane površine je 0,25 m x 0,25 m (0,0625 m<sup>2</sup>).

### *Dodatna oprema:*

- posude širokog grla za uzorke,
- kadica,
- pinceta,
- papir za etikete (paus papir),
- olovka,
- vodooodporni 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 protokol 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.

### *Metoda uzorkovanja*

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 m<sup>2</sup>). 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 m<sup>2</sup>.

### *Način uzorkovanja*

Prvi korak je detaljna klasifikacija mikrostaništa (mineralnog supstrata i organske podloge. Definicije mikrostaništa nalaze se u Pojmovniku stručnih izraza i kratica.

Drugi korak je procjena prosječne zastupljenosti svakog tipa mikrostaništa, koja se unosi u terenski protokol, uključujući i supstrat nastao pod utjecajem čovjeka (tehnolital), ukoliko je prisutan. Za procjenu zastupljenosti mikrostaništa uzorkovani odsječak se podijeli na pododsječke od 25 m (za rijeke s veličinom sliva do 100 km<sup>2</sup>). Preporučuje se odrediti zastupljenost mikrostaništa s obale rijeke, bez ulazanja 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.

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.

Uzorkovanje na postajama jednolikog supstrata (npr. gdje dominira raspadnuta organska tvar (CPOM) ili postaju opće karakteriziramo kao prilično jednoličnog supstrata) može biti izuzetak u pravilu od 20 poduzoraka. Naime, jednoličnost staništa uvjetuje i jednoličnost faune prilikom čega uzorkovanje 20 poduzoraka u odnosu na predloženih deset ne bi znatno utjecalo na bioraznolikost. Zaključeno je da u ovakvim i sličnim slučajevima kada se zahvaća puno organske tvari, nije potrebno duboko zahvaćati supstrat mrežicom, već pliće. U ovom slučaju, također je poseban naglasak na ispiranju uzorka. Treba koristiti veće kadice, veće mreže za ispiranje te bi bilo dobro da je prisutno više osoba pri uzorkovanju makrozoobentosa.

Četvrti korak je uzorkovanje, a preporuke su sljedeće:

- Uzorkovanje se započinje s najnizvodnjeg 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 otpavi 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 pjesak 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.

#### *Obrada uzorka na terenu*

Iz uzorka se odstranjuje veliko kamenje, uz provjeru da nema zaostalih organizama. Općenito, osjetljiviji organizmi, poput virnjaka (Turbelaria) se oštećuju ili kontrahiraju konzerviranjem te se trebaju razvrstati i prema mogućnosti determinirati odmah na terenu, ili ih žive spremiti u odvojene bočice bez supstrata kako se ne bi oštetili tijekom transporta. Te uzorke tijekom transporta u laboratorij treba držati u hladnjaku. Veliike, 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

#### **LABORATORIJSKA OBRADA UZORAKA**

##### *Izolacija makrozoobentosa*

U laboratoriju se uzorak makrozoobentosa podijeli na manje uzorke s ciljem skraćivanja vremena potrebnog za obradu uzorka. To se prvenstveno odnosi na uzorke s izrazito gustim populacijama

makrozoobentosa. Slučajni odabir poduzoraka omogućuje da se iz velikog uzorka odabere manji broj poduzoraka, koji predstavljaju cjelokupni uzorak. Uzorak se prvo homogenizira, a poduzorkovanje se obavlja korištenjem posebne opreme (poduzorkivač). Na taj način, osigurava se proporcionalna zastupljenost organizama.

Oprema za poduzorkovanje u laboratoriju:

- kadica,
- metalna ili plastična mreža s 30 kvadrata jednake veličine; svaki kvadrat predstavlja jedan poduzorak,
- žlice ili lopatice za izolaciju materijala iz kadice,
- plastične posudice, vrećice ili kivete,
- etilni alkohol,
- rukavice,
- škare,
- paus papir i
- grafitna olovka.

Organizmi se izoliraju na sljedeći način:

U laboratoriju se iz vrećice ili posudice s uzorkom odlije alkohol kroz mrežu promjera oka 500 µm u odgovarajuću posudu, a sabrani materijal se ispere pod tekućom vodom i odloži u kadicu. Za analizu nije potrebno izdvajati organizme iz cijelog uzorka te se on rasporedi u kadicu za poduzorkovanje, koja je podijeljena na 30 jednakih kvadrata. Kada se uzorak jednolično rasporedi u kadici, nasumično se odabere pet poduzoraka upotrebom para igračih kockica. Iz pet slučajno izabranih kvadrata/poduzoraka (jedinica za izolaciju), izdvoje se svi makroskopski beskralješnjaci. Ako je moguće, ovi kvadrati se prenesu na komplet od nekoliko sita. Obavezno se mora paziti da sita prate slijed veličine oka i da je najdonje sito s promjerom oka od 0,5 mm. Uzorak se preko sita dodatno ispere, kako bi se materijal homogenizirao. Na kraju se uzorci iz svakog sita zasebno prenesu u posudice ispunjene 70%-tним etanolom. Takav uzorak je spreman za izolaciju. Alternativno, izdvajanje organizama je završeno ako u pet poduzoraka nađemo minimalno 700 jedinki. U slučaju da se na navedenoj površini ne izolira više od 700 jedinki, pregledavaju se dodatni kvadrati sve dok brojnost organizama ne dosegne potrebnih 700 jedinki.

Broj jedinki je potrebno preračunati na cijeli uzorak te kasnije na površinu od 1m<sup>2</sup>.

#### *Determinacija makrozoobentosa*

U Tablici 7.1.1. je navedena razina determinacije makrozoobentosa potrebna za ocjenu ekološkog stanja tekućica u Hrvatskoj. Preporučuje se što detaljnija determinacija, do razine vrste ukoliko je moguće.

**Tablica 7.1.1.** Stupanj identifikacije potreban za Hrvatsku nacionalnu metodu ocjenjivanja.

Sistematska grupa	Stupanj identifikacije	Sistematska grupa	Stupanj identifikacije
Porifera	rod	Ephemeroptera	rod, vrsta
Hydrozoa	rod	Trichoptera	rod, vrsta
Bryozoa	prisustvo	Odonata	rod, vrsta
Turbellaria	rod, vrsta	Megaloptera	rod, vrsta
Oligochaeta	porodica, rod, vrsta	Heteroptera	rod, vrsta
Hirudinea	rod, vrsta	Coleoptera	rod, vrsta
Mollusca	rod, vrsta	Diptera	porodica, rod, vrsta
Crustacea	rod, vrsta	Hydrachnidia	prisustvo
Plecoptera	rod, vrsta		

### *Kvantifikacija makrozoobentosa*

U uzorku makrozoobentosa potrebno je odrediti brojnost taksona. Budući da relativna brojnost može dovesti do značajnih odstupanja rezultata, za izračunavanje Hrvatskog saprobnog indeksa - SIHR (vidi poglavlje 3.4.3.3.3. Za izračunavanje indeksa/pokazatelja) određuje se ili apsolutna brojnost indikatorskih vrsta utvrđenih u cijelom uzorku ili brojnost preračunatu na  $1\text{ m}^2$ .

### IZRAČUNAVANJE INDEKSA/POKAZATELJA ZA OCJENU EKOLOŠKOG STANJA

#### *Pokazatelji/indeksi za ocjenu ekološkog stanja na temelju makrozoobentosa*

Za ocjenu ekološkog stanja na temelju biološkog elementa makrozoobentosa potrebno je odrediti dva modula:

- Saprobnost - određivanje razine opterećenja tekućica organskim tvarima
- Opća degradacija – određivanje ukupnih antropogenih promjena

Za konačni rezultat za daljnju procjenu uzima se niži OEK od ovih dvaju modula.

#### *Određivanje saprobnosti*

- **Hrvatski saprobni indeks (SI<sub>HR</sub>)**

Biološki indeks koji ukazuje na opterećenje lako razgradljivim organskim tvarima, odnosno na saprobnost.

SI<sub>HR</sub> je prilagođen saprobni indeks prema Pantle-Bucku (1955):

$$SI_{HR} = \frac{\sum SI_{ui}}{\sum u_i}$$

gdje je:

SIHR = Hrvatski saprobni indeks

SI<sub>ui</sub> = indikatorska vrijednost pojedine vrste/svojte

ui = broj jedinki preračunat na  $\text{m}^2$

Modul saprobnosti baziran je isključivo na OEK-u Hrvatskog saprobnog indeksa (SIHR).

Indikatorske vrijednosti svojti makrobeskralješnjaka (SI) specifične su za Hrvatsku.

**Tablica 7.1.2** Indikatorske vrijednosti svojti makrobeskralješnjaka (SI) specifične za Hrvatsku:

Rod	Vrsta	ID_ART	Saprobnja indikatorska vrijednost (SI)
Hygrobates	sp.	15527	1.4
Corbicula	sp.	11178	2.2
Dreissena	polymorpha	4999	1.9
Musculium	lacustre	7966	2.4
Pisidium	amnicum	6409	1.8
Pisidium	sp.	6425	2.4
Sphaerium	corneum	6882	2.3
Sphaerium	rivicola	6884	2.2
Sphaerium	sp.	6886	2.4
Anodonta	anatina	7381	2.2
Anodonta	cygnea	4324	2
Anodonta	sp.	4326	2.2
Pseudanodonta	complanata ssp.	19396	1.9
Sinanodonta	woodiana	6858	2.3
Unio	crassus ssp.	19440	1.8
Unio	pictorum ssp.	19441	2
Unio	tumidus ssp.	19442	2
Unio	sp.	7138	1.8
Hydra	sp.	5502	1.8
Dryops	sp.	17749	2
Acilius	canaliculatus	17453	2.4
Acilius	sulcatus	17456	2.6
Acilius	sp.	17455	2.6
Agabus	sp.	17492	2.5
Copelatus	haemorrhoidalis	17654	2.5
Cybister	lateralimarginalis	17663	2.8
Deronectes	latus	17701	1.4
Dytiscus	sp.	17766	2.1
Hydroglyphus	geminus	18182	2.5
Hydroporus	sp.	98	2
Hydrovatus	cuspidatus	18263	2.1
Laccophilus	hyalinus	18356	2
Oreodytes	sanmarkii	18616	1.4
Oreodytes	sp.	18618	1.4
Platambus	maculatus	18649	2.3
Elmis	aenea	17768	1.4
Elmis	latreillei	17773	0.7
Elmis	maugetii	17774	1.5
Elmis	sp.	17779	1.4

Rod	Vrsta	ID_ART	Saprobitna indikatorska vrijednost (SI)
Esolus	angustatus	17816	1.2
Esolus	parallelepipedus	17820	1.6
Esolus	sp.	17822	1.2
Limnius	perrisi	18418	1.4
Limnius	volckmari	18421	1.6
Limnius	sp.	18419	1.4
Macronychus	quadrituberculatus	18432	2
Normandia	nitens	18480	1.2
Oulimnius	tuberculatus	18629	1.9
Riolus	cupreus	18693	1.9
Riolus	subviolaceus	18696	1.5
Riolus	sp.	18695	1.4
Stenelmis	canaliculata	18722	1.3
Gyrinus	distinctus	17867	1.8
Gyrinus	sp.	17874	1.8
Orectochilus	villosus	18613	1.8
Brychius	elevatus	17593	1.7
Haliplus	sp.	17901	1.8
Peltodytes	caesus	18641	2.5
Helophorus	brevipalpis	17919	2.5
Hydraena	alpicola	18010	0.4
Hydraena	belgica	18022	1.6
Hydraena	excisa	18059	1.6
Hydraena	gracilis	18064	1.6
Hydraena	minutissima	18091	1.3
Hydraena	nigrita	18095	1.3
Hydraena	riparia	18114	1.6
Hydraena	sp.	18130	1.4
Limnebius	sp.	18407	1.6
Limnebius	truncatellus	18409	1.5
Coelostoma	orbiculare	17643	2.7
Cymbiodyta	marginella	17668	2.5
Hydrobius	fuscipes	18157	2.8
Hydrochus	sp.	18178	2.8
Hydrophilus	piceus	18189	2.8
Laccobius	minutus	18337	2.5
Limnoxenus	niger	18425	2.7
Noterus	clavicornis	18488	2.9
Noterus	crassicornis	18489	3
Asellus	aquaticus	8691	2.8

Rod	Vrsta	ID_ART	Saprobitna indikatorska vrijednost (SI)
Asellus	aquaticus (karstic type)	21930	1.6
Astacus	astacus	4357	1.8
Astacus	leptodactylus	4358	2
Austropotamobius	pallipes	7791	1
Austropotamobius	torrentium	7460	1.2
Atyaephyra	desmaresti	9272	2.3
Orconectes	limosus	6199	2.4
Corophium	curvispinum	4749	2.1
Synurella	ambulans	6960	2.1
Synurella	ambulans (karstic type)	21938	1.8
Dikerogammarus	haemobaphes	7854	2.2
Dikerogammarus	villosus	7517	2.1
Dikerogammarus	haemobaphes/villosus	14417	2.2
Dikerogammarus	sp.	8961	2.2
Echinogammarus	acarinatus	21761	1.5
Echinogammarus	cari	21769	1
Echinogammarus	thoni	21802	1.5
Echinogammarus	sp.	8918	1.5
Fontogammarus	dalmatinus ssp.	21950	1
Fontogammarus	dalmatinus dalmatinus	21928	1
Fontogammarus	dalmatinus krkensis	21929	0.8
Fontogammarus	sp.	21927	1
Gammarus	balcanicus	12330	1.2
Gammarus	fossarum	5288	1.7
Gammarus	roeselii	5292	2.3
Niphargus	hrabei	7792	2
Niphargus	spp.	6127	0.1
Obesogammarus	obesus	9799	2
Jaera	istri	8700	1.8
Limnophora	sp.	5872	1.4
Atherix	ibis	4363	1.6
Ibisia	marginata	4364	1.9
Liponeura	sp.	5891	0.4
Chaoborus	sp.	4636	2.1
Chironomus	plumosus-Gr.	4658	3.6
Chironomus	thummi-Gr.	10900	3.5
Chironomini (excl. Chironomus)		4644	2.5
Prodiamesa	olivacea	6583	2.7
Dixa	sp.	4989	1.7
Antocha	virtripennis		1.5

Rod	Vrsta	ID_ART	Saprobitna indikatorska vrijednost (SI)
Limnophora	sp.	5872	1.4
Dicranota	sp.	4955	1.9
Prosimulium	sp.	6591	1.4
Simulium	argenteostriatum	7845	0.6
Simulium	balcanicum	7850	2.2
Simulium	cryophilum	7839	1.6
Simulium	equinum	7851	2.2
Simulium	erythrocephalum	8819	2.2
Simulium	lineatum	7852	2.2
Simulium	monticola	6848	1.6
Simulium	posticatum	6851	2
Simulium	reptans	6852	1.9
Simulium	tuberousum	6854	1.4
Simulium	variegatum	6855	1.4
Simulium (Wilhelmia)	sp.	9762	2
Stratiomys	sp.	6932	2.8
Eristalinae	Gen. sp.	9323	4
Eristalis	sp.	5151	3.6
Tabanus	sp.	6963	2.1
Tipula	sp.	7077	1.8
Alainites	muticus	4409	1.5
Baetis	alpinus	4381	1.2
Baetis	fuscatus gr.	4398	2.2
Baetis	lutheri	4406	1.6
Baetis	melanonyx	4408	1.3
Baetis	rhodani	4415	2.1
Baetis	vernus	4427	2.3
Baetis	sp.	4419	1.7
Centroptilum	luteolum	8850	2
Cloeon	dipterum	4705	2.6
Cloeon	simile	4708	2.3
Nigrobaetis	niger	4410	1.8
Procloeon	bifidum	6574	2.2
Procloeon	pennulatum	4574	2.3
Procloeon	sp.	9167	2.2
Caenis	horaria	4519	2.2
Caenis	luctuosa	4521	2.3
Caenis	macrura	4522	1.9
Caenis	pseudorivulorum	4524	1.9
Caenis	rivulorum	4526	1.9

Rod	Vrsta	ID_ART	Saprobnna indikatorska vrijednost (SI)
Caenis	robusta	4527	2.2
Caenis	sp.	4528	1.9
Ephemerella	mucronata	5135	1.4
Ephemeralla	notata	5136	2
Ephemeralla	sp.	5137	1.8
Serratella	ignita	5131	2.1
Torleya	major	7083	1.8
Ephemera	danica	5124	1.8
Ephemera	lineata	5127	2.1
Ephemera	vulgata	5129	2.2
Ephemera	sp.	5128	2
Ecdyonurus	aurantiacus	5037	2.2
Ecdyonurus	helveticus-Gr.	5045	0.9
Ecdyonurus	submontanus	5056	0.7
Ecdyonurus	venosus-Gr.	5059	1.2
Ecdyonurus	sp.	5053	1.6
Epeorus	assimilis	12550	1.3
Heptagenia	coerulans	5449	2.2
Heptagenia	sulphurea	5457	2
Heptagenia	sp.	5456	1.8
Rhithrogena	semicolorata gr.	6744	1.9
Rhithrogena	diaphana gr.	7753	1.6
Habroleptoides	confusa	5367	1.6
Habrophlebia	fusca	5369	1.5
Habrophlebia	lauta	5370	2
Leptophlebia	marginata	5730	2
Leptophlebia	vespertina	5732	1.8
Paraleptophlebia	submarginata	6309	1.6
Paraleptophlebia	sp.	5731	1.6
Oligoneuriella	rhenana	6182	1.9
Ephoron	virgo	5139	2.3
Potamanthus	luteus	6510	2.2
Siphlonurus	aestivalis	6859	2
Siphlonurus	alternatus	6860	1.6
Siphlonurus	croaticus	6862	1.6
Siphlonurus	lacustris	6863	1.4
Siphlonurus	sp.	6864	1.6
Acrolopus	lacustris	4205	2.1
Bithynia	leachii ssp.	19308	2.1

Rod	Vrsta	ID_ART	Saprobitna indikatorska vrijednost (SI)
Bithynia	tentaculata	4462	2.2
Hydrobiidae (excl. Lithoglyphus and Potamopyrgus)	Gen. sp.	20162	0.2
Lithoglyphus	naticoides	5896	2.2
Potamopyrgus	antipodarum	8251	2.8
Galba	truncatula	5284	1.8
Lymnaea	stagnalis	5916	2
Radix	auricularia	6669	2.3
Radix	balthica	16959	2.5
Radix	labiata	16982	2
Radix	sp.	6673	2.3
Stagnicola	fucus	8254	1.8
Stagnicola	palustris	6905	2
Stagnicola	sp.	9197	2
Esperiana	esperi	14268	2
Holandriana	holandrii	8721	1.7
Microcolpia	daudebartii ssp.	19359	2.1
Theodoxus	danubialis ssp.	19411	1.9
Theodoxus	fluvialis	7025	1.7
Aplexa	hypnorum	4336	1.5
Physa	fontinalis	6395	1.5
Physella	acuta	6396	2.7
Ancylus	fluvialis	4310	1.7
Anisus	sp.	8874	2.2
Bathyomphalus	contortus	4433	1.7
Ferrissia	clessiniana	5271	2.2
Gyraulus	albus	5354	1.9
Gyraulus	crista	5356	2.2
Gyraulus	laevis	5357	1.6
Hippeutis	complanatus	5483	1.8
Planorbarius	corneus	6431	2.2
Planorbis	carinatus	6435	1.7
Planorbis	planorbis	6436	1.9
Pyrgula	annulata	21935	1.8
Borysthenia	naticina	4471	1.8
Valvata	cristata	7142	2.2
Valvata	piscinalis ssp.	19443	2.2
Valvata	sp.	7146	2.2
Viviparus	acerosus	7155	2
Viviparus	conctectus	7157	2.1

Rod	Vrsta	ID_ART	Saprobitna indikatorska vrijednost (SI)
Viviparus	viviparus	7158	1.9
Aphelocheirus	aestivalis	4335	1.8
Sigara	sp.	6829	2
Gerris	sp.	5303	1.6
Hydrometra	stagnorum	5546	1.6
Ilyocoris	cimicoides	5652	2.1
Nepa	cinerea	6118	2.1
Ranatra	linearis	6674	1.9
Notonecta	glaуca	6136	1.5
Notonecta	sp.	6139	2.2
Velia	sp.	7150	1
Dina	lineata	4973	3.1
Dina	punctata	4974	2.2
Erpobdella	nigricollis	5158	2.7
Erpobdella	octoculata	5159	2.9
Erpobdella	testacea	5161	2.5
Erpobdella	sp.	5160	2.5
Alboglossiphonia	heteroclita	4261	2.5
Alboglossiphonia	hyalina	7856	2.6
Batracobdelloides	moogi	7857	2.5
Glossiphonia	complanata	5304	2.5
Glossiphonia	concolor	5307	2.3
Glossiphonia	nebulosa	7725	2.2
Glossiphonia	paludosa	5308	2.4
Glossiphonia	sp.	5310	2.7
Helobdella	stagnalis	5413	2.7
Hemiclepsis	marginata	5444	2.2
Theromyzon	tessulatum	7034	2.4
Haemopis	sanguisuga	5373	2.6
Piscicola	geometra	6408	2.1
Sialis	fuliginosa	6821	2
Sialis	lutaria	6822	2.2
Sialis	sp.	6823	2.2
Aeshna	affinis	4221	2
Aeshna	cyanea	4222	2.2
Aeshna	grandis	4223	2.2
Aeshna	mixta	4225	2
Aeshna	sp.	4226	2
Anax	imperator	4308	2
Anax	parthenope	7430	2

Rod	Vrsta	ID_ART	Saprobn indikatorska vrijednost (SI)
Anax	sp.	8871	2
Calopteryx	splendens	4530	2.2
Calopteryx	virgo	4532	1.8
Calopteryx	sp.	4531	2.2
Coenagrion	mercuriale	4718	1.6
Coenagrion	ornatum	7421	1.6
Coenagrion	puella	4719	2
Coenagrion	pulchellum	4720	2.2
Coenagrion	scitulum	7423	2
Coenagrion	sp.	4722	2
Cercion	lindenii	7418	2
Enallagma	cyathigerum	5100	2.1
Erythromma	najas	5164	2
Erythromma	sp.	8984	2
Erythromma	viridulum	5165	2
Ischnura	elegans	5658	2
Ischnura	pumilio	5659	2
Ischnura	sp.	9045	2
Pyrrhosoma	nymphula	6667	2
Cordulegaster	bidentata	7410	1.4
Somatochlora	metallica	6878	2.1
Gomphus	flavipes	7433	2.2
Gomphus	vulgarissimus	5332	2
Gomphus	sp.	5331	2
Onychogomphus	forcipatus forcipatus	6194	1.9
Ophiogomphus	cecelia	8175	1.9
Chalcolestes	viridis	4629	2.2
Lestes	sp.	5736	2.1
Libellula	depressa	5795	2.2
Libellula	quadrimaculata	5797	2.1
Libellula	sp.	9066	2.2
Sympetrum	pedemontanum	6947	2.1
Sympetrum	striolatum	7444	2.1
Sympetrum	vulgatum	6949	2.1
Sympetrum	sp.	9205	2.1
Platycnemis	pennipes	6438	2
Aeolosomatidae	Gen. sp.	9241	2.5
Aeolosoma	variegatum	10642	2.5
Aeolosoma	hemprichi	7976	2.2
Haplotaxis	gordioides	5401	1.4

Rod	Vrsta	ID_ART	Saprobitna indikatorska vrijednost (SI)
Eiseniella	tetraedra	5075	2
Lumbriculidae	Gen. sp.	7490	2.3
Lumbriculus	variegatus	5907	2.5
Rhynchelmis	limosella	6789	2.8
Stylodrilus	heringianus	6935	1.7
Chaetogaster	diaphanus	4616	2.3
Chaetogaster	diastrophus	4617	2.1
Chaetogaster	sp.	4621	2.1
Dero	sp.	4914	2.9
Nais	barbata	6070	2.6
Nais	behningi	7988	1.4
Nais	bretschieri	6071	2.4
Nais	communis	6072	2.7
Nais	elinguis	6073	2.8
Nais	pseudobtusa	6075	2.1
Nais	simplex	6076	2.6
Nais	variabilis	6078	2.4
Nais	sp.	6077	2.6
Ophidonaïs	serpentina	6195	2.8
Pristina	bilobata	7202	2.7
Pristina	foreli	6554	2
Pristina	longiseta	6556	2.5
Pristina	rosea	7993	2.6
Pristina	sp.	6560	2.5
Slavina	appendiculata	6871	2.1
Specaria	josinae	6879	2.3
Stylaria	lacustris	6934	2.3
Uncinains	uncinata	7131	1.7
Propappus	volki	6586	1.9
Aulodrilus	pluriseta	4377	2.2
Branchiura	sowerbyi	4494	2.4
Embocephalus	velutinus	6890	1.7
Limnodrilus	hoffmeisteri	5863	3.5
Limnodrilus	udekemianus	5867	3.3
Limnodrilus	sp.	5866	3.3
Potamothrix	bavaricus	6529	2.2
Potamothrix	hammoniensis	6531	2.7
Psammoryctides	albicola	6620	2.5
Psammoryctides	barbatus	6621	2
Psammoryctides	moravicus	7493	2

Rod	Vrsta	ID_ART	Saprobnna indikatorska vrijednost (SI)
Spirosperma	ferox	16107	2.3
Spirosperma	sp.	20403	2.3
Tubifex	ignotus	7114	2.4
Tubifex	tubifex	7116	3.6
Tubificidae juv	with hair chaetae	14394	2.7
Tubificidae juv	without setae	14393	3.5
Capnia	sp.	4552	1.3
Chloroperla	sp.	4671	1.3
Siphonoperla	sp.	6867	1.2
Leuctra	sp.	5790	1.3
Amphinemura	sp.	4293	1.2
Nemoura	cinerea	21356	2.3
Nemoura	sp.	6108	1.4
Nemurella	pictetii	6113	1
Protonemura	sp.	6616	1.2
Dinocras	megacephala	4981	1.2
Dinocras	sp.	4982	1.2
Marthamea	vitripennis	5950	1.4
Perla	sp.	6372	1.2
Isoperla	sp.	5673	1.5
Perlodes	sp.	6377	1.2
Brachyptera	risi	4487	1.4
Brachyptera	sp.	4489	1.2
Rhabdiopteryx	sp.	6682	1.4
Taeniopteryx	hubaulti	6967	0.4
Taeniopteryx	sp.	6971	1.5
Beraea	maurus	4440	0.3
Beraea	pullata	4441	0.5
Beraea	sp.	4442	0.5
Ernades	sp.	8981	0.5
Brachycentrus	montanus	4479	1.4
Brachycentrus	subnubilus	4481	1.9
Micrasema	minimum	5984	1.5
Micrasema	setiferum	19358	1.5
Micrasema	sp.	5986	1.5
Ecnomus	tenellus	5064	2.7
Agapetus	sp.	4254	1.5
Glossosoma	bifidum	5311	1.1
Glossosoma	conformis	5314	1.2
Glossosoma	sp.	5316	1.2

Rod	Vrsta	ID_ART	Saprobitna indikatorska vrijednost (SI)
Synagapetus	krawanyi	6955	0.3
Synagapetus	sp.	6957	0.3
Goera	pilosa	5329	2.1
Lithax	niger	5893	0.2
Lithax	sp.	5895	0.6
Silo	nigricornis	6833	1.7
Silo	pallipes	6834	1
Silo	piceus	6835	1.7
Silo	sp.	6836	1.5
Cheumatopsyche	levida	4639	1.8
Hydropsyche	angustipennis		
Hydropsyche	angustipennis	5588	2.5
Hydropsyche	bulbifera	5589	2.5
Hydropsyche	bulgaromanorum	5590	2.2
Hydropsyche	contubernalis		
Hydropsyche	contubernalis	21231	2.4
Hydropsyche	dinarica	5594	1.4
Hydropsyche	fulvipes	5596	1.1
Hydropsyche	incognita	8142	2
Hydropsyche	instabilis	5598	1.8
Hydropsyche	modesta	5599	2.4
Hydropsyche	pellucidula	5601	2.3
Hydropsyche	saxonica	5602	1.6
Hydropsyche	siltalai	5604	2.2
Hydropsyche	sp.	5605	2
Agraylea	sexmaculata	4256	2.5
Hydroptila	sp.	5616	2
Ithytrichia	lamellaris	5677	1.1
Orthotrichia	sp.	8651	2.1
Oxyethira	sp.	6268	1.8
Crunoecia	sp.	8946	0.2
Lepidostoma	hirtum	5723	1.6
Adicella	filicornis	4211	0.4
Athripsodes	albifrons	4366	1.9
Athripsodes	aterrimus	4367	2.4
Athripsodes	bilineatus bilineatus	4368	1.9
Athripsodes	cinereus	4369	2.2
Ceraclea	annulicornis	4579	2.1
Ceraclea	dissimilis	4580	2.2
Ceraclea	sp.	4584	2.1
Leptocerus	interruptus	5727	2.5

Rod	Vrsta	ID_ART	Saprobitna indikatorska vrijednost (SI)
Leptocerus	sp.	9060	2.5
Mystacides	azurea	6062	2.1
Mystacides	longicornis	6063	2.4
Mystacides	nigra	6064	2.1
Mystacides	sp.	6065	2.1
Oecetis	lacustris	6171	2.3
Oecetis	ochracea	6173	2.4
Oecetis	sp.	6174	2.4
Triaenodes	bicolor	7088	2.5
Allogamus	uncatus	4267	0.6
Anabolia	furcata	4298	2.4
Anabolia	sp.	4301	2.2
Annitella	sp.	8875	1.4
Chaetopteryx	fusca	4623	1.4
Chaetopteryx	sp.	4627	1.3
Drusus	croaticus	20877	0.8
Drusus	discolor	5007	0.8
Drusus	sp.	5014	0.8
Ecclisopteryx	dalecarlica	5033	1.1
Ecclisopteryx	sp.	8151	1.1
Glyphotaelius	pellucidus	5318	2.2
Grammotaulius	nigropunctatus	5335	2.1
Halesus	digitatus	5375	1.8
Halesus	tesselatus	5379	2.3
Halesus	sp.	5378	1.6
Limnephilus	decipiens	5824	2.3
Limnephilus	lunatus	5837	2.1
Limnephilus	rhombicus ssp.	19351	1.8
Limnephilus	sp.	5844	1.8
Mesophylax	sp.	5964	2
Potamophylax	nigricornis	6524	0.5
Potamophylax	rotundipennis	6526	2.3
Rhadicoleptus	alpestris alpestris	21221	1.4
Odontocerum	albicorne	6168	1.3
Philopotamus	montanus ssp.	19382	1.2
Philopotamus	variegatus variegatus	6389	1.2
Philopotamus	sp.	6388	1.2
Wormaldia	copiosa ssp.	19448	1
Wormaldia	occipitalis occipitalis	7166	0.2
Wormaldia	subnigra	7169	1.6

<b>Rod</b>	<b>Vrsta</b>	<b>ID_ART</b>	<b>Saprobitna indikatorska vrijednost (SI)</b>
Wormaldia	sp.	7168	1.4
Oligostomis	reticulata	6185	2.1
Phryganea	sp.	6393	1.5
Cyrnus	trimaculatus	4877	2.3
Holocentropus	sp.	5489	2
Holocentropus	stagnalis	5490	2.5
Neureclipsis	bimaculata	6122	2.1
Plectrocnemia	brevis	6443	0.4
Plectrocnemia	conspersa conspersa	6444	1.6
Plectrocnemia	sp.	6447	1.7
Polycentropus	excisus	6467	1.3
Polycentropus	flavomaculatus		
Polycentropus	flavomaculatus	6468	1.7
Polycentropus	irroratus	6469	1.6
Psychomyia	klapaleki	21058	1.6
Psychomyia	pusilla	6661	2
Tinodes	dives dives	7062	0.9
Tinodes	unicolor	7068	0.6
Tinodes	sp.	7067	1
Tinodes	waeneri waeneri	21224	2.2
Rhyacophila	dorsalis persimilis	21080	2
Rhyacophila	hirticornis	6767	0.7
Rhyacophila	laevis	6769	0.6
Rhyacophila	torrentium	6782	1.2
Rhyacophila	tristis	6784	1.1
Rhyacophila	sp.	6780	1.4
Sericostoma	flavicorne	6816	1.3
Sericostoma	personatum/flavicorne	9747	1
Sericostoma	sp.	6818	1.4
Dendrocoelum	lacteum	4911	2.4
Dugesia	gonocephala	5018	1.2
Dugesia	lugubris	5019	2.1
Dugesia	lugubris/polychroa	9745	2.1
Dugesia	tigrina	5022	2.2
Crenobia	alpina	4771	0.7
Planaria	torva	6430	2.2
Polycelis	felina	6463	0.9
Polycelis	nigra	6464	2
Polycelis	nigra/tenuis	13666	2
Polycelis	tenuis	6465	2

### *Određivanje opće degradacije*

Modul opće degradacije je multimetrički indeks (opća degradacija MI), koji se računa na temelju OEKa sljedećih metrika:

Za M1 i M2:

- EPT [%]
- Margalefov indeks
- r-dominacija
- ASPT
- RFI

Za M5:

- EPT taxa
- broj porodica
- IBR
- Shannonov indeks raznolikosti.

Sve metrike osim indeksa riječne faune računaju se u računalnom programu Asterics.

- **Indeks riječne faune (RFI)**

Indeks koji se temelji na odgovorima pojedinih svojti na hidromorfološku degradaciju.

Indeksi/pokazatelji za modul opća degradacija (u zagradi je engleski naziv iz računalnog programa ASTERICS).

- **Margalef indeks raznolikosti (D) (Diversity - Margalef-Indeks)**

Indeks predstavlja matematički izraz kojim se mjeri struktura zajednice, a temelji se na brojnosti i ujednačenosti vrsta. Vrijednosti ovog indeksa u pravilu su niže u slučaju različitih vidova degradacije i onečišćenja, iako su kod izuzetno čistih izvorskih voda vrijednosti indeksa raznolikosti, također, niske, ali to nije posljedica lošeg stanja vode, već prirodnih obilježja izvora (stabilna relativno niska temperatura, manje otopljenog kisika).

- **r dominacija**

Udi svojti makrozoobetosa koji se smatraju r- stratezima (kratki životni ciklus i veliki broj potomaka). Veliki udio ovih svojti ukazuje na opću degradaciju staništa

- **Prosječna ocjena po svojti (ASPT)**

Indeks koji je temeljen na svojama osjetljivim na organsko onečišćenje i eutrofikaciju.

- **Udio predstavnika skupina Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera u makrozoobentosu (EPT%) (EPT [%] - abundance classes)**

Indeks koji ukazuje na tip staništa, jer brojnost svojti se smanjuje uslijed gubitka staništa na koja su prilagođeni. Smanjenje udjela EPT svojti, posljedica je smanjenja produktivnosti zajednice makrozoobentosa kao posljedice taloženja finog supstrata alohtonog porijekla.

- **Broj porodica (BP) (Number of Families)**

Indeks koji ukazuje na raznolikost zajednice pa manji broj porodica upućuje na tipove staništa koja su nepovoljna za opstanak (preživljavanje) mnogih vrsta, što je posljedica onečišćenja ali i opće degradacije vodotoka.

- **Broj svojti Ephemeroptera, Plecoptera i Trichoptera (EPTtaxa); indeks koji ukazuje na opću degradaciju tekućica, uključujući i hidromorfološku degradaciju.**

- **Indeks biocenotičkog podučja (IBR) (Index of Biocoenotic Region)**

Indeks je skupni pokazatelj preferiranja pojedine vrste pojedinoj zoni rijeke/tekućice (biocenotičkoj regiji) duž longitudinalnog profila – krenal, ritral, potamal, litoral i profundal. Niže vrijednosti indeksa ukazuju na veći udio vrsta koje preferiraju krenal i ritral, a više

vrijednosti indeksa ukazuju da u zajednici dominiraju indiferentne vrste ili vrste koje preferiraju donje tokove i područja potamala.

- **Shannon - Wiener indeks raznolikosti (H) (Diversity - Shannon-Wiener- Index)**

Indeks predstavlja matematički izraz kojim se mjeri struktura zajednice, a temelji se na brojnosti i ujednačenosti vrsta. Vrijednosti ovog indeksa u pravilu su niže u slučaju različitih vidova degradacije i onečišćenja, iako su kod izuzetno čistih izvorskih voda vrijednosti indeksa raznolikosti, također, niske, ali to nije posljedica lošeg stanja vode, već prirodnih obilježja izvora (stabilna relativno niska temperatura, manje otopljenog kisika).

Indeks riječne faune izračunat je prema sljedećoj jednadžbi:

$$RFI = \frac{\sum_{i=1}^n ac_i \times Rf_i \times HW_i}{\sum_{i=1}^n ac_i \times HW_i}$$

gdje je:

$ac_i$  – razred brojnosti svoje  $i$

$Rf_i$  – indikatorska vrijednost pojedine svoje  $i$

$HW_i$  – hidromorfološka indikatorska težina svoje  $i$

Parametri Indeksa riječne faune (indikatorske vrijednosti i težine;  $Rf_i$  i  $HW_i$ ) tip su specifične za interkalibracijske tipove R-M1 i R-M2 (Tablica 7.1.3) izračunavaju se kanoničkom analizom korespondencije svoji s obzirom na hidromorfološki gradijent (Urbanič, 2014).

**Tablica 7.1.3** Indikatorske vrijednosti i težine;  $Rf_i$  i  $HW_i$  svoji makrobeskralješnjaka specifične za interkalibracijske tipove R-M1 i R-M2:

Svoja	ID_ART	RFI	HWi
Pisidium sp.	4205	-0.10472	1
Asellus aquaticus (karstic type)	4267	-0.18749	5
Astacus torrentium	4310	-0.10351	5
Austropotamobius pallipes	4364	-0.15655	3
Synurella ambulans (karstic type)	4409	-0.04427	1
Echinogammarus acarinatus	4415	-0.12652	5
Echinogammarus sp.	4419	-0.05437	3
Fontogammarus dalmatinus ssp.	4441	0.360655	5
Niphargus sp.	4462	-0.01128	1
Ibisia marginata	4479	0.360655	5
Chironomini Gen. sp.	4521	-0.10101	1
Chironomus thummi-Gr.	4528	0.003413	2
Prodiamesa olivacea	4530	-0.12711	5
Limnophora sp.	4532	0.109526	2
Simulium erythrocephalum	4574	-0.12711	5
Simulium lineatum	4627	-0.15665	5
Tipula sp.	4629	-0.10147	5
Baetis sp.	4639	0.421008	5
Baetis rhodani	4644	-0.13465	4
Baetis muticus	4705	-0.09627	5
Centroptilum luteolum	4973	-0.15795	5
Cloeon dipterum	4981	-0.18749	5
Procloeon pennulatum	4982	-0.18519	5
Procloeon sp.	5053	-0.14619	5
Caenis sp.	5059	-0.18749	5
Caenis luctuosa	5075	0.28571	1

Svojta	ID_ART	RFI	HWi
Serratella ignita	5124	-0.18749	5
Torleya major	5127	-0.1432	5
Ephemera sp.	5128	-0.14775	4
Ephemera lineata	5129	-0.02093	3
Ephemera danica	5131	-0.11346	4
Ephemera vulgata	5159	-0.09627	5
Ecdyonurus sp.	5160	-0.1159	5
Ecdyonurus venosus-Gr.	5303	-0.12981	5
Epeorus assimilis	5310	-0.1287	5
Heptagenia sp.	5354	-0.09493	5
Habrophlebia lauta	5369	0.328447	5
Habrophlebia fusca	5370	-0.12782	5
Leptophlebia sp.	5373	-0.06663	4
Paraleptophlebia submarginata	5401	-0.14723	5
Siphlonurus alternatus	5413	-0.01537	1
Acrolopus lacustris	5456	-0.19594	4
Bithynia tentaculata	5594	-0.18749	5
Potamopyrgus antipodarum	5602	-0.12711	5
Radix labiata	5605	0.084403	1
Radix sp.	5616	0.173486	2
Stagnicola fuscus	5658	-0.09493	5
Stagnicola sp.	5673	-0.08853	5
Holandriana holandrii	5723	-0.19728	5
Theodoxus fluviatilis ssp.	5731	0.085248	5
Physa fontinalis	5790	-0.18203	4
Physella acuta	5837	-0.09627	5
Ancylus fluviatilis	5844	-0.09854	5
Gyraulus albus	5863	-0.08668	3
Planorbarius corneus	5872	-0.09627	5
Planorbis planorbis	5984	-0.18749	5
Pyrgula annulata	6062	-0.01391	4
Viviparus contectus	6071	-0.08749	4
Gerris sp.	6073	1	5
Dina lineata	6075	-0.117	1
Erpobdella octoculata	6113	-0.21967	5
Erpobdella sp.	6127	-0.09568	5
Glossiphonia sp.	6168	-0.17901	5
Glossiphonia nebulosa	6174	-0.12711	5
Helobdella stagnalis	6195	0.356268	5
Haemopis sanguisuga	6268	-0.10108	5
Sialis lutaria	6309	-0.12711	5
Sialis sp.	6372	-0.17781	5
Calopteryx splendens	6389	-0.15373	1

Svojta	ID_ART	RFI	HWi
Calopteryx virgo	6395	-0.0962	5
Cercion lindenii	6396	0.216159	1
Ischnura elegans	6425	0.045078	2
Ophiogomphus cecilia	6431	-0.09493	5
Chalcolestes viridis	6436	-0.09493	5
Platycnemis pennipes	6438	-0.0327	2
Haplotaxis gordioides	6468	-0.12711	5
Eiseniella tetraedra	6583	-0.12269	5
Lumbriculidae Gen. sp.	6616	-0.14336	5
Rhynchelmis limosella	6621	-0.21967	5
Nais pseudobtusa	6673	-0.15928	5
Nais elinguis	6780	-0.03276	2
Nais bretscheri	6789	-0.1185	5
Ophidona is serpentina	6818	-0.12142	4
Embocephalus velutinus	6822	-0.1432	5
Limnodrilus hoffmeisteri	6823	-0.11102	5
Psammoryctides barbatus	6836	-0.17339	5
Tubificidae juv with setae	6860	-0.09155	1
Leuctra sp.	6890	-0.12844	5
Nemurella pictetii	6967	-0.12578	5
Protonemura sp.	6971	-0.18749	5
Dinocras megacephala	7025	0.323995	4
Dinocras sp.	7067	-0.13631	5
Perla sp.	7077	-0.05642	1
Isoperla sp.	7083	-0.21967	5
Taeniopteryx sp.	7157	-0.09493	5
Taeniopteryx hubaulti	7418	-0.09627	5
Beraea pullata	7460	-0.09627	5
Brachycentrus montanus	7490	-0.11112	4
Micrasema minimum	7725	-0.15103	5
Silo sp.	7791	0.026228	1
Cheumatopsyche lepida	7852	0.382755	5
Hydropsyche sp.	8175	0.015438	4
Hydropsyche saxonica	8251	0.359745	5
Hydropsyche dinarica	8254	-0.09493	5
Hydroptila sp.	8721	-0.09493	5
Oxyethira sp.	8819	1	5
Lepidostoma hirtum	8850	-0.11622	5
Mystacides azurea	8918	0.00039	4
Oecetis sp.	9167	-0.13234	5
Allogamus uncatus	9197	-0.12503	5
Chaetopteryx sp.	10900	0.98713	1
Gammarus balcanicus	12330	-0.11713	5

<b>Svojta</b>	<b>ID_ART</b>	<b>RFI</b>	<b>HWi</b>
Limnephilus sp.	12550	-0.18749	5
Limnephilus lunatus	14394	-0.12448	5
Odontocerum albicorne	16982	-0.1338	5
Philopotamus variegatus variegatus	21058	-0.18145	5
Polycentropus flavomaculatus flavomaculatus	21761	-0.18749	5
Psychomyia klapaleki	21930	-0.12675	5
Tinodes sp.	21935	-0.09493	5
Rhyacophila sp.	21938	-0.0977	5
Sericostoma sp.	21950	-0.12597	5

**Tablica 7.1.4** Prikaz svih metrika korištenih u izračunu omjera ekološke kakvoće u svim interkalibracijskim i nacionalnim tipovima MED GIG-a.

Hrvatski biotički tip	IC tip	Saprobní modul			Modul Opće degradacije		
		Formula	Referentne vrijednosti	Naložje vrijednosti	Formula	Referentne vrijednosti	Naložje vrijednosti
HR-R-11A	R-M1	$=OEK(SI_{HR})$	1.8	3.6	- EPT [%] (abundance classes)	33.12	0
					Diversity (Margalef Index)	3.97	1.27
					- r-Dominance	1.4	68.18
					Average score per Taxon	7.5	3.14
					River fauna index(RFI)	0.137	-0.857
HR-R-12	R-M2	$=OEK(SI_{HR})$	1.62	3.6	- EPT [%] (abundance classes)	30.63	0
					Diversity (Margalef Index)	4.12	1.27
					- r-Dominance	4.61	68.18
					Average score per Taxon	6.33	3.14
					River fauna index(RFI)	0.119	-0.857
HR-R-13A	R-M2	$=OEK(SI_{HR})$	1.62	3.6	- EPT [%] (abundance classes)	30.63	0
					Diversity (Margalef Index)	4.12	1.27
					- r-Dominance	4.61	68.18
					Average score per Taxon	6.33	3.14
					River fauna index(RFI)	0.119	-0.857
HR-R-14A	R-M1	$=OEK(SI_{HR})$	1.8	3.6	- EPT [%] (abundance classes)	33.12	0
					Diversity (Margalef Index)	3.97	1.27
					- r-Dominance	1.4	68.18
					Average score per Taxon	7.5	3.14
					River fauna index(RFI)	0.137	-0.857
HR-R-14B	R-M2	$=OEK(SI_{HR})$	1.62	3.6	- EPT [%] (abundance classes)	30.63	0
					Diversity (Margalef Index)	4.12	1.27
					- r-Dominance	4.61	68.18
					Average score per Taxon	6.33	3.14
					River fauna index(RFI)	0.119	-0.857
HR-R-15A	R-M1	$=OEK(SI_{HR})$	1.8	3.6	- EPT [%] (abundance classes)	33.12	0
					Diversity (Margalef Index)	3.97	1.27
					- r-Dominance	1.4	68.18
					Average score per Taxon	7.5	3.14
					River fauna index(RFI)	0.137	-0.857
HR-R-15B	R-M2	$=OEK(SI_{HR})$	1.62	3.6	- EPT [%] (abundance classes)	30.63	0
					Diversity (Margalef Index)	4.12	1.27
					- r-Dominance	4.61	68.18
					Average score per Taxon	6.33	3.14
					River fauna index(RFI)	0.119	-0.857
HR-R-16A	R-M5	$=OEK(SI_{HR})$	1.19	3.6	Index of Biocoenotic Region	6.25	9
					EPT taxa	20	2
					Number of families	32.5	11
					Diversity (Shannon-Wiener-Index)	2.93	1.31
					Index of Biocoenotic Region	6.25	9
HR-R-16B	R-M5	$=OEK(SI_{HR})$	1.19	3.6	EPT taxa	20	2
					Number of families	32.5	11
					Diversity (Shannon-Wiener-Index)	2.93	1.31
					- EPT [%] (abundance classes)	33.12	0
					Diversity (Margalef Index)	3.97	1.27
HR-R-17	R-M1	$=OEK(SI_{HR})$	1.8	3.6	- r-Dominance	1.4	68.18
					Average score per Taxon	7.5	3.14
					River fauna index(RFI)	0.137	-0.857
					- EPT [%] (abundance classes)	30.63	0
					Diversity (Margalef Index)	4.12	1.27
HR-R-18	R-M2	$=OEK(SI_{HR})$	1.62	3.6	- r-Dominance	4.61	68.18
					Average score per Taxon	6.33	3.14
					River fauna index(RFI)	0.119	-0.857
					Index of Biocoenotic Region	6.25	9
					EPT taxa	20	2
HR-R-19	R-M5	$=OEK(SI_{HR})$	1.19	3.6	Number of families	32.5	11
					Diversity (Shannon-Wiener-Index)	2.93	1.31

## 7.2. Biološki element: Fitobentos

Fitobentos se kao element kakvoće u ocjeni ekološkog stanja koristi iz nekoliko razloga: lako ga je uzorkovati, predvidljivo reagira na promjene kakvoće vode jer objedinjuje taksonomski vrlo raznolike skupine unutar vodenih zajednica. Fitobentos, ima kratko generacijsko vrijeme u trajanju od nekoliko sati do nekoliko dana što ga čini skupinom koja prva reagira na promjene u okolišu. Fitobentoske alge su dominantna komponenta obraštaja (perifitona), a s obzirom da su pričvršćene za supstrat, zajednica u sebi objedinjuje fizikalna i kemijska svojstva tekućice. Najučestalije fitobentose alge u tekućicama se Alge kremenjašice ili dijatomeje. Dijatomeje dobri su indikatori kakvoće vode s obzirom da su ubikvisti i obitavaju u svim vrstama biotopa te je razvijen sustav metoda ocjene koji se temelji na saprobnom i trofičkom sustavu i autekologiji. Metode ocjene ekološkog stanja su specifične za određene tipove tekućica, što znači da su granice kategorija za pojedino ekološko stanje ovisne o tipu tekućice.

### **UZORKOVANJE**

#### ***Vrijeme uzorkovanja***

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.

**Mjesto uzorkovanja** Uzorkovati treba u glavnom koritu rijeke (zona rijeke koja je konstantno pod vodom) te izbjegavati mjesta sa značajno 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, osvijetljenost, sastav i zastupljenost vrsta podloge i sl.), jer količina svjetla, dubina vodotoka, vrsta supstrata i brzina strujanja vode direktno utječu na kvalitativni sastav fitobentosa. Uzimajući u obzir navedene abiotičke čimbenike, uzorkovanje se obavlja sa što različitijih mikrostaništa. Odabirom različitih mikrostaništa objedinjuje se utjecaji svih dostupnih abiotičkih čimbenika na istraživanom odsječku vodnog tijela. Pojedinačna mikrostaništa mogu dati nepotpun odgovor, odnosno kvantitativnu zastupljenost algi kremenjašica tipičnu za samo određena mikrostaništa. Promjene u kvalitativnoj zastupljenosti vrsta algi često se mogu makroskopski vidjeti kao promjene boje i teksture samog supstrata (tamno zelene, zelene ili smeđe nakupine).

Uzorkovanje se obavlja na odsjećima od 25 – 50 m, neovisno o veličini slivne površine mjerne postaje.

#### ***Oprema potrebna za uzorkovanje***

- terenski protokol za uzorkovanje fitobentosa u rijekama, s pratećim terenskim sitnim
- isprintane naljepnice s oznakama
- grafitna olovka i uljni marker
- 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
- plastične epruvete 10-50 mL
- skalpel
- tvrda četkica za zube
- plastična kadica
- boca za ispiranje
- žlica ili lopatica

- pinceta
- kracer (ručna bentos mreža)
- gumene rukavice – male i duge do ramena
- otopina za fiksiranje uzorka
- fotoaparat
- GPS uređaj
- elektronička naprava za mjerjenje osnovnih fizikalno-kemijskih pokazatelja u vodi (pH metar, konduktometar, oksimetar)
- „Aquascope“ – pomagalo za gledanje pod vodom
- prijenosni hladnjak
- terenska torbica s prvom pomoći
- pojas za spašavanje za uzorkovanje na velikim tekućicama

### ***Način uzorkovanja***

U ocjenjivanju ekološkog stanja na temelju fitobentosa koriste se dijatomeje. Reprezentativno mikrostanište za uzorkovanje je površina potopljenog kamena.

### ***Uzorkovanje obraštaja za dijatomejski uzorak***

Uzorkovanje se obavlja po načelu „uzorkovanje jednog mikrostaništa“ („single habitat sampling“), odnosno s 5 kamena veličine mezolitala (6-25 cm), 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, sitnih supstrata poput mulja i pijeska ili umjetnih vertikalnih površina.

**Tablica 7.2.1.** Postupci uzorkovanja fitobentosa (dijatomejskog uzorka) s pojedinih vrsta supstrata

Tip supstrata	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 bilja, lisne plojke	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 sediment:	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

Tip supstrata	Postupak uzorkovanja				
pijesak, mulj, fini organski materijal, glina	da sediment ispunji cijeli volumen unutrašnjeg dijela posude/Petrijeve zdjelice <i>Napomena: Ako voda ne teče brzo, moguće je gornji dio sedimenta uzeti žličicom</i>				
	2	Lagano podvući metalnu ili plastičnu pločicu (površine veće od promjera zdjelice) pod posudu ispunjenu sedimentom			
	3	Sabrani sediment u cijelosti prenijeti u staklenu čašu te dodati po potrebi destilirane vode. Uzorak dobro protresti i kratko sedimentirati. Supernatant dekantrirati i pohraniti u pravilno označenu bočicu			
	4	Postupak ispiranja sedimenta destiliranom vodom i dekantriranja supernatanta ponoviti 4 puta			
	5	Fiksirati uzorak			
Tvrdi nepomični, umjetni vertikalni supstrat	1	Uzorkovanje se obavlja uz pomoć kracera ili plastične boce volumena 50-100 mL			
	2	Vertikalnu površinu (cca 10 cm <sup>2</sup> ), sastrugati s dubine od barem 30-ak cm			
	3	Postupak struganja ponoviti barem 3 puta			
	4	Uzorak sakupljen na metalnom okviru kracera pohraniti u pravilno označenu bočicu te fiksirati			
	5	Uzorak sastrugan direktno bočicom samo fiksirati, ili pohraniti u željene bočice/falkonice			

U Tablici 7.2.1 prikazani su postupci uzorkovanja s različitih supstrata. Svaki uzorak neophodno je pohraniti u bočice koje moraju biti označene etiketom na kojoj je naznačeno:

- naziv tekućice,
- šifra naziv mjerne postaje,
- datum i vrijeme uzorkovanja

*NAPOMENA: Dijatomejski uzorak čini pet sastruganih kamenih u jednoj bočici.*

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.

#### **Otopina za fiksiranje**

Dijatomejski uzorci – konzervirati s etilnim alkoholom do konačne koncentracije najmanje 20 %, neovisno o vremenu skladištenja.

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

Terenski protokol 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 8.

