

**ANALIZA BIOLOŠKE METODE OCJENE EKOLOŠKOG STANJA ZA  
MAKROZOOBENTOS U EUROPSKIM INTERKALIBRACIJSKIM TIPOVIMA  
PRIJELAZNIH I PRIOBALNIH VODA MEDITERANA**



**Institut „Ruđer Bošković“ Centar za istraživanje mora Rovinj**

**Rovinj, 28. veljače 2019.**

INSTITUT „RUĐER BOŠKOVIĆ  
CENTAR ZA ISTRAŽIVANJE MORA ROVINJ

Analiza biološke metode ocjene ekološkog stanja za  
makrozoobentos u europskim interkalibracijskim  
tipovima prijelaznih i priobalnih voda Mediterana

Priredila:

Dr.sc. Ana Travizi

Predstojnik CIM-a, Rovinj

Dr.sc. Martin Pfankuchen

Rovinj, 28. veljače 2019.

## SADRŽAJ

<b>A Projektni zadatak</b>	i
<b>B Pojmovnik kratica i stručnih izraza</b>	ii
<b>1. UVODNE NAPOMENE</b>	1
<b>2. PREGLED KLASIFIKACIJSKIH METODA ZA MAKROZOOBENTOS U PRIJELAZNIMI PRIOBALNIM VODAMA ZEMALJA MED-GIG</b>	5
<b>2.1. PRIJELAZNE VODE U ZEMLJAMA MED-GIG</b>	6
2.1.1. Tipovi prijelaznih voda	6
2.1.2. Metode uzorkovanja i obrade uzoraka	6
2.1.3. Pregled podataka koji se odnose na nacionalne referentne uvjete	8
2.1.4. Pregled nacionalnih klasifikacijskih metoda	9
2.1.5. Pregledni opis metoda za ocjenu ekološkog stanja	10
2.1.6. Određivanje granica klasa ekološkog stanja i omjera ekološke kakvoće	12
<b>2.2. PRIOBALNE VODE U ZEMLJAMA MED-GIG</b>	16
2.2.1. Tipovi priobalnih voda	16
2.2.2. Metode uzorkovanja i obrade uzoraka	16
2.2.3. Pregled podataka koji se odnose na nacionalne referentne uvjete	18
2.2.4. Pregledni nacionalnih klasifikacijskih metoda	19
2.2.5. Pregledni opis metoda za ocjenu ekološkog stanja	20
2.2.6. Određivanje granica klasa ekološkog stanja i omjera ekološke kakvoće	22
<b>3. PREGLED BIOLOSKIH METODA OCJENE EKOLOŠKOG STANJA NA TEMELJU MAKROZOOBENTOSA U PRIJELAZNIMI I PRIOBALNIMI VODAMA HRVATSKE</b>	25
<b>3.1. UZORKOVANJE I LABORATORIJSKA OBRADA UZORAKA I PODATAKA</b>	25
<b>3.1.1. Uzorkovanje</b>	25
3.1.1.1. Područje i učestalost uzorkovanja	25
3.1.1.2. Uzorkovanje faune bentoskih beskralješnjaka (makrobentos)	26
<b>3.1.2. Laboratorijska obrada uzoraka</b>	27
3.1.2.1. Separacija, sortiranje i klasifikacija na razini viših taksonomskih skupina	27
3.1.2.2. Mikroskopiranje i determinacija vrsta	27
3.1.2.3. Kvantifikacija	28
3.1.2.4. Računalna obrada podataka	28
<b>3.1.3. Izračunavanje indeksa/pokazatelja za ocjenu ekološkog stanja</b>	29

3.1.3.1. AMBI - Pokazatelj/indeks za ocjenu ekološkog stanja u prijelaznim vodama	29
3.1.3.2. M-AMBI - Pokazatelj/indeks za ocjenu ekološkog stanja u prijelaznim vodama	30
<b>3.2. REFERENTNE ZAJEDNICE I OPIS BIOLOŠKIH ZAJEDNICA U VRLO DOBROM, DOBROM I UMJERENOM STANJU</b>	<b>30</b>
<b>3.2.1. Preliminarno definiranje referentnih uvjeta temeljem bentoskih zajednica</b>	<b>31</b>
<b>3.2.2. Revizija referentnih uvjeta 1. generacije temeljem zajednica BEK BB - recentno stanje</b>	<b>33</b>
<b>3.2.3. Referentne i najlošije vrijednosti pokazatelja ekološkog stanja</b>	<b>36</b>
<b>3.2.4. Utvrđivanje granica klasa</b>	<b>38</b>
<b>3.2.5. Izračunavanje ekološkog stanja u pojedinačnom modulu</b>	<b>41</b>
<b>3.2.6. Izračunavanje omjera ekološke kakvoće</b>	<b>45</b>
<b>4. ZAKLJUČCI</b>	<b>47</b>
<b>5. LITERATURA</b>	<b>48</b>
<b>6. DODACI</b>	<b>52</b>
<b>Dodatak I.</b> Popratne slike, tablice i terenski protokol.	<b>52</b>
<b>Dodatak II.</b> Izvješće Republike Hrvatske o klasifikacijskoj metodi za makrozoobentos u prijelaznim vodama JRC format EC (na engleskom jeziku)	<b>67</b>
<b>Dodatak III.</b> Izvješće Republike Hrvatske o klasifikacijskoj metodi za makrozoobentos u priobalnim vodama JRC format EC (na engleskom jeziku)	<b>80</b>

## A PROJEKNI ZADATAK

Projektni zadatak „Analiza biološke metode ocjene ekološkog stanja za makrozoobentos u europskim interkalibracijskim tipovima prijelaznih i priobalnih voda Mediterana“ pripremljen je za izvješćivanje Europske komisije o provedenom monitoringu, ustanovljenom stanju vodnih tijela prijelaznih i priobalnih voda i post-interkalibracijskom postupku.

Studija sadrži pregled:

- Uvod
- Klasifikacijskih metoda za makrozoobentos u prijelaznim i priobalnim vodama zemalja MED GIG
- Bioloških metoda ocjene ekološkog stanja na temelju makrozoobentosa u prijelaznim i priobalnim vodama prema poglavljima:
  - a. Uzorkovanje
  - b. Laboratorijska obrada uzoraka
    - i. Separacija, sortiranje i klasifikacija na razini viših taksonomskih skupina
    - ii. Mikroskopiranje i determinacija vrsta
    - iii. Kvantifikacija
    - iv. Računalna obrada podataka
  - c. Izračunavanje indeksa/pokazatelja za ocjenu ekološkog stanja
    - i. Pokazatelji indeksi za ocjenu ekološkog stanja
    - ii. Referentne zajednice i opis bioloških zajednica u vrlo dobrom, dobrom i umjerenom stanju
    - iii. Referentne i najlošije vrijednosti pokazatelja ekološkog stanja
    - iv. Izračunavanje ekološkog stanja u pojedinačnom modulu
  - d. Utvrđivanje granica klasa
  - e. Izračunavanje omjera ekološke kakvoće

Sastavni dio studije je i:

- Izvješće republike Hrvatske o klasifikacijskoj metodi za makrozoobentos u prijelaznim vodama (JRC format, Dodatak I)
- Izvješće republike Hrvatske o klasifikacijskoj metodi za makrozoobentos u priobalnim vodama (JRC format, Dodatak II)

Prilozi:

- MS Access baza podataka s podacima o mjernim postajama, okolišnim podacima, podacima o opterećenjima i biološkim podacima

- Izvorni statistički proračun

## B POJMOVNIK KRATICA I STRUČNIH IZRAZA

AMBI	Biotički indeks (AZTI-Tecnalia, <a href="http://www.azti.es">www.azti.es</a> )
BEK	Biološki element kakvoće (fitoplankton, makroalge, <i>Posidonia oceanica</i> , bentoski beskralješnjaci, ribe)
BEK BB	Biološki element kakvoće bentoski beskralješnjaci
Bentoske životne zajednice	Životne zajednice koje su razvijene na morskom dnu
Biocenoza (životna zajednica)	Skup populacija različitih jedinki biljnih i životinjskih vrsta koje su povezane međuodnosima na ograničenom životnom prostoru
CIS	Zajednička implementacijska strategija (engl. Common Implementation Strategy)
CIS Guidance Document	Vodič za implementaciju Okvirne direktive o vodama
DS i PIS	Područja dalmatinskih i primorsko-istarskih slivova
EU	Europska Unija
Facijes	Iste biocenoze s prevladavanjem jedne ili više vrsta biljnih ili životinjskih organizama
GIS	Geografski informacijski sustav za upravljanje, analizu, vizualizaciju i distribuciju geoprostornih informacija, odnosno informacija o objektima i pojavama čiji je referentni sustav definiran na površini Zemlje
Hranjive soli	Otopljene soli dušika (nitrat, nitrit, amonijeve soli), fosfora (ortofosfat) i silicija (ortosilikata) koje sudjeluju u primarnoj proizvodnji organske tvari u prirodnim vodama, ili su neophodan element za izgradnju dijatomejskih ljušturica
LUSI	Land Uses Simplified Index (Boon <i>et al.</i> , 2011)

M-AMBI	Multimetrijski biotički indeks koji uključuje tri indeksa: AMBI, bogatstvo vrsta (S) i Shannon-Wienerov indeks diverziteta (H')
MED-GIG	Regionalne Geografske Interkalibracijske Grupe (GIG), Mediteranska grupa za interkalibraciju (MED)
ODV	Okvirna direktiva o vodama (izvorno WFD- Water Framework Directive)
OEK	Omjer ekološke kvalitete (engl. EQR – Ecological Quality Ratio)
PSU	Practical Salinity Unit; praktična jedinica saliniteta
PURS	Planovi upravljanja riječnim slivovima
RH	Republika Hrvatska
RU	Referentni uvjeti
S	Salinitet; masa (g) otopljenih soli u 1 kg morske vode kad su svi bromidi i jodidi zamijenjeni jednakom količinom klorida, a sva organska tvar oksidirana. Veličina izvedena iz polinoma 5. reda: $S = - 0,08996 + 28.29720 R15 + 12.80823 R152 - 10.67869 R153 + 5.98624 R154 - 1.32311 R155$
TV	Tip voda
VT	Vodno tijelo

Napomena: Hrvatski oblik kratica u ovom tekstu nije dekliniran, a kratica MED-GIG i kratice zemalja članica, te oznake za pet klasa ekološkog stanja su ostavljene u izvornom obliku.

## 1. UVODNE NAPOMENE

Okvirna direktiva o vodama (ODV) (2000/60/EK) je temeljni pravni okvir za zaštitu i upravljanje vodnim resursima površinskih i podzemnih voda na području Europske Unije (EC, 2000). Predstavlja integrativni okvir politike upravljanja vodnim resursima u cilju sprječavanja onečišćenja, odnosno zaštite, očuvanja, unaprjeđenja i održivog korištenja vodnih ekosustava, nizom mjera i aktivnosti zasnovanih na ekosustavnom pristupu. Glavni cilj ODV je uspostava dobrog ekološkog stanja (engl. Good Environmental status, GES) svih kategorija površinskih i podzemnih voda EU do 2015. godine, a najdalje do 2020. godine.

Površinske vode su razvrstane unutar 5 temeljnih kategorija: rijeke, jezera, prijelazne vode, priobalne vode, otvorene vode i regionalizirane unutar 25 kopnenih i 6 morskih eko-regija, od kojih su kopnene relevantne za tipizaciju rijeka i jezera, a morske za tipizaciju prijelaznih i priobalnih voda na nacionalnoj razini (Hrvatske vode, 2016).

Prema smjernicama „Vodiča za tipologiju, referentne uvjete i klasifikacijske sustave prijelaznih i priobalnih voda“ radne grupe za zajedničku implementacijsku strategiju (engl. Common Implementation Strategy, CIS), prijelazne vode su definirane kao vodna tijela na kontaktnim područjima priobalnog mora i kopna, koja su zbog blizine priobalnih voda djelomično slana, ali se nalaze pod znatnim utjecajem slatkovodnih tokova (EC, 2013). Priobalne vode su definirane kao površinske vode unutar crte udaljene jednu nautičku milju izvan crte od koje se mjeri širina teritorijalnih voda, a mogu se protezati do vanjske granice prijelaznih voda.

Jadransko more je pretežno zatvoreno, plitko i toplo more koje je preko Jonskog mora (Otrantska vrata) povezano sa ostatkom Sredozemnog mora i u cijelosti pripada šestoj europskoj eko-regiji Sredozemnoj/Mediteranskoj eko-regiji. U RH 40% teritorija otpada na vodna područja, od čega 38% otpada na prijelazne i površinske vode. Zbog specifične geomorfologije, hrvatska obala Jadrana je prilično siromašna vodenim tokovima pa ukupna površina prijelaznih voda iznosi svega 77 km<sup>2</sup>. Nasuprot tome, iznimna razvedenosti i velika ukupna dužine hrvatske obale rezultiraju razmjerno velikom površinom priobalnih voda (13 650 km<sup>2</sup>).

Bilo da se radi o prijelaznim ili priobalnim vodama, tipologija je prvi korak i glavni kriterij u određivanju vodnih tijela (VT), koja predstavljaju temeljne jedinice za implementaciju ODV na nacionalnoj razini. Određivanje vodnih tijela se vrši na temelju obveznih čimbenika propisanih legislativom EU, te izbornih čimbenika (koji se određuju na nacionalnoj razini u fazi tipizacije voda), na temelju postojećih podataka i ekspertne procjene vezano uz tri skupine ekoloških elemenata kakvoće (EEK): fizičko-kemijske, geo-morfološke i biološke. Prve dvije skupine su važne u procesu tipizacije, a treća je ključna u procjeni Ekološkog stanja (ES). Vodna tijela su najmanje administrativne jedinice za upravljanje vodama, te ujedno i temeljne jedinice za provođenje monitoringa i ocjenu ekološkog stanja u prijelaznim ili priobalnim vodama.



Detaljna razrada i razvoj klasifikacijskih sustava koji se odnose na tipologiju prijelaznih i priobalnih voda, uključujući opise referentnih uvjeta, opterećenja i utjecaja, obavljena je na nacionalnoj razini u inicijalnoj fazi implementacije i/ili početnim fazama nacionalnog monitoringa u RH (Kušpilić i sur., 2006; Precali i sur., 2008; Kušpilić i sur., 2011a, 2011b).

Nakon provedene tipizacije uslijedilo je opisivanje referentnih uvjeta, koji su tip specifični i temelje se na visokom ekološkom statusu sve tri kategorije elemenata kakvoće (biološki, fizičko-kemijski i hidromorfološki, odnosno geomorfološki), a definiraju se u odnosu na stanje elemenata biološke kakvoće u uvjetima koji odražavaju prirodno (bez antropogenog utjecaja) ili neznatno promijenjeno ekološko stanje (minimalni antropogeni utjecaj) (EC, 2003a). Pri izboru referentnih postaja koje zadovoljavaju kriterije propisane normativima ODV (vrlo dobro stanje, u krajnjem slučaju dobro stanje) za pojedine elemente kakvoće u obzir treba uzeti prirodnu varijabilnost (prostornu i vremensku) kako bi sa što većom pouzdanošću mogli razlučiti promjene uzrokovane prirodnim čimbenicima od promjena uzrokovanih antropogenim djelovanjem. Referentne postaje nisu nepromjenjiva kategorija. Kontrola stanja na njima se provodi unutar trogodišnjeg razdoblja, a revizija u razdobljima od po šest godina.

Preliminarni referentnih uvjeti i granice klasa za biološke, osnovne fizikalno-kemijske i hidromorfološke elemente kakvoće za prijelazne vode detaljno su opisani u studiji: Karakterizacija područja i izrada prijedloga programa i provedba monitoringa stanja voda u prijelaznim i priobalnim vodama Jadranskog mora prema zahtjevima Okvirne direktive o vodama EU (2000/60/EC), Dio I. (IMPRESS), Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split i Institut „Ruđer Bošković“, Centar za istraživanje mora, Rovinj (Kušpilić i sur., 2011a). U studiji su, uz fizičko-kemijske i hidromorfološke/geomorfološke, razmatrani svi biološki elementi kakvoće - BEK (fitoplankton, makroalge, *Posidonia oceanica*, makrozoobentos i ribe), relevantni za prijelazne i priobalne vode. Referentni uvjeti odgovaraju vrijednostima elemenata kakvoće za određeni tip površinske vode u odsustvu bilo kakvih značajnijih antropogenih opterećenja i utjecaja.

Klasifikacijski sustav za određivanje ekološkog stanja svakog pojedinog elementa kakvoće u sklopu ODV, obuhvaća 5 kategorija ekološkog stanja: Vrlo dobro (H), Dobro (G), Umjereno (M), Slabo (P) i Loše (B), a svaka od tih kategorija/klasa je definirana općom normativnom definicijom ODV (EC, 2005). ES se ocjenjuje na razini svakog pojedinog vodnog tijela u prijelaznim i priobalnim vodama, na temelju rezultata klasifikacije svih pojedinačnih elemenata kakvoće.

Svakom izdvojenom tipu površinske vode pridružuju se tip-specifične referentne vrijednosti i granice klasa za relevantne elemente kakvoće, koje će biti uporište za klasifikaciju ekološkog stanja u svakom pojedinom vodnom tijelu. Prema normativima ODV ekološko stanje pojedinog vodnog tijela u prijelaznim i priobalnim vodama je zadovoljavajuće, ukoliko je ukupna ocjena ekološkog stanja u kategorijama H ili G. Kako bi se donijela realna ocjena stanja na razini pojedinog elementa kakvoće, za svaki element je potrebno razviti klasifikacijski sustav koji omogućava izračunavanje omjera ekološke kakvoće (OEK) duž gradijenta poremećaja, primjenom metodologije koja daje primjeren odgovor na postojeće pritiske u pojedinom vodnom tijelu.

Pregled razvoja metodologije uz opis postojećeg stanja i izmjene proistekle iz saznanja stečenih tijekom provođenja nacionalnog monitoringa ODV obuhvaćene su u „Novelaciji karakterizacije prijelaznih i priobalnih voda“ (Kušpilić i sur., 2016). U studiji novelacije (tablica 2.4.), pregledno su prikazane minimalne i maksimalne geografske širine i dužine pojedinih tipova voda, njihova površina u km<sup>2</sup> i njihov postotni udio (Kušpilić i sur., 2016). U istoj studiji pregledno su prikazane i informacije o geografskom položaju, površini, prosječnoj dubini i WGS koordinatama grupiranih vodnih tijela u tablicama 2.7. (prijelazne vode) i 2.8 (priobalne vode), a podaci o njihovim volumenima u tablici 2.9.

Tipovi prijelaznih i priobalnih voda su određeni na temelju tri obvezna čimbenika: ekoregija, salinitet (s, PSU), raspon plime i oseke, te tipa podloge (stjenovita podloga, krupnozrnati sedimenti, sitnozrnati sedimenti) kao četvrtog, izbornog čimbenika, s tim da u slučaju prijelaznih voda u tipizaciju ulaze samo sedimentna dna. Koristeći odabir obaveznih i izbornih čimbenika, razlikujemo 4 osnovna tipa u prijelaznih voda, za koje dubina nije relevantna

- HR-P1\_2 Oligohalini estuarij krupnozrnatog sedimenta (srednji god. salinitet  $0,5 < s < 10$ )
- HR-P1\_3 Oligohalini estuarij sitnozrnatog sedimenta (srednji god. salinitet  $0,5 < s < 10$ )
- HR-P2\_2 Mezo i polihalini estuarij krupnozrnatog sedimenta (srednji god. salinitet  $s > 10$ )
- HR-P2\_3 Mezo i polihalini estuarij sitnozrnatog sedimenta (srednji god. salinitet  $s > 10$ )

te 5 osnovnih tipova priobalnih voda, u kojima uz srednji godišnji salinitet (s) i tip sedimenta (krupnozrnati ili sitnozrnati) plitko priobalno more definiraju dubine  $< 40\text{m}$ , a ostalo priobalno more dubine  $> 40\text{m}$  (Kušpilić i sur., 2011b).

- HR-O313 Polihalino plitko priobalno more sitnozrnatog sedimenta ( $s < 36$ )
- HR-O412 Euhalino plitko priobalno more krupnozrnatog sedimenta ( $s > 36$ )
- HR-O413 Euhalino plitko priobalno more sitnonozrnatog sedimenta ( $s > 36$ )
- HR-O422 Euhalino priobalno more krupnozrnatog sedimenta ( $s > 36$ )
- HR-O423 Euhalino priobalno more sitnonozrnatog sedimenta ( $s > 36$ )

U prijelaznim vodama Jadranskog vodnog područja, od 2012. nadalje, razlikujemo 25 vodnih tijela koja pripadaju jednom od četiri tipa prijelaznih voda, a nalaze se u širem području ušća devet značajnijih hrvatskih rijeka sa slivnom površinom iznad 10 km<sup>2</sup> (Dragonja, Mirna, Raša, Rječina, Zrmanja, Krka, Jadro, Cetina, Neretva, Ombla). U priobalnom moru određeno je 26 vodnih tijela, koja pripadaju jednom od pet tipova priobalnih voda. Tablični i slikovni prikazi vodnih tijela u prijelaznim i priobalnim vodama, te postaje uzorkovanja bentoskih beskralješnjaka prikazani su u DODATKU I.

U sklopu ODV, prijelazne i priobalne vode EU su razvrstane unutar šest morskih ekoregija - četiri u sklopu sjeveroistočnog Atlanskog kompleksa (Atlanski ocean, Norveško, Barentsovo i Sjeverno more); 5. eko-regija je Baltik, a 6. Sredozemno more/Mediteran (EC, 2002; 2009). U cilju provođenja integracijske politike u implementaciji ODV i harmonizacije klasifikacijskih metoda u zemljama članicama EU, organizirane su geografske interkalibracijske (IC) grupe/skupine (GIG) u cilju usklađivanja nacionalnih klasifikacija koje

se odnose na pojedine elemente kakvoće. Prijelazne i priobalne vode RH u cijelosti pripadaju Mediteranskoj eko-regiji i po tom kriteriju RH pripada Mediteranskoj IC skupini (MED-GIG).

Interkalibracija za BEK bentoski beskralješnjaci u priobalnim vodama je završila prije pristupanja Hrvatske Europskoj uniji, pa Hrvatska nije sudjelovala u aktivnostima radne skupine za interkalibraciju BEK BB u priobalnim vodama. Pristupanje Hrvatske EU poklopilo se sa završnim IC vježbama MED-GIG-a za prijelazne vode, no s obzirom na specifičnu geomorfologiju i hidromorfologiju istočnojadranske obale, mogućnost interkalibracije RH sa ostalim članicama MED-GIG skupine nije bila moguća, zbog nepostojanja zajedničkih tipova prijelaznih voda. Naime, prijelazne vode svih ostalih članica su bile kategorizirane unutar lagunarnih vodnih tipova, za razliku od RH koja je zbog specifičnog krškog tipa „Dalmatinske obale“ siromašna površinskim vodama jadranskih slivova, te su njene prijelazne vode, za razliku od ostalih zemalja MED-GIG skupine predstavljene estuarijima slanog klina.

Ovo Projektno izvješće izrađeno je s ciljem nacionalnog doprinosa integracijskoj politici EU po pitanju implementacije ODV u prijelaznim i priobalnim vodama hrvatskog dijela Jadrana, odnosno ispunjavanju međunarodnih obaveza koje je RH preuzela pristupanjem EU u pogledu upravljanja, očuvanja, zaštite i unaprjeđenja voda u skladu sa smjernicama ODV.

U prvom dijelu ovog Projektnog izvješća nalazi se pregled bioloških metoda ocjene ekološkog stanja primjenom biološkog elementa kakvoće bentoski beskralješnjaci (BEK BB) u prijelaznim i priobalnim vodama zemalja MED-GIG skupine, koje su sudjelovale u interkalibracijskom postupku. U drugom dijelu je pregled bioloških metoda ocjene ekološkog stanja u prijelaznim i priobalnim vodama RH, izrađen u postinterkalibracijskom razdoblju.

U Dodatku su dva dokumenta u JRC formatu (DODATAK II i III), izrađena na engleskom jeziku za potrebe Europske komisije, te tablični i slikovni prikazi koji olakšavaju snalaženje i daju pojašnjenja za važnije informacije opisane i razmatrane u glavnom dijelu teksta.

## 2. PREGLED KLASIFIKACIJSKIH METODA ZA MAKROZOOBENTOS U PRIJELAZNIM I PRIOBALNIM VODAMA ZEMALJA MED-GIG

U početnoj fazi implementacije ODV\* u Sredozemnom moru, uključujući proces interkalibracije nacionalnih metoda za procjenu BEK BB u zemljama MED-GIG skupine, sudjelovale su zemlje koje su u to vrijeme bile punopravne članice EU, s izuzetkom Malte. Hrvatska je prije punopravnog pridruženja EU započela sa razvojem preduvjeta za nacionalnu implementaciju ODV, ali kao zemlja u predpristupnoj fazi, nije sudjelovala u procesu interkalibracije metoda. Nacionalne metode klasifikacije za makrozoobentos u prijelaznim i priobalnim vodama RH su razvijane nakon završetka interkalibracijskog postupka zemalja MED-GIG i biti će detaljno opisane u 3. Poglavlju ovog Izvješća. U ovom poglavlju su za RH naznačene samo one informacije koje su relevantne za usporedbu s klasifikacijskim metodama ostalih zemalja ove geografske skupine.

U interkalibracijskom procesu koji se odvijao u tri faze za prijelazne i u dvije faze za priobalne vode Sredozemlja, sudjelovalo je šest zemalja MED-GIG skupine: Cipar, Francuska, Grčka, Italija, Slovenija i Španjolska. Cipar i Slovenija nemaju prijelazne vode, a od ostalih zemalja jedino je Španjolska imala Tip voda (TV) Estuariji slanog klina. Pregled nacionalnih metoda prikazan je u **Tablici 2.1**.

**Tablica 2.1.** Pregled nacionalnih metoda procjene ekološkog stanja kakvoće primjenom Biološkog elementa kakvoće bentoski beskralješnjaci.

ZEMLJE ČLANICE	PRIJELAZNE VODE	PRIOBALNE VODE
Cipar	-	BENTIX
Grčka	M-AMBI	BENTIX
Francuska	M-AMBI	AMBI
Italija	M-AMBI	M-AMBI
Slovenija	-	M-AMBI
Španjolska (Katalonija i Baleari)		MEDOCC
Španjolska (Andaluzija, Muricija, Valencija)		BOPA
Španjolska (Andaluzija)	BO2A	
Španjolska (Baleari)	INVHMIB	
Španjolska (Katalonija)	QAELS	
Hrvatska **	AMBI	M-AMBI

Za potrebe procjene ekološkog stanja na temelju BEK BB, razvijene su različite metode koje su se temeljile na zajedničkom principu procjene tip specifičnog ekološkog stanja na temelju različite osjetljivosti vrsta prema antropogenom poremećaju u ekosustavu, a razlikovale su se po izboru nacionalne metrike koja se zasniva na izboru različitih biotičkih indeksa.

\*\* podaci za RH se odnose na post-interkalibracijsko razdoblje

## 2.1. PRIJELAZNE VODE U ZEMLJAMA MED-GIG

### 2.1.1. Tipovi prijelaznih voda

U zemljama MED-GIG opisano je pet tipova prijelaznih voda: oligohaline, mezohaline (zatvorene i poluzatvorene), poli-euhaline (zatvorene i poluzatvorene), hiperhaline i estuariji slanog klina (**Tablica 2.2.**). Cipar i Slovenija nemaju prijelazne vode, pa za ovaj tip površinskih voda nisu sudjelovale u procesu interkalibracije. U ostalim članicama MED-GIG skupine prijelazne vode su predstavljene priobalnim lagunama s oligohalnim, mezohalnim i poli-euhalnim tipom vode, s izuzetkom Grčke u kojoj nisu bile zastupljene priobalne lagune oligohalnog tipa. Potrebno je napomenuti da nacionalne tipologije Francuske i Španjolske ne razlikuju lagune poluzatvorenog i zatvorenog tipa. Osim laguna u Španjolskoj je zastupljen i tip hiperhalinih voda koji nije zabilježen u ostalim zemljama ove geografske skupine. Hrvatska zbog specifične kraške geomorfologije i hidrologije nema prijelaznih voda opisanih u ostalim zemljama MED-GIG, a tipovi prijelaznih voda u RH su razvrstani u peti tip prijelaznih voda – estuariji slanog klina. Ovaj tip prijelaznih voda u sklopu nacionalne implementacije ODV je opisan još samo u Španjolskoj, ali samo na jednoj postaji u jednom VT. Nepostojanje zajedničkih tipova prijelaznih voda i/ili njihova nedovoljna zastupljenost u Španjolskoj, rezultirali nemogućnošću interkalibracije hrvatskih podataka s ostalim zemljama MED-GIG skupine.