## Laboratorijska obrada uzorka

Oprema potrebna za laboratorijski rad

- električna ploča za zagrijavanje uzorka,
- Erlenmeyer tikvice od 100mL,
- kuglice za vrenje,
- staklene epruvete (cca 15 mL),
- centrifuga,
- laboratorijska vaga,
- bočice za pohranjivanje uzorka,
- predmetna stakalca,
- pokrovna stakalca,
- kapalice,
- ručna automatska pipeta,
- nastavci za pipetu,
- binokularni mikroskop s Nomarski kontrastom koji sadržava:
  - a) binokulare 10x ili 12,5x (od kojih jedan ima okularni mikrometar)
  - b) objektiv 100x s Nomarski kontrastom
  - c) imerzijsko ulje
  - d) digitalnu kameru povezani s računalom
  - e) mehaničko postolje

## Čišćenje dijatomejskog uzorka i izrada trajnih preparata

Za precizno određivanje dijatomeja potrebno je pripremiti trajne preparate.

Ispiranje uzorka - Kod pripreme trajnih preparata iz materijala fiksiranog etilnim alkoholom, ispiranje destiliranim vodom nije potrebno.

### Metoda 1.

Uklanjanje organske tvari iz uzorka provodi se u epruvetama ili Erlenmayerovim tikvicama dodavanjem zasićene otopine kalijevog permanganata ( $KMnO_4$ ). U prethodno označene epruvete, otopina se dodaje u jednakom omjeru (1 mL) u odnosu na uzorak. Ovisno o količini organske tvari, uzorak poprima smeđu boju kao rezultat oksidativnog učinka kalijevog permanganata. Purpurna boja ukazuje na manju količinu organske tvari. Tako pripremljen uzorak, ostavlja se 24 sata kako bi razgradnja organske tvari bila potpuna.

Uklanjanje karbonata iz uzorka provodi se nakon 24 sata dodatkom 37% klorovodične kiseline (HCl). Nakon reakcije koja se razvija dodatkom nekoliko kapi kiseline, u uzorak se dodaje HCl u ukupnom volumenu od 2 mL. Nakon toga, uzorak se stavlja u vodenu kupelj i kuha 45 min na srednjoj temperaturi sve do obezbojenja (ili žućkaste boje). Kuhanjem uzorka u Erlenmayerim tikvicama obavlja se uz obavezan dodatak kuglica za vrenje. Uzorci se potom moraju ohladiti, na sobnoj temperaturi ili u hladnoj vodi. Ako organska tvar nije u potpunosti razgrađena, u uzorak se dodaje 5 mL 30% vodikovog peroksida ( $H_2O_2$ ), koji će kroz daljnje kuhanje oksidirati preostalu organsku tvar i obezbojiti uzorak.

Tako očišćen uzorak potrebno je ispirati dodatkom vodovodne vode te centrifugiranjem (7 min/2000 RPM) dok se ne postigne pH 6-7. Za ispiranje zadnje u nizu koristi se destilirana voda. Nakon postignutog neutralnog pH, uzorak je spremjan za izradu trajnih preparata.

Svi navedena dodavanja kiselina, kuhanje uzorka te prva dva ispiranja uzorka obavljuju s isključivo u digestoru.

## Metoda 2

Uklanjanje karbonata iz uzorka - da bi se iz materijala uklonio kalcijev ili magnezijev karbonat uzorku se dodaje u jednakom volumenu 25% klorovodična kiselina. Uzorak se kuha oko 30 minuta na 200 °C. Nakon završene reakcije (pjjenjenje uzorka) kalcijevog ili magnezijevog karbonata i klorovodične kiseline uzorak se ispire destiliranom vodom (dodaje se destilirana voda i centrifugira (7 min/2000 RPM) koji se ponavlja 4 puta. Ukoliko je uzorak sakupljen u vodotoku s niskom koncentracijom karbonatnih iona, dodavanje klorovodične kiseline nije potrebno.

Uklanjanje organske tvari iz uzorka - provodi se u epruvetama s debelim dnem ili Erlenmeyerovim tirkicama davanjem 96% sumporne kiseline u dvostrukom omjeru u odnosu na talog (uzorak). Smjesa uzorka i kiseline pažljivo se zagrijava na plinskom plameniku do pojave bijelih para, kada se uzorak zacrni. Uzorak se potom malo ohladi, doda se H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (2 mL ili više, ovisi o uzorku), pa se opet zagrijava. Ukoliko u uzorku ima malo organske tvari smjesa se sama obezboji, a ukoliko ima puno organske tvari smjesa ostaje crna te se uzorku doda još H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> koji će smjesu obezbojiti. Obezbojeni se uzorak ponovo ispire destiliranom vodom te centrifugiranjem (7 min/2000 RPM) dok se ne postigne pH 6-7.

## Izrada trajnih preparata

Uzorak pripremljen na gore opisani način, uz dodatak destilirane vode pohranjuje se u čiste i pravilno označene bočice.

U nastavku izrade trajnih preparata, ukoliko je potrebno obzirom na kvalitetu, pokrovno stakalce treba uroniti u 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, isprati u destiliranoj vodi i osušiti.

Na tako pripremljenu pokrovnicu nanese se ona količina uzorka koja u potpunosti prekriva površinu pokrovnog stakalca. Pri nakapavanju uzorka neophodno je procijeniti optimalnu gustoću frustula. Mliječno bijeloj suspenziji dodaje se destilirana voda kako bi se smanjila gustoća frustula. Nakapavanje uzorka optimalne gustoća važno je radi lakšeg određivanja i brojenja frustula. Uzorak raspoređen po cijeloj površini pokrovnog stakalca, ostavi se na ravnoj horizontalnoj površini. Kada sva suspenzija ispari, na pokrovnom stakalcu ostaje tanka bijelo-siva prevlaka. Ako osušena suspenzija nije jednoliko raspoređena izrađuje se novi preparat. Nejednolika distribucija dijatomeja na pokrovnom stakalcu najčešće je posljedica prebrzog isparavanja, nedovoljno ispranog konzervansa, neravne površine ili vibracija površine na kojoj je pokrovница postavljena. Kako bi se utvrdila homogenost uzorka, predmetna stakalce s nanesenim i osušenim suspenzijama dijatomeja mogu se prije uklapanja pregledati na povećanju od 400x tako da je uzorak na gornjoj strani pokrovnog stakalca. Ako homogenost i gustoća nisu zadovoljavajući, postupak treba ponoviti.

Kada se postigne zadovoljavajuća gustoća stanica, na predmetno stakalce stavi se kap smole (Naphrax), a na nju se prevrtanjem postavi pokrovno stakalce (strana s osušenom suspenzijom pokriva kapljicu). Preparat se lagano zagrijava na ploči za zagrijavanje ili na plinskom plameniku sve dok se, uz stvaranje mjeđurića, smola ne raširi pod cijelim pokrovnim stakalcem. Pokrovno stakalce treba lagano pritisnuti histološkom iglicom ili drvenim štapićem i istisnuti mjeđuriće zraka.

Preparat se ostavi hladiti. Laganim pomicanjem pokrovnog stakalca po predmetnom stakalcu provjeri se jesu li stakalca dobro zalijepljena.

Preostali dio očišćenog uzorka fiksira se glicerolom (uz minimalnu količinu destilirane vode) i pohranjuje na hladnom mjestu.

**NAPOMENA:** U ovom poglavlju su navedene dvije metode čišćenja dijatomeja za izradu trajnih preparata. Ostale metode čišćenja dijatomeja detaljno su opisane u Savjetodavnoj normi za rutinsko uzorkovanje i prethodnu obradu riječnih bentoskih dijatomeja (HRN EN 13946:2014). Primjenjivati se može metoda prema vlastitom izboru i u ovisnosti o čistoći uzorka.

*Mikroskopiranje, determinacija i kvantifikacija dijatomeja*

Trajni preparati dijatomeja mikroskopiraju se svjetlosnim mikroskopom. Određivanje i brojenje vrsta obavlja se pod mikroskopom s imerzijskim objektivom pri povećanju od 1000 puta. Izbroji se 400 stanica dijatomeja (valvi, odnosno frustula) koje se determiniraju i odrede vrste. Učestalost pojedine vrste u uzorku izražava se kao postotak od 400 izbrojenih stanica u uzorku ili trajnom preparatu. Određivanje svih vrsta koje se nalaze u uzorku s relativnom zastupljeničću većom od 5% treba nastojati odrediti do razine vrste.

Popis relevantne literature za determinaciju algi u fitobentosu naveden je u Poglavlju ....

**NAPOMENA:** Uzorkovanje bentoskih dijatomeja mora biti u skladu sa Savjetodavnim normom za rutinsko uzorkovanje i prethodnu obradu riječnih bentoskih dijatomeja (HRN EN 13946:2014).

Uzorkovanje fitobentosa mora biti u skladu sa Savjetodavnim normom za ispitivanje, uzorkovanje i laboratorijsku analizu fitobentosa u plitkim tekućicama (HRN EN 15708:2010).

Determinacija i brojenje dijatomeja mora biti u skladu sa Savjetodavnim normom za identifikaciju i brojenje dijatomeja u uzorcima riječnog bentosa te njihovo tumačenje (HRN EN 14407:2014).

#### *Izračunavanje indeksa/pokazatelja za ocjenu ekološkog stanja*

#### *Pokazatelji/indeksi za ocjenu ekološkog stanja na temelju fitobentosa*

Za ocjenu ekološkog stanja na temelju biološkog elementa fitobentosa potrebno je odrediti dijatomejske vrste algi, a razina opterećenja hranjivim tvarima izražava se kao Trofički indeks dijatomeja.

**Tablica 7.2.2.** Pokazatelj/indeks i moduli za ocjenu ekološkog stanja na temelju fitobentosa

Biološki element kakvoće	Pokazatelj/indeks	Opterećenje na koje ukazuje pojedini biološki indeks	Modul
Fitobentos	Trofički indeks dijatomeja (TDI <sub>HR</sub> )	Opterećenje hranjivim tvarima	Trofičnost

## *Mjerna postaja za fitobentos*

Za ocjenjivanje ekološkog stanja, mjesto uzorkovanja potrebno je uvrstiti u odgovarajući tip tekućice.

### *Određivanje trofičnosti na temelju dijatomejskih algi*

Trofički indeks dijatomeja je pokazatelj koji ukazuje na opterećenje vodnog tijela hranjivim tvarima tj. na njegov stupanj trofije na osnovi zastupljenosti dijatomejskih vrsta (Rott i sur., 1999).

Indikatorske veličine za svaku dijatomejsku vrstu definirane su s obzirom na specifičnosti hrvatskih tekućica te je za svaku vrstu izračunata indikatorska vrijednost (tolerantnost) i indikatorska težina (osjetljivost).

Operativna lista svojti dijatomeja (OLS - TDI<sub>HR</sub>)

Operativna lista svojti sadrži numeričke podatke o indikatorskim vrijednostima i težinama trofičkog indeksa za svoje dijatomeja koje se mogu naći u hrvatskim tekućicama i stajaćicama (DODATAK 2). Vrste, kojima za sada nisu dodijeljeni numerički podaci, ne uzimaju se u obzir kod izračunavanja indeksa. Osim ako njihova učestalost prelazi 60 valvi, odnosno njihova relativna učestalost je više od 15% tada uzimamo indikatorsku vrijednost i težinu roda.

### **Izračunavanje Trofičkog (TDI<sub>HR</sub>)**

Za determinirane vrste u svakom uzorku odrede se trofičke indikatorske vrijednosti i težine prema Operativnoj listi svojti dijatomeja za rijeke i jezera (OLS - TID<sub>HR</sub>) navedene u DODATKU 2.

Za izračunavanje Trofičkog indeksa dijatomeja (TDI<sub>HR</sub>) koristi se modificirana jednadžba Zelinka-Marvan (1961.):

$$INDEKS = \frac{\sum_{i=1}^n Ai \times IVi \times ITi}{\sum_{i=1}^n Ai \times ITi}$$

gdje je:

Ai = relativna učestalost vrste/abundancija vrste u uzorku

IVi = indikatorska vrijednost (tolerantnost) pojedine vrste

ITi = indikatorska težina (osjetljivost') pojedine vrste

Referentne i najlošije vrijednosti, pokazatelja/indeksa biološkog elementa kakvoće fitobentosa, specifične za određeni tip tekućice

U DODATKU 3 nalaze se referentne i najlošije vrijednosti pokazatelja fitobentosa TDI<sub>HR</sub>, specifične za određeni tip tekućice.

### **Izračunavanje omjera ekološke kakvoće (OEK)**

Za ocjenu ekološkog stanja se za indeks izračunava omjer njegove ekološke kakvoće (OEK) po formuli:

$$OEK_{TDI_{HR}} = \frac{Vrijednost\ TDI_{HR}\ indeksa - najlošija\ vrijednost\ TDI_{HR}}{Referentna\ vrijednost\ TDI_{HR} - najlošija\ vrijednost\ TDI_{HR}}$$

Vrijednost indeksa brojčana je vrijednost dobivena modificiranim jednadžbom po Zelinka-Marvan (1961.). Referentne i najlošije vrijednosti indeksa očitavaju se iz Tablica referentnih i graničnih vrijednosti za svaki tip vodotoka (DODATAK 3).

**NAPOMENA:** Ukoliko su vrijednosti omjera ekološke kakvoće pokazatelja manje od 0, tada se kao vrijednost pokazatelja za daljnji izračun koristi vrijednost 0.

Ukupna ocjena ekološkog stanja na temelju biološkog elementa kakvoće fitobentosa je OEK\_TDI<sub>HR</sub>. U tablici 7.2.3. prikazane su granice klase za vrijednosti OEK\_TDI<sub>HR</sub> tekućica Dinaridske ekoregije.

**Tablica 7.2.3.** Granice klasa za vrijednosti OEK\_TDI<sub>HR</sub> tekućica Dinaridske ekoregije prema nacionalnoj tipologiji.

Granice klasa	HR-R_11A, HR-R_11B, HR-R_12, HR-R_13A, HR-R_13B, HR-R_14A, HR-R_14B, HR-R_14C, HR-R_15A, HR-R_15B, HR-R_17, HR-R_18	HR-R_16A, HR-R_16B, HR-R_19
Referentna vrijednost	1.00	1.00
Vrlo dobro / Dobro	0.83	0.85
Dobro / Umjereno	0.55	0.59
Umjereno / Loše	0.41	0.48
Loše / Vrlo loše	0.21	0.24

## **Terenski protokol za uzorkovanje fitobentosa u tekućicama**

Terenski protokol za uzorkovanje fitobentosa u tekućicama sadrži sljedeće podatke:

- šifra i naziv mjerene postaje,
- šifra vodnog tijela,
- tip površinske vode,
- analitički broj uzorka,
- koordinate mjerne postaje (geografska širina i dužina),
- nadmorska visina,
- dužina uzorkovanog odsječka (m),
- datum uzorkovanja,
- ime osobe koja je uzorkovala,
- opis/skica mjesta uzorkovanja,
- uzorkovana obala (lijeva, sredina, desna),
- tip vodotoka (izvor, potok, rijeka, ušće, rukavac, kanal, jezero, akumulacija),
- oblik riječne doline (kanjon, korito, meandri, poplavna nizina),
- zasjenjenost (%),
- procijenjena brzina vodenog toka, (m/s) - (0 - 10, 10 - 30, 30 - 60, > 60, ne teče),
- pokrivenost uzvodnog transekta vodenom vegetacijom (%) - (nadpovršinska, podpovršinska, plutajuća, slobodno plutajuća, bez plutajuće vegetacije),
- smjer uzorkovanog transekta (uzvodno, nizvodno),
- zastupljenost mikrostaništa u uzorkovanom transektu (megalital, makrolital, mezolital, mikrolital, akal, psamal, psamopelal, pelal, argilal, tehnolital),
- razina vode (poplava, visoka, srednja razina, niska),
- zamućenost (nema, mala, srednja, velika),
- temperatura vode (°C), otopljeni kisik (mg/L), zasićenje kisikom (%), el. vodljivost pri 25°C ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ), pH, salinitet,
- boja, miris, pjena, vidljivi otpad,
- vidljivi znakovi reduksijskog procesa (crni sediment/sapropel, miris na  $\text{H}_2\text{S}$ , bez znakova),
- onečišćenje (otpadne vode kućanstva, voda iz uređaja za pročišćavanje, utjecaj poljoprivrede, industrijski ispusti, sumnja na iznenadno onečišćenje i dr., nema onečišćenja),
- fizička ometanja (obaloutvrde, uzvodno brana ili ustava, nizvodno brana ili ustava),
- uzorkovanje fitobentosa pomoću: špatula, četkica, skalpel, kapalica, Petrijeva zdjelica, mreža za struganje i dr.,
- uzorkovano mikrostanište/supstrat,
- prosječna dubina uzorkovanja,
- dužina uzorkovanog odsječka,
- ostala opažanja, koja nisu obuhvaćena gore navedenim, unijeti u rubriku napomene.

DODATAK 2. Operativna lista svojti dijatomeja u fitobentosu rijeka i jezera

Redni broj	VRSTA	TID <sub>HR</sub>	
		indikatorska vrijednost	indikatorska težina
1.	<i>Achnanthes brevipes</i> Agardh	2,7	1
2.	<i>Achnanthes exigua</i> Grunow	2,2	5
3.	<i>Achnanthes lanceolata</i> var. <i>frequentissima</i> Lange-Bertalot	3,4	1
4.	<i>Achnanthes lutheri</i> Hustedt	1,4	5
5.	<i>Achnanthes rupestris</i> Hohn	1,4	5
6.	<i>Achnanthes</i> sp.	1,4	5
7.	<i>Achnanthes thermalis</i> (Rabenhorst) Schoenfeld	3	1
8.	<i>Achnanthes trinodis</i> (W.Smith) Grunow	1,4	2
9.	<i>Achnanthidium affine</i> (Grunow) Czarnecki	1,6	3
10.	<i>Achnanthidium biasolettianum</i> (Grunow) Bukhtiyarova	2,5	3
11.	<i>Achnanthidium eutrophilum</i> (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot		
12.	<i>Achnanthidium gracillimum</i> (Meister) Lange-Bertalot	1,6	1
13.	<i>Achnanthidium helveticum</i> (Hustedt) Monnier, Lange-Bertalot & Ector	1,4	5
14.	<i>Achnanthidium kranzii</i> Lange-Bertalot	1,4	5
15.	<i>Achnanthidium linearoides</i> Lange-Bertalot	1,4	5
16.	<i>Achnanthidium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki	2,5	2
17.	<i>Achnanthidium pyrenaicum</i> (Hustedt) H.Kobayasi	1	1
18.	<i>Achnanthidium rosenstockii</i> (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot	1,4	5
19.	<i>Achnanthidium saprophila</i> (H.Kobayashi & Mayama) Round & Bukhtiyarova	1,6	1
20.	<i>Achnanthidium</i> sp.	1,4	3
21.	<i>Achnanthidium straubianum</i> (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot	1,4	5
22.	<i>Achnanthidium subatomus</i> (Hustedt) Lange-Bertalot	2,5	2
23.	<i>Adlafia minuscula</i> (Grunow) Lange-Bertalot	1,3	1
24.	<i>Adlafia minuscula</i> var. <i>muralis</i> (Grunow) Lange-Bertalot	3,2	1
25.	<i>Amphipleura pelucida</i> Kützing	1,5	3
26.	<i>Amphipleura rutilans</i> (Trentepohl & Roth) Cleve	1,5	3
27.	<i>Amphipleura</i> sp.	1,5	3
28.	<i>Amphora aequalis</i> Krammer	3,2	3
29.	<i>Amphora copulata</i> (Kützing) Schoeman & Archibald	3,2	5

Redni broj	VRSTA	TID <sub>HR</sub>	
		indikatorska vrijednost	indikatorska težina
30.	<i>Amphora inariensis</i> Krammer	2,8	1
31.	<i>Amphora lange-bertalotii</i> Levkov & Metzeltin		
32.	<i>Amphora libyca</i> Ehrenberg	3,2	3
33.	<i>Amphora ovalis</i> (Kützing) Kützing	3,2	2
34.	<i>Amphora pediculus</i> (Kützing) Grunow	3,2	2
35.	<i>Amphora</i> sp.	3,2	3
36.	<i>Aneumastus stroesei</i> (Østrup) D.G.Mann	3,6	1
37.	<i>Aneumastus tusculus</i> (Ehrenberg) D.G.Mann & Stickle	2,6	1
38.	<i>Anomoeoneis sphaerophora</i> E.Pfitzer	3,2	1
39.	<i>Asterionella formosa</i> Hassall	2,5	2
40.	<i>Asterionella</i> sp.	3,5	3
41.	<i>Aulacoseira alpigena</i> (Grunow) Krammer	2,6	1
42.	<i>Aulacoseira ambigua</i> (Grunow) Simonsen	2,6	1
43.	<i>Aulacoseira granulata</i> (Ehrenberg) Simonsen	2,6	1
44.	<i>Aulacoseira italicica</i> (Ehrenberg) Simonsen	2,6	1
45.	<i>Aulacoseira</i> sp.	2,6	1
46.	<i>Bacillaria paxillifera</i> (O.F.Müller) T.Marsson	4	1
47.	<i>Brachysira brebissonii</i> R.Ross	1	5
48.	<i>Brachysira microcephala</i> (Grunow) Compere	1	5
49.	<i>Brachysira neoexilis</i> Lange-Bertalot	1	5
50.	<i>Brachysira</i> sp.	1	5
51.	<i>Brachysira vitrea</i> (Grunow) Ross	1	5
52.	<i>Caloneis alpestris</i> (Grunow) Cleve	2	1
53.	<i>Caloneis amphisbaena</i> (Bory) Cleve fo. <i>amphisbaena</i>	2,5	1
54.	<i>Caloneis bacillum</i> (Grunow) Cleve	3	1
55.	<i>Caloneis fontinalis</i> (Grunow) Lange-Bertalot & Reichardt		
56.	<i>Caloneis lancettula</i> (Schulz) Lange-Bertalot & Witkowski	2	1
57.	<i>Caloneis latiuscula</i> (Kützing) Cleve	2	1
58.	<i>Caloneis schumanniana</i> (Grunow) Cleve	2	1
59.	<i>Caloneis silicula</i> (Ehrenberg) Cleve	1,8	5
60.	<i>Caloneis</i> sp.	2	1
61.	<i>Caloneis vasileyevae</i> Lange-Bertalot, Genkal & Vekhov	2	1
62.	<i>Campylodiscus hibernicus</i> Ehrenberg	2	1
63.	<i>Campylodiscus noricus</i> Ehrenberg	2	1
64.	<i>Cavinula pseudoscutiformis</i> (Hustedt) D.G.Mann & A.J.Stickle	2,6	1
65.	<i>Cavinula scutelloides</i> (Smith) Lange-Bertalot	2,6	1

Redni broj	VRSTA	TID <sub>HR</sub>	
		indikatorska vrijednost	indikatorska težina
66.	<i>Chaetoceros</i> sp.	1	3
67.	<i>Cocconeis disculus</i> (Schumann) Cleve	2,8	1
68.	<i>Cocconeis neothumensis</i> Krammer	2,8	1
69.	<i>Cocconeis pediculus</i> Ehrenberg	2,5	1
70.	<i>Cocconeis placentula</i> Ehrenberg	2,5	2
71.	<i>Cocconeis</i> sp.	2	2
72.	<i>Conticribra weissflogii</i> (Grunow) K.Stachura-Suchoples & D.M.Williams		
73.	<i>Coscinodiscus</i> sp.	2	1
74.	<i>Craticula accomoda</i> (Hustedt) D.G.Mann	4,8	5
75.	<i>Craticula ambigua</i> (Ehrenberg) D.G.Mann	3,2	1
76.	<i>Craticula buderi</i> (Hustedt) Lange-Bert	2,6	1
77.	<i>Craticula citrus</i> (Krasske) Reichardt	2,6	1
78.	<i>Craticula cuspidata</i> (Kützing) Mann	4	1
79.	<i>Craticula halophila</i> (Grunow) D.G.Mann	4	1
80.	<i>Craticula</i> sp.	2,6	1
81.	<i>Craticula submolesta</i> (Hustedt) Lange-Bertalot		
82.	<i>Cyclostephanos dubius</i> (Fricke) Round	2	1
83.	<i>Cyclostephanos</i> sp.		
84.	<i>Cyclotella atomus</i> Hustedt		
85.	<i>Cyclotella bodanica</i> var. <i>aff. lemanica</i> (O.Müller ex Schroter) Bachmann		
86.	<i>Cyclotella comensis</i> Grunow	2	2
87.	<i>Cyclotella comta</i> (Ehrenberg) Kützing	2	1
88.	<i>Cyclotella distinguenda</i> Hustedt		
89.	<i>Cyclotella glabriuscula</i> (Grunow) Hakansson		
90.	<i>Cyclotella krammeri</i> Håkansson		
91.	<i>Cyclotella kuetzingiana</i> Thwaites	2,6	2
92.	<i>Cyclotella melosioides</i> (Kirchner) Lemmermann	1,5	3
93.	<i>Cyclotella meneghiniana</i> Kützing	2,8	1
94.	<i>Cyclotella ocellata</i> Pantocsek	2	1
95.	<i>Cyclotella planctonica</i> Brunnthaler	1,5	3
96.	<i>Cyclotella plitvicensis</i> Hustedt	3	2
97.	<i>Cyclotella pseudostelligera</i> Hustedt		
98.	<i>Cyclotella radiosa</i> (Grunow) Lemmermann	3	2
99.	<i>Cyclotella</i> sp.	2	1
100.	<i>Cyclotella trichonidea</i> Economou-Amilli	2	2
101.	<i>Cyclotella tripartita</i> Hakansson	2	2
102.	<i>Cyclotella woltereckii</i> Hustedt	2	2
103.	<i>Cyclotella stelligera</i> G.W.Prescott	2	2
104.	<i>Cylindrotheca gracilis</i> (Brébisson ex Kützing) Grunow		

Redni broj	VRSTA	TID <sub>HR</sub>	
		indikatorska vrijednost	indikatorska težina
105.	<i>Cymatopleura elliptica</i> (Brébisson) W.Smith	4	1
106.	<i>Cymatopleura solea</i> (Brébisson & Godey) W.Smith	3,2	1
107.	<i>Cymatopleura</i> sp.	3,2	1
108.	<i>Cymbella affinis</i> Kützing	2,2	1
109.	<i>Cymbella affinis</i> var. <i>procera</i> Krammer	2,6	3
110.	<i>Cymbella aspera</i> (Ehrenberg) Cleve	2,2	1
111.	<i>Cymbella cistula</i> (Ehrenberg) Kirchner	2,2	1
112.	<i>Cymbella compacta</i> Østrup	2,2	1
113.	<i>Cymbella cymbiformis</i> Agardh	2,2	1
114.	<i>Cymbella delicatula</i> Kützing	1	3
115.	<i>Cymbella designata</i> Krammer	2	1
116.	<i>Cymbella excisa</i> Kützing	2,2	1
117.	<i>Cymbella excisiformis</i> Kützing		
118.	<i>Cymbella helvetica</i> Kützing	2,2	1
119.	<i>Cymbella hustedtii</i> Krasske	2,5	5
120.	<i>Cymbella laevis</i> Nägeli	2,2	1
121.	<i>Cymbella lanceolata</i> (C.Agardh) Kirchner	2,2	1
122.	<i>Cymbella lancettula</i> (Krammer) Krammer	2,2	1
123.	<i>Cymbella lange-bertalotii</i> Krammer	2,8	2
124.	<i>Cymbella leptoceros</i> (Ehrenberg) Grunow	2,5	5
125.	<i>Cymbella neocistula</i> Krammer	2,2	1
126.	<i>Cymbella neoleptoceros</i> var. <i>neoleptoceros</i> Krammer	2,5	5
127.	<i>Cymbella parva</i> (W.Smith) Kirchner	2	1
128.	<i>Cymbella proxima</i> Reimer	2,2	1
129.	<i>Cymbella</i> sp.	2,2	1
130.	<i>Cymbella stuxbergii</i> (Cleve) Cleve	2	1
131.	<i>Cymbella subhelvetica</i> Krammer	2,2	1
132.	<i>Cymbella tumida</i> (Brébisson) Van Heurck	2,2	1
133.	<i>Cymbella turgidula</i> Grunow		
134.	<i>Cymbella vulgata</i> Krammer		
135.	<i>Cymbopleura amphicephala</i> Krammer	2,2	1
136.	<i>Cymbopleura austriaca</i> (Grunow) Krammer	2,2	1
137.	<i>Cymbopleura cuspidata</i> (Kützing) Krammer		
138.	<i>Cymbopleura diminuta</i> (Grunow) Krammer		
139.	<i>Cymbopleura frequens</i> var. <i>frequens</i> Krammer	2,2	1
140.	<i>Cymbopleura naviculiformis</i> (Auerswald) Krammer	2,2	1
141.	<i>Cymbopleura rhomboidea</i> var. <i>rhomboidea</i> Krammer	2,2	1
142.	<i>Cymbopleura</i> sp.		
143.	<i>Cymbopleura subaequalis</i> var. <i>subaequalis</i> (Grunow) Krammer	2,2	1

Redni broj	VRSTA	TID <sub>HR</sub>	
		indikatorska vrijednost	indikatorska težina
144.	<i>Delicata delicatula</i> var. <i>delicatula</i> (Kützing) Krammer	1	3
145.	<i>Denticula kuetzingii</i> Grunow	2	1
146.	<i>Denticula</i> sp.	2	1
147.	<i>Denticula tenuis</i> Kützing	2	1
148.	<i>Diadesmis confervacea</i> Kützing	2,6	1
149.	<i>Diadesmis contenta</i> (Grunow ex Van Heurck) D.G.Mann	1,3	1
150.	<i>Diatoma anceps</i> (Ehrenberg) Kirchner	2	1
151.	<i>Diatoma ehrenbergii</i> Kützing	1,8	2
152.	<i>Diatoma elongata</i> (Lyngbye) C.Agardh	2	2
153.	<i>Diatoma hiemalis</i> (Lyngbye) Heiberg	2	1
154.	<i>Diatoma mesodon</i> (Ehrenberg) Kützing	1,5	3
155.	<i>Diatoma moniliformis</i> (Kützing) D.M.Williams	3	1
156.	<i>Diatoma problematicum</i> Lange-Bertalot	2	1
157.	<i>Diatoma</i> sp.	2	1
158.	<i>Diatoma tenuis</i> Agardh	2	1
159.	<i>Diatoma vulgaris</i> Bory	2,6	3
160.	<i>Diatoma vulgaris</i> var. <i>capitulatum</i> Grunow	2,5	3
161.	<i>Didymosphenia geminata</i> (Lyngbye) W.M.Schmidt	2	1
162.	<i>Diploneis elliptica</i> (Kützing) Cleve	2	3
163.	<i>Diploneis fontanella</i> Lange-Bertalot	2	3
164.	<i>Diploneis fontium</i> Reichardt	2	3
165.	<i>Diploneis krammeri</i> Lange-Bertalot & Reichardt		
166.	<i>Diploneis marginestriata</i> Hustedt	2	3
167.	<i>Diploneis oblongella</i> var. <i>gibbosa</i> (McCall) A.Cleve	3	2
168.	<i>Diploneis oculata</i> (Brebisson) Cleve	2	3
169.	<i>Diploneis oblongella</i> (Naegeli) Cleve-Euler		
170.	<i>Diploneis ovalis</i> (Hilse) Cleve	2	3
171.	<i>Diploneis parma</i> Cleve	2	3
172.	<i>Diploneis puella</i> (Schumann) Cleve	2	3
173.	<i>Diploneis separanda</i> Lange-Bertalot	2	3
174.	<i>Diploneis</i> sp.	2	3
175.	<i>Discostella stelligera</i> (Cleve et Grunow) Houk & Klee	2	1
176.	<i>Ellerbeckia arenaria</i> (Moore ex Ralfs) R.M.Crawford	2,6	1
177.	<i>Encyonema auerswaldii</i> Rabenhorst	2,2	1
178.	<i>Encyonema caespitosum</i> Kützing	1,5	2
179.	<i>Encyonema lacustre</i> (C.Agardh) F.W.Mills	2,2	1
180.	<i>Encyonema lange-bertalotii</i> Krammer		

Redni broj	VRSTA	TID <sub>HR</sub>	
		indikatorska vrijednost	indikatorska težina
181.	<i>Encyonema mesianum</i> (Cholnoky) D.G.Mann	2	1
182.	<i>Encyonema minutum</i> (Hilse) D.G.Mann	3	2
183.	<i>Encyonema muelleri</i> (Hustedt) D.G.Mann	2,2	1
184.	<i>Encyonema prostratum</i> (Berkeley) Kützing	1,5	2
185.	<i>Encyonema silesiacum</i> (Bleisch) D.G. Mann	1,8	2
186.	<i>Encyonema</i> sp.	2,2	1
187.	<i>Encyonema ventricosum</i> (Agardh) Grunow	2,2	1
188.	<i>Encyonema vulgare</i> Krammer	1,8	2
189.	<i>Encyonopsis cesatii</i> (Rabenhorst) Krammer	2,2	1
190.	<i>Encyonopsis krammeri</i> Reichardt	2,2	1
191.	<i>Encyonopsis microcephala</i> (Grunow) Krammer	2,2	1
192.	<i>Encyonopsis minuta</i> Krammer & Reichardt	1	2
193.	<i>Encyonopsis</i> sp.		
194.	<i>Encyonopsis subminuta</i> Krammer & Reichardt		
195.	<i>Entomoneis paludosa</i> (W.Smith) Reimer	2	2
196.	<i>Entomoneis</i> sp.	2	2
197.	<i>Envekadea hedinii</i> Van de Vijver, Gligora, Hinz, Kralj & Cocquyt	1,8	2
198.	<i>Eolimna subminuscula</i> (Manguin) Gerd Moser, Lange-Bertalot & D.Metzeltin	3,6	1
199.	<i>Epithemia muelleri</i> Fricke	2	2
200.	<i>Epithemia adnata</i> (Kützing) Brebisson	2	2
201.	<i>Epithemia argus</i> (Ehrenberg) Kützing var. <i>argus</i>	2	2
202.	<i>Epithemia frickei</i> Krammer	2	2
203.	<i>Epithemia goeppertiana</i> Hilse	2	2
204.	<i>Epithemia sorex</i> Kützing	2,8	1
205.	<i>Epithemia</i> sp.	2	2
206.	<i>Epithemia turgida</i> Kützing	2	2
207.	<i>Eucocconeis flexella</i> (Kützing) Cleve	1,4	3
208.	<i>Eucocconeis laevis</i> (Østrup) Lange-Bertalot	1,4	3
209.	<i>Eunotia ambivalens</i> Lange-Bertalot & Tagliaventi	1	1
210.	<i>Eunotia arcubus</i> Nörpel & Lange-Bertalot	1	1
211.	<i>Eunotia arcus</i> Ehrenberg var. <i>arcus</i>	1	1
212.	<i>Eunotia bilunaris</i> (Ehrenberg) Schaarschmidt	1	3
213.	<i>Eunotia intermedia</i> (Krasske) Nörpel & Lange-Bertalot	1	3
214.	<i>Eunotia minor</i> (Kützing) Grunow in van Heurck		
215.	<i>Eunotia minutissima</i> A.Cleve	1,6	3

Redni broj	VRSTA	TID <sub>HR</sub>	
		indikatorska vrijednost	indikatorska težina
216.	<i>Eunotia minus</i> (Kützing) Grunow	1	3
217.	<i>Eunotia pectinalis</i> (Dyllwyn) Rabenhorst	1	1
218.	<i>Eunotia pectinalis</i> var. <i>recta</i> A.Mayer ex Patrick		
219.	<i>Eunotia praerupta</i> Ehrenberg	1	1
220.	<i>Eunotia</i> sp.	1	1
221.	<i>Eunotia tenella</i> (Grunow) Hustedt	1	3
222.	<i>Fallacia lange-bertalotii</i> (Reichardt) Reichardt	2,6	1
223.	<i>Fallacia lenzii</i> (Hustedt) Lange-Bertalot	3	1
224.	<i>Fallacia pygmaea</i> (Kützing) Stickle & Mann ssp. <i>pygmaea</i> Lange-Bertalot	2,6	1
225.	<i>Fallacia pygmaea</i> ssp. <i>subpygmaea</i> Lange-Bertalot	2,6	1
226.	<i>Fallacia subhamulata</i> (Grunow) D.G.Mann	3	1
227.	<i>Fallacia tenera</i> (Hustedt) D.G. Mann	2,6	1
228.	<i>Fistulifera saprophila</i> (Lange-Bertalot & Bonik) Lange-Bertalot	3,6	1
229.	<i>Fragilaria acus</i> (Ehrenberg) Cleve	2,6	3
230.	<i>Fragilaria biceps</i> (Kützing) Lange-Bertalot		
231.	<i>Fragilaria brevistriata</i> Grunow	2,4	2
232.	<i>Pseudostaurosira brevistriata</i> (Grunow) D.M.Williams & Round	2,4	2
233.	<i>Fragilaria capucina</i> Desmazieres var. <i>capucina</i>	1,5	2
234.	<i>Fragilaria capucina</i> subsp. <i>rumpens</i> (Kützing) Lange-Bertalot	2,8	3
235.	<i>Fragilaria capucina</i> var. <i>gracilis</i> (Østrup) Hustedt	2	2
236.	<i>Fragilaria capucina</i> var. <i>mesolepta</i> (Rabenhorst) Rabenhorst	2	2
237.	<i>Fragilaria capucina</i> var. <i>vaucheriae</i> (Kützing) Lange-Bertalot	3,2	1
238.	<i>Fragilaria construens</i> (Ehrenberg) Hustedt	2,4	2
239.	<i>Fragilaria crotensis</i> Kitton	2,4	3
240.	<i>Fragilaria goulardii</i> (Brébisson) Lange-Bertalot	2	1
241.	<i>Fragilaria nanana</i> Lange-Bertalot	3,6	2
242.	<i>Fragilaria parasitica</i> var. <i>subconstricta</i> Grunow	3,2	3
243.	<i>Fragilaria pseudoconstruens</i> Marciniak	2	1
244.	<i>Fragilaria radians</i> (Kützing) Lange-Bertalot		
245.	<i>Fragilaria recapitellata</i> H. Lange-Bertalot & D. Metzeltin		
246.	<i>Fragilaria</i> sp.	1,6	1
247.	<i>Fragilaria tenera</i> (W.Smith) Lange-Bertalot	4	2

Redni broj	VRSTA	TID <sub>HR</sub>	
		indikatorska vrijednost	indikatorska težina
248.	<i>Fragilariforma virescens</i> (Ralfs) D.M.Williams & Round	2	3
249.	<i>Frustulia amphipleuroides</i> (Grunow) Cleve-Euler	1,4	1
250.	<i>Frustulia creuzburgensis</i> (Krasske) Hustedt	1,8	1
251.	<i>Frustulia rhomboides</i> (Ehrenberg) De Toni var. <i>amphipleuroides</i> (Grunow) De Toni	1,4	1
252.	<i>Frustulia rhomboides</i> f. <i>undulata</i> Hustedt		
253.	<i>Frustulia</i> sp.	2	1
254.	<i>Frustulia spicula</i> Amosse		
255.	<i>Frustulia vulgaris</i> (Thwaites) De Toni	1,8	1
256.	<i>Frustulia weinholdii</i> Hustedt	1,8	1
257.	<i>Geissleria decussis</i> (Østrup) Lange-Bertalot & Metzeltin	2,4	3
258.	<i>Geissleria dolomitica</i> (Bock) Lange-Bertalot & Metzeltin	2,6	1
259.	<i>Geissleria similis</i> (Krasske) Lange-Bertalot & Metzelt	2,6	1
260.	<i>Geissleria</i> sp.	2,6	1
261.	<i>Gomphocymbella</i> sp.	2	1
262.	<i>Gomphonema acuminatum</i> Ehrenberg	2,2	1
263.	<i>Gomphonema affine</i> Kützing	3	1
264.	<i>Gomphonema affine</i> var. <i>insigne</i> (W.Gregory) G.W.Andrews	3	1
265.	<i>Gomphonema amoenum</i> Lange-Bertalot	3	1
266.	<i>Gomphonema angustatum</i> (Kützing) Rabenhorst	2	1
267.	<i>Gomphonema augur</i> Ehrenberg	3	3
268.	<i>Gomphonema augur</i> var. <i>turris</i> (Ehrenberg) Lange-Bertalot	3	1
269.	<i>Gomphonema brasiliense</i> Grunow	3	1
270.	<i>Gomphonema brebissonii</i> Kützing	2	1
271.	<i>Gomphonema capitatum</i> Ehrenberg	3	1
272.	<i>Gomphonema carolinense</i> Hagelstein	2	1
273.	<i>Gomphonema clavatum</i> Ehrenberg	3	1
274.	<i>Gomphonema constrictum</i> var. <i>amphicephala</i> K.S.Mereschkowsky	1,9	5
275.	<i>Gomphonema dichotomum</i> Kützing	2	1
276.	<i>Gomphonema elegantissimum</i> Reichardt and Lange-Bertalot		
277.	<i>Gomphonema exilissimum</i> (Grunow) Lange-Bertalot & E.Reichardt	2,6	3
278.	<i>Gomphonema gracile</i> Ehrenberg	2	1
279.	<i>Gomphonema grovei</i> var. <i>lingulatum</i> (Hustedt) Lange-Bertalot	3,8	5
280.	<i>Gomphonema hebridense</i> W.Gregory	1,5	1

Redni broj	VRSTA	TID <sub>HR</sub>	
		indikatorska vrijednost	indikatorska težina
281.	<i>Gomphonema innocens</i> E.Reichardt	2	1
282.	<i>Gomphonema intricatum</i> Kütz.	2	1
283.	<i>Gomphonema italicum</i> Kützing	3	2
284.	<i>Gomphonema lateripunctatum</i> Reichardt & Lange-Bertalot	1,8	1
285.	<i>Gomphonema minusculum</i> Krasske	2,6	5
286.	<i>Gomphonema minutum</i> (Agardh) Agardh	2,8	1
287.	<i>Gomphonema olivaceum</i> (Hornemann) Brébisson	3,1	1
288.	<i>Gomphonema olivaceum</i> var. <i>calcareum</i> (Cleve) Van Heurck	5	2
289.	<i>Gomphonema olivaceum</i> var. <i>olivaceoides</i> (Hustedt) Lange-Bertalot	3,1	1
290.	<i>Gomphonema pala</i> Reichardt	2	1
291.	<i>Gomphonema parvulum</i> (Kützing) Kützing	4	1
292.	<i>Gomphonema parvulum</i> var. <i>micropus</i> (Kützing) Cleve	3,1	3
293.	<i>Gomphonema pseudoaugur</i> Lange-Bertalot	3,2	1
294.	<i>Gomphonema pseudotenellum</i> Lange-Bertalot	3	1
295.	<i>Gomphonema pumilum</i> (Grunow) Reichardt & Lange-Bertalot	2,3	1
296.	<i>Gomphonema rhombicum</i> Fricke		
297.	<i>Gomphonema sacrophagus</i> Gregory		
298.	<i>Gomphonema</i> sp.	2	1
299.	<i>Gomphonema subclavatum</i> Grunow	2	1
300.	<i>Gomphonema tergestinum</i> (Grunow) Fricke	1,7	1
301.	<i>Gomphonema truncatum</i> Ehrenberg	2	1
302.	<i>Gomphonema vibrio</i> Ehrenberg	2	1
303.	<i>Gomphonema vibrio</i> var. <i>pumilum</i> (Grunow) R.Ross	3	1
304.	<i>Gomphosphenia lingulatiformis</i> (Lange-Bertalot & E.Reichardt) Lange-Bertalot	3	1
305.	<i>Grunowia solgensis</i> (Cleve-Euler) M.Aboal	4	1
306.	<i>Grunowia tabellaria</i> (Grunow) Rabenhorst		
307.	<i>Gyrosigma acuminatum</i> (Kützing) Rabenhorst	2,2	3
308.	<i>Gyrosigma attenuatum</i> (Kützing) Rabenhorst	2,8	3
309.	<i>Gyrosigma kuetzingii</i> (Grunow) Cleve	2,8	5
310.	<i>Gyrosigma nodiferum</i> (Grunow) Reimer	2,8	3
311.	<i>Gyrosigma obtusatum</i> (Sullivan & Wormley) Boyer	2,5	1
312.	<i>Gyrosigma scalpoides</i> (Rabenhorst) Cleve	2,8	2
313.	<i>Gyrosigma sciotoense</i> (W.S.Sullivan) Cleve		

Redni broj	VRSTA	TID <sub>HR</sub>	
		indikatorska vrijednost	indikatorska težina
314.	<i>Gyrosigma</i> sp.	2,8	3
315.	<i>Gyrosigma spenceri</i> (W.Smith) Griffith & Henfrey	2,8	5
316.	<i>Gyrosigma wormleyi</i> (Sullivan) Boyer	2,5	2
317.	<i>Halamphora coffeaeformis</i> (C.Agardh) Levkov	3,2	3
318.	<i>Halamphora eunotia</i> (Cleve) Levkov	5	1
319.	<i>Halamphora montana</i> (Krasske) Levkov	3,2	3
320.	<i>Halamphora obscura</i> (Krasske) Levkov	5	1
321.	<i>Halamphora oligotraphenta</i> (Lange-Bertalot) Levkov	3,2	3
322.	<i>Halamphora</i> sp.	5	1
323.	<i>Halamphora subcapitata</i> (Kisselew) Levkov	1	3
324.	<i>Halamphora thumensis</i> (A.Mayer) Levkov	5	1
325.	<i>Halamphora veneta</i> (Kützing) Levkov	4	1
326.	<i>Hannaea arcus</i> (Ehrenberg) R.M.Patrick	1	3
327.	<i>Hantzschia amphioxys</i> (Ehrenberg) Grunow	4	1
328.	<i>Hippodonta capitata</i> (Ehrenberg) Lange-Bertalot, Metzeltin & Witkowski	3,2	3
329.	<i>Hippodonta costulata</i> (Grunow) Lange-Bertalot, Metzeltin & Witkowski	3,2	5
330.	<i>Hippodonta hungarica</i> (Grunow) Lange-Bertalot, Metzeltin & Witkowski	3,2	5
331.	<i>Hippodonta</i> sp.	2,6	1
332.	<i>Karayevia clevei</i> (Grunow) Bukhtiyarova	3	5
333.	<i>Karayevia laterostrata</i> (Hustedt) Bukhtiyarova	4	2
334.	<i>Kobayasiella lange-bertaloti</i> Metzelin	2,6	2
335.	<i>Kobayasiella parasubtilissima</i> (Manguin) Lange-Bertalot & Reichardt	2,6	2
336.	<i>Kobayasiella subtilissima</i> (Cleve) H.Lange-Bertalot	4	2
337.	<i>Kolbesia ploenensis</i> (Hustedt) Kingston	4	2
338.	<i>Lemnicola hungarica</i> (Grunow) F.E.Round & P.W.Basson	3,5	3
339.	<i>Lemnicola</i> sp.	3,2	2
340.	<i>Luticola cohnii</i> (Hilse) D.G.Mann	2,6	3
341.	<i>Luticola goeppertiana</i> (Bleisch) D.G.Mann	3,2	3
342.	<i>Luticola mutica</i> (Kützing) D.G.Mann	2,6	1
343.	<i>Luticola nivalis</i> (Ehrenberg) D.G.Mann	2,6	1
344.	<i>Luticola ventricosa</i> (Kützing) D.G.Mann	5	2
345.	<i>Martyana martyi</i> (Héribaud-Joseph) Round	5	2
346.	<i>Mastogloia lacustris</i> (Grunow) Grunow	1,5	3
347.	<i>Mastogloia schmidii</i> Thwaites	1,5	3
348.	<i>Mastogloia</i> sp.	1,5	3

Redni broj	VRSTA	TID <sub>HR</sub>	
		indikatorska vrijednost	indikatorska težina
349.	<i>Mayamaea atomus</i> (Kützing) Lange-Bertalot	3,6	1
350.	<i>Mayamaea permitis</i> (Hustedt) K.Bruder & L.K.Medlin		
351.	<i>Melosira</i> sp.		
352.	<i>Melosira varians</i> C.A. Agardh	3,2	1
353.	<i>Meridion circulare</i> (Grev.) C.Agardh	2	1
354.	<i>Meridion circulare</i> var. <i>constrictum</i> (Ralfs) Van Heurck	2	3
355.	<i>Navicula amphiceropsis</i> Lange-Bertalot & Rumrich	2,6	1
356.	<i>Navicula antonii</i> Lange-Bertalot	3,1	3
357.	<i>Navicula arvensis</i> Hustedt		
358.	<i>Navicula arvensis</i> var. <i>major</i> Lange-Bertalot	3,6	1
359.	<i>Navicula cantonati</i> Lange-Bertalot	2,6	1
360.	<i>Navicula capitatoradiata</i> Germain	2,9	1
361.	<i>Navicula cari</i> Ehrenberg	4	1
362.	<i>Navicula caterva</i> Hohn & Hellermann		
363.	<i>Navicula cincta</i> (Ehrenberg) Ralfs	4	1
364.	<i>Navicula clementis</i> Grunow		
365.	<i>Navicula cryptocephala</i> Kützing	2,6	3
366.	<i>Navicula cryptofallax</i> Lange-Bertalot & Hofmann	4	1
367.	<i>Navicula cryptotenella</i> Lange-Bertalot	2,8	3
368.	<i>Navicula cryptotenelloides</i> Lange-Bertalot	2,4	1
369.	<i>Navicula dealpina</i> Lange-Bertalot	2,6	1
370.	<i>Navicula densilineolata</i> (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot	2,6	1
371.	<i>Navicula digitoradiata</i> (Gregory) Ralfs	3,6	1
372.	<i>Navicula erifuga</i> Lange-Bertalot	2,6	1
373.	<i>Navicula exigua</i> Gregory	3,6	1
374.	<i>Navicula flanatica</i> Grunow	3,6	1
375.	<i>Navicula gottlandica</i> Grunow	2,6	1
376.	<i>Navicula gracilis</i> Ehrenberg	3	2
377.	<i>Navicula gregaria</i> Donkin	3,3	1
378.	<i>Navicula hofmanniae</i> Lange-Bertalot	2,6	1
379.	<i>Navicula jakovljevicii</i> Hustedt	2,6	1
380.	<i>Navicula kotschyi</i> Grunow	2,6	1
381.	<i>Navicula lanceolata</i> (Agardh) Ehrenberg	2,6	1
382.	<i>Navicula leptostriata</i> Jorgensen	2,6	1
383.	<i>Navicula libonensis</i> Schoeman	2,6	1
384.	<i>Navicula margalithii</i> Lange-Bertalot	2,6	1
385.	<i>Navicula menisculus</i> Schumann var. <i>menisculus</i>	3,1	3

Redni broj	VRSTA	TID <sub>HR</sub>	
		indikatorska vrijednost	indikatorska težina
386.	<i>Navicula menisculus</i> var. <i>upsaliensis</i> (Grunow) Grunow	5	2
387.	<i>Navicula minima</i> var. <i>minima</i> Grunow	5	1
388.	<i>Navicula minuscula</i> var. <i>minuscula</i> Grunow		
389.	<i>Navicula moenofranconica</i> Lange-Bertalot	2,6	1
390.	<i>Navicula molestiformis</i> Hustedt	4	1
391.	<i>Navicula moniliformis</i> Cleve		
392.	<i>Navicula notha</i> Wallace	2,6	1
393.	<i>Navicula oblonga</i> (Kützing) Kützing	3,6	3
394.	<i>Navicula oligotraphenta</i> Lange-Bertalot & Hofmann	2,6	1
395.	<i>Navicula oppugnata</i> Hustedt	3,6	1
396.	<i>Navicula phyllepta</i> Kützing	4	2
397.	<i>Navicula placentula</i> (Ehrenberg) Kützing	4	2
398.	<i>Navicula praeterita</i> Hustedt	2,6	1
399.	<i>Navicula protracta</i> (Grunow) Cleve	4	1
400.	<i>Navicula pseudolanceolata</i> Lange-Bertalot	2,6	1
401.	<i>Navicula radiosa</i> Kützing	2,8	3
402.	<i>Navicula recens</i> (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot	4	1
403.	<i>Navicula reichardtiana</i> Lange-Bertalot	2,8	1
404.	<i>Navicula reinhardtii</i> (Grunow) Grunow	2,6	1
405.	<i>Navicula rhynchocephala</i> Kützing	2,6	1
406.	<i>Navicula rotunda</i> Hustedt	4	1
407.	<i>Navicula salinarum</i> Grunow	4	1
408.	<i>Navicula schroeteri</i> Meister	2,6	1
409.	<i>Navicula simulata</i> Manguin	2,6	1
410.	<i>Navicula slesvicensis</i> Grun	3,2	5
411.	<i>Navicula</i> sp.	2,6	1
412.	<i>Navicula splendicula</i> Van Landingham	2,6	1
413.	<i>Navicula striolata</i> (Grunow) Lange-Bertalot	2,6	1
414.	<i>Navicula subalpina</i> Reichardt	3,6	1
415.	<i>Navicula tenelloides</i> Hustedt	2,6	1
416.	<i>Navicula tripunctata</i> (O.F. Müller) Bory	2,6	1
417.	<i>Navicula trivialis</i> Lange-Bertalot var. <i>trivialis</i>	4	1
418.	<i>Navicula trophicatrix</i> Lange-Bertalot	2,6	1
419.	<i>Navicula vandamii</i> Schoeman & Archibald		
420.	<i>Navicula veneta</i> Kütz.	3	1
421.	<i>Navicula viridula</i> (Kützing) Kützing	3	1
422.	<i>Navicula viridula</i> var. <i>rostellata</i> (Kützing) Cleve	4	1
423.	<i>Navicula weinzierlii</i> Schimanski	2,6	1
424.	<i>Navicula wildii</i> Lange-Bertalot	2,6	1
425.	<i>Naviculadicta absoluta</i> (Hustedt) Lange-Bertalot	2,6	1

Redni broj	VRSTA	TID <sub>HR</sub>	
		indikatorska vrijednost	indikatorska težina
426.	<i>Naviculadicta vitabunda</i> (Hustedt) Lange-Bertalot	2,6	1
427.	<i>Navicymbula pusilla</i> Krammer	2,2	1
428.	<i>Neidiomorpha binodeformis</i> (K.Krammer) M.Cantonati, H.Lange-Bertalot & N.Angeli		
429.	<i>Neidiomorpha binodis</i> (Ehrenberg) M.Cantonati, Lange-Bertalot & N.Angeli		
430.	<i>Neidium affine</i> (Ehrenberg) Pfizer	2	3
431.	<i>Neidium ampliatum</i> (Ehrenberg) Krammer	2	3
432.	<i>Neidium binodis</i> (Ehrenberg) Hustedt	2,6	1
433.	<i>Neidium dubium</i> (Ehrenberg) Cleve	1,5	3
434.	<i>Neidium productum</i> (W.Smith) Cleve	2	3
435.	<i>Neidium</i> sp.	1,5	3
436.	<i>Nitzschia acicularis</i> (Kützing) W.Smith	2,5	3
437.	<i>Nitzschia acula</i> Hantzsch	3,6	5
438.	<i>Nitzschia aequorea</i> Hustedt	3,2	1
439.	<i>Nitzschia agnita</i> Hustedt	4	1
440.	<i>Nitzschia amphibia</i> Grunow		
441.	<i>Nitzschia amphibia</i> Grunow fo. <i>amphibia</i> Grunow	4	1
442.	<i>Nitzschia amphibia</i> Grunow var. <i>thermalis</i> Petersen	3,2	1
443.	<i>Nitzschia angustata</i> Grunow	4	1
444.	<i>Nitzschia angustatula</i> Lange-Bertalot	4	1
445.	<i>Nitzschia archibaldii</i> Lange-Bertalot	4	1
446.	<i>Nitzschia bulnheimiana</i> (Rabenhorst) Smith	4	1
447.	<i>Nitzschia capitata</i> Østrup	4	1
448.	<i>Nitzschia capitellata</i> Hustedt	3,8	5
449.	<i>Nitzschia clausii</i> Hantzsch	4	1
450.	<i>Nitzschia commutata</i> Grunow	4	1
451.	<i>Nitzschia debilis</i> (Arnott) Grunow	4	1
452.	<i>Nitzschia delognei</i> Grunow	4	1
453.	<i>Nitzschia dissipata</i> (Kützing) Grunow	2,8	1
454.	<i>Nitzschia dissipata</i> var. <i>media</i> (Hantzsch) Grunow	5	2
455.	<i>Nitzschia draveillensis</i> Coste & Ricard	4	1
456.	<i>Nitzschia dubia</i> W.Smith	3,6	2
457.	<i>Nitzschia flexa</i> Schumann	3,2	1
458.	<i>Nitzschia fonticola</i> (Grunow) Grunow	3	2
459.	<i>Nitzschia frequens</i> Hustedt	4	1
460.	<i>Nitzschia frustulum</i> (Kützing) Grunow var. <i>frustulum</i>	4	1
461.	<i>Nitzschia fruticosa</i> Hustedt	4	1
462.	<i>Nitzschia gisela</i> Lange-Bertalot	3,2	1

Redni broj	VRSTA	TID <sub>HR</sub>	
		indikatorska vrijednost	indikatorska težina
463.	<i>Nitzschia graciliformis</i> Lange-Bertalot & Simonsen	4	1
464.	<i>Nitzschia gracilis</i> Hantzsch	4	1
465.	<i>Nitzschia heufleriana</i> Grunow	2,8	1
466.	<i>Nitzschia homburgiensis</i> Lange-Bertalot	3,2	1
467.	<i>Nitzschia hungarica</i> Grunow	4	1
468.	<i>Nitzschia inconspicua</i> Grunow	5	1
469.	<i>Nitzschia intermedia</i> Hantzsch ex Cleve & Grunow	4	1
470.	<i>Nitzschia kuetzingiana</i> Hilse	3	1
471.	<i>Nitzschia lacuum</i> Lange-Bertalot	4	1
472.	<i>Nitzschia lanceolata</i> W.Smith	3,2	1
473.	<i>Nitzschia levidensis</i> var. <i>salinarum</i> (Grunow) Krammer & Lange-Bertalot	4	1
474.	<i>Nitzschia linearis</i> W.Smith		
475.	<i>Nitzschia linearis</i> (Agardh) W.Smith var. <i>linearis</i>	2,8	1
476.	<i>Nitzschia linearis</i> var. <i>subtilis</i> (Grunow) Hustedt	3,2	1
477.	<i>Nitzschia linearis</i> var. <i>tenuis</i> (W.Smith) Grunow	2,8	1
478.	<i>Nitzschia littoralis</i> Grunow	4	1
479.	<i>Nitzschia microcephala</i> Grunow	2,6	1
480.	<i>Nitzschia nana</i> Grunow	4	1
481.	<i>Nitzschia ovalis</i> Arnott	4	1
482.	<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W.Smith	4	1
483.	<i>Nitzschia paleacea</i> Grunnow	3,2	2
484.	<i>Nitzschia paleaformis</i> Hustedt	3,2	2
485.	<i>Nitzschia pellucida</i> Grunow	3,2	2
486.	<i>Nitzschia perminuta</i> (Grunow) M.Peragallo	2,6	2
487.	<i>Nitzschia pseudofonticola</i> Hustedt	3,2	2
488.	<i>Nitzschia pumila</i> Hustedt	2,9	2
489.	<i>Nitzschia pusilla</i> (Kutzing) Grunow	3,2	2
490.	<i>Nitzschia recta</i> Hantzsch	2,8	2
491.	<i>Nitzschia reversa</i> W.Smith		
492.	<i>Nitzschia salinarum</i> Grunow		
493.	<i>Nitzschia sigma</i> (Kutzing) W.Smith		
494.	<i>Nitzschia sigmaoidea</i> (Nitzsch) W.Smith	3,6	3
495.	<i>Nitzschia sociabilis</i> Hustedt	4	1
496.	<i>Nitzschia</i> sp.	3,2	1
497.	<i>Nitzschia subacicularis</i> Hustedt	4	1
498.	<i>Nitzschia tryblionella</i> Hantzsch	4	1
499.	<i>Nitzschia tubicola</i> Grunow	3,2	1
500.	<i>Nitzschia umbonata</i> (Ehrenberg) Lange-Bertalot	3,2	1

Redni broj	VRSTA	TID <sub>HR</sub>	
		indikatorska vrijednost	indikatorska težina
501.	<i>Nitzschia valdecostata</i> Lange-Bertalot & Simonsen	2,2	2
502.	<i>Nitzschia valdestriata</i> Aleem & Hustedt		
503.	<i>Nitzschia vermicularis</i> (Kützing) Hantzsch	3,2	2
504.	<i>Nitzschia vermicularoides</i> Lange-Bertalot		
505.	<i>Nitzschia wuellerstorffii</i> Lange-Bertalot		
506.	<i>Orthoseira roeseana</i> (Rabenhorst) O'Meara	2	1
507.	<i>Petroneis latissima</i> (Gregory) Stickle & D.G.Mann	2,6	1
508.	<i>Pinnularia acutobrebissonii</i> Kulikovskiy, Lange-Bertalot & Metzeltin		
509.	<i>Pinnularia biceps</i> Gregory	1	3
510.	<i>Pinnularia gibba</i> Ehrenberg	1	3
511.	<i>Pinnularia globiceps</i> Gregory	1	3
512.	<i>Pinnularia grunowii</i> Krammer	1	3
513.	<i>Pinnularia interrupta</i> W.Smith	1	3
514.	<i>Pinnularia lundii</i> Hustedt	3	3
515.	<i>Pinnularia maior</i> (Kützing) Cleve	1	3
516.	<i>Pinnularia microstauron</i> (Ehrenberg) Cleve var. <i>microstauron</i> Krammer	1	3
517.	<i>Pinnularia reichardtii</i> Krammer	1	3
518.	<i>Pinnularia</i> sp.	1	3
519.	<i>Pinnularia subcapitata</i> var. <i>elongata</i> Krammer	1	1
520.	<i>Pinnularia viridis</i> (Nitzsch) Ehrenberg	1	3
521.	<i>Placoneis elginensis</i> (Gregory) E.J.Cox	2,4	5
522.	<i>Placoneis gastrum</i> (Ehrenberg) Mereschkovsky	2,6	1
523.	<i>Placoneis minor</i> (Grunow) Lange-Bertalot	2,6	1
524.	<i>Placoneis placentula</i> Heinzerling	4	2
525.	<i>Placoneis pseudanglica</i> E.J.Cox	4	2
526.	<i>Placoneis pseudanglica</i> var. <i>signata</i> (Hustedt) E.Y.Haworth & M.G.Kelly	2,6	1
527.	<i>Placoneis</i> sp.	4	2
528.	<i>Placoneis undulata</i> (Østrup) Lange-Bertalot		
529.	<i>Planothidium conspicuum</i> (Mayer) E.A.Morales	4	2
530.	<i>Planothidium delicatulum</i> (Kützing) Round & Bukhtiyarova	2,7	2
531.	<i>Planothidium dubium</i> (Grunow) Round & Bukhtiyarova		
532.	<i>Planothidium fragilaroides</i> (J.B.Petersen) Round & Bukhtiyarova	2	1
533.	<i>Planothidium frequentissimum</i> (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot	5	2

Redni broj	VRSTA	TID <sub>HR</sub>	
		indikatorska vrijednost	indikatorska težina
534.	<i>Planothidium hauckianum</i> (Grunow) Bukhtiyarova	2,7	2
535.	<i>Planothidium lanceolatum</i> (Brebisson ex Kützing) Lange-Bertalot	2	2
536.	<i>Planothidium minutissimum</i> (Krasske) Lange-Bertalot	1,4	3
537.	<i>Planothidium rostratum</i> (Østrup) Lange-Bertalot	3,4	1
538.	<i>Planothidium</i> sp.	2	2
539.	<i>Pleurosira laevis</i> Ehrenberg	2	3
540.	<i>Prestauroneis integra</i> (W.Smith) K.Bruder		
541.	<i>Psammothidium daonense</i> (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot	1,4	5
542.	<i>Psammothidium hustedtii</i> (Krasske) M.Aboal	3	1
543.	<i>Pseudofallacia tenera</i> (Hustedt) Liu, Kociolek & Wang		
544.	<i>Pseudostaurosira parasitica</i> (W.Smith) Morales	3,2	3
545.	<i>Reimeria sinuata</i> (Gregory) Kociolek & Stoermer	2	1
546.	<i>Rhoicosphenia abbreviata</i> (C.Agardh) Lange-Bertalot	2,7	2
547.	<i>Rhopalodia gibba</i> (Ehrenberg) O.Müller var. <i>gibba</i>	1,2	3
548.	<i>Rhopalodia gibba</i> var. <i>parallela</i> (Grunow) H.Peragallo & M.Peragallo	1,2	3
549.	<i>Rhopalodia gibberula</i> (Ehrenberg) O.Müller	1,2	3
550.	<i>Rhopalodia</i> sp.	1,6	2
551.	<i>Rossithidium pusillum</i> (Grunow) Round & Bukhtiyarova	1,4	5
552.	<i>Sellaphora americana</i> (Ehrenberg) D.G.Mann	2,4	2
553.	<i>Sellaphora bacilloides</i> (Grunow) Andresen, Stoermer & Kreis	3,6	1
554.	<i>Sellaphora bacillum</i> (Ehrenberg) D.G.Mann	3,6	1
555.	<i>Sellaphora minima</i> (Grunow) Mann	2,6	1
556.	<i>Sellaphora pupula</i> (Kützing) Mereschkowsky	2,6	1
557.	<i>Sellaphora pupula</i> var. <i>subcapitata</i> (Hustedt) Coste & Doung	2,6	1
558.	<i>Sellaphora seminulum</i> (Grunow) D.G.Mann	3,6	1
559.	<i>Sellaphora</i> sp.	2,6	1
560.	<i>Sellaphora stroemii</i> (Hustedt) Mann	2,6	1
561.	<i>Simonsenia delognei</i> (Grunow) Lange-Bertalot		

Redni broj	VRSTA	TID <sub>HR</sub>	
		indikatorska vrijednost	indikatorska težina
562.	<i>Stauroneis anceps</i> Ehrenberg	1,6	1
563.	<i>Stauroneis gracilis</i> Ehrenberg	1,6	1
564.	<i>Stauroneis phoenicenteron</i> (Nitzsch) Ehrenberg	1,6	1
565.	<i>Stauroneis smithii</i> Grunow	2,5	3
566.	<i>Stauroneis</i> sp.	1,6	1
567.	<i>Staurosira berolinensis</i> (Lemmerman) Lange-Bertalot	2	1
568.	<i>Staurosira construens</i> var. <i>pumila</i> (Grunow ) J.C.Kingston	2,4	2
569.	<i>Staurosira martyi</i> (Heribaud) Lange-Bertalot	2	1
570.	<i>Staurosira mutabilis</i> (W.Smith) Grunow	2	1
571.	<i>Staurosira pinnata</i> Ehrenberg	2	1
572.	<i>Staurosira</i> sp.	2	1
573.	<i>Staurosira venter</i> (Ehrenberg) Cleve & Moeller	2,4	2
574.	<i>Staurosirella leptostauron</i> (Ehrenberg) D.M.Williams & Round	4	1
575.	<i>Staurosirella pinnata</i> (Ehrenberg) D.M.Williams & Round	4	1
576.	<i>Stephanodiscus astraea</i> (Ehrenberg) Grunow		
577.	<i>Stephanodiscus dubius</i> Hustedt	2,5	2
578.	<i>Stephanodiscus hantzschii</i> Grunow	3	3
579.	<i>Stephanodiscus</i> sp.	2	1
580.	<i>Surirella amphioxys</i> Smith	3	1
581.	<i>Surirella angusta</i> Kütz.	2,8	1
582.	<i>Surirella bifrons</i> Ehrenberg	2,8	1
583.	<i>Surirella brebissonii</i> Krammer & Lange-Bertalot		
584.	<i>Surirella brebissonii</i> Krammer & Lange-Bertalot var. <i>brebissonii</i>	2,8	1
585.	<i>Surirella brebissonii</i> var. <i>kuetzingii</i> Krammer & Lange-Bertalot	3	1
586.	<i>Surirella elegans</i> Ehrenberg	3	1
587.	<i>Surirella helvetica</i> Brun	2,8	1
588.	<i>Surirella linearis</i> W.Smith	2,8	1
589.	<i>Surirella minuta</i> Brébisson	3	1
590.	<i>Surirella ovalis</i> Brébisson	2,8	1
591.	<i>Surirella</i> sp.	2,8	1
592.	<i>Surirella spiralis</i> Kützing	3	1
593.	<i>Surirella splendida</i> (Ehrenberg) Kützing	2,8	1
594.	<i>Surirella suecica</i> Grunow	2,8	1
595.	<i>Surirella tenera</i> Gregory	2,8	1
596.	<i>Surirella turgida</i> W.Smith	2,8	1

Redni broj	VRSTA	TID <sub>HR</sub>	
		indikatorska vrijednost	indikatorska težina
597.	<i>Surirella visurgis</i> Hustedt		
598.	<i>Synedra amphyccephala</i> (Kützing) Lange-Bertalot	4	1
599.	<i>Synedra nana</i> F.Meister		
600.	<i>Synedra</i> sp.	1,6	1
601.	<i>Synedra ulna</i> var. <i>claviceps</i> Hustedt		
602.	<i>Tabellaria fenestrata</i> (Lyngbye) Kützing	2	3
603.	<i>Tabellaria flocculosa</i> (Roth) Kützing	2	3
604.	<i>Tabularia fasciculata</i> (C.Agardh) D.M.Williams & Round	5	2
605.	<i>Tetracyclus rupestris</i> (Braun) Grunow	1	1
606.	<i>Thalassiosira</i> sp.	2,1	2
607.	<i>Tryblionella apiculata</i> Gregory	2	1
608.	<i>Tryblionella gracilis</i> W.Smith	2	1
609.	<i>Tryblionella levidensis</i> W.Smith	2	1
610.	<i>Ulnaria biceps</i> (Kützing) Compère	3	1
611.	<i>Ulnaria capitata</i> (Ehrenberg) Compère	4	1
612.	<i>Ulnaria ulna</i> (Nitzsch) Compère	2,1	2
613.	<i>Ulnaria ulna</i> (Nitzsch) Compère var. <i>acus</i> (Kützing) Lange-Bertalot	2,1	2
614.	<i>Ulnaria ulna</i> var. <i>danica</i> (Kützing) M.A.Harper	3	1
615.	<i>Urosolenia eriensis</i> (H.L.Smith) Round & R.M.Crawford	2	1

DODATAK 3. Referentne i najlošije vrijednosti pokazatelja fitobentosa  $TDI_{HR}$ , specifične za određeni tip tekućice

Redni broj HR tipa	Naziv HR tipa	HR TIP	Indeks	Referentna vrijednost	Najlošija vrijednost	
<b>PANONSKA EKOREGIJA (11. MAĐARSKA NIZINA)</b>						
1.	GORSCHE I PRIGORSKE MALE TEKUĆICE	HR-R_1	$TDI_{HR}$	1.97	4.30	
2.	NIZINSKE MALE TEKUĆICE	NIZINSKE MALE TEKUĆICE S GLINOVITO-PJESKOVITIM PODLOGOM	HR-R_2A	$TDI_{HR}$	2.00	
		NIZINSKE MALE SA ŠLJUNKOVITO-VALUTIČASTOM PODLOGOM	HR-R_2B	$TDI_{HR}$	2.00	
3.	NIZINSKE ALUVIJALNE TEKUĆICE	NIZINSKE MALE ALUVIJALNE TEKUĆICE SA ŠLJUNKOVITO-VALUTIČASTOM PODLOGOM	HR-R_3A	$TDI_{HR}$	1.74	
		NIZINSKE MALE ALUVIJALNE TEKUĆICE S GLINOVITO-PJESKOVITOM PODLOGOM	HR-R_3B	$TDI_{HR}$	1.74	
		NIZINSKE SREDNJE VELIKE ALUVIJALNE TEKUĆICE S GLINOVITO-PJESKOVITOM PODLOGOM	HR-R_3C	$TDI_{RH}$	1.74	
		NIZINSKE VELIKE ALUVIJALNE TEKUĆICE S GLINOVITO-PJESKOVITOM PODLOGOM	HR-R_3D	$TDI_{RH}$	1.74	
4.	NIZINSKE SREDNJE VELIKE I VELIKE TEKUĆICE		HR-R_4A	$TDI_{HR}$	1.74	
	NIZINSKE VELIKE TEKUĆICE U SILIKATNOJ PODLOZI		HR-R_4B	$TDI_{HR}$	1.74	
	NIZINSKE VELIKE TEKUĆICE U SILIKATNOJ PODLOZI ČIE JE IZVORIŠTE LOCIRANO U DINARIDSKOJ EKOREGIJI		HR-R_4C	$TDI_{HR}$	1.74	
5.	NIZINSKE VRLO VELIKE TEKUĆICE	NIZINSKE VRLO VELIKE TEKUĆICE S IZVORIŠTEM LOCIRANIM U DINARIDSKOJ EKOREGIJI	HR-R_5A	$TDI_{HR}$		
		NIZINSKE VRLO VELIKE TEKUĆICE U SILIKATNOJ I VAPNENAČKOJ PODLOZI - DONJI TOK MURE I SREDNJI TOK DRAVE I SAVE	HR-R_5B	$TDI_{HR}$		
		NIZINSKE VRLO VELIKE TEKUĆICE U SILIKATNOJ PODLOZI - DONJI TOK SAVE I DRAVE	HR-R_5C	$TDI_{HR}$		
		NIZINSKE VRLO VELIKE TEKUĆICE U SILIKATNOJ PODLOZI - DUNAV	HR-R_5D	$TDI_{HR}$		
<b>DINARIDSKA EKOREGIJA (5. DINARSKI ZAPADNI BALKAN)</b>						
<b>DINARIDSKA KONTINENTALNA SUBEKOREGIJA</b>						
6.	GORSCHE I PRIGORSKE MALE TEKUĆICE	HR-R_6	$TDI_{HR}$	1.85	4.30	
7.	GORSCHE I PRIGORSKE SREDNJE VELIKE I VELIKE TEKUĆICE	HR-R_7	$TDI_{HR}$	1.85	4.30	
8.	NIZINSKE SREDNJE VELIKE I VELIKE TEKUĆICE	HR-R_8	$TDI_{HR}$	1.85	4.30	
9.	GORSCHE I PRIGORSKE SREDNJE VELIKE TEKUĆICE KRŠKIH POLJA	HR-R_9	$TDI_{HR}$	1.85	4.30	
10.	POVREMENE TEKUĆICE	GORSCHE I PRIGORSKE POVREMENE TEKUĆICE	HR-R_10A i HR-R_10B	$TDI_{HR}$		

Redni broj HR tipa	Naziv HR tipa	HR TIP	Indeks	Referentna vrijednost	Najlošija vrijednost	
<b>DINARIDSKA PRIMORSKA SUBEKOREGIJA</b>						
11.	NIZINSKE I PRIGORSKE MALE TEKUĆICE	HR-R_11A HR-R_11B	TDI <sub>HR</sub>	1.90	4.58	
12.	PRIGORSKE SREDNJE VELIKE I VELIKE TEKUĆICE	HR-R_12	TDI <sub>HR</sub>	1.83	4.58	
13.	NIZINSKE SREDNJE VELIKE I VELIKE TEKUĆICE	HR-R_13A HR-R_13B	TDI <sub>HR</sub>	1.83	4.58	
14.	NIZINSKE TEKUĆICE U VAPNENAČKOJ PODLOZI S PADOM > 5 %o	NIZINSKE MALE TEKUĆICE U VAPNENAČKOJ PODLOZI S PADOM > 5 %o	HR-R_14A	TDI <sub>HR</sub>	1.90	4.58
	NIZINSKE SREDNJE VELIKE TEKUĆICE U VAPNENAČKOJ PODLOZI S PADOM > 5 %o	NIZINSKE SREDNJE VELIKE TEKUĆICE U VAPNENAČKOJ PODLOZI S PADOM > 5 %o	HR-R_14B	TDI <sub>HR</sub>	1.83	4.58
	NIZINSKE VELIKE TEKUĆICE U VAPNENAČKO-SILIKATNOJ PODLOZI S PADOM > 5 %o	NIZINSKE VELIKE TEKUĆICE U VAPNENAČKO-SILIKATNOJ PODLOZI S PADOM > 5 %o	HR-R_14C	TDI <sub>HR</sub>	1.83	4.58
15.	MALE I SREDNJE VELIKE TEKUĆICE KRŠKIH POLJA	NIZINSKE MALE I SREDNJE VELIKE TEKUĆICE KRŠKIH POLJA	HR-R_15A	TDI <sub>HR</sub>	1.90	4.58
		PRIGORSKE MALE I SREDNJE VELIKE TEKUĆICE KRŠKIH POLJA	HR-R_15B	TDI <sub>HR</sub>	1.83	4.58
16.	POVREMENE TEKUĆICE	PRIGORSKE MALE I SREDNJE VELIKE POVREMENE TEKUĆICE	HR-R_16A HR-R_16B	TDI <sub>HR</sub>	2.45	4.58
<b>DINARIDSKA PRIMORSKA SUBEKOREGIJA - ISTRA</b>						
17.	NIZINSKE I PRIGORSKE MALE	HR-R_17	TDI <sub>HR</sub>	1.90	4.58	
18.	NIZINSKE SREDNJE VELIKE	HR-R_18	TDI <sub>HR</sub>	1.83	4.58	
19.	POVREMENE MALE NIZINSKE	HR-R_19	TDI <sub>HR</sub>	2.45	4.58	

### 7.3. Biološki element: Makrofita

#### Uvod

Podaci o makrofitskoj vegetaciji rijeka Hrvatske prikupljaju se od 2009. godine. Nakon što su isprobane različite metode i metrike temeljene na makrofitima, referentni indeks (RI) razvijen za određivanje ekološkog stanja njemačkih srednje velikih nizinskih rijeka, odabran je uz manje modifikacije za određivanje ekološkog stanja rijeka u Hrvatskoj.

Na temelju dosadašnjih iskustava u ocjeni ekološke kakvoće, usporedbe s drugim sustavima ocjenjivanja iz Istočnokontinentalnog i Mediteranskog geografskog područja i provedenog post-interkalibracijskog postupka usklađenja, predlažemo da se nadalje koristi samo referentni indeks (RI), te da se odustane od daljnje upotrebe biocenološke metode opisane u Metodologiji (Hrvatske vode, 2015) koja se pokazala teška za praktičnu upotrebu većini koja nije usko profesionalno specijalizirana za makrofitske zajednice. Nadalje, sve zemlje iz navedenih geografskih područja imaju samo po jednu metodu za ocjenu ekološkog stanja na temelju makrofita, pa se time usklađujemo s praksom iz drugih zemalja.

#### **UZORKOVANJE**

##### ***Vrijeme uzorkovanja***

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.

##### ***Odabir i veličina mesta uzorkovanja***

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 potrebna za uzorkovanje***

- 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, vodootporni flomaster, uljni marker otporan na etilni alkohol,
- polarizacijske naočale,
- fotoaparat s polarizacijkom lećom,
- podvodni fotoaparat,
- 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 riječama,
- konzervans (50%-ni etilni alkohol i glicerin 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 orientacijske podatke, primjerice granice njiva, drveće, zidovi, mostovi, ceste, mlinovi i ostale građevine, itd
- GPS uređaj se drži konstantno upaljen kako bi zapamtil trasu kretanja i na njemu se upamte točke početka i kraja odsječka
- U terenski protokol 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 9.14.

### ***Taksonomske i ekološke skupine koje se uzorkuju***

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 9.13.).

Vrste makrofita koje je teže determinirati (mahovine, žabnjaci (*Ranunculus spp.*), uskolisni mrijesnjaci (*Potamogeton spp.*), žabovlatke (*Calitrichaceae spp.*) i parožine (*Charophyceae*)) potrebno je pohraniti za kasnije određivanje u laboratoriju.

**NAPOMENA:** Uzorkovanje i laboratorijska analiza uzoraka mora biti u skladu sa Savjetodavnim normom za ispitivanje akvatičkih makrofita u tekućicama HRN EN 14184:2014.

### ***Procjena pokrovnosti na terenu***

Za procjenu pokrovnosti vodenih makrofita koristi se peterostupanska skala po Kohler-u (Tablica 9.13.).

**Tablica 9.13.** Skala po Kohler-u (1978.) za procjenu brojnosti vodenih makrofita

Ocjena brojnosti taksona	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%

## LABORATORIJSKA OBRADA UZORAKA

### ***Oprema za laboratorijski rad***

Za laboratorijsku obradu makrofita potrebna je sljedeća laboratorijska oprema:

- stereo lupa sa stereozoom povećanjem do 40x ili više
- binokularni mikroskop s:
  - okularima povećanja 10x od kojih jedan ima okularni mikrometar,
  - objektivima 10x, 20x, 40x ili 60x i 100x,
  - digitalnom kamerom povezanim s računalom i
- mehaničkim postoljem;
- staklene kapalice, staklene čaše, Petrijeve zdjelice, boce štrcalice,
- predmetna i pokrovna stakalca,
- omoti za eksikate mahovina,
- papiri za prešanje biljaka i odgovarajuća preša,
- fine pincete, histološke iglice, žileti za sekciju biljnih dijelova,
- 5%-tina klorovodična ili octena kiselina,
- laboratorijski protokol i
- determinacijski ključevi.

### ***Determinacija makrofita***

Laboratorijska obrada makrofita uključuje samo determinaciju vrsta koje nije bilo moguće odrediti na terenu (mahovine, parožine i slično). Makrofiti se determiniraju do razine vrste. Ako je razvojna faza bez potrebnih taksonomske obilježja i determinacija do vrste nije moguća, odredi se do razine roda.

Makrofiti se determiniraju uz pomoć determinacijskih ključeva, stereo luke i mikroskopa pri čemu se opažaju dijelovi biljke potrebni za determinaciju. Često su dijelovi ili cijele biljke, koje potječu iz staništa s karbonatnom podlogom, kalcificirane. U tom slučaju se dijelovi ili cijele biljke uranjaju u 5%-tnu klorovodičnu ili octenu kiselinu kako bi se skinuo anorganski karbonatni pokrov i vidjeli strukture potrebne za determinaciju. Ovo se najčešće radi s mahovinama i parožinama krških rijeka i jezera.

### ***Pohrana biljnog materijala***

Više biljke se uglavnom pohranjuju u herbar, osim nekih nježnih i sitnijih koje je radi lakšeg određivanja dobro pohraniti i u konzervans (npr. uskolisne vrste roda *Potamogeton*, vrste roda *Callitriches*). Mahovine je najbolje osušiti na zraku bez prešanja i spremiti u papirne omote (kuverte), dok je parožine preporučljivo pohraniti u konzervans jer se kod herbariziranja mogu izgubiti neka determinacijska svojstva.

Svaki uzorak treba posebno etiketirati, držati na hladnom mjestu i u najkraćem roku pregledati. U plastične vrećice ili posude u koje se pohranjuju makrofiti treba dodati toliko vode (konzervansa) koliko je potrebno da su biljke prekrivene. Na posudi treba uljnim vodootpornim flomasterom označiti:

- naziv tekućice,
- redni broj odsječka i točka uzorkovanja i
- datum uzorkovanja.

### **Računalna obrada podataka**

Uzorkovanje makrofita se obavlja na uzdužnim odsječcima. Za prikaz rezultata je vrlo često, osim klasičnog izračunavanja indeksa za ocjenu ekološkog stanja, potrebno rasprostranjenost pojedinih vrsta prikazati i na kartama, za što se koriste računalni GIS alati (npr. ArcMap računalni program).

**NAPOMENA:** Nacionalna i europska legislativa štiti rijetke i ugrožene vrste vodenih makrofita. Osoba koja uzorkuje mora biti upoznata s tim propisima odnosno statusom zaštite pojedine vrste!

## IZRAČUNAVANJE INDEKSA/POKAZATELJA ZA OCJENU EKOLOŠKOG STANJA

### **Pokazatelj/indeks za ocjenu ekološkog stanja na temelju makrofita**

Za ocjenu ekološkog stanja na temelju biološkog elementa makrofita potrebno je odrediti modul opće degradacije na temelju Referentnog indeksa (RI-M<sub>HR</sub>).

**Tablica 9.14.** Pokazatelj/indeks i modul za ocjenu ekološkog stanja na temelju makrofita

Biološki element kakvoće	Pokazatelj/indeks	Opterećenje na koje ukazuje pojedini biološki indeks	Modul
Makrofita	Stupanj degradacije određen Referentnim indeksom (RI-M <sub>HR</sub> )	Opća degradacija i eurofikacija	Opća degradacija

### **Uvrštanje mjerne postaje uzorkovanja u tip tekućice**

Za ocjenjivanje ekološkog stanja svaku postaju (odsječak) je potrebno uvrstiti u odgovarajući tip tekućice.

### **Referentne zajednice makrofita**

Stanje zajednice određuje se na temelju njenog sastava, odnosno prisustva karakterističnih vrsta za tu zajednicu, ukupnog broja vrsta i morfoloških tipova te prisustva tzv. „pokazatelja poremećaja“ ili „pokazatelja dobrog stanja“. Pokazatelji poremećaja kompleksna su grupa koja se može raščlaniti na pokazatelje eutrofikacije, pokazatelje potamalizacije (tj. pokazatelje usporenja toka) i pokazatelje ritralizacije (tj. pokazatelje ubrzanja toka).

### **1) Zajednica *Berula-Nasturtium* tip (BN)**

Ovaj tip zajednica svojstven je za manje i srednje velike krške tekućice mediteranskih i kontinentalnih dijelova Dinaridske te Panonske ekoregije.

Vrste koje čine zajednice ovog tipa, *Berula erecta*, *Nasturtium officinale* s.l. i *Agrostis stolonifera* (*A. alba*) su primarno helofiti, ali stvaraju i submerzne forme, gotovo redovno u vegetativnoj fazi. Ovaj tip je pokazatelj vrlo dobrog stanja ukoliko izostaju vrste koje ukazuju na poremećaj ili su prisutne samo pojedinačno (npr. *Ceratophyllum demersum*, uskolisne vrste roda *Potamogeton*, *Elodea* sp., dugonitaste vrste roda *Cladophora*).

Dobro ekološko stanje indicira mali udio vrsta indikatora poremećaja, dok njihova kodominacija pokazuje umjereno ekološko stanje.

#### **1.1. *Berula – Agrostis* zajednica**

Zajednica svojstvena za plitke, relativno spore vode u kršu, a posebice je značajna za sedrene slapove krških voda. Sa značajnim udjelom su prisutne i kalcifilne mahovine (npr. *Palustriella commutata*, *Cyclodotus aquaticus*, *Pellia endiviaefolia*, *Fissidens crassipes*, *Eucladium verticillatum* i dr.), parožine (*Characeae*), a za ljetnih mjeseci kad je vodostaj niži razvija se i veći broj helofita (npr. *Mentha aquatica*, *Lythrum salicaria*, *Myosotis scorpioides*, *Phragmites australis* i niz drugih).

#### **1.2. *Berula – Nasturtium* zajednica**

Ova zajednica svojstvena je za svježe, relativno brze i izvorišne dijelove vodotoka u kršu. U njezinom sastavu zbog brzine toka redovno izostaju ostali helofiti, a *Nasturtium officinale* se razvija poput velikih jastuka. Od ostalih vrsta između ostalog tu može doći *Hippuris vulgaris*, submerzni oblik vrste *Juncus articulatus* (također poput jastuka), *Jungermannia atrovirens* i *Fontinalis antipyretica*.

### **2) Zajednica *Platyhypnidium riparioides* – *Fontinalis antipyretica* tip (PF)**

Ovaj tip zajednica svojstven je za izvorišta, male i srednje velike gorske i prigorske brze rijeke na krškoj podlozi.

#### **2.1. Vrstama bogata *Platyhypnidium riparioides* – *Fontinalis antipyretica* zajednica**

Zajednica svojstvena za izvorišta, gorske i prigorske vodotoke s manje više stabilnim vodostajem, odnosno vodotoke koji ne presušuju.

Ove vrste mahovina imaju široku ekološku amplitudu, no težište njihove rasprostranjenosti ovisi o hranjivim tvarima siromašnim vodama te se može smatrati referentnom zajednicom brzih vodotoka. Uz *Platyhypnidium riparioides* i *Fontinalis antipyretica*, zajednicu čine i druge vrste mahovina kao npr. *Cinclidotus aquaticus*, *C. fontinaloides*, *C. danubicus*, *Cratoneuron filicinum*, *Palustriella commutata*, *Hygrohypnum luridum*, *Leptodictium riparium* i dr. U brdskim, brzim vodotocima na vrlo dobro stanje ukazuje izostanak pokazatelja poremećaja ili njihovo vrlo rijetko, pojedinačno pojavljivanje.

Kod dobrog stanja pokazatelji poremećaja javljaju se umjereni, dok njihova kodominacija upućuje na umjereni stanje.

Pojavljivanje ove zajednice u nizinskim rijekama ukazuje na promijenjenu hidromorfologiju, odnosno na umjetno povećanu brzinu rijeke te ukoliko se razvijaju čiste sastojine ove zajednice bez predstavnika drugih morfoloških tipova indiciraju loše stanje vodotoka. Dakle, u ovom slučaju ova zajednica ne indicira povećanu količinu hranjivih tvari, nego povećanu brzinu toka.

## **2.2. Vrstama siromašna *Platyhypnidium ripariooides* – *Fontinalis antipyretica* zajednica**

Zajednica svojstvena za manje vodotoke sa znatnim kolebanjem vodostaja, odn. za vodotoke koji ljeti presušuju. To su prije svega male tekućice u dinaridskom području prvenstveno u submediteranu.

U uvjetima ekstremnih kolebanja u količini vode zajednicu mahovina najčešće čine samo *Fontinalis antipyretica* i *Platyhypnidium ripariooides*. Druge vrste pojavljuju se sporadično i pojedinačno. Takve siromašne zajednice u ovom slučaju nisu dakle posljedica negativnog antropogenog utjecaja, nego prirodne hidrologije.

Narušenu kvalitetu vode indiciraju iste promjene kao i u vrstama bogatoj zajednici. Pojavljivanje močvarnih vrsta (helofita) koje nisu nužno vezane uz hranjivim tvarima bogate vode ukazuje na promijenjenu hidrologiju, tj. umjetno usporavanje vodenog toka i posljedično zamočvarivanje.

### **3) Zajednica *Sparganium emersum* (zajednica u kojoj dominiraju nimfeide odnosno valisneride) (Sp)**

Ova zajednica svojstvena je za nizinske male i srednje velike tekućice Dinaridske i Panonske ekoregije na različitim supstratima.

Dominiraju vrste *Nuphar lutea*, *Potamogeton natans*, *Potamogeton lucens*, *Potamogeton perfoliatus*, *Sparganium emersum*, *Sagittaria sagittifolia*, *Nymphaea alba* te vrstama oligotrofnih slabo eutrofnih voda: *Callitricha hamulata*, Characeae (*Chara* spp., *Nitella* spp., *Nitellopsis obtusa* i *Tolypela* sp.), *Lemna trisulca*, *Potamogeton lucens*, *P. perfoliatus*, *P. gramineus*, *Riccia fluitans*, *Utricularia* spp., *Hippuris vulgaris*, *Juncus bulbosus*.

Vrlo dobro stanje indicirat će dominacija vrsta *Sparganium emersum* zajednice, visok udio pokazatelja dobrog stanja i još nekoliko drugih morfoloških tipova. Kod dobrog stanja smanjit će se opća bioraznolikost u smislu da će broj drugih morfoloških tipova biti sveden na dva tipa. Kod umjerenog stanja pojavljivat će se samo jedan dodatni morfološki tip. Za prve tri klase svojstven je visok udio pokazatelja dobrog stanja, a broju dodatnih morfoloških tipova ne pridonose pokazatelji poremećaja.

Kod nezadovoljavajućeg stanja dodatni morfološki oblici mogu u potpunosti izostati, a vrste karakteristične za zajednicu grade monodominantne sastojine s ukupnom pokrovnošću većom od 25%. Loše stanje karakteriziraju monodominantne sastojine neke od vrsta ove zajednice s pokrovnošću manjom od 25%.

Degradacijom ove zajednice mogu nastati i drugi tipovi zajednica koji se ni u kojem tipu vodotoka ne mogu smatrati referentnim. *Potamogeton pectinatus* zajednica (koju mogu činiti i drugi uskolisti mrijesnjaci) pokazatelj je eutrofikacije. *Elodea-Ceratophyllum* zajednica također je pokazatelj eutrofikacije, ali i usporenog vodenog toka. *Lemna* tip zajednice svojstvene su za stajaćice, a u tekućicama indiciraju jako promijenjene hidrološke prilike. Kod jako usporenog vodenog toka zajednice ovog tipa mogu nadomjestiti *Sparganium emersum* zajednicu. Helofitne zajednice čine močvarne vrste i one su pokazatelj tzv. zamočvarivanja rijeka.

Pojavljivanje ove zajednice u brdskim tekućicama pokazatelj je promijenjenih hidroloških prilika, tj. umjetnog usporavanja vodenog toka.

#### ***Referentni indeks (RI-M<sub>RH</sub>)***

Referentni indeks služi za određivanje stupnja opće degradacije vodotoka. Indeks uključuje tri indikatorske grupe makrofita i njihove abundancije. Indikatorsku grupu A čine vrste referentne zajednice i one koje ukazuju na dobro stanje vodotoka, grupu B čine vrste širih ekoloških amplituda koje se mogu javljati u različitim zajednicama i konačno grupu C čine vrste koje se redovno ne javljaju u referentnim zajednicama te ukazuju na neki poremećaj, najčešće eutrofikaciju ili hidromorfološki poremećaj.

## IZRAČUNAVANJE REFERENTNOG INDEKSA I OMJERA EKOLOŠKE KAKVOĆE

Za izračun referentnog indeksa (Schaumburg i sur., 2006.) potreban je popis makrofita s procijenjenim brojnostima izraženima peterostupanjskom skalom po Kohleru (Tablica 9.13.).

- Prije računanja referentnog indeksa, brojnosti (A) valja pretvoriti u količine (Q) prema formuli:

$$Q = A^3$$

- Sve submerzne vrste razvrstati u tri kategorije:
  - kategoriju A čine vrste referentne zajednice i one koje ukazuju na dobro stanje vodotoka,
  - kategoriju B čine vrste širih ekoloških amplituda koje se mogu javljati u različitim zajednicama i pri različitim uvjetima, no načelno ne ukazuju na neki poremećaj i
  - kategoriju C čine vrste koje se redovno ne javljaju u referentnim zajednicama te ukazuju na neki poremećaj, najčešće eutrofikaciju ili usporenje vodotoka.

Kategorije A, B i C ovise o zajednici u kojoj se biljka javlja i navedene su u Tablici 3.3.3.-3. Sustav biljnih zajednica korišten pri izračunu referentnog indeksa jednak je onom korištenom u biocenološkom sustavu. Opisi svih zajednica i kratice iz Tablice 3.3.3.-3. nalaze se u Poglavlju 3.3.3.3.

Referentni indeks (RI) računa se prema sljedećoj formuli:

$$RI = \frac{\Sigma Q_{Ai} - \Sigma Q_{Ci}}{\Sigma Q_{gi}} \cdot 100$$

gdje su:

$Q_{Ai}$  – količina i-te vrste iz grupe A

$Q_{Ci}$  – količina i-te vrste iz grupe C

$Q_{gi}$  – količina i-te vrste iz svih grupa (A+B+C)

Dobiveni referentni indeks (RI) se zatim korigira za:

- 30, ako u zajednici Berula-Nasturtium (BN) dominiraju helofiti,
- 50, ako u zajednici Berula-Nasturtium (BN) dominiraju helofiti, a ima manje od 3 submerzne vrste te
- 60, ako u zajednici Sparganium emersum (Sp) ima manje od 3 submerzne vrste

Nakon toga referentni indeks preračuna se u skalu od 0 do 1 prema formuli za izračunavanje omjera ekološke kakvoće:

$$(OEK) = \frac{(RI + 100) \cdot 0,5}{100}$$

Dobivena vrijednost M usporedi se s graničnim vrijednostima omjera ekološke kakvoće u Tablici 9.15 te se odredi kategorija vode.

**NAPOMENA:** Ukoliko je dobivena vrijednost M manja od 0 ( $M < 0$ ), tada se kao vrijednost pokazatelja za daljnji izračun koristi vrijednost 0.

**Tablica 9.14.** Indikatorske vrijednosti makrofita prema referentnim zajednicama.

	<b>PF</b>	<b>BN</b>	<b>Sp</b>
<i>Acorus calamus</i>	C	C	B
<i>Agrostis stolonifera</i>	B	B	B
<i>Alisma lanceolatum</i>	C	B	B
<i>Alysma plantago-aquatica</i>	C	B	B
<i>Amblystegium serpens</i>	B	B	B
<i>Amblystegium varium</i>	B	B	B
<i>Apium repens</i>	A	A	B
<i>Azolla filiculoides</i>	C	C	C
<i>Batrachospermum spp.</i>	A	A	A
<i>Berula erecta</i>	B	A	A
<i>Bolboschoenus maritimus</i>	C	C	B
<i>Brachythecium rivulare</i>	A	A	A
<i>Bryum pseudotriquetrum</i>	A	A	A
<i>Butomus umbellatus</i>	C	C	B
<i>Caliergonella cuspidata</i>	B	B	B
<i>Callitrichе cophocarpa</i>	B	B	B
<i>Callitrichе hamulata</i>	A	A	A
<i>Callitrichе obtusangula</i>	B	B	B
<i>Callitrichе palustris</i>	B	B	B
<i>Callitrichе platycarpa</i>	B	B	B
<i>Caltha palustris</i>	B	B	B
<i>Cardamine amara</i>	B	B	B
<i>Carex acuta</i>	B	B	B
<i>Carex acutiformis</i>	B	B	B
<i>Carex elata</i>	B	B	B
<i>Ceratophyllum demersum</i>	C	C	C
<i>Ceratophyllum submersum</i>	C	C	C
<i>Chara aspera</i>	A	A	A
<i>Chara contraria</i>	A	A	A
<i>Chara globularis</i>	A	A	A
<i>Chara hispida</i>	A	A	A
<i>Chara intermedia</i>	A	A	A
<i>Chara tomentosa</i>	A	A	A
<i>Chara vulgaris</i>	A	A	A
<i>Cinclidotus riparius</i>	A	A	A
<i>Cinclodotus aquaticus</i>	A	A	B
<i>Cinclodotus danubicus</i>	A	A	A
<i>Cinclodotus fontinaloides</i>	A	A	A
<i>Cladophora sp.</i>	C	C	C
<i>Conocephalum conicum</i>	B	B	B

**Tablica 9.14.** (nastavak)

	<b>PF</b>	<b>BN</b>	<b>Sp</b>
<i>Conocephalum salebrosum</i>	B	B	B
<i>Cratoneuron filicinum</i>	A	A	A
<i>Cyperus longus</i>	B	B	B
<i>Didymodon tophaceus</i>	A	A	A
<i>Drepanocladus aduncus</i>	B	B	A
<i>Egeria densa</i>	C	C	C
<i>Eleocharis palustris</i>	C	C	B
<i>Elodea canadensis</i>	C	C	C
<i>Elodea nutallii</i>	C	C	C
<i>Equisetum arvense</i>	C	C	B
<i>Equisetum palustre</i>	C	C	B
<i>Eurhynchium praelongum</i>	B	B	A
<i>Fontinalis antipyretica</i>	B	B	A
<i>Fissidens crassipes</i>	B	A	A
<i>Fissidens rufulus</i>	A	A	A
<i>Galium palustre</i>	B	B	B
<i>Glyceria fluitans</i>	B	B	B
<i>Glyceria maxima</i>	C	C	B
<i>Hippuris vulgaris</i>	B	A	A
<i>Holoschoenus vulgaris</i>	C	B	B
<i>Hottonia palustris</i>	C	B	A
<i>Hydrocharis morsus-ranae</i>	C	C	B
<i>Hygroamblystegium tenax</i>	B	B	A
<i>Hygrohypnum luridum</i>	A	A	A
<i>Hymenostylium recurvirostrum</i>	A	A	A
<i>Iris pseudacorus</i>	C	C	B
<i>Juncus articulatus</i>	C	C	A
<i>Juncus bulbosus</i>	B	A	A
<i>Juncus compressus</i>	B	B	B
<i>Juncus inflexus</i>	B	B	B
<i>Jungermannia atrovirens</i>	A	A	A
<i>Lemanea sp.</i>	A	A	A
<i>Lemna gibba</i>	C	C	C
<i>Lemna minor</i>	C	C	B
<i>Lemna trisulca</i>	C	B	A
<i>Leptodyctium riparium</i>	C	C	C
<i>Lophocolea bidentata</i>	B	B	B
<i>Lunularia cruciata</i>	B	B	B

**Tablica 9.14.** (nastavak)

	<b>PF</b>	<b>BN</b>	<b>Sp</b>	<b>My</b>	<b>Po</b>	<b>Ca</b>
<i>Lycopus europaeus</i>	C	C	B	C	B	B
<i>Lysimachia nummularia</i>	C	C	B	C	B	B
<i>Lysimachia vulgaris</i>	C	C	B	C	B	B
<i>Lythrum salicaria</i>	C	C	B	C	B	B
<i>Marchantia polymorpha</i>	B	B	B	B	B	B
<i>Marsilea quadrifolia</i>	B	B	A	B	B	A
<i>Mentha aquatica</i>	B	B	B	B	B	B
<i>Myosotis scorpioides</i>	B	B	B	B	B	B
<i>Myriophyllum spicatum</i>	B	B	B	A	B	B
<i>Myriophyllum verticillatum</i>	C	B	B	A	B	B
<i>Najas marina</i>	C	C	B	B	B	B
<i>Najas minor</i>	C	C	B	B	B	B
<i>Nasturtium officinale</i>	B	B	B	B	B	A
<i>Nitella spp.</i>	A	A	A	A	A	A
<i>Nitellopsis obtusa</i>	A	A	A	A	A	A
<i>Nuphar lutea</i>	C	C	B	C	B	B
<i>Nymphaea alba</i>	C	C	B	B	B	B
<i>Nymphoides peltata</i>	C	C	B	C	C	B
<i>Oenanthe aquatica</i>	C	C	B	B	B	B
<i>Oenanthe cf. fistulosa</i>	B	B	B	B	B	B
<i>Palustriella commutata</i>	A	A	A	A	A	B
<i>Pellia endiviaefolia</i>	A	A	A	A	A	B
<i>Phalaris arundinacea</i>	C	B	B	B	B	B
<i>Phragmites australis</i>	C	B	B	C	B	C
<i>Platiomnium undulatum</i>	B	B	B	B	B	B
<i>Platyhypnidium riparioides</i>	B	B	B	B	B	A
<i>Pohlia ludwigii</i>	B	B	B	B	B	B
<i>Polygonum amphibium</i>	C	B	B	B	B	B
<i>Polygonum lapathifolium</i>	C	C	B	C	C	B
<i>Potamogeton berchtoldii</i>	C	C	C	C	C	C
<i>Potamogeton crispus</i>	C	C	C	C	C	C
<i>Potamogeton gramineus</i>	C	B	A	A	A	A
<i>Potamogeton lucens</i>	B	B	A	A	A	B
<i>Potamogeton natans</i>	C	B	B	B	B	B
<i>Potamogeton nodosus</i>	C	C	A	B	B	B
<i>Potamogeton pectinatus</i>	C	C	C	C	C	C
<i>Potamogeton perfoliatus</i>	B	A	A	A	A	A
<i>Potamogeton pusillus</i>	C	C	C	C	C	C
<i>Potamogeton trichoides</i>	C	C	C	C	C	C
<i>Pulicaria dysenterica</i>	C	C	C	C	C	C

**Tablica 9.14.** (nastavak)

	<b>PF</b>	<b>BN</b>	<b>Sp</b>	<b>My</b>	<b>Po</b>	<b>Ca</b>
<i>Ranunculus aquatilis</i>	B	B	B	A	B	B
<i>Ranunculus circinatus</i>	B	B	B	A	B	B
<i>Ranunculus flammula</i>	B	A	A	A	A	A
<i>Ranunculus fluitans</i>	B	A	B	A	B	B
<i>Ranunculus peltatus</i>	B	A	B	A	B	B
<i>Ranunculus repens</i>	C	C	B	C	B	B
<i>Ranunculus sceleratus</i>	C	A	B	C	B	B
<i>Ranunculus trichophyllus</i>	B	A	B	A	B	A
<i>Riccia fluitans</i>	B	A	A	B	A	A
<i>Ricciocarpus natans</i>	C	B	B	C	B	B
<i>Rorippa amphibia</i>	C	B	B	B	B	B
<i>Rorippa sylvestris</i>	C	C	B	B	B	B
<i>Rumex hydrolapathum</i>	C	C	B	C	B	C
<i>Sagittaria sagittifolia</i>	C	C	B	B	C	B
<i>Salvinia natans</i>	C	C	B	C	C	B
<i>Scirpus lacustris</i>	C	B	B	B	B	B
<i>Sparganium emersum</i>	C	B	B	B	B	B
<i>Sparganium erectum</i>	C	B	B	B	B	B
<i>Spirodella polyrhiza</i>	C	B	B	C	B	B
<i>Spirogyra sp.</i>	C	C	C	C	C	C
<i>Thamnobryum alopecurum</i>	A	A	A	A	A	A
<i>Tolypela spp.</i>	A	A	A	A	A	A
<i>Trapa natans</i>	C	C	B	C	C	B
<i>Typha angustifolia</i>	C	B	B	C	C	B
<i>Typha latifolia</i>	C	B	B	B	B	B
<i>Ulva sp.</i>	C	C	C	C	C	C
<i>Urtica dioica</i>	C	C	C	C	C	C
<i>Utricularia australis</i>	C	C	A	C	B	B
<i>Utricularia vulgaris</i>	C	C	A	C	B	B
<i>Veronica anagallis-aquatica</i>	B	B	B	B	B	B
<i>Veronica anagalloides</i>	B	B	B	B	B	B
<i>Veronica beccabunga</i>	B	B	A	B	B	A
<i>Veronica catenata</i>	B	B	B	B	B	B
<i>Wolfia arrhiza</i>	C	C	B	C	C	B
<i>Zannichellia palustris</i>	C	C	C	C	C	C

**NAPOMENA:** popis vrsta u Tablici 9.14. je napravljen na temelju postojećih podataka i spoznaja, a nadopunjavat će se tijekom vremena u skladu s novim spoznajama.

U Tablici 9.15. nalaze se granične vrijednosti indeksa M izražene kao omjer ekološke kakvoće.

**Tablica 9.15.** Granične vrijednosti indeksa M za pojedine kategorije ekološkog stanja prema tipskim zajednicama makrofita

Kategorija	Zajednica	Raspon OEK	Harmonizirani raspon OEK	Transformacijske jednadžbe	Tumačenje
Vrlo dobro	PF	>0,70	>0,8	$0,8+0,2*(OEK-0,7)/0,3$	Granica VD/D predstavlja četvrtinu (0,25) ispod vrijednosti medijana pri kojoj su vrste grupe A (referentne vrste) u jasnoj dominaciji, a vrste grupe C potpuno odsutne.
	BN	>0,65	>0,8	$0,8+0,2*(OEK-0,65)/0,35$	
	Sp, My, Po, Ca	>0,79	>0,8	$0,8+0,2*(OEK-0,79)/0,21$	
Dobro	PF	0,47-0,69	0,6-0,79	$0,6+0,2*(OEK-0,47)/0,23$	Granica D/U je točka u kojoj vrste grupe B (indiferentne vrste) postaju dominantne, a vrste grupe A još uvijek dominiraju nad vrstama grupe C.
	BN	0,46-0,64	0,6-0,79	$0,6+0,2*(OEK-0,46)/0,19$	
	Sp, My, Po, Ca	0,55-0,78	0,6-0,79	$0,6+0,2*(OEK-0,55)/0,24$	
Umjereno	PF	0,29-0,46	0,4-0,59	$0,4+0,2*(OEK-0,29)/0,18$	Granica U/L je postavljena kao srednja vrijednost gdje u zajednicama počinju dominirati vrste grupe C (pokazatelji poremećaja), a vrste grupe A nestaju.
	BN	0,24-0,45	0,4-0,59	$0,4+0,2*(OEK-0,24)/0,22$	
	Sp, My, Po, Ca	0,30-0,54	0,4-0,59	$0,4+0,2*(OEK-0,3)/0,25$	
Loše	PF	0-0,28	0,2-0,39	$0,2+0,2*(OEK)/0,29$	Granica L/VL je točka u kojoj se gubi makrofitska vegetacija.
	BN	0-0,23	0,2-0,39	$0,2+0,2*(OEK)/0,24$	
	Sp, My, Po, Ca	0,00-0,29	0,2-0,39	$0,2+0,2*(OEK)/0,29$	
Vrlo loše	PF	-	<0,2		Potpuni nestanak makrofitske vegetacije zbog antropogenog pritiska.
	BN	-	<0,2		
	Sp, My, Po, Ca	-	<0,2		

## 8. Granice klasa za fizikalno-kemijske elemente kakvoće

Radi potpunog usklađivanja ocjene ekološkog stanja, u ovom poglavlju prijedlažemo granične vrijednosti osnovnih fizikalno-kemijskih pokazatelja za ocjenu ekološkog stanja te prijedlog granica klasa (od vrlo dobrog do vrlo lošeg stanja) za MED GIG zajedničke tipove tekućica.