**Tablica 2.2.** Pregled tipova prijelaznih voda u zemljama MED-GIG skupine

<b>Interkalibracijski tip prijelaznih voda u zemljama MED-GIG</b>	<b>Karakteristike tipa vode</b>	<b>Države članice sa zajedničkim IC tipom vode</b>
CL – oligohalina voda	Priobalne lagune (slanost < 5 psu)	ES, FR, IT
CL – mezohalina voda, zatvorena i poluzatvorena	Priobalne lagune (slanost 5-18 psu)	ES, FR, IT, GR
CL –poli-euhalina voda, zatvorena i poluzatvorena	Priobalne lagune (slanost 18-40 psu)	ES, FR, IT, GR
Hiperhaline vode (slanost > 40 psu)	Hiperhaline vode (slanost > 40 psu)	Bez zajedničkog tipa (samo ES)
Estuariji	Estuariji slanog klina	ES, HR

### 2.1.2. Metode uzorkovanja i obrade uzoraka

Uzorkovanje i obrada uzoraka makrobentosa na nacionalnoj/regionalnoj\* razini zemalja MED-GIG u prijelaznim vodama pregledno su prikazani u nastavku teksta

FRANCUSKA

- Alat za uzorkovanje: grabilo, nema podataka o broju replikata
- Sito za ispiranje sedimenta (veličina oka): 1mm
- Frekvencija i vrijeme uzorkovanja na postaji/području: 1 u 3 godine, proljeće
- Izbor postaja: nema podataka

Kratki opis metode: nema podataka

#### GRČKA

- Alat za uzorkovanje: grabila (Van Veen i Ponar), Box corer – 2 replikata po postaji
- Sito za ispiranje sedimenta (veličina oka): 0,5 mm
- Frekvencija i vrijeme uzorkovanja na postaji/području: 1 u 3 godine, proljeće
- Izbor postaja: ekspertna procjena

#### ITALIJA

- Alat za uzorkovanje: van Veen grabilo, nema podataka o broju replikata
- Sito za ispiranje sedimenta (veličina oka): 1mm
- Frekvencija i vrijeme uzorkovanja na postaji/području: 1 u 3 godine, proljeće
- Izbor postaja: ekspertna procjena

#### ŠPANJOLSKA (ANDALUZIJA\*)

- Alat za uzorkovanje: van Veen grabilo, nema podataka o broju replikata
- Sito za ispiranje sedimenta (veličina oka): 1mm
- Frekvencija i vrijeme uzorkovanja na postaji/području: 1 u 3 godine, proljeće
- Izbor postaja: ekspertna procjena

#### ŠPANJOLSKA (BALEARI\*)

- Alat za uzorkovanje: van Veen grabilo, 2 replikata po postaji
- Sito za ispiranje sedimenta (veličina oka): 1mm
- Frekvencija i vrijeme uzorkovanja na postaji/području: 1 u 3 godine, proljeće
- Izbor postaja: ekspertna procjena

#### ŠPANJOLSKA (KATALONIJA\*)

- Alat za uzorkovanje: van Veen grabilo, 2 replikata po postaji
- Sito za ispiranje sedimenta (veličina oka): 0,25 mm
- Frekvencija i vrijeme uzorkovanja na postaji/području: 1 u 3 godine, proljeće
- Izbor postaja: ekspertna procjena

#### HRVATSKA

- Alat za uzorkovanje: van Veen grabilo, 4 replikata po postaji
- Sito za ispiranje sedimenta (veličina oka): 1mm
- Frekvencija i vrijeme uzorkovanja na postaji/području: 1 u 3 godine, proljeće
- Izbor postaja: ekspertna procjena

Replikatni uzorci sedimenta za analizu makrozoobentosa su uzorkovani Van Veen grabilom, alternativno - u slučaju Grčke, korišteno je i Ponar grabilo, odnosno Box corer. Replikatni

uzorci se pojedinačno ispiru i prosijavaju na 0,5 ili 1 mm situ, krupniji organizmi se separiraju na licu mjesta, a ostatak sedimenta sa sitnijim organizmima se fiksira u 4% vodenoj otopini formaldehida, propisno obilježava i pohranjuje do finalne separacije cjelokupne makrofaune u laboratoriju (metoda totalnog cenzusa). Tijekom separacije, organizmi se razvrstavaju u glavne konstitutivne (taksonomske) skupine makrozoobentosa, a zatim se determiniraju do najniže taksonomske razine, odnosno do razine vrste, kada god je to moguće (Hrvatske vode, 2016).

Manje, pojedinačne razlike u metodologiji su naznačene u Završnom tehničkom izvješću MED-GIG skupine za prijelazne vode (Reizopoulou i sur., 2018).

### 2.1.3. Pregled podataka koji se odnose na nacionalne referentne uvjete

#### FRANCUSKA:

- Izvor podataka: povjesni set podataka
- Broj referentnih postaja: 2
- Tip vode: poli-euhaline lagune
- Lokacija: laguna Thau, laguna Leucate
- Vrijednosti parametara (zajednički za sve tipove laguna): S=46; H'=4,23 AMBI=0,6

#### GRČKA:

- Izvor podataka: postojeći uvjeti (najsličniji prirodnim uvjetima)
- Broj referentnih postaja: 1
- Tip vode: poli-euhaline lagune
- Lokacija: laguna Tsopeli, zaljev Amvrakikos
- Vrijednosti parametara u poli-euhalinim poluzatvorenim lagunama: S=50; H'=4; AMBI=0,05
- Vrijednosti parametara u poli-euhalinim zatvorenim lagunama: S=40; H'=4; AMBI=0,05
- Visina parametara u mezohalinim zatvorenim lagunama: S=30; H'=3,5; AMBI=0,05
  
- Kriteriji za selekciju referentnih postaja: postojeći uvjeti s minimalnim antropogenim utjecajem. Koncentracija nutrijenata i klorofila a u vodenom stupcu je niska (N-NO<sub>3</sub> ~12 25µ-at/l; Chl-a 0,5 mg/m<sup>3</sup>, kao i koncentracija organskog ugljika u sedimentu (1-2%).

\* Broj referentnih postaja preuzet je iz finalnog izvješća (Reizopoulou i sur., 2018) i vjerojatno se odnosi na pojedini tip laguna. Lokacija je navedena samo za poli-euhalinu lagunu Tsopeli.

#### ITALIJA

- Izvor podataka: povjesni set podataka
- Broj referentnih postaja: 342
- Tip vode: 10 priobalnih laguna
- Lokacija: laguna u Jadranu i Tirenskom moru
- Kriteriji za selekciju referentnih postaja: korišten je Johnson-ov algoritam za izračun funkcije distribucije podataka (R statistika) kojim je izračunat 90<sup>o</sup> percentil S i H' indeksa. Prosjek vrijednosti > 90<sup>o</sup> percentila određen je kao referentna vrijednost tih parametara. Za

AMBI je uzet u postupak 10<sup>o</sup> percentil, pa je prosječna vrijednost AMBI indeksa < 10<sup>o</sup> percentila određena kao referentna vrijednost parametra.

- Vrijednosti parametara u poli-euhalinim poluzatvorenim lagunama: S=50; H'=4, AMBI=0,63
  - Vrijednosti parametara u poli-euhalinim zatvorenim lagunama: S=25; H'=3,3, AMBI=1,85
  - Visina parametara u mezohalinim zatvorenim lagunama: S=25; H'=3,3; AMBI=1,85
- Kriteriji za selekciju referentnih postaja: Koncentracija nutrijenata i klorofila a u vodenom stupcu je niska (TN~25µM/L, Chl-a 0,6 µg/L, DO<sub>2</sub>sat~30%), što ukazuje na mali antropogeni utjecaj.

#### ŠPANJOLSKA (ANDALUZIJA)

- Izvor podataka: nije preciziran
  - Broj referentnih postaja: nije naveden
  - Vrijednosti parametara (zajednički za sve tipove laguna):
- Kriteriji za selekciju referentnih postaja: frekvencija Polychaeta 0,12 frekvencija Amphipoda >0,35, što odgovara vrijednosti BO2A indeksa ~ 0.032

#### ŠPANJOLSKA (BALEARI)

- Izvor podataka: postojeći uvjeti (najsličniji prirodnim uvjetima)
  - Broj referentnih postaja: 6
- Kriteriji za selekciju referentnih postaja: postojeći uvjeti s malim antropogenim utjecajem, najsličniji prirodnim uvjetima. Područje pod malim antropogenim utjecajem. Za specifične detalje v. Reisopulou i sur. (2018).

#### ŠPANJOLSKA (KATALONIJA)

- Kriteriji za selekciju referentnih postaja su bile dvije analize: *a priori* procjena pritiska porijeklom s kopna i *a posteriori* analiza lokalnih fizičko-kemijskih, hidroloških i bioloških podataka. Za specifične detalje v. Reisopulou i sur.(2018).

#### HRVATSKA

- Izvor podataka: postojeći uvjeti (najsličniji prirodnim uvjetima)
  - Broj referentnih postaja: 2
  - Tip vode: estuariji slanog klina
  - Lokacija: estuarij rijeke Omble, estuarij rijeke Zrmanje (za detalje v. 3. poglavlje ovog Projektnog izvješća)
- Kriteriji za selekciju referentnih postaja: postojeći uvjeti, najsličniji prirodnim uvjetima. Područje pod malim antropogenim utjecajem. Koncentracija nutrijenata (otopljeni anorganski dušik < 2 µg/l, otopljeni fosfor < 1 µg/l) i klorofila a < 1 µg/l, te zasićenja pridnene vode kisikom (O<sub>2</sub>>80%), za svaki pojedini element kakvoće odgovaraju uvjetima Vrlo dobrog stanja (Kušpilić i sur. 2013; 2015).



#### 2.1.4. Pregled nacionalnih klasifikacijskih metoda

Od pet zemalja MED-GIG skupine u kojima su zastupljene prijelazne vode, četiri zemlje (Francuska, Grčka, Italija i Hrvatska) su predložile M-AMBI kao nacionalnu metodu za ocjenu ekološkog stanja primjenom BEK BB u prijelaznim vodama (Reizopoulou i sur., 2018) (**Tablica 2.3.**). Metoda se pokazala prihvatljivom i granice klasa su u međuvremenu usklađene za polihaline i mezohaline lagune, s tim da je u mezohalnim lagunama harmonizacija bila moguća samo za granicu klasa Dobro/Umjereno. Španjolska je za područje Balearskih otoka (oligohaline, mezohaline, polihaline probalne lagune) predložila INVHIMB metodu, a za područje Katalonije (oligohaline i mezohaline priobalne lagune) QAELS metodu. Ove metode zadovoljavaju kriterije usklađenosti s ODV i daju odgovor na opći tip degradacije. Za područje Andaluzije (regionalni tip estuarija), Španjolska je predložila metodu BO2A koja ne zadovoljava kriterije usklađenosti s ODV. Hrvatska je u postinterkalibracijskom razdoblju testirala M-AMBI metodu za procjenu ekološkog stanja na temelju BEK BB. Premda se metoda pokazala prihvatljivom u Francuskoj, Grčkoj i Italiji, u Hrvatskoj nije dala zadovoljavajući odgovor na opći tip degradacije (odgovor je bio pozitivan samo na onečišćenje organskim tvarima), pa je predloženo da se testiranje obavi primjenom AMBI metode, što je i učinjeno u sklopu ovoga izvješća. Izostanak odgovora primjenom iste metode vjerojatno je uvjetovan različitim tipom prijelaznih voda (lagune vs. estuariji slanog klina), odnosno činjenicom da su estuariji područja pod znatnim utjecajem prirodnog stresa, te da indeks diverziteta u sklopu M-AMBI indeksa u takvim uvjetima može ometati odgovor na degradaciju, uslijed otežanog razlikovanja prirodno i antropogeno uvjetovanog stresa u estuarijima.

**Tablica. 2.3.** Prijedlog nacionalnih metoda za ocjenu ekološkog stanja primjenom BEK BB.

Zemlje članice	Predložene metode	Uključenost u IC
Francuska	M-AMBI	+
Grčka	M-AMBI	+
Italija	M-AMBI	+
Španjolska (Andaluzija, regija)	BO2A	-
Španjolska (Baleari, otočje)	INVHIMB	-
Španjolska (Katalonija, regija)	QAELS	-
Hrvatska	M-AMBI	-

#### 2.1.5. Pregledni opis metoda za ocjenu ekološkog stanja

U nastavku je pregledni opis metoda procjene ekološkog stanja u prijelaznim vodama zemalja MED-GIG, primjenom BEK BB, prema Reizopoulou i sur. (2018).

Prema normativnoj definiciji ODV, cjelovita metodologija za primjenu BEK BB u procjeni ES prijelaznih voda se temelji na većem broju parametara/metrika obuhvaćenih zajedničkim

multiparametarskim indeksom. Kao pojedinačni parametri u zajedničkoj implementacijskoj strategiji ODV-a navode se: 1) relativna brojnost, 2) svojte osjetljive na poremećaje u okolišu i 3) indeks diverziteta - koji uz brojnost obuhvaća i broj vrsta te jednakomjernost njihove raspodjele. Svojte osjetljive na poremećaj klasificirane su i kvantizirane u sklopu AMBI metode koja je sastavni dio multimetrijskog indeksa M-AMBI (EC, 2003a).

**M-AMBI:** Francuska, Grčka, Italija

AMBI je multimetrijski indeks koji uključuje broj vrsta, odnosno bogatstvo vrsta (S), Shannon-Wienrov indeks diverziteta (H') i AMBI index. Procedura se temelji na faktorskoj analizi (FA) i diskriminacijskoj analizi (DA) koja uzima u izračun dva granična virtualna uzorka koja predstavljaju vrlo dobar i loš ekološki status. Vrijednost indeksa se računa preko Euklidove udaljenosti između projekcije pojedine postaje i pravca koja povezuje referentne vrijednosti dobrog i lošeg stanja. Računa se korištenjem AMBI softvera (<http://www.azti.es>).

**BO2A** (Španjolska, Andaluzija)

računa se prema formuli:

$$BO2A = \log_{10} [(f_{oa} / f_{sa} + 1) + 1]$$

gdje je:

$f_{oa}$  = frekvencija oportunističkih Annelida (brojnost oportunističkih Annelida podijeljena s ukupnom brojnošću)

$f_{sa}$  = frekvencija Amphipoda podjeljena ukupnom brojnošću (brojnost osjetljivih svojti, bez oportunističkog roda *Jassa*), a  $f_{oa} + f_{sa} \leq 1$  (Dauvin and Ruellet, 2007; 2009).

**INVHIMB** (Španjolska, Baleari)

Multimetrijski indeks INVHIMB je tip-specifični indeks za pojedine tipove prijelaznih voda u priobalnim lagunama Balearskog otočja, koje odgovaraju IC tipovima: 1) oligohaline vode, 2) mezohaline vode zatvorenog i poluzatvorenog tipa, te 3) poli-euhaline vode zatvorenog tipa.

- **oligo - INVHIMB** =  $\Sigma$  frekvencija rodova osjetljivih na onečišćenja + bogatstvo rodova + frekvencija (*Cyprideis torosa* + Polychaeta)
- **mezo - INVHIMB** =  $\Sigma$  bogatstvo rodova osjetljivih na onečišćenje + Bray-Curtis similaritet + frekvencija (Amphipoda + Gastropoda + Isopoda)
- **euh - INVHIMB** =  $\Sigma$  bogatstvo rodova osjetljivih na onečišćenje + frekvencija vrste *Artemia salina*.

Pojedinačne metrike u multimetrijskom indeksu trebaju biti izražene na istoj skali pa ih je prije kombiniranja potrebno standardizirati što se postiže djeljenjem s vrijednostima medijana referentne postaje.

## **QAELS** (Španjolska, Katalonija)

Indeks je utemeljen na stanišnom pristupu. Uzorkovanje se provodi na većem broju staništa - proporcionalno njihovoj zastupljenosti na terenu i uključuje obje komponente makrobentosa (makrozoobentos i makrofitobentos). Indeks uzima u obzir osjetljivost i tolerantnosti glavnih i indikatorskih organizama, te brojnost i bogatstvo odabranih svojiti. Primjenjuje se u lagunama, bez obzira na interkalibracijski tip vode. Koristi se za procjenu utjecaja eutrofikacije i organskog onečišćenja. Granice klasa su određene prema referentnim vrijednostima (postaje s približno prirodnim uvjetima), primjenom 75<sup>o</sup> percentila kao granice među klasama Dobrog/Umjerenog ekološkog stanja.

## **AMBI** (Hrvatska)

Nakon što je utvrđeno da M-AMBI nije dobar pokazatelj pritiska u prijelaznim vodama RH, zamijenjen je AMBI indeksom koji je pokazao odgovor na pritiske/degradaciju općeg tipa. Metoda je detaljno opisana u drugom dijelu izvješća, koji se odnosi na pregled biološke metode ocjene ekološkog stanja na temelju makrozoobentosa u prijelaznim vodama Hrvatske.

### **2.1.6. Određivanje granica klasa ekološkog stanja i omjera ekološke kakvoće**

Određivanje granica klasa na nacionalnoj razini je provedeno na temelju: ekspertne procjene, primjene statističkih metoda, ekološkog diskontinuiteta i/ili kombiniranim pristupom za različite granice klasa. Ekološki status je klasificiran u jednu od pet klasa; VRLO DOBRO (H), DOBRO (G), UMJERENO (M), SLABO (P) i LOŠE (B). Određivanje H, G i M ekološkog stanja je u skladu s normativnom definicijom ODV za određivanje granica klasa. U nastavku je pregled granica klasa određenih na nacionalnim razinama.

## **FRANCUSKA**

- Granice originalne metrike (REFCOND, 2003; Muxika i sur., 2007) adaptirane i kalibrirane na predklasificiranim uzorcima monitoringa u lagunama, započetog 2000 godine. Metoda je uspješno testirana na utjecaj pritiska (eutrofikacija), na setu podataka od 24 postaje.

## **GRČKA**

- Granice originalne metrike (Muxika i sur., 2007). Metoda je testirana na setu podataka sa 33 postaje i nije dala zadovoljavajući odgovor na utjecaj pritiska (eutrofikacija, organsko onečišćenje) čiji su indikatori navedeni u prethodnom poglavlju. Metoda je prihvaćena uz obrazloženje da je slaba korelacija posljedica nedostatne količine okolišnih podataka i navođenjem činjenice da je metoda uspješno testirana u velikom broju radova objavljenih u SCI časopisima (Reizopoulou i sur., 2018)

## **ITALIJA**

- Granice su određene na temelju izračuna 90<sup>o</sup>, 60<sup>o</sup>, 30<sup>o</sup> i 10<sup>o</sup> percentila distribucijske funkcije (Johnson-ov algoritam, R-statistika) EQR vrijednosti. Metoda je uspješno testirana na utjecaj pritiska s kopna (sniženi salinitet, TOC, DIN).

### ŠPANJOLSKA (ANDALUZIJA)

- Granice su određene na temelju frekvencije oportunističkih Annelida  $f_{oa}$  i osjetljivih Amhipoda  $f_{sa}$  u BO2A indeksu. Zbog nepostojanja gradijenta pritisaka, izračun se temeljio na teorijskim vrijednostima  $f_{oa}$  i  $f_{sa}$  (ekspertna procjena). Granica klasa H-G 75° percentil  $EQR_{BO2A}$  vrijednosti iz uzoraka gdje je  $f_{oa} < 0.20$ . Granica klasa G-M 75° percentil  $EQR_{BO2A}$  vrijednosti iz uzoraka gdje je  $0.20 \leq f_{oa} < 0.55$ . Metoda je testirana na utjecaj pritisaka (eutrofikacija, organsko onečišćenje, otopljeni fosfor u sedimentu).

### ŠPANJOLSKA (BALEARI)

Granica klasa H-G 25° percentil INVHMIB-EQR referentnih vrijednosti. Granica klasa G-M je postavljena na 1/4 percentila 25°. Metoda je uspješno testirana na utjecaj pritisaka (eutrofikacija) uzrokovanih indikatorima navedenim u prethodnom poglavlju.

### ŠPANJOLSKA (KATALONIJA)

Granice klasa su određene na temelju vrijednosti QAELS-EQR indeksa na postajama s približno prirodnim uvjetima: granica H-G na temelju vrijednosti  $>90^\circ$  percentila  $EQR_{QALS}$ , a granica G-M je postavljena između 90 i 75 percentila. Metoda je uspješno testirana na utjecaj pritisaka (eutrofikacija, organsko onečišćenje).

### HRVATSKA

- Granice klasa OEK 1. generacije primjenom M-AMBI metode su bile preuzete iz originalnog izvora (REFCOND, 2003). Metoda je testirana na utjecaj pritisaka s kopna (LUSI indeks) te slično primjeru Grčke nije pokazala statistički značajnu korelaciju s eutrofikacijskim pritiscima, premda je korelacija s organskim onečišćenjem bila pozitivna i statistički značajna. Na setu podataka koji se odnosi na prvi šestogodišnji ciklus monitoringa ODV u prijelaznim vodama RH, statistički značajna korelacija utvrđena je testiranjem AMBI metode s integriranim pritiscima, pa je kao nacionalna metoda za procjenu ES u prijelaznim vodama Hrvatske predložena zamjena M-AMBI metode AMBI metodom. Detaljnije, u Poglavlju 3.

Svi relevantni parametri koji ulaze u sastav multiparametarskih indeksa su zastupljeni u svim zemljama/regijama IC MED-GIG skupine, izuzev indeksa diverziteta ( $H'$ ) koji nije uključen u BO2A indeks (Španjolska, Andaluzija). Premda u tom pogledu Andaluzija nije usklađena s ostalim članicama IC skupine, primjena BO2A metode je prihvaćena, budući da su razlozi izostavljanja  $H'$  iz pojedinih multimetrijskih indeksa diskutirani i dobro obrazloženi od strane MED-GIG eksperata za bentos, u II fazi IC procesa (Reizopoulou i sur., 2018). Vezano uz prijedlog nacionalne metode za prijelazne vode u Hrvatskoj, isto pravilo bi trebalo primijeniti kod zamjene M-AMBI indeksa AMBI indeksom, koji ne uključuje  $H'$ .

U poglavlju 2.1. prikazani su zajednički tipovi prijelaznih voda u zemljama MED-GIG (**Tablica 2.2.**). Usprkos zajedničkim tipovima voda u Francuskoj, Grčkoj (nedostaje samo oligohalini tip), Italiji i Španjolskoj, te korištenju istih metoda u Francuskoj, Grčkoj i Italiji, IC je zbog razlika u konceptu procjene ES moguća samo za Francusku, Italiju i Grčku i to samo za poli-euhalini tip priobalnih laguna. Djelomično je moguća i za IC mezohalinog tipa zatvorenih laguna između Italije i Grčke, ali samo za usklađivanje G/M granice klasa. Hrvatska ima zajednički IC tip prijelaznih voda (estuariji) samo sa Španjolskom (Andaluzija). IC nije

moguća zbog razlika u konceptu procjene i nedovoljnoj količini podataka za IC. U Španjolskoj je zastupljeno samo jedno vodno tijelo (1 postaja) u zajedničkom tipu prijelaznih voda.

U narednim tablicama pregledno su prikazane nacionalne metode zemalja MED-GIG za koje su u cijelosti provedeni svi koraci postupka interkalibracije, uključujući odgovarajuće granične vrijednosti klasa u skladu s normativnom definicijom ODV (**Tablica 2.4.**), kao i zemlje kod kojih je bilo tehnički neizvedivo izvršiti procjenu usporedivosti unutar IC MED-GIG zbog nedostatka zajedničkih tipova prijelaznih voda, uzimanja u obzir različitih pritisaka ili različitih koncepata procjene (**Tablica 2.5.**) (Reizopoulou i sur., 2018).

**Tablica 2.4.** Nacionalne metode i granične vrijednosti omjera ekološke kvalitete (OEK) za koje je provedena interkalibracija.

Zemlja i tip prijelazne vode	Nacionalni klasifikacijski sustavi	Omjer ekološke kakvoće Granica vrlodobro-dobro (H/G)	Omjer ekološke kakvoće Granica dobro-umjereno (G/M)
Priobalne poli-euhaline lagune poluzatvorenog tipa			
Francuska	M-AMBI	0.84	0.63
Grčka	M-AMBI	0.83	0.62
Italija	M-AMBI	0.96	0.71
Priobalne mezohaline lagune poluzatvorenog i zatvorenog tipa			
Grčka	M-AMBI	-	0.62
Italija	M-AMBI	-	0.71

**Tablica 2.5.** Nacionalne metode i granične vrijednosti omjera ekološke kvalitete (OEK) za koje ne može biti provedena interkalibracija.

Zemlja i tip prijelazne vode	Nacionalni klasifikacijski sustavi	Omjer ekološke kvalitete Granica vrlodobro-dobro (H/G)	Omjer ekološke kvalitete Granica dobro-umjereno (G/M)
Priobalne oligohaline, mezohaline i poli-euhaline lagune			
Španjolska, Baleari	INVHMIB	0.93	0.73
Priobalne oligohaline lagune			
Španjolska, Katalonija	QAELS	0.86	0.58
Priobalne mezohaline lagune			
Španjolska, Katalonija	QAELS	0.72	0.62
Estuariji			
Španjolska, Andaluzija *	BO2A	0.87	0.45
Španjolska, Andaluzija **	BO2A	0.87	0.52
Hrvatska ***	AMBI	0.80	0.60

\* podaci koji ne uključuju estuarije slanog klina

\*\* podaci koji uključuju jedan estuarij slanog klina

\*\*\* podaci koji se odnose samo na estuarije slanog klina

U Tablicu 2.5. su uvršteni podaci za Hrvatsku, koji nisu bili uključeni u Dodatak I Završnog izvješća (Reizopoulou i sur., 2018), a koji su u međuvremenu usklađeni s preporukama ECOSTAT-a. Za prethodno korištenu nacionalnu metodu za određivanje ES u prijelaznim vodama temeljem BEK BB predložena je zamjena M-AMBI metode AMBI metodom koja je pokazala statistički značajan odgovor na degradaciju općeg tipa. Granice klasa Ekološkog omjera kvalitete za BEK BB u prijelaznim vodama Hrvatske su određene u skladu s normativnom definicijom ODV-a.

## 2.2. PRIOBALNE VODE U ZEMLJAMA MED-GIG

### 2.2.1. Tipovi priobalnih voda

U ranoj fazi zajedničke implementacijske strategije (CIS) predstavnici zemalja MED-GIG su se suglasili da je za određivanje tipa vode u priobalnim vodama Sredozemnog mora dostatno uzeti u obzir samo dva parametra – tip podloge (stjenovita podloga, sedimentno dno) i dubina (plitke vode, dublje vode). U kasnijim fazama IC postupka utvrđeno je da s obzirom na homogenost ekosustava Sredozemnog mora, za razliku od sjevernih mora EU, tipizacija nije relevantna, pa je u nastavku rada MED-GIG na IC postupku za priobalne vode Sredozemno more razmatrano bez tipoloških podjela – kao jedinstveni (zajednički) tip priobalne vode u odnosu na druga mora zemalja članica EU (EC, 2013).