Prijeđemo granice klasa za pokazatelje hranjivih tvari i parametre organskog opterećenja, jer na navedene pokazatelje BEK pokazuju jasan odgovor.

Granice klasa za parametre hranjivih tvari preuzete su iz elaborata "Izrada kriterija za određivanje stupnjeva trofije stajaćica i tekućica" (Miliša i sur. 2020). Kao najrelevantniji biološki pokazatelj uzet je u obzir OEK vezan uz biološki element kakvoće – fitobentos odnosno trofički indeks dijatomeja ( $TDI_{HR}$ ), dok je kao okolišni čimbenik u obzir uzet indeks korištenja zemljista (LUI). Utvrđena je statistički značajna linearna povezanost parametara hranjivih tvari (TP (mgP/l) - koncentracija ukupnog fosfora, TN (mgN/l) - koncentracija ukupnog dušika,  $PO_4^{3-}$  (mgP/l) - koncentracija ortofosfata i  $NO_3^-$  (mgN/l) - koncentracija nitrata) s indeksom korištenja zemljista.

Sukladno gore navedenom elaborate predlažu se slijedeće granične vrijednosti parametara hranjivih tvari za zajedničke interkalibracijske tipove (R-M1, R-M2 i R-M5):

R-M1

Granice kategorija ekološkog stanja	Srednja godišnja TP (mgP/l)	TN (mgN/l)	$PO_4^{3-}$ (mgP/l)	$NO_3^-$ (mgN/l)
1	< 0,01	< 0,6	< 0,01	< 0,34
0,8	0,01-0,1	0,6-1,4	0,01-0,1	> 0,34-0,75
0,6	> 0,1-0,2	> 1,4-2,3	> 0,1-0,2	> 0,75-1,17
0,4	> 0,2-0,3	> 2,3-3,1	> 0,2-0,3	> 1,17-1,6
0,2	> 0,3	> 3,1	> 0,3	> 1,6

R-M2

Granice kategorija ekološkog stanja	Srednja godišnja TP (mgP/l)	TN (mgN/l)	$PO_4^{3-}$ (mgP/l)	$NO_3^-$ (mgN/l)
1	< 0,01	< 0,6	< 0,01	< 0,34
0,8	0,01-0,1	0,6-1,4	0,01-0,1	> 0,34-0,75
0,6	> 0,1-0,2	> 1,4-2,3	> 0,1-0,2	> 0,75-1,17
0,4	> 0,2-0,3	> 2,3-3,1	> 0,2-0,3	> 1,17-1,6
0,2	> 0,3	> 3,1	> 0,3	> 1,6

## R-M5

Granice kategorija ekološkog stanja	Srednja godišnja TP (mgP/l)	TN (mgN/l)	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mgP/l)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mgN/l)
1	< 0,01	< 0,6	< 0,01	<0,34
0.8	0,01-0,1	0,6-1,4	0,01-0,1	>0,34-0,75
0.6	> 0,1-0,2	>1,4-2,3	>0,1-0,2	>0,75-1,17
0.4	> 0,2-0,3	>2,3-3,1	>0,2-0,3	>1,17-1,6
0.2	>0,3	>3,1	>0,3	>1,6

## Pokazatelji organskog onečišćenja

Kao najrelevantniji biološki pokazatelj za pokazatelje organskog opterećenja (KPK i BPK<sub>5</sub>) uzet je u obzir modul saprobnost vezan uz biološki element kakvoće – makrozoobentosa, odnosno hrvatski saprobni indeks (SI<sub>HR</sub>). Određivanje graničnih vrijednosti kategorija ekološkog stanja za pokazatelje organske tvari.

## R-M1

U setu podataka za interkalibracijski tip R-M1, utvrđeno je sedam referentnih postaja:

- Pazinčica Dubravica
- Boljunčica, nizvodno od mjesta Brus
- Potok Rumin (pritok Cetine)
- Krupa, Manastir
- Krupa, u selu Mandići
- Vrba, kod mjesta Vrba
- Vrba, Ojdanići

Ove postaje odgovarale su odrednicama za referentne postaje na temelju Feio i sur. (2011). Referentne vrijednosti za parametre koji ukazuju na organsko opterećenje (BPK<sub>5</sub> i KPK) određene su kao 25-ti percentil vrijednosti referentnih postaja. Vrijednost granice vrlo loše/loše izračunata je kao 95-ti percentil vrijednosti čitavog seta podatka za IC tip M1 koji je uključivao 15 postaja. Ostale granice za ove parametre unutar interkalibracijskog tipa R-M1 izračunate su ekvidistalnom raspodjelom :

Granice kategorija ekološkog stanja	KPK (kemijska potrošnja kisika)	BPK <sub>5</sub> (biološka potrošnja kisika)
1	1.43	0.75
0.8	2.28	1.34
0.6	3.13	1.92
0.4	3.99	2.50
0.2	4.84	3.08

## R-M2

U setu podataka za interkalibracijski tip R-M2, utvrđeno je devet referentnih postaja:

- Una, kod izvorišta Loskun
- Mirna, Portonski most
- Cetina, Vinalić
- Cetina, Barišići
- Zrmanja, Butiga
- Zrmanja, Palanka
- Zrmanja-Žegar
- Butižnica, HE Golubić
- Butižnica, Bulin most

Ove postaje odgovarale su odrednicama za referentne postaje na temelju Feio i sur. (2011). Referentne vrijednosti za parametre koji ukazuju na organsko opterećenje (BPK5 i KPK) određene su kao medijan vrijednosti referentnih postaja. Vrijednost granice vrlo loše/loše izračunata je kao najlošija vrijednosti čitavog seta podatka (budući da je organsko onečišćenje općenito u Dinaridskoj ekoregiji puno manje izraženo u ondnosu na Panpnsku ekoregiju) za IC tip M2 koji je uključivao 17 postaja. Ostale granice za ove parametre unutar interkalibracijskog tipa R-M5 izračunate su ekvidistalnom raspodjelom :

Granice kategorija ekološkog stanja	KPK (kemijska potrošnja kisika)	BPK <sub>5</sub> (biološka potrošnja kisika)
1	1.14	0.74
0.8	2.30	1.55
0.6	3.46	2.36
0.4	4.62	3.52
0.2	5.78	3.97

## R-M5

U setu podataka za interkalibracijski tip R-M5, utvrđeno je pet referentnih postaja:

- Delnički potok, most prije utoka u Kupicu
- Dubračina, Crikvenica (igralište)
- Draga Baredine, most Štuparija
- Potok Kotluša - pritok Cetine uzvodno od Vinalića
- Jaruga/Mijanovac, Zvjerinac

Ove postaje odgovarale su odrednicama za referentne postaje na temelju Feio i sur. (2011). Referentne vrijednosti za parametre koji ukazuju na organsko opterećenje (BPK<sub>5</sub> i KPK) određene su kao medijan vrijednosti referentnih postaja. Vrijednost granice vrlo loše/loše izračunata je kao 95-ti percentil vrijednosti čitavog seta podatka za IC tip M5 koji je uključivao 25 postaja. Ostale granice za ove parametre unutar interkalibracijskog tipa R-M5 izračunate su ekvidistalnom raspodjelom :

Granice kategorija ekološkog stanja	KPK (kemijska potrošnja kisika)	BPK <sub>5</sub> (biološka potrošnja kisika)
1	1.16	0.97
0.8	2.60	1.44
0.6	4.04	1.91
0.4	5.48	3.35
0.2	6.92	2.85

## Prilog 1

Report on fitting the Croatian classification method for benthic macroinvertebrates classification method to the results of the completed intercalibration of the Mediterranean GIG (R-M1 and R-M2)

Working Group:

Marko Miliša, Zlatko Mihaljević, Ivana Pozojević

Division of Zoology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb

Status of the document: Draft-version 3.0

Hrvatske vode

Zagreb, November 17<sup>th</sup> 2020

# Report on fitting a macroinvertebrate classification method with the results of the completed intercalibration of the MED GIG (M1 and M2)

## 1. INTRODUCTION

Croatia;  
Benthic macroinvertebrates;  
M1 and M2 river types.

## 2. DESCRIPTION OF NATIONAL ASSESSMENT METHODS

The Water Framework Directive requires comprehensive assessment methods for the evaluation of river ecological statuses according to the benthic macroinvertebrate fauna, which includes taxonomic composition, abundance, ratio of disturbance of sensitive taxa to tolerant taxa and diversity. It is also required to harmonize national assessment methods under the intercalibration exercise with other Mediterranean (MED) Geographic Intercalibration Group (GIG) country methods. The official intercalibration of invertebrate-based methods of ecological status assessment in Mediterranean rivers was finalized within the MED-GIG intercalibration in 2011 (Feio, 2011). Croatia did not join the official IC round because it became a member state of the EU in the second half of 2013.

A new assessment method has been developed for ecological status assessment of rivers belonging to the IC types R-M1 (= HR-R\_11A; HR-R\_14A; HR-R\_15A; HR-R\_17) and R-M2 (= HR-R\_12; HR-R\_13; HR-R\_14B; HR-R\_15B; HR-R\_18) based on invertebrates and presented in this report. Both IC types are treated together due to the relatively small data sets (R-M1 type n=14, and R-M2 type n=18). Because of the similarities between the two types (both Mediterranean highly seasonal rivers with similar geology), their data can be considered as complementary for statistical analysis. The multimetric index uses the same metrics for both river types but with different reference values for each type. The method is compliant with the WFD normative definitions and its class boundaries are in line with the results of the completed intercalibration exercise.

The Croatian assessment method based on benthic invertebrates is a modular type with two modules: saprobity and general degradation. The modular system uses the “one-out all out” principle. Croatian Large Rivers benthic invertebrate assessment method is based on the same approach and it has been successfully intercalibrated (Birk et al., 2016). The system consists of metrics with proven relationships to stressors. The classification method is verified for WFD compliance and IC feasibility and the class boundaries were compared with agreed boundaries from the MED-GIG intercalibration exercise following the instructions of the CIS Guidance Document 30: “Procedure to fit new or updated classification methods to the results of a completed intercalibration exercise” (Willby et al. 2014).

## 2.1. Methods and required BQE parameters

The Saprobit module represents normalized values of the Croatian saprobit index ( $SI_{HR}$ ), which is based on the Pantle Buck index, but with adapted indicator values. The General Degradation module is a multimetric index (General Degradation MI) that consists of 5 metrics: Average Score Per Taxon (ASPT), r-dominance, EPT [%] (abundance classes), Diversity (Margalef Index) and the River fauna index (RFI) that is based on indicator responses to hydromorphological degradation.

The Croatian national method is in accordance with the WFD compliance, as it takes into consideration all the indicative parameters which are mentioned in CIS Guidance document No 14 (2011): taxonomic composition, abundance, disturbance sensitive taxa to insensitive taxa, diversity and absence of major taxonomic groups (Table 1).

Table 1. Overview of the metric groups included in the Croatian national method for the assessment of IC types R-M1 and R-M2

MS	Taxonomic composition	Abundance	Sensitive / tolerant taxa	Diversity	Major taxonomic groups
HR	x	x	x	x	x

Combination rule used in the method:

The Saprobit module is based solely on EQR of the Croatian saprobit index ( $SI_{HR}$ ). The General Degradation module is a multimetric index (General Degradation<sub>MI</sub>) that equals the average EQR of 5 metrics: Average Score Per Taxon (ASPT), r-dominance, EPT [%] (abundance classes), Diversity (Margalef Index) and the River fauna index (RFI). The final assessment result equals the lower EQR value of the two modules. Two metrics belonging to the Sensitivity/tolerance group have been chosen for the general degradation module and one for the saprobic module, but they all show correlations to different pressure gradients.  $SI_{HR}$  responds to parameters linked to organic pollution such as biological oxygen demand, ASPT responds to all types of land use pressure (Corine Land Cover) and RFI responds to hydromorphological alternation. Although the three metrics belong to the same metric group, they are in no means redundant amongst themselves.

Conclusion on the WFD compliance:

all the indicative parameters included.

## 2.2. Sampling and data processing

Description of sampling and data processing:

Sampling time and frequency;

The most favorable sampling time is spring (March-April), i.e. before mass swarms of adult insects emerge which takes place in May and June. The period of stable and low water levels should last long enough before sampling so that the macrozoobenthic community can be well-developed. Sampling shall not be undertaken: during high water levels and up to 3 weeks after high water level events, and during all other disturbances caused by natural processes.

Sampling method;

All available microhabitats are sampled („multi-habitat sampling“) and 20 sub-samples are collected which are distributed according to the proportion of microhabitat types. Microhabitats that are represented by less than 5% are not sampled, but are recorded in the protocol. Microhabitat type represents a combination of inorganic and organic substrate. Sub-sample is sampled by raising the substrate that consists of substrate with accompanying animals from area of  $25 \times 25 \text{ cm}$  ( $0.0625 \text{ m}^2$ ). The channel substrate of each sampling site is classified according to AQEM Consortium (2002).

Data processing

Average Score Per Taxon (ASPT), r-dominance, EPT [%] (abundance classes) and Diversity (Margalef Index) are calculated using ASTERICS 4.04 software, while the Croatian saprobity index and River fauna index are calculated separately. Croatian Saprobitry Index ( $SI_{HR}$ ) is an adapted saprobity index according to Pantle-Buck (1955):

$$SI_{HR} = \frac{\sum SIu_i}{\sum u_i}$$

where:

$SI_{HR}$  = saprobity index

$SIu_i$  = individual species/taxa indicator value

$u_i$  = number of individuals calculated per 1 m<sup>2</sup>

Indicator values of macrozoobenthic taxa (SI) are specific to Croatia.

The River fauna index was calculated according to the following equation:

$$RFI_{VR_j} = \frac{\sum_{i=1}^n ac_i \times Rf_i \times HW_i}{\sum_{i=1}^n ac_i \times HW_i}$$

where:

$ac_i$  is the log5 abundance class of the  $i^{th}$  taxon,

$Rf_i$  is the river fauna value of the  $i^{th}$  taxon,

$HW_i$  is the hydromorphological indicative weight of the  $i^{th}$  taxon

$n$  is the number of indicative taxa

Indicator values of macrozoobenthic taxa (RFi and HWi) are specific to IC types R-M1 and 2 and are calculated by canonical correspondence analysis of the taxa found in these types with regard to hydromorphological pressure (Urbanič, 2014).

Identification level;

It is recommended that identification is conducted as detailed as possible, up to the level of species if possible. Required level of macrozoobenthos identification:

Table 2. Level of identification required for the Croatian national assessment

Systematic group	Level of identification	Systematic group	Level of identification
Porifera	genera	Ephemeroptera	genera, species
Hydrozoa	genera	Trichoptera	genera, species
Bryozoa	presence	Odonata	genera, species
Turbellaria	genera, species	Megaloptera	genera, species
Oligochaeta	family, genera, species	Heteroptera	genera, species
Hirudinea	genera, species	Coleoptera	genera, species
Mollusca	genera, species	Diptera	family, genera, species
Crustacea	genera, species	Hydrachnidia	presence
Plecoptera	genera, species		

### 2.3. National reference conditions

Reference thresholds for land use in catchment follow those of the MED-GIG defined for IC types R-M1 and R-M2 (Feio, 2011)

Pressure variables	RM1+RM2
% Artificial areas (catchm)	≤1
% Intensive agriculture (catchm)	≤11
% Extensive agriculture (catchm)	≤32
% Semi-natural areas (catchm)	≥68

Hydromorphological alternation NO or LOW (scoring set at ≤2)

NO or LOW:

impoundment, hydropeaking, water abstraction, upstream dam influence, water temperature modification, channelization, alteration of riparian vegetation, local habitat alteration, dykes, toxic risk, water acidification, navigation, recreational use

The settings for the national reference conditions are given in the legal document “regulation on water quality standards”(Uredba o standardu kakvoće voda, NN 73/2013). The reference values in this document refer to chemical thresholds only. Reference values were calculated from type specific reference sites (reference sites determined by expert judgement) as the median value of a chemical parameter. Although this document is currently under revision (because a great amount of criteria are “expert judgement” based), we used chemical thresholds to distinguish true reference sites from the reference+benchmark combination given by Feio (2011).

Table 3. National reference conditions for chemical parameters

IC type	Parameters							
	Acidity	Oxygen regime		Nutrients				
		pH	BOD <sub>5</sub>	COD-Mn	Ammonia	Nitrates	Total N	Orthophosphate
		mg O <sub>2</sub> /l	mg O <sub>2</sub> /l	mg N/l	mg N/l	mg N/l	mg P/l	mg P/l
R-M1	7.4-8.5	1.6	2	0.01	0.4	0.6	0.01	0.02
R-M2	7.4-8.5	1.9	2.5	0.01	0.4	0.6	0.01	0.02

### 2.4. National boundary setting

The final EQR represents the “classical” boundaries (0.8; 0.6; etc.) and the final score represents the lower value of the EQR-s of the modules: Saprobity and General Degradation.

Although the National classification recognizes four types (H-R-11A, H-R-14A, H-R-15A and H-R-17) within the intercalibration type R-M1 and five types (H-R-12, H-R-13, H-R-14B, H-R-15B and H-R-18) within the intercalibration type R-M2, the reference values are set equally for all types within an IC type. We acknowledge that the lack of type-specific reference values in the method is not substantially reasoned. It is possible that an extended analysis will result in different pressure-impact relationships in different types of rivers. This may result in differentiation of reference values (upper and lower anchors) for the metrics, additional differentiated normalization of the National classification system or possibly weighing the metrics before combination in the future. As the monitoring efforts are ongoing in this region of Croatia, a greater data set may possibly give a more accurate setting of the reference values for each national biotic river type, as well as the pressure response relationships.

#### Saprobity index

##### R-M1

The lower anchor of the saprobity index represents the worst theoretical value of the metric (based on the operational taxa list) and equals 3.6 (for all IC types). The setting of reference values was done based on alternative benchmark sites, since there are only two true reference sites by the national reference

conditions. The procedure followed the approach of the Med GIG. The median of the metric values from the three benchmark sites is defined as H/G boundary. Using the inverse EQR (ref = H/G boundary / 0.8), a (theoretical) reference value for all the metrics was calculated. After calculating the EQRs of the saprobit index, the HIGH/GOOD boundary was determined as the median of the benchmark sites of R-M1 (Table 4). The high/good boundary for the saprobit index equaled 1.52. The upper anchor in R-M1 was calculated by retracting 20% from the median of the high/good boundary and equaled 1.21. Other boundaries were distributed equidistantly to 3.6. The value of the saprobit index in type R-M1 ranged from 1.06 to 2.40 (Table 4).

Table 4. Sites of IC type R-M1 against the criteria for reference sites (green highlighted reference sites according to Feio, 2011 and blue according to the National standards and Feio, 2011) and their values of the saprobit index.

R-M1		O2 (%)	N-NH4+ (mg/L)	N-NO3- (mg/L)	P-PO43- (mg/L)	P-Total (mg/L)	% Artificial areas (catchm)	% Intensive agriculture (catchm)	% Extensive agriculture (catchm)	% Semi-natural areas (catchm)	Saprobit Index value
Code	Site/ criteria	73.72-127.92	≤0.09	≤1.15	≤0.06	≤0.07	≤1	≤11	≤32	≥68	
40106	Potok Rumin (pritok Cetine)	117.30	0.044	0.479	0.043	0.019	0	1.274	15.68	83.048	1.21
40108	Vojskova (pritok Cetine). Čitluk	109.17	0.036	0.404	0.023	0.012	8.826	10.653	0.02	80.49	1.25
40198	Kobilica (pritok Zrmanje). Kusac	110.56	0.006	0.273	0.007	0.002	0	0	35.41	64.58	1.34
40429	Vrba. kod mjesta Vrba	165.06	0.0472	0.071	0.033	0.020	0.396	6.043	8.37	85.18	1.55
40430	Orašnica. prije utoka u Krku	78.41	0.139	0.287	0.023	0.008	11.955	6.769	7.61	73.65	1.82
40431	Orašnica. Kninsko polje	98.08	0.048	0.348	0.029	0.016	2.430	7.988	6.38	83.20	1.58
40432	Vrba. Ojdanići	104.25	0.067	0.284	0.032	0.011	0.721	6.096	7.56	85.61	1.48
40443	Izvor Krke (pritok Une). granični prijelaz	106.07	0.193	0.376	0.005	0.005	0	7.658	21.30	71.03	1.58
40213	Krupa. Manastir	103.84	0.013	0.236	0.010	0.007	0	0	8.43	91.56	1.97
40218	Krupa. u selu Mandići. 300 m nizvodno od izvorišta	100.24	0.012	0.257	0.010	0.003	0	0	0.91	99.08	2.13
31008	Mufrin. Valenti	90.44	0.039	1.18	0.059	0.019	0	1.082	32.59	66.32	2.40
31031	kanal Botonega. 200 m od utoka u Mirnu	98.84	0.041	0.606	0.075	0.025	0	1.664	28.40	69.93	2.01
31070	Pazinčica Dubravica	93.13	0.015	0.381	0.061	0.043	0.683	4.726	26.38	68.20	2.11
31071	Pazinčica. ponor Boljunčica.	77.69	5.968	1.94	0.477	0.368	2.534	4.440	25.28	67.73	2.05
31082	nizvodno od mjesta Brus	107.41	0.034	0.21	0.058	0.012	0.196	1.105	12.84	85.85	1.10

median of benchmark values: **1.52**

upper anchor: **1.21**

## R-M2

The lower anchor of the saprobit index represents the worst theoretical value of the metric and equals 3.6 (for all IC types). The value of the saprobit index in type R-M2 ranged from 1.17 to 3.32 (Table 5). The upper anchor in R-M2 was calculated as the median of saprobit index values from national reference sites and equaled 1.62.

Table 5. Sites of IC type R-M2 against the criteria for reference sites (according to Feio. 2011) and their values of the saprobitry index. Benchmark sites are highlighted.

R-M2		O2 (%)	N-NH4+ (mg/L)	N-NO3- (mg/L)	P-PO43- (mg/L)	P-Total (mg/L)	% Artificial areas (catchm)	% Intensive agriculture (catchm)	% Extensive agriculture (catchm)	% Semi-natural areas (catchm)	Saprobitry Index value
Code		Site/ criteria	73.72-127.92	≤0.09	≤1.15	≤0.06	≤0.07	≤1	≤11	≤32	≥68
14006	Una, kod izvorišta Loskun	99.56	0.011	0.501	0.011	0.011	0.35	6.57	15.98	77.09	1.642
31010	Mirna. Portonski most	105.04	0.0157	0.609	0.009	0.066	0.74	4.49	24.38	70.37	1.902
31011	Mirna. Kamenita vrata	111.18	0.035	0.627	0.022	0.064	2.53	5.04	21.62	70.80	2.219
31016	Obuhvatni kanal Srednja Mirna	84.52	0.033	0.556	0.016	0.049	0	1.55	34.16	64.28	2.469
31017	Stara Mirna. Gradišnje	91.31	0.036	0.746	0.044	0.107	2.10	2.03	29.44	66.41	2.366
31024	Raša. most Mutvica	100.68	0.0152	1.144	0.010	0.040	0.35	12.89	16.58	70.17	2.393
31025	Obuhvatni kanal Krpanj. most u naselju Raša	101.16	3.562	2.876	1.181	1.659	25.70	11.75	16.27	46.26	3.316
40102	Cetina. Vinalić	91.66	0.0155	0.316	0.003	0.012	0.53	6.81	11.30	81.35	1.292
40104	Cetina. Barišići	106.89	0.025	0.372	0.002	0.004	0	0.43	2.26	97.30	1.166
40200	Zrmanja. Butiga	110.52	0.03	0.357	0.002	0.005	0	3.11	21.70	75.18	1.605
40205	Zrmanja. Palanka	100.60	0.015	0.361	0.003	0.014	0	0	26.84	73.16	1.622
40208	Zrmanja. Žegar	101.40	0.015	0.271	0.003	0.012	0	3.42	20.95	75.63	1.874
40416	Krka. nizvodno od Knina	99.17	0.029	0.353	0.003	0.011	1.64	11.65	9.17	77.52	1.829
40441	Krka. Marasovine	91.57	0.030	0.361	0.007	0.015	1.05	7.19	13.10	78.64	1.598
40453	Butižnica. HE Golubić	97.50	0.015	0.181	0.003	0.013	0.19	0.16	10.51	89.13	1.523
40454	Butižnica. Bulin most	99.12	0.021	0.231	0.007	0.022	0.72	2.54	15.87	80.86	1.574
40515	Norin. Vid	76.11	0.019	0.932	0.012	0.019	5.15	11.68	6.34	76.81	1.701

upper anchor:

1.62

### General degradation

#### R-M1

The General Degradation module consists of 5 metrics: Average Score Per Taxon (ASPT), r-dominance, EPT [%] (abundance classes), Diversity (Margalef Index) and the River fauna index (RFI). The setting of reference values was done based on alternative benchmark sites, since there are only two true reference sites by the national reference conditions. The procedure followed the approach of the MED GIG. Using the inverse EQR (ref = H/G boundary / 0.8), a (theoretical) reference value for all the metrics was calculated. The lower anchor was set at the lowest value in the whole dataset of both IC types (M1 and M2)

Table 6. Metrics and their upper and lower anchors used in the calculation of the General Degradation module for IC type R-M1. Benchmark sites are highlighted.

Code	Site/Metric	- EPT [%] (abundance classes)	Diversity (Margalef Index)	- r- Dominance	Average score per Taxon	River fauna index(RFI)
40198	Kobilica (pritok Zrmanje). Kusac	26.027	2.574	2.142	7	0.124
40106	Potok Rumin (pritok Cetine)	26.19	2.591	1.747	5.429	0.109
40108	Vojskova (pritok Cetine). Čitluk	37.5	4.342	3.287	6.45	0.116
40429	Vrba. kod mjesta Vrba	28.767	5.044	16.86	6	0.104
40430	Orašnica. prije utoka u Krku	11.538	5.115	38.614	4.87	0.107
40431	Orašnica. Kninsko polje	15.894	3.764	9.592	4.938	0.094
40432	Vrba. Ojdanići	20.625	4.891	5.884	5.905	0.079
40443	Izvor Krke (pritok Une). granični prijelaz	44.828	5.484	21.488	7.25	0.141
31008	Mufrin. Valenti	10.784	3.129	9.286	5.267	0.081
31031	kanal Botonega. 200 m od utoka u Mirnu	24.706	4.811	20.833	6.333	-0.033
31070	Pazinčica Dubravica	19.149	2.132	14.158	4.75	0.097
31071	Pazinčica. ponor	25.203	2.694	39.24	5.667	0.119
31082	Boljunčica. nizvodno od mjesta Brus	26.389	2.031	25	5.625	0.084
40213	Krupa. Manastir	26.496	3.177	0.219	7.05	0.119
40218	Krupa. u selu Mandići	37.864	2.368	0.511	7.235	0.122
Upper anchor		33.12	3.97	1.4	7.5	0.137
Lower anchor		0	1.27	68.18	3.14	-0.857

## R-M2

The General Degradation module consists of 5 metrics: Average Score Per Taxon (ASPT), r-dominance, EPT [%] (abundance classes), Diversity (Margalef Index) and the River fauna index (RFI). The upper anchor in R-M2 was calculated as the median of index values from National criteria reference sites (Table 7). The lower anchor was set at the lowest value in the whole dataset of both IC types (M1 and M2).

Table 7. Metrics and their upper and lower anchors used in the calculation of the General Degradation module for IC type R-M2. Benchmark sites are highlighted.

Code	Site/Metric	- EPT [%] (abundance classes)	Diversity (Margalef Index)	- r- Dominance	Average score per Taxon	River fauna index(RFI)
14006	Una. kod izvorišta Loskun	35.849	4.118	12.032	6.333	0.129
31010	Mirna. Portonski most	29.054	3.639	39.264	6.684	-0.164
31011	Mirna. Kamenita vrata	27.811	5.048	21.674	5.632	0.092
31016	Obuhvatni kanal Srednja Mirna	13.861	3.074	5.737	4.625	-0.223
31017	Stara Mirna. Gradinje	24.46	4.561	18.389	5.412	-0.146
31024	Raša. most Mutvica	22.892	4.08	28.723	5.389	-0.215
31025	Obuhvatni kanal Krpanj. most u naselju Raša	0	1.265	68.183	3.143	-0.857
40102	Cetina. Vinalić	33.077	3.821	4.609	6	0.097
40104	Cetina. Barišići	38.938	2.418	4.363	7	0.111
40200	Zrmanja. Butiga	30	5.349	2.951	6.053	0.111
40205	Zrmanja. Palanka	30	5.136	4.507	6.682	0.138
40208	Zrmanja-Žegar	24.823	7.91	9.793	5.821	0.118
40416	Krka. nizvodno od Knina	2.837	4.495	5.813	4.214	0.107
40441	Krka. Marasovine	30.631	3.811	2.521	6.722	0.116
40453	Butižnica. HE Golubić	18.889	2.403	4.98	5.273	0.078
40454	Butižnica. Bulin most	26.667	3.873	2.035	6.368	0.081
40515	Norin. Vid	13.043	7.066	17.163	4.903	0.089
	Upper anchor	30.63	4.12	4.61	6.33	0.119
	Lower anchor	0	1.27	68.18	3.14	-0.857

## 2.5. Pressures addressed

The Croatian method addresses: 1) catchment land use. 2) pollution by organic matter and 3) habitat destruction (hydromorphological alteration). The Saprobitiy module addresses organic pollution, whereas other stressor responses are integrated in the General degradation module. The pressure / index graphs show responses of the two IC types together, seeing as the types are fairly similar (only catchment sizes differ) and the number of sites per one type alone is relatively low: R-M1 type n=14, and R-M2 type n=18. It is also important to note that, although a relatively wide gradient of all analyzed pressures is present, only few sites in this region have very high specific pressure values (i.e. worst possible HYMO scoring, high Non-natural land cover etc.). These sites are marked as extremes or outliers in the scatterplots, but are still valuable for assessing the pressure-impact relationship as they are nevertheless representative for M1 and M2 stream types, taking into consideration the specificity of the MED-GIG area in question where there is comparably very little pressure. Two sites that are standing out are definitely type-specific. However, they are respectively: a) highly hydromorphologically changed and situated within an urban area with some communal waste inputs and b) specific because the catchment area that includes agriculturally covered floodplain near upstream of the sampling site while sampling site itself is boulder dominated fast flowing canyon site, highly typical for the MED-GIG. Due to discharge regime and porosity of carbonate substrate, the agricultural runoff is common. **The lower value of the two modules is the final score of the site and it gives a direct suggestion on which stressor should be addressed primarily if the score would be less favorable.** This method is therefore comparable to the methods which are already successfully intercalibrated.

The following pressure-response relationships for the Croatian assessment method have been derived:

### Saprobity:

The correlation between the National EQR and both the BOD ( $r=-0.442$ ) and COD ( $r=-0.622$ ) parameters are significant ( $p<0.05$ ). When excluding the outliers (colored red in Fig 1), the relationship between the National EQR and COD remain significant ( $r= 0.421$ ;  $p<0.05$ ), whereas the relationship between the National EQR and BOD is not significant ( $r=0.201$ ,  $p>0.05$ ).

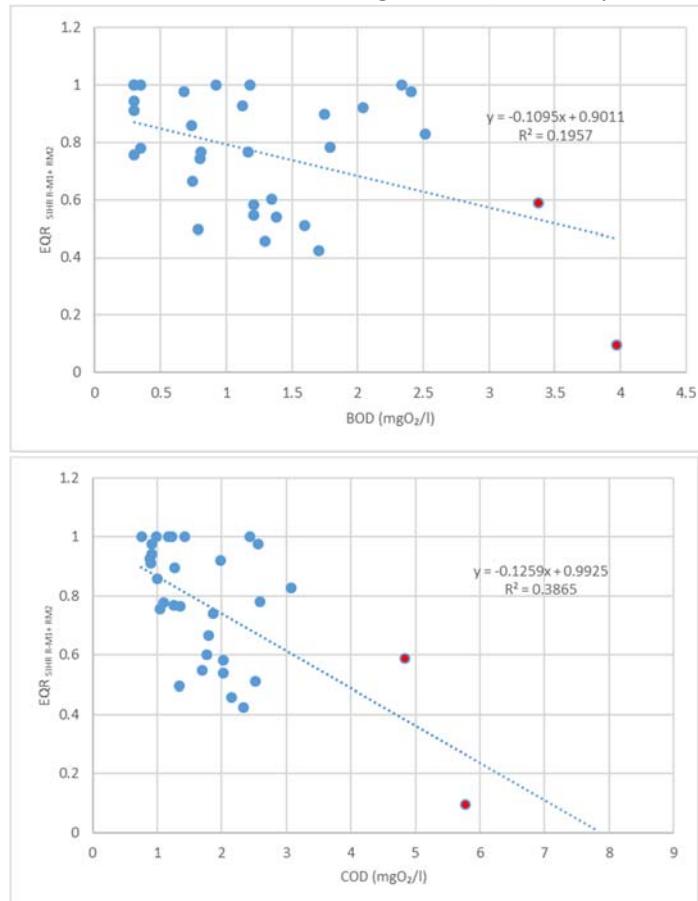


Figure 1. Pressure-Response relationship between biological oxygen demand (BOD) and chemical oxygen demand (COD) against the  $\text{SI}_{\text{HR}}$  values in river types R-M1 and R-M2.

### General Degradation:

#### Hydro-chemistry

The correlation between the National EQR and the ammonia ( $r=-0.774$ ), nitrate ( $r=-0.725$ ) and orthophosphate ( $r=-0.808$ ) concentrations are significant ( $p<0.05$ ). When excluding the outliers (colored red in Fig 2), the relationship between the National EQR and the ammonia ( $r=-0.327$ ), nitrate ( $r=-0.279$ ) and orthophosphate ( $r=-0.209$ ) concentrations were no longer significant ( $p>0.05$ ), although retained negative trend relationships.

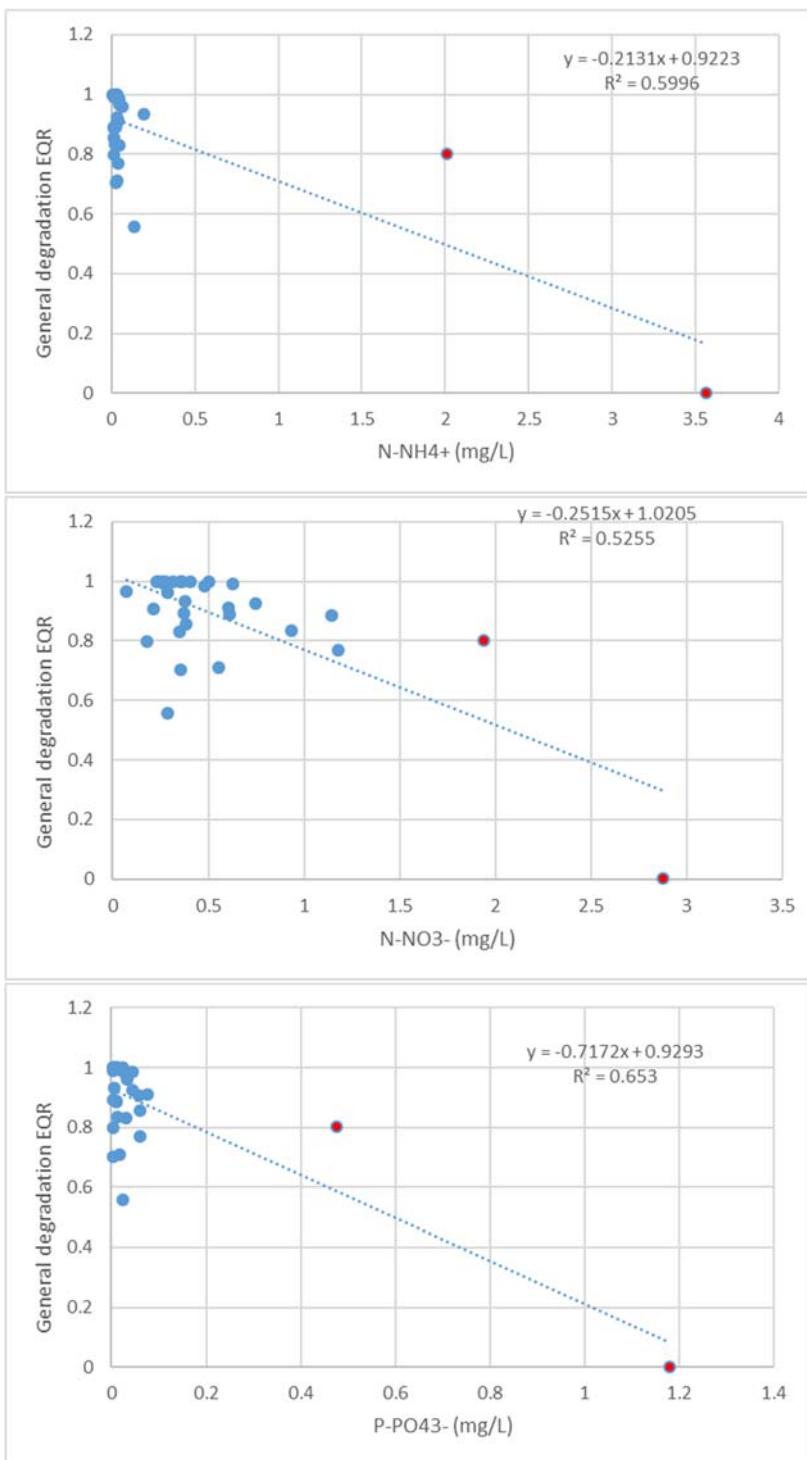


Figure 2. Pressure-Response relationship between chemical water properties against General Degradation module scores for sites of river types R-M1 and R-M2.

#### Land use

The correlation between the National EQR and the artificial areas ( $r=-0.835$ ), natural areas in the catchment ( $r=0.554$ ) and the Land Use Index ( $r=-0.818$ ) are significant ( $p<0.05$ ). When excluding the outliers (colored red in Fig 3), the relationship between the National EQR and the artificial areas ( $r=-0.447$ ) and the Land Use Index ( $r=-0.458$ ) remain significant ( $p<0.05$ ), whereas the relationship between the National EQR and natural areas in the catchment ( $r=0.26$ ) did not remain significant ( $p>0.05$ ).

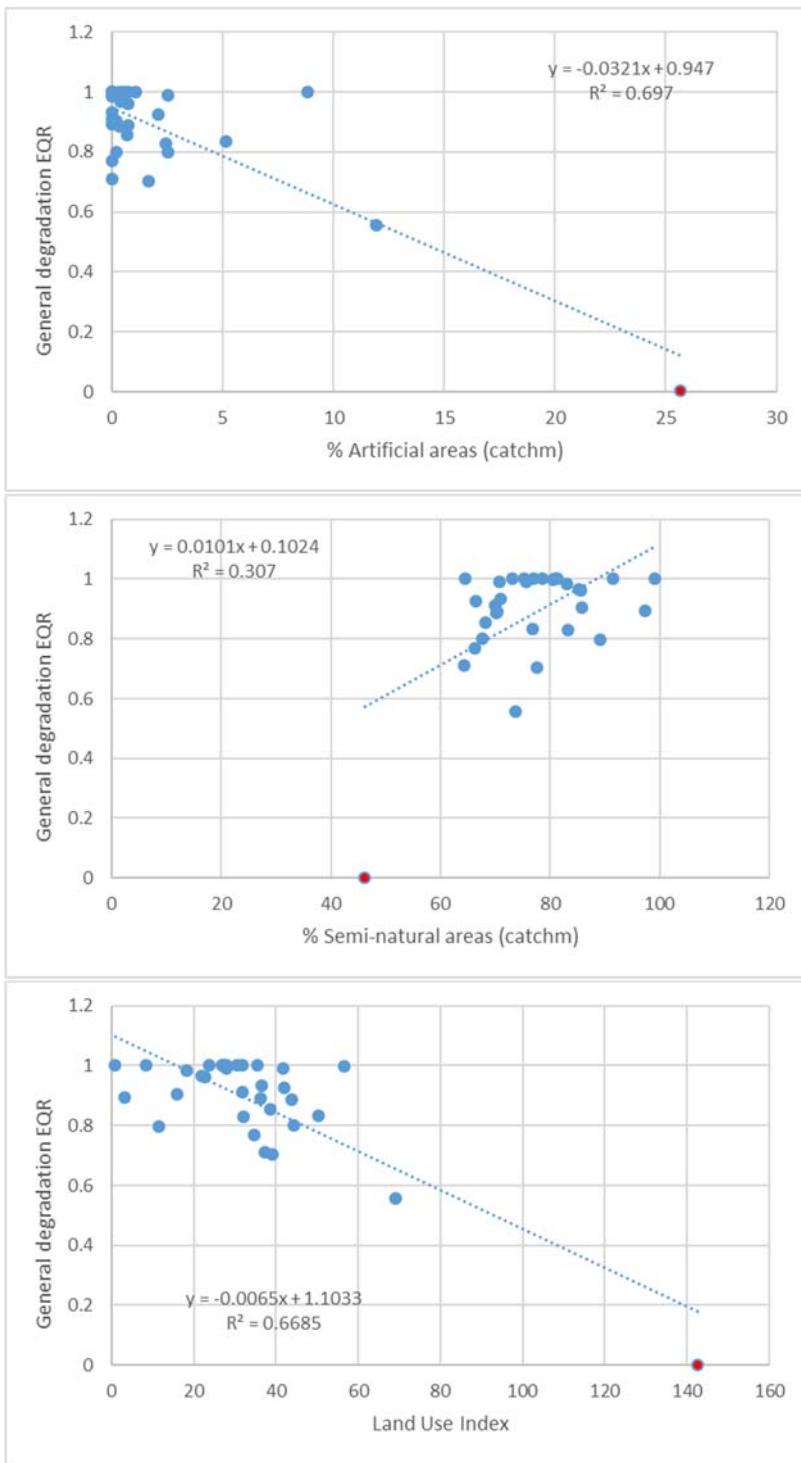


Figure 3. Pressure-Response relationship between Corine Land Cover (categories urban and natural) and the Land Use Index LUI and against General Degradation module scores for sites of river types R-M1 and R-M2.

### Hydromorphology

The correlation between the National EQR and the hydromorphological scores of sediment structure ( $r=-0.423$ ), riverbank erosion ( $r=-0.385$ ) and hydrology score ( $r=-0.368$ ) are significant ( $p<0.05$ ). When excluding the outliers (colored red in Fig 4), the relationship between the National EQR and the hydromorphological scores of sediment structure ( $r=-0.250$ ), riverbank erosion ( $r=-0.239$ ) and hydrology score ( $r=-0.205$ ) were no longer significant ( $p>0.05$ ), although retained negative trend relationships.

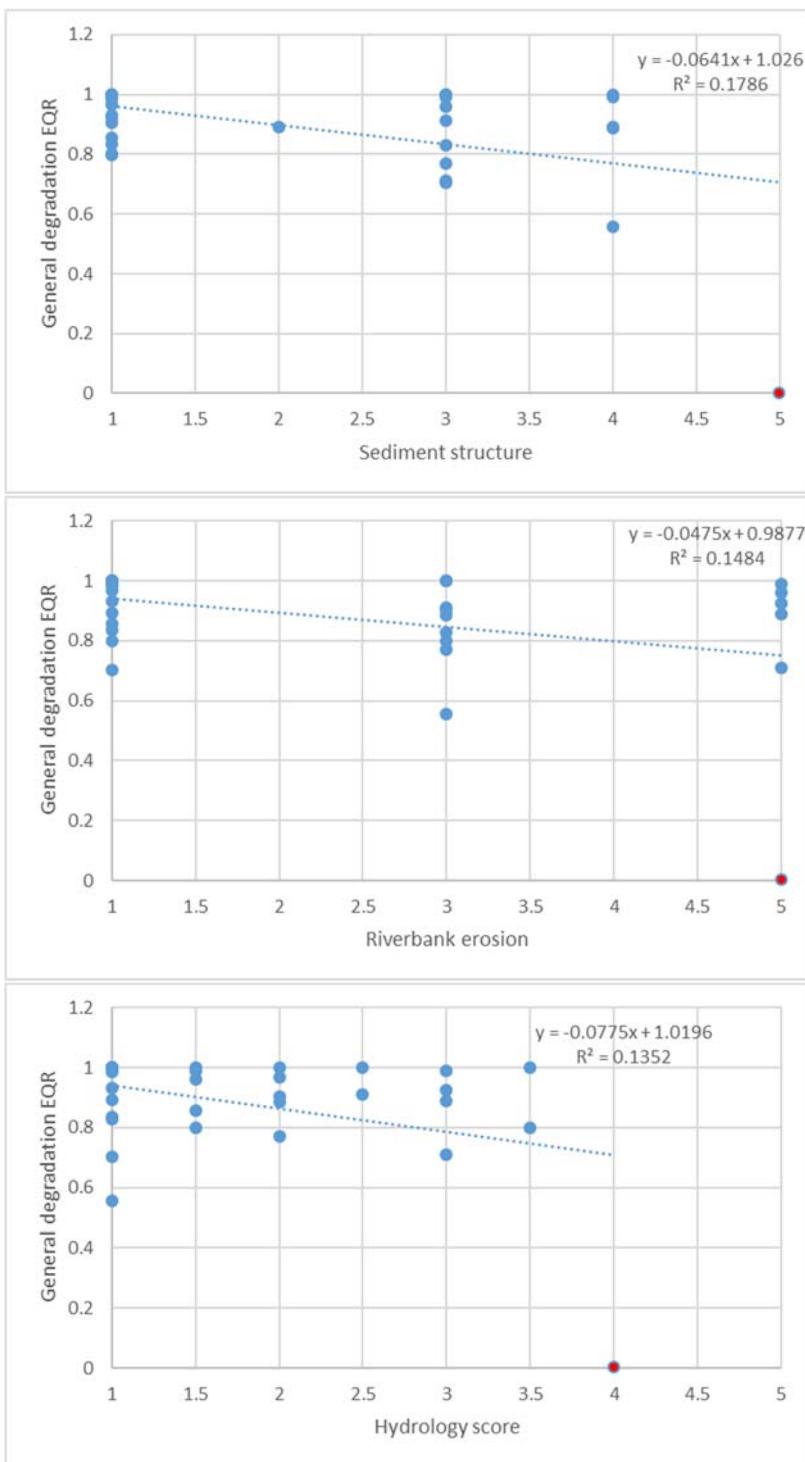


Figure 4. Pressure-Response relationship between hydromorphological river features against General Degradation module scores for sites of river types R-M1 and R-M2.

## Resume

For all three groups of pressures (land use. chemistry. hydromorphological alteration). significant regressions could be found. Some relationships were found to be relatively weak and mostly driven by outliers, although even after excluding the outliers, the relationships retained the same trend (if not significance). It is concluded that both the Saprobit Index and the General Degradation Multimetric Index clearly respond to anthropogenic impacts and can be used for the assessment of the ecological status.

### 3. WFD compliance checking

The first step in the Intercalibration process requires the checking of national methods considering the following WFD compliance criteria.

Table 8. List of the WFD compliance criteria and the WFD compliance checking process and results.

Compliance criteria	Compliance checking
Ecological status is classified by one of <b>five classes</b> (high. good. moderate. poor and bad).	yes
High. good and moderate ecological status are set in line with the WFD's <b>normative definitions (Boundary setting procedure)</b>	yes
All relevant parameters indicative of the biological quality element are covered (see Table 1 in the IC Guidance). A <b>combination rule</b> to combine parameter assessment into BQE assessment has to be defined. If parameters are missing. Member States need to demonstrate that the method is sufficiently indicative of the status of the QE as a whole	yes
Assessment is adapted to <b>intercalibration common types</b> that are defined in line with the typological requirements of the Annex II WFD and approved by WG ECOSTAT	yes
The water body is assessed against <b>type-specific near-natural reference conditions</b>	yes
Assessment results are expressed as <b>EQRs</b>	yes
Sampling procedure allows for <b>representative</b> information about water body quality/ecological status <b>in space and time</b>	yes
All data relevant for assessing the biological <b>parameters</b> specified in the WFD's normative definitions are covered by the <b>sampling procedure</b>	yes
Selected taxonomic level achieves adequate <b>confidence and precision</b> in classification	yes

## 4. IC FEASIBILITY CHECKING

### 4.1. Typology

The biological typology of running waters in Croatia was initially established in 2011 (Mihaljević et al.. 2011), mainly based on expert opinion, due to general lack of all data types: both biological and pressure data. Today, biological data in almost all types are sufficient, as well data on pressures such as water chemistry and land use. The data sets are still lacking hydromorphological scoring from many sites as the hydromorphological evaluation of running waters in Croatia began only recently, in 2017. The current assessment method has equal reference and "worst" metric values for several Croatian types, but in the future, with more data on hydromorphology we wish to fine-tune these values for every type. Hence, the typology will remain as initially determined.

Table 9. Overview of common intercalibration types in the Mediterranean rivers GIG and MS sharing the types.

Common IC type	Type characteristics
R-M1	catchment <100 km <sup>2</sup> ; mixed geology (except siliceous); highly seasonal
R-M2	catchment 100-1000 km <sup>2</sup> ; mixed geology (except siliceous); highly seasonal
R-M3	catchment 1000-10000 km <sup>2</sup> ; mixed geology (except siliceous); highly seasonal
R-M4	non-siliceous streams; highly seasonal
R-M5	temporary rivers

The typology in Croatia is more precise, distinguishing Mediterranean rivers in type R-M1 and R-M2 not only by catchment size, but also altitude. Rivers of the sub-ecoregion Istra (Istrian peninsula; HR-R-17 and HR-R-18) are assessed separately from the rest of the rivers of the Dinaric coastal subecoregion due to some geological differences.

Table 10. Comparison of the intercallibartion types with the Croatian typology.

Common IC type	Croatian typology	Croatian type characteristics
R-M1	HR-R_11A	Small lowland and upland rivers of the Dinaric coastal subecoregion
	HR-R_14A	Small lowland rivers with a channel drop >5 % of the Dinaric coastal subecoregion
	HR-R_15A	Small and medium rivers in karst polje of the Dinaric coastal subecoregion
	HR-R_17	Small lowland and upland rivers of the Dinaric coastal subecoregion Istria
R-M2	HR-R_12	Medium and large upland rivers of the Dinaric coastal subecoregion
	HR-R_13	Medium and large lowland rivers of the Dinaric coastal subecoregion
	HR-R_14B	Medium lowland rivers with a channel drop >5 % rivers of the Dinaric coastal subecoregion
	HR-R_15B	Medium rivers in karst polje of the Dinaric coastal subecoregion
	HR-R_18	Medium lowland rivers of the Dinaric coastal subecoregion Istria

#### 4.2. Pressures addressed

The pressure gradient has been assessed for the Corine Land Cover (CLC) as well as the land use index, which is derived from CLC and defined as:

$$\text{LUI} = 4 * \text{CLC urban} + 2 * \text{CLC intensive agriculture} + \text{CLC extensive agriculture}$$

The ranges of the CLC and LUI in the two river types are:

CLC/LUI	range R-M1	range R-M2
CLC urban	0 – 11.96	0 – 25.70
CLC agr. intens.	0 – 10.65	0 – 12.89
CLC agr. extens.	0.02 – 35.42	2.26 – 34.17
CLC natural	63.85 – 99.08	46.26 – 97.30
LUI	0.92 – 68.98	3.14 – 142.60

The hydromorphological alteration scale ranges from 1 (no) to 5 (high) and consists of multiple smaller indices. The three main indices: hydrology regime, morphology and flow continuity ranged from 1 to 5 in both river types, whereas the mean hydromorphological score ranged from 1 to 3.57 in M1 and 1 to 4.29 in M2.

The ranges for the chemical variables tested are:

Chemical variable	range R-M1	range R-M2
BOD <sub>5</sub> [mg L <sup>-1</sup> ]	0.3 – 3.376	0.3 – 3.971
COD [mg L <sup>-1</sup> ]	0.756 – 4.836	0.892 – 5.775
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> P [mg L <sup>-1</sup> ]	0.003 – 0.368	0.002 – 1.181
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> N [mg L <sup>-1</sup> ]	0.072 – 1.944	0.181 – 2.877
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> N [mg L <sup>-1</sup> ]	0.006 – 5.968	0.011 – 3.563
Total P [mg L <sup>-1</sup> ]	0.006 – 0.477	0.005 – 1.659

The different pressure gradients covered by the national data set are considered to be sufficient.

#### 4.3. Assessment concept

Table 11. Data acceptance criteria used for the data quality control and describing the data acceptance checking process and results (Feio 2011).

Data acceptance criteria	Data acceptance checking Croatia	
Data requirements (obligatory and optional)	Common pressure data. common environmental data. correctly checked typologies and geographical location and biotic data. all properly introduced in harmonized excel files.	+
The sampling and analytical methodology	All MS sampling methods use a multi-habitat approach. All MS have indicated a response of their indices to pressure using statistical tools.	+
Level of taxonomic precision required and taxa lists with codes	Family level is required	+
The minimum number of sites / samples per intercalibration type	minimum of 15 benchmark sites by IC type are available.	-*
Sufficient covering of all relevant quality classes per type	Yes	-*

\*relevant for the previous IC exercise. but not for join-in procedure

#### 4.4. Conclusion on the intercalibration feasibility

The number of sites fully complying in terms of the type criteria is high enough for carrying out the IC exercise. It is concluded that the intercalibration is feasible for the types R-M1 and R-M2.

### 5. DEMONSTRATING THE COMPLIANCE WITH THE COMPLETED INTERCALIBRATION EXERCISE

#### 5.1. Background

Following the CIS Guidance No. 30 (Willby et al. 2014), case A1 will be applied for the assessment method using invertebrates in the Med GIG river types R-M1 and R-M2.

#### 5.2. Description of IC dataset

- i. Full details of the common metric (e.g. species scores and metric weights)
- ii. A suitable site x biology dataset covering a range of environmental quality from which the national EQR and common metric can be calculated
- iii. Accompanying pressure data in the same format as that used in the completed exercise
- iv. Information on the specific thresholds already used in the completed exercise to define reference or alternative benchmark sites (e.g. human population density, extent of agricultural land in the catchment, nutrient concentrations, etc.)
- v. Details of exactly how the benchmarking was undertaken in the completed exercise (e.g. creation of a common metric EQR by dividing the observed value by the median common metric value of a set of national reference or benchmark sites). If the completed exercise concluded that benchmarking was not necessary the mean value of the benchmark sites from each country must be provided so that the joining Member State can also judge the need to benchmark its own method
- vi. Values of the global mean view of the HG and GM boundaries on the common metric scale for the Member States who participated in the completed exercise.

#### 5.3. Description of Intercalibration procedure

1. Calculate the common metric (CM) on the national dataset.
2. Use the associated pressure data to identify sites in the national dataset that meet the criteria established by the GIG for the selection of benchmark or reference sites.
3. Standardise the common metric (CM\_bm) against the benchmark according to the approach used in the completed exercise. If benchmark standardisation was concluded not to be required in the completed exercise the mean CM value of the joining method's benchmark sites must lie inside the range of mean values of the benchmark sites of the methods already intercalibrated for this conclusion to remain applicable. If the joining method's benchmark sites lie outside of this range the joining method must

*benchmark standardise its sites relative to the global mean CM value of the benchmark sites included in the completed exercise. These scenarios are illustrated in Table 1 and 2 of the IC Manual.*

*4. Use OLS regression to establish the relationship between CM\_bm (y) and the EQR of the joining method (x). A specialist case is that when a joining method relies exclusively on the common metric developed in the completed exercise for its classification rather than devising an original method (then being more like Option 1). In such cases a regression would be meaningless as y is directly dependent on x. The goal for an MS choosing to use the CM as the basis for their method is simple – after any benchmarking their boundaries must simply lie within one quarter of class of the global mean view.*

*5. Predict the position of the national class boundaries (MP. GM. HG and reference) on the CM\_bm scale.*

*6. Apply the comparability criteria as summarised in Chapter 6 of the IC Manual.*

Benchmark standardization;

In the MED GIG the reference sites are referred to as "benchmarks" as they represent the best available values determined for the abiotic data for the Mediterranean region. In Feio (2011) these two terms seem to be synonymized, so we also use the two as synonyms in this intercalibration fitting in procedure.

Table 3 – Criteria for identifying benchmarking sites for the MED GIG.

Pressure variables	Benchmarks are accepted if RM1+RM2
<b>Channelization</b> (classes 1-4)	≤ 2
<b>Bank alteration</b> (classes 1-4)	≤ 2
<b>Connectivity</b> (classes 1-4)	≤ 2
<b>Local habitat alteration</b> (classes 1-4)	≤ 2
<b>Stream Flow</b> (classes 1-4)	≤ 2
<b>Upstream dams influence</b> (classes 1-4)	≤ 2
<b>Hydropeaking</b> (classes 1-4)	≤ 2
<b>Riparian Vegetation</b> (classes 1-4)	≤ 2
<b>DO (mg/L)</b> <sup>1</sup>	6.39-13.70
<b>O<sub>2</sub> (%)</b>	73.72-127.92
<b>N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (mg/L)</b>	≤0.09
<b>N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (mg/L)</b>	≤1.15
<b>P-Total (mg/L)</b>	≤0.07
<b>P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (mg/L)</b>	≤0.06
<b>% Artificial areas (catchm)</b>	≤1
<b>% Intensive agriculture (catchm)</b>	≤11
<b>% Extensive agriculture (catchm)</b>	≤32
<b>% Semi-natural areas (catchm)</b>	≥68

Calculation of Intercalibration Common metrics (ICM) or Best-Related Intercalibrated National Classification (BRINC);

The ICM includes the following 6 metrics are used: average score per taxon.  $\log_{10}(\text{sel\_EPTD}+1)$ . 1-GOLD. total number of taxa Families. number of EPT taxa (Families) and the Shannon-Wiener diversity index. The index is described in Buffagni et al. (2006). The main steps are:

Normalization of the single metrics by dividing the original values by the 75<sup>th</sup> percentile of high status sites within the national data sets

Calculation the iCM:

$$\text{iCM} = a * \text{ASPT} + b * \log_{10}(\text{sel\_EPTD}+1) + c * 1\text{-GOLD} + d * \text{No.Fam} + e * \text{EPT} + f * H'$$

a – f weights for the six metrics:

ASPT a = 0.333

$\log_{10}(\text{sel\_EPTD}+1)$  b = 0.266

1-GOLD c = 0.067

No.Fam d = 0.167

EPT e = 0.083

Shannon-Wiener H' f = 0.083

Normalization of the iCM (\_norm. iCM) and of the EQR (\_ norm. EQR) by dividing the original values by the 75<sup>th</sup> percentile of benchmark sites within the national data sets (Table 12)

Table 12. Metric normalization and intercalibration common metric iCM calculation for the comparison with the national assessment methodology. Benchmark sites are highlighted.

IC Type	Code	Site	Average score per Taxon	Diversity (Shannon-Wiener-Index)										National EQR	iCM	norm iCM	
				Norm. ASPT	log(sel EPTD+1)	Norm log(sel EPTD+1)	(1-GOLD)	Norm (1-GOLD)	Number of Families	Norm. Num. Of Fam.	- EPT-Taxa	Norm. EPT	Norm H'				
M1	40198	Kobilica (pritok Zrmanje), Kusac	7.00	1.03	0.33	0.60	0.96	1.08	17.00	0.64	8.00	0.67	0.39	0.16	0.93	0.75	0.78
M1	40106	Potok Rumin (pritok Cetine)	5.43	0.80	0.40	0.73	0.91	1.02	17.00	0.64	6.00	0.50	1.20	0.51	0.86	0.72	0.75
M1	40108	Vojškova (pritok Cetine), Čitluk	6.45	0.95	0.51	0.94	0.93	1.04	29.00	1.08	18.00	1.50	1.59	0.68	0.94	1.00	1.04
M1	40429	Vrba, kod mjesta Vrba	6.00	0.88	0.54	0.99	0.75	0.84	26.00	0.97	11.00	0.92	2.46	1.05	0.85	0.94	0.98
M1	40430	Orašnica, prije utoka u Krku	4.87	0.72	0.53	0.98	0.21	0.23	39.00	1.46	6.00	0.50	2.00	0.86	0.63	0.87	0.91
M1	40431	Orašnica, Kninsko polje	4.94	0.73	0.34	0.64	0.85	0.95	24.00	0.90	5.00	0.42	1.93	0.83	0.75	0.73	0.76
M1	40432	Vrba, Ojdanići	5.91	0.87	0.34	0.64	0.78	0.87	32.00	1.20	9.00	0.75	2.05	0.88	0.83	0.85	0.89
M1	40443	Izvor Krke (pritok Une), granični prijelaz	7.25	1.07	0.62	1.14	0.67	0.75	34.00	1.27	21.00	1.75	2.87	1.23	0.84	1.17	1.22
M1	31008	Mufrin, Valenti	5.27	0.78	0.42	0.78	0.86	0.97	23.00	0.86	4.00	0.33	1.12	0.48	0.68	0.74	0.77
M1	31031	kanal Botenega, 200 m od utoka u Mirnu	6.33	0.93	0.41	0.75	0.55	0.61	30.00	1.12	11.00	0.92	2.83	1.21	0.62	0.91	0.96
M1	31070	Pazinčica Dubravica	4.75	0.70	0.00	0.00	0.05	0.06	14.00	0.52	5.00	0.42	1.82	0.78	0.50	0.42	0.44
M1	31071	Pazinčica, ponor	5.67	0.83	0.51	0.95	0.08	0.09	19.00	0.71	8.00	0.67	2.10	0.90	0.66	0.78	0.82
M1	31082	Boljunčica, nizvodno od mjesta Brus	5.63	0.83	0.00	0.00	0.08	0.09	13.00	0.49	6.00	0.50	1.76	0.75	0.62	0.47	0.49
M1	40213	Krupa, Manastir	7.05	1.04	0.49	0.91	0.71	0.80	23.00	0.86	12.00	1.00	1.54	0.66	0.94	0.92	0.96
M1	40218	Krupa, u selu Mandići	7.24	1.07	0.63	1.17	0.99	1.10	19.00	0.71	10.00	0.83	1.51	0.65	1.02	0.98	1.03
M2	40205	Zrmanja, Palanka	6.68	0.98	0.55	1.02	0.76	0.85	29.00	1.08	14.00	1.17	2.78	1.19	0.86	1.03	1.08
M2	40200	Zrmanja, Butiga	6.05	0.89	0.20	0.38	0.42	0.47	24.00	0.90	11.00	0.92	2.23	0.95	0.87	0.73	0.77
M2	14006	Una, kod izvorišta Loskun	6.33	0.93	0.56	1.03	0.84	0.94	26.00	0.97	15.00	1.25	2.10	0.90	0.85	0.99	1.03
M2	31010	Mirna, Portonski most	6.68	0.98	0.45	0.84	0.58	0.65	25.00	0.93	11.00	0.92	2.01	0.86	0.74	0.90	0.94
M2	31011	Mirna, Kamenita vrata	5.63	0.83	0.51	0.94	0.57	0.64	30.00	1.12	14.00	1.17	2.55	1.09	0.60	0.94	0.99
M2	31016	Obuhvatni kanal Srednja Mirna	4.63	0.68	0.31	0.57	0.82	0.91	25.00	0.93	3.00	0.25	1.46	0.62	0.49	0.67	0.70
M2	31017	Stara Mirna, Gradinje	5.41	0.80	0.40	0.74	0.73	0.82	24.00	0.90	8.00	0.67	2.65	1.13	0.54	0.82	0.85
M2	31024	Raša, most Mutvica	5.39	0.79	0.36	0.67	0.62	0.69	23.00	0.86	10.00	0.83	2.29	0.98	0.52	0.78	0.82
M2	31025	Obuhvatni kanal Krapanj, most u naselju Raša	3.14	0.46	0.00	0.00	0.00	0.00	10.00	0.37	0.00	0.00	1.10	0.47	0.00	0.26	0.27
M2	40515	Norin, Vid	4.90	0.72	0.48	0.88	0.59	0.66	45.00	1.68	8.00	0.67	2.63	1.12	0.75	0.95	0.99
M2	40453	Butižnica, HE Golubić	5.27	0.78	0.00	0.00	0.94	1.05	14.00	0.52	5.00	0.42	1.34	0.57	0.73	0.50	0.52
M2	40454	Butižnica, Bulin most	6.37	0.94	0.47	0.86	0.96	1.07	24.00	0.90	10.00	0.83	1.77	0.76	0.88	0.90	0.94
M2	40441	Krka, Marasovine	6.72	0.99	0.47	0.88	0.89	0.99	21.00	0.79	11.00	0.92	2.30	0.98	0.87	0.92	0.96
M2	40416	Krka, nizvodno od Knina	4.21	0.62	0.38	0.70	0.71	0.79	28.00	1.05	2.00	0.17	2.43	1.04	0.68	0.72	0.75
M2	40102	Cetina, Vinalići	6.00	0.88	0.45	0.84	0.94	1.05	29.00	1.08	13.00	1.08	1.10	0.47	0.95	0.90	0.94
M2	40104	Cetina, Barišići	7.00	1.03	0.50	0.93	0.85	0.95	18.00	0.67	12.00	1.00	1.69	0.72	0.88	0.91	0.95
M2	40208	Zrmanja-Žegar	5.82	0.86	0.38	0.70	0.57	0.63	37.00	1.38	18.00	1.50	3.02	1.29	0.75	0.98	0.99
75 <sup>th</sup> percentile of the high status M1 and M2 sites			6.79		0.54		0.89		26.75		12.00		2.34			0.96	

Translation of national boundaries to ICM or BRINC:

The regression between the normalized EQR values from the national assessment method and the normalized iCM is highly significant (Pearson corr. R=0.6738; p<0.001). The OLS regression of the two variables is shown in figure 4.

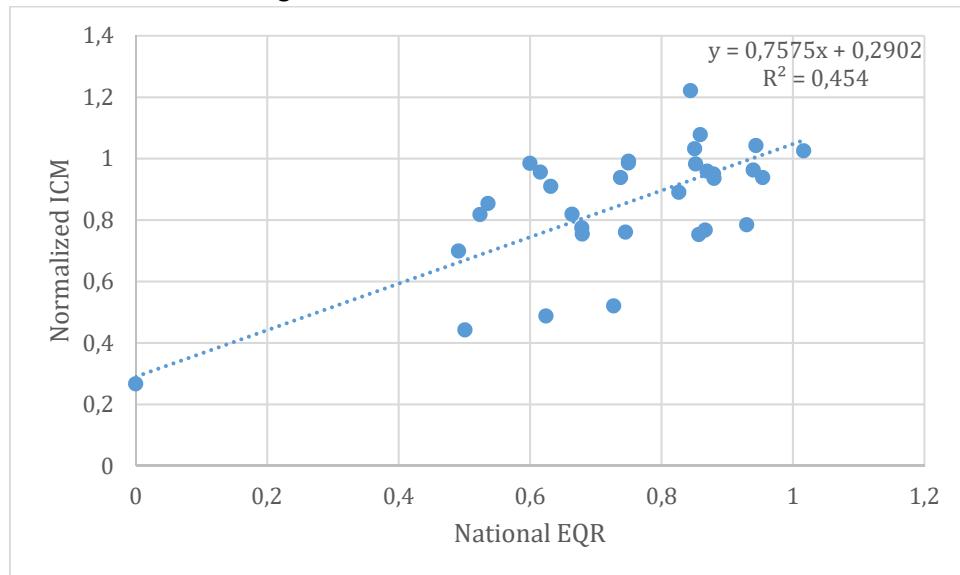


Figure 4. OLS regression to establish the relationship between normalized iCM (y) and the normalized nEQR of the joining method (x) for the IC river type R-M1 and R-M2.

Calculating boundary bias;

The global mean views of the H/G and G/M boundaries for IC river types R-M1 and R-M2 in the MedGIG can be derived from the final table of harmonized class boundaries (Feio. 2011). The average weighted by MS is:

H/G boundary global mean view of iCM is 0.87928

± 0.25 class width: 0.8962 – 1.0477

G/M boundary global mean view of iCM is 0.70831

± 0.25 class width: 0.8962 – 0.7447

Calculating boundary bias for R-M1 and R-M2:

National EQR	Norm. ICM R-M1 and R-M2	Global mean view	Deviation from global mean view	Class width	deviation expressed as proportion
1	1.0477				
0.8	0.8962	0.87928	0.01692	0.1515	11%
0.6	0.7447	0.70831	0.03639	0.1515	24%
0.4	0.5932				
0.2	0.4417				

#### Harmonizing of boundaries

The national H/G and G/M boundary on the common metric scale falls above the global mean view for M1 and M2. The amount of the deviation expressed as a proportion of the width of the (national) good and high status classes on the common metric scale is <0.25 for all the boundaries. Therefore, there is no need to adjust the boundaries.

#### 5.4. Final boundaries

Final boundaries for R-M1and R-M2:

National EQR	Norm. ICM R-M1 and R-M2
1	1.0477
0.8	0.8962
0.6	0.7447
0.4	0.5932
0.2	0.4417

## 6. DESCRIPTION OF THE BIOLOGICAL COMMUNITIES

### DESCRIPTION OF THE BIOLOGICAL COMMUNITIES AT HIGH STATUS

In high status sites of the R-M1 type the Ephemeroptera. Plecoptera and Trichoptera individuals represent around 30 % (or more) of the total macroinvertebrate abundance. High local diversity is present at these sites (Margalef index around 4 or more). The proportion of r- strategist taxa is relatively low (around 5 % or less). Taxa sensitive to hydromorphological degradation and taxa very sensitive to organic pollution are present in high abundances.

In high status sites of the R-M2 type the Ephemeroptera. Plecoptera and Trichoptera individuals represent around 35 % (or more) of the total macroinvertebrate abundance. High local diversity is present at these sites (Margalef index around 5 or more). The proportion of r- strategist taxa is relatively low (around 5 % or less). Taxa sensitive to hydromorphological degradation and taxa very sensitive to organic pollution are present in high abundances.

### DESCRIPTION OF THE BIOLOGICAL COMMUNITIES AT GOOD STATUS

In good status sites of the R-M1 type the Ephemeroptera. Plecoptera and Trichoptera individuals represent around 25 % (or more) of the total macroinvertebrate abundance. High local diversity is present at these sites (Margalef index around 4). The proportion of r- strategist taxa is relatively low (around 15 %). Taxa sensitive to hydromorphological degradation and taxa very sensitive to organic pollution are present.

In good status sites of the R-M2 type the Ephemeroptera. Plecoptera and Trichoptera individuals represent around 25 % of the total macroinvertebrate abundance. Relatively high local diversity is present at these sites (Margalef index around 4). The proportion of r-strategist taxa is relatively low (around 10 %). Taxa sensitive to hydromorphological degradation and taxa very sensitive to organic pollution are present.

#### DESCRIPTION OF THE BIOLOGICAL COMMUNITIES AT MODERATE STATUS

In moderate status sites of the R-M1 type the Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera individuals represent around 20 % of the total macroinvertebrate abundance. High local diversity is present at these sites (Margalef index around 3). The proportion of r-strategist taxa is relatively low (around 20 %). Taxa sensitive to hydromorphological degradation and taxa very sensitive to organic pollution are also present but in less abundance than tolerant taxa.

In moderate status sites of the R-M2 type the Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera individuals represent around 20 % of the total macroinvertebrate abundance. High local diversity is present at these sites (Margalef index around 3). The proportion of r- strategist taxa is relatively low (around 20 %). Taxa sensitive to hydromorphological degradation and taxa very sensitive to organic pollution are also present but in less abundance than tolerant taxa.

## 7. REFERENCES

AQEM Consortium 2002. Manual for the application of the AQEM system. A comprehensive method to assess European streams using benthic macroinvertebrates. developed for the purpose of the Water Framework Directive. Version 1. February 2002: 198 pp.

Birk S. Böhmer J. Schöll F. 2016. XGIG Large River Intercalibration Exercise - Milestone 6 Report - Intercalibrating the national classifications of ecological status for very large rivers in Europe – Biological Quality Element: Benthic Invertebrates - Version 2. 228 p.

Buffagni A. Erba S. Cazzola M. Murray-Bligh J. Soszka H. Genoni P (2006). The STAR common metrics approach to the WFD intercalibration process: Full application for small, lowland rivers in three European countries. *Hydrobiologia* 566: 379–399.

CIS Guidance Document No. 14. 2011. Guidance document on the intercalibration process 2008–2011. Implementation strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC). European Commission. Technical report-2011-045.

Feio M J (ed.. 2011). WFD Intercalibration Phase 2: Milestone 6 report – River/Med GIG /Benthic Invertebrates (30th Decemebr 2011). European Commission Directorate General. JRC. Institute of Environment and Sustainability.

Mihaljević Z. Kerovec M. Mrakovčić M. Plenković A. Alegro A. Primc-Habdić B. 2011. Testiranje bioloških metoda ocjene ekološkog stanja (Okvirna direktiva o vodama. 2000/60/EC) u reprezentativnim slivovima Panonske i Dinaridske ekoregije. PMF. Sveučilište u Zagrebu. Zagreb. [Testing of biological methods for ecological status assessment (Water framework directive 2000/60/EC) in representative river basins of the Pannonian and Dinaric ecoregions].

Urbanič. G. 2014. Hydromorphological degradation impact on benthic invertebrates in large rivers in Slovenia. *Hydrobiologia* 729: 191–207.

Uredba o standardu kakvoće voda, Narodne novine broj 73/2013.

Willby. N.. S. Birk. S. Poikane & W. van de Bund 2014. Water Framework Directive Intercalibration Manual – Procedure to fit new or updated classification methods to the results of a completed intercalibration. JRC Technical Report. Luxembourg. Ispra.

## Prilog 2

Report on fitting the Croatian classification method for benthic macroinvertebrates classification method to the results of the completed intercalibration of the Mediterranean GIG (R-M5)

Working Group:

Marko Miliša, Zlatko Mihaljević, Ivana Pozojević

Division of Zoology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb

Status of the document: Draft-version 2.0

Hrvatske vode

Zagreb, February 17<sup>th</sup> 2020

# Report on fitting the Croatian classification method for benthic macroinvertebrates classification method to the results of the completed intercalibration of the Mediterranean GIG (R-M5)

Introduction

Croatia;

Benthic macroinvertebrates;

M5 river type.

Description of national assessment methods

The Water Framework Directive requires comprehensive assessment methods for the evaluation of river ecological statuses according to the benthic macroinvertebrate fauna, which includes taxonomic composition, abundance, ratio of disturbance of sensitive taxa to tolerant taxa and diversity. It is also required to harmonize national assessment methods under the intercalibration exercise with other Mediterranean (MED) Geographic Intercalibration Group (GIG) country methods. The official intercalibration of invertebrate-based methods of ecological status assessment in Mediterranean rivers was finalized within the MED-GIG intercalibration in 2011 (Feio, 2011). Croatia did not join the official IC round because it became a member state of the EU in the second half of 2013.

A new assessment method has been developed for ecological status assessment of rivers belonging to the IC type R-M5 (= HR-R\_16A; HR-R\_16B; HR-R\_19) based on invertebrates and presented in this report. The IC type has a relatively small, but sufficient data set (R-M5 type n=19) consisting of biological data and all pressures needed for intercalibration fit in procedures. The newly proposed multimetric index is compliant with the WFD normative definitions and its class boundaries are in line with the results of the completed intercalibration exercise.

The Croatian assessment method based on benthic invertebrates is a modular type with two modules: saprobity and general degradation. The modular system uses the “one-out all out” principle. Croatian Large Rivers benthic invertebrate assessment method is based on the same approach and it has been successfully intercalibrated (Birk et al., 2016). The system consists of metrics with proven relationships to stressors.

The classification method is verified for WFD compliance and IC feasibility and the class boundaries were compared with agreed boundaries from the MED-GIG intercalibration exercise following the instructions of the CIS Guidance Document 30: “Procedure to fit new or updated classification methods to the results of a completed intercalibration exercise” (Willby et al. 2014).

## 2.1. Methods and required BQE parameters

The Saprobit module represents normalized values of the Croatian saprobit index ( $SI_{HR}$ ), which is based on the Pantle Buck index, but with adapted indicator values. The General Degradation module is a multimetric index (General Degradation MI) that consists of 4 metrics: Index of Biocoenotic Region, EPT taxa, Number of families and Diversity (Shannon-Wiener-Index).

The Croatian national method is in accordance with the WFD compliance, as it takes into consideration all the indicative parameters which are mentioned in CIS Guidance document No 14 (2011): taxonomic composition, abundance, disturbance sensitive taxa to insensitive taxa, diversity and absence of major taxonomic groups (Table 1).

Table 1. Overview of the metric groups included in the Croatian national method for the assessment of IC type R-M5

MS	Taxonomic composition	Abundance	Sensitive / tolerant taxa	Diversity	Absence of major taxonomic groups
HR	x	x	x	x	x

Combination rule used in the method:

The Saprobit module is based solely on the EQR of the Croatian saprobit index ( $SI_{HR}$ ). The General Degradation module is a multimetric index ( $General\ Degradation_{MI}$ ) that equals the EQR values of 4 metrics as:  $0.4 * Index\ of\ Biocoenotic\ Region + 0.2 * EPT\ taxa + 0.2 * Number\ of\ families + 0.2 * Diversity$  (Shannon-Wiener-Index). The final assessment result equals the lower EQR value of the two modules.  $SI_{HR}$  responds to parameters linked to organic pollution such as biological oxygen demand, whereas the General Degradation module responds to land use pressure (Corine Land Cover), hydromorphological alternation and hydro-chemical pressures

Conclusion on the WFD compliance:

Most indicative parameters included.

## 2.2. Sampling and data processing

Description of sampling and data processing:

Sampling time and frequency;

The most favorable sampling time is spring (March-April), i.e. before mass swarms of adult insects emerge which takes place in May and June. If no flow-phases occur in this period, surveys should be timed before the drying events. The period of stable and low water levels should last long enough before sampling so that the macrozoobenthic community can be well-developed. Sampling shall not be undertaken: during high water levels and up to 3 weeks after high water level events, and during all other disturbances caused by natural processes.

### Sampling method;

All available microhabitats are sampled („multi-habitat sampling“) and 20 sub-samples are collected which are distributed according to the proportion of microhabitat types. Microhabitats that are represented by less than 5% are not sampled, but are recorded in the protocol. Microhabitat type represents a combination of inorganic and organic substrate. Sub-sample is sampled by raising the substrate that consists of substrate with accompanying animals from area of  $25 \times 25$  cm ( $0.0625 \text{ m}^2$ ). The channel substrate of each sampling site is classified according to AQEM Consortium (2002).

### Data processing

Index of Biocoenotic Region, EPT taxa, Number of families and Diversity (Shannon-Wiener-Index) are calculated using ASTERICS 4.04 software, whereas the Croatian saprobity index is calculated separately. Croatian Saprobit Index ( $SI_{HR}$ ) is an adapted saprobity index according to Pantle-Buck (1955):

$$SI_{HR} = \frac{\sum SIu_i}{\sum u_i}$$

where:

$SI_{HR}$  = saprobity index

$SIu_i$  = individual species/taxa indicator value

$u_i$  = number of individuals calculated per  $1 \text{ m}^2$

Indicator values of macrozoobenthic taxa (SI) are specific to Croatia.

### Identification level;

It is recommended that identification is conducted as detailed as possible, up to the level of species if possible. Required level of macrozoobenthos identification:

Table 2. Level of identification required for the Croatian national assessment

Systematic group	Level of identification	Systematic group	Level of identification
Porifera	genera	Ephemeroptera	genera, species
Hydrozoa	genera	Trichoptera	genera, species
Bryozoa	presence	Odonata	genera, species
Turbellaria	genera, species	Megaloptera	genera, species
Oligochaeta	family, genera, species	Heteroptera	genera, species
Hirudinea	genera, species	Coleoptera	genera, species
Mollusca	genera, species	Diptera	family, genera, species
Crustacea	genera, species	Hydrachnidia	presence
Plecoptera	genera, species		

### 2.3. National reference conditions

The settings for the national reference conditions of some chemical thresholds are given in the legal document Regulation on water quality standards (Uredba o standardu kakvoće voda, NN 96/2019), but this document is currently in the process of revision. Because of this, reference thresholds for this intercalibration fit in procedure follow those of the MED-GIG defined for IC type R-M5 (Feio, 2011):

In the MED GIG the reference sites are referred to as "benchmarks" as they represent the best available values determined for the abiotic data for the Mediterranean region. In Feio (2011) these two terms seem to be synonymized, so we also use the two as synonyms in this intercalibration fitting in procedure. Setting of the national reference conditions for general degradation follow those of the MED-GIG defined for IC types R-M5 (Table 3).

Table 3 – Criteria for identifying benchmarking sites for the MED GIG.

Pressure variables	Benchmarks are accepted if
	RMS
<b>Channelization</b> (classes 1-4)	≤ 2
<b>Bank alteration</b> (classes 1-4)	≤ 2
<b>Connectivity</b> (classes 1-4)	≤ 2
<b>Local habitat alteration</b> (classes 1-4)	≤ 2
<b>Stream Flow</b> (classes 1-4)	≤ 2
<b>Upstream dams influence</b> (classes 1-4)	≤ 2
<b>Hydropeaking</b> (classes 1-4)	≤ 2
<b>Riparian Vegetation</b> (classes 1-4)	≤ 2
<b>DO (mg/L)</b> <sup>1</sup>	6.39-13.70
<b>O<sub>2</sub> (%)</b>	60.34-127.92
<b>N-NH4<sup>+</sup> (mg/L)</b>	≤0.09
<b>N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (mg/L)</b>	≤1.15
<b>P-Total (mg/L)</b>	≤0.07
<b>P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (mg/L)</b>	≤0.06
<b>% Artificial areas (catchm)</b>	≤1
<b>% Intensive agriculture (catchm)</b>	≤11
<b>% Extensive agriculture (catchm)</b>	≤32
<b>% Semi-natural areas (catchm)</b>	≥68

### 2.4. NATIONAL boundary setting

The final EQR represents the “classical” boundaries (0.8; 0.6; etc.), seeing as the final score represents the lower value of the already transformed EQR-s of the modules: Saprobity and General Degradation. The setting of reference values was done based on alternative benchmark sites, since true reference sites are lacking (as seen in the Bulgarian example by Wolfram et al., 2016). The procedure followed the approach of

the Med GIG. The median of the metric values from the four benchmark sites is defined as H/G boundary. Using the inverse EQR ( $\text{ref} = \text{H/G boundary} / 0.8$ ), a (theoretical) reference value of all the metrics was calculated.

Although the National classification recognizes three types (= HR-R\_16A; HR-R\_16B; HR-R\_19) within the intercalibration type R-M5, the reference values are set equally for all types within an IC type. We acknowledge that the lack of type-specific reference values in the method is not substantially reasoned. It is possible that an extended analysis will result in different pressure-impact relationships in different types of rivers. This may result in differentiation of reference values (upper and lower anchors) for the metrics, additional differentiated normalization of the National classification system or possibly weighing the metrics before combination in the future. As the monitoring efforts are ongoing in this region of Croatia, a greater data set may possibly give a more accurate setting of the reference values for each national biotic river type, as well as the pressure response relationships.

### ***Saprobity index***

The lower anchor of the saprobity index represents the worst theoretical value of the metric (based on the operational taxa list) and equals 3.6. The median of the metric values from the four benchmark sites is defined as H/G boundary. Using the inverse EQR ( $\text{ref} = \text{H/G boundary} / 0.8$ ), a (theoretical) reference value for all the metrics was calculated. The high/good boundary for the saprobity index equaled 1.66. The upper anchor in R-M5 was calculated by retracting 20% from the high/good boundary and equaled 1.19. The value of the saprobity index in type R-M5 ranged from 1.28 to 2.60 (Table 4).

Table 4. Sites of IC type R-M5 against the criteria for reference sites (according to Feio, 2011) and their values of the saprobity index. Benchmark sites are highlighted.

<b>R-M5</b>		<b>O<sub>2</sub> (%)</b>	<b>N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (mg/L)</b>	<b>N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (mg/L)</b>	<b>P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (mg/L)</b>	<b>P-Total (mg/L)</b>	<b>% Semi-natural areas (catchm)</b>	<b>% Artificial areas (catchm)</b>	<b>Saprobity Index value</b>
Code	Site/ criteria	73.72-127.92	≤0.09	≤1.15	≤0.06	≤0.07	≥68	≤1	
30081	Dubračina. Crikvenica (igralište)	106.69	0.02	0.43	0.01	0.02	89.77	3.51	1.29
30082	Suha Novljanska Ričina. 1 km uzvodno od ušća	123.95	0.02	0.35	0.01	0.04	88.86	7.05	1.45
30084	Suha Ričina Baščanska. poslije Jurandvora	88.30	0.01	0.40	0.00	0.01	78.30	2.76	2.37
31009	Krvar. most na cesti Motovun-Pazin	98.00	0.01	0.43	0.00	0.07	63.85	0.00	1.94
31013	Bračana. uzvodno od ceste Buzet-Motovun	106.51	0.04	0.53	0.04	0.07	75.97	0.00	2.05
31014	Mala Huba. most na cesti Buzet-Motovun	100.61	0.05	0.83	0.02	0.05	52.52	4.91	2.35
31018	Draga Baredine. most Štuparija	94.64	0.02	0.35	0.01	0.07	68.67	0.00	1.30
31021	Raša. most Potpičan	97.77	0.01	0.44	0.01	0.05	66.85	0.54	2.60
31040	Dragonja. ušće. kod Kaštela	99.78	0.02	0.14	0.07	0.11	65.43	0.10	2.25
40140	Pritok Cetine uzvodno od Vinalića	88.67	0.02	0.39	0.01	0.01	68.05	1.30	1.37
40141	Zduški potok. prije utoka u Cetinu	107.88	0.03	0.48	0.02	0.03	29.90	4.18	1.28
40143	Donji kanal. pritok Cetine kod Trilja	58.14	1.19	0.77	0.21	0.36	77.22	0.82	1.83
40211	Jaruga. Ražanac	100.45	0.93	0.20	0.00	0.00	37.60	5.87	2.07
40220	Jaruga/Mijanovac. Zvjerinac	100.81	0.03	0.17	0.02	0.03	70.77	0.62	1.54
40221	Vodotok Bokanjac. prije ulaska u tunel	90.36	0.30	0.79	0.00	0.01	66.09	6.27	2.17
40315	Jaruga. Benkovac	82.63	0.18	1.69	0.06	0.07	51.79	9.22	1.50
40318	Baščica. uzvodno od Posedarja	93.34	0.01	0.62	0.00	0.01	21.34	5.90	1.92
40507	Šipovača. Jelavića most	78.22	0.06	0.55	0.00	0.02	52.95	10.41	2.23
40702	Taranta. uzvodno od Srebrenog	117.40	0.03	0.65	0.03	0.04	53.03	17.69	1.88

## General degradation

The General Degradation module consists of 4 metrics: Index of Biocoenotic Region, EPT taxa, Number of families and Diversity (Shannon-Wiener-Index). The median of the metric values from the four benchmark sites is defined as H/G boundary. Using the inverse EQR (ref = H/G boundary / 0.8), a reference value of all the metrics was calculated. (Table 5). The lower anchor for all metrics was set at the lowest value in the whole dataset.

Table 5. Metrics and their upper and lower anchors used in the calculation of the General Degradation module for IC type R-M5. Benchmark sites are highlighted.

Name	Index of Biocoenotic Region	EPT taxa	Number of families	Diversity (Shannon-Wiener-Index)
Zduški potok, prije utoka u Cetinu	5.85	2	17	1.31
Potok Kotluša - pritok Cetine uzvodno od Vinalića	4.70	17	33	1.87
Šipovača, Jelavića most	5.59	9	25	2.83
Donji kanal, pritok Cetine kod Trilja	6.80	5	20	2.59
Dubračina, Crikvenica (igralište)	6.00	21	26	2.62
Suha Ričina Baščanska, poslije Jurandvora	6.36	9	19	1.86
Suha Novljanska Ričina, 1 km uzvodno od ušća	6.60	5	19	1.80
Taranta, uzvodno od Srebrenog	5.71	3	14	1.46
Baščica, uzvodno od Posedarja	7.60	6	20	1.84
Jaruga/Mijanovac, Zvjerinac	4.70	5	33	2.12
Jaruga (Krivac), Benkovac	4.70	2	16	1.36
Vodotok Bokanjac, prije ulaska u tunel	9.00	2	11	1.31
Jaruga, Ražanac	7.14	11	16	3.22
Mala Huba, most na cesti Buzet-Motovun	6.83	5	20	2.27
Bračana, uzvodno od ceste Buzet-Motovun	5.78	21	18	2.62
Dragonja, ušće, kod Kaštela	6.72	14	31	2.93
Draga Baredine, most Štuparija	6.45	15	31	2.34
Raša, most Potpićan	5.52	6	22	1.76
Krvar, most na cesti Motovun-Pazin	3.93	14	21	2.37
Upper anchor	6.25	20	32.5	2.93
Lower anchor	9	2	11	1.31
Min	9	2	11	1.31
Max	3.93	21	33	3.22
Median of benchmark sites	5.24	16	26	2.35

## 2.5. PRESSURES ADDRESSED

The Croatian method addresses: 1) pollution by organic matter; 2) hydrochemical pressures; 3) catchment land use, and 4) habitat destruction (hydromorphological alteration). The Saprobitiy module addresses organic pollution, whereas other stressor responses are integrated in the General degradation module. The lower value of the two modules is the final score of the site and it gives a direct suggestion on which stressor should be addressed primarily if the score would be less favorable. This method is therefore comparable to the methods which are already successfully intercalibrated.

The following pressure-response relationships for the Croatian assessment method have been derived:

### Saprobitiy:

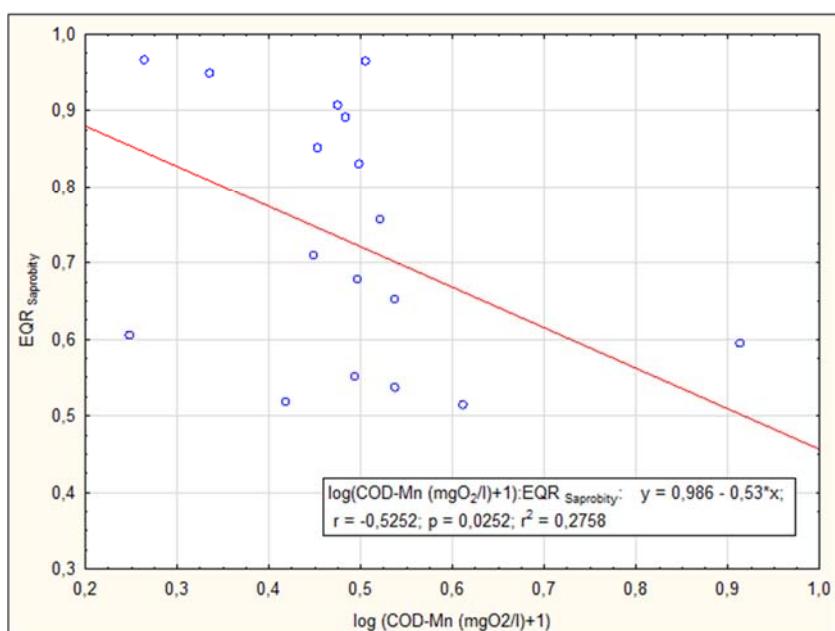
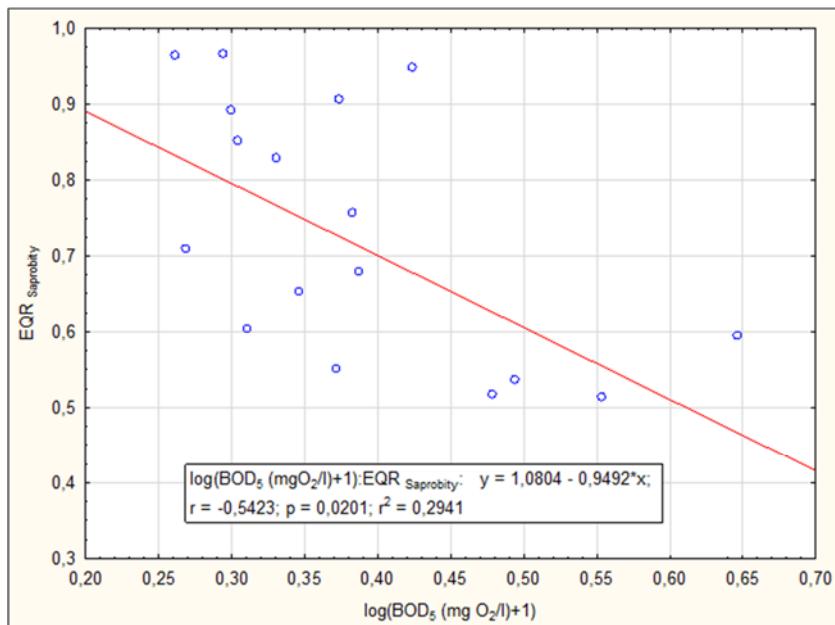


Figure 1. Pressure-Response relationship between biological oxygen demand (BOD) and chemical oxygen demand (COD) against the EQR values of the saprobitiy module in river type R-M5.

## General Degradation:

### Hydro-chemistry

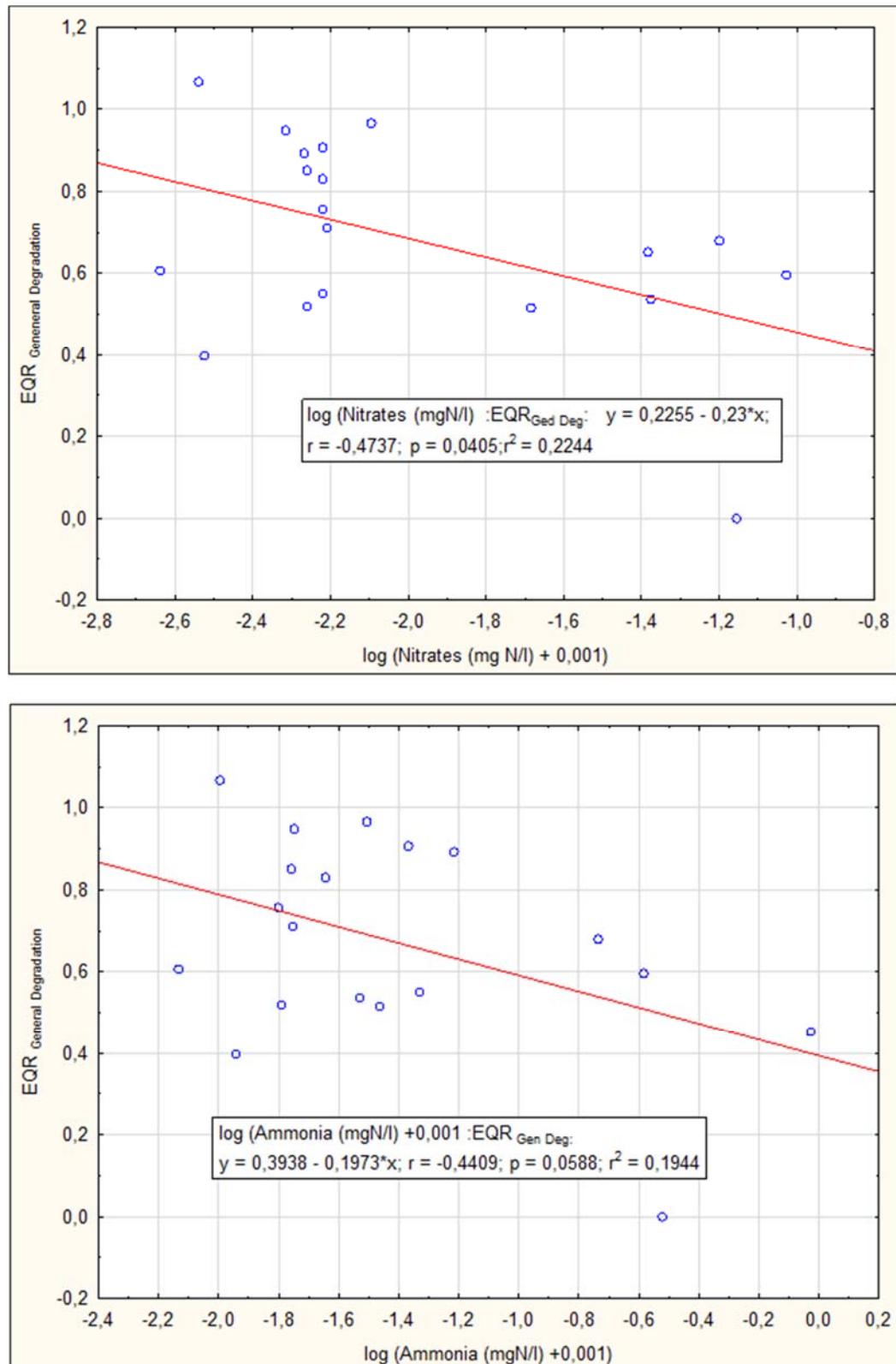


Figure 2. Pressure-Response relationship between chemical water properties against EQR of General Degradation module scores for sites of river types R-M5.

## Land use

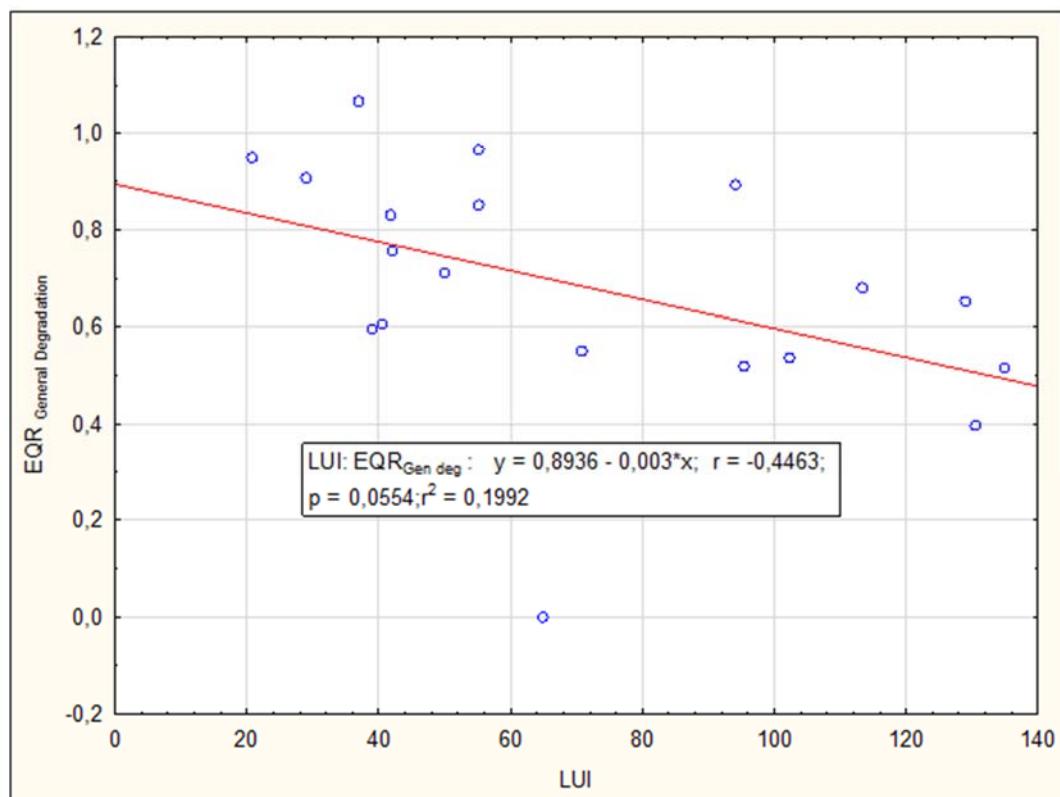
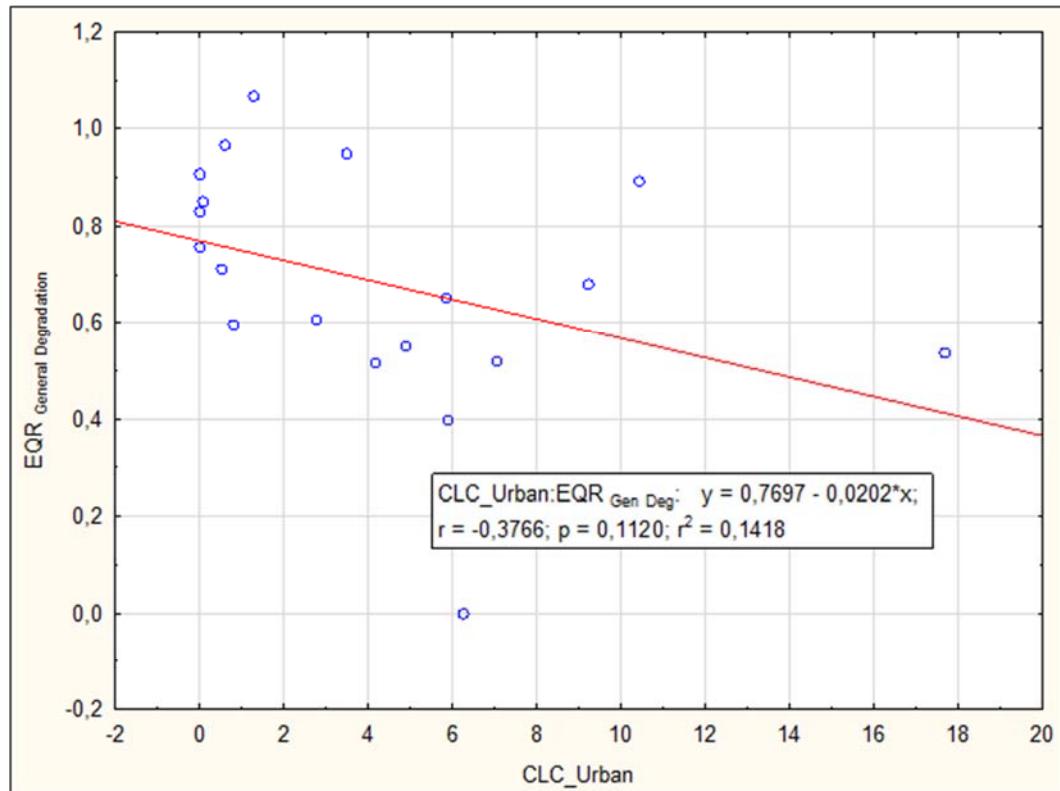


Figure 3. Pressure-Response relationship between Corine Land Cover (categorie urban) and the Land Use Index LUI and against EQR of General Degradation module scores for sites of river types R-M5.

## Hydromorphology

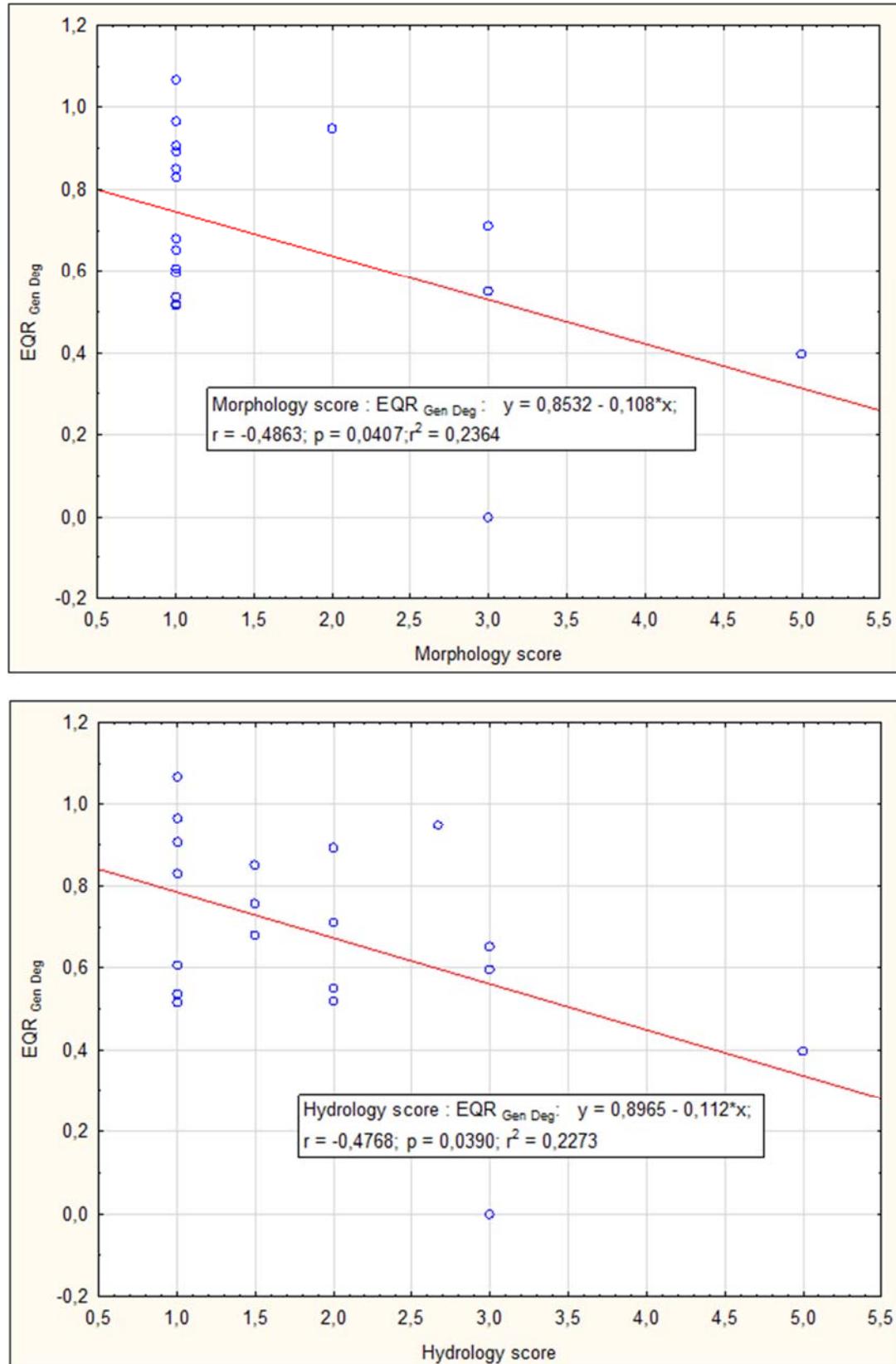


Figure 4. Pressure-Response relationship between morphological and hydrological river features against General Degradation module scores for sites of river types R-M5.

## Resume

For variables associated with organic enrichment, chemistry pressures and hydromorphology, significant regressions could be found. In the case of land use pressures, an evident trend is visible, although it is not statistically significant. It is concluded that both the Saprobiity Index and the General Degradation Multimetric Index clearly respond to anthropogenic impacts and can be used for the assessment of the ecological status.

### 3. WFD compliance checking

The first step in the Intercalibration process requires the checking of national methods considering the following WFD compliance criteria.

Table 6. List of the WFD compliance criteria and the WFD compliance checking process and results.