### 2.2.2. Metode uzorkovanja i obrade uzoraka

Uzorkovanje i obrada uzoraka makrobentosa na nacionalnoj/regionalnoj\* razini zemalja MED-GIG u priobalnim vodama pregledno su prikazani u nastavku teksta. Podaci za Francusku nisu dostupni

#### GRČKA I CIPAR

- Alat za uzorkovanje: Van Veen grabilo
- Sito za ispiranje sedimenta (veličina oka): 1mm
- Frekvencija i vrijeme uzorkovanja na postaji/području: 1 godišnje, 2 replikata po postaji, po mogućnosti u toplijem dijelu godine
- Metoda: ekspertna procjena (izbor postaja najreprezentativnijih za vodno tijelo na temelju saznanja o postojećim izvorima točkastog i difuznog onečišćenja)
- Površina uzorkovanja po postaji: 0,1 m<sup>2</sup>

#### ITALIJA

- Alat za uzorkovanje: Van Veen grabilo
- Sito za ispiranje sedimenta (veličina oka): nije poznata
- Frekvencija i vrijeme uzorkovanja na postaji/području: 2 puta godišnje (proljeće i jesen), 3 replikata po postaji
- Metoda: ekspertna procjena (izbor postaja najreprezentativnijih za vodno tijelo na temelju saznanja o postojećim izvorima točkastog i difuznog onečišćenja)
- Površina uzorkovanja po postaji: 0,3 m<sup>2</sup>

#### ŠPANJOLSKA (ANDALUZIJA, MURICIJA I VALENCIJA\*)

- Alat za uzorkovanje: Van Veen grabilo
- Sito za ispiranje sedimenta (veličina oka): 0,5 mm
- Frekvencija i vrijeme uzorkovanja na postaji/području: 1 godišnje, 2 replikata (Valencija), 3 replikata (Andaluzija i Muricija)
- Metoda: ekspertna procjena (izbor postaja najreprezentativnijih za vodno tijelo na temelju saznanja o postojećim izvorima točkastog i difuznog onečišćenja)

- Površina uzorkovanja po postaji: Andaluzija 1100-1300 cm<sup>3</sup>; Valencija 1250 cm<sup>3</sup>, Muricija 1200 cm<sup>3</sup>

#### ŠPANJOLSKA (BALEARI I KATALONIJA\*)

- Alat za uzorkovanje: Van Veen grabilo
- Sito za ispiranje sedimenta (veličina oka): 0,5 mm
- Frekvencija i vrijeme uzorkovanja na postaji/području: 1 godišnje, 2 replikata po postaji
- Metoda: ekspertna procjena (izbor postaja najreprezentativnijih za vodno tijelo na temelju saznanja o postojećim izvorima točkastog i difuznog onečišćenja)
- Površina uzorkovanja po postaji: 1200 cm<sup>3</sup>

#### SLOVENIJA

- Alat za uzorkovanje: Van Veen grabilo
- Sito za ispiranje sedimenta (veličina oka): nije poznata
- Frekvencija i vrijeme uzorkovanja na postaji/području: 2 uzorkovanja godišnje (u toplijem dijelu godine), 3 replikata po uzorkovanju na pojedinoj postaji
- Metoda: ekspertna procjena (izbor postaja najreprezentativnijih za vodno tijelo na temelju saznanja o postojećim izvorima točkastog i difuznog onečišćenja)
- Površina uzorkovanja po postaji: 0,3m<sup>2</sup>

#### HRVATSKA

- Alat za uzorkovanje: Van Veen grabilo
- Sito za ispiranje sedimenta (veličina oka): 1mm
- Frekvencija i vrijeme uzorkovanja na postaji/području: 1 godišnje, 4 replikata po postaji, po mogućnosti u toplijem dijelu godine
- Metoda: ekspertna procjena (izbor postaja najreprezentativnijih za vodno tijelo na temelju saznanja o postojećim izvorima točkastog i difuznog onečišćenja)
- Površina uzorkovanja po postaji: 0,4 m<sup>2</sup>

Iz prethodnog teksta je očigledno da su metode uzorkovanja u svim zemljama prilično ujednačene, budući da se radi o standardnoj metodologiji uzorkovanja makrozoobentosa na mekim dnima (Eleftheriou i Holme, 1984; Castelli i sur., 2003). U nastavku je kratki zajednički opis metodologije uzorkovanja i obrade uzorkovanih materijala.

Replikadni uzorci sedimenta za analizu makrozoobentosa (makrofaune bentoskih beskralješnjaka) se prikupljaju Van Veen grabilom. Replikati se pojedinačno ispiru i prosijavaju na 0,5 ili 1 mm situ, krupniji organizmi se separiraju na licu mjesta, a ostatak sedimenta sa sitnijim organizmima se fiksira u 4% vodenoj otopini formaldehida (formalin), propisno obilježava i pohranjuje do finalne separacije cjelokupne makrofaune u laboratoriju (metoda totalnog cenzusa). Tijekom separacije, organizmi se razvrstavaju u glavne konstitutivne (taksonomske) skupine makrozoobentosa, a zatim se determiniraju do najniže taksonomske razine, odnosno do razine vrste, kada god je to moguće.



### 2.2.3. Pregled podataka koji se odnose na nacionalne referentne uvjete

#### CIPAR

- Izvor podataka: područje bez antropogenog utjecaja (NATURA 2000)
- Broj referentnih postaja: 3
- Lokacija: obale grčkog dijela Cipra
- Kriteriji za određivanje referentnih postaja: odsutnost antropogenih utjecaja

#### FRANCUSKA

- Izvor podataka: područje s minimalnim antropogenim utjecajem - najbliže prirodnim uvjetima
- Broj referentnih postaja: 3
- Lokacija: Korzika, Azurna obala (istočno od rijeke Rhone), Languedoc Roussillon (zapadno od rijeke Rhone)
- Kriteriji za određivanje referentnih postaja: postaje na kojima većina vrsta pripada skupini osjetljivih (EG I) i indiferentnih vrsta (EG II)

#### GRČKA

- Izvor podataka: postojeće referentne postaje s minimalnim antropogenim utjecajem - najbliže prirodnim uvjetima (mješoviti sedimenti uzorkovani 1985-1997 i muljeviti sedimenti uzorkovani 1992-1997)
- Broj referentnih postaja: 3 (odabrane među desetak postaja s približno prirodnim stanjem)
- Lokacija: Egejsko more (otočje Cikladsko otočje) i obala Jonskog mora
- Kriteriji za određivanje referentnih postaja: područje najmanjih antropogenih utjecaja, > 75%

vrsta spada u skupine EG I i EG II. Na mješovitim tipovima sedimenta Bentix >5, unutar uzoraka vrste su prilično ravnomijerno raspoređene – ni jedna vrsta nije zastupljena s više od 10% primjeraka u ukupnoj fauni. Na muljevitim sedimentima udio osjetljivih vrsta je  $\geq 50\%$ , Bentix > 4

#### ITALIJA

- Izvor podataka: analiza i ekspertna procjena postojećih podataka
- Broj referentnih postaja: nema realne referentne postaje
- Lokacija i vrijeme uzorkovanja: zapadna obala srednjeg Jadrana, Tirensko more (središnji dio), 2008. i 2009. godine.
- Kriteriji za određivanje referentnih uvjeta: područje najmanjih antropogenih utjecaja, statističko modeliranje (višestruki linearni model korelacije pritisaka (ukupni PAH-ovi, pesticidi, TOC, Trix indeks, stabilnost, LUSI indeks). Određene su referentne vrijednosti: AMBI=0,5; S= 50; H'=4.8.
- Kriteriji za selekciju referentnih postaja: korišten je Johnson-ov algoritam za izračun funkcije distribucije podataka (R statistika) kojim je izračunat 90<sup>o</sup> percentil S i H' indeksa. Prosjek vrijednosti > 90<sup>o</sup> percentila određen je kao referentna vrijednost tih parametara. Za AMBI je uzet u postupak 10<sup>o</sup> percentil, pa je prosječna vrijednost AMBI indeksa < 10<sup>o</sup> percentila određena kao referentna vrijednost parametra

## SLOVENIJA

- Izvor podataka: područje s minimalnim antropogenim utjecajem - najbliže prirodnim uvjetima
- Broj referentnih postaja: 4
- Lokacija: uvala svetega Jerneja (3 postaje), SIS (1 postaja)
- Kriteriji za određivanje referentnih postaja: najmanji antropogeni utjecaj

## ŠPANJOLSKA (ANDALUZIJA, MURICIJA i VALENCIJA))

- Izvor podataka: analiza i ekspertna procjena postojećih podataka
- Broj referentnih postaja: 12 postaja s malim antropogenim utjecajem
- Lokacija: Andaluzija 2009.; Muricija 2002.-2009.;Valencija 2005.-2008
- Kriteriji za određivanje referentnih postaja: najmanji antropogeni utjecaj, fauna je sastavljena uglavnom od osjetljivih vrsta (Amphipoda bez oportunističkog roda *Jassa*), oportunističke vrste Polychaeta nisu zastupljene

## ŠPANJOLSKA (BALEARI I KATALONIJA)

- Izvor podataka: analiza i ekspertna procjena postojećih podataka
- Na temelju postojećih uzoraka u kojima većina vrsta pripada skupinama EG I i EG II modeliran je je virtualni uzorak faune sastavljene isključivo od vrsta koje pripadaju skupinama osjetljivih i indiferentnih, a za Baleare dodatno i tolerantnih vrsta
- Lokacija: obala Katalonije, Balearsko otočje
- Kriteriji za određivanje referentnih uvjeta: 90% vrsta EG I i 10% vrsta EG II za područje Katalonije, odnosno 80% vrsta EG I, 15% vrsta EG II i 5% vrsta EG III za područje Baleara

## HRVATSKA

- Izvor podataka: postojeći uvjeti (najsličniji prirodnim uvjetima)
- Broj referentnih postaja: 6
- Tip vode: O412, O422, O423
- Lokacija: zapadna obala Istre, sjeverni Jadran od juga Istre do Dugog otoka i Kvarnerski zaljev
- Kriteriji za selekciju referentnih postaja: postojeći uvjeti, najsličniji prirodnim uvjetima područja pod malim antropogenim utjecajem). Koncentracija nutrijenata (otopljeni anorganski dušik < 2 µg/l, otopljeni fosfor < 1 µg/l) i klorofila a < 1 µg/l, te zasićenja pridnene vode kisikom (O<sub>2</sub>>80%), za svaki pojedini element kakvoće odgovaraju uvjetima Vrlo dobrog stanja (Kušpilić i sur. 2013; 2015)

Metoda je testirana na utjecaj pritisaka s kopna (LUSI indeks), te slično primjeru Grčke nije pokazala statistički značajnu korelaciju s pritiscima s kopna, premda je korelacija s organskim onečišćenjem bila pozitivna i statistički značajna. Statistički značajna korelacija utvrđena je testiranjem M-AMBI metode s integriranim pritiscima koji uključuju i prethodno spomenute pritiske s kopna (v. Poglavlje 3) pa je kao nacionalna metoda za procjenu ES u priobalnim vodama RH predložena M-AMBI metoda, koja se i do sada koristila.

## 2.2.4. Pregled nacionalnih klasifikacijskih metoda

Pregled klasifikacijskih metoda za procjenu ES primjenom BEK BB u priobalnim vodama zemalja Sredozemlja prikazan je u **Tablici 2.2.1**. U nastavku teksta pobliže su opisane nacionalne metode zemalja članica koje su sudjelovale u interkalibracijskom procesu, uz dodatnu naznaku za Hrvatsku.

**Tablica 2.2.1.** Pregled nacionalnih metoda procjene ekološkog stanja kakvoće primjenom biološkog elementa kakvoće bentoski beskralješnjaci.

ZEMLJE ČLANICE	PRIOBALNE VODE	Uključenost u IC
Cipar	BENTIX	+
Grčka	BENTIX	+
Francuska	AMBI	+
Italija	M-AMBI	+
Slovenija	M-AMBI	+
Španjolska (Katalonija i Baleari)	MEDOCC	+
Španjolska (Andaluzija, Muricija, Valencija)	BOPA	+
Hrvatska*	M-AMBI	-

Za potrebe ocjene ekološkog stanja primjenom BEK BB, razvijeni su različite metode koje su se zasnivale na zajedničkom principu ocjene tip specifičnog ekološkog stanja na temelju različite osjetljivosti vrsta prema antropogenom poremećaju u ekosustavu, a razlikovale su se po izboru nacionalne metrike koja se zasniva na izboru različitih biotičkih indeksa. Zajedničku metriku su izabrale Cipar i Grčka (BENTIX), te Italija, Slovenija i Hrvatska\* (M-AMBI), dok su se Francuska i dvije grupe Španjolskih regija (južna i sjeverna) odlučile za izbor različitih, regionalnih metoda (EC, 2018).

\* podaci za RH se odnose na post-interkalibracijsko razdoblje

## 2.2.5. Pregledni opis metoda za ocjenu ekološkog stanja

**Grčka i Cipar** su za ocjenu ekološkog stanja koristile prethodno razvijeni nacionalni indeks (BENTIX), koji se temelji na postotnom udjelu osjetljivih (GS) i tolerantnih vrsta (GT) (Simboura i Zenetos, 2002). U prvu skupinu su ubrojili vrste osjetljive i indiferentne prema onečišćenju, a u drugu tolerantne vrste, te oportuniste prvog i drugog reda. Izračun BENTIX indeksa je izrađen u MS Excell-u 2007 (<http://bentix.ath.hcmr.gr/>), korištenjem formule:

$$\text{BENTIX} = (6x\% \text{GS} + 2X\% \text{GT}) / 100$$

**Francuska** je kao nacionalnu metodu za ocjenu ekološkog stanja primjenom BEK BB u prvoj fazi IC procesa izabrala M-AMBI metodu (Borja i sur., 2004; Muxika i sur., 2007), no kako u drugoj fazi nije uspjela dokazati korelaciju između izabrane metode i postojećih

pritisaka (sadržaj organske tvari u sedimentu) M-AMBI je zamijenila AMBI metodom (Borja i sur., 2000). Za izračun AMBI indeksa korišten je AZTI AMBI softver (<http://www.azti.es>), pomoću čije baze se provodi funkcionalna klasifikacija vrsta u jednu od pet kategorija na temelju osjetljivosti prema onečišćenju, kako slijedi:

- I. Vrste vrlo osjetljive na organsko onečišćenje i prisutne u neporemećenim uvjetima
- II. Vrste indiferentne prema povećanju udjela organske tvari u sedimentu, uvijek zastupljene niskom relativnom brojnošću (gustoćom) i niskom varijabilnošću u funkciji vremena
- III. Vrste koje toleriraju prekomjerno opterećenje sedimenta organskom tvari, a koje su prisutne i u neporemećenim uvjetima, ali na koje porast sadržaja organske tvari djeluje stimulativno
- IV. oportunisti drugog reda, uglavnom sitniji predstavnici poliheta
- V. oportunisti prvog reda, uglavnom detritofagi

Referentna vrijednost ( $AMBI \leq 1.2$ ) je izvedena na temelju visine indeksa pri kojoj u zajednici dominiraju osjetljive i indiferentne vrste, a loše stanje znatnim porastom vrijednosti indeksa ( $AMBI > 5.5$ ) usljed dominacije oportunističkih prvog i drugog reda. Granične vrijednosti ekoloških klasa su preuzete iz originalnog rada u kojem je opisana AMBI metoda (Borja i sur., 2000; 2003). Obje metode koje su korištene od strane Francuske, detaljno će biti opisane u poglavlju koje se odnosi na razvoj hrvatske nacionalne metode. Omjer ekološke kakvoće (OEK) Francuska je razgraničila kako slijedi:  $H/G=0.83$ ,  $G/M=0.61$ .

**Italija, Hrvatska i Slovenija** su kao nacionalnu metodu za ocjenu ekološkog stanja korištenjem BEK BB izabrale M-AMBI (Muxika i sur., 2007). To je multimetrijska metoda koja uz AMBI indeks uključuje još dva univarijantna indeksa, koja su već desetljećima korištena u procjeni kakvoće okoliša – broj vrsta (S) i raznolikost (diverzitet) vrsta primjenom Shannon-Wienerovog indeksa diverziteta (H'). Za izračun M-AMBI indeksa (uključujući pojedinačne vrijednosti AMBI, S i H' indeksa, te multimetrijsku analizu na temelju koje se izračunava visina  $OEK_{M-AMBI}$  indeksa, korišten je AZTI AMBI softver (<http://www.azti.es>),

Zbog kasnijeg priključenja EU (nakon završetka IC postupka za priobalne vode) Hrvatska nije sudjelovala u interkalibracijskom postupku zemalja MED-GIG-e za makrozoobentos u ovoj kategoriji površinskih voda. U međuvremenu se radilo na razvoju metode u priobalnim vodama hrvatskog dijela Jadrana, a rezultati su prikazani u narednom poglavlju.

**Španjolska** je razvila dvije metode za procjenu ekološkog stanja priobalnih voda MEDOCC (Pinedo i Jordana, 2007), koji se primjenjuje u Kataloniji i na Balearima, te BOPA metodu koja se koristi u regijama Andaluzija, Valencija i Muricija (Dauvin i Ruellet, 2007; 2009).

MEDOCC metoda primjenjuje funkcionalnu podjelu bentoskih beskralješnjaka na četiri ekološke grupe: osjetljive, indiferentne, tolerantne i oportuniste, a računa se na temelju njihovog udjela prema formuli:

$$MEDOCC = (0 \times \%EG I) + (2 \times \%EG II) + (4 \times \%EG III) + (6 \times \%EG IV) / 100$$

BOPA metoda (Dauvin i Ruelett, 2007) se temelji na modificiranoj metodi izračuna omjera poliheta i amfipoda, koja se pokazala efikasnom u detekciji stresnog stanja izazvanog onečišćenjem naftom (Gomez-Gesteira i Dauvin, 2000). Modifikacija se sastoji u prilagodbi koja je omogućila diferencijaciju unutar priobalnih voda u pet ekoloških klasa, u skladu s normativima ODV. U izračunu je korištena frekvencija oportunističkih poliheta (fp) i frekvencija amfipoda (fa) s izuzetkom oportunističkog roda Jassa. BOPA indeks se računa prema formuli

$$\text{BOPA} = \log \left( \frac{f_p}{f_a + 1} + 1 \right)$$

a njegova vrijednost se kreće u rasponu 0 do 0.30103, pri čemu se donja granica odgovara vrijednosti  $f_p=0$ , a gornja vrijednosti  $f_a=0$ .

BOPA metoda je gotovo istovjetna BO2A metodi koja se koristi za ocjenu ekološkog stanja u prijelaznim vodama Andaluzije, ali BOPA od oportunističkih Annelida uključuje polihete, a BO2A polihete i oligohete. Za ocjenu OEK primjenom BOPA/BO2A i MEDOCC metoda, potrebna je normalizacija podataka na skali 0-1.

### **2.2.6. Određivanje granica klasa ekološkog stanja i omjera ekološke kakvoće**

Određivanje granica klasa na nacionalnoj razini je provedeno na temelju: ekspertne procjene, primjene statističkih metoda, ekološkog diskontinuiteta i/ili kombiniranim pristupom za različite granice klasa. Ekološki status je klasificiran u jednu od pet klasa; VRLO DOBRO (H), DOBRO (G), UMJERENO (M), SLABO (P) i LOŠE (B).

#### **CIPAR**

- Granice klasa su definirane prema grčkom modelu, na temelju odnosa dviju funkcionalnih skupina bentoskih beskralješnjaka koje se razlikuju po osjetljivosti prema onečišćenju (osjetljive vs. tolerantne vrste). Prvu skupinu (S) sačinjavaju predstavnici funkcionalnih grupa EG I i EG II, a drugu (T) predstavnici funkcionalnih grupa EG III, EG IV i EG V. Metoda je kvantitativna i uspješno je testirana duž prostornog gradijenta poremećaja. Granice klasa su istovjetne Grčkom tipu klasifikacije.

#### **GRČKA**

- Granice klasa korištenjem BENTIX metode određene na temelju biološkog kriterija: kvantitativnog odnosa skupina S i T. Središnja vrijednost klase G (dobro ekološko stanje) je određena sjecištem krivulja osjetljivih i tolerantnih vrsta, u kojem svaka skupina obuhvaća 50% primjeraka ukupne faune. Granica H/G klasa je ekvidistantna u odnosu na ovu vrijednost. i iznosi 0.75, dok granica G/M klase iznosi 0.58 na skali 0-1.

#### **FRANCUSKA**

- Granice su definirane diskontinuitetom metrike pet funkcionalnih ekoloških grupa koje različito odgovaraju na pritiske. Granice klasa su preuzete iz originalne metrike (Borja i sur., 2000):  $OEK_{\text{AMBI}} 0.83$  za granicu klasa H/G, te  $OEK_{\text{AMBI}} 0.58$  za granicu klasa G/M.

## ITALIJA

- Granice su definirane ekvidistantnom podjelom OEK gradijenta temeljem ekspertne procjene i primjene statističkog pristupa. Granica klasa H/G=0.81, a granica klasa G/M=0.61.

## SLOVENIJA

- Slovenija je, poput Italije izabrala M-AMBI kao nacionalnu metodu za procjenu ekološkog stanja primjenom BEK BB, ali je zbog malog akvatorija s nedostatkom područja bez antropogenog utjecaja (ili s minimalnim utjecajem) i nepokrivenosti kompletnog gradijenta onečišćenja, referentne uvjete odredila na temelju ekspertne procjene, izborom četiri postaje s minimalnim antropogenim utjecajem. Izračunom medijana pojedinačnih indeksa ( $S = 91$ ,  $AMBI = 1.34$ ;  $H' = 5.87$ ) i njegovom korekcijom na račun procjene prirodne varijabilnosti od 15%, odredila je granicu dviju gornjih klasa, a ostale granice je raspodijelila ravnomjerno na ostatku skale 0-1.  $OEK_{M-AMBI}$  iznosi 0,83 za granicu klasa H/G, te 0,62 za granicu klasa G/M.

## ŠPANJOLSKA (KATALONIJA I BALEARI)

- Granice klasa su definirane diskontinuitetom metrike četiri funkcionalne ekološke grupe koje različito odgovaraju na pritiske. U MEDOCC indeksu oportunisti prvog i drugog reda udruženi su u zajedničku skupinu. Klasa H obuhvaća uzorke s > 40% osjetljivih vrsta, a klasa G uzorke s > 50% tolerantnih vrsta.  $OEK_{MEDOCC}$  (nakon normalizacije skale na raspon 0-1) iznosi 0.73 za granicu klasa H/G, te 0.47 za granicu klasa G/M.

## ŠPANJOLSKA (KATALONIJA I BALEARI)

- Granice klasa su definirane diskontinuitetom metrike dviju taksonomskih skupina koje različito odgovaraju na pritiske: Amphipoda (s izuzetkom roda *Jassa*) koji predstavljaju svoju osjetljivu na pritiske i oportunističkih vrsta iz svojte Polychaeta. U klasi H dominiraju predstavnici skupine Amphipoda (s izuzetkom oportunističkog roda *Jassa*), frekvencija oportunističkih Polychaeta je niska, a granica klasa (nakon normalizacije skale na raspon 0-1) H/G iznosi 0.95. Ispod granice G/M ( $OEK_{BOPA} = 0.54$ ) frekvencija Amphipoda je niska.

H, G i M ekološko stanje je opisano u skladu s normativnom definicijom ODV-a za određivanje granica klasa. U nastavku je pregled granica klasa određenih na nacionalnim razinama, uključujući regije/zemlje za koje nije provedena interkalibracija\* (**Tablica 2.2.2.**).

**Tablica 2.2.2.** Nacionalne metode i granične vrijednosti omjera ekološke kvalitete (OEK) zemalja MED-GIG za koje je provedena interkalibracija (EC,2018), s naznačenim metodama i vrijednostima granica klasa u Španjolskoj (Anadaluzija i Baleari) i Hrvatskoj.

Zemlja	Nacionalni klasifikacijski sustavi	Omjer ekološke kvalitete Granica vrlodobro-dobro (H/G)	Omjer ekološke kvalitete Granica dobro-umjereno (G/M)
Cipar	Bentix	0.75	0.58
Grčka	Bentix	0.75	0.58
Francuska	AMBI	0.83	0.58
Italija	M-AMBI	0.81	0.61
Slovenija	M-AMBI	0.83	0.62
Španjolska	MEDOCC	0.73	0.47
Španjolska*	BOPA	0.95	0.54
Hrvatska*	M-AMBI	0.82	0.62

### 3.PREGLED BIOLOŠKIH METODA OCJENE EKOLOŠKOG STANJA NA TEMELJU MAKROZOOBENTOSA U PRIJELAZNIM I PRIOBALNIM VODAMA HRVATSKE

Metodologija uzorkovanja i analiza bentoskih beskralješnjaka se temelje na korištenju standardne znanstvene literature za istraživanje bentosa (Eleftheriou i Holme, 1984; Castelli i sur., 2003). Uzorkovanje i laboratorijska analiza uzoraka su u skladu s normom HRN EN ISO 16665, obavljaju se prema standardnom protokolu (Dodatak I) i istovjetni su za prijelazne i priobalne vode (Hrvatske vode, 2015). Metode uzorkovanja, te terenske i laboratorijske obrade uzoraka su opisani u nastavku, u operativnim etapama.

#### 3.1. UZORKOVANJE I LABORATORIJSKA OBRADA UZORAKA I PODATAKA

##### 3.1.1. Uzorkovanje

###### 3.1.1.1. Područje i učestalost uzorkovanja

Uzorkovanje makrozoobentosa se obavlja na mjernim postajama nacionalne monitoring mreže na kojima se uzorkuje fitoplankton i osnovni fizikalno-kemijski pokazatelji. Uzorkovanje faune bentoskih beskralješnjaka u prijelaznim i priobalnim vodama je provedeno tijekom ljetnog razdoblja 2012., 2013., 2014., 2015. i 2016., te u ranu jesen 2017. godine. Uzorkovalo se na ukupno 36 postaja (13 u prijelaznim i 23 u priobalnim vodama) smještenih unutar 30 vodnih tijela (13 u prijelaznim i 17 u priobalnim vodama), kako slijedi:

2012.-2013. 6 VT (5 u priobalnim i 1 u prijelaznim vodama), ukupno 6 postaja

2014.-2015. 13 VT (6 u prijelaznim i 7 u priobalnim vodama), ukupno 15 postaja\*

2016.-2017. 20 VT (10 u prijelaznim i 10 u priobalnim vodama), ukupno 21 postaja\*

Vodna tijela u hrvatskom dijelu Jadrana prikazana su u **DODATKU I**, a njihov prostorni raspored prikazan je posebno za priobalne (**Slika 1.**) i posebno za prijelazne vode (**Slika 2.**). Geografski smještaj postaja u prijelaznim i priobalnim vodama prikazan je u DODATKU I (**Slike 3. i 4.**). Na razini vodnih tijela uzorkovanje je u oba tipa površinskih voda provedeno u sklopu trogodišnjih ciklusa nadzornog monitoringa, odnosno dvogodišnjih ciklusa operativnog monitoringa. Postaje i ciklus uzorkovanja u prijelaznim vodama prikazani su u DODATKU I (**Tablice 1. i 2.**), a isti podaci za priobalne vode prikazani su u **Tablicama 3. i 4.** Tijekom šestogodišnjeg razdoblja, na četiri postaje u prijelaznim i dvije postaje u priobalnim VT uzorkovanje je obavljeno dvokratno\* (operativni monitoring), a na ostalim postajama jednokratno (nadzorni monitoring).

Uzorkovanje i analize BEK BB u prijelaznim vodama RH uključivalo je 13 postaja, raspoređenih unutar 13 vodnih tijela, u estuarijima rijeka: Mirne (P2\_2-MI), Raše (P2\_3 – RA), Rječine (P2\_2 RJP), Zrmanje (P2\_2-ZR, P2\_3 –ZR), Krke (P1\_3-KR, P2\_3-KR, P2\_3-KRP), Jadra (P2\_2-JAP), Cetine (P2\_3-CE), Neretve (P2\_2-NEP, P2\_3-LPP) i Omble (P2\_2-OM). Po jedna postaja na ušću Neretve/Luka Ploče (BB-P5b), Jadra (BB-P10a), Krke



(BB-P13b) i Rječine (BB-P18) uzorkovana je dva puta u dvogodišnjim ciklusima, u sklopu operativnog monitoringa, pa je analizirano ukupno 17 uzoraka. Ostale postaje u prijelaznim vodama uzorkovane su jednokratno u sklopu nadzornog monitoringa na ušćima rijeke Mirne (BB-P22), Raše (BB-P20), Zrmanje (BB-P16, BB-P16a), Krke (BB-P11, BB-P13), Cetine (BB-P8), Neretve (BB-P4a) i Omble (BB-P2).

Uzorkovanje i analize BEK BB u priobalnim vodama RH uključivalo je 23 postaje duž hrvatske obale Jadrana, raspoređene u 17 vodnih tijela: O313-BAZ, O313-KASP, O412-ZOI, O412-PULP, O413-LIK, O413-RAZ, O413-PAG, O413-PZK, O413-STLP, O422-SJI, O422-KVV, O422-VIS, O423-KVA, O423-RIZ, O423-RILP, O423-VIK and O423-KVJ. Postaje u Luci Split (BB-O15a) i Luci Rijeka (BB-O38) su uzorkovane dva puta u dvogodišnjim ciklusima operativnog monitoringa, pa je analizirano ukupno 25 uzoraka.