Compliance criteria	Compliance checking
Ecological status is classified by one of <b>five classes</b> (high, good, moderate, poor and bad).	yes
High, good and moderate ecological status are set in line with the WFD's <b>normative definitions (Boundary setting procedure)</b>	yes
All relevant parameters indicative of the biological quality element are covered (see Table 1 in the IC Guidance). A <b>combination rule</b> to combine parameter assessment into BQE assessment has to be defined. If parameters are missing, Member States need to demonstrate that the method is sufficiently indicative of the status of the QE as a whole	yes
Assessment is adapted to <b>intercalibration common types</b> that are defined in line with the typological requirements of the Annex II WFD and approved by WG ECOSTAT	yes
The water body is assessed against <b>type-specific near-natural reference conditions</b>	yes
Assessment results are expressed as <b>EQRs</b>	yes
Sampling procedure allows for <b>representative</b> information about water body quality/ecological status <b>in space and time</b>	yes
All data relevant for assessing the biological <b>parameters</b> specified in the WFD's normative definitions are covered by the <b>sampling procedure</b>	yes
Selected taxonomic level achieves adequate <b>confidence and precision</b> in classification	yes

## 4. IC Feasibility checking

The intercalibration process ideally covers all national assessment methods within a GIG. However, the comparison of dissimilar methods (“apples and pears”) has clearly to be avoided. Intercalibration exercise is focused on specific type / biological quality element / pressure combinations. The second step of the process introduces an “IC feasibility check” to restrict the actual intercalibration analysis to methods that address the same common type(s) and anthropogenic pressure(s), and follow a similar assessment concept.

### 4.1. Typology

The biological typology of running waters in Croatia was initially established in 2011 (Mihaljević et al.. 2011), mainly based on expert opinion, due to general lack of all data types: both biological and pressure data. Today, biological data in almost all types are sufficient, as well data on pressures such as water chemistry and land use. The data sets are still lacking hydromorphological scoring from many sites as the hydromorphological evaluation of running waters in Croatia began only recently, in 2017. The current assessment method has equal reference and “worst” metric values for several Croatian types, but in the future, with more data on hydromorphology we wish to fine-tune these values for every type. Hence, the typology will remain as initially determined.

Table 7. Overview of common intercalibration types in the Mediterranean rivers GIG and MS sharing the types.

Common IC type	Type characteristics
R-M1	catchment <100 km <sup>2</sup> ; mixed geology (except siliceous); highly seasonal
R-M2	catchment 100-1000 km <sup>2</sup> ; mixed geology (except siliceous); highly seasonal
R-M3	catchment 1000-10000 km <sup>2</sup> ; mixed geology (except siliceous); highly seasonal
R-M4	non-siliceous streams; highly seasonal
<b>R-M5</b>	<b>temporary rivers</b>

The typology in Croatia is more precise, distinguishing temporary Mediterranean rivers by not only catchment size, but also geographical subcoregions. Rivers of the sub-ecoregion Istra (Istrian peninsula; HR-R\_19) are assessed separately from the rest of the rivers of the Dinaric coastal subcoregion (HR-R\_16A and HR-R\_16B) due to some geological differences.

Table 8. Comparison of the intercallibartion types with the Croatian typology.

Common IC type	Croatian typology	Croatian type characteristics
<b>R-M5</b>	HR-R_16A	Small and medium temporary foothill rivers of the Dinaric coastal subcoregion
	HR-R_16B	Small lowland temporary rivers of the Dinaric coastal subcoregion
	HR-R_19	Small temporary rivers of the Istria subcoregion

#### 4.2. Pressures addressed

The pressure gradient has been assessed for the Corine Land Cover (CLC) as well as the land use index, which is derived from CLC and defined as:

$$\text{LUI} = 4 * \text{CLC urban} + 2 * \text{CLC intensive agriculture} + \text{CLC extensive agriculture}$$

The ranges of the CLC and LUI in the two river types are:

CLC/LUI	range R-M5
CLC urban	0 – 17.69
CLC agr. intens.	0 – 52.17
CLC agr. extens.	1.11 – 38.61
CLC natural	21.34 – 89.77
LUI	20.75 – 134.81

The morphological and hydrological alteration scale ranges from 1 (no) to 5 (high; Fig 4).

The ranges for the chemical variables tested are:

Chemical variable	range R-M5
BOD <sub>5</sub> [mg/l]	0.825 – 3.431
COD [mg/l]	0.768 – 7.816
PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> P [mg/l]	0.00 – 0.368
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> N [mg/l]	0.171 – 1.689
NH <sub>4</sub> <sup>-</sup> N [mg/l]	0.006 – 0.931
Total P [mg/l]	0.365 – 18.516

The different pressure gradients covered by the national data set are considered to be sufficient.

#### 4.3. Assessment concept

DOES THE NATIONAL METHOD FOLLOW THE SAME ASSESSMENT CONCEPT AS OTHER METHODS IN THE INTERCALIBRATION GROUP? PROVIDE EVALUATION OF IC FEASIBILITY REGARDING ASSESSMENT CONCEPT OF THE INTERCALIBRATED METHODS

Table 9. Data acceptance criteria used for the data quality control and describing the data acceptance checking process and results (Feio 2011).

Data acceptance criteria	Data acceptance checking Croatia	
Data requirements (obligatory and optional)	Common pressure data, common environmental data, correctly checked typologies and geographical location and biotic data, all properly introduced in harmonized excel files.	+
The sampling and analytical methodology	All MS sampling methods use a multi-habitat approach. All MS have indicated a response of their indices to pressure using statistical tools.	+
Level of taxonomic precision required and taxa lists with codes	Family level is required	+
The minimum number of sites / samples per intercalibration type	minimum of 15 benchmark sites by IC type are available.	-*
Sufficient covering of all relevant quality classes per type	Yes	-*

\*relevant for the previous IC exercise, but not for join-in procedure

#### 4.4. conclusion on the Intercalibration feasibility

THE NUMBER OF SITES FULLY COMPLYING IN TERMS OF THE TYPE CRITERIA IS HIGH ENOUGH FOR CARRYING OUT THE IC EXERCISE. IT IS CONCLUDED THAT THE INTERCALIBRATION IS FEASIBLE FOR THE TYPE R-M5

### 5. Demonstrating the compliance with the completed intercalibration exercise

#### 5.1. Background

Following the CIS Guidance No. 30 (Willby et al. 2014), case A1 will be applied for the assessment method using invertebrates in the Med GIG river types R-M1 and R-M2.

#### 5.2. Description of IC dataset

*i. Full details of the common metric (e.g. species scores and metric weights)*

*ii. A suitable site x biology dataset covering a range of environmental quality from which the national EQR and common metric can be calculated*

*iii. Accompanying pressure data in the same format as that used in the completed exercise*

*iv. Information on the specific thresholds already used in the completed exercise to define reference or alternative benchmark sites (e.g. human population density, extent of agricultural land in the catchment, nutrient concentrations, etc.)*

*v. Details of exactly how the benchmarking was undertaken in the completed exercise (e.g. creation of a common metric EQR by dividing the observed value by the median common metric value of a set of national reference or benchmark sites). If the completed exercise concluded that benchmarking was not necessary*

*the mean value of the benchmark sites from each country must be provided so that the joining Member State can also judge the need to benchmark its own method*

*vi. Values of the global mean view of the HG and GM boundaries on the common metric scale for the Member States who participated in the completed exercise.*

### 5.3. Description of Intercalibration procedure

*1. Calculate the common metric (CM) on the national dataset.*

*2. Use the associated pressure data to identify sites in the national dataset that meet the criteria established by the GIG for the selection of benchmark or reference sites.*

*3. Standardise the common metric (CM\_bm) against the benchmark according to the approach used in the completed exercise. If benchmark standardisation was concluded not to be required in the completed exercise the mean CM value of the joining method's benchmark sites must lie inside the range of mean values of the benchmark sites of the methods already intercalibrated for this conclusion to remain applicable. If the joining method's benchmark sites lie outside of this range the joining method must benchmark standardise its sites relative to the global mean CM value of the benchmark sites included in the completed exercise. These scenarios are illustrated in Table 1 and 2 of the IC Manual.*

*4. Use OLS regression to establish the relationship between CM\_bm (y) and the EQR of the joining method (x). A specialist case is that when a joining method relies exclusively on the common metric developed in the completed exercise for its classification rather than devising an original method (then being more like Option 1). In such cases a regression would be meaningless as y is directly dependent on x. The goal for an MS choosing to use the CM as the basis for their method is simple – after any benchmarking their boundaries must simply lie within one quarter of class of the global mean view.*

*5. Predict the position of the national class boundaries (MP, GM, HG and reference) on the CM\_bm scale.*

*6. Apply the comparability criteria as summarised in Chapter 6 of the IC Manual.*

Benchmark standardization;

Benchmark sites are listed in chapter 2.4 as the reference criteria for the national assessment methodology was the same as for types R-M5 of the MED GIG provided by Feio (2011).

Calculation of Intercalibration Common metrics (ICM) or Best-Related Intercalibrated National Classification (BRINC);

The ICM includes the following 6 metrics are used: average score per taxon, log 10 (sel\_EPTD+1), 1-GOLD, total number of taxa Families, number of EPT taxa (Families) and the Shannon-Wiener diversity index. The index is described in Buffagni et al. (2006). The main steps are:

Normalization of the single metrics by dividing the original values by the 75<sup>th</sup> percentile of high status sites within the national data sets

Calculation the iCM:

$$iCM = a * ASPT + b * \log_{10}(sel\_EPTD+1) + c * 1-GOLD + d * No.Fam + e * EPT + f * H'$$

a – f weights for the six metrics:

ASPT a = 0.333

$\log_{10}(sel\_EPTD+1)$  b = 0.266

1-GOLD c = 0.067

No.Fam d = 0.167

EPT e = 0.083

Shannon-Wiener H' f = 0.083

Normalization of the iCM (\_norm. iCM) and of the EQR (\_ norm. EQR) by dividing the original values by the 75<sup>th</sup> percentile of benchmark sites within the national data sets (Table 10)

Table 10. Metric normalization and intercalibration common metric iCM calculation for the comparison with the national assessment methodology.

Code	Site	Average score per Taxon	Norm. ASPT	log(sel EPTD+1)	Norm log(sel EPTD+1)	(1-GOLD)	Norm (1-GOLD)	Number of Families	Norm. Num. Of Fam.	- EPT-Taxa	Norm. EPT	Diversity (Shannon-Wiener-Index)	Norm H'	National EQR	iCM	norm ICM
<b>M5</b>																
40141	Zduški potok, prije utoka u Cetinu	4.23	0.67	0.51	0.97	0.08	0.12	17.00	0.65	2.00	0.13	1.31	0.56	0.51	0.65	0.64
40140	Potok Kotluša - pritok Cetine uzvodno od Vinalića	6.70	1.06	0.56	1.05	0.61	0.96	33.00	1.27	17.00	1.06	1.87	0.80	0.93	1.06	1.04
40507	Šipovača, Jelavića most	6.17	0.98	0.51	0.95	0.71	1.11	25.00	0.96	9.00	0.56	2.83	1.20	0.57	0.96	0.94
40143	Donji kanal, pritok Cetine kod Trilja	5.39	0.85	0.56	1.05	0.21	0.33	20.00	0.77	5.00	0.31	2.59	1.10	0.60	0.83	0.82
30081	Dubračina, Crikvenica (igralište)	5.78	0.92	0.57	1.08	0.89	1.40	26.00	1.00	21.00	1.31	2.62	1.11	0.95	1.05	1.03
30084	Suha Ričina Baščanska, poslije Jurandvora	5.42	0.86	0.42	0.80	0.71	1.12	19.00	0.73	9.00	0.56	1.86	0.79	0.51	0.81	0.79
30082	Suha Novljanska Ričina, 1 km uzvodno od ušća	5.30	0.84	0.41	0.78	0.89	1.40	19.00	0.73	5.00	0.31	1.80	0.76	0.52	0.79	0.78
40702	Taranta, uzvodno od Srebrenog	4.31	0.68	0.29	0.55	0.34	0.54	14.00	0.54	3.00	0.19	1.46	0.62	0.54	0.57	0.56
40318	Baščica, uzvodno od Posedarja	5.67	0.90	0.54	1.01	0.29	0.46	20.00	0.77	6.00	0.38	1.84	0.78	0.40	0.82	0.81
40220	Jaruga/Mijanovac, Zvjerinac	4.91	0.78	0.50	0.94	0.54	0.85	33.00	1.27	5.00	0.31	2.12	0.90	0.85	0.88	0.86
40315	Jaruga (Kričevac), Benkovac	4.25	0.67	0.43	0.80	0.26	0.41	16.00	0.62	2.00	0.13	1.36	0.58	0.68	0.63	0.61
40221	Vodotok Bokanjac, prije ulaska u tunel	3.03	0.48	0.00	0.00	0.08	0.12	11.00	0.42	2.00	0.13	1.31	0.56	0.00	0.30	0.29
40211	Jaruga, Ražanac	5.48	0.87	0.46	0.86	0.58	0.91	16.00	0.62	11.00	0.69	3.22	1.37	0.64	0.85	0.84
31014	Mala Huba, most na cesti Buzet-Motovun	4.82	0.76	0.00	0.00	0.68	1.06	20.00	0.77	5.00	0.31	2.27	0.96	0.52	0.56	0.55
31013	Bračana, uzvodno od ceste Buzet-Motovun	6.42	1.02	0.51	0.95	0.63	0.99	18.00	0.69	21.00	1.31	2.62	1.11	0.64	0.98	0.96
31040	Dragonja, ušće, kod Kaštela	5.81	0.92	0.42	0.79	0.34	0.54	31.00	1.19	14.00	0.88	2.93	1.24	0.56	0.93	0.91
31018	Draga Baredine, most Štuparija	6.20	0.98	0.57	1.08	0.89	1.40	31.00	1.19	15.00	0.94	2.34	1.00	0.83	1.07	1.05
31021	Raša, most Potpičan	5.17	0.82	0.36	0.68	0.52	0.81	22.00	0.85	6.00	0.38	1.76	0.75	0.42	0.74	0.73
31009	Krvar, most na cesti Motovun-Pazin	4.67	0.74	0.29	0.55	0.64	1.01	21.00	0.81	14.00	0.88	2.37	1.00	0.69	0.75	0.74
<b>Metric median of benchmark sites</b>		<b>6.31</b>		<b>0.53</b>		<b>0.64</b>		<b>26.00</b>		<b>16.00</b>		<b>2.35</b>			<b>1.02</b>	

Translation of national boundaries to ICM or BRINC:

The correlation between the EQR values from the national assessment method and the normalized iCM is statistically significant (Spearman corr. R=0,688; p<0,05), meeting the requirement set during the intercalibration exercise ( $R \geq 0,5$ ). The OLS regression of the two variables is shown in figure 5.

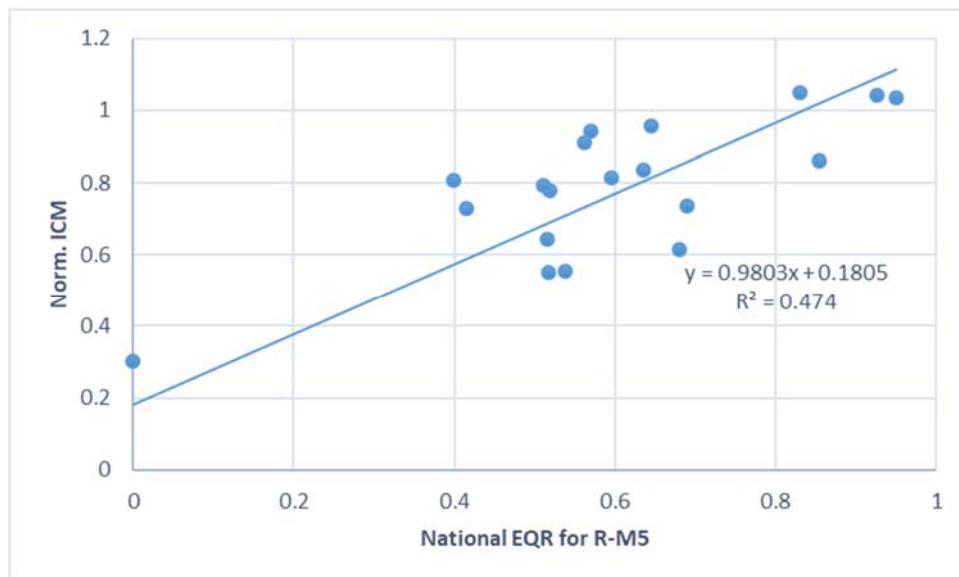


Figure 5. OLS regression to establish the relationship between normalized iCM (y) and the EQR of the joining method (x) for the IC river type R-M5.

Calculating boundary bias;

The global mean views of the H/G and G/M boundaries for IC river types R-M5 in the MedGIG can be derived from the final table of harmonized class boundaries (Feio, 2011).

H/G boundary global mean view of iCM is 0.975

G/M boundary global mean view of iCM is 0.722

Calculating boundary bias for R-M5:

National EQR	Norm. ICM R-M5	Global mean view	Deviation from global mean view	Class width	deviation expressed as proportion
1	1.1608				
0,8	0.96474	0.975	-0.01026	0.19606	-5%
0,6	0.76868	0.722	0.04668	0.19606	24%
0,4	0.57262				
0,2	0.37656				

Harmonizing of boundaries

The national H/G boundary on the common metric scale falls below the global mean view the and G/M boundary is above the global mean view for M5. The amount of the deviation expressed as a proportion of the width of the (national) good and high status classes on the common metric scale is ≤0.25 for all the boundaries. Therefore, there is no need to adjust the boundaries.

#### 5.4. Final boundaries

Final boundaries for R-M5:

National EQR	Norm. ICM R-M5
1	1.1608
0.8	0.96474
0.6	0.76868
0.4	0.57262
0.2	0.37656

### 6. Description of the biological communities

Description of the biological communities at HIGH status

In high status sites of the R-M5 are dominated by rheophile invertebrate taxa, showing values of the Rhithron Type Index of 8 and more. Taxa sensitive to hydromorphological degradation and taxa very sensitive to organic pollution are present in high abundances.

Description of the biological communities at good status

In good status sites of the R-M5 rheophile invertebrate taxa are present in high numbers, showing values of the Rhithron Type Index of around 6. Taxa sensitive to hydromorphological degradation and taxa very sensitive to organic pollution are present.

Description of the biological communities at moderate status

In moderate status sites of the R-M5 rheophile invertebrate taxa are abundant, but generalist also present in relatively high abundances, values of the Rhithron Type Index of around 5. Taxa sensitive to hydromorphological degradation and taxa very sensitive to organic pollution are also present but in less abundance than tolerant taxa.

## 7. References

- AQEM Consortium 2002. Manual for the application of the AQEM system. A comprehensive method to assess European streams using benthic macroinvertebrates, developed for the purpose of the Water Framework Directive. Version 1, February 2002: 198 pp.
- Birk S, Böhmer J, Schöll F. 2016. XGIG Large River Intercalibration Exercise - Milestone 6 Report - Intercalibrating the national classifications of ecological status for very large rivers in Europe – Biological Quality Element: Benthic Invertebrates - Version 2, 228 p.
- Buffagni A, Erba S, Cazzola M, Murray-Bligh J, Soszka H, Genoni P (2006). The STAR common metrics approach to the WFD intercalibration process: Full application for small, lowland rivers in three European countries. *Hydrobiologia* 566: 379-399.
- CIS Guidance Document No. 14. 2011. Guidance document on the intercalibration process 2008–2011. Implementation strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC). European Commission, Technical report-2011-045.
- Feio M J (ed., 2011). WFD Intercalibration Phase 2: Milestone 6 report – River/Med GIG /Benthic Invertebrates (30th Decemebr 2011). European Commission Directorate General, JRC, Institute of Environment and Sustainability.
- Mihaljević Z, Kerovec M, Mrakovčić M, Plenković A, Alegro A, Primc-Habdić B. 2011. Testiranje bioloških metoda ocjene ekološkog stanja (Ovkirna direktiva o vodama. 2000/60/EC) u reprezentativnim slivovima Panonske i Dinaričke ekoregije. PMF. Sveučilište u Zagrebu. Zagreb. [Testing of biological methods for ecological status assessment (Water framework directive 2000/60/EC) in representative river basins of the Pannonian and Dinaric ecoregions].
- Willby, N., S. Birk, S. Poikane & W. van de Bund 2014. Water Framework Directive Intercalibration Manual – Procedure to fit new or updated classification methods to the results of a completed intercalibration. JRC Technical Report, Luxembourg, Ispra.
- Wolfram et al. (2016): Report on fitting a new classification method to the results of the completed intercalibration of the Med GIG (R-M2) – BQE: Benthic invertebrates – Version 2.2 (submitted): 32 pp., commissioned by the Ministry of Environment and Water of Bulgaria.

## Prilog 3

Report on fitting the Croatian classification method for phytobenthos in rivers to the results of the completed intercalibration of the Mediterranean GIG (R-M1, R-M2 and R-M5)

Working Group:

Petar Žutinić, Marija Gligora Udovič, Mirela Šušnjara, Antonija Kulaš

Division of Botany, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb

Status of the document: Revised version 3.0

Hrvatske vode

Zagreb, October 09<sup>th</sup> 2020

# Report on fitting the Croatian classification method for phytobenthos in rivers to the results of the completed intercalibration of the Mediterranean GIG (R-M1, R-M2 and R-M5)

## 1. INTRODUCTION

The official intercalibration exercise of phytobenthos-based methods of ecological status assessment of rivers within the Mediterranean GIG was successfully finalized in 2012 (Milestone 6 Report 2012). The results of the first phase were included in the first Commission Decision (COM DEC 2008/915/EC). In the second phase the exercise was repeated using larger datasets in order to be fully compliant with the requirements of the new guidance, and its results were included in the second Commission Decision (COM DEC 2013/480/EC). Croatia did not participate in any rounds of the intercalibration exercise with data for Phytobenthos.

The goal of this report is to declare that the present Croatian assessment method of ecological status of Mediterranean rivers of the IC types (R-M1, R-M2 and R-M5) based on benthic diatoms is compliant with the WFD normative definitions and its class boundaries are in accordance with the results of the completed intercalibration exercise.

In particular, the classification method was verified for WFD compliance and IC feasibility and the class boundaries were compared with agreed boundaries from the Med-GIG intercalibration exercise following the instructions of the CIS Guidance Document n°30: "Procedure to fit new or updated classification methods to the results of a completed intercalibration exercise" (Willby et al. 2014).

## 2. TYPOLOGY

Within the Med GIG five common IC river types were considered for intercalibration of phytobenthos (*Table 1*). Types R-M1, R-M2 and R-M4 were treated together following the same principles throughout the intercalibration process of phytobenthos, whilst R-M5 was treated separately. Type R-M3 was not intercalibrated due to the lack of comparability between MS methods and insufficient number of reference sites.

*Table 1.* Common IC river types in the Mediterranean GIG from the Milestone 6 report (Milestone 6 Report 2012).

IC type	Type characteristics	MS sharing IC common type
RM1	catchment <100 km <sup>2</sup> ; mixed geology (except non-siliceous); highly seasonal	SP, FR, IT, PT, SI, HR
RM2	catchment 100-1000 km <sup>2</sup> ; mixed geology (except non-siliceous); highly seasonal	SP, IT, PT, SI, HR
RM3	catchment 1000-10000 km <sup>2</sup> ; mixed geology (except siliceous); highly seasonal	This type cannot be intercalibrated due to the lack of comparability between MS methods and insufficient number of reference sites.
RM4	non-siliceous streams; highly seasonal	IT, CY, SP, FR
RM5	temporary rivers	SP, IT, PT, CY, SI, HR

The Croatian rivers included in this report belonging to 9 national types with pertaining sub-types (HR-R\_11A, HR-R\_11B, HR-R\_12, HR-R\_13A, HR-R\_13B, HR-R\_14A, HR-R\_14B, HR-R\_14C, HR-R\_15A, HR-R\_15B, HR-R\_16A, HR-R\_16B, HR-R\_17, HR-R\_18 and HR-R\_19), as part of the Dinaric Western Balkan ecoregion (ER5; sensu Illies 1978), are grouped into 3 common IC MED-river GIG types: R-M1, R-M2 and R-M5 (*Table 2*). They are all part of the Adriatic drainage system located along the Adriatic coastline stretching in the northwest-southeast direction. The rivers are influenced by mostly Mediterranean and partly continental climate with significant seasonal flow fluctuations.

*Table 2.* Croatian river types included into common IC river types of the Mediterranean GIG, together with the reference and poorest values of Croatian Trophic Diatom Index ( $TDI_{HR}$ ) of each national river type.

ECOREGION	NATIONAL TYPE NAME	NATIONAL TYPE	NATIONAL INDEX	Reference value	Poorest value	IC TYPE
DINARIC ECOREGION (5. DINARIC WESTERN BALKAN)	Small lowland and upland rivers	HR-R_11A	$TDI_{HR}$	1,90	4,58	M1
		HR-R_11B				
	Medium and large upland rivers	HR-R_12	$TDI_{HR}$	1,83	4,58	M2
	Medium and large lowland rivers	HR-R_13A	$TDI_{HR}$	1,83	4,58	M2
		HR-R_13B				
	Small short-flow lowland rivers with a channel drop >5 %o	HR-R_14A	$TDI_{HR}$	1,90	4,58	M1
	Medium short-flow lowland rivers with a channel drop >5 %o	HR-R_14B	$TDI_{HR}$	1,83	4,58	M2
	Large short-flow lowland rivers with a channel drop >5 %o	HR-R_14C	$TDI_{HR}$	1,83	4,58	M2
	Small and medium rivers in karst fields	HR-R_15A	$TDI_{HR}$	1,90	4,58	M1
	Medium rivers in karst fields	HR-R_15B	$TDI_{HR}$	1,83	4,58	M2
INTERMITTENT RIVERS	Small and medium upland intermittent running waters	HR-R_16A	$TDI_{HR}$	2,45	4,58	M5
		HR-R_16B				
ISTRIA	Small lowland and upland rivers in Istria	HR-R_17	$TDI_{HR}$	1,90	4,58	M1
	Medium lowland rivers in Istria	HR-R_18	$TDI_{HR}$	1,83	4,58	M2
	Small lowland intermittent rivers in Istria	HR-R_19	$TDI_{HR}$	2,45	4,58	M5

#### Description of national assessment methods

The Croatian national method for ecological status assessment of rivers considers benthic diatoms as proxies for phytoplankton. It is compliant with normative definitions of WFD used by other MS and takes into account both taxonomic composition and species' relative abundance of benthic diatom assemblages. Sampling, sample treatment, diatom identification and data processing are based on the European standards EN 13946: 2014 and EN 14407: 2014 (European Committee for Standardization, 2014a, b). Ecological status is evaluated using  $TDI_{HR}$  (Croatian Trophic Diatom Index), a diatom metric modified from Rott's Trophic Index (Rott et al. 1999). The complete procedure is described in detail in the "Methodology for sampling, laboratory analyses and determination of ecological quality ratios for biological quality elements" (Official Gazette 96/19).

#### 2.1. Sampling and data processing

Sampling method: Benthic diatoms are scrubbed from hard substrata (minimum of five stones) in the main water current of the river, in the well exposed euphotic zone.

**Sampling time and frequency:** Sampling is performed once a year, principally in spring time during favourable and stable water level.

**Sample treatment/data processing:** Diatom samples in the laboratory are treated according to Standard HRN EN 13946:2014, where the hydrochloric acid is used to remove inorganic material, and sulphuric acid or hot hydrogen peroxide are used to remove all the organic material. Permanent slides are prepared by mounting clean diatom suspension with Naphrax on the microscopic slides.

**Identification level:** Around 400 valves are counted and identified to the lowest taxonomic level possible on each slide using light microscope with Differential Interference Contrast at 1000 x magnification.

## 2.2. Description of national methodology

**Metric calculation:** Trophic indicator values and weights of all identified diatom species were defined according to the extended Operational list of diatom taxa for rivers included in the “Methodology for sampling, laboratory analyses and determination of ecological quality ratios for biological quality elements” (Official Gazette 96/19). Taxa list of diatoms with assigned indicator values and weights and with corresponding relative abundances is used for calculation of  $TDI_{HR}$  by using the modified Zelinka-Marwan equation (1961):

$$TDI_{HR} = \frac{\sum_{i=1}^n Ai \times IVi \times IWi}{\sum_{i=1}^n Ai \times IWi}$$

Where:

$Ai$  = Total number of cells/valves of a species in the sample, representing the number of a certain species on 400 counted diatoms.

$IVi$  = Indicator value (tolerance) of a species

$IWi$  = Indicator weight (sensitivity) of a species

**ES assessment:** Ecological status is assessed on the basis of EQR values of  $TDI_{HR}$ .  $EQR\_TDI_{HR}$  is calculated using the formula described in the “Methodology for sampling, laboratory analyses and determination of ecological quality ratios for biological quality elements” (Official Gazette 96/19):

$$EQR\_TDI_{HR} = \frac{Index\ value - Poorest\ value}{Reference\ value - Poorest\ value}$$

## 2.3. National boundary setting

The national dataset utilized for intercalibration comprises data coming from a total of 56 samples coming from 37 streams (*Table 3*). Hydrochemical data, including basic physico-chemical data (total phosphorus, orthophosphates, total nitrogen, nitrates, nitrites, ammonium, oxygen saturation) and land-use data in catchment (artificial areas, intensive and non-intensive agriculture, semi-natural areas), as well as the biological data ( $TDI_{HR}$ , diatom taxalist with relative abundances) are available for all samples concerned (*Table 4*). The pressure gradient is considered sufficient, although the worst part of the gradient is less well represented as no sites with poor and just one site with bad status were present in sampling.

*Table 3.* List of data available in the national dataset included in the intercalibration.

IC type	Present	Number of samples	Physico-chemical data	Hydro-morphological data	Biological data	Complete dataset	Number of benchmark samples
R-M1	Yes	15	15	15	15	15	6

R-M2	Yes	22	22	22	22	22	10
R-M3	No	-	-	-	-	-	-
R-M4	No	-	-	-	-	-	-
R-M5	Yes	19	19	19	19	19	3

Table 4. Range of values of different environmental variables at river sites included in the intercalibration.

(N=56)	MIN	MAX
P-Total (TP) [mg L <sup>-1</sup> ]	0.0045	0.5498
P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> [mg L <sup>-1</sup> ]	0.0015	0.3669
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [mg L <sup>-1</sup> ]	0.0048	2.6167
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> [mg L <sup>-1</sup> ]	0.0010	7.1591
N-Total (TN) [mg L <sup>-1</sup> ]	0.3100	18.5167
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> [mg L <sup>-1</sup> ]	0.0005	0.2517
O <sub>2</sub> %	58.1	165.1
Artificial areas (catchment) [%]	0.0	25.7
Intensive agriculture (catchment) [%]	0.0	52.2
Extensive agriculture (catchment) [%]	0.0	38.6
Semi-natural areas (catchment) [%]	21.3	99.1
TDI <sub>HR</sub>	1.33	4.58

Selection of benchmark sites was based on the Mediterranean GIG-river common benchmark criteria from the MED-GIG Rivers Milestone 6 report: Phytobenthos (2012). The benchmark criteria were selected for both abiotic (water chemistry and land-use) and biotic parameters (TDI<sub>HR</sub>) to ensure that the intensity of human activities at the selected sites is low and has only very minor impacts on diatom assemblages.

The benchmark criteria of abiotic parameters (land-use and hydrochemical criteria) were adopted from the MED-GIG Intercalibration of diatoms and macrophytes (Table 5).

Table 5. Criteria for identifying benchmark sites for the MED-GIG from the Milestone 6 report (2012).

Pressure variables	Benchmarks are accepted if	
	RM1+RM2+RM4	RM5
General Morphology (Classes 1-3)		
General Hydrology (Classes 1-3)	≤ 2	
Riparian Vegetation (Classes 1-3)		
DO (mg/L) <sup>1</sup>	6.39-13.70	
O <sub>2</sub> (%)	73.72-127.92	60.34-127.92
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	≤0.09	
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	≤1.15	
P-Total (mg L <sup>-1</sup> )	≤0.07	
P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	≤0.06	
% Artificial areas (catchment)	≤1	
% Intensive agriculture (catchment)	≤11	
% Extensive agriculture (catchment)	≤32	

% Semi-natural areas (catchment)	$\geq 68$
% Urbanisation (reach) <sup>2</sup>	$\leq 1$
% Land use (reach) <sup>2</sup>	$\leq 20$
% Agriculture (reach) <sup>2</sup>	$\leq 20$

<sup>1</sup> for macrophytes only, instead of O<sub>2</sub> (%)

<sup>2</sup> for diatoms only, instead of land use in the catchment

Only sites that met land-use and hydro-chemical criteria were included into the boundary setting protocol. From the total of 15 samples in the R-M1 type, six samples met the given benchmark criteria. For the R-M2 type, 10 of the 22 samples were identified as benchmark sites. As for the R-M5 type, three out of the 19 samples complied to the MED-GIG benchmark criteria (*Table 3*). According to the CIS Guidance No. 30 (Willby et al. 2014), implementation of case A1 is plausible when a sufficient number of reference condition or other high quality sites that can be used for benchmarking, i.e. a minimum of three sites, is present in the national dataset.

#### Setting of reference and poorest values:

The reference values of national types included in the IC were adjusted for further IC process. Therefore, 10th percentile of TDI<sub>HR</sub> of benchmark sites for corresponding IC type was calculated and set as reference value (*Table 2*).

The poorest value of TDI<sub>HR</sub> was taken as the lowest value of TDI<sub>HR</sub> on all samples that were included in the IC Med-river GIG types (*Table 2*).

#### Setting of EQR boundaries:

The High/Good EQR boundary was derived from EQR variability at available spatial based benchmark sites. The remaining degradation continuum was divided into four equal width classes.

H/G boundary = median of benchmark sites

G/M boundary = H/G \* 0.75

M/P boundary = H/G \* 0.50

P/B boundary = H/G \* 0.25

Summary of the class boundaries for the EQR\_TDI<sub>HR</sub> values are presented in *Table 6*.

*Table 6. Summary of the class boundaries for the EQR\_TDI<sub>HR</sub> values in the IC river types.*

	R-M1	R-M2	R-M5
Reference TDI <sub>HR</sub> values	1.90	1.83	2.45
Reference	1.00	1.00	1.00
High/Good Boundary	0.83	0.83	0.85
Good/Moderate Boundary	0.55	0.55	0.59
Moderate/Poor Boundary	0.41	0.41	0.48
Poor/Bad Boundary	0.21	0.21	0.24

EQR\_TDI<sub>HR</sub> is used as the final metric in comparison with the intercalibration common metric (ICM).

## 2.4. Pressure addressed

The different national methods of the MS of the completed intercalibration exercise were reported to mainly address eutrophication, organic matter and general degradation (MED-GIG Rivers Milestone 6 report 2012). Statistical analyses were performed to explore the responsiveness of the national diatom-based assessment method to various anthropogenic stressors.

The pressure-response relationships were tested via:

non-parametric Spearman rank correlations of the national diatom metric ( $TDI_{HR}$ ) with environmental parameters (P-Total (TP), P- $PO_4^{3-}$ , N-Total (TN), N- $NO_3^-$ , N- $NO_2^-$ , N- $NH_4^+$ , oxygen saturation) and general land-use and hydrology parameters

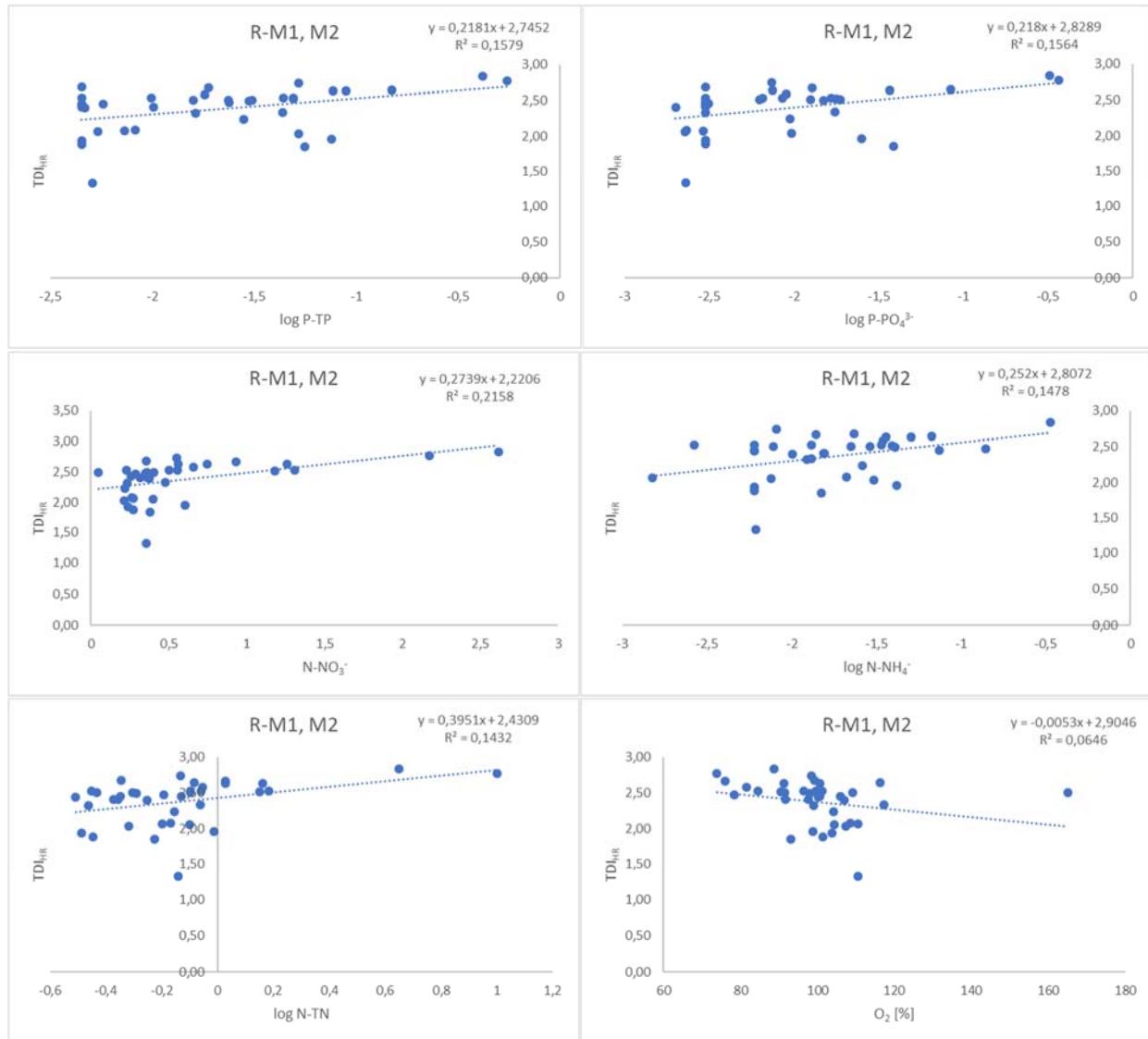
linear regressions of the national diatom metric ( $TDI_{HR}$ ) with pressure variables.

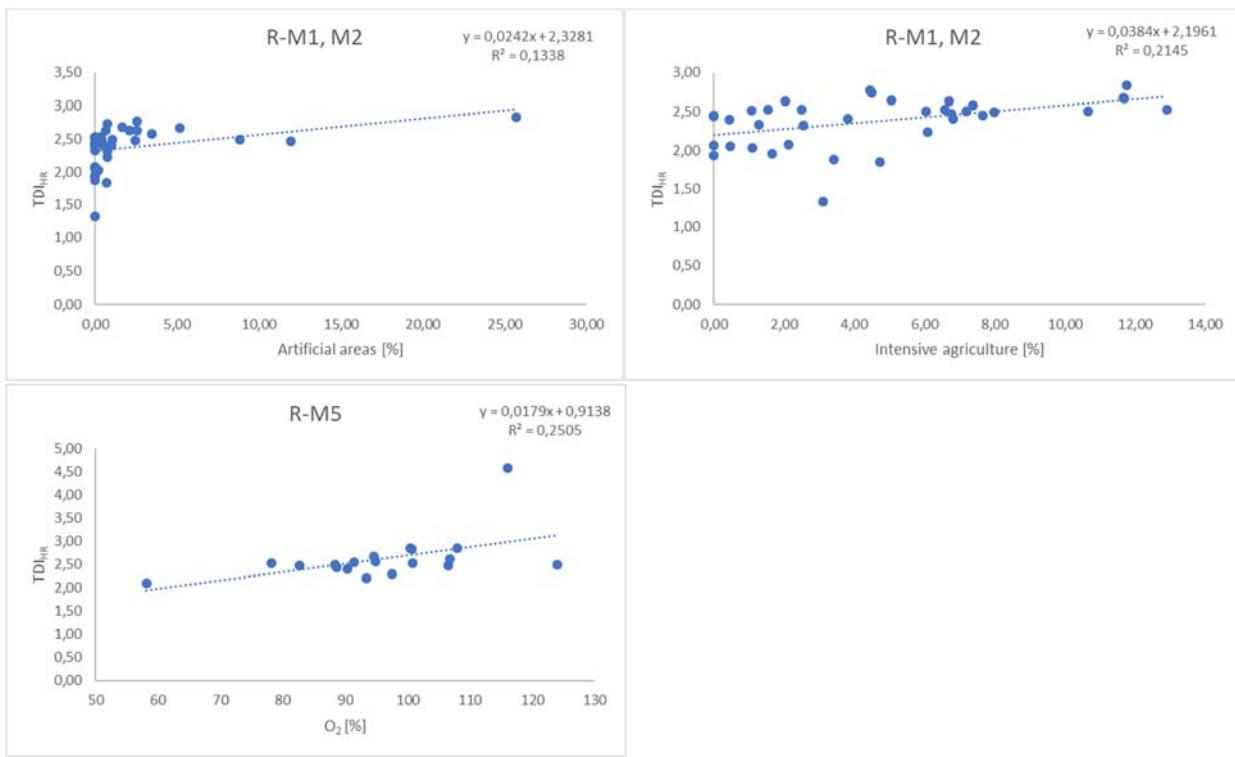
*Table 7.* Summary of the Spearman correlations of the national diatom metric ( $TDI_{HR}$ ) with different hydrochemical, environmental and land-use pressures. Correlations marked in red are significant at  $p < 0.05$ .

	R-M1, M2	R-M5
	$TDI_{HR}$	$TDI_{HR}$
P-Total (TP)	0.3900 p=0.0170	0.0720 p=0.7696
P- $PO_4^{3-}$	0.4463 p=0.056	0.0053 p=0.9829
N-Total (TN)	0.4926 p=0.0020	-0.1440 p=0.5565
N- $NO_3^-$	0.5792 p=0.0002	-0.3126 p=0.1926
N- $NO_2^-$	0.1936 p=0.2509	-0.0660 p=0.7885
N- $NH_4^+$	0.4026 p=0.0135	0.01176 p=0.9431
O <sub>2</sub> [%]	-0.4698 p=0.0033	0.5233 p=0.0215
Artificial areas [%]	0.5898 p=0.0001	-0.0466 p=0.8496
Intensive agriculture [%]	0.5094 p=0.0013	0.0395 p=0.8723
Extensive agriculture [%]	-0.0093 p=0.9566	-0.1353 p=0.5809
Semi-natural areas [%]	-0.2894 p=0.0823	-0.0053 p=0.9896
General Morphology (Classes 1-3)	0.3223 p=0.0176	-0.3841 p=0.1044
General Hydrology (Classes 1-3)	0.1733 p=0.0517	0.1839 p=0.4510
Riparian vegetation	0.2014 p=0.2321	-0.1468 p=0.5488

The results of Spearman correlation of  $TDI_{HR}$  with pressure variables are shown in *Table 7*. The coefficient showed statistically significant relationships ( $p < 0.05$ ) between national metric and several different pressures. The pressures that present the strongest relationships with the national metric are presented in *Figure 1*.

Different river types present different responses to pressures. In general, diatom assemblages of Croatian national types which were classified into IC types R-M1 and R-M2 responded well to all nutrient pressures, in particular to total phosphorus (TP), orthophosphates ( $P-PO_4^{3-}$ ), total nitrogen (TN), nitrates ( $N-NO_3^-$ ) and ammonium ( $N-NH_4^+$ ), as well as to oxygen saturation and to land use parameters such as artificial areas and intensive agriculture.





**Figure 1.** Pressure-response relationship between the most important pressures against the TDI<sub>HR</sub> in different river types.

### 3. WFD COMPLIANCE CHECKING

The data acceptance criteria of the MED-GIG as defined in the MED-GIG Rivers Milestone 6 Report are listed in *Table 8*. The Croatian data fulfilled the listed criteria in all aspects except for the number of water quality classes represented in the dataset (last criterion). This criterion, however, is not so strictly relevant for the fit-in procedure. The data set is expected to cover at least three ecological classes, which is fulfilled. The dataset can be therefore considered sufficient for intercalibration.

**Table 8.** List of the WFD compliance criteria and the WFD compliance checking process and results.

Compliance criteria	Compliance checking
Ecological status is classified by one of <b>five classes</b> (high, good, moderate, poor and bad).	Yes
High, good and moderate ecological status are set in line with the WFD's <b>normative definitions (Boundary setting procedure)</b>	Yes. Equidistant division of the EQR gradient High-good boundary derived from metric variability at near-natural benchmark sites.
<b>All relevant parameters</b> indicative of the biological quality element are covered (see Table 1 in the IC Guidance). A <b>combination rule</b> to combine parameter assessment into BQE assessment has to be defined. If parameters are missing, Member States need to demonstrate that the method is sufficiently indicative of the status of the QE as a whole	Yes; both taxonomic composition and species relative abundance are taken into consideration. Diatom metric (TDI <sub>HR</sub> - Croatian Trophic Diatom Index) - product of species relative abundance × sensitivity × weight value is weighted with product of rel. abundance × weight value
Assessment is adapted to <b>intercalibration common types</b> that are defined in line with the typological requirements of the Annex II WFD and approved by WG ECOSTAT	Yes; common MED-river intercalibration types are used: R-M1, R-M2, R-M5
The water body is assessed against <b>type-specific near-natural reference conditions</b>	Yes

Assessment results are expressed as EQRs	Yes
Sampling procedure allows for <b>representative</b> information about water body quality/ecological status <b>in space and time</b>	Yes; 1 sampling per year during favourable and stable water level. Using brush/scrapper for sampling. Single habitat(s) preferably epilithic phytobenthos – mesolithal (5 stones/cobbles from different points of streamline).
All data relevant for assessing the biological <b>parameters</b> specified in the WFD's normative definitions are covered by the <b>sampling procedure</b>	Yes; all 5 water quality classes are represented, but class 4 and 5 corresponding to Poor and Bad may be under-represented for most types.
Selected taxonomic level achieves adequate <b>confidence and precision</b> in classification	Yes; identification in species level or lower.

#### 4. IC FEASIBILITY CHECKING

##### 4.1. Typology

The RM typological system was found to be the most appropriate for describing Croatian rivers. Five types are included in the MED-GIG, of which types R-M1, R-M2 and R-M5 are applicable for Croatia (*Tables 1, 2*). Reference sites for large river types are open to criticism and therefore they are not included in the MED-GIG intercalibration exercise.

##### 4.2. Pressures addressed

Diatom assemblages as summarized by the national metric ( $TDI_{HR}$ ) respond to nutrient pollution, especially nitrogen compounds, oxygen related pressures, as well as land use related to agriculture and artificial use. These pressures were also found to be significant when correlated with the common metric of the other MS during the intercalibration exercise.

##### 4.3. Assessment concept

The national diatom-based assessment system consists of the Croatian Trophic Diatom Index ( $TDI_{HR}$ ), modified from Rott's Trophic Index (Rott et al. 1999), which is an indicator of a nutrient load in a given water body, i.e. its trophic degree based on the representation of diatom species. The  $TDI_{HR}$  takes into consideration the relative abundances of diatoms present in the assemblage and their assigned tolerances (indicator values) and sensitivities (indicator weights). The index responded to several pressures addressed (see above Section "2.4. Pressures addressed").

##### 4.4. Conclusion on the Intercalibration feasibility

The RM typology was chosen. The Croatian Trophic Diatom Index ( $TDI_{HR}$ ) takes into consideration tolerance and sensitivity of the species present in the assemblage and their relative abundances. The index addresses various pressures (see above Section "2.4. Pressures addressed"). It is concluded that the fitting of  $TDI_{HR}$  to the results of the MED-GIG river intercalibration was feasible.

#### 5. DEMONSTRATING THE COMPLIANCE WITH THE COMPLETED INTERCALIBRATION EXERCISE

Following Figure 1 in the CIS Guidance No. 30 (Willby et al. 2014), case A1 (Option 2) is applied for fitting the HR assessment method using phytobenthos to the results of the River MED-GIG type R-M1, R-M2 and R-M5. The requirements for case A1 are:

*Full details of the common metric*

The ICM applied in the MED-GIG is composed of two diatom metrics (according to Kelly et al. 2009):  
IPS (Coste in CEMAGREF, 1982): this metric measures 'general water quality', with low values corresponding to high pressure levels and, therefore, low EQRs  
TI (Rott et al. 1999): a trophic index which needs to be adjusted so that high values represent high EQR values

$$\text{ICM} = (\text{EQR-IPS} + \text{EQR-TI})/2$$

*A suitable site x biology dataset covering a range of environmental quality from which the national EQR and common metric can be calculated*

A total of 56 samples were available covering 4 classes of ecological status (see Section "2.3. National boundary setting")

*Accompanying pressure data in the same format as that used in the completed exercise.*

All accompanying pressure data are available (see *Table 3*).

*Information on the specific thresholds already used in the completed exercise to define reference or alternative benchmark sites*

The benchmark criteria of abiotic parameters (land-use and hydrochemical criteria) were adopted from the MED-GIG Intercalibration of diatoms and macrophytes (see *Table 5*).

*Details of exactly how benchmarking was undertaken in the complete exercise. If the completed exercise concluded that benchmarking was not necessary the mean value of the benchmark sites from each country must be provided so that the joining Member State can also judge the need to benchmark its own method.*  
Given benchmark criteria were applied by each MS in order to identify benchmark sites within each national dataset. Median values of TDI<sub>HR</sub> of the national benchmark dataset were used for calculation of common metric EQR (EQR\_TDI<sub>HR</sub>). Linear regression was established between the values of the national method and the ICM so that the national boundaries could be translated to ICM using the equation.  
If the number of national benchmark sites turns out insufficient, then the global median of all participating MS has to be used.

*Values of the global mean view of the HG and GM boundaries on the common metric scale for Member States who participated in the completed exercise.*

**Mean H/G (relevant for R-M1, R-M2): 0.896**

**Mean G/M (relevant for R-M1, R-M2): 0.688**

**Mean H/G (relevant for R-M5): 0.914**

**Mean G/M (relevant for R-M5): 0.688**

The process of fitting the HR method to the completed IC exercise:

According to the Willby et al. (2014), the following steps should be followed:

*Calculate the common metric (CM) on the national dataset.*

The ICM applied in the MED-GIG is composed of two diatom metrics (according to Kelly et al. 2009):  
IPS (Coste in CEMAGREF, 1982): this metric measures 'general water quality', with high pressure levels rendering low values and thus low EQRs:

EQR\_IPS = Observed value / reference value

TI (Rott et al. 1999): a trophic index, with higher eutrophication levels rendering high values and thus needs to be adjusted so that high values represent high EQRs:

$$\text{EQR\_TI} = (\text{4-observed value}) / (\text{4-reference value})$$

$$\text{ICM} = (\text{EQR-IPS} + \text{EQR-TI})/2$$

*Use the associated pressure data to identify sites in the national dataset that meet the criteria established by the GIG for the selection of benchmark or reference sites.*

Benchmark sites have been identified based on environmental pressures above (see Section "2.3. National boundary setting")

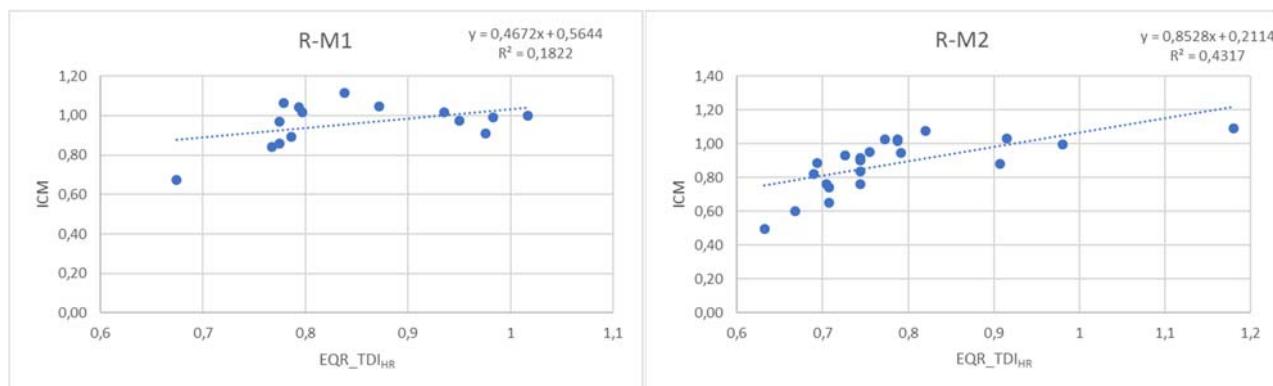
*Standardize the common metric (CM\_bm) against the benchmark according to the approach used in the completed exercise.*

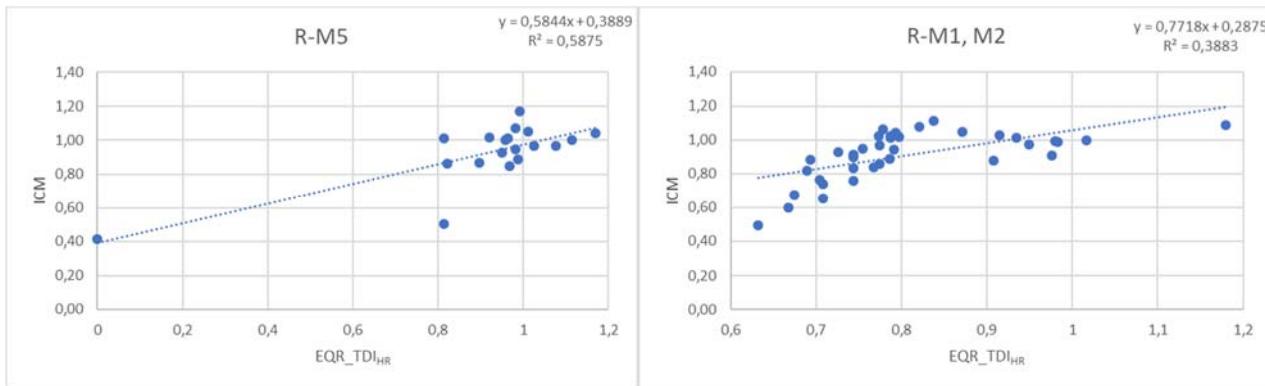
The common metric was calculated for the benchmark sites in the national dataset. For the IC river types R-M1 and R-M2 the mean CM\_bm was CM\_M1,M2=1.00, whilst for the R-M5 the mean CM\_bm was CM\_M5=0.97. These values were inside the range of the mean values of the MS who took part in the intercalibration exercise, therefore, no standardization is required.