### 3.1.1.2. Uzorkovanje faune bentoskih beskralješnjaka (makrozoobentos)

Uzorkovanje makrozoobentosa se obavlja korištenjem istraživačkog broda opskrbljenog hidrauličkim dizalom za grabilo. Za uzorkovanje se koristi sljedeća oprema i materijal:

- Van Veen grabilo
- prienosni stol za ispiranje i sijanje s odvodom
- sito oka veličine 1 mm
- sustav za ispiranje uzoraka
- plastične kadice
- pincete
- lopatice, žlice za prijenos materijala iz korita u sito
- vodootporni flomasteri
- 4% formaldehid (neutralizirani)
- posude za pohranjivanje uzoraka
- pribor za etiketiranje uzorka
- terenski protokol
- grafitna olovka

Uzorkovanje sedimenta za analizu faune bentoskih beskralješnjaka obavlja se Van Veen grabilom zahvatne površine 0,1m<sup>2</sup>. Na svakoj mjernoj postaji se uzimaju četiri replikatna uzorka (4 grabila). Svaki replikat se tretira posebno, na način da se materijal iz grabila isprazni u plastičnu kadu odgovarajućih dimenzija, a zatim se lopaticama prebacuje u graduirane kante pomoću kojih se mjeri ukupni volumen sedimenta u pojedinom grabilu. Sustav za ispiranje i prosijavanje sedimenta se sastoji od prienosnog terenskog stola s direktnim odvodom u more. Na stol se postavljaju kružna ili pravokutna sita za ispiranje s mrežom veličine oka 1 mm. Ispiranje i sijanje se obavljaju tako da se kanta volumena cca 10 litara do pola napuni sedimentom koji se ispire tekućom morskom vodom pomoću gumenog crijeva s nastavkom koji omogućuje različite tipove regulacije vodnog mlaza. Čestice sedimenta manje od 1 mm se ispiru kroz sito i odvodnom cijevi vraćaju u more. Čestice sedimenta krupnije od 1 mm zajedno s faunom beskralješnjaka se zadržavaju na

situ. Krupniji (lako uočljivi) beskralješnjaci se tijekom sijanja pincetama prenose u posudu s morskom vodom. Ispiranje i sijanje se vrše dok se ne prosije kompletan sadržaj materijala prikupljenog grabilom. Materijal koji se zadržao na situ sadrži čestice sedimenta veće od 1 mm i najsitnije primjerke faune. Taj materijal se prebacuje u plastične posude i fiksira 4% otopinom neutraliziranog formaldehida u morskoj vodi. Krupniji organizmi se kratkotrajno isperu slatkom vodom i fiksiraju u 70% etanolu. Posude s uzorcima se se propisno etiketiraju (vanjska i unutrašnja etiketa, podaci predviđeni protokolom napisani grafitnom olovkom) i pohranjuju za daljnju laboratorijsku obradu.

Svi podaci koji se odnose na uzorkovanje (datum, mjerna postaja, osoba koja je uzorkovala, opis vremenskih prilika, visina plime/oseke, dubina uzorkovanja), te sve ostale moguće posebnosti se zapisuju u unaprijed pripremljeni obrazac terenskog protokola.

### **3.1.2. Laboratorijska obrada uzoraka**

Obrada uzoraka nastavlja se u laboratoriju korištenjem materijala i opreme namjenjene laboratorijskim analizama makrozoobentosa, a u koje spadaju:

- binokularna lupa (stereolupa)
- plastične kadice
- sita (veličine oka 1 mm i 0,5 mm)
- posude za pohranu uzoraka
- petrijeve posudice
- pipete i pincete
- pribor za etiketiranje uzorka
- fiksativ (70% etanol)
- grafitne i kemijske olovke

Laboratorijska obrada makrozoobentosa odvija se u nekoliko koraka:

#### **3.1.2.1. Separacija, sortiranje i klasifikacija na razini viših taksonomskih skupina**

U laboratoriju se iz posude s fiksiranim uzorkom makrozoobentosa odlije otopina formaldehida kroz sito s veličinom oka od 0,5 mm. Uzorak koji ostane na situ se dobro ispere tekućom vodom. Isprani uzorak se rasporedi po kadici. Prvo se izoliraju organizmi vidljivi prostim okom te se razvrstaju na razini viših taksonomskih skupina (koljena/razredi/redovi). Sitniji organizmi se separiraju korištenjem binokularne lupe. Separirani i razvrstani organizmi se fiksiraju u 70 % etanolu.

#### **3.1.2.2. Mikroskopiranje i determinacija vrsta**

Determinacija vrsta bentoskih beskralješnjaka se provodi korištenjem binokularne lupe do najniže taksonomske razine, odnosno do razine vrste, a najmanje do razine roda sa specificiranim morfotipom za skupine Polychaeta, Bivalvia i Gastropoda koje sačinjavaju veliku većinu makrozoobentosa. Determinacija se provodi korištenjem slikovnih i/ili

dihotomnih ključeva (Barnich i Fiege, 2003; Bianchi, 1981; Böggemann, 2002; Carrera-Parra, 2006; Fauchald, 1977; Fauvel, 1923; Fauvel, 1927; Laubier i Ramos, 1974; Nikiforos, 2002; Nordsieck, 1969; Parenzan, 1970; 1974; 1976; Riedel, 1991; San Martín, 2003; Tebble, 1966; Viéitez i sur., 2004.)

Pregledani i determinirani primjerci se pohranjuju u 70% etanolu, u epruvetama ili drugim primjerenim posudicama za dugotrajnu pohranu. Svaka posudica se označava etiketom, koja sadrži potrebne podatke (postaja, datum uzorkovanja, oznaka taksonomske skupine).

### 3.1.2.3. Kvantifikacija

Svi prisutni taksoni višeg ranga (koljena/razredi/redovi) se analiziraju kvantitativno, metodom totalnog cenzusa. Determinacija predstavnika ostalih viših taksona koji nisu taksativno nabrojani je poželjna, kada postoji mogućnost taksonomske ekspertize (specijalizirani stručnjak za određenu skupinu).

### 3.1.2.4. Računalna obrada podataka

Za potrebe AMBI i M-AMBI analiza, koriste se podaci koji se odnose na materijal determiniran do razine vrste ili razine roda, eventualno pojedine više kategorije specificirane u AZTI bazi makrobentoskih beskralješnjaka. Podaci dobiveni taksonomskom analizom kvalitativno-kvantitativnog sastava faune bentoskih beskralješnjaka na svakoj pojedinoj postaji unose se u excel tablice i obrađuju korištenjem računalnog programa kreiranog i standardno primjenjivanog za ocjenu stanja ekološke kakvoće mora na temelju makrozoobentosa. Računalna obrada podataka se vrši primjenom AZTI AMBI (V.5.0) softvera koji sadrži bazu od oko 7000 vrsta/svojni bentoskih beskralješnjaka i oznaku njihove funkcionalne pripadnosti jednoj od pet ekoloških kategorija (EG I - EG V) koje se koriste za izračun omjera ekološke kakvoće (OEK), odnosno ocjenu ekološkog stanja (ES) vodnih tijela u prijelaznim i priobalnim vodama (Borja i Muxika, 2005; Borja i sur., 2012). Program je slobodan i može se preuzeti na web stranici: <http://www.azti.es>, [ambi.azti.es](http://ambi.azti.es).

### 3.1.3. Izračunavanje indeksa/pokazatelja za ocjenu ekološkog stanja

Indeksi/pokazatelji za ocjenu ekološkog stanja primjenom BEK BB u hrvatskom dijelu Jadrana su AMBI indeks u prijelaznim vodama i multiparametarski AMBI (M-AMBI) u priobalnim vodama.

U početnim koracima implementacije ODV u RH, za procjenu ekološkog stanja primjenom BEK BB u prijelaznim i priobalnim vodama koristio se multimetrijski biotički indeks - multiparametarski AMBI (M-AMBI) (Muxika i sur., 2017). Taj indeks je prethodno izabran i usvojen i od ostalih zemalja članica (Italija, Slovenija) s kojima dijelimo izlaz na Jadransko more.

Analizom podataka prikupljenih u narednom šestogodišnjem razdoblju ustanovljeno je da M-AMBI adekvatno ne odgovara na pritiske u prijelaznim vodama, pa je za taj tip površinskih voda predloženo korištenje AMBI indeksa.

U nastavku je opis izračuna AMBI indeksa koji je predložen za ocjenu ekološkog stanja na temelju makrozoobentosa u prijelaznim vodama. Budući da je AMBI sastavni dio M-AMBI indeksa i temeljni preduvjet za njegovo izračunavanje, taj opis se odnosi i na dio metodologije za ocjenu ekološkog stanja na temelju makrozoobentosa u priobalnim vodama, uz nadopune koje se odnose na ostala dva indeksa (S i H') i principe multiparametarske metrike objedinjene u M-AMBI indeksu.

#### 3.1.3.1. AMBI - Pokazatelj/indeks za ocjenu ekološkog stanja u prijelaznim vodama

AMBI indeks (AZTI's Marine Biotic Index) se zasniva na udjelima relativne brojnosti pet ekoloških grupa različitog stupnja osjetljivosti prema onečišćenju, a računa prema formuli:

$$AMBI = \frac{[(0 \times \%GI) + (1,5 \times \%GII) + (3 \times \%GIII) + (4,5 \times \%GIV) + (6 \times \%GV)]}{100}$$

gdje su:

- EG I – osjetljive vrste,
- EG II – indiferentne vrste,
- EG III – tolerantne vrste,
- EG IV – oportunisti prvog reda,
- EG V – oportunisti drugog reda.

Koristimo ga za procjenu ekološkog stanja vodnih tijela u prijelaznim vodama.

### 3.1.2.2. M-AMBI - Pokazatelj/indeks za ocjenu ekološkog stanja u priobalnim vodama

M-AMBI (multivarijantni AMBI) je multimetrijski biotički indeks kojim se izražava omjer ekološke kakvoće na temelju sastava i bogatstva faune makrozoobentosa. Biotički indeks M-AMBI je rezultat multivarijantne faktorske (FA) i diskriminacijske analize (DA) u kojoj se kao ulazne vrijednosti koriste tri univarijantna indeksa, koji se izračunavaju na temelju taksonomskog sastava i ukupne brojnosti vrsta (odnosi se na sve poduzorke unutar jedne postaje) te relativne brojnosti pet temeljnih ekoloških grupa na svakoj mjernoj postaji. To su sljedeći indeksi:

- AMBI (opis i formula na prethodnoj stranici),
- broj vrsta koji predstavlja bogatstvo vrsta (S) i
- Shannon Wiener-ov indeks diverziteta (H').

Formula za izračunavanje indeksa diverziteta (H'):

$$H' = - \sum pi \log 2pi$$

gdje je:

pi = ni/N - udio jedinki vrste „i“ u zajednici,

n - broj jedinki pojedine vrste i

N ukupni broj jedinki

M-AMBI indeks se računa korištenjem računalnog programa AMBI, uz prethodni izračun AMBI, H' i S indeksa za svaku postaju: (<http://www.azti.es>, [ambi.azti.es](http://ambi.azti.es)).

## 3.2. REFERENTNE ZAJEDNICE I OPIS BIOLOŠKIH ZAJEDNICA U VRLO DOBROM, DOBROM I UMJERENOM STANJU

Prema ODV, određivanje referentnih uvjeta za tip-specifična vodna tijela (VT) se provode izborom postaja na kojima u potpunosti ili gotovo u potpunosti vladaju neporemećeni (prirodni) uvjeti okoliša, odnosno na postajama bez ili s minimalnim antropogenim utjecajem (**Tablica 3.2.1.**). U skladu s normativnom definicijom ODV, takve uvjete zadovoljavaju dvije gornje kategorije klasifikacijskog sustava za određivanje ES, odnosno kategorije kojima se opisuje vrlo dobro (H) i dobro ekološko stanje (G) na razini pojedinog elementa biološke kakvoće (EC, 2003a). U smjernicama ODV navedene su četiri opcije za definiranje referentnih uvjeta: 1) postojanje lokacija bez antropogenog utjecaja ili s minimalnim odstupanjem od prirodnih uvjeta, 2) povijesni podaci i informacije, 3) modeli i 4) ekspertna prosudba, odnosno kombinacija pojedinih opcija. U cilju preliminarnog definiranja referentnih uvjeta i zajednica primjenom BEK BB u prijelaznim i priobalnim vodama RH (referentni uvjeti i zajednice 1. generacije) korišteni su povijesni podaci.

**Tablica 3.2.1.** Opće definicije klasifikacije vrijednosti BEK za sve kategorije površinskih voda prema normativnoj definiciji ODV.

<b>Vrlo dobro stanje</b>	Vrijednosti bioloških elemenata kakvoće za cjelinu površinske vode odražavaju uobičajene vrijednosti za taj tip voda u nenarušenom stanju, i pokazuju veoma mala ili nikakva odstupanja. Ovo se smatra tip-specifičnim uvjetima.
<b>Dobro stanje</b>	Vrijednosti bioloških elemenata kakvoće za dotični tip površinskih voda pokazuju nisku razinu promjena uzrokovanih ljudskom djelatnošću, no samo malo odstupaju od vrijednosti uobičajenih za taj tip površinskih voda u nenarušenom stanju.
<b>Umjereno stanje</b>	Vrijednosti bioloških elemenata kakvoće za taj tip površinskih voda umjereno odstupaju od vrijednosti uobičajenih za taj tip voda u nenarušenom stanju. Vrijednosti pokazuju umjerena odstupanja uslijed ljudske djelatnosti, a poremećaji su znatno veći nego u uvjetima dobrog stanja.

### 3.2.1. Preliminarno definiranje referentnih uvjeta temeljem bentoskih zajednica

Nacionalni klasifikacijski sustav prve generacije za BEK BB, uključujući odabir referentnih uvjeta i zajednica prema normativnim definicijama ODV, opisan je prilikom inicijalne faze implementacije ODV u RH (Precali i sur., 2008; Kušpilić i sur., 2011; Hrvatske vode, 2015). U tu svrhu, korišteni su podaci o sastavu faune bentoskih beskralješnjaka na mekim dnima prikupljeni u razdoblju između 1973. i 1978. godine u pet sjevernojadranskih područja, koja prostorno odgovaraju jednom vodnom tijelu u prijelaznim i četirima vodnim tijelima u priobalnim vodama. Ti podaci su bili osnova za analizu funkcionalne strukture bentoskih zajednica, izračun strukturnih i biotičkih indeksa, ocjenu ekološkog stanja i definiranje referentnih uvjeta prve generacije (Hrvatske vode, 2015; NN 73/2013).

Referentni uvjeti su bili definirani na temelju povijesnih podataka tj. rezultata prikupljenih na 30 postaja bez ili s minimalnim antropogenim utjecajem na području sjevernog Jadrana. Te postaje su izabrane na temelju četiri kriterija: 1) geografske reprezentativnosti (prostorno odgovaraju cjelinama od pet vodnih tijela definiranih nacionalnom tipizacijom prijelaznih i priobalnih voda za potrebe ODV), 2) kvalitete taksonomskih podataka, 3) minimalnog antropogenog utjecaja i 4) metodološkog pristupa (uzorkovanje, laboratorijske analize) koja u potpunosti zadovoljavaju uvjete za ocjenu ekološkog stanja i koja su u skladu s normativnim definicijama ODV.

U cilju provjere ekspertne procjene o minimalnom antropogenom utjecaju na izabranim postajama, podaci su analizirani korištenjem metrike (AMBI, M-AMBI) koja je razvijena za potrebe procjene stanja ekološke kvalitete (OEK) u sklopu ODV (Borja i sur., 2000, Borja i sur., 2004, Muxika i sur., 2007). Od 30 postaja uključenih u testni set podataka, izabrano je pet postaja koje su pripadale prijelaznom i šesnaest postaja koje su pripadale priobalnom

tipu površinskih voda, a koje su bile u skladu s općom definicijom klasifikacije ODV za BEK BB u svim kategorijama površinskih voda (**Tablica 3.2.2.**)

**Tablica 3.2.2.** Opće definicije klasifikacije vrijednosti BEK za sve kategorije površinskih voda prema normativnoj definiciji ODV-a.

<b>Vrlo dobro stanje</b>	Razina raznolikosti i brojnost svojti makrozoobentosa je unutar uobičajenog raspona za nenarušeno stanje okoliša. Prisutne su sve osjetljive svojte, uobičajene za nenarušeno stanje.
<b>Dobro stanje</b>	Razina raznolikosti i brojnosti svojti makrozoobentosa je blago izvan raspona uobičajenog za stanje specifično za određeni tip površinskih voda. Prisutna je većina osjetljivih svojti zajednica specifičnih za određeni tip prijelaznih ili priobalnih voda.
<b>Umjereno stanje</b>	Razina raznolikosti i brojnost svojti makrozoobentosa umjereno su izvan raspona uobičajenog za stanje specifično za određeni tip površinskih voda. Prisutne su svojte koje ukazuju na onečišćenje. Odsutna je većina osjetljivih svojti zajednica specifičnih za određeni tip prijelaznih ili priobalnih voda.

Prilikom opisa referentnih zajednica vodilo se računa o usklađenosti s normativnom definicijom ODV, a pri određivanju referentnih postaja/zajednica izbor je sužen na zajednice s najnižom vrijednošću AMBI indeksa i najvišom vrijednošću M-AMBI indeksa. U obzir je uzet tip-specifični taksonomski sastav dotičnih zajednica. U inicijalnoj fazi implementacije ODV u RH opisane su referentne zajednice u reprezentativnim i specifičnim tipovima prijelaznih (2 tipa) i priobalnih voda (4 tipa), za koje su postojali povijesni podaci koji zadovoljavaju ranije navedene kriterije ODV (Precali i sur., 2008):

Tip vode P3\_2

Polihalini estuariji krupnozrnatog sedimenta  
Ušće rijeke Mirne, postaje TRB02\* i TRB03

Tip vode P3\_3

Polihalini estuariji sitnozrnatog sedimenta  
Ušće rijeke Mirne, postaje TRB05, TRB06 i TRB 07

Tip vode O412

Euhalino plitko more krupnozrnatog sedimenta  
Rovinjsko područje: postaje RO2, RO3\*, RO4, RO6, RO7, RO8  
Tip vode O413

Euhalino plitko more sitnonozrnatog sedimenta  
Raški zaljev (postaje 326, 327, 328, 329) i Limski kanal (postaje LK7, LK9\*, LK 44)

Tip vode O422  
Euhalino plitko more krupnozrnatog sedimenta.  
Hrvatsko primorje, postaja VV 22

Tip vode O423 Euhalino plitko more sitnonozrnatog sedimenta  
Hrvatsko primorje (postaje R10, VV3\*, VV13), Raški zaljev (postaja 330)

Opis zajednica je bio u skladu sa normativnom definicijom ODV za opis referentnih zajednica temeljem BEK BB. Nakon početne faze implementacije ODV u prijelaznim vodama, dva tipa estuarijskih voda (Tip 2-mezohaline i Tip 3- polihaline vode) su udružena u jedan tip (Tip 2 Mezo i polihalini estuariji), a Tip 3 je ukinut (Kušpilić i sur., 2011; Hrvatske vode 2016).

Referentne postaje nisu nepromjenjiva kategorija. Kontrola stanja na izabranim postajama se provodi unutar trogodišnjeg razdoblja, a revizija referentnih postaja u razdobljima od po šest godina.

### **3.2.3. Revizija referentnih uvjeta 1. generacije temeljem zajednica BEK BB - recentno stanje**

Zbog ranije navedenih razloga, Hrvatska nije sudjelovala u interkalibracijskim vježbama zemalja MED-GIG. Zahvaljujući rastućem broju analiziranih vodnih tijela te dostupnosti podataka o tip-specifičnim pritiscima, stečeni su uvjeti za revalorizaciju klasifikacijskih metoda i reviziju referentnih postaja. Naknadna ocjena klasifikacijskih metoda ekološkog stanja primjenom BEK BB napravljena je na temelju analize stanja bentoskih zajednica u razdoblju 2012.-2017, primjenom LUSI indeksa i podataka o postojećim integriranim pritiscima (Kušpilić i sur., 2016), sukladno smjernicama ODV.

Analiza je provedena za potrebe dvaju izvješća Europskoj Komisiji u JRC formatu, odvojeno za područje prijelaznih i priobalnih voda i u tim je izvješćima predložena novelacija ranije korištene metodologije, u skladu s rezultatima analize postojećih pritisaka. Oba izvješća (u originalnom obliku) su integrirana u finalno izvješće ovog Projektnog zadatka (DODATAK II, DODATAK, III).

U nastavku je pregledni opis referentnih zajednica BEK BB u prijelaznim i priobalnim vodama nakon revalorizacije klasifikacijskih metoda. Na temelju postojećih rezultata, u skladu s normativnom definicijom ODV, opisane su zajednice bentoskih beskralješnjaka u uvjetima Vrlo dobrog (H), Dobrog (G) i Umjerenog (M) ekološkog stanja u prijelaznim (**Tablica 3.2.3.**) i priobalnim vodama RH (**Tablica 3.2.4.**).



**Tablica 3.2.3.** Opis referentnih zajednica BEK BB u prijelaznim vodama.

<p><b>Vrlo dobro stanje</b></p>	<p>U uvjetima Vrlo dobrog ekološkog stanja AMBI BEK BB iznosi <math>\leq 1.2</math>, a <math>OEK_{AMBI} \geq 0.80</math>. Na istraživanim postajama AMBI i <math>OEK_{AMBI}</math> variraju u rasponu 0.79-0.84, odnosno 0.88-0.89.</p> <p>Osjetljive vrste, karakteristične za zajednicu u prirodnim ili blago poremećenim uvjetima su prisutne. Relativna brojnost ekoloških grupa utvrđena analizom funkcionalnog sastava makrozoobentosa ukazuje na normalno ili blago osiromašenu strukturu zajednica i neporemećene uvjete okoliša. Osjetljive vrste (EG I) su brojčano dominantne; indiferentne i/ili tolerantne vrste (EG II, EG III) su subdominantne, a oportunisti 1. i 2. reda (EG IV+EG V) nisu prisutni ili su vrlo malobrojni.</p>
<p><b>Dobro stanje</b></p>	<p>U uvjetima Dobrog ekološkog stanja AMBI iznosi <math>\leq 3.3</math>, a <math>OEK_{AMBI} \geq 0.60</math>. Na istraživanim postajama AMBI i <math>OEK_{AMBI}</math> variraju u rasponima 1.54 -2.38, odnosno 0.66-0.81.</p> <p>Većina osjetljivih vrsta karakterističnih za zajednicu u prirodnim i/ili blaže poremećenim uvjetima je prisutna. Relativna brojnost ekoloških grupa utvrđena analizom funkcionalnog sastava makrozoobentosa ukazuje na blaži poremećaj u sastavu zajednica koji ukazuje na slabije onečišćenje okoliša. Osjetljive i indiferentne vrste (EG I i EG II) su dominantne, tolerantne vrste (EG III) su uglavnom subdominantne (osim na postaji BB-P18, BB-P-20, gdje dominiraju), dok su oportunističke vrste (EG IV I EG V) relativno brojne i mogu varirati od vrlo niskog udjela u sastavu zajednice do udjela od 25%.</p>
<p><b>Umjereno stanje</b></p>	<p>U uvjetima Umjerenog ekološkog stanja AMBI iznosi <math>\leq 4.3</math>, a <math>OEK_{AMBI} \geq 0.40</math>. Na istraživanim postajama AMBI je iznosio 3.45, a <math>OEK_{AMBI}</math> je varirao u rasponu 0.50-0.52.</p> <p>Relativne brojnosti EG grupa utvrđene analizom funkcionalnog sastava makrozoobentosa ukazuju na prisutnost prijelaznog tipa zajednice tipične za umjereno onečišćene uvjete okoliša. U sastavu zajednice brojčano dominiraju oportunističke vrste (EG IV+EG V), a osjetljive (EG I), indiferentne (EG II) i tolerantne vrste imaju subdominantnu položaj i variraju u rasponu 10-20%.</p>

- Vrlo dobro stanje BEK BB može se opisati zajednicama koje pripadaju Vodnim tijelima VT P2\_2-OM (postaja BB-P2) – ušće Omble i VT P2\_2-ZR (postaja BBP-16a) – ušće Zrmanje.
- Dobro ekološko stanje je utvrđeno u većini zajednica prijelaznih voda, konkretno u zajednicama prisutnim na postajama BB-P4a, BB-P5b (ušće Neretve), BB-P8 (ušće Cetine), BB-P11, BB-P13, BB-P13b (ušće Krke), BB-P16 (ušće Zrmanje), BB-P18 (ušće Rječine), BB-P20 (ušće Raše) i BB-P22 (ušće Mirne).
- Umjereno ekološko stanje utvrđeno je samo u VT P2\_2 JAP (postaja BB-P10a), ušće Jadra.

**Tablica 3.2.4.** Opis referentnih zajednica BEK BB u priobalnim vodama.

<p><b>Vrlo dobro stanje</b></p>	<p>U uvjetima Vrlo dobrog ekološkog stanja M-AMBI indeks, odnosno <math>OEK_{M-AMBI}</math> BEK BB iznosi <math>\geq 0.82</math>, a na istraživanim postajama varira u rasponu 0.85-0.86.</p> <p>Osjetljive vrste, karakteristične za zajednicu u neporemećenim uvjetima su prisutne. Relativna brojnost ekoloških grupa utvrđena analizom funkcionalnog sastava makrozoobentosa ukazuje na normalnu ili blago osiromašenu strukturu zajednica i neporemećene uvjete okoliša.</p> <p>Zajednica uglavnom sadrži &gt; 70% osjetljivih i indiferentnih vrsta (EG I i EG II), te &lt; 25% tolerantnih vrsta, dok je udio oportunističkih vrsta vrlo nizak (EG IV i V &lt; 5%), s izuzetkom postaje BB-O22a (EG IV i V 15%), na kojoj je zabilježena i povišena vrijednost AMBI <math>\geq 2</math>.</p> <p>Uz prethodnu iznimku, u uvjetima Vrlo dobrog stanja AMBI je &lt; 1.5; bogatstvo vrsta (S) je visoko i varira između 40 i 84 vrste po postaji (medijan 48). Shannon-Wienerov indeksi &gt;4.5 (medijan=4.96).</p>
<p><b>Dobro stanje</b></p>	<p>U uvjetima Dobrog ekološkog stanja M-AMBI indeks, odnosno <math>OEK_{M-AMBI}</math> BEK BB iznosi <math>\geq 0.62</math>, a na istraživanim postajama varira u rasponu 0.63-0.81.</p> <p>Većina osjetljivih vrsta karakterističnih za zajednicu u blaže poremećenim uvjetima okoliša je prisutna. Zajednica obuhvaća &gt;45% osjetljivih i indiferentnih vrsta (EG I i EG II). Relativna brojnost tolerantnih i oportunističkih vrsta je vrlo varijabilna (EG III 12.8-33.7, medijan=21.25; EG IV i EG V 2.2-24.8, medijan=7.55), uglavnom zbog rezultata na postajama s povišenom vrijednošću LUSI indeksa (3-5).*</p> <p>U uvjetima Dobrog ekološkog stanja, AMBI varira u rasponu 1.49-2.69 (medijan=1.67), bogatstvo vrsta (S) u rasponu 17-53 (medijan=29.3), a Shannon-Wiener-ov indeks u rasponu 3.6-5.4 (medijan=4.7).</p>
<p><b>Umjereno stanje</b></p>	<p>U uvjetima Umjerenog ekološkog stanja M-AMBI indeks, odnosno <math>OEK_{M-AMBI}</math> BEK BB iznosi <math>\geq 0.41</math>, a na istraživanim postajama varira u rasponu 0.58-0.59.</p> <p>Udio osjetljivih vrsta u sastavu makrozoobentoskih zajednica je &lt;25%, udio indiferentnih i tolerantnih &gt; 50%, a udio oportunističkih vrsta varira od vrlo niskih (1-5%) do visokih vrijednosti (BB-O28a, 20%).</p> <p>U uvjetima Umjerenog ekološkog stanja utvrđen je daljnji porast vrijednosti AMBI indeksa (1.9-2.9), te pad vrijednosti indeksa koji ukazuju na bogatstvo vrsta (S=20-25) i diverzitet zajednice (H'=1.9-3.7).</p> <p>Podaci koji se odnose na postaju BB-O37 nisu uključeni u opis **.</p>

Primjedba naznačena u tablici 3.2.4. vezano uz opis Dobrog stanja\*, odnosi se na postaje smještene su u lučkim područjima (Pula, Rijeka i Split), te u sjevernom dijelu Kaštelanskog zaljeva. Radi se o područjima izrazitijeg antropogenog utjecaja (lučka onečišćenja, urbana onečišćenja, onečišćenja vezana uz poljoprivredne aktivnosti i/ili utjecaj okolnih vodnih tijela). Na tim postajama utvrđene su visoke vrijednosti S I H' indeksa, ali su te vrijednosti redovito bile povezane s visokim udjelom oportunističkih vrsta ili niskom brojnošću osjetljivih vrsta ili razmjerno visokim udjelom indiferentnih i tolerantnih vrsta.

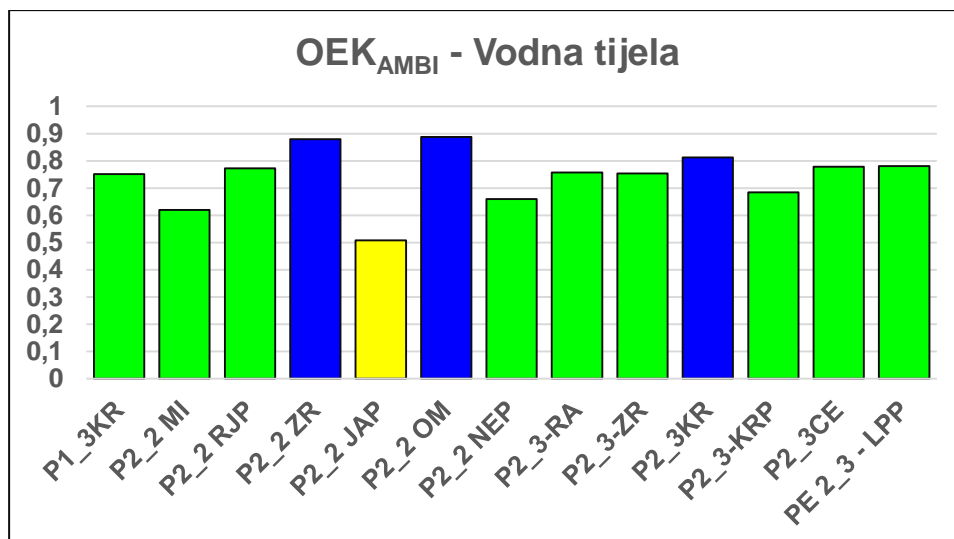
Primjedba naznačena u tablici 3.2.4. odnosi se na postaju BB-O37 (Bakarski zaljev) koja nije uzeta u obzir prilikom opisa Umjerenog stanja\*\*. Podaci koji se odnose na tu postaju nisu uključeni u opis zbog lokalnih odstupanja većine pokazatelja (AMBI=0.43; EG I =82%, EG II=9%, EG III=8%). Ta odstupanja su vjerojatno uzrokovana specifičnostima mikrostaništa koje, zbog nepoznatih razloga, podržava vrlo visoku brojnost osjetljivih vrsta, razmjerno nisku brojnost indiferentnih i tolerantnih vrsta, te suprotno tome vrlo niske vrijednosti pokazatelja bogatstva vrsta (S=20) i diverziteta (H'=1,9) koje su imale prevagu u kategorizaciji .

U nastavku teksta ćemo se fokusirati na definiranje referentnih uvjeta, izbora referentnih zajednica i klasifikacijskih metoda nakon provedene novelacije, na recentnom setu podataka 2012.-2017.

### 3.2.4. Referentne i najlošije vrijednosti pokazatelja ekološkog stanja

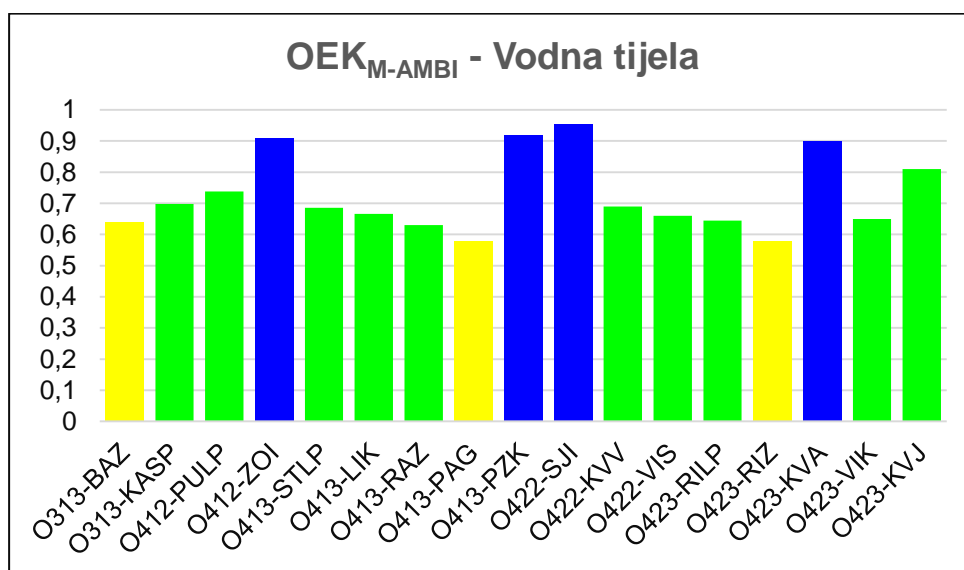
Set podataka korišten u izradi ovog izvješća odnosi se na prvi - šestogodišnji ciklus monitoringa, proveden u sklopu implementacije ODV u razdoblju 2012.-2017. Prema smjernicama ODV šestogodišnji ciklus predstavlja razdoblje nakon kojega se provodi revizija, te po potrebi korekcija klasifikacijskih metoda i/ili raspona i granica klasa ekološkog stanja. Nakon izvršene revizije (odgovor prethodno korištene metode na pritiske općeg tipa), izvršene su odgovarajuće korekcije. Rezultati analize ekološkog stanja BEK BB opisani su primjenom nove klasifikacijske metode (AMBI) u prijelaznim vodama i noveliranih granica klasa u prijelaznim i priobalnim vodama.

Od ukupno 13 vodnih tijela u prijelaznim vodama, Vrlo dobro ekološko stanje ( $OEK_{AMBI} \geq 0.80$ ) je utvrđeno za tri vodna tijela, Dobro stanje za devet vodnih tijela, dok je Umjerenost stanje zabilježeno u samo jednom vodnom tijelu (**Slika 3.2.1**). Najbolje vrijednosti  $OEK_{AMBI}$  su zabilježene na ušću Omble ( $OEK_{AMBI}=0,89$ ) na postaji BB-P2 i ušću Zrmanje ( $OEK_{AMBI}=0,89$ ) na postaji BB-P16a ( $OEK_{AMBI}=0,88$ ), a najlošije na ušću Jadra ( $OEK_{AMBI}=0,51$ ) na postaji BB-P10a i to prilikom oba dvogodišnja ciklusa ('14-'15 i '17-'18.) operativnog monitoringa.



**Slika 3.2.1.** Ocjena Ekološkog stanja Vodnih tijela u prijelaznim vodama na temelju BEK BB primjenom AMBI klasifikacijske metode. Rezultati se odnose na razdoblje 2012.-2017.

Od ukupno 17 Vodnih tijela u priobalnim vodama, u većini je ustanovljeno vrlo dobro i/ili dobro ekološko stanje tj. stanje u skladu sa zahtjevima ODV za određivanje referentnih uvjeta. Vrlo dobro ekološko stanje ( $OEK_{M-AMBI} \geq 0,82$ ) je utvrđeno za četiri vodna tijela, Dobro stanje za deset vodnih tijela, a Umjereno za tri vodna tijela (**Slika 3.2.2.**). Najbolje vrijednosti su zabilježene u vodnom tijelu O422-SJI na postajama BB-O26 ( $OEK_{M-AMBI}=0,96$ ) i BB-O32 ( $OEK_{M-AMBI}=0,95$ ), a najlošije u VT O313-BAZ na postaji BB-O37 ( $OEK_{M-AMBI}=0,55$ ), te zatim u VT O413-PAG na postaji BB-O28a, VT O423-RILP na postaji BB-O38 i VT O423-RIZ na postaji BB-O39. U zadnja tri slučaja  $OEK_{M-AMBI}$  je iznosio 0,58. Na postajama na kojima je uzorkovanje provedeno dvokratno (BB-O37 i BB-O38) radilo se o uzorcima uzetim u dvogodišnjem ciklusu uzorkovanja 2014./2015.



**Slika 3.2.2.** Ocjena Ekološkog stanja Vodnih tijela u priobalnim vodama na temelju BEK BB primjenom M-AMBI klasifikacijske metode. Rezultati se odnose na razdoblje 2012.-2017.

Podaci izabrani za određivanje nacionalnih referentnih uvjeta na temelju BEK BB su u skladu s normativnom definicijom ODV u smislu: 1) prostorne pokrivenosti, 2) metodološkog pristupa i 3) zahtjeva u pogledu minimalnog antropogenog utjecaja. Prema tim kriterijima, izabrali smo 2 referentne postaje u prijelaznim VT P2\_OM (BB-P 2) i P2\_2\_ZR (BB-P16a), te 6 referentnih postaja u priobalnim vodama: VT O412-ZOI (BB-O46, BB-O52a, BB-O48); VT O422-SJI (BB-O26, BB-O32), VT O423-KVA (BB-O42).

### 3.2.5. Utvrđivanje granica klasa

Ocjenjivanje ekološkog stanja predstavlja mjerenje odstupanja strukture i funkcije ekosustava od prirodnog/referentnog stanja. Prema veličini promjene, u skladu s normativnim definicijama ODV, ekološko stanje na pojedinoj postaji se klasificira u jednu od pet kvalitativnih kategorija (klasa) prikazanih u **Tablici 3.2.5**. Te kategorije su u okviru istraživanja vezanih uz ODV zajedničke svim elementima kakvoće i svim tipovima voda. Granice kategorija su međutim specifične za pojedine elemente ekološke i biološke kakvoće, a unutar istog elementa kakvoće se mogu razlikovati u prijelaznim i priobalnim vodama, te eventualno različitim tipovima vode unutar iste kategorije površinskih voda.

**Tablica 3.2.5.** Opća klasifikacija ekološkog stanja.

KATEGORIJE EKOLOŠKOG STANJA
VRLO DOBRO
DOBRO
UMJERENO
LOŠE
VRLO LOŠE

Preliminarne granice klasa, odnosno granice klasa 1. generacije, preuzete su iz originalne klasifikacijske sheme (REFCOND, 2003), prema Muxika i sur. (2007). Te granice su definirane bez interkalibracijskog postupka, na temelju diskontinuiteta pet EG metrika koje odgovaraju na različite načine na antropogene pritiske (**Tablica 3.2.6.**).

**Tablica 3.2.6.** Opća klasifikacija ekološkog stanja (REFCOND, 2003) korištena prije revizije.

KATEGORIJE EKOLOŠKOG STANJA (ES)	EQR <sub>M-AMBI</sub> KLASA
VRLO DOBRO	0.83-1.00
DOBRO	0.62-0.82
UMJERENO	0.41-0.61
LOŠE	0.20-0.40
VRLO LOŠE	<0.20

U hrvatskom dijelu Jadrana granične vrijednosti kategorija ekološkog stanja zajedničke su za sve tipove prijelaznih voda, stoga smještaj mjerne postaje u pojedinom tipu prijelaznih voda nije relevantan za ocjenu ekološkog stanja.

Isto vrijedi i za granične vrijednosti kategorija ekološkog stanja u priobalnim vodama, budući da je na MED-GIG panelu usuglašeno ekspertno stajalište prema kojem - s obzirom na relativnu homogenost ekoloških uvjeta u Sredozemnom moru, tipizacija priobalnih voda nije relevantna za određivanje ES. Granične vrijednosti kategorija ekološkog stanja su, stoga, zajedničke za sve tipove priobalnih voda, pa smještaj mjerne postaje u pojedinom tipu voda ne utječe na njenu kategorizaciju.

Rasponi graničnih vrijednosti AMBI indeksa za 5 kategorija ekološkog stanja odgovaraju M-AMBI kategorijama za ocjenu ekološkog stanja prijelaznih voda (**Tablica 3.2.7.**) . Računalni program generira indekse AMBI, S i H', usrednjava ih i obavlja multivarijatne faktorske (FA) i diskriminacijske analize (DA) čiji je krajnji rezultat M-AMBI indeks, odnosno vrijednost koja ukazuje na omjer ekološke kakvoće (OEK) korištenjem makrozoobentosa.

**Tablica 3.2.7.** Opća klasifikacija ekološkog stanja (iz Muxika i sur., 2007, prema Borja i sur., 2000).

Indeks	Vrijednost	Opis	Indeks	Raspon vrijednosti omjera ekološke kakvoće	Kategorija ekološkog stanja
AMBI	0,0 - 1,2	Prirodno/čisto	M-AMBI	0,83 - 1,00	<b>Vrlo dobro</b>
	1,2, - 3,3	Blago onečišćeno		0,62 - 0,82	<b>Dobro</b>
	3,3 - 5,0	Umjereno		0,41 - 0,61	<b>Umjereno</b>
	5,0 - 6,0	Teško onečišćeno		0,20 - 0,40	<b>Loše</b>
	> 6	Bez života		0 - 0,20	<b>Vrlo loše</b>

U postupku novelacije, utvrđivanje granica klasa je provedeno odvojeno za prijelazne i za priobalne vode. Hrvatski set podataka za određivanje nacionalnih granica za oba tipa površinskih voda, temelji se na podacima za 13 VT prijelaznih i 17 VT priobalnih voda iz razdoblja 2012.-2017. godine. Prirodna varijabilnost (procijenjena na 20%), definira širinu intervala klase Vrlo dobrog/Referentnog stanja. Granične vrijednosti između Vrlo dobrog i Dobrog stanja (H/G) su izvedene izračunom medijana OEK vrijednosti za Vrlo dobro stanje u pojedinom tipu površinskih voda i odgovarajućom korekcijom vezanom uz procijenjenu prirodnu varijabilnost zajednica.

Kao osnova za utvrđivanje graničnih vrijednosti klasa u oba tipa voda je određena srednja vrijednost OEK na postajama na kojima su utvrđene najviše vrijednosti OEK i koje su na temelju ekspertne procjene određene kao postaje s minimalnim antropogenim utjecajem (2 postaje za prijelazne i šest postaja za priobalne vode). Te vrijednosti su postavljene kao granica klasa između Vrlo dobrog i Dobrog ekološkog stanja, posebno za prijelazne, a posebno za priobalne vode. Ostale granice klasa postavljene su ekvidistantno na ostalom dijelu skale 0-1.

U slučaju prijelaznih voda medijan H klase je iznosio 0.88 i korigiran je za 12% prirodne varijabilnosti (izračun na 2. decimalu). Oduzimanje 12% vrijednosti je bilo potrebno budući da medijan H klase za priobalne vode leži 12% ispod gornje granice klase. Posljedično, H/G granica klasa za prijelazne vode je postavljena na položaj 0.80 OEK<sub>AMBI</sub> skale, a ostale granice su postavljene ekvidistantno (**Tablica 3.2.8**).

**Tablica 3.2.8.** OEK<sub>AMBI</sub> klasifikacija za BEK BB. Novelacija na temelju rezultata monitoringa prijelaznih voda u razdoblju 2012-2017.

KATEGORIJE EKOLOŠKOG STANJA (ES)	GRANICE KLASA ZA OEK <sub>M-AMBI</sub>
VRLO DOBRO	0.80-1.00
DOBRO	0.60-0.80
UMJERENO	0.40-0.60
LOŠE	0.20-0.40
VRLO LOŠE	0.00-0.20

U slučaju priobalnih voda medijan H klase je iznosio 0,91 i korigiran je za 10% prirodne varijabilnosti (izračun na 2. decimalu). Oduzimanje 10% vrijednosti je bilo potrebno budući da medijan H klase za priobalne vode leži 9,5% ispod gornje granice klase. Posljedično, H/G granica klasa za priobalne vode je postavljena na položaj 0.82 OEK skale, a ostale granice su postavljene ekvidistantno, što je prikazano u **Tablici 3.2.9**.

**Tablica 3.2.9.** OEK<sub>M-MBI</sub> klasifikacija za BEK BB. Novelacija na temelju rezultata monitoringa prijelaznih voda u razdoblju 2012-2017.

KATEGORIJE EKOLOŠKOG STANJA (ES)	GRANICE KLASA ZA OEK <sub>M-AMBI</sub>
VRLO DOBRO	0.82-1.00
DOBRO	0.62-0.82
UMJERENO	0.41-0.62
LOŠE	0.20-0.41
VRLO LOŠE	0.00-0.20

### 3.2.6. Izračunavanje ekološkog stanja u pojedinačnom modulu

Za ocjenu ekološkog stanja na temelju BEK BB potrebno je izračunati indeks biotičkog integriteta morskih bentoskih zajednica koji je primjeren modulu za degradacije općeg tipa. Na početku ovog poglavlja detaljno je opisan izračun dva takva indeksa – AMBI (pokazatelj/indeks za ocjenu ES u prijelaznim vodama) i M-AMBI (pokazatelj/indeks za ocjenu ES u priobalnim vodama). Oba indeksa su primjerena modulu za degradacije općeg tipa (Tablice 3.2.10. i 3.2.11.). Pritisci u modulu degradacije općeg tipa testirani su primjenom integrativnog indeksa „z“ (prijelazne vode) i LUSI indeksa (priobalne vode).

**Tablica 3.2.10.** Pokazatelj i modul za ocjenu ekološkog stanja temeljem makrozoobentosa u prijelaznim vodama

Biološki element kakvoće	Pokazatelj	Opterećenje na koje ukazuje biološki pokazatelj	Modul
Makrozoobentos	AMBI - biotički indeks integriteta morskih bentoskih zajednica	Onečišćenje organskim tvarima / degradacija općeg tipa	Opća degradacija

**Tablica 3.2.11.** Pokazatelj i modul za ocjenu ekološkog stanja temeljem makrozoobentosa u prijelaznim vodama

Biološki element kakvoće	Pokazatelj	Opterećenje na koje ukazuje biološki pokazatelj	Modul
Makrozoobentos	Multimetrijski AMBI biotički indeks integriteta morskih bentoskih zajednica (M-AMBI)	Onečišćenje organskim tvarima / degradacija općeg tipa	Opća degradacija

AMBI indeks se, u svim europskim morima, pokazao kao dobar pokazatelj utjecaja točkastih i difuznih izvora onečišćenja najrazličitijeg tipa (kanalizacijski i industrijski podmorski ispusti, organska onečišćenja, lučka onečišćenja, marikultura, eksploatacija nafte, anoksija/hipoksija, eutrofikacija, onečišćenje teškim metalima, terigeni donosi, estuarijska onečišćenja) i fizičkih poremećaja npr. dredžanja, eksploatacije pijeska i sl. (Muxika i sur., 2007). M-AMBI indeks se također dokazao kao dobar pokazatelj degradacije općeg tipa, što je potkrijepljeno mnoštvom radova u časopisima citiranim u SCI (Reizopoulou i sur, 2018.).



Općenito, odgovor bioloških elemenata kakvoće na ukupne pritiske ispituje se utvrđivanjem odnosa između OEK i antropogenih pritisaka s kopna (urbanizacija, industrija, poljoprivreda) i mora (marikultura, lučka onečišćenja, podmorski ispusti).

Pritisci u modulu opće degradacije za potrebe ODV često se utvrđuju primjenom LUSI indeksa ("Land Uses Simplified Index") uz podršku CORINE GIS sustava pokrovnosti/namjenskog korištenja kopnenih područja. LUSI indeks je originalno namijenjen procjeni kombinacije specifičnih pritisaka s kopna na pojedino Vodno tijelo, izračunom ukupnih kopnenih pritisaka prema **Tablici 3.2.12.** (Flo i sur., 2011; EC, 2013), kako slijedi:

**Tablica 3.2.12.** Bodovni sustav potencijalnih pritisaka koji služe za izračun LUSI indeksa. Sustav se temelji na postotnom udjelu zemljišne površine korištene za različite antropogene aktivnosti.

URBANI P.	POLJOPRIVREDNI P.	INDUSTRIJSKI P.	RIJEČNI P.	Σ
<3	< 10	<10	Tip III	0
3-33	10-40	> 10	Tip II	1
33-66	> 40	> 30	Tip I	2
>66		>60		3

i formuli:

$LUSI = (\Sigma \text{urbani p.} + \Sigma \text{poljoprivredni p.} + \Sigma \text{industrijski p.} + \Sigma \text{riječni p.}) \times \text{korekcijski faktor}$

Korekcijski faktor se odnosi na oblik obalne linije (konkavna=1.25, konveksna=0.75, ravna 1.00).

Za izračun LUSI indeksa koristili smo modificiranu verziju primjerenu lokalnim uvjetima, bez pritisaka ovisnih o tipu rijeke i korekcijskog faktora, a s dodatkom fakultativnih pritisaka koji nose po jedan bod (EC, 2013):

- rijeke i kanalska područja sa značajnim utjecajem na VT
- luke sa značajnijim utjecajem na VT
- okolna vodna tijela sa značajnijim utjecajem na VT

Procjena antropogenih pritisaka primjenom LUSI indeksa analizirana je u radijusu 3 km od postaje, uzimajući u obzir dopunske fakultativne pritiske.

Indeks „z“ integrira pojedinačne pritiske, npr. točkaste izvore onečišćenja, netretirane komunalne vode, marikulturu, korištenje zemljišnih površina (LUSI), alohtone i invazivne vrste pomorski promet, ribarstvo i hidrološke pritiske, a uspješno je primjenjen kao integrativna mjera pritisaka u hrvatskim prijelaznim vodama (Kušpilić i sur., 2016). Iz istog izvora, preuzete su vrijednosti „z“ indeksa za pojedina vodna tijela. Integrativni indeks „z“ se računa za svako pojedino vodno tijelo u prijelaznim vodama korištenjem formule:

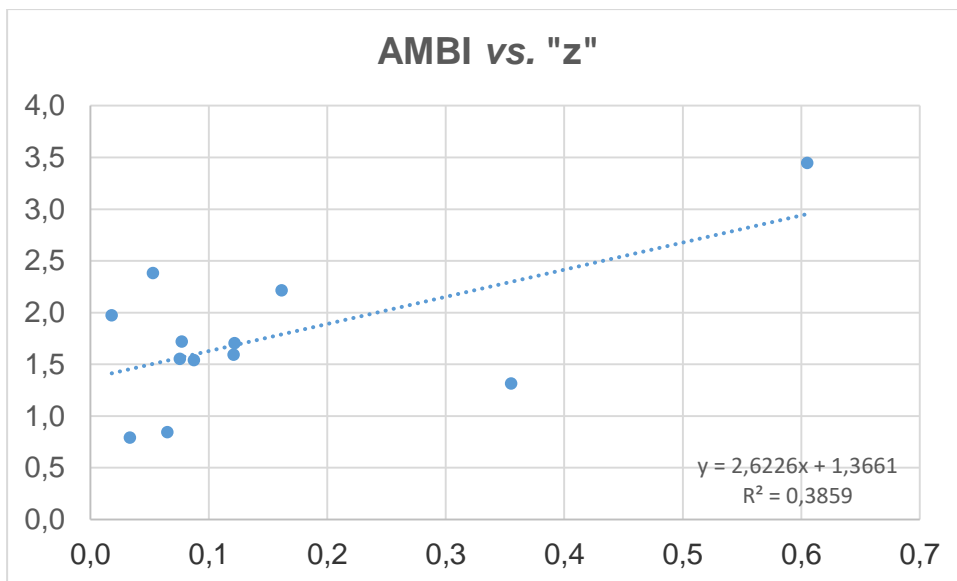
$$z=(x-\mu)/\sigma$$

gdje je  $x$ =pojedinačno mjerenje,  $\mu$ =medijan,  $\sigma$ =standardna devijacija)

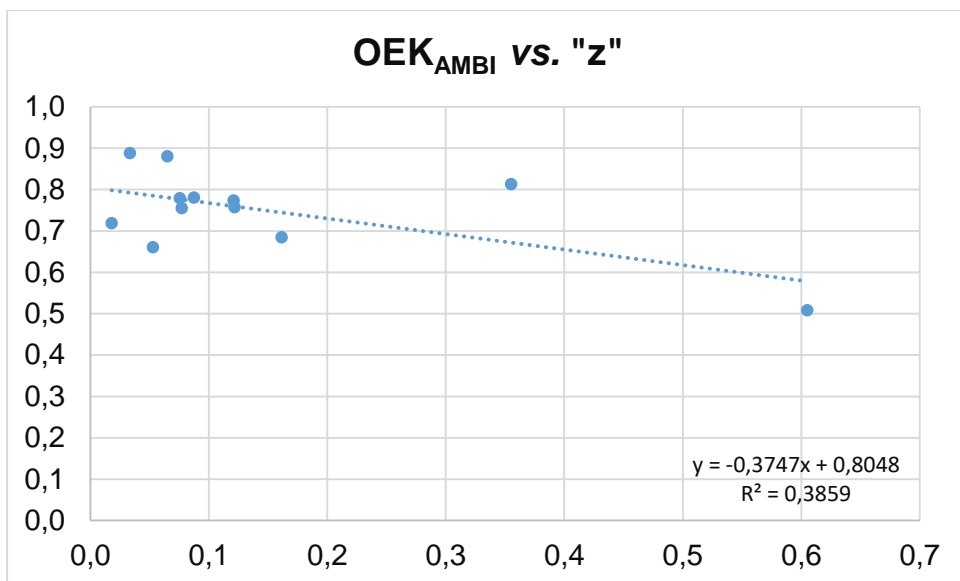
i kalibracijom s tip-specifičnim podacima  $OEK_{AMBI}$ . Pošto „z“ vrijednost može biti pozitivna (iznadprosječni pritisak) i negativna (ispodprosječni pritisak), prije statističke analize (linearna regresija) potrebna je transformacija kvadriranjem.

U razdoblju na koje se odnosi ovo izvješće prikupljeni su, sistematizirani i analizirani podaci o pritiscima u hrvatskom dijelu Jadrana, temeljem čega je izrađena Novelacija karakterizacije prijelaznih i priobalnih voda (Kušpilić i sur., 2016). Korištenjem tih podataka i naknadnom analizom pritiska ustanovljeno je da u prijelaznim vodama M-AMBI metoda ne daje statistički značajan odgovor na opterećenja s kopna (LUSI metoda) niti na integrativno opterećenje („z“ indeks). Stoga je, u prijelaznim vodama, provedeno novo testiranje primjenom AMBI indeksa.

Na području prijelaznih voda, linearnom regresijom nije utvrđena povezanost AMBI i/ili  $OEK_{AMBI}$  indeksa s LUSI indeksom ( $R^2=0.01$ ;  $p>0.05$ ), ali je utvrđena statistički značajna korelacija AMBI i  $OEK_{AMBI}$  s integrativnom metrikom antropogenih pritiska „z“ ( $R^2=0.386$ ,  $R=0.601$ ,  $p<0.05$ ). U slučaju AMBI indeksa ta korelacija je bila pozitivna (**Slika 3.2.2.**), a u pogledu  $OEK_{AMBI}$  indeksa negativna (**Slika 3.2.3.**).



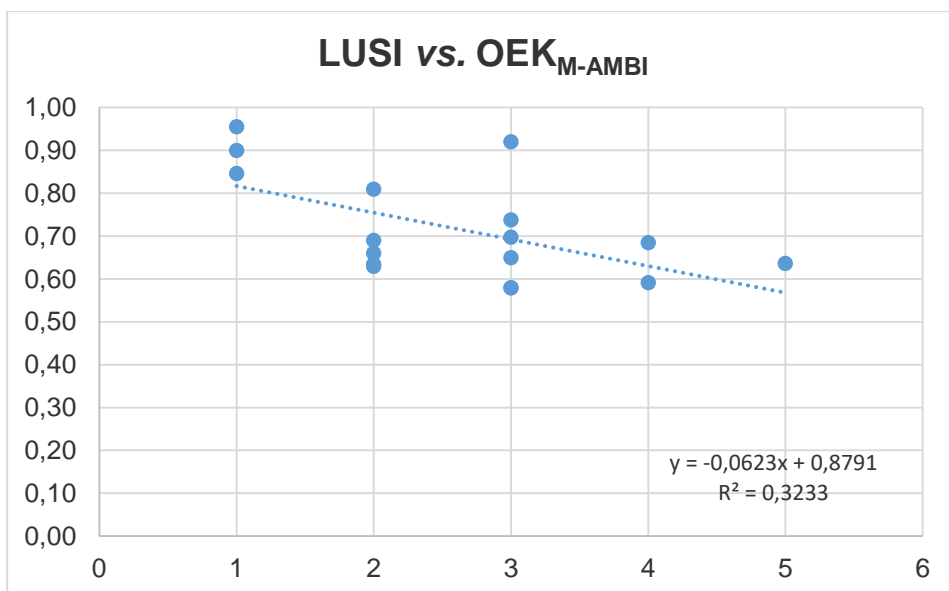
**Slika. 3.2.2.** Linearna regresija između AMBI indeksa i integrativne metrike antropogenog pritiska („z“). Utvrđena je statistički značajna pozitivna korelacija ( $R^2=0.386$ ,  $R=0.621$ ,  $p<0.05$ ).



**Slika 3.2.3.** Linearna regresija između OEK<sub>AMBI</sub> i integrativne metrike antropogenog pritiska ("z"). Utvrđena je statistički značajna negativna korelacija ( $R^2=0.386$ ,  $R=0.621$ ,  $p<0.05$ ).

Stoga je u izvješću Europskoj komisiji AMBI indeks predložen kao primjerena nacionalna metoda za utvrđivanje ekološkog stanja u prijelaznim vodama.

Na području priobalnih voda, linearnom regresijom je utvrđena povezanost M-AMBI, odnosno OEK<sub>M-AMBI</sub> indeksa s LUSI indeksom ( $R^2=0.01$ ;  $p>0.05$ ), pa je M-AMBI - čijom je primjenom ustanovljen statistički značajan odgovor na pritiske s kopna (**Slika 3.2.4.**), zadržan kao metoda procjene ekološkog stanja u kategoriji priobalnih voda.



**Slika 3.2.4.** Linearna regresija između OEK<sub>M-AMBI</sub> i modificiranog LUSI indeksa antropogenih pritisaka. Utvrđena je statistički značajna negativna korelacija ( $R^2=0.323$ ,  $R=0.621$ ,  $p<0.05$ ).