*Use OLS regression to establish the relationship between CM\_bm (y) and the EQR of the joining method (x). Relationship between EQR\_TDI<sub>HR</sub> and ICM for each IC river type and for combined types R-M1, R-M2 and R-M5 are shown (Table 9, Figure 2).*

**Table 9.** OLS equations for the relationship between ICM and national EQR.

IC River type	No of samples	No of sites	Linear regression	R <sup>2</sup>
R-M1	15	15	ICM = 0.4672 EQR_TDI <sub>HR</sub> + 0.5644	0.182
R-M2	22	22	ICM = 0.8528 EQR_TDI <sub>HR</sub> + 0.2114	0.432
R-M5	19	19	ICM = 0.5844 EQR_TDI <sub>HR</sub> + 0.3889	0.588
R-M1, M2	37	37	ICM = 0.7718 EQR_TDI <sub>HR</sub> + 0.2875	0.388





**Figure 2.** OLS regressions to establish the relationship between ICM and the EQR for each IC river type and combined RM1, M2 river types.

Types R-M1 and R-M2 were treated together, therefore for the translation of reference and boundary positions of the national method onto the ICM scale the linear regression equation of combined R-M1, M2 river types was used. R-M5 was treated separately due to its distinct hydrological conditions.

*Predict the position of the national class boundaries (MP, GM, HG and reference) on the CM\_bm scale.*

The prediction of the class boundaries on the CM scale was made using the OLS equations of the relationship between the national and the common metric (*Tables 10-12*).

**Table 10.** Translation of the reference and boundary positions of the national method on the basis of OLS regression (see *Figure 2*, *Table 9*) into ICM.

IC Type	R-M1, M2		R-M5	
Boundary	EQR	Predicted boundaries on ICM scale	EQR	Predicted boundaries on ICM scale
Reference	1.00	1.06	1.00	0.97
High / good	0.83	0.93	0.96	0.94
Good / moderate	0.62	0.77	0.72	0.79
Moderate / poor	0.41	0.61	0.48	0.64
Poor / bad	0.21	0.45	0.24	0.49

**Table 11.** Reference values and High/Good class boundary of the ICM values derived from the OLS regression (*Figure 2*) for each IC river type.

	R-M1	R-M2	R-M5
<b>HIGH Max (maximum of national EQR)</b>	<b>1.198</b>	<b>1.198</b>	<b>0.967</b>
H/G Boundary + 0.25H	0.995	0.995	0.948
<b>H/G Boundary (for MS)</b>	<b>0.927</b>	<b>0.927</b>	<b>0.941</b>
H/G Boundary - 0.25H	0.887	0.887	0.903
<b>H/G MedGIG Global mean</b>	<b>0.896</b>	<b>0.896</b>	<b>0.914</b>
H/G quarter (+)	0.068	0.068	0.007
H/G quarter (-)	0.040	0.040	0.038

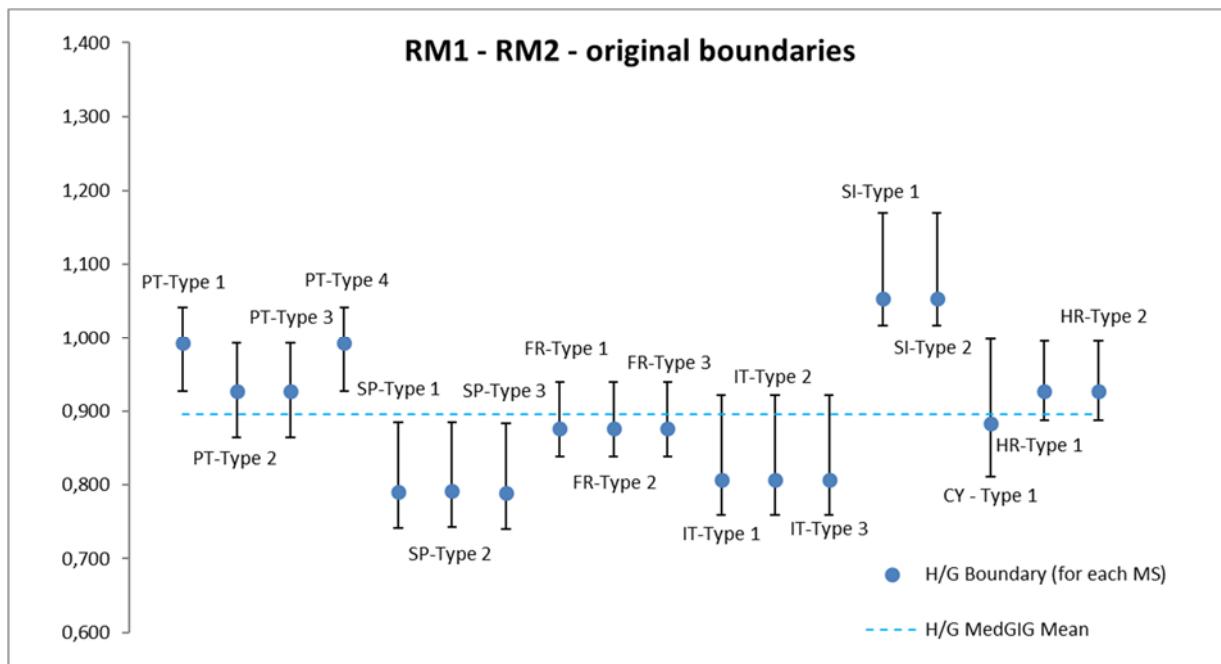
**Table 12.** Good/Moderate class boundary of the ICM values derived from the OLS regression (*Figure 2*) for each IC river type.

	R-M1	R-M2	R-M5
<b>Good/Moderate Max</b>	<b>0.927</b>	<b>0.927</b>	<b>0.941</b>
G/M+0.25H	0.807	0.807	0.827
<b>G/M Boundary (for MS)</b>	<b>0.767</b>	<b>0.767</b>	<b>0.789</b>
G/M Boundary - 0.25H	0.727	0.727	0.751
M/P M in	0.607	0.607	0.637
<b>G/M MedGIG Global mean</b>	<b>0.688</b>	<b>0.688</b>	<b>0.688</b>
G/M quarter (+)	0.040	0.040	0.038
G/M quarter (-)	0.040	0.040	0.038

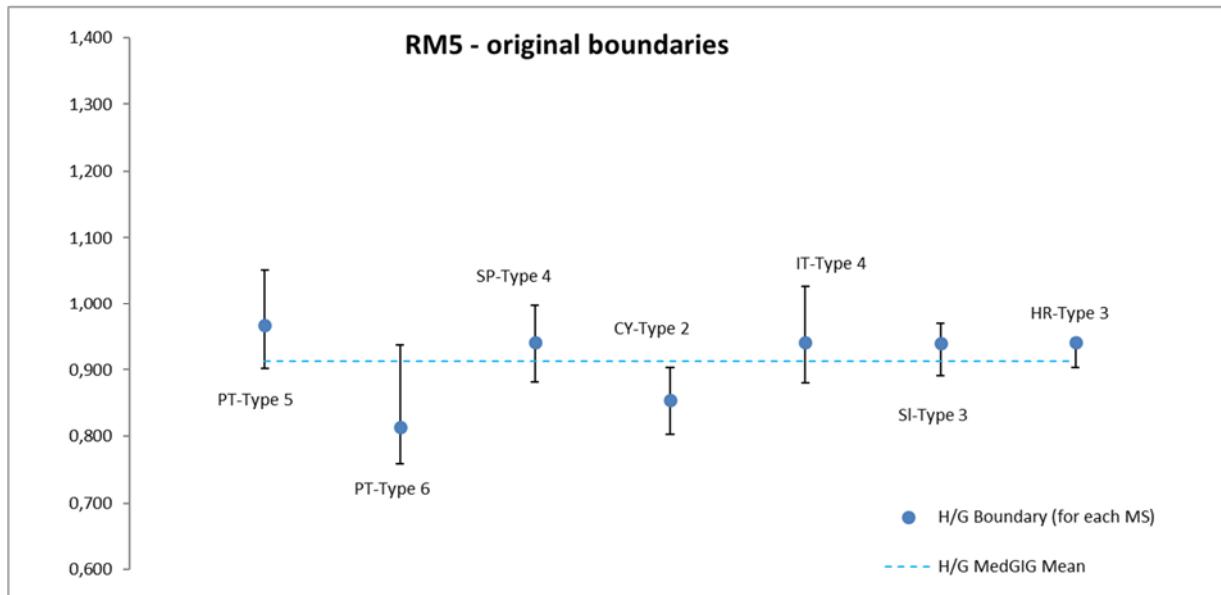
The comparison of H/G and G/M original boundaries values for the types R-M1, R-M2 and R-M5 with the other MS of the MED-GIG is presented in *Figures 3-6*. The explanation of the typological codes used is given in *Table 13*.

**Table 13.** Typological codes used in the boundary bias analysis.

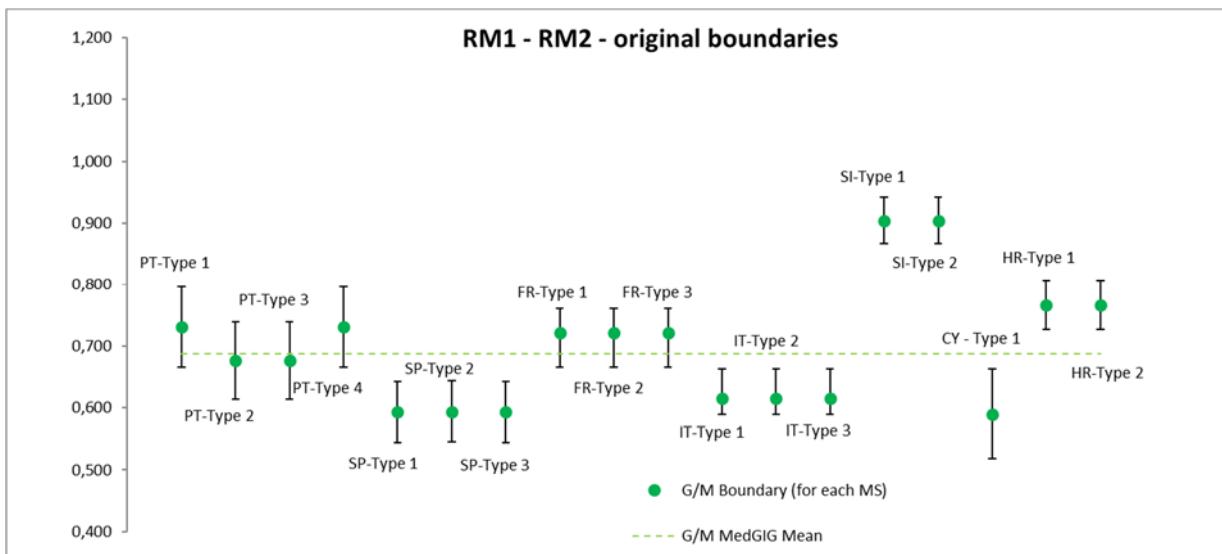
<b>Code</b>	<b>MS Type</b>	<b>Code</b>	<b>MS Type</b>
PT-Type 1	N1≤100	SP1-Type 3	IBMWP R-M4
PT-Type 2	N2	SP1-Type 4	SP1 R-M5
PT-Type 3	N3	SP2-Type 1	IMM R-M1
PT-Type 4	N1≥100	SP2-Type 2	IMM R-M2
PT-Type 5	S1<100	SP2-Type 3	IMM R-M4
PT-Type 6	S3	SP2-Type 4	SP2 R-M5
FR-Type 1	FR R-M1	SI-Type 1	SL R-M1
FR-Type 2	FR R-M2	SI-Type 2	SL R-M2
FR-Type 3	FR R-M4	SI-Type 3	SI R-M5
IT-Type 1	IT R-M1	CY-Type 1	CY R-M4
IT-Type 2	IT R-M2	CY-Type 2	CY R-M5
IT-Type 3	IT R-M4	HR-Type 1	HR R-M1
IT-Type 4	IT R-M5	HR-Type 2	HR R-M2
SP1-Type 1	IBMWP R-M1	HR-Type 3	HR R-M5
SP1-Type 2	IBMWP R-M2		



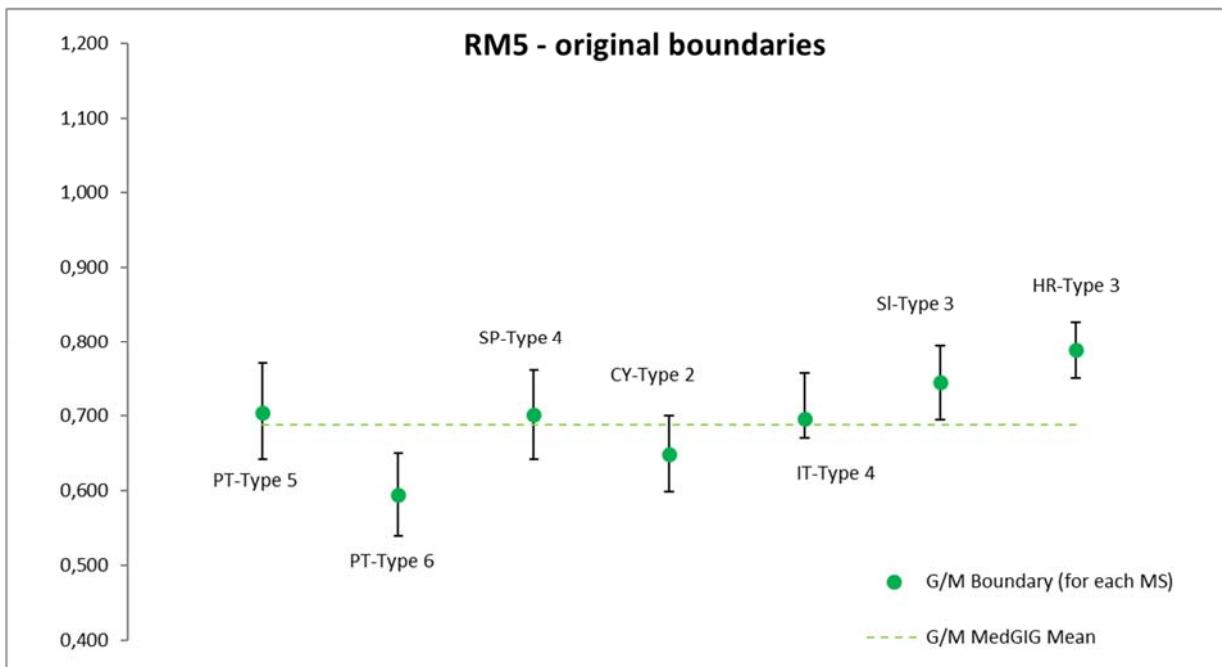
**Figure 3.** Comparison of H/G original boundaries for the types R-M1 and R-M2 with other MS.



**Figure 4.** Comparison of H/G original boundaries for the type R-M5 with other MS.



**Figure 5.** Comparison of G/M original boundaries for the types R-M1 and R-M2 with other MS.



**Figure 6.** Comparison of H/G original boundaries for the type R-M5 with other MS.

Apply the comparability criteria as summarized in Chapter 6.

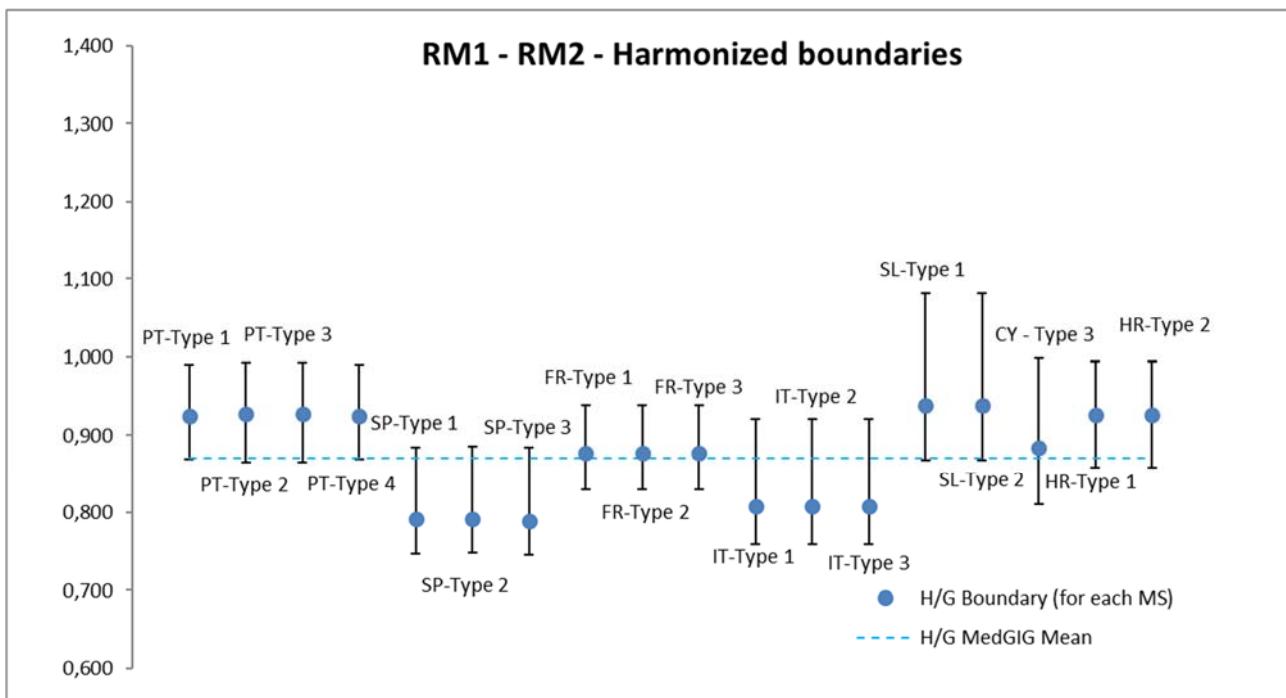
The adjustment of the boundaries follows the fit according to the guidance of chapter 6 (Willby et al. 2014). The main principle is that H/G or G/M statistic must not be  $>|0.25|$ . The H/G boundary bias in R-M1 and R-M2 river types was within the  $|0.25|$  range, so it needed no further adjustment. The G/M boundary bias in R-M1 and R-M2 river types was  $>0.25$ , so the adjustment was required (Table 14 in red) until the appropriate limit was reached (Tables 15-17, Figures 7 and 9). As for the R-M5 river type, the H/G boundary bias was within the  $|0.25|$  range, but since the unchanged value was considered too high and too strict the adjustment was performed within the  $|0.25|$  range to lower the value. The G/M boundary bias for the R-M5 river type was  $>0.25$  (Table 14 in red) and thus adjustment was required by lowering a value until it reached the appropriate limit (Tables 15-17, Figures 8 and 10). The final boundaries adopted after the harmonization are presented in Table 18.

**Table 14.** H/G and G/M statistic bias for each IC river type. Red color represents statistic bias  $>|0.25|$ .

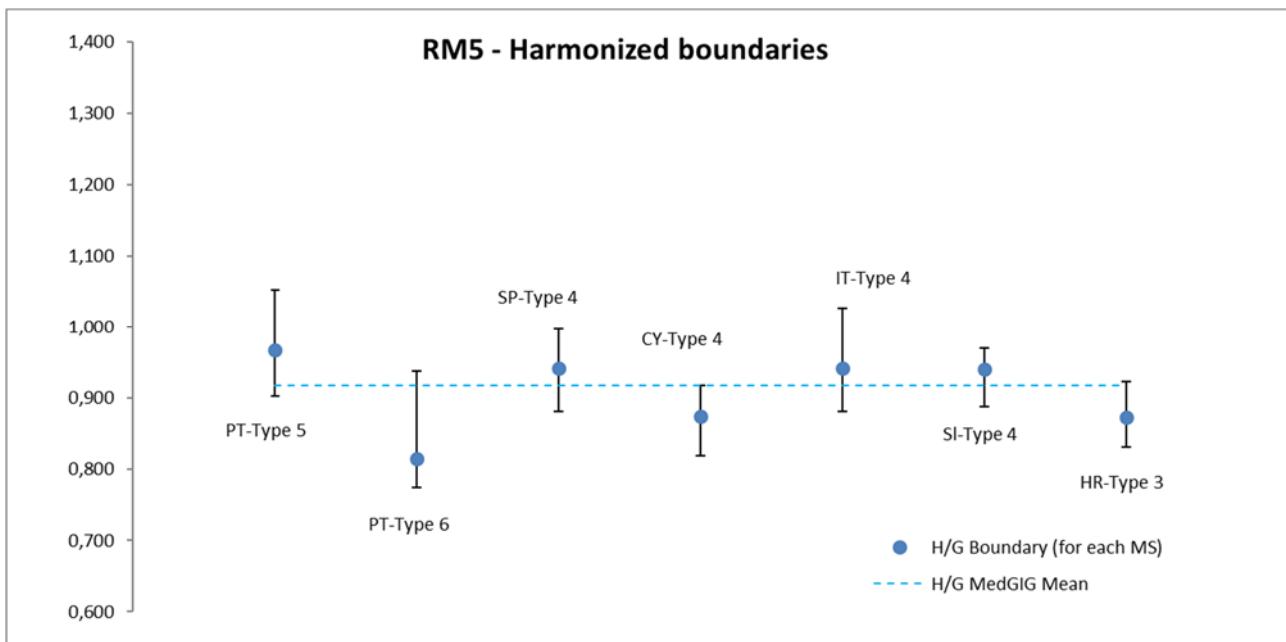
Boundary	R-M1	R-M2	R-M5
H/G	0.200	0.200	0.178
G/M	<b>0.487</b>	<b>0.487</b>	<b>0.665</b>

**Table 15.** Harmonized High/Good class boundary for each IC river type.

	R-M1	R-M2	R-M5
<b>High Max (maximum of national EQR)</b>	<b>1.198</b>	<b>1.198</b>	1.075
H/G Boundary + 0.25H	0.996	0.996	0.918
<b>H/G Boundary (for MS)</b>	<b>0.928</b>	<b>0.928</b>	<b>0.872</b>
H/G Boundary - 0.25H	0.875	0.875	0.826
<b>H/G MedGIG Global Mean</b>	<b>0.871</b>	<b>0.871</b>	<b>0.917</b>
H/G quarter (+)	0.067	0.067	0.052
H/G quarter (-)	0.053	0.053	0.040



**Figure 7.** Comparison of H/G harmonized boundaries for the types R-M1 and R-M2 with other MS.



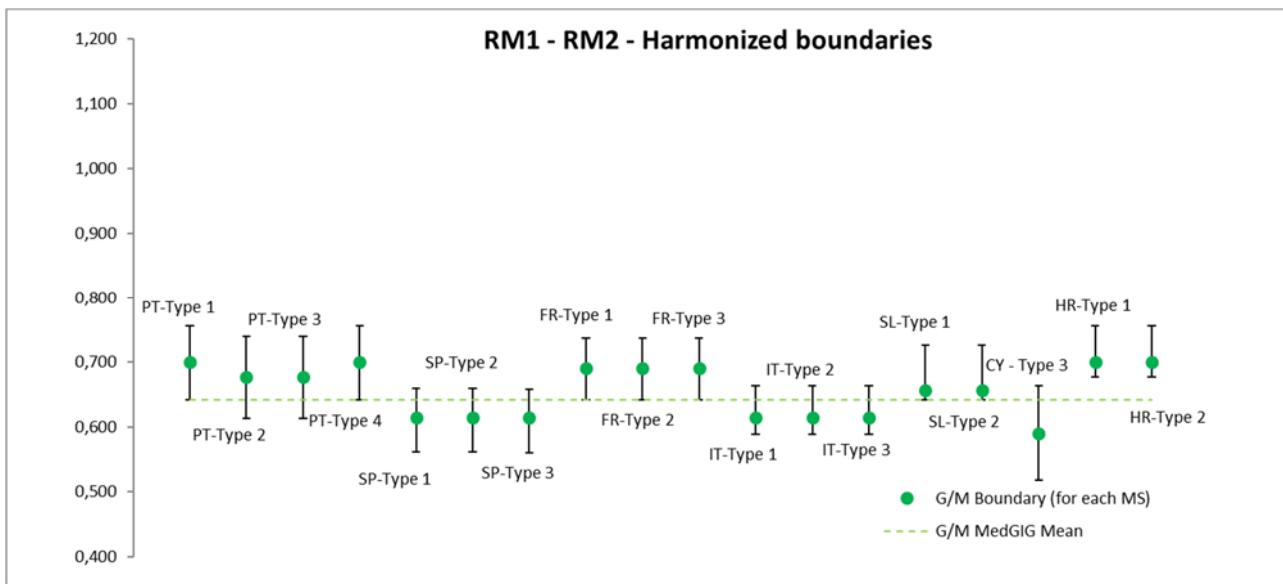
**Figure 8.** Comparison of H/G harmonized boundaries for the R-M5 with other MS.

**Table 16.** Harmonized Good/Moderate class boundary for each IC river type.

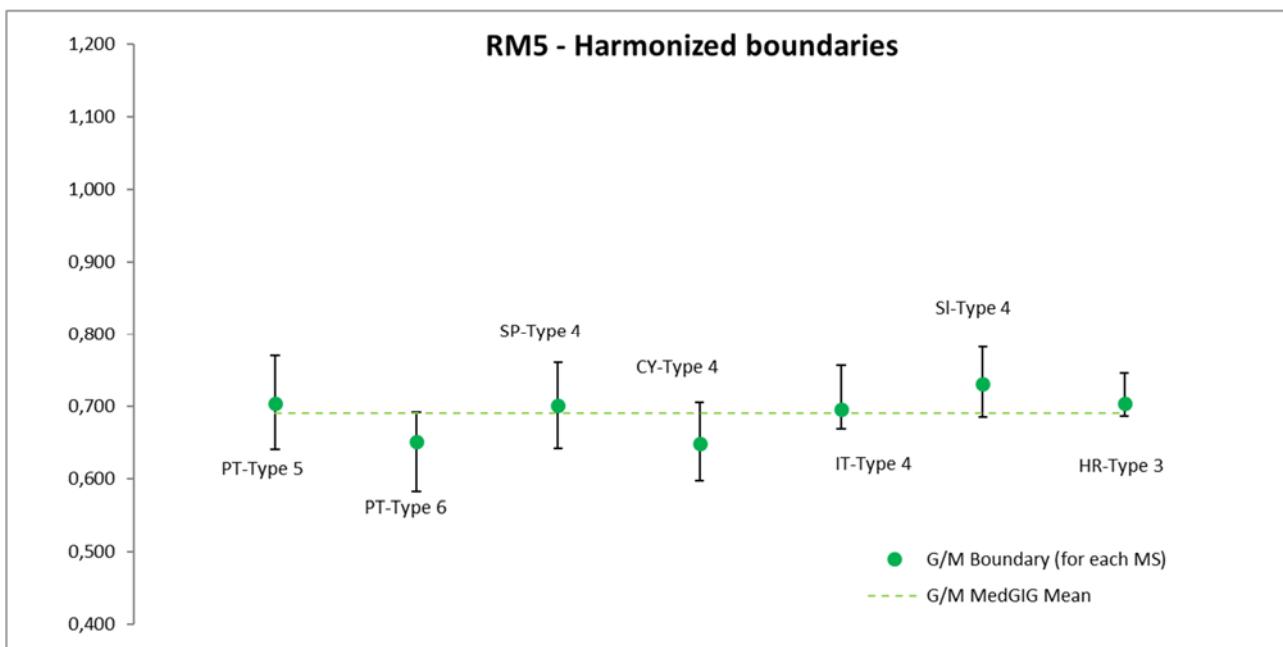
	R-M1	R-M2	R-M5
<b>Good/Moderate Max</b>	<b>0.927</b>	<b>0.927</b>	<b>0.872</b>
G/M+0.25H	0.722	0.722	0.747
<b>G/M Boundary (for MS)</b>	<b>0.716</b>	<b>0.716</b>	<b>0.704</b>
G/M Boundary - 0.25H	0.642	0.642	0.687
M/P Min	0.607	0.607	0.637
<b>G/M MedGIG Global mean</b>	<b>0.642</b>	<b>0.642</b>	<b>0.691</b>
G/M quarter (+)	0.068	0.068	0.042
G/M quarter (-)	0.012	0.012	0.017

**Table 17.** H/G and G/M statistic bias for each IC river type after the harmonization process.

Boundary	R-M1	R-M2	R-M5
H/G	0.150	0.150	-0.249
G/M	0.238	0.238	0.241



**Figure 9.** Comparison of G/M harmonized boundaries for the types R-M1 and R-M2 with other MS.



**Figure 10.** Comparison of G/M harmonized boundaries for the R-M5 with other MS.

**Table 18.** Final class boundaries adopted for the national metric and the ICM (- not applicable; \* no further adjustments needed).

	Boundary	ICM Original	ICM Harmonized	National Original	National Harmonized
HR-Type 1	Reference	1.059	-	1.000	-
	H/G	0.927	*	0.829	*
	G/M	0.767	0.716	0.622	0.555
HR-Type 2	Reference	1.059	-	1.000	-
	H/G	0.927	*	0.829	*
	G/M	0.767	0.716	0.622	0.555
HR-Type 3	Reference	0.967	-	1.000	-
	H/G	0.941	0.872	0.959	0.850
	G/M	0.789	0.704	0.719	0.585

## CONCLUSION

This report documents the fitting procedure of the Croatian phytophthora-based assessment method for the river types R-M1, R-M2 and R-M5 to the results of the completed Mediterranean rivers' intercalibration exercise.

We documented IC feasibility and compliance of the presented assessment method and reported sufficient pressure-response relationships. Following the criteria and steps defined in the fit-in-procedure of Willby et al. (2014), the high-good boundary in the river types R-M1, M2 showed to lie within the acceptable harmonization band. The good-moderate boundary in the river types R-M1, M2 required adjustments (Table 18). As for the river type R-M5, both high-good and good-moderate boundary required adjustments (Table 18). After adjustment of the aforementioned boundaries, the national assessment method is considered comparable with the already intercalibrated methods and meets the comparability criteria. It is recommended to submit the method to the ECOSTAT group for official approval.

## 6. DESCRIPTION OF THE BIOLOGICAL COMMUNITIES

Diatom communities dissimilarity in different ecological status conditions was evaluated similarly to the MED-GIG intercalibration exercise. The SIMPER analysis (log transformation of abundance data, Bray-Curtis similarity; up to 90% of contribution to av. similarity, Primer v7) was used to determine the diatom species contributing the most (up to 90% of cumulative contribution) to the average dissimilarity between the sites classified as high and good and to the average similarity of the different status classes.

One or two species are contributing the most in the observed similarity, while the rest significantly contributing species presented a low contribution (Table 19). Group similarities were relatively low, indicating a high within ecological status level variability. *Achnanthidium minutissimum* (Kützing) Czarnecki was mainly responsible for the within group similarity for high and good ecological status, and to some extent *Navicula cryptotenella* Lange-Bertalot and *Cocconeis placentula* Ehrenberg. The two groups differed by the contribution of *Achnanthidium biasolettianum* (Grunow) Bukhtiyarova, *Encyonopsis minuta* Krammer & E.Reichardt and *Cymbella parva* (W.Smith) Kirchner to high status group, and *Gomphonema* sp. Ehrenberg contributing to good status group. The contribution of *A. minutissimum* has been also reported from other MS during the intercalibration exercise.

**Table 19.** Species contribution to similarity within and dissimilarity between ecological status levels. The four most contributing species are presented.

Group High Status				
Average similarity: 30.51				
Species	Average Abundance	Contribution %	Cumulative contribution %	
<i>Achnanthidium minutissimum</i>	4.40	25.51	25.51	
<i>Navicula cryptotenella</i>	2.11	8.98	34.49	
<i>Achnanthidium biasolettianum</i>	1.86	5.26	39.76	
<i>Cocconeis placentula</i>	1.42	4.02	43.77	

Group Good Status				
Average similarity: 28.98				
Species	Average Abundance	Contribution %	Cumulative contribution %	
<i>Achnanthidium minutissimum</i>	4.47	26.25	26.25	
<i>Navicula cryptotenella</i>	1.83	8.32	34.57	
<i>Cocconeis placentula</i>	1.81	6.53	41.10	
<i>Gomphonema</i> sp.	1.39	4.50	45.60	

Groups High & Good Status				
Average dissimilarity = 69.81				
Species	Group Good Average Abundance	Group High Average Abundance	Contribution %	Cumulative contribution %
<i>Achnanthidium</i>				
<i>biosolettianum</i>	1.86	1.24	3.18	3.18
<i>Encyonopsis minuta</i>	1.60	0.99	2.64	5.83
<i>Cocconeis placentula</i>	1.42	1.81	2.35	8.18
<i>Denticula tenuis</i>	1.29	1.03	2.28	10.46
<i>Cymbella parva</i>	1.23	0.88	2.21	12.67
<i>Achnanthidium</i>				
<i>minutissimum</i>	4.40	4.47	2.12	14.79
<i>Gomphonema</i> sp.	1.04	1.39	2.03	16.82
<i>Encyonema ventricosum</i>	1.10	1.10	1.95	18.77
<i>Amphora pediculus</i>	1.13	1.18	1.87	20.64
<i>Cymbella excisa</i>	1.01	0.98	1.83	22.47
<i>Navicula cryptotenella</i>	2.11	1.83	1.82	24.29
<i>Gomphonema pumilum</i>	0.93	1.15	1.72	26.01
<i>Gomphonema minutum</i>	1.12	1.10	1.71	27.72
<i>Navicula veneta</i>	0.65	0.94	1.69	29.42
<i>Cocconeis pediculus</i>	0.35	1.07	1.64	31.06
<i>Nitzschia</i> sp.	1.03	0.86	1.63	32.69
<i>Nitzschia dissipata</i>	1.03	1.01	1.62	34.31

## 7. References

Clarke, K. R., Gorley, R. N. (2015) PRIMER v7: User Manual/Tutorial. PRIMER-E Plymouth.

European Commission (2011). Guidance document on the intercalibration process 2008–2011. Guidance Document No. 14. Implementation strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC). European Commission, Technical report-2011-045.

European Committee for Standardization (2014a). EN 13946: 2014. Water quality – Guidance standard for the routine sampling and preparation of benthic diatoms from rivers and lakes.

European Committee for Standardization (2014b). EN 14407: 2014. Water quality – Guidance standard for the identification and enumeration of benthic diatom samples from rivers and lakes.

Illies, J., 1978. Limnofauna Europaea. A checklist of the animals inhabiting European Inland Waters, with an account of their distribution and ecology. 2nd Edition. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 552 pp.

Kelly, M., Bennett, C., Coste, M., Delgado, C., Delmas, F., Denys, L., Ector, L., Fauville, C., Ferréol, M., Golub, M., Jarlman, A., Kahlert, M., Lucey, J., Ní Chatháin, B., Pardo, I., Pfister, P., Picinska-Faltynowicz, J., Rosebery, J., Schranz, C., Schaumburg, J., van Dam, H., Vilbaste, S. (2009). A comparison of national approaches to setting ecological status boundaries in phytoplankton assessment for the European Water Framework Directive: results of an intercalibration exercise. *Hydrobiologia* 621:169–82.

Lecointe, C., Coste, M., Prygiel, J. (1993). "Omnidia": software for taxonomy, calculation of diatom indices and inventories management. *Hydrobiologia* 269/270: 509-513.

Official Gazette (2013) Regulation on Water Quality Standard, Official Gazette of the Republic of Croatia No. 96/19.

Rott, E., Pfister, P., van Dam, H., Pipp, E., Pall, K., Binder, N., Ortler, K. (1999). Indikationslisten für Aufwuchsalgen. Teil 2: Trophieindikation sowie geochemische Präferenz, taxonomische und toxikologische Anmerkungen. Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Wien, 248 pp.

Schöll, F., Birk, S., Böhmer, J. (2012) WFD Intercalibration Phase 2: Milestone 6 report - XGIG Large Rivers. European Commission Directorate General, JRC, Institute of Environment and Sustainability, 45 pp.

Water quality - Guidance standard for the routine sampling and pretreatment of benthic diatoms from rivers (HRN EN 13946:2014).

Willby, N., Birk, S., Poikane, S., van de Bund, W. (2014). Water Framework Directive Intercalibration Manual – Procedure to fit new or updated classification methods to the results of a completed intercalibration. JRC Technical Report, Luxembourg, Ispra, 33 pp.

WFD Intercalibration Phase 2: Milestone 6 report. Rivers / Mediterranean GIG / Phytobenthos (2012). European Commission Directorate General, JRC, Institute of Environment and Sustainability, JRC, 42 pp.

Zelinka, M., Marwan, P. (1961) Zur Präzisierung der biologischen Klassifikation der Reinheit fließender Gewässer. *Archiv für Hydrobiologie* 57: 389-407.

## Prilog 4

Metodologija ocjene ekološkog stanja tekućica na temelju biološkog elementa makrofita za tip R-M5 za koji nije proveden post-interkalibracijski postupak usklađenja

Verzija 1.0.

Antun Alegro

Hrvatske vode, 2020

## 1. UVOD

U Mediteranskom geografskom području (Med-GIG) završeni interkalibracijski postupak za ocjenu ekološkog stanja rijeka na temelju makrofita uključio je sedam zemalja (Cipar, Francuska, Grčka, Italija, Portugal, Španjolska i Slovenija), a 2016. u post-interkalibracijski postupak usklađenja uključena i Bugarska. Hrvatska je postupku usklađenja pristupila 2019. kada su provedeni post-interkalibracijski postupci usklađenja za tipove R-M1 i R-M2 (Alegro 2019).

Kako za neke tipove nisu provedeni interkalibracijski postupci unutar odgovarajućih geografskih područja, uglavnom zbog velike heterogenosti tekućica koje u njih ulaze, tako je i dio tipova tekućica iz Hrvatske ostao neobuhvaćen post-interkalibracijskim postupcima usklađenja. Kako je i tekućicama iz tih tipova potrebno određivati ekološku kakvoću na temelju makrofita, ovdje donosimo metodu za ocjenu tekućica iz Mediteranske subregije Dinaridske ekoregije neobuhvaćenih interkalibracijskim postupkom. Tim tekućicama osnovno je svojstvo da im je tok povremen i obuhvaćene su u veliku i heterogenu grupu R-M5 koja obuhvaća mrđusobno vrlo različite mediteranske povremene tekućice. Ovdje opisana metoda je na temelju iskustava s post-interkalibracijskim postupcima usklađenja modificirana u odnosu dosadašnju metodu opisanu u *Metodologiji uzorkovanja, laboratorijskih analiza i određivanja omjera ekološke kakvoće bioloških elemenata kakvoće* (Hrvatske vode 2015). U analizu je uključeno ukupno 58 postaja iz interkalibracijskih tipova R-M1, RM-2 i R-M5 radi dokazivanja veze između OEK i fizikalno-kemijskih te hidromorfoloških pritisaka, dok se preostale analize temelje na 20 postaja sa povremenih tekućica.

**Tablica 1.** Pregled interkalibracijskog tipa tekućica R-M5 prema nacionalnoj biotičkoj klasifikaciji.

Naziv biotičkog tipa rijeke	Oznaka abiotičkog tipa rijeke	Oznaka biotičkog tipa rijeke	Oznaka interkalibracijskog tipa rijeke
<b>16.POVRMENE TEKUĆICE</b>			
16.a. Prigorske male i srednje velike			
Prigorske male povremene tekućice u vapnenačkoj podlozi	16B6	HR-R_16A	R-M5
Prigorske male povremene tekućice u vapnenačko-silikatnoj podlozi	16C6	HR-R_16A	R-M5
<b>16.b. Nizinske</b>			
Nizinske male povremene tekućice u vapnenačkoj podlozi	17B6	HR-R_16B	R-M5
Nizinske male povremene tekućice u silikatno-vapnenačkoj podlozi	17C6	HR-R_16B	R-M5
<b>19.POVRMENE TEKUĆICE ISTRE</b>			
Povremene nizinske male tekućice u vapnenačko-flišnoj podlozi Istre	23C6	HR-R_19	R-M5

**Tablica 2.** Broj postaja s uzorkovanim makrofitima u neinterkalibriranim tekućicama R-M5 prema klasama ekološke kakvoće.

	ukupno	vrlo dobro	dobro	umjereno	loše	vrlo loše	bez makrofita
<b>R-M5</b>	<b>20</b>	4	7	-	4	-	5

## 2. OPIS METODE ZA ODREĐIVANJE EKOLOŠKE KAKVOĆE NA TEMELJU MAKROFITA

Podaci o makrofitskoj vegetaciji rijeka Hrvatske prikupljaju se od 2009. godine. Nakon što su isprobane različite metode i metrike temeljene na makrofitima, referentni indeks (RI) razvijen za određivanje ekološkog stanja njemačkih srednjih velikih nizinskih rijeka (Schaumburg i sur. 2006, 2012), odabran je uz manje modifikacije za određivanje ekološkog stanja rijeka u Hrvatskoj.

Važeći dokument kojim se između ostalog propisuje postupak određivanju omjera ekološke kakvoće na temelju makrofita je *Metodologija uzorkovanja, laboratorijskih analiza i određivanja omjera ekološke kakvoće bioloških elemenata kakvoće*, koja je donesena Odlukom Hrvatskih voda sukladno 6. Uredbi o standardu kakvoće voda (Narodne novine, br. 73/13, 151/14 i 78/15) prema Zakonu o vodama (Narodne novine, br. 153/09, 63/11, 130/11, 56/13 i 14/14).

Na temelju dosadašnjih iskustava u ocjeni ekološke kakvoće, usporedbe s drugim sustavima ocjenjivanja iz Istočnokontinentalnog i Mediteranskog geografskog područja i provedenog post-interkalibracijskog postupka usklađenja, predlažemo da se nadalje koristi samo referentni indeks (RI), te da se odustane od daljnje upotrebe biocenološke metode opisane u *Metodologiji* (Hrvatske vode 2015) koja se pokazala teška za praktičnu upotrebu većini koja nije usko profesionalno specijalizirana za makrofitske zajednice. Nadalje, sve zemlje iz navedenih geografskih područja imaju samo po jednu metodu za ocjenu ekološke kakvoće na temelju makrofita, pa se time usklađujemo s praksom iz drugih zemalja. Vrijeme, mjesto, potrebna oprema i način uzorkovanja, kao i opis postupka laboratorijske obrade uzoraka za biološki element makrofita ostaju isti kako su opisani u *Metodologiji*.

Na svakoj postaji uzorkovane su sve vrste makrofita potrebne za ocjenu, ali i helofiti zbog potpunijeg uvida u vegetaciju i razumijevanja ekoloških odnosa i mogućih poremećaja. Uzorkovanje je obavljeno na odsječku obale od minimalno 50 m koji je po potrebi produživan dok se nije zaustavio prirast novih vrsta. Abundancija je procijenjena korištenjem devetstupanske proširene Braun-Blanquet skale te petostupanske skale po Kohleru. Granice istraživane plohe određene su krajnjim pojavljivanjem makrofita prema sredini rijeke. Sve vrste koje se nisu mogle odrediti na terenu sakupljene su kao herbarski primjerici (većina vaskularnih biljaka i mahovina) ili kao mokri preparati (uskolisni mrijesnjaci, parožine i ostale makroalge). Nakon determinacija podaci su organizirani u tablice i pripremljeni za izračun makrofitskog indeksa, odnosno za određivanje omjera ekološke kakvoće.

Ocjena ekološkog stanja na temelju biološkog elementa makrofita temelji se na izračunu referentnog indeksa (RI) koji uključuje tri indikatorske grupe makrofita i njihove abundancije. Indikatorsku grupu A čine vrste referentne zajednice i one koje ukazuju na dobro stanje vodotoka, grupu B čine vrste širih ekoloških amplituda koje se mogu javljati u različitim zajednicama i konačno grupu C čine vrste koje se redovno ne javljaju u referentnim zajednicama te ukazuju na neki poremećaj, najčešće eutrofikaciju ili hidromorfološki poremećaj. Referentni indeks (RI) računa se prema formuli:

$$RI = \frac{\sum QAi - \sum QCi}{\sum Qgi} \cdot 100$$

RI – Referentni indeks

QA<sub>i</sub> – količina i-te iz indikatorske grupe A

QC<sub>i</sub> – količina i-te iz indikatorske grupe C

Qg<sub>i</sub> – Količina i-te vrste iz svih grupa

nA – ukupan broj vrsta u grupi A

nC – ukupan broj vrsta u grupi C

ng – ukupan broj vrsta u svim grupama.

Kako bi se dobio omjer ekološke (EQR) kakvoće RI se transformira prema sljedećoj formuli:

$$EQR = \frac{(RI + 100) * 0,5}{100}$$

Dobivena vrijednost EQR se usporedi s graničnim vrijednostima (Tablica 3).

### 3. REFERENTNI UVJETI

Referentni uvjeti određeni su za svaki nacionalni biotički riječni tip na tamelju ekspertne procjene i najmanje poremećenih lokaliteta (*least disturbed sites*), ukoliko su postojali. U tim uvjetima možemo razlikovati dva osnovna tipa makrofitskih zajednica unutar interkalibracijskog tipa R-M5. Samo na jednoj postaji zabilježena je još jedna dodatna zajednica.

- zajednica u kojoj dominiraju mahovine (PF) – ova zajednica u referentnom stanju, ovisno u uvjetima u kojima se razvija, može biti vrlo bogata vrstama ili pak građena od svega nekoliko vrsta (npr. ukoliko je brzina vode jaka ili zasjena znatna).
- zajednica u kojoj dominiraju herbidi i drugi morfološki oblici vaskularnih biljaka (miriofilidi i magnopotamidi prije svega) (BN). Najčešća i konstantna vrsta u ovoj zajednici je *Berula erecta*, a često je javljaju i druge vrste kao što su *Mentha aquatica*, *Veronica anagalis-aquatica*, *V. beccabunga*, *Myosotis scorpioides*, *Nasturtium officinale*, *Juncus effusus*, *Apium repens*, *Myriophyllum spicatum* i druge.  
(• zajednica u kojoj dominiraju morfološki tipovi nimfeide i valisneride (Sp) – tj. *Nuphar lutea*, *Potamogeton lucens*, *P. perfoliatus*, *Sparganium emersum*, *Sagittaria sagittifolia*, *Nymphaea alba* te vrste oligotrofnih i slabo eutrofnih voda: *Callitricha hamulata*, *Characeae*, *Lemna trisulca*, *P. gramineus*, *Riccia fluitans*, *Utricularia spp.*, *Hipuris vulgaris* i druge. Ova zajednica zabilježena je samo na jednoj postaji, Donji kanal, pritok Cetina kod Trilja i predstavlja izuzetak u Mediteranskoj subregiji.)

### 4. GRANICE KLASA

Ekološki status raspodijeljen je u pet klasa: vrlo dobar, dobar, umjereno, loš i vrlo loš.

Granice klasa (Tablica 3) postavljene su u zone izrazite promjene sastava makrofitske zajednice analizom diskontinuiteta u odnosu okolišnih pritisaka i odgovora zajednice (pressure-response relationship) koji su podešeni ekspertnom procjenom temeljenom na promjenama u pridolasku tip specifičnih referentnih vrsta te tolerantnih vrsta. Granice klasa naknadno su modificirane na temelju provedenog post-interkalibracijskog postupka usklađenja za tekućice iz mediteranskog geografskog područja. Granice klasa određene su na ukupnom interkalibracijskom uzorku za Mediteransko geografsko područje u Hrvatskoj, a zatim dobivene granice za povremene tekućice umanjene za 0,5 s obzirom da se u njima ne može očekivati potpuno razvijena zajednica kao u stalnim vodotocima. Razlog takvom pristupu je bio mali broj postaja koje ne pokrivaju čitav gradijent degradacije. S druge strane, postojanje načelno istih zajednica omogućilo je takav pristup.

**Tablica 3.** Klasifikacija OEK vrijednosti u kategorije ekološke kakvoće.

Kategorija	Zajednica	Raspon OEK	Tumačenje
Vrlo dobro	PF	>0.65	Granica VD/D predstavlja četvrtinu (0,25) ispod vrijednosti medijana pri kojoj su vrste grupe A (referentne vrste) u jasnoj dominaciji, a vrste grupe C potpuno odsutne.
	BN	>0.60	
	Sp	>0.74	
Dobro	PF	0.42-0.64	Granica D/U je točka u kojoj vrste grupe B (indiferentne vrste) postaju dominantne, a vrste grupe A još uvijek dominiraju nad vrstama grupe C.
	BN	0.41-0.59	
	Sp	0.50-0.73	
Umjereno	PF	0.24-0.41	Granica U/L je postavljena kao srednja vrijednost gdje u zajednici
	BN	0.19-0.40	

<b>Kategorija</b>	<b>Zajednica</b>	<b>Raspon OEK</b>	<b>Tumačenje</b>
	Sp	0.25-0.49	počinju dominirati vrste grupe C (pokazatelji poremećaja), a vrste grupe A nestaju.
Loše	PF	0-0.23	Granica L/VL je točka u kojoj se gubi makrofitska vegetacija.
	BN	0-0.18	
	Sp	0-0.24	
Vrlo loše	PF	-	Potpuni nestanak makrofitske vegetacije zbog antropogenog pritiska.
	BN	-	
	Sp	-	

## 5. DETEKTIRANI PRITISCI

Pritisici koje detektira metoda ocjene ekološkog stanja na temelju makrofita su eutrofikacija i opća degradacija. Na temelju rezultata analiza korelacije (Tablice 4 i 5) može se zaključiti da metoda detektira okolišne pritiske.

**Tablica 4.** Koreacijski koeficijenti između OEK vrijednosti i fizikalno-kemijskih parametara vode.

	OEK			OEK	
	Pearsonov koeficijent korelaciјe	Značajnost		Spearmanov koeficijent korelaciјe	Značajnost
log_t	-.241*	.035	t	-.177	.093
log_pH	.079	.279	pH	.101	.228
log_elektična vodljivost	-.085	.266	elektična vodljivost	-.343**	.005
log_ukupne suspendirane tvari	-.327**	.007	ukupne suspendirane tvari	-.340**	.005
log_alkalitet	-.266*	.023	alkalitet	-.371**	.002
log_tvrdoča	-.128	.172	tvrdoča	-.323**	.007
log_O2_otopljeni	.297*	.012	O2_otopljeni	.318**	.008
log_O2_zasićen ost	.220*	.050	O2_zasićenost	.180	.091
log_NH4+	-.586**	.000	NH4+	-.579**	.000
log_NO2-	-.464**	.000	NO2-	-.413**	.001
log_NO3-	-.300*	.012	NO3-	-.265*	.023
log_N_ukupni	-.468**	.000	N_ukupni	-.372**	.002
log_PO43-	-.496**	.000	PO43-	-.455**	.000

\*\*. Korelacija je značajna na razini 0.01.

\*. Korelacija je značajna na razini 0.05.

**Tablica 5.** Koreacijski koeficijenti između OEK vrijednosti i različitih mjera opće degradacije (EXT – % ekstenzivna poljoprivreda, INT – % intenzivna poljoprivreda, NAT – % prirodna i poluprirodna područja, ART – % urbanizirana područja).

	OEK			
	Pearsonov koeficijent korelaciјe	Značajnost	Spearmanov koeficijent korelaciјe	Značajnost
PST	-.048	.361	.001	.497
POE_T	-.210	.058	-.193	.075
POI_T	-.084	.266	-.274*	.019
PRI_T	.278*	.018	.333**	.006
URB_T	-.276*	.019	-.208	.061
long_con	-.091	.251	-.083	.270
morph	-.376**	.002	-.353**	.004
hydro	-.204	.064	-.239*	.036
total	-.393**	.001	-.354**	.003

\*\*. Korelacija je značajna na razini 0.01.

\*. Korelacija je značajna na razini 0.05.

## 6. PROVJERA USKLAĐENOSTI S ODV

Da bi metoda za ocjenu ekološke kakvoće bila prihvatljiva potrebna je usklađenost s kriterijima ODV-a (Tablica 6).

**Tablica 6.** Popis kriterija i ocjena sukladnosti s ODV-om.

Kriteriji	Izvršeno
Ekološko stanje razvrstano je u jedan od pet razreda	da
Vrlo dobro, dobro i umjereni ekološko stanje postavljeno je u skladu s normativnim definicijama ODV-a (postupak postavljanja granica)	da
Uključeni su svi relevantni parametri koji utječu na biološke elemente kakvoće (BEK)	da
Procjena je prilagođena interkalibracijskim uobičajenim tipovima koji su definirani u skladu s tipološkim zahtjevima ODV-a, a odobreni od WG ECOSTAT-a	da
Vodeno se tijelo procjenjuje na temelju tipičnih, gotovo prirodnih referentnih uvjeta	da
Rezultati procjene izražavaju se kao OEK	da
Postupak uzorkovanja omogućava reprezentativne informacije o kvaliteti vode / ekološkom stanju u prostoru i vremenu	da
Svi podaci relevantni za procjenu bioloških parametara navedenih u normativnim definicijama ODV obuhvaćeni su postupkom uzorkovanja	da
Odabrana taksonomska razina postiže odgovarajuću pouzdanost i preciznost u razvrstavanju	da

## 7. UJEDNAČAVANJE GRANICA KLASA TRANSFORMACIJAMA

Kako je vidljivo iz Tablice 3 granice klasa na temelju vrijednosti OEK nisu jedinstvene, već se razlikuju ovisno o tipovima makrofitskih zajednica. Kako bi se granice klasa ujednačile (harmonizirale), provedene su linearne transformacije (*piecewise linear transformation*) navedene u Tablici 7.