### 3.2.7. Izračunavanje omjera ekološke kakvoće (OEK)

Temeljni podaci za izračun ES su rezultati kvalitativno-kvantitativne analize svih determiniranih vrsta u svakom od četiri replikatna uzorka uzeta u isto vrijeme na istoj postaji. Prije statističke obrade podataka, rezultati su objedinjeni na razini postaje. U slučaju postaja koje su višekratno uzorkovane u različitim vremenskim razdobljima, rezultati za svako razdoblje uzorkovanja se obrađuju i prikazuju pojedinačno. AMBI metoda se temelji na relativnoj brojnosti vrsta koje pripadaju jednoj od pet funkcionalnih skupina, na temelju vrsno-specifične osjetljivosti prema onečišćenju (Pearson i Rosenberg, 1977). Statistička analiza podataka se provodi primjenom AMBI AZTI's softvera: <http://www.azti.es>, koji sadrži vrlo obimnu i rastuću bazu podataka o pripadnosti vrsta (i pojedinih viših svojti) jednoj od pet ekoloških kategorija (EG I-EG V) koje pokrivaju puni raspon osjetljivosti prema onečišćenju. Izračun AMBI indeksa je detaljno opisan u poglavlju 3.2. Ulazni podaci predstavljaju apsolutne vrijednosti brojnosti pojedinih vrsta i njihovu taksonomsku pripadnost. U postupku obrade taksonomski identitet svojti se prevodi u funkcionalni, a apsolutna brojnost u relativnu brojnost, koja se na kraju sumira na razini pet ekoloških grupa različite osjetljivosti na poremećaje u okolišu. Ekološki status se utvrđuje na temelju OEK vrijednosti u pojedinom VT, pa je prije početka računalne obrade za svako vodno tijelo potrebno izračunati prosječnu vrijednost OEK, na temelju vrijednosti utvrđenih na pojedinim postajama i/ili pojedinim uzorkovanjima provedenim na istoj postaji. Izbor OEK indeksa, kao glavnog pokazatelja ekološkog stanja temelji se na konceptu jedinstvene kontinuirane skale ekološke kvalitete u rasponu 0-1 koja omogućava komparabilnosti rezultata ostvarenih različitim metodama.

Za prijelazne vode ekološko stanje nakon novelacije se procjenjuje na temelju visine AMBI indeksa, odnosno položaja odgovarajuće OEK vrijednosti unutar granica klasa koje obuhvaćaju/razdvajaju pet kategorija ekološkog stanja. S obzirom da se kategorizacija na temelju AMBI indeksa određuje na skali 0-7 (pri čemu najviša vrijednost ukazuje na najlošije stanje), a kategorizacija na razini M-AMBI OEK na skali 0-1 (pri čemu najviša vrijednost opisuje najbolje stanje), u cilju usporedivosti rezultata, vrijednosti AMBI indeksa je potrebno transformirati, odnosno preračunati na skalu 0-1 što se postiže primjenom sljedeće formule (Boon *et al.*, 2011):

$$EQR_{AMBI} = (7-AMBI)/7$$

Za priobalne vode ekološko stanje se procjenjuje na temelju visine M-AMBI indeksa, odnosno položaja odgovarajuće OEK vrijednosti unutar granica klasa koje obuhvaćaju/razdvajaju pet kategorija ekološkog stanja. Postupak izračuna M-AMBI indeksa se djelomično preklapa s prethodnom metodom, budući da je AMBI sastavni dio ovog multiparametarskog indeksa.

Metodologija za određivanje M-AMBI OEK na temelju sastava i bogatstva faune bentoskih beskralješnjaka u priobalnim vodama se zasniva na multivarijantnoj faktorskoj analizi (FA) i diskriminacijskoj analizi (DA) kojom se AMBI, Shannon-Wienerov indeks diverziteta (H') i indeks bogatstva vrsta (S) integriraju u novi multimetrički indeks M-AMBI. M-AMBI se očitava

na kontinuiranoj skali od 0 do 1 pri čemu vrijednosti bliže nuli označavaju loš, a vrijednosti bliže jedinici vrlo dobar ekološki status. Zahvaljujući razvoju i dostupnosti aplikacijskog software-a primjena M-AMBI koncepta je brza i jednostavna, a veliku prednost korištenju ovog modela daje baza od više tisuća vrsta bentoskih beskralježnjaka koja se stalno dopunjuje i po potrebi revidira. Novi model je u samom startu naišao na široku primjenu u procjeni ekološkog stanja prijelaznih i priobalnih voda u zemljama članicama EU i postao jedna od ključnih metoda interkalibracijske radne grupe za praćenje kvalitete ekološkog stanja na područjima na kojima je započeta implementacija ODV (Muxika i sur., 2007). Budući da je M-AMBI indeks razvijen upravo za procjenu ES u sklopu ODV i kreće se u rasponu 0-1, vrijednosti tog indeksa su ujedno i OEK vrijednosti klasifikacijske sheme, te ih nije potrebno preračunavati.

## 4. ZAKLJUČCI

Na temelju analize pritisaka, testiranih u skladu sa smjernicama ODV na šestogodišnjem setu podataka (2012.-2017.), ocjenjene su i revidirane klasifikacijske metode za makrozoobentos u prijelaznim i priobalnim vodama RH. Izvršena je novelacija klasifikacijskih metoda.

Prijelazne vode izložene su utjecaju prirodnih i antropogenih čimbenika, čije je razlučivanje (primjenom postojeće metodologije) veoma teško i često neprikladno.

M-AMBI indeks u prijelaznim vodama nije dao zadovoljavajući odgovor na pritiske općeg tipa, pa se u slučaju prijelaznih voda predlaže njegova zamjena AMBI indeksom, koji se u prijelaznim vodama RH (estuariji slanog klina) pokazao prikladnijom i primjerenijom metrikom od ranije korištenog M-AMBI indeksa.

Razvijene su klasifikacijske metode za makrozoobentos u prijelaznim i priobalnim vodama RH, uključujući uvođenje zamjenskog pokazatelja za ocjenu ekološkog stanja u prijelaznim vodama, te noveliranje referentnih uvjeta i granice klasa u prijelaznim i priobalnim vodama RH.

Na temelju provedenih analiza  $OEK_{AMBI}$  se može smatrati pogodnom metrikom za određivanje ekološkog stanja, a „z“ pogodnom metrikom za određivanje pritisaka u modulu opće degradacije na području prijelaznih voda u RH.

$OEK_{M-AMBI}$  se može smatrati pogodnom metrikom za određivanje ekološkog stanja, a modificirani LUSI indeks pogodnom metrikom za određivanje pritisaka u modulu opće degradacije na području priobalnih voda u RH.

Kriterij za selekciju referentnih postaja u prijelaznim i priobalnim vodama: postojeći uvjeti najbliži prirodnim uvjetima, mali antropogeni utjecaj - koncentracija nutrijenata, klorofila a i zasićenje pridnene vode kisikom za pojedini element kakvoće odgovaraju uvjetima Vro dobrog stanja.

Određene su 2 referentne postaje u prijelaznim vodama:  $OEK_{AMBI} \geq 80$ , EG I brojčano dominantni, EG II i EG III subdominantni, EG IV i EG V nisu prisutni ili su malobrojni.

Određeno je 6 referentnih postaja u priobalnim vodama:  $OEK_{M-AMBI} \geq 82$ , EG I i EG II > 70%, EG II < 25%, EG IV i EG V nisu prisutni ili su malobrojni.  $S > 40$ ,  $H > 4.5$ .

Predlažu se revidirane granice klasa za ocjenu ekološkog stanja u prijelaznim vodama RH korištenjem biološkog elementa kakvoće bentoski beskralješnjaci:

Vrlo dobro/Dobro	$H/G=0.80$
Dobro/Umjereno	$G/M=0.60$
Umjereno/Loše	$M/B=0.40$
Loše/Vrlo loše	$B/P=0.20$

Predlažu se revidirane granice klasa za ocjenu ekološkog stanja u priobalnim vodama RH korištenjem biološkog elementa kakvoće bentoski beskralješnjaci:

Vrlo dobro/Dobro	$H/G=0.82$
Dobro/Umjereno	$G/M=0.62$
Umjereno/Loše	$M/B=0.41$
Loše/Vrlo loše	$B/P=0.20$

## 5. LITERATURA

Barnich, R., Fiege, D. (2003). Abhandlungen der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft Band 559. The Aphroditoidea (Annelida: Polychaeta) of the Mediterranean Sea. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchh, Frankfurt am Main. 167 str.

Bianchi, C. N. (1981). Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque lagunari e costiere italiane. AQ/1/96. 5. Policheti serpuloidi. Consiglio Nazionale delle ricerche, Genova. 187 str.

Böggemann, M. (2002). Abhandlungen der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft. Revision of Glyceridae Grube, 1850 (Annelida: Polychaeta). E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchh, Frankfurt am Main. 249 str.

Boon, A.R., et al., Van Loon W.M.G.M., Gittenberger, A. (2011). Review of Marine Benthic Indicators and Metrics for the WFD and design of an optimized BEQI. *Deltares*, 1-57.

Borja, A., Franco, J., Pérez, V. (2000). A marine biotic index to establish the ecological quality of soft bottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Marine Pollution Bulletin*, 40(12): 1100-1114.

Borja, A., Muxika, I., Franco, J. (2003). The application of a Marine Biotic Index to different impact sources affecting soft-bottom benthic communities along European coasts. *Mar. Poll. Bull.*, 46: 835-846.

Borja, A., Franco, J., Valencia, V., Bald, J., Muxika, I., Belzunce, M.J., Solaun, O. (2004). Implementation of the European Water Framework Directive from the Basque Country (northern Spain): a methodological approach, *Marine Pollution Bulletin*, 48(3-4): 209-218.

Borja, A., Muxika, I. (2005). Guidelines for the use of AMBI (AZTI's Marine Biotic Index) in the assessment of the benthic ecological quality. *Marine Pollution Bulletin*, (7):787-9.

Borja, Á., Mader, J., Muxika I. (2012). Instructions for the use of the AMBI index software (Version 5.0). *Revista de Investigación Marina, AZTI-Tecnalia*, 19(3): 71-82

Carrera-Parra, L. F. (2006). Revision of Lumbrineris de Blainville, 1828 (Polychaeta: Lumbrineridae). *Zootaxa* 1336, 1-64.

Castelli, A., Lardicci, C., Tagliapietra, D. (2003). Il Macrobenthos di fondo molle. In: Gambi, M.C. M. Dapiano (eds.): *Manuale di metodologie di campionamento e Studio del benthos marino mediterraneo*. *Biol. Mar. Medit.*, 10: 109-145.

Dauvin, J.C., Ruellet, T. (2007). Polychaete/amphipod ratio revisited. *Marine Pollution Bulletin*, (55):215-224.

Dauvin, J.C., Ruellet, T. (2009). The estuarine quality paradox: Is it possible to define an ecological quality status for specific modified and naturally stressed estuarine ecosystems? *Mar. Pollut. Bull.*, 59: 38-47.

Eleftheriou, A., Holme, A.N. (1984). Macrofauna techniques. In: Holme, N.A. & A.D. McIntyre (eds.): *Methods for study of marine benthos*. Blackwell Scientific Publications, London, 140-216.

EC (2000). Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. Off J Eur Communities 43, 1-72.

EC (2002). European Communities Common implementation strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC); WFD CIS Guidance Document No. 6, Towards a Guidance on establishment of the intercalibration network and the process on the intercalibration exercise

EC (2003a). European Communities Common implementation strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC); WFD CIS Guidance Document No. 5, Transitional and Coastal Waters Typology, Reference Conditions and Classification Systems.

EC (2003b). European Communities Common implementation strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC); WFD CIS Guidance Document No. 3, Analysis of Pressures and Impacts, 145 str.

EC (2005). Common implementation strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC) Guidance Document No. 14, Guidance on the intercalibration process 2004-2006, 26 str.

EC (2009). Water Framework Directive Intercalibration Technical Report Part 3: coastal and transitional waters . A. Carletti, A.S. Heiskanen (Eds.), OPOCE, European Commission Joint Research Centre Institute for Environment and Sustainability, Fermi, Italy, 240 str.

EC (2013). Intercalibration of biological elements for transitional and coastal water bodies 2013. Guidance Document No. 30.

EC (2018). Odluka komisije o utvrđivanju, u skladu s Direktivom 2000/60/EZ Europskog parlamenta i Vijeća, vrijednosti za klasifikaciju sustava praćenja u državama članicama kao rezultat postupka interkalibracije i stavljanju izvan snage Odluke 2013/480EU. Annex 1.

Fauchald, K. (1977). The Polychaete Worms: definition and Keys to the Orders, Families and Genera. Natural History Museum Los Angeles County (Science series) 28, 1-188.

Fauvel, P. (1923). Faune de France 5. Polychetes errantes. Paul Lechevalier, Paris. 488 str.

Fauvel, P. (1927). Faune de France 16. Polychetes sedentaires. Paul Lechevalier, Paris. 494 str.

Flo, E., Camp, J., Garcés, E., 2011. Assessment pressure methodology: land uses simplified index (LUSI) BQE Phytoplankton, Work document (MedGIG meeting, Rome), Apain, Catalonia.

Gomez-Gesteira, J.L., Dauvin, J.C. (2000). Amphipods are good bioindicators of impact of oil spills on soft-bottom macrobenthic community. Marine Pollution Bulletin,40:1017-1027.

Hrvatske vode (2015). Metodologija uzorkovanja, laboratorijskih analiza i određivanja omjera ekološke kakvoće, 237 str.

Hrvatske vode (2016). Plan upravljanja vodnim područjima 2016.-2021, 550 str.



Kušpilić, G., Grbec, B., Morović, M., Matić, F., Ninčević-Gladan, Ž., Antolić, B., Grubelić, I., Nikolić, V., Despalatović, M., Matić Skoko, S., Dulčić, J., Bogner, D., Dadić, V. (2006.). Prijedlog tipova prijelaznih i priobalnih voda na vodnom području dalmatinskih slivova, referentni uvjeti i procjena ekološkog stanja prijelaznih i priobalnih voda rijeke Krke i šibenskog primorja. IOR, Split.

Kušpilić, G., Precali, R., Grbec, B., Morović, M., Ninčević-Gladan, Ž., Nikolić, V., Despalatović, M., Travizi, A., Iveša, Lj., Matić Skoko, S., Dulčić, J., Bogner, D., Dadić, V. (2011a). Karakterizacija područja i izrada prijedloga programa i provedba monitoringa stanja voda u prijelaznim i priobalnim vodama Jadranskog mora prema zahtjevima Okvirne direktive o vodama (2000/60/EC). Dio prvi: Karakterizacija područja i izrada prijedloga programa monitoringa. IOR, Split; IRB, CIM, Rovinj.

Kušpilić, G., Precali, R., Grbec, B., Morović, M., Ninčević-Gladan, Ž., Nikolić, V., Despalatović, M., Travizi, A., Iveša, Lj., Matić Skoko, S., Dulčić, J., Bogner, D., Dadić, V. (2011b). Karakterizacija područja i izrada prijedloga programa i provedba monitoringa stanja voda u prijelaznim i priobalnim vodama Jadranskog mora prema zahtjevima Okvirne direktive o vodama (2000/60/EC). Dio drugi: Rezultati monitoringa kemijskog i ekološkog stanja u vodnim tijelima prijelaznih i priobalnih voda uz procjenu njihovog hidromorfološkog stanja, IOR, Split; IRB, CIM, Rovinj.

Kušpilić, G. i sur. (2013). Sustavno ispitivanje kakvoće prijelaznih i priobalnih voda u 2012. i 2013. godini. Institut za oceanografiju i ribarstvo Split; Institut Ruđer Bošković, Centar za istraživanje mora, Rovinj (2013). IOR, Split, 358. str.

Kušpilić, G. i sur. (2015). Praćenje stanja prijelaznih i priobalnih voda u 2014. i 2015. godini. Rezultati istraživanja ekološkog i kemijskog stanja prijelaznih i priobalnih voda, Institut za oceanografiju i ribarstvo, Institut Ruđer Bošković, Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasser, IOR, Split, 702 str.

Kušpilić, G., Cvitković, I., Dadić, V., Despalatović, M., Dulčić, J., Grbec, B., Grubišić, L., Krstulović, N., Matić, S., Matijević, S., Marasović, I., Ninčević Gladan, Ž., Šolić, M., Tudor, M., Žuljević, A. (2016). Novelacija karakterizacije prijelaznih i priobalnih voda. IOR, Split.

Laubier, L., Ramos, J. (1974). [cf. issue date 1973]: Paraonidae (Polychètes sédentaires) de Méditerranée. Bulletin du Muséum d'Histoire Naturelle, Paris, Ser. 3 113(168), 1097-1148.

Muxika, I., Á. Borja, J. Bald, 2007. Using historical data, expert judgement and multivariate analysis in assessing reference conditions and benthic ecological status, according to the European Water Framework Directive, Marine Pollution Bulletin, 55: 16-29.

Nikiforos, G. (2002). Fauna del Mediterraneo. Giunti Edizione, Firenze. 366 str.

NN 73/2013. Uredba o standardu kakvoće voda.

Nordsieck, F. (1969). Die europaischen Meeresmuscheln (Bivalvia). G. Fischer Verlag, Stuttgart. 256 str.

Parenzan, P. (1970). Carta d'identità delle conchiglie del Mediterraneo. Vol 1. Gasteropodi. Ed. Bios Taras, Taranto. 285 str.

Parenzan, P. (1974). Carta d'identità delle conchiglie del Mediterraneo. Vol 2. Bivalvi I. Ed. Bios Taras, Taranto. 264 str.

Parenzan, P. (1976). Carta d'identità delle conchiglie del Mediterraneo. Vol. 2 Bivalvi II. Ed. Bios Taras, Taranto.

Pearson T.H., Rosenberg, R. (1977). Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanogr Mar Biol Ann Rev* 16: 229-311.

Pinedo, S., Jordana, E. (2008). Spain (Catalonia and Balearic Islands). p. 62-70. In: *Water Framework Directive Inter-calibration Technical Report. Part 3: Coastal and Transitional Waters*. Carletti, A. & Heiskanen, A.-S. (Eds). JRC Scientific and Technical Reports.

Precali, R., Travizi, A., Iveša, Lj. Dulčić, J. Matić-Skoko S. (2008). Prijedlog tipova i referentnih uvjeta prijelaznih i ptiobalnih voda na vodnom području Primorsko-Istarskih slivova (TRU), IRB, CIM Rovinj, 98 str.

REFCOND, 2003. Guidance on establishing reference conditions and ecological status class boundaries for inland surface waters. Produced by Working Group 2.31 Reference conditions for inland surface (REFCOND), Common Implementation Strategy of the WaterFramework Directive, European Commission, 86 pp.

Riedel, R. (1991). *Fauna e Flora del Mediterraneo*. Franco Muzzio Editore, Padova. 777 str.

San Martín, G. (2003). *Fauna Ibérica*. Vol. 21. Annelida Polychaeta II: Syllidae. Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC, Madrid. 554. str.

Reisopoulou, S., Penna M, Boix, D., Buchet, R., Costas, N, Derolez, V, Gascon, S., Gifre, J., Martinoy, M., Prado, I., Quintana, X., Trabucco, B, Sala, J., Salas Herero F. (2018). Transitional waters Mediterranean Geographic Intercalibration Group. Benthic invertebrates fauna ecological assessment methods. EC JRC Technical Reports, 39 str.

Simboura, N., Zenetos, A. (2002). Benthic Indicators to Use in Ecological Quality Classification of Mediterranean Soft Bottom Marine Ecosystems, Including a Biotic Index. *Mediterranean Marine Science*, 3: 77-111.

Tebble, N. (1966). *British bivalve seashells. A handbook for identification*. Trustees of the British Museum (Natural History), London. 212 str.

Viéitez, J. M., Alos, C., Parapar, J., Besteiro, C., Moreira, J., Núñez, J., Laborda, A. J., San Martín, J. G. (2004). *Fauna Ibérica*, Vol. 25. Annelida, Polychaeta I. Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC, Madrid. 530 str.

#### **Mrežni izvori:**

<http://www.azti.es>

<http://bentixath.hcmr.gr>

## **DODATAK I.**

### **Popratne slike, tablice i terenski protokol**

#### Slike

Slika 1. Vodna tijela priobalnih voda Republike Hrvatske.

Slika 2. Vodna tijela prijelaznih voda Republike Hrvatske.

Slika 3. Postaje uzorkovanja BEK bentoski beskralješnjaci u prijelaznim i priobalnim vodama Republike Hrvatske (2012.-2017.)

Slika 4. Ušća rijeka i postaje uzorkovanja BEK BB u prijelaznim vodama Republike Hrvatske.

#### Tablice

Tablica 1. Pregled grupiranih vodnih tijela u području priobalnih voda (IOR,2016) s postajama uzorkovanja bentoskih beskralješnjaka u razdoblju 2012.-2017.

Tablica 2. Podaci o postajama u prijelaznim vodama.

Tablica 3. Pregled grupiranih vodnih tijela u području priobalnih voda s postajama uzorkovanja bentoskih beskralješnjaka u razdoblju 2012.-2017.

Tablica 4. Podaci o postajama u priobalnim vodama.

Tablica 5. Podaci o pritiscima u vodnim tijelima prijelaznih voda.

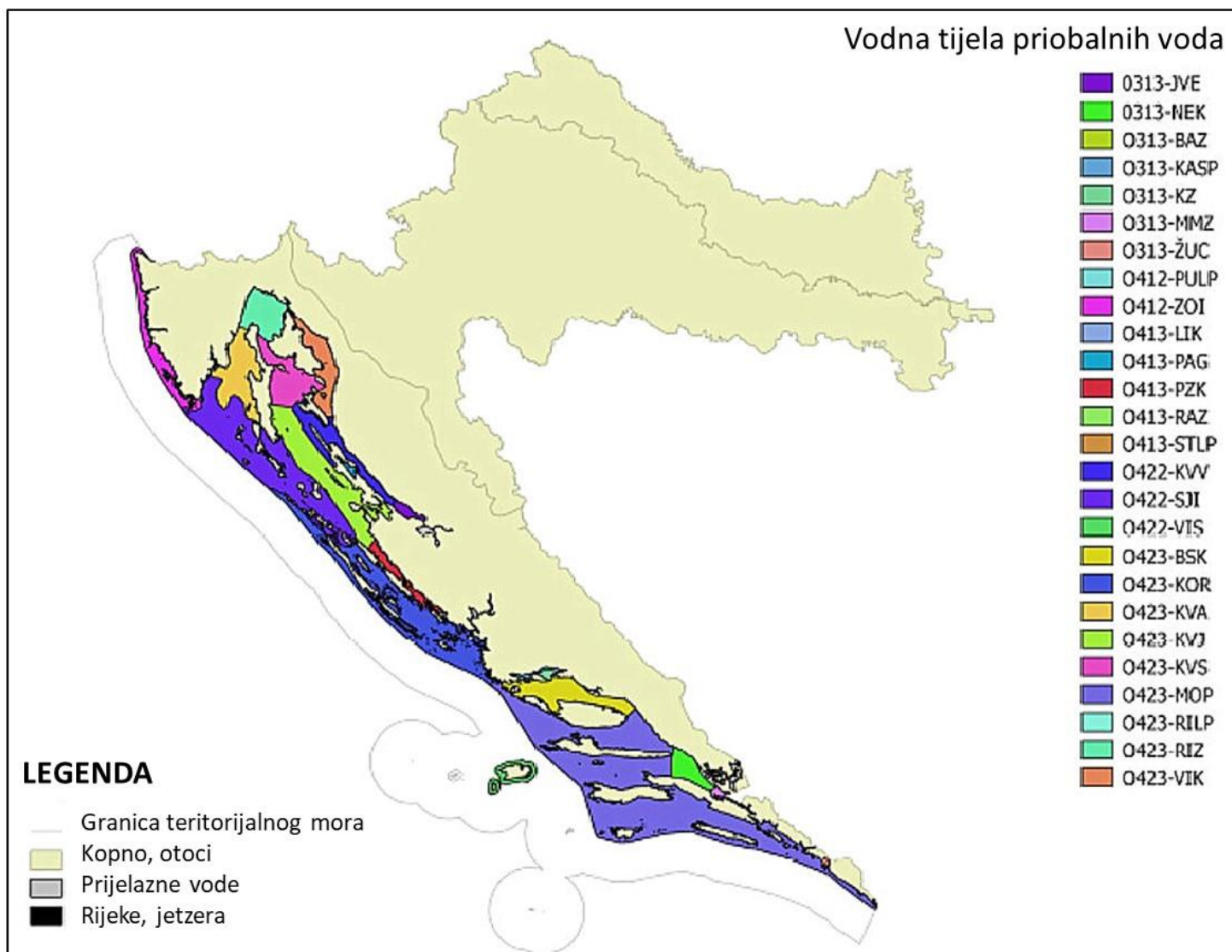
Tablica 6. Podaci o integriranim pritiscima u vodnim tijelima prijelaznih.

Tablica 7. Podaci o integriranim pritiscima u vodnim tijelima priobalnih voda, adaptirani LUSI indeks.

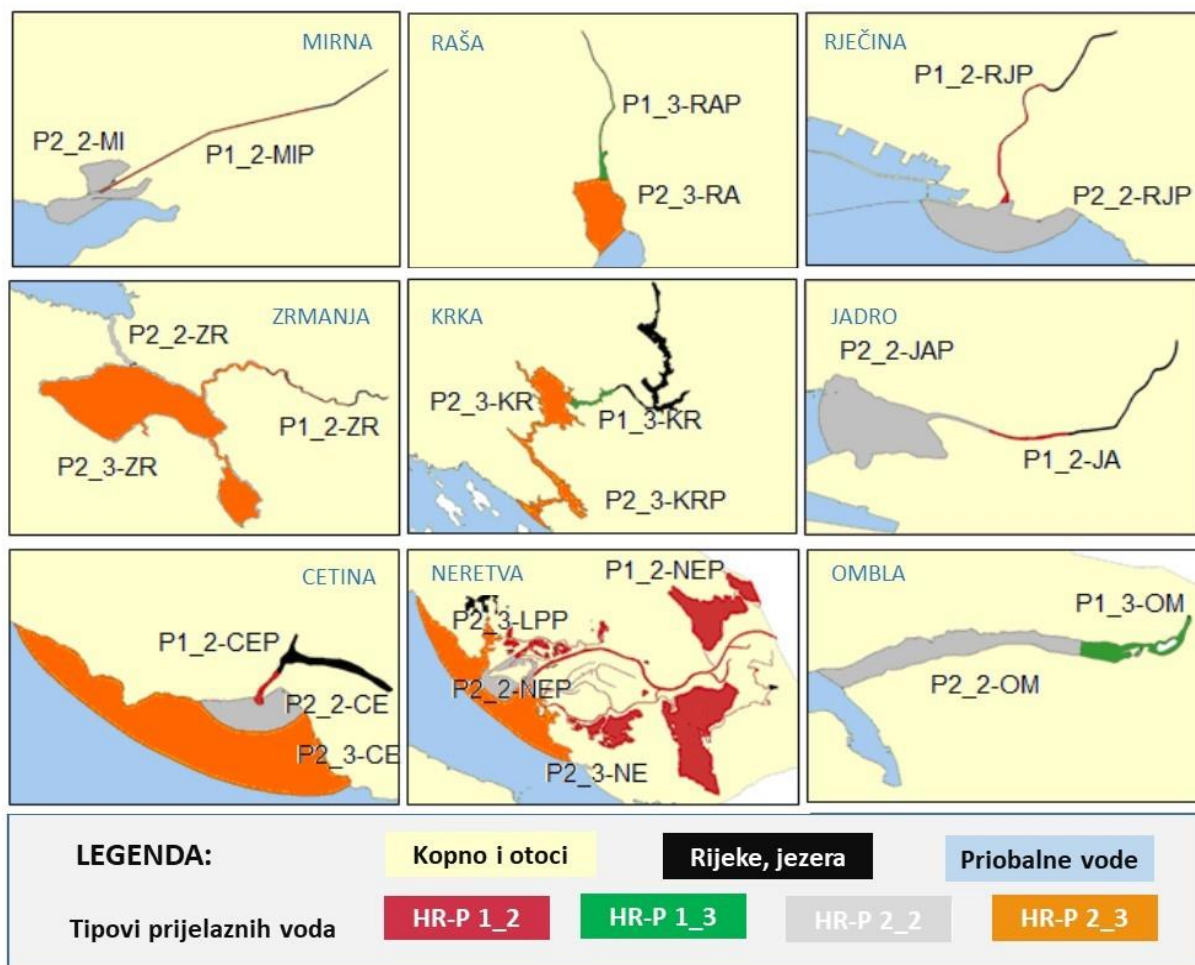
Tablica 8. Pregled metrika i ocjene ekološkog stanja primjenom BEK bentoski beskralješnjaci na postajama u Vodnim tijelima prijelaznih voda (2012.-2017.).

Tablica 9. Pregled metrika i ocjene ekološkog stanja primjenom BEK bentoski beskralješnjaci na postajama u Vodnim tijelima priobalnih voda (2012.-2017.).

Terenski protokol

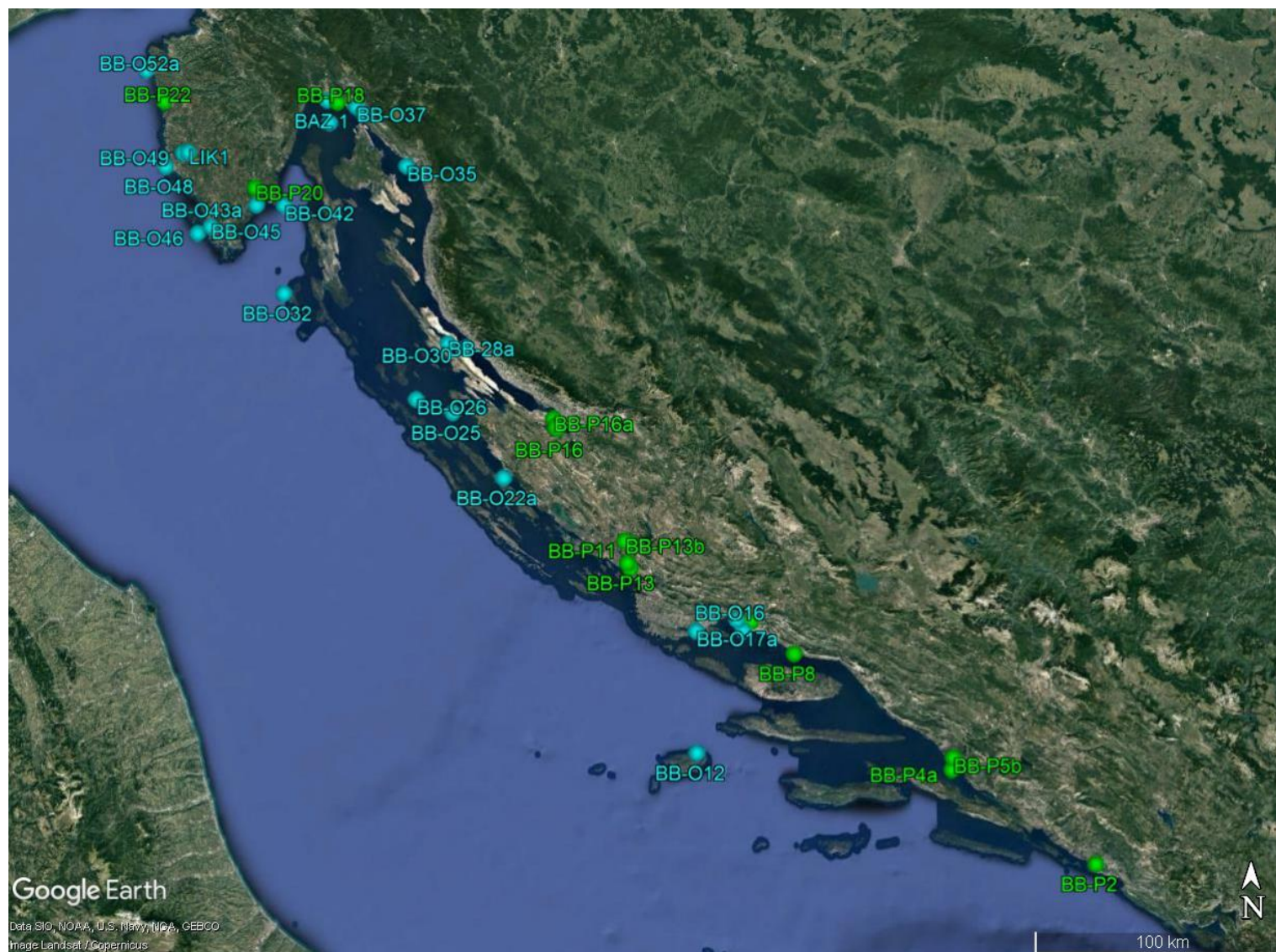


**Slika 1.** Vodna tijela priobalnih voda Republike Hrvatske (iz Kušpilić i sur., 2016).



**Slika 2.** Vodna tijela prijelaznih voda Republike Hrvatske (prema Kušpilić i sur., 2016).





**Slika 3.** Postaje uzorkovanja BEK bentoski beskralješnjaci u prijelaznim i priobalnim vodama Republike Hrvatske (2012.-2017).

**Tablica 1.** Pregled grupiranih vodnih tijela u području priobalnih voda s postajama uzorkovanja bentoskih beskralješnjaka u razdoblju 2012.-2017.

Oznaka tipa prijelazne vode	Oznaka vodnog tijela	Prijelazne vode	Postaje 2012-2013	Postaje 2014-2015	Postaje 2016-2017
HR-P1_2	P1_2-NEP	Neretve			
	P1_2-CEP	Cetine			
	P1_2-JA	Jadra			
	P1_2-ZR	Zrmanje			
	P1_2-RJP	Rječine			
	P1_2-MIP	Mirne			
	P1_2-DRP	Dragonje			
HR-P1_3	P1-3-OM	Ombles			
	<b>P1-3-KR</b>	Krke			BB-P11
	P1-3-RAP	Raše			
HR-P2_2	<b>P2_2-OM</b>	Ombles		BB-P2	
	<b>P2_2-NEP</b>	Neretve		BB-P4a	
	P2_2-CE	Cetine			
	<b>P2_2-JAP</b>	Jadra		BB-P10a	BB-P10a
	<b>P2_2-ZR</b>	Zrmanje			BB-P16a
	<b>P2_2-RJP</b>	Rječine	BB-P18		BB-P18
	<b>P2_2-MI</b>	Mirne			BB-P22
	P2_2-DR	Dragonje			
HR-P2_2	P2_3-NE	Neretve			
	<b>P2_3-LPP</b>	Neretve		BB-P5b	BB-P5b
	<b>P2_3-CE</b>	Cetine		BB-P8	
	<b>P2_3-KRP</b>	Krke			BB-P13
	<b>P2_3-KR</b>	Krke		BB-P13b	Bb-P13b
	<b>P2_3-ZR</b>	Zrmanje			BB-P16
	<b>P2_3-RA</b>	Raše			BB-P20

**Tablica 2.** Podaci o postajama u prijelaznim vodama.

CIKLUS UZORKOVANJA	TIP VODE	VODNO TIJELO	POSTAJA	ŠIFRA	KOORDINATE		DUBINA
2012./2013.	P 2_2	P2_2-RJP	BBP18	66002	45,3190	14,4478	31
2014./2015.	P 2_3	P2_3CE	BBP8	62003	43,4239	16,6735	59
2014./2015.	P 2_2	P2_2NEP	BB P4a	61002	43,0148	17,4180	24
2014./2015.	P 2_3	P2_3LPP	BB P5b	61006	43,0561	17,4248	13
2014./2015.	P 2_2	P2_2OM	BBP2	60002	42,6724	18,0977	20
2014./2015.	P 2_2	P2_2JAP	BBP10a	63003	43,5359	16,4689	13
2014./2015.	P 2_3	P2_3KR	BBP13b	64004	43,8127	15,8694	18
2016./2017.	P 2_3	P2_3-LPP	BB P5b	61006	43,0561	17,4248	13
2016./2017.	P 2_2	P2_2-JAP	BBP10a	63003	43,5359	16,4689	13
2016./2017.	P 1_3	P1_3-KR	BBP11	64001	43,8064	15,8959	12
2016./2017.	P 2_3	P2_3-KRP	BBP13	64002	43,7372	15,8822	38
2016./2017.	P 2_3	P2_3-KR	BBP13b	64206	43,8128	15,8694	18
2016./2017.	P 2_3	P2_3-ZR	BBP16	65003	44,2031	15,5423	30
2016./2017.	P 2_2	P2_2-ZR	BBP16a	65002	44,2321	15,5254	27
2016./2017.	P 2_2	P2_2-MI	BBP22	68002	45,3111	13,5858	2,5
2016./2017.	P 2_2	P2_2-RJP	BBP18	66002	45,3190	14,4478	31
2016./2017.	P 2_3	P2_3-RA	BBP20	67002	45,0166	14,0526	14





Slika 4. Ušća rijeka i postaje uzorkovanja BEK BB u prijelaznim vodama Republike Hrvatske.

**Tablica 3.** Pregled grupiranih vodnih tijela u području priobalnih voda s postajama uzorkovanja bentoskih beskralješnjaka u razdoblju 2012.-2017.

Oznaka tipa prijelazne vode	Oznaka vodnog tijela	2012.-'13.	2014.-'15.	2016.-'17.
HR-O313	<b>O313-BAZ</b>	BB-BAZ1	BB-O37	
	O313-JVE *			
	O313-KZ			
	<b>O313-KASP</b>	BB-O15a		BB-O17a
	O313-NEK			
	O313-MMZ			
	O313-MZ			
HR-O412	<b>O412-ZOI</b>		BB-O48 BBO-52A BB-O46	
	<b>O412-PULP</b>		BB-O45	
HR-O413	<b>O413-LIK</b>	BB-LIK1	BB-O49	
	<b>O413-RAZ</b>		BB-O43a	
	<b>O413-PAG</b>			BB-028a
	<b>O413-PZK</b>			BB-O22a
	<b>O413-STLP</b>	BB-O16		BB-O15a
HR-O422	<b>O422-SJI</b>			BB-O26 BB-O32
	<b>O422-KVV</b>			BB-O30
	<b>O422-VIS</b>			BB-012
HR-O423	<b>O423-KVA</b>			BB-042
	<b>O423-RIZ</b>		BB-O39	
	<b>O423-RILP</b>		BB-O38	BB-O38
	<b>O423-VIK</b>			BB-035
	O423-KVS			
	<b>O423-KVJ</b>			BB-O25
	O423-KOR			
	O423-BSK			
O423-MOP				

**Tablica 4.** Podaci o postajama u priobalnim vodama.

CIKLUS UZORKOVANJA	TIP VODE	VODNO TIJELO	POSTAJA	ŠIFRA	KOORDINATE		DUBINA
2012./2013.	O313	O313-KASP	BBO16	65002	44,2031	15,5423	30
2012./2013.	O423	O423-RILP	BBO38	70131	45,3256	14,4084	57
2012./2013.	O413	O413-STLP	BBO15a	70071	43,5032	16,4338	12
2012./2013.	O413	O413-LIK	LIK1	70022	45,1362	13,7155	19
2012./2013.	O313	O313-BAZ	BAZ1	70043	45,2814	14,5771	27
2014./2015.	O423	O423-RILP	BBO38	70131	45,3256	14,4084	57
2014./2015.	O423	O423-RIZ	BBO39	70121	45,2465	14,4120	64
2014./2015.	O413	O413-RAZ	BBO43a	70031	44,9563	14,0619	43
2014./2015.	O412	O412-PULP	BBO45	70011	44,8787	13,8403	12
2014./2015.	O412	O412-ZOI	BBO46	70003	44,8545	13,7763	47
2014./2015.	O412	O412-ZOI2	BBO48	70001	45,0835	13,6052	29
2014./2015.	O413	O413-LIK	BBO49	70021	45,1328	13,6896	27
2014./2015.	O313	O313-BAZ	BBO37	70041	45,3036	14,5412	27
2014./2015.	O412	O412-ZOI	BBO52a	70002	45,4189	13,4888	28
2016./2017.	O413	O413-STLP	BBO15a	70071	43,5032	16,4338	12
2016./2017.	O313	O313-KASP	BBO17a	70201	43,5034	16,2083	44
2016./2017.	O413	O413-PAG	BBO28a	70051	44,4874	15,0121	49
2016./2017.	O413	O413-PZK	BBO22a	70061	44,0274	15,2882	25
2016./2017.	O422	O422-SJI	BBO26	70082	44,2944	14,8630	46
2016./2017.	O422	O422-SJI	BBO32	70082	44,6518	14,2102	49
2016./2017.	O422	O422-KVV	BBO30	70091	44,4749	15,0986	71
2016./2017.	O422	O422-VIS	BBO12	70101	43,0831	16,2119	71
2016./2017.	O423	O423-KVA	BBO42	70111	44,9565	14,1987	52
2016./2017.	O423	O423-VIK	BBO35	70141	45,0998	14,7953	60
2016./2017.	O423	O423-KVJ	BBO25	70151	44,2499	15,0403	57

**Tablica 5.** Podaci o pritiscima u vodnim tijelima prijelaznih voda (iz Kušpilić i sur., 2016).

Oznaka vodnog tijela	Izvori	BPK	Ukupni dušik	Ukupno fosfor	Kadmij	Bakar	Živa	Olovo	Nikal	Cink	Antracen	Fluoranten
P1-3-KR	točkasti	154,545	47,527	13,634	0,00046	0,04466	0,00012	0,00719	0,00797	0,07033	0,000005	0,00003
	difuzni	-	1,282	0,298	0,003	0,00411	0,00002	0,00001	0,00032	0,00020	0	0,00001
P2_2-OM	točkasti	1876,546	0	0	0	0	0	0	0	0,08032	0	0
	difuzni	-	4,121	0,960	0,008	0,01320	0,00006	0,00002	0,00101	0,00064	0,000001	0,000032
P2_2-NEP	točkasti	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	difuzni	-	5,139	1,197	0,01	0,01646	0,00008	0,00003	0,00126	0,0008	0,000001	0,00004
P2_2-JAP	točkasti	65,693	0	0	0	0	0	0,02706	0	0	0	0
	difuzni	-	27,183	6,33	0,055	0,08708	0,00042	0,00015	0,00669	0,00423	0,000006	0,000212
P2_2-ZR	točkasti	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	difuzni	-	0,186	0,043	0	0,00060	0	0	0,00005	0,00003	0	0,000001
P2_2-RJP	točkasti	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	difuzni	-	24,263	5,650	0,049	0,07773	0,00038	0,00014	0,00597	0,00378	0,000005	0,000189
P2_2-MI	točkasti	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	difuzni	-	1,779	0,414	0,004	0,00570	0,00003	0,00001	0,00044	0,00028	0	0,000014
P2_3-LPP	točkasti	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	difuzni	-	5,014	1,168	0,010	0,01606	0,00008	0,00003	0,00123	0,00078	0,000001	0,000039
P2_3-CE	točkasti	172,221	24,366	5,924	0,00038	0,04961	0,00014	0,00599	0,00379	0,07806	0,000005	0,000190
	difuzni	-	13,484	3,14	0,027	0,0432	0,00021	0,00008	0,00332	0,0021	0,000003	0,000105
P2_3-KRP	točkasti	19,002	0	0,546	0	0	0	0,00063	0	0,12312	0	0
	difuzni	-	13,959	3,251	0,028	0,04472	0,00022	0,00008	0,00343	0,00217	0,000003	0,000109
P2_3-KR	točkasti	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	difuzni	-	26,332	6,132	0,054	0,08436	0,00041	0,00015	0,00648	0,0041	0,000006	0,000205
P2_3-ZR	točkasti	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	difuzni	-	17,801	4,145	0,036	0,05703	0,00028	0,00010	0,00438	0,00277	0,000004	0,000139
P2_3-RA	točkasti	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	difuzni	-	1,160	0,27	0,002	0,00372	0,00002	0,00001	0,00029	0,00018	0	0,000009



**Tablica 6.** Podaci o integriranim pritiscima u vodnim tijelima prijelaznih voda (iz Kušpilić i sur., 2016).

Oznaka vodnog tijela	LUSI	Intenzitet brodskog prometa	Alohtone, štetne i invazivne vrste	Marikultura dušik	Marikultura fosfor	Ribarstvo	Hidromorfološka opterećenja	Objedinjeni pritisci (z)
P1-3-KR	2,8	1,45	2	0	0	0	0	
P2_2-OM	4,2	2,35	2	0	0	0	0	-0,183
P2_2-NEP	7,0	1,18	2	0	0	0	1	0,230
P2_2-JAP	7,0	3,35	2	0	0	0	1	0,778
P2_2-ZR	2,8	1,00	2	0	0	0	0	-0,255
P2_2-RJP	7,0	2,70	2	3,814	0	0	1	0,348
P2_2-MI	2,8	1,30	2	0	0	0	0	-0,278
P2_3-LPP	5,6	2,13	2	0	0	0	1	0,296
P2_3-CE	2,4	1,00	2	0	0	0	0	-0,275
P2_3-KRP	1,4	3,55	2	0	0	0	1	0,402
P2_3-KR	2,8	1,51	2	28,682	3,991	0	0	0,596
P2_3-ZR	2,8	1,00	2	0	0	0	0	-0,134
P2_3-RA	1,4	1,10	2	0	0	0	0	-0,349

**Tablica 7.** Podaci o integriranim pritiscima u vodnim tijelima priobalnih voda, adaptirani LUSI indeks. Dodatni pritisci u adaptiranom integriranom indeksu su naznačeni tiskanim slovima.

VODNO TIJELO / PRITISCI	URBANI	POLJOPRIVREDNI	INDUSTRIJSKI	LUČKI	Sniženi salinitet	Marikultura	Kanalska područja	Susjedna područja	Σ LUSI
O313-BAZ	1	0	1	1	1	0	0	0	4
O313-KASP	1	1	0	0	1	0	0	0	3
O412-ZOI	1	0	0	0	0	0	0	0	1
O412-PULP	2	0	0	1	0	0	0	0	3
O413-LIK	0	1	0	0	0	1	0	0	2
O413-RAZ	0	1	0	1	0	0	0	0	2
O413-PAG	1	2	0	0	0	0	0	0	3
O413-PZK	1	1	0	0	0	0	1	0	3
O413-STLP	3	0	0	1	0	0	0	0	4
O422-SJI	0	1	0	0	0	0	0	0	1
O422-KVV	0	2	0	0	0	0	0	0	2
O422-VIS	1	1	0	0	0	0	0	0	2
O423-KVA	0	1	0	0	0	0	0	0	1
O423-RIZ	1	0	0	1	0	0	0	1	3
O423-RILP	3	0	0	2	0	0	0	0	5
O423-VIK	1	1	0	0	0	0	1	0	3
O423-KVJ	1	1	0	0	0	0	0	0	2

**Tablica 8.** Pregled metrika i ocjene ekološkog stanja primjenom BEK bentoski beskraljješnjaci na postajama u Vodnim tijelima prijelaznih voda (2012.-2017.).

VODNO TIJELO	POSTAJA	EG I	EG II	EG III	EG IV	EG V	b.o.	AMBI	OEK <sub>AMBI</sub>	EKOLOŠKO STANJE
P2_2-RJP	BB-P18	29.9	27.6	31.1	11,4	0	0.2.	1.861	0,734	DOBRO
P2_3CE	BB-P8	35.8	35.0	19.5	9.8	0	2.4	1.549	0,779	DOBRO
P2_2NEP	BB-P4a	23.8	19.8	31.0	24.6	0.8	2.3	2.381	0.660	DOBRO
P2_3LPP	BB-P5b	41.0	15.9	23.1	20.0	0	6.3	1.831	0.738	DOBRO
P2_2OM	BB-P2	71.2	11.9	10.2	6.8	0	0	0.788	0.887	VRLO DOBRO
P2_2JAP	BB-P10a	15.7	11.0	18.9	31.0	23.5	13.7	3.534	0.495	UMJERENO
P2_3KR	BB-P13b	25.7	66.0	5.9	2,1	0.2	1.2	1.277	0.818	VRLO DOBRO
P2_3-LPP	BB-P5b	56.9	12.1	22.8	7.5	0.7	3.6	1.254	0.822	VRLO DOBRO
P2_2-JAP	BB-P10a	17.2	22.9	13.3	12.5	34.4	1.8	3.355	0.521	UMJERENO
P1_3-KR	BB-P11	32.9	35.4	19.5	6.9	5.3	9.2	1.744	0.751	DOBRO
P2_3-KRP	BB-P13	16.9	42.4	16.9	23.7	0	10.6	2.212	0.684	DOBRO
P2_3-KR	BB-P13b	45.4	28.1	17.8	8.6	0	4.6	1.346	0.808	VRLO DOBRO
P2_3-ZR	BB-P16	26.4	41.3	6.6	25.6	0	7.6	1.971	0.718	DOBRO
P2_2-ZR	BB-P16a	52.1	40.8	6.2	0.9	0.1	6.9	0.842	0.880	VRLO DOBRO
P2_2-MI	BB-P22	52.0	14.8	16.3	0.7	16.3	3.0	1719	0.754	DOBRO
P2_2-RJP	BB-P18	43.2	30.5	22.0	3,5	0.8	5.8	1.320	0.811	VRLO DOBRO
P2_3-RA	BB-P20	42.6	5.1	50.3	0.0	1.9	4.9	1.702	0.757	DOBRO

**Tablica 9.** Pregled metrika i ocjene ekološkog stanja primjenom BEK bentoski beskraljješnjaci na postajama u Vodnim tijelima priobalnih voda (2012.-2017.).

VODNO TIJELO	POSTAJA	EG I i EG II	EG III	EG IV i EG V	AMBI	S	H'	OEK <sub>M-AMBI</sub>	EKOLOŠKO STANJE
O313-KASP	BB-O16	63.9	8.4	18.6	1,943	79	5.36	0.75	DOBRO
O423-RILP	BB-O38	54.5	21.7	21.7	2.030	61	5.13	0.69	DOBRO
O413-STLP	BB-O15a	45.8	5.2	20.6	2.578	95	4.84	0.70	DOBRO
O413-LIK	LIK1	77.4	7.7	7.7	1.432	39	4.29	0.63	DOBRO
O313-BAZ	BAZ1	71.3	7.4	7.4	1.125	33	4.27	0.63	DOBRO
O423-RILP	BB-O38	62.6	32.5	4.9	2.850	25	3.74	0.58	UMJERENO
O423-RIZ	BB-O39	68.9	27.6	3.4	1.826	23	3.70	0.58	UMJERENO
O413-RAZ	BB-O43a	66.7	27.5	5.8	1.739	28	4,04	0.63	DOBRO
O412-PULP	BB-O45	93.8	3.3	2.9	0.494	42	3.61	0.74	DOBRO
O412-ZOI	BB-O46	76.0	23.9	0	1.234	68	5.43	0.87	VRLO DOBRO
O412-ZOI2	BB-O48	77.0	21.2	3.2	1.438	53	4.69	0.76	DOBRO
O413-LIK	BB-O49	76.8	17.9	5.4	1.045	20	3.87	0.64	DOBRO
O313-BAZ	BB-O37	91.1	7.6	1.4	0.424	20	1.87	0.55	UMJERENO
O412-ZOI	BB-O52a	90.8	8.1	1.2	0.769	84	4.87	0.91	VRLO DOBRO
O413-STLP	BB-O15a	44.7	30.6	24.8	2.796	67	4.60	0.67	DOBRO
O313-KASP	BB-O17a	84.9	12.8	2.3	1.273	27	4.02	0.65	DOBRO
O413-PAG	BB-28a	57.8	22.2	20.0	2.100	22	4.09	0.58	UMJERENO
O413-PZK	BB-O22a	57.7	27.5	14.8	2.028	50	4.83	0.92	VRLO DOBRO
O422-SJI	BB-O26	76.9	20.5	2.6	1.288	46	5.26	0.96	VRLO DOBRO
O422-SJI	BB-O32	80.6	15.3	4.1	1.332	44	5.04	0.95	VRLO DOBRO
O422-KVV	BB-O30	73.9	23.9	2.2	1.402	18	3.55	0.69	DOBRO
O422-VIS	BB-O12	78.2	18.8	3.1	1.547	15	3.49	0.66	DOBRO
O423-KVA	BB-O42	73.7	23.7	2.6	1.645	43	4.74	0.90	VRLO DOBRO
O423-VIK	BB-O35	68.2	18.2	13.6	2.08	17	3.75	0.65	DOBRO
O423-KVJ	BB-O25	66.7	22.2	11.1	1.738	29	4.62	0.81	DOBRO



## TERENSKI PROTOKOL

Terenski protokol za uzorkovanje makrozoobentosa u prijelaznim vodama treba sadržavati:

- broj protokola
- fotografiju uzoraka prikupljenih grabilom
- opis mjesta uzorkovanja
- podatke o postaji
  - tip staništa (NKS šifra),
  - ime tipa površinske vode (šifra tipa),
  - šifra i naziv vodnog tijela,
  - naziv mjerne postaje (šifra mjerne postaje),
  - dubina postaje,
  - koordinate mjerne postaje (geografska širina i dužina)
- slivno područje: lokalitet
- datum uzorkovanja
- ime i prezime osobe koja je uzorkovala
- osobe koje su obavile terensku separaciju
- uzorkovanje, ispiranje, separacija makrozoobentosa na 1 mm situ (terenske bilješke po potrebi)
- podatke o sedimentu:
  - vidljivi i mjerljivi znakovi redukcijskog procesa: crni sediment/sapropel, miris na H<sub>2</sub>S, ostale napomene
  - Redox potencijal u sedimentu (profil po cm u stupcu sedimenta, u mV):
    - sediment 0-1 cm
    - sediment 1-2 cm
    - sediment 2-3 cm
    - sediment 3-4 cm
    - sediment 4-5 cm
    - sediment 5-6 cm
    - sediment 6-7 cm
    - sediment 7-8 cm
    - sediment 8-9 cm
    - sediment 9-10 cm
- podaci o pridненоj vodi:
  - pomoćni fizikalno-kemijski pokazatelji: temperatura, salinitet, udio otopljenog kisika
  - onečišćenje (otpadne vode kućanstva, efluent uređaja za pročišćavanje, utjecaj poljoprivrede, industrijski ispusti, onečišćenje naftom i naftnim derivatima, platforme za eksploataciju nafte/plina, fizička degradacija staništa (koćarenje i sl.), utjecaj lučkog onečišćenja, prisutnost invazivnih makrofita, sumnja na iznenadno zagađenje, ostalo)
  - nema onečišćenja
- rukovanje uzorcima:
  - konzerviranje na terenu
  - bez konzerviranja
- pohrana uzoraka:
  - smještaj (prostor)
  - oznaka kontejnera
- ostala opažanja koja nisu obuhvaćena gore navedenim unijeti u rubriku napomene.

## DODATAK II

Izvešće Republike Hrvatske o klasifikacijskoj metodi za makrozoobentos u prijelaznim vodama (JRC format, originalna verzija na engleskom jeziku)

## 1. INTRODUCTION

- Member State; **Croatia**
- BQE; **Benthic invertebrates** (macroinvertebrates)
- Water body category (type) **Transitional water**

## 2. DESCRIPTION OF NATIONAL ASSESSMENT METHODS

MS has to provide the complete description of the method in the Annex. The main features should be given below.

The AZTI's Marine Biotic Index (**AMBI**) is classification method selected for the assessment on the Ecological Quality Status (**EQS**) in the Croatian transitional waters (**TW**). Index was proposed by Borja *et al.* (2000) to establish the ecological quality of soft-bottom macrozoobenthos within European estuarine and coastal environments. AMBI is derived from the proportions of individual abundance of species pooled in five functional ecological groups (**EG**) which are related to the degree of sensitivity/tolerance to an environmental stress gradient as follows: EG I sensitive species, EG II indifferent species, EG III tolerant species, EG IV 2<sup>nd</sup> rank opportunistic species and EG V 1<sup>st</sup> rank opportunistic species (Pearson and Rosenberg, 1977; Borja *et al.*, 2000).

AMBI is calculated according formula:

$$AMBI = \frac{[(0 \times \%GI) + (1,5 \times \%GII) + (3 \times \%GIII) + (4,5 \times \%GIV) + (6 \times \%GV)]}{100}$$

using freely available software: AMBI<sup>®</sup> V5.0 (AZTI' Marine Biotic Index software)

It has been validated and applied to different impact sources and geographical areas, demonstrating its usefulness as the indicator for general type disturbance (Borja *et al.*, 2000, 2004, Muxika *et al.*, 2007). Following requirements of Water Framework Directive (**WFD**), Muxika *et al.* (2007) proposed integration of AMBI with species richness (S) and Shannon-Wiener diversity index (H') into new multiparametric index M-AMBI, and proposed equivalent ranking for AMBI pollution classification to EQS<sub>M-AMBI</sub> classification. It is compliant to WFD normative definition of five EQS, that describe High (H), Good (G), Moderate (M), Poor (P) and Bad (B) status, following continuous distribution of M-AMBI<sub>EQR</sub> values on 0-1 scale (Table 2.1.).

AMBI was applied to dataset of benthic macronvertebrates obtained in transitional waters of Croatia. To achieve a compliance of EQR values derived by AMBI with Ecological Quality Ratio (**EQR**) prescribed by normative definitions of WFD, **EQR<sub>AMBI</sub>** values in the Croatian classification system were normalized to 0-1 scale.

Table 2.1. Summary of the AMBI values and their equivalences (after Borja *et al.*, 2000). The last column shows the proposed equivalent Ecological Status (WFD), proposed by Muxika *et al.*, 2007.