**Tablica 7.** Klasifikacija OEK vrijednosti u kategorije ekološke kakvoće i pripadajuće transformacijske jednadžbe kako bi se dobili ujednačeni i jedinstveni rasponi klasa za sve zajednice makrofita.

Kategorija	Zajednica	Raspon OEK	Ujednačeni raspon OEK	Transformacijske jednadžbe
Vrlo dobro	PF	>0.65	>0.8	$0.8+0.2*(OEK-0.65)/0.35$
	BN	>0.60	>0.8	$0.8+0.2*(OEK-0.60)/0.40$
	Sp	>0.74	>0.8	$0.8+0.2*(OEK-0.74)/0.26$
Dobro	PF	0.42-0.64	0.6-0.79	$0.6+0.2*(OEK-0.42)/0.23$
	BN	0.41-0.59	0.6-0.79	$0.6+0.2*(OEK-0.41)/0.19$
	Sp	0.50-0.73	0.6-0.79	$0.6+0.2*(OEK-0.50)/0.24$
Umjereni	PF	0.24-0.41	0.4-0.59	$0.4+0.2*(OEK-0.24)/0.18$
	BN	0.19-0.40	0.4-0.59	$0.4+0.2*(OEK-0.19)/0.22$
	Sp	0.25-0.49	0.4-0.59	$0.4+0.2*(OEK-0.25)/0.25$
Loše	PF	0-0.23	0.2-0.39	$0.2+0.2*(OEK)/0.24$
	BN	0-0.18	0.2-0.39	$0.2+0.2*(OEK)/0.19$
	Sp	0-0.24	0.2-0.39	$0.2+0.2*(OEK)/0.25$

Kategorija	Zajednica	Raspon OEK	Ujednačeni raspon OEK	Transformacijske jednadžbe
Vrlo loše	PF	-	<0.2	-
	BN	-	<0.2	-
	Sp	-	<0.2	-

Na temelju polinomijalnih transformacija granice klasa ekološke kakvoće za sve makrofitske zajednice u povremenim tekućicama Mediteranske subregije navedene su u Tablici 8.

**Tablica 8.** Klasifikacija OEK vrijednosti u kategorije ekološke kakvoće nakon provedenih polinomijalnih transformacija.

Kategorija	granica
H/G	0.8
G/M	0.6
M/P	0.4

## 8. ZAKLJUČAK

Nacionalna metoda za ocjenu ekološkog stanja na temelju makrofita temelji se na uzorkovanju makrofita sa svih staništa koja se nalaze u koritu rijeke i riječnim obalama. Referentni indeks definira vrste za tip specifična referentna stanja i vrste koje indiciraju poremećaje, odnosno nespecifična stanja za određeni riječni tip. Vrste koje se uzimaju u obzir pripadaju parožinama i ostalim makroalgama, mahovinama i vaskularnim biljkama.

Na temelju abundancije makrofita u pojedinoj od tri indikatorske grupe računa se referentni indeks (RI) koji se transformira u omjer ekološke kakvoće (OEK). Korelacijske analize pokazuju da OEK odgovara na fizikalno-kemijske i hidromorfološke pritiske. Granice klasa postavljene u skladu sa zahtjevima Okvirne direktive o vodama i modificirani na temelju provedenih post-interkalibraciskih usklađivanja za tekućice istočnokontinentalnog i mediteranskog geografskog područja. Granice klasa naknadno su ujednačene između svih makrofitskih zajednica polinomijalnim transformacijama.

## 9. LITERATURA

Alegro, A., 2019: Report on fitting of Croatian classification method for macrophytes in rivers to the results of the completed intercalibration of the Med GIG (R-M1 and R-M2) 1.0. Hrvatske vode, Zagreb.

Anonymous, 2015: Metodologija uzorkovanja, laboratorijskih analiza i određivanja omjera ekološke kakvoće bioloških elemenata kakvoće. Hrvatske vode, Zagreb.

Schaumburg, J., Schranz, C., Stelzer, D., Hofmann, G., Gutowski, A., Foerster, J., 2006: Instruction Protocol for the Ecological Assessment of running Waters for Implementation of the EC Water Framework Directive: Macrophytes and Phytobenthos. Bavarian Environment Agency, Munich.

Schaumburg, J., Schranz, C., Stelzer, D., Vogel, A., Gutowski, A., 2012: Verfahrensanleitung für die ökologische Bewertung von Fließgewässern zur Umsetzung der EG-Wasserrahmenrichtlinie: Makrophyten und Phytobenthos (PHYLIB). Bayerisches Landesamt für Umwelt, Wielenbach.



## Prilog 5

Report on fitting the Croatian classification method for macrophytes in rivers to the results of the completed intercalibration of the of the Mediterranean GIG (R- M1 and R-M2)

Author: Antun Alegro

Division of Botany, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb

Status of the document: Draft-version 3.0

Hrvatske vode

Zagreb, November 19th 2020

# Report on fitting the Croatian classification method for macrophytes in rivers to the results of the completed intercalibration of the Mediterranean GIG (R-M1 and R-M2)

## INTRODUCTION

Croatia  
Macrophytes  
Rivers (R-M1 and RM2)

The official intercalibration of macrophyte-based methods for ecological status assessment within the Mediterranean Geographical Intercalibration Group (MedGIG) was finalized. Croatia did not join the official IC round because it was not the member state of the EU. The MedGIG of river macrophytes involved seven countries and two assessment methods with similar data acquisition and assessment concept: the Macrophyte Biological Index for Rivers (IBMR) in Cyprus, France, Greece, Italy, Portugal and Spain, and the River Macrophyte Index (RMI) in Slovenia. Later was fitted Reference Index (RI) for Bulgaria (Pall et al. 2016).

The objective of this report is to declare that the present Croatian classification method of the ecological status of Mediterranean river types, based on macrophytes is compliant with the WFD normative definitions and that its class boundaries are in line with the results of the completed intercalibration exercise.

In particular, the classification method (Reference Index Croatia) is an intercalibratable finalized method. The class boundaries were compared with agreed boundaries from the MedGIG intercalibration exercise following the instructions of the CIS Guidance Document n°30: "Procedure to fit new or updated classification methods to the results of a completed intercalibration exercise".

The biological analysis of macrophytes in MedGIG revealed a poor segregation between types RM1, RM2 and RM4 (Table 1), both for reference sites and for all sites (based on ANOSIM test). Therefore these types were treated together throughout the IC process.

Table 1. Overview of common intercalibration types in the Mediterranean rivers GIG and MS sharing the types.

Common IC Type	Type characteristics	MS sharing IC common type
R-M1	catchment <100 km <sup>2</sup> ; mixed geology (except non-siliceous); highly seasonal	France, Italy, Portugal, Slovenia, Spain, Bulgaria
R-M2	catchment 100-1000 km <sup>2</sup> ; mixed geology (except non-siliceous); highly seasonal	France, Italy, Portugal, Slovenia, Spain, Bulgaria

Common IC Type	Type characteristics	MS sharing IC common type
R-M3	catchment 1000- 10000 km <sup>2</sup> ; mixed geology (except non- siliceous); highly seasonal	Greece, Portugal, Spain This type was not intercalibrated because assessment methods were not fully developed.
R-M4	non-siliceous streams; highly seasonal	Cyprus, France, Greece, Italy, Spain
R-M5	temporary rivers	Cyprus, Italy, Portugal, Slovenia, Spain (Subject to a separate dana treatment due to large structural and functional differences, Aguiar et al., 2010)

## DESCRIPTION OF NATIONAL ASSESSMENT METHODS

---

The national macrophyte-based method – Reference Index Croatia (RI-HR) is established for the assessment of the ecological status of all river types in Croatia. It is modified version of German Reference index (Schaumburg et al. 2006, 2012), and it is compliant with European standardization legislation (EN 14184: 2014, EN 14996: 2006, CEN 230165). The evaluation and the calculation procedures meet the requirements of the Water Framework Directive (WFD) and are in line with the recommendations of the implementation groups CIS Working Group 2.3 and 2.A (RECFOND, ECOSTAT).

The macrophyte survey is carried out once during the main vegetation period (June-September). In each sampling site, usually a 100 m long section is surveyed. The abundances of a single species are estimated using a five-level scale according to Kohler.

For assessment, the species are designated to three different groups: reference taxa (A), indifferent taxa (B) and degradation indicators (C). The relative share of these different groups decides the ecological class of the investigated site.

Field records also include estimation of four abiotic parameters: flow velocity, shading, substrate type and mean depth. Shading is noted based on five-degree scale (1 – completely sunny, 2 – sunny, 3 – partly overcast, 4 – half shaded, 5 – completely shaded) of Wörlein (1992). The other three parameters are determined after Schaumburg et al. (2004, 2006) in a semi-quantitative way using class scales, to enable a fast and easy application. The velocity of flow is recorded using six-point scale: I – not visible, II – barely visible, III – slowly running, IV – rapidly running (current with moderate turbulences), V – rapidly running (turbulently running), VI – torrential. The substratum conditions at the sampling site are classified in 5% steps according to an eight-point scale: % mud, % clay/loam (<0.063 mm), % (0.063-2.0 mm), % fine/medium gravel (2.0-6.3/6.3-20 mm), % coarse gravel (20-63 mm), % stones (63-200 mm), % boulders (>200 mm) and % organic/peat. The mean depth is noted on a three-degree scale (I – 0-30 cm, II – 30-100 cm and III >100 cm).

Prior to performing any calculations, the nominally scaled values of plant abundance are converted into metric quantities using the following function:

$$Q(\text{quantity}) = A(\text{abundance})^3.$$

The taxa occurring at the sampling site is assigned to type species group that corresponds to reference (or sensitive) taxa, indifferent taxa and degradation indicators (tolerant species). The quantities of different species are summed up separately for each group and for all species of a sampling site.

RI-HR is calculated according to the following formula:

$$RI = \frac{\sum QAi - \sum QCi}{\sum Qgi} 100$$

RI – Croatian Macrophyte Index for Rivers

QAi – Quantity of the i-th taxon of species group A QCi – Quantity of the i-th taxon of species group C Qgi – Quantity of the i-th taxon of all groups

nA – Total number of taxa in group A nC – Total number of taxa in group C ng – Total number of taxa in all groups.

The resulting index values range from +100 (only species group A taxa) to -100 (only species group C taxa).

The additional criteria provided below are type-related correcting factors of the RI-HR:

if BN community is dominated by helophytes, the RI-HR is reduced by 50

if BN community does not have any of characteristic species (Group A), the RI-HR is reduced by 60

if PF community is dominated by helophytes, the RI-HR is reduced by 50 For community definitions see section 2.3.

In order to obtain EQR values, the index values must be transformed:

$$EQR = \frac{(RI + 100) * 0,5}{100}$$

---

## METHODS AND REQUIRED BQE PARAMETERS

---

Table 2. Overview of the metrics included in the national method

HR	Taxonomic composition	Abundance
RI-HR	x	x

Combination rule used in the method: quantity of sensitive species in relation to the quantity of tolerant and indifferent species. Additional criteria are used depending on the number of taxa and the relative quantity of specific taxa.

Conclusion on the WFD compliance: all indicative parameters of the macrophytes (listed in IC Guidance document on the intercalibration process) are included.

---

## SAMPLING AND DATA PROCESSING

---

Description of sampling and data processing:

Sampling time and frequency:

Sampling takes place once in a year, during summer or early autumn (June-September), when macrophytes are optimally developed. July and August are usually optimal for sampling. For operational monitoring, sampling is done once in three years, while for surveillance monitoring, once in six years.

Sampling method:

The sampling location is selected on the stretch of river with no visible disturbances such as bridges, tributaries, disturbed riverbank etc., and from the ecologic point of view it should be homogenous. In the case of variability of ecological conditions (riffles, changes of slope, substrates, riparian vegetation or brightness), it is recommended to take several samples on shorter river stretches. The length of the sampled river stretch is approximately 100 m (i.e. 50- 100 m for small and medium rivers).

Macrophytes occurring in the mapped section are investigated by wadding, if possible, against the direction of flow, through the running water. To cover the whole width of the running water, wading should be carried out following a zigzag pattern.

In shallow rivers, sampling can be done using a water viewer. In deeper water additionally, a boat and a rake should be used.

Species that are hard to determine in the field are sampled and stored for later identification in the laboratory.

The assessment of total covering is done using the Kohler scale: 1 – very rare

– rare

– common 4 – frequent

5 – abundant/predominant

Data processing:

For data analyses, the macrophyte abundance data is transformed into “plant quantity” using the function  $Q = A^3$ .

Identification level:

Species level for bryophytes, vascular plants and charophytes. Genus level for other macroalgae (preferably also species level).

---

#### NATIONAL REFERENCE CONDITIONS

---

Reference conditions for MedGIG rivers in Croatia are established in accordance with Feio et al. (2014). In those conditions, two macrophyte communities were recognized regardless of the national biotic types (Table 7) and the intercalibration river types (R-M1 and R-M2):

- community dominated by bryophytes (PF)

This community is clearly distinguished by dominance of bryophytes and (almost) complete lack of vascular plants. Since all rivers in Mediterranean region of Croatia flow over carbonate bedrock, these communities are built up of typical calciphylloous or indifferent species as *Rhynchostegium riparioides*, *Cinclidotus aquaticus*, *C. fontinaloides*, *C. riparius*, *Cratoneuron filicinum*, *Palusstriella commutata*, *Fissidens crassipes*, *F. adianthoides*, *Didymodon tophaceus*, *Eucladium verticillatum*, *Fontinalis antipyretica*, *Pellia endiviifolia*, *Preissia quadrata* and others.

- community dominated by herbids and other growth forms of vascular plants (miriophyllids and magnopotamids in first order) (BN).

This community is characterised by almost constant presence of *Berula erecta*. Other common species are *Mentha aquatica*, *Apium repens*, *Veronica anagallis-aquatica*, *Juncus articulatus*, *Agrostis stolonifera*, *Nasturtium officinale*, *Oenanthe fistulosa*, *Hippuris vulgaris*, charophytes and bryophytes.

One of these community types were assigned to every monitoring station. Namely, IC types M1 and M2 in Croatia are typical karst rivers with mosaic of plant communities dominated by mosses or by vascular plants. Occurrence of each community depends on water velocity, presence of waterfalls (natural barriers) and substratum. In conditions where water velocity is higher and the substratum formed of large stones, boulders and rocks, mosses are the main plant group forming communities. On the other hand, if water is slower and the substratum has larger proportion of gravel and sand, than regularly occurs the community with *Berula erecta* and other species of vascular plants.

---

#### NATIONAL BOUNDARY SETTING

---

One of five classes (high, good, moderate, poor and bad) classifies ecological status.

The boundaries were set at the zones of distinct changes of the macrophytes assemblage: analysing discontinuities in a pressure-response relationship and adjusting by expert judgment based on changes in type specific reference and tolerant species (Table 3).

Table 3. Classification of the EQR values into the categories of ecological status.

class	Community	Range of EQR	Interpretation
High	PF	>0.70	The HG boundary was assumed as one quarter (0.25) below the median value at which species of Group A are in clear dominance, and species of Group C are completely absent.
	BN	>0.65	
	PF	0.69-0.50	The GM boundary was the point at which species of Group B (indifferent

Good	BN	0.64-0.50	taxa) are dominant, and species of Group A are still dominant over species of Group C
Moderate	PF	0.30-0.49	The MP boundary was set as the average where the community is dominated by species of Group C (disturbance indicators). Species of Group A disappear.
	BN	0.25-0.49	
Poor	PF	0.29-0	The PB boundary is a point at which macrophyte species are extinct due to anthropogenic pressure.
	BN	0.24-0	
Bad	PF	-	Complete loss of macrophytes due to anthropogenic pressure.
	BN	-	

#### PRESSURES ADDRESSED

Pressures addressed by the method are eutrophication and general degradation. The national dataset for MedGIG was used to test the response to different types of pressures (Tables 4 and 5, Figures 1 and 2). It can be concluded that the fitting procedure is feasible in terms of pressures.

Table 4. Correlation coefficients between ERQs and general physical and chemical parameters.

	EQR		t	EQR	
	Pearson Correlation	Significance		Spearman correlation	Significance
log_t	-.241*	.035		-.177	.093
	EQR			EQR	
	Pearson Correlation	Significance		Spearman correlation	Significance
log_pH	.079	.279	pH	.101	.228
log_conduc	-.085	.266	conduc	-.343**	.005
log_susp	-.327**	.007	susp	-.340**	.005
log_alcal	-.266*	.023	alcal	-.371**	.002
log_hard	-.128	.172	hard	-.323**	.007
log_O2_diss	.297*	.012	O2_diss	.318**	.008
log_O2_sat	.220*	.050	O2_sat	.180	.091
log_NH4+	-.586**	.000	NH3	-.579**	.000
log_NO2-	-.464**	.000	NO2	-.413**	.001
log_NO3-	-.300*	.012	NO3	-.265*	.023
log_N_total	-.468**	.000	N_total	-.372**	.002
log_PO43-	-.496**	.000	PO4	-.455**	.000

\*\*. Correlation is significant at the 0.01 level.

\*. Correlation is significant at the 0.05 level.

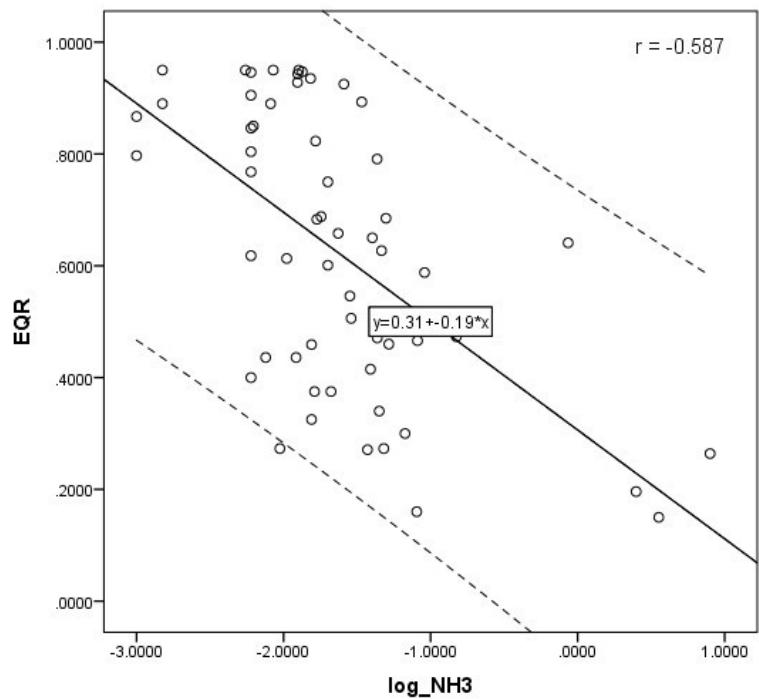


Figure 1. Response of the assessment method to the concentration of ammonium (95% confidence lines are dashed).

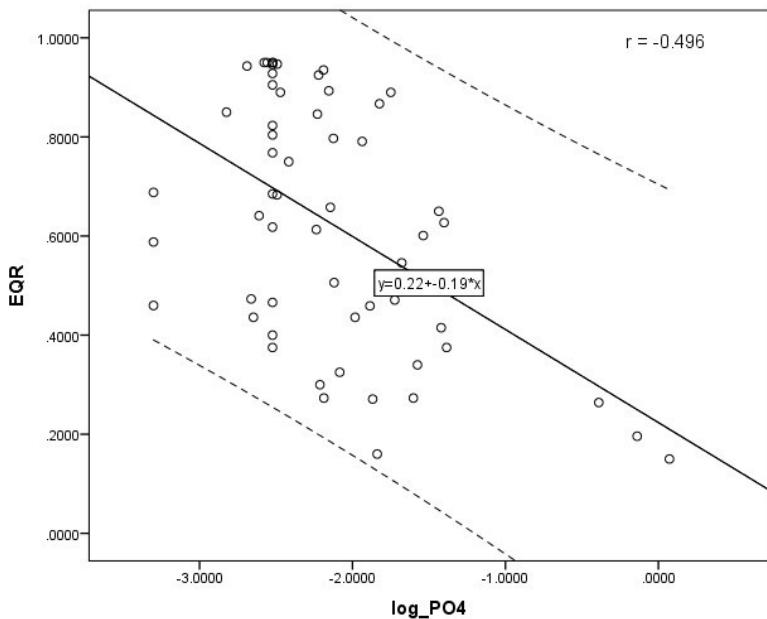


Figure 2. Response of the assessment method to the concentration of orthophosphates (95% confidence lines are dashed).

Table 5. Correlation coefficients between ERQs and different measures of general degradation (PST – catchment area, POE\_T – % extensive agriculture, POI\_T – % intensive agriculture, PRI\_T – % natural and seminatural areas, URB\_T – % of urban and artificial areas; long\_con – longitudinal connectivity, morph – general morphology, hydro – hydrological degradation, total – total hydromorphological degradation).

	EQR			
	Pearson Correlation	Significance	Spearman Correlation	Significance
PST	-.048	.361	.001	.497
POE_T	-.210	.058	-.193	.075
POI_T	-.084	.266	-.274*	.019
PRI_T	.278*	.018	.333**	.006
URB_T	-.276*	.019	-.208	.061
long_con	-.091	.251	-.083	.270
morph	-.376**	.002	-.353**	.004
hydro	-.204	.064	-.239*	.036
total	-.393**	.001	-.354**	.003

\*\*. Correlation is significant at the 0.01 level.

\*. Correlation is significant at the 0.05 level.

## WFD COMPLIANCE CHECKING

The first step in the Intercalibration process requires the checking of national methods considering the following WFD compliance criteria.

Table 6. List of the WFD compliance criteria and the WFD compliance checking process and results

Compliance criteria	Compliance checking
Ecological status is classified by one of five classes (high, good, moderate, poor and bad).	YES
High, good and moderate ecological status are set in line with the WFD's normative definitions (Boundary setting procedure)	YES
All relevant parameters indicative of the biological quality element are covered (see Table 1 in the IC Guidance). A combination rule to combine parameter assessment into BQE assessment has to be defined. If parameters are missing, Member States need to demonstrate that the method is sufficiently indicative of the status of the QE as a whole	YES
Assessment is adapted to intercalibration common types that are defined in line with the typological requirements of the Annex II WFD and approved by WG ECOSTAT	
The water body is assessed against type-specific near- natural reference conditions	YES
Assessment results are expressed as EQRs	YES
Sampling procedure allows for representative information about water body quality/ecological status in space and time	YES
All data relevant for assessing the biological parameters specified in the WFD's normative definitions are covered by the sampling procedure	YES
Selected taxonomic level achieves adequate confidence and precision in classification	YES

## IC FEASIBILITY CHECKING

Here IC feasibility check of the HR-RI is documented in terms of typology, addressed pressure and assessment concept.

### TYPOLOGY

Validation of the national sites' allocation to the common IC river types was performed based on: mean altitude above sea level, catchment area and from qualitative information concerning hydrological features that were included in the dataset. The established national sites corresponded to two of reported common intercalibration Mediterranean river types (Aguiar et al., 2014) – R\_M1 and R-M2, since the type R-M5 was not intercalibrated due to large structural and functional differences (Aguiar et al., 2010).

Table 7. Overview of national types and their fitting in MedGIG intercalibration types.

National biotic type	National biotic type	Intercalibration type
Lowland and mid-altitude small river, calcareous geology	HR-R_11A	R-M1
Mid-altitude medium river, calcareous geology	HR-R_12	R-M2
Lowland medium river, calcareous geology	HR-R_13	R-M2
Large lowland rivers with barrage pools	HR-R_13A	R-M2
Lowland short-flow small rivers with >5 % slope, calcareous geology	HR-R_14A	R-M1
Lowland short-flow medium rivers with >5 % slope, calcareous geology	HR-R_14B	R-M2
Small and medium rivers in karst fields	HR-R_15A	R-M1
Medium rivers in karst fields	HR-R_15B	R-M2
Mid-altitude small and medium temporary rivers, calcareous geology	HR-R_16A	R-M5
Lowland small temporary rivers, calcareous and siliceous-calcareous geology	HR-R_16B	R-M5
Lowland and mid altitude small spring rivers of Istria, calcareous-flysch geology	HR-R_17	R-M1
Lowland medium rivers of Istria, calcareous-flysch geology	HR-R_18	R-M2
Temporary small lowland rivers of Istria, calcareous-flysch geology	HR-R_19	R-M5

The biological typology of running waters in Croatia was initially established in 2011 (Mihaljević et al., 2011), mainly based on expert opinion of type-specific benthic macroinvertebrate communities, due to general lack of all data types: both biological and pressure data. Today, biological data in most types are sufficient, as well as data on pressures such as water chemistry and land use. The data sets are still lacking hydromorphological scoring from many sites as the hydromorphological evaluation of running waters in Croatia began only recently, in 2017. With more data on hydromorphology, we wish to fine-tune values for every type. Hence, the typology will remain as initially determined.

### PRESSURES ADDRESSED

Croatian method is based on indicator species responding to eutrophication and general degradation. The method is similar to those of the intercalibrated methods. The relationships between the index and the environmental factors are presented in chapter 2.5.

---

#### ASSESSMENT CONCEPT

---

National macrophyte-based method (RI-HR) is based on multihabitat sampling covering the whole river channel and banks. Reference index defines type-specific reference and non-specific disturbance indicating taxa (stonewort, other macroalgae, bryophytes and vascular plants).

Intercalibrated methods in MedGIG RMI (Slovenia) and IBMR (Cyprus, Greece, France, Italy, Portugal, Spain), as well as additionally fitted RI-BG (Bulgaria), are also indicator species based methods.

---

#### CONCLUSION ON THE INTERCALIBRATION FEASIBILITY

---

We conclude that fitting of Croatian Reference Index (RI-HR) to the results of MedGIG intercalibration exercise is feasible.

---

### DEMONSTRATING THE COMPLIANCE WITH THE COMPLETED INTERCALIBRATION EXERCISE

---

#### Background

The macrophyte MedGIG has finalized intercalibration, but Croatia did not join the group. Thus, Croatia has to perform fit-in-procedure. First, it had to be shown that macrophyte-based national method is compliant with the WFD normative definitions (Chapter 3) and intercalibration is feasible in terms of typology (Chapter 4). In the second step, it has to be proven that the RI class boundaries are in line with the results of the intercalibration exercise.

The MedGIG Macrophyte group successfully completed intercalibration for rivers in the second round (2013). Seven member states (Portugal, Greece, France, Spain, Cyprus, Slovenia and Italy) were included. With one exception, they all used the French IBMR (*Indice Biologique Macrophytique en Rivière* (Haury et al. 2006) as the assessment system. Only Slovenia was using another method: the Slovenian RMI (*River Macrophyte Index* (Kuhar et. al. 2011)).

Accordingly, a combination of Option 1 (for all countries using the IBMR-method) and Option 3 (median boundary values of all countries against the Slovenian RMI-method) was used for intercalibration. However, concerning the intercalibration of the Slovenian method, no “real” Option 3 was performed. As the harmonized median values of the H/G boundary and the G/M boundary of the countries intercalibrated previously via Option 1 was used as fixed benchmarks (Aguiar et al. 2013), the way of intercalibration in reality corresponded to a “fit-in procedure” (Pall et al. 2016).

In case Option 3 was applied in the previous finalized intercalibration exercise, the current guidance for the fit-in-procedure “Instruction manual to fit new or revised national classifications to the completed IC exercise” stipulates Case B1 “IC Option 3, using reference/benchmark sites” as to be used for the fit-in procedure. However, as described above, this in reality was not the case in the MedGIG. For this reason, we decided not to follow Case B1. Furthermore, during testing the Slovenian method in preparation of Bulgarian classification fitting it turned out that due to the low number of indicator species, an application of the Slovenian Index for many Bulgarian sites was not possible (Pall et al. 2016). A similar situation was in the MedGIG itself: Besides the Slovenian sites, only some sites from France, Spain and Cyprus could be assessed with the Slovenian method.

For this reason, we decided to follow Case A1 for the fit-in procedure: “IC Option 1 or 2 using reference/benchmark sites”.

Benchmark standardization used in the completed MedGIG IC exercise follows Feio et al. (2014), who established thresholds for benchmarks (Table 8).

Table 8. Thresholds for benchmarks in MedGIG after Feio et al. (2014).

Variables	Boundary
Channelization	≤ 2
Bank alternation (1-4)	≤ 2
Local habitat alternation (1-4)	≤ 2
Riparian vegetation (1-4)	≤ 2
Connectivity (1-4)	≤ 2
Stream flow (1-4)	≤ 2
Variables	Boundary
Upstream dam influence (1-4)	≤ 2
Hydropeaking (1-4)	≤ 2
DO (mg/l)	6.39-13.70
N-NH <sup>+</sup> (mg/l) <sup>4</sup>	≤ 0.09
N-NO <sup>-</sup> (mg/l) <sup>3</sup>	≤ 1.15
P-Total (mg/l)	≤ 0.07
P-PO <sup>3-</sup> (mg/l) <sup>4</sup>	≤ 0.06
% artificial areas (catchm)	≤ 1
% intensive agriculture (catchm)	≤ 11
% extensive agriculture (catchm)	≥ 32
	≥ 68

### Description of IC dataset

The national dataset contains data (both biological and non-biological) for 57 sites from the common intercalibration MedGIG river types – R-M1, R-M2 and R-M5 (Table 9). However, the type R-M5 was excluded from fitting process as it is explained in the introduction, so it remained 42 sites belonging to river types R-M1 and R-M2 for fitting exercise. The fitting exercise is carried out based on qualified national dataset of the national river monitoring in 2017 provided by Hrvatske vode. This dataset covers the whole Mediterranean part of Croatia covered by MedGIG. The data set contains macrophyte sample information, information on physical and chemical parameters of water, as well as information on land use and hydromorphological degradation for each site in the analysis. It can be concluded that the dataset encompasses sampling sites covering almost the entire gradient of the pressure to be intercalibrated, and hence the complete ecological quality gradient (Wilby et al. 2014).

Table 9. Number of macrophyte samples in the Croatian MedGIG intercalibration dataset broken by RI-HR classification into the five ecological status classes.

	total	H	G	M	P	B
R-M1	17	7	2	6	2	-
R-M2	25	12	5	5	3	-
R-M5	15	4	7	-	4	-

### Description of intercalibration procedure

Step 1: Calculate the common metric (CM) on the national dataset.

The method used for the Option 1 intercalibration within the MedGIG was the French IBMR (Haury et al. 2006). The details on how this method was applied as a common metric for the MedGIG intercalibration are given in the MedGIG IC report (Aguiar et al. 2013) and in Aguiar et al. (2014).

The common MedGIG method IBMR (common metric or ICM) was calculated for the national dataset. IBMR was calculated using Formularie saisie liste floristique calcul IBMR v.3.3. (<https://hydrobio-dce.irstea.fr/telecharger/macrophytes-rivieres-2/>)

To calculate ICM-EQR values, IBMRs of the national dataset were divided by the median value of IBMR for benchmark sites, which is 12.09.

Step 2: Use the associated pressure data to identify sites in the national dataset that meet the criteria established by the GIG for the selection of benchmark or reference sites.

The procedure followed the approach of MedGIG and the developed common benchmark conditions.

Thresholds established in the MedGIG for the final selection of benchmarks (Table 8) were applied to the national dataset. Comparison with the established thresholds for benchmarks (Feio et al. 2014) showed that eight sites (Table 10) fulfilled them.

Table 10. Benchmark sites of Croatian MedGIG selected according to thresholds established by Feio et al. (2014).

Site code	Name of the site	IC-type	HR-EQR	IBMR
40106	Potok Rumin (pritok Cetine)	R-M1	0.688	11.850
40443	Izvor Krke (pritok Une), granični prijelaz	R-M1	0.947	9.500
14006	Una, kod izvorišta Loskun	R-M2	0.797	12.050
14007	Una, nizvodno od D. Kraja	R-M2	0.750	8.730
40102	Cetina, Vinalić	R-M2	0.823	12.130
40104	Cetina, Barišići	R-M2	0.943	14.820
40205	Zrmanja, Palanka	R-M2	0.946	14.710
40199	Zrmanja, most na cesti Kostići-Vukmirice	R-M2	0.950	15.250

Step 3: Standardise the common metric (CM\_bm) against the benchmark according to the approach used in the completed exercise. If benchmark standardization was concluded not to be required in the completed exercise the mean CM value of the joining method's benchmark sites must lie inside the range of mean values of the benchmark sites of the methods already intercalibrated for this conclusion to remain applicable. If the joining method's benchmark sites lie outside of this range the joining method must benchmark standardise its sites relative to the global mean CM value of the benchmark sites included in the completed exercise.

An overview of how benchmark standardization was carried out in the MedGIG is given in Table 11.

Table 11. Benchmarking approach in the MedGIG and benchmarking of the Joining HR method

	MS	No of BM sites	Mean ICM	Conclusion
Completed exercise	Spain	21	1.04	0.05
	Portugal	13	0.98	-0.01
	Italy	15	1.02	0.03
	France	16	0.97	-0.02
	Greece	10	0.91	-0.08
	Cyprus	3	1.03	0.04
	Slovenia	0		MSs benchmark standardised the ICM by subtracting the offset of their benchmark sites

	Global mean Range		0.99 0.91-1.04		
Joining MS	Croatia	8	1.02	0.03	The joining HR method benchmark- standardises the ICM by subtracting the offset from the global mean in accordance with the completed exercise.

Step 4: Use OLS regression to establish the relationship between CM\_bm (y) and the EQR of the joining method (x). A specialist case is that when a joining method relies exclusively on the common metric developed in the completed exercise for its classification rather than devising an original method (then being more like Option 1). In such cases, a regression would be meaningless as y is directly dependent on x. The goal for an MS choosing to the use the CM as the basis for their method is simple – after any benchmarking their boundaries must simply lie within one quarter of class of the global mean view. The regression fulfils the minimum criteria defined by the EC, 2011 ( $r^2 > 0.25$ ;  $p > 0.01$ ;  $r > 0.5$ ). Figure 3 shows regression between CM and RI-EQR.

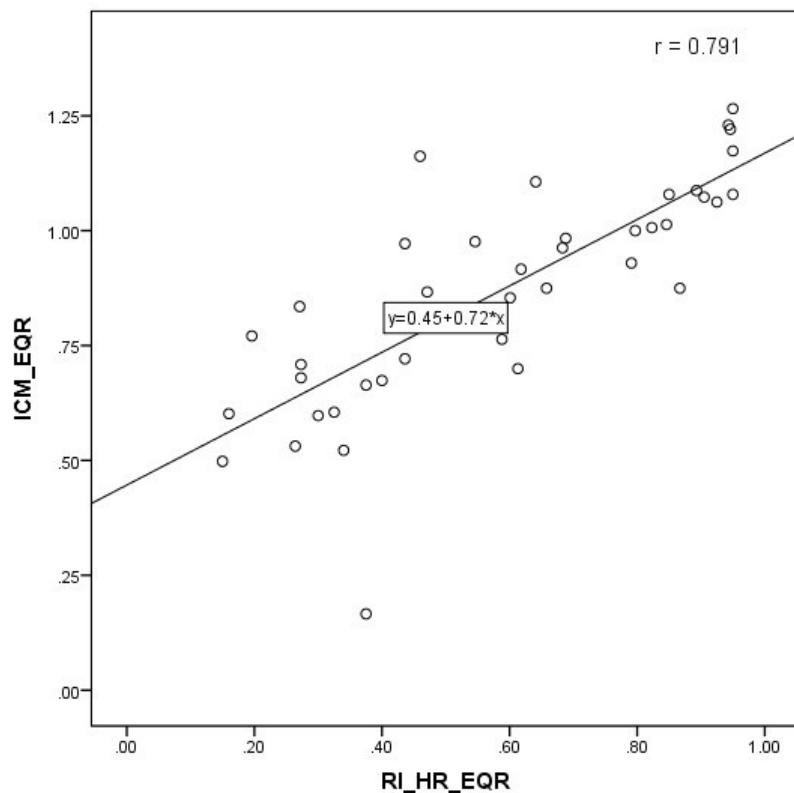


Figure 3. Regression between ICM (IBMR) and national RI-HR EQR ( $r^2 = 0.625$ ,  $p = 0.000$ ;  $r = 0.791$  – Pearson correlation coefficient).

Step 5: Predict the position of the national class boundaries (MP, GM, HG and reference) on the CM\_bm scale. Using the formula given in Figure 3 the national boundaries can be converted to ICM-boundaries as follows in Table 12.

Table 12. Conversion of the national boundaries into ICM-boundaries

Boundary / reference	National types	RI-HR- EQR	ICM-EQR predicted	ICM-EQR MedGIG	Bias
Max	PF BN	1 1	1.17 1.17		
H/G	PF BN	0.7 0.65	0.954 0.918	0.913 0.913	0.041 0.041
G/M	PF BN	0.49 0.49	0.803 0.803	0.754 0.754	0.049 0.049
Boundary / reference	National types	RI-HR- EQR	ICM-EQR predicted	ICM-EQR MedGIG	Bias
M/P	PF BN	0.29 0.24	0.659 0.623		

Step 6: Apply the comparability criteria as summarised in Chapter 6.

Determine the direction of deviation of the national HG and GM boundaries of the joining method on the common metric scale relative to the global mean view defined in the completed exercise.

The national H/G and G/M boundaries fall above the global view (Table 13).

If the national GM boundary on the common metric scale falls below the global view... Not relevant.

If the national GM boundary on the common metric scale falls above the global view, calculate the amount of this deviation and express it as a proportion of the width of the moderate status class on the common metric scale. If this value is  $\leq 0.25$ , the boundary meets the comparability criteria. If  $> 0.25$  the GM boundary can be lowered until the deviation between the national GM boundary on the common metric scale and the global view on the same scale is  $\leq 0.25$  class widths. However, there is no obligation to make this adjustment. If the deviation is equivalent to  $> 0.5$  of the moderate class width, an adjustment is strongly recommended since this implies that the global view of the GM boundary of the countries that completed the exercise is closer to the MP boundary of the joining Member State.

Table 13. Calculation of the amount of G/M bias expressed as a proportion of class width before and after harmonization of the G/M boundary.

	National types	Class width	Bias abs	Bias rel
G/M original	PF BN	0.151	0.049	0.321
		0.115	0.049	0.421
G/M adjusted	PF BN	0.166	0.034	0.206
		0.137	0.027	0.197

The G/M boundary for national type PF had to be adjusted from 0.49 to 0.47. The G/M boundary for national type BN had to be adjusted from 0.49 to 0.46.

These steps should then be repeated for the HG boundary. Thus, if the national HG boundary on the common metric scale falls below the global view, calculate the amount of this deviation and express it as a proportion of the width of the high status class on the common metric scale. If this value is  $\leq 0.25$ , the boundary meets the comparability criteria. If  $> 0.25$  the HG boundary must be raised until the deviation between the national HG boundary on the common metric scale and the global view on the same scale is  $\leq 0.25$  class widths. If the national HG boundary on the common metric scale falls above the global view, calculate the amount of this deviation and express it as a proportion of the width of the good status class on the common metric scale. If this value is  $\leq 0.25$ , the boundary meets the comparability criteria. If  $> 0.25$ , the HG boundary can be lowered until the deviation between the national HG boundary on the common metric scale and the global view on the same scale is  $\leq 0.25$  class widths. However, there is no obligation to make this adjustment. If the deviation is equivalent to  $> 0.5$  of the good class width, an adjustment is strongly recommended since this implies that the global view of the HG boundary of the countries that completed the exercise is closer to the GM boundary of the joining Member State.

Table 14. Calculation of the amount of H7G bias expressed as proportion of class width.

	National types	Class width	Bias abs	Bias rel
H/G	PF BN	0.216	0.041	0.191
		0.252	0.005	0.021

The amount of the deviation expressed as a proportion of class width is  $\leq 0.25$  and therefore meets the comparability criteria.

#### Piecewise linear transformation of class boundaries

Since in R-M1 and R-M2 intercalibration types in Croatia two site specific communities were recognized (PF and BN) the class boundaries were accorded using piecewise linear transformation.

Table 15. Classification of EQR values to ecological status classes and associated transformation equations in order to obtain uniform and common class ranges for macrophyte communities

Ecological status class	Community	EQR range	Uniform EQR range	Equation
Very good	PF	>0.65	>0.80	$0.80+0.20*(OEK-0.65)/0.35$
	BN	>0.60	>0.80	$0.80+0.20*(OEK-0.60)/0.40$
Good	PF	0.42-0.64	0.60-0.79	$0.60+0.20*(OEK-0.42)/0.23$
	BN	0.41-0.59	0.60-0.79	$0.60+0.20*(OEK-0.41)/0.19$
Moderate	PF	0.24-0.41	0.40-0.59	$0.40+0.20*(OEK-0.24)/0.18$
	BN	0.19-0.40	0.40-0.59	$0.40+0.20*(OEK-0.19)/0.22$
Bad	PF	0-0.23	0.20-0.39	$0.20+0.20*(OEK)/0.24$
	BN	0-0.18	0.20-0.39	$0.20+0.20*(OEK)/0.19$
Poor	PF	-	<0.20	-
	BN	-	<0.20	-

#### Conclusions

The national assessment method was compared with the finalized IC exercise of the MedGIG following the fit-in procedure of Willby et al. (2014). The analysis revealed a good agreement of the national method with the methods from other member states of the MedGIG. Following the criteria defined in the fit-in-procedure of Wilby et al. (2014), the national assessment method for Croatia with a slight adjusting of the G/M boundary is considered as comparable with the existing macrophyte-based method (IBMR).

## DESCRIPTION OF THE BIOLOGICAL COMMUNITIES

---

### DESCRIPTION OF THE BIOLOGICAL COMMUNITIES AT HIGH STATUS

Type-specific reference species are dominant, pressure indicators are rare.

### DESCRIPTION OF THE BIOLOGICAL COMMUNITIES AT GOOD STATUS

In good status, reference species are abundant, degradation indicators occur.

### DESCRIPTION OF THE BIOLOGICAL COMMUNITIES AT MODERATE STATUS

In moderate status, degradation indicators dominate over reference species.

## REFERENCES

---

- Aguiar, F. C., Cambra, J., Chauvin, C., Ferreira, T., Germ, M., Kuhar, U., Manolaki, P., Minciadri, M. R., Papastergiadou, E., 2010: Floristic and functional gradients of river plant communities: a biogeographical study across the Mediterranean Basin. XV Congress of Iberian Association of Limnology, 5-7 July 2010, Azores: 55.
- Aguiar, F. C., Segundo, P., Urbanič, G., Cambra, J., Chauvin, C., Ciadamidaro, S. et al., 2013: Mediterranean River GIG – Macrophytes. 2012 Intercalibration Technical Report, unpublished.
- Aguiar, F. C., Segundo, P., Urbanič, G., Cambra, J., Chauvin, C., Ciadamidaro, S., Dörflinger, G., Ferreira, J., Germ, M., Manolaki, P., Miniciardi, M. R., Munné, A., Papastergiadou, E., Ferreira, M. T. 2014: Comparability of river quality assessment using macrophytes: A multi-step procedure to overcome biogeographical differences. *Science of the total environment*, 476-477: 757-767.
- Feio, M. J., Aguiar, F. C., Almeida, S. F. P., Ferreira, J., Ferreira, M. T., Elias C. et al., 2014: Least disturbed condition for European Mediterranean rivers. *Science of the total environment*, 476-477: 745-756.
- Haury, J., Peltre, M.-C., Trémolières, M., Barbe, J., Thiébaut, G., Berbez, I., Daniel, H., Chatenet, P., Haan-Archipof, G., Muller, S., Dutartre, A., Laplace-Treyture, C., Cazaubon, A., Lambert-Servien, E., 2006: A new method to assess water trophy and organic pollution – the Macrophyte Biological Index for Rivers (IBMR): its application to different types of river and pollution. *Hydrobiologia* 570: 153-158.
- Kohler, A., 1978: Methoden der Kartierung von Flora und Vegetation von Süßwasserbiotopen. *Landschaft & Stadt*, 10: 73-85.
- Kuhar, U., Germ, M., Gaberščik, A., Urbanič, G., 2010: Development of a River Macrophyte Index (RMI) for assessing river ecological status. *Limnologica* 41: 235-243.
- Mihaljević, Z., Kerovec, M., Mrakovčić, M., Plenković, A., Alegro, A. & Primc-Habdija, B. (2011): Testiranje bioloških metoda ocjene ekološkog stanja (Okvirna direktiva o vodama, 2000/60/EC) u reprezentativnim slivovima Panonske i Dinaridske ekoregije. PMF, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb. (Testing of biological methods for ecological status assessment (Water framework directive 2000/60/EC) in representative river basins of the Pannonic and Dinaric ecoregions).
- Pall, K., Gecheva, G., Todorov, E., 2016: Bulgaria – Reprot on fitting a classification method to the results of the completed intercalibration of Med GIG (R-M1 and R-M2). Ministry of Environment and Water, Bulgaria & Consortium DICON – UBA, Sofia – Vienna.
- Schaumburg, J., Schranz, C., Foerster, J., Gutowski, A., Hofmann, G., Meilinger, P., Schneider, S., Schmedtje, U., 2004: Ecological classification of macrophytes and phytobenthos for rivers in Germany according tot he Water Framework Directive. *Limnology* 34: 283-301.
- Schaumburg, J., Schranz, C., Stelzer, D., Hofmann, G., Gutowski, A., Foerster, J., 2006: Instruction Protocol for the Ecological Assessment of running Waters for Implementation of the EC Water Framework Directive: Macrophytes and Phytobenthos. Bavarian Environment Agency, Munich.
- Schaumburg, J., Schranz, C., Stelzer, D., Vogel, A., Gutowski, A., 2012: Verfahrensanleitung für die ökologische Bewertung von Fließgewässern zur Umsetzung der EG-Wasserrahmenrichtlinie: Makrophyten und Phytobenthos (PHYLIB). Bayerisches Landesamt für Umwelt, Wielenbach.

Willby, N., Birk, S., Poikane, S., van de Bund, W. 2015: Water Framework Directive Intercalibration manual. Procedure to fit new or updated classification methods to the results of a completed intercalibration. Guidance Document No. 30. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.

Wörlein, F., 1992: Pflanzen für Garten, Stadt und Landschaft. Taschenkatalog, Wörlein Baumschulen, Dießen.

Annex A. List of Croatian type specific indicator species for PF (bryophyte community) and BN (herbivore community with other morphological types) in R-M1 and R-M2 rivers (A – reference indicators, B – indifferent taxa, C – degradation indicators).

Species	PF	BN
<i>Acorus calamus</i>	C	C
<i>Agrostis stolonifera</i>	B	B
<i>Alisma lanceolatum</i>	C	B
<i>Alysma plantago-aquatica</i>	C	B
<i>Amblystegium serpens</i>	B	B
<i>Amblystegium varium</i>	B	B
<i>Apium repens</i>	A	A
<i>Batrachospermum sp.</i>	A	A
<i>Berula erecta</i>	B	A
<i>Bolboschoenus maritimus</i>	C	C
<i>Brachythecium rivulare</i>	A	A
<i>Bryum pseudotriquetrum</i>	A	A
<i>Butomus umbellatus</i>	C	C
<i>Caliergonella cuspidata</i>	B	B
<i>Callitricha cophocarpa</i>	B	B
<i>Callitricha hamulata</i>	A	A
<i>Callitricha obtusangula</i>	B	B
<i>Callitricha palustris</i>	B	B
<i>Callitricha platycarpa</i>	B	B
<i>Caltha palustris</i>	B	B
<i>Cardamine amara</i>	B	B
<i>Carex acuta</i>	B	B
<i>Carex acutiformis</i>	B	B
<i>Carex elata</i>	B	B
<i>Ceratophyllum demersum</i>	C	C
<i>Ceratophyllum submersum</i>	C	C
<i>Chara aspera</i>	A	A
<i>Chara contraria</i>	A	A
<i>Chara globularis</i>	A	A
<i>Chara hispida</i>	A	A
<i>Chara intermedia</i>	A	A
<i>Chara tomentosa</i>	A	A
<i>Chara vulgaris</i>	A	A
<i>Chara sp.</i>	A	A
<i>Cinclidotus riparius</i>	A	A
<i>Cinclidotus aquaticus</i>	A	A
<i>Cinclidotus danubicus</i>	A	A
<i>Cinclidotus fontinaloides</i>	A	A
<i>Cladophora sp.</i>	C	C
<i>Conocephalum conicum</i>	A	A
<i>Cratoneuron filicinum</i>	A	A
<i>Cyperus longus</i>	B	B
<i>Didymodon tophaceus</i>	A	A
<i>Drepanocladus aduncus</i>	A	A
<i>Egeria densa</i>	C	C
<i>Eleocharis palustris</i>	C	C
<i>Elodea canadensis</i>	C	C
<i>Equisetum arvense</i>	C	C
<i>Equisetum palustre</i>	C	C

Species	PF	BN
<i>Eurhynchium praelongum</i>	B	B
<i>Fontinalis antipyretica</i>	A	A
<i>Fissidens crassipes</i>	B	B
<i>Fissidens rufulus</i>	A	A
<i>Galium palustre</i>	B	B
<i>Glyceria fluitans</i>	B	B
<i>Glyceria maxima</i>	C	C
<i>Glyceria sp.</i>	C	C
<i>Heribaudiella fluviatilis</i>	A	A
<i>Hippuris vulgaris</i>	B	A
<i>Holoschoenus vulgaris</i>	C	B
<i>Hottonia palustris</i>	C	B
<i>Hydrocharis morsus-ranae</i>	C	C
<i>Hygroamblystegium tenax</i>	B	B
<i>Hygrohypnum luridum</i>	A	A
<i>Hydrocharis morsus-ranae</i>	C	C
<i>Hymenostylium recurvirostrum</i>	A	A
<i>Hyophila involuta</i>	B	B
<i>Iris pseudacorus</i>	C	C
<i>Juncus articulatus</i>	B	B
<i>Juncus bulbosus</i>	B	A
<i>Juncus compressus</i>	B	B
<i>Juncus inflexus</i>	B	B
<i>Jungermannia atrovirens</i>	A	A
<i>Lemanea sp.</i>	A	A
<i>Lemna gibba</i>	C	C
<i>Lemna minor</i>	C	C
<i>Lemna trisulca</i>	C	B
<i>Leptodyctium riparium</i>	C	C
<i>Lophocolea bidentata</i>	B	B
<i>Lunularia cruciata</i>	B	B
<i>Lycopus europaeus</i>	C	C
<i>Lysimachia nummularia</i>	C	C
<i>Lysimachia vulgaris</i>	C	C
<i>Lythrum salicaria</i>	C	C
<i>Marchantia polymorpha</i>	B	B
<i>Mentha aquatica</i>	B	B
<i>Myosotis scorpioides</i>	B	B
<i>Myriophyllum spicatum</i>	B	B
<i>Myriophyllum verticillatum</i>	C	B
<i>Najas marina</i>	C	C
<i>Najas minor</i>	C	C
<i>Nasturtium officinale</i>	B	B
<i>Nitella spp.</i>	A	A
<i>Nitellopsis obtusa</i>	A	A
<i>Nuphar lutea</i>	C	C
<i>Nymphaea alba</i>	C	C
<i>Nymphoides peltata</i>	C	B
<i>Oenanthe aquatica</i>	C	C
<i>Oenanthe cf. fistulosa</i>	B	B
<i>Palustriella commutata</i>	A	A
<i>Pellia endiviaefolia</i>	A	A

Species	PF	BN
<i>Phalaris arundinacea</i>	C	B
<i>Phragmites australis</i>	C	B
<i>Plagiomnium undulatum</i>	B	B
<i>Platyhypnidium riparioides</i>	A	A
<i>Pohlia ludwigii</i>	B	B
<i>Polygonum amphibium</i>	B	B
<i>Polygonum hydropiper</i>	B	B
<i>Polygonum lapathifolium</i>	C	C
<i>Potamogeton berchtoldii</i>	C	C
<i>Potamogeton crispus</i>	C	C
<i>Potamogeton gramineus</i>	C	B
<i>Potamogeton lucens</i>	B	B
<i>Potamogeton natans</i>	C	B
<i>Potamogeton nodosus</i>	C	C
<i>Potamogeton pectinatus</i>	C	C
<i>Potamogeton perfoliatus</i>	C	A
<i>Potamogeton pusillus</i>	C	C
<i>Potamogeton trichoides</i>	C	C
<i>Pulicaria dysenterica</i>	C	C
<i>Ranunculus aquatilis</i>	B	B
<i>Ranunculus circinatus</i>	B	B
<i>Ranunculus flammula</i>	B	A
<i>Ranunculus fluitans</i>	B	A
<i>Ranunculus peltatus</i>	B	A
<i>Ranunculus repens</i>	C	C
<i>Ranunculus sceleratus</i>	C	C
<i>Ranunculus trichophyllum</i>	B	A
<i>Riccia fluitans</i>	B	A
<i>Rorippa amphibia</i>	C	B
<i>Rorippa sylvestris</i>	C	C
<i>Rumex hydrolapathum</i>	C	C
<i>Sagittaria sagittifolia</i>	C	B
<i>Scirpus lacustris</i>	C	B
<i>Sparganium emersum</i>	C	B
<i>Sparganium erectum</i>	C	B
<i>Spirodella polyrhiza</i>	C	B
<i>Spirogyra</i> sp.	C	C
<i>Thamnobryum alopecurum</i>	A	A
<i>Tolypela</i> spp.	A	A
<i>Trapa natans</i>	C	C
<i>Typha angustifolia</i>	C	B
<i>Typha latifolia</i>	C	B
<i>Ulva</i> sp.	C	C
<i>Urtica dioica</i>	C	C
<i>Utricularia australis</i>	C	A
<i>Utricularia vulgaris</i>	C	A
<i>Veronica anagallis-aquatica</i>	B	B
<i>Veronica anagalloides</i>	B	B
<i>Veronica beccabunga</i>	B	B
<i>Veronica catenata</i>	B	B

Zanichellia palustris	C	C
-----------------------	---	---