AMBI VALUES	DOMINATED EG	BENTHIC COMMUNITY HEALTH	SITE POLLUTION CLASSIFICATION	ECOLOGICAL STATUS
0.0 < BC ≤ 0.2	I	Normal	Unpolluted	<b>HIGH</b>
0.2 < BC ≤ 1.2	I	Impoverished		
1.2 < BC ≤ 3.3	III	Unbalanced	Slightly polluted	<b>GOOD</b>
3.3 < BC ≤ 4.3	IV-V	Transitional to pollution	Meanly polluted	<b>MODERATE</b>
4.3 < BC ≤ 5.0	IV-V	Polluted		
5.0 < BC ≤ 5.5	V	Transitional to heavily pollution	Heavily polluted	<b>POOR</b>
5.5 < BC ≤ 6.0	V	Heavily polluted		
Azoic (7.0)		Azoic	Extremely polluted	<b>BAD</b>

---

## 2.1. METHODS AND REQUIRED BQE PARAMETERS

---

Table 2.1.1. Overview of the metrics included in the national method - example given for phytoplankton. For other BQEs there will be other indicative parameters (see Table 1. Page 17, IC Guidance)

MS	Taxonomic composition	Abundance	Disturbance sensitive taxa
HR	Not in strict sense (only composition of 5 preclassified sensitivity classes)	Not in strict sense (only relative abundance of 5 preclassified sensitivity classes)	5 sensitivity classes

MS	Diversity	Taxa indicative of pollution	Combination rule of metrics
HR	no	Specific opportunistic species	no

Combination rule used in the method:

- No combination rule used in the method proposed.

The combination rule that includes Shannon–Wiener diversity ( $H'$ ) into multiparametric AMBI (M-AMBI) has been initially selected for the assessment of EQS using Biological Quality Element Benthic Invertebrates (**BQE BI**) in the Croatian transitional waters. However, statistical analyses performed on the increasing Croatian TW data set, find no significant response of  $H'$  to the Land based (**LUSI**) and Integrative pressure impacts (“z” index). The weak relationship between **M-AMBI** and pressures index could be related to intermediate disturbance in estuaries, which can influence diversity values. Therefore, AMBI index was found to be more appropriate classification method for assessment of EQS in this type of transitional water bodies.

Conclusion on the WFD compliance (are all the indicative parameters included; if not, why)

- Indicative parameters of diversity (Shannon–Wiener diversity index –  $H'$ ) is not included in the national method for assessment of EQS in transitional waters. The explanation is given in the paragraph above.

According suggestion of EC authorities, we tested AMBI with available pressure indices, and find statistically significant correlation between AMBI and integrative measure of pressure “z”.

Here, instead of M-AMBI, we suggest the use of AMBI as the classification method for the assessment of EQS using BQE BI in the Croatian transitional waters.

---

## 2.2. SAMPLING AND DATA PROCESSING

---

Description of sampling and data processing:

- **Sampling time and frequency;**

Sampling frequency for BQE BI is scheduled once in year, triennially, preferably in a warm season. Data set used in this study is obtained in 2012-2017 period. Sampling was conducted once (operational monitoring) or twice per site (surveillance monitoring), in summer 2012, 2014, 2015 and 2016, and the early autumn 2017.

It performed in all but one River Estuaries (**R.E.**) distributed along Croatian coast, i.e. Estuary of Mirna, Raša, Rječina, Zrmanja, Krka, Jadro, Cetina, Neretva and Ombla rivers. Dragonja River is too small and too shallow for sampling benthic invertebrates by standard and comparable device (Van Veen grab), so it cannot be sampled for analysis of (BQE BI).

Sampling in the transitional water included 13 sampling sites within 13 Water Bodies (**WB**) P2\_3 KRP, P2\_3CE, P2\_2NEP, P2\_3LPP, P2\_2OM, P2\_2JAP, P1\_3KR, P2\_3KR, P2-2ZR, P2-3ZR, P2\_2MI, P2\_2RJP, P2\_3RA (Fig. 2.2.2.). A few sites in WB P2\_3LPP (BB-P5b, Neretva R.E. - Port of Ploče), P2\_2 JAP (site BB-P10a, Jadro R.E.), P2\_3 KR (BB-P13b, central part of the Krka R.E.) and P2\_2 RJP (BB-P18, Rječina R.E) were sampled twice in biennial period, within surveillance monitoring. The other sampling sites in transitional waters were: BB-P22 (Mirna), BB-P20 (Raša), BB-P8 (Cetina), BB-P4a (Neretva), BB-P2 (Ombla), BB-P11 and BB-P13 (Krka), BB-P16 and BB-P16a (Zrmanja).

- **Sampling method;**

Sampling was performed from the Research vessel (using hydraulic winch) by Van Veen grab (0, 1 m<sup>2</sup>). At each site, four replicate grab samples were taken on each occasion. On the board, sediment from each single grab was rinsed with seawater and sieved through 1mm mesh size. Rough separation (invertebrates > 5mm) and fixation (70% ethanol) were performed on board - parallel with sieving. Sediment remained on the sieve was fixed in 4% formaldehyde sea-water solution, labelled and stored until the next step (final separation, invertebrates < 5mm). In the laboratory, all invertebrates were sorted and classified to higher taxa level (basic operational units of macrozoobenthos), counted (total census method) and fixed in 70% ethanol. Two predominant phyla (Annelida and Mollusca) were identified to species level. All organisms were stored if there is a possibility for afterward reliable determination of unidentified species.

- **Data processing;**

Data set contains all replicate samples of identified species and their absolute abundances. Prior to statistical analysis replicate data was pooled on the site level. At sites sampling twice, samples from each year were analysed separately. AMBI method is based on the relative abundance of species belonging to one of five functional groups, according species-specific sensitivity to pollution. Statistical analyses of data set was performed using by AMBI<sup>®</sup> V 5.0 AZTI's software and accompanying Guidance (Borja et al., 2005; 2012). Software provides an abundant database of BI, with its affiliation to one of five Ecological Groups (EG I - EG V) with different sensitivity/tolerance to disturbance. AMBI analysis and resulted in:

- percentage share of each single EG
- calculation of BI and AMBI index
- ranking equivalent to EQR values associated with five EQS continuously distributed on the 0-1 scale

AMBI classification describes seven categories of benthic communities health associated with corresponding range of Biotic index (**BI**) on the 0-7 scale. The scale comprises five site pollution classes, which indicate gradient from unpolluted to extremely polluted conditions (Table 2.1). To achieve a compliance of EQR values derived by AMBI with EQR prescribed by normative definitions of WFD, **EQR<sub>AMBI</sub>** have to be normalized to 0-1 scale. Normalization of AMBI metrics to 0-1 scale is obtained using formula (Boon *et al.*, 2011):

$$EQR_{AMBI} = (7-AMBI)/7$$

- **Identification level.**

Two predominant taxa (Annelida and Mollusca) mainly comprise >75% of total macrofauna and they are considered reliable indicators of environmental disturbance. Due to their high abundance, indicators' performance and reliability of identification, their identification should be sufficiently representative for

assessment of EQS using BEK BI. Here, we need to stress that reliable identification of benthic invertebrates on the species level is possible exclusively by taxonomic experts for particular higher taxa. Since all methods and results for assessment of EQS based on BQI BI are highly dependent on the reliability of species identification, and since due to global crisis of taxonomist very few state have available experts for all invertebrate Phyla, non-expert analysis can easily lead to misidentification. In lack of experts for less abundant Phyla, we are limited to incomplete but credible and suitable solution, to avoid the risk of misidentification. In other words, taxonomic level selected in this study offers an adequate confidence and precision in species classification.

---

### 2.3. NATIONAL REFERENCE CONDITIONS

---

According to WFD, the Reference Conditions (**RC**) for a type-specific Water Body (**WB**) are description of the biological elements which corresponds totally, or nearly totally, to undisturbed (= pristine) conditions, i.e. a marine environment with no, or with only a very minor impact from human activities. Compliant to WFD normative definitions, such conditions are associated with two upper classes (High and Good) of the Ecological Quality Status (EQS) (EC, 2003a).

The WFD identifies four main options for deriving reference conditions: 1) comparison with an existing 'pristine'/undisturbed site (or a site with minor disturbance), 2) historical data and information, 3) models and 4) expert judgement. The alternative choice is certain combination of above-mentioned options (EC 2003a, 2003b).

In the initial phase of WFD implementation, reference condition in Croatian transitional waters were selected using historical data/information, corresponded to totally and/or near-totally undisturbed conditions. Historical data on the composition of soft-bottom benthic invertebrates, obtained in 1987 from transitional waters of Mirna River Estuary (five sites, 2 WB) were a baseline for the analysis of functional structure of benthic communities, calculation of biotic indices (AMBI, M-AMBI), assessment of ecological quality status and definition of national reference conditions. Due to low amount of historical data and the absence of full environmental gradient, classification was performed using originally identified intervals, with a boundary 0.83 between High and Good classes, and other boundaries set equidistantly to H/G boundary (REFCOND, 2003). All five sites from Mirna River Estuary were classified into categories of High or Good EQS, with median of 0.83 which corresponded to selected original boundary value of EQS classification. Based on that analysis, we described preliminary reference conditions (Hrvatske vode, 2015), in accordance with WFD normative definition.

Since the climate, land cover, and marine ecosystems vary naturally over periods relevant for WFD, characterization of WB and RC are not permanent and from 2013 have to be reviewed every six years (EC, 2003b). For that reason and the fact that the initial reference conditions were derived from small dataset, they are considered 1<sup>st</sup> generation RC, that should be adapted/updated following results obtained in all R.E./WT scheduled for WF monitoring. Dragonja River is too shallow for sampling of BI using standard methodology (Van Veen grab). The same worth for oligotrophic waters (Type P<sub>1</sub>), except one site BBP-11 from the WT P<sub>1\_3</sub> (Krka R.E.). That site characterized by Good EQS ( $EQR_{AMBI}=0,751$ ), but it was the only suitable site for sampling in WT P<sub>1</sub>, and have no pressure data available.

Reference conditions must be formulated in a way to include natural variability over a period of at least six years (EC, 2013a). In the period 2012-2017 BEK BI monitoring were performed at 13 sites (Fig. 2.3.1.) within 13 WB (Fig. 2.3.2.). Sampling sites were selected due to: 1) geographical representativeness, 2) the strength of taxonomic lists, 3) the minor impact of human activities and 4) methodological approach (sampling, laboratory analyses) eligible for ecological quality assessment.

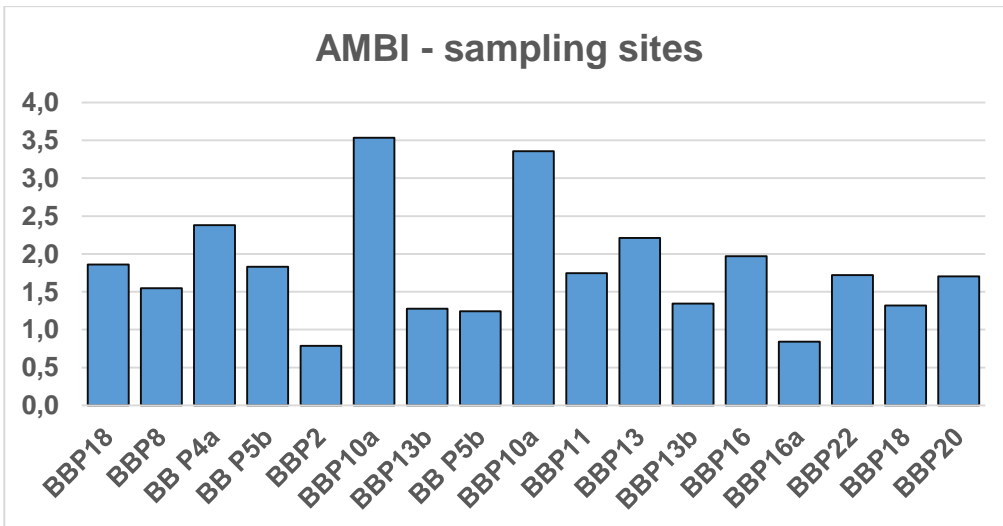


Figure 2.3.1. AMBI scores for Transitional Water sampling sites (2012-2017).

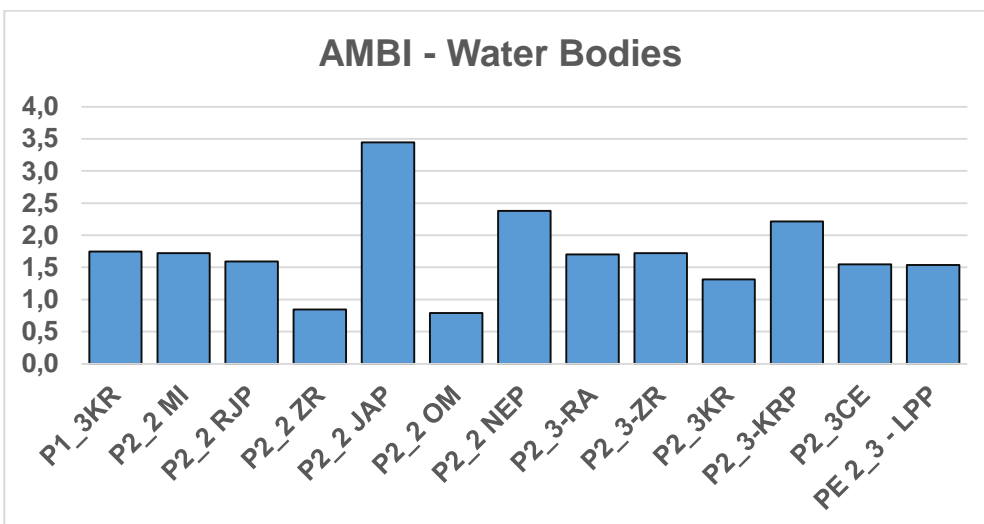


Figure 2.3.2. AMBI scores for Transitional Water Bodies (2012-2017).

Biological communities in High status (WB P2\_2-OM, site BB-P2 and WB P2\_2-ZR site BB-P16a), that corresponded to undisturbed conditions (nutrients, chl-a and bottom dissolved oxygen are in High status; integrative pressure metrics “z”=0,1) were selected for description of National Reference Conditions (NRC). Mean values of biological descriptors at selected sites were:  $EQR_{AMBI}=0.82$ , EG I=62%, EG II=26%, EG III=8%, EG IV and EG V=4%.

Reference criteria used for selection of RC were minor anthropogenic influence and biological criteria: lowest AMBI, highest  $EQR_{AMBI}$ , dominance of sensitive taxa, high contribution of EG I and EG II species and low contribution of tolerant and opportunistic species. Accordingly, Reference conditions are set up as follows:

$AMBI \leq 1.2^*$ ,  $EQR_{AMBI} \geq 0.80^{**}$ , EG I and EG II  $\geq 70\%$ , EG III  $\leq 20\%$ , EG IV | EG V  $\leq 10\%$

\* upper boundary limit for unpolluted state in the AMBI classification (Borja *et al.*, 2000)

\*\* 12<sup>o</sup> Percentile of distribution  $EQR_{AMBI}$  values derived from H/G data

## 2.4. NATIONAL BOUNDARY SETTING

Detailed description of methodology used to derive ecological class boundaries.

The Republic of Croatia did not participate in IC exercises, due to lack of common WT in transitional waters with other MS involved in MED-GIG process. Over here, we report national results in the case where the IC exercises were not possible and suggest novelation of NCR in the Croatian part of the Adriatic Sea using data obtained during six year WFD monitoring (2012-2017). Updated NCR is compliant to WFD normative definitions, as follows in Description of the biological communities in High and Good status (chapter 5). Accordingly, data selected for establishment of NCR are compliant with WFD normative definition in terms of: 1) spatial coverage, 2) methodological approach and 3) requirement of minor impact from human activities.

### National boundaries setting

According to WFD, the ecological status is preclassified into five classes (Bad, Poor, Moderate, Good, Very good/High), indicated differences in ecological status along a gradient of disturbance, based on BQE BI assessment.

Croatian TW dataset for National Boundary Setting (NBS) related to 13 WB monitored during 2012-2017. Results were unequally distributed between High and Moderate EC. The boundary H/G was derived calculating mean value of EQR scores associated with H classes (0.884), corrected for 12% of calculated natural variability. The H/G boundary is set up at 0.80, and other boundaries are set equidistantly:

H/G=80  
G/M=60  
M/P=40  
P/B=20

$EQR_{M-AMBI}$  intervals associated with each of five ecological class are presented in Table 2.4.1. This classification scheme is common for all WB in the Croatian TW.

Table 2.4.1. An  $EQR_{AMBI}$  classification for biological quality element benthic invertebrates, based on data from 2012-2017 monitoring of transitional waters.

ECOLOGICAL STATE CATEGORY (EQS)	$EQR_{AMBI}$ CLASS BOUNDARIES
HIGH / VERY GOOD	0.80-1.00
GOOD	0.60-0.80
MODERATE	0.40-0.60
POOR	0.20-0.40
BAD	<0.20

Following novel RC and NBS, based on the existing data from nine River Estuaries, all but one results (VT P2\_2-JAP, Jadro River Estuary) indicated High or Good EQS. Results obtained during six year monitoring indicated High EQS for 6, Good EQS for 9 and Moderate EQS for 2 sampling sites (Fig. 2.4.1.) and High EQS for 3, Good EQS for 10 and Moderate EQS for 1 WB (Fig. 2.4.2.).



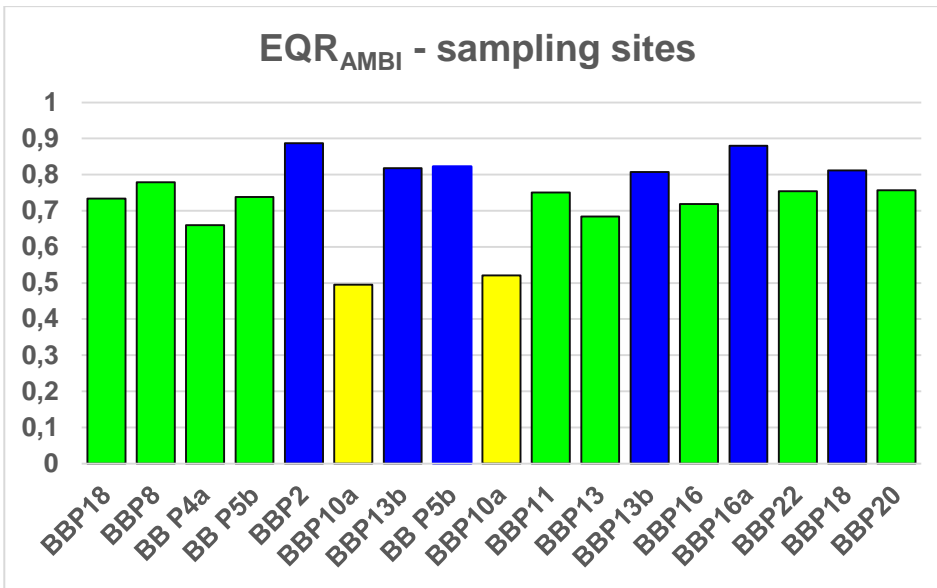


Figure 2.4.1. EQR<sub>AMBI</sub> for Transitional Water sampling sites (2012-2017).

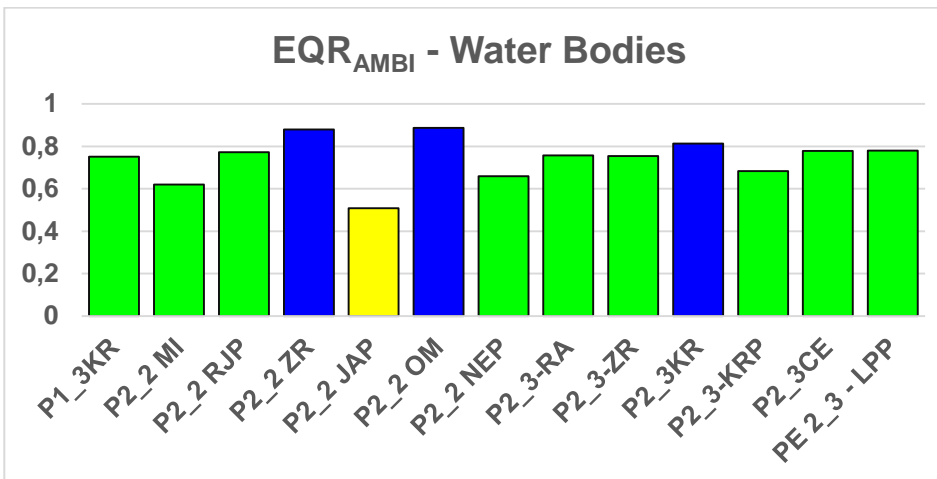


Figure 2.4.2. Type-specific water bodies in Transitional Waters. Ecological quality status (EQS) assessment using AMBI classification method (2012-2017).

## 2.5. PRESSURES ADDRESSED

Please describe the pressures addressed by the method and provide pressure-response relationship (graph, equation)

Pressures considered ascertaining the relationship between anthropogenic pressures and BQE BI were land usage (urbanization, industry, agriculture) and sea usage (mariculture, ports, wastewater discharge). These pressures were preliminary evaluated through organic matter content in sediment and assessment of land use pressures according to Corine Land Cover information system - using "Land Uses Simplified Index" (LUSI) calculated according Flo et al. (2011) and EC (2013). The scoring system is slightly modified and presented in Table 2.5.1. Modification is provided using one additional score for hydrological pressures (rivers, channels, influence of adjacent water bodies) and/or harbor pressure, respectively (if it was significant).

TABLE 2.5.1. Land uses simplified index (LUSI) scoring system. LUSI quantifying potential pressure according to percent of land used in different anthropogenic activities.

URBAN	AGRICULTURAL	INDUSTRIAL	HARBOR	SCORE
<3	< 10	<10		0
3-33	10-40	> 10	1-10	1
33-66	> 40	> 30	> 10	2
>66		>60		3

Assessment of anthropogenic pressure in transitional waters using LUSI index was analyzed in the area within 3 km radius from the sampling site. Linear regression analysis found no relationship between  $EQR_{AMBI}$  and LUSI ( $R^2=0.01$ ;  $p>0.05$ ).

Then, we have tested AMBI against pressure variable “z”, that integrated eight partial pressures e.g. point source, untreated municipal waters, mariculture, land use (LUSI), non-indigenous and invasive species, shipping, fishing and hydromorphological pressures, and were already applied as an integrative measure of pressure in the Croatian transitional waters (Kušpilić *et al.*, 2016).

An integrative “z” metrics were calculated for each transitional water body using the formula:

$$z = (x - \mu) / \sigma \quad \text{where } x = \text{single measurement, } \mu = \text{average value, } \sigma = \text{standard deviation}$$

and calibrated with type-specific data on the established ecological status. Since “z” values can be positive (indicates over-average pressures) and negative (indicates sub-average pressures), prior to correlation analysis they were square transformed.

The linear regression analysis of AMBI and  $EQR_{AMBI}$  with integrative metrics of anthropogenic pressures (“z”), have shown good and significant relationship ( $R^2=0.386$ ,  $R=0.601$ ,  $p<0.05$ ), positive for AMBI (Figure 2.5.1.) and negative for  $EQR_{AMBI}$  (Figure 2.5.2.). Therefore, AMBI can be considered as suitable metrics and “z” as suitable indicator of anthropogenic pressure in Croatian transitional waters.

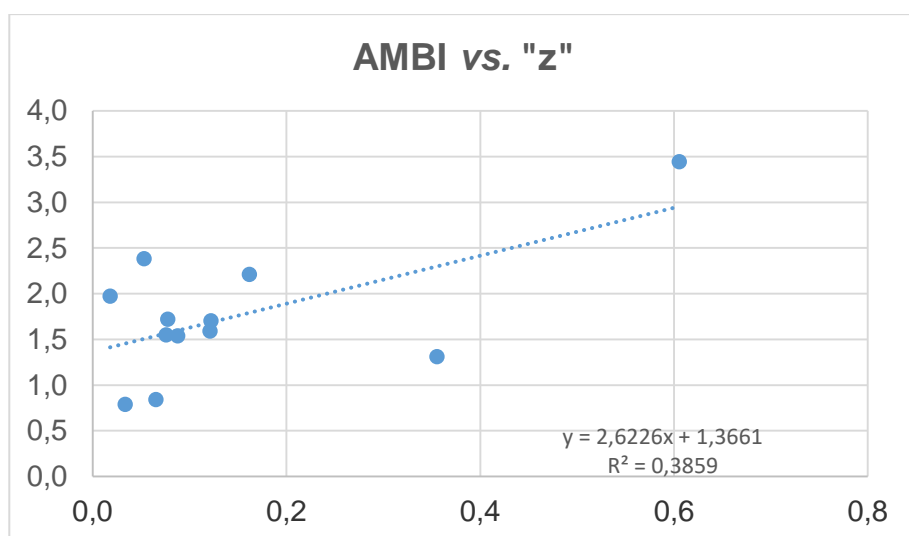


FIGURE 2. 5.1. Linear regression between AMBI and integrative measure of anthropogenic pressure (“z”). Statistically significant positive correlation ( $R^2=0.386$ ,  $R=0.621$ ,  $p<0.05$ ) is established.

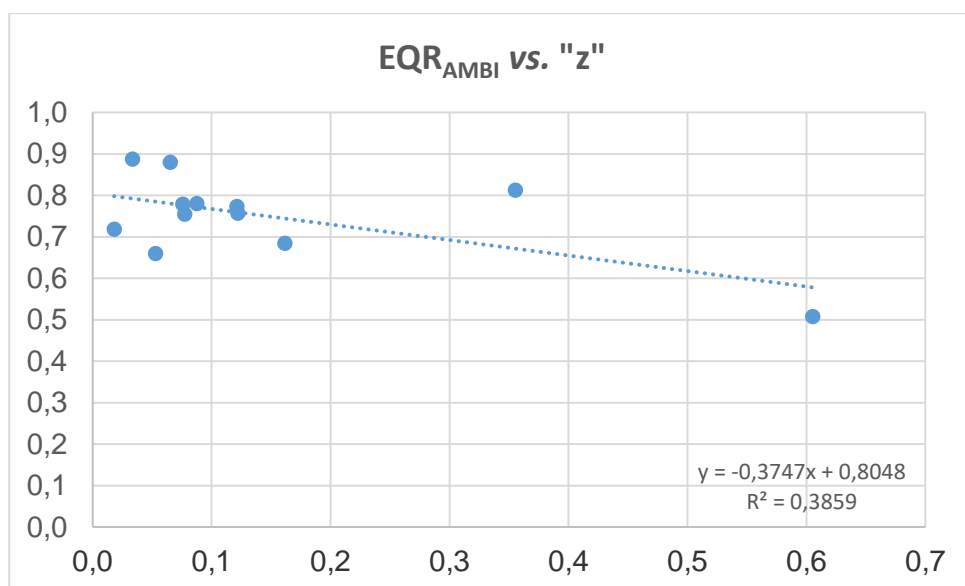


FIGURE 2.5.2. Linear regression between AMBI and integrative measure of anthropogenic pressure ("z"). Statistically significant negative correlation ( $R^2=0.386$ ,  $R=0.621$ ,  $p<0.05$ ) is established.

### 3. WFD COMPLIANCE CHECKING

The first step in the Intercalibration process requires the checking of national methods considering the following WFD compliance criteria.

Table 2. 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
<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	No (explan. in chapt. 2.1.)
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	No (explan. in chapt. 4.)
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.

The intercalibration is not feasible in terms of common IC types. There is only one common IC type in transitional waters in Croatia - Estuaries (salt wedge type). Croatia has 25 grouped waterbodies in this common IC type and Spain has only one waterbody in Andalusia region, which is why the dataset is not enough to do the intercalibration.

---

### 4.1. TYPOLOGY

---

Does the national method address the same common type(s) as other methods in the Intercalibration group? Provide evaluation if IC feasibility regarding common IC types.

---

### 4.2. PRESSURES ADDRESSED

---

Does the national method address the same pressure(s) as other methods in the Intercalibration group? Provide evaluation if IC feasibility regarding pressures addressed.

---

### 4.3. ASSESSMENT CONCEPT

---

Does the national method follow the same assessment concept as other methods in the Intercalibration group? Provide evaluation if IC feasibility regarding assessment concept of the intercalibrated methods.

---

### 4.4. CONCLUSION ON THE INTERCALIBRATION FEASIBILITY

---

Intercalibration of national methodology selected by Republic of Croatia is not possible with other MS that use the same methodology, due to differences in existing water types (Gap 3).

---

## 5. DESCRIPTION OF THE BIOLOGICAL COMMUNITIES

---

---

### DESCRIPTAT HIGH STATUS BQI BENTHIC INVERTEBRATES COMPRISES OFTEN HIGH NUMBER OF SPECIES OF THE BIOLOGICAL COMMUNITIES AT HIGH STATUS

---

At High status AMBI for BQE Benthic Invertebrates  $\leq 1.2$  and  $EQR_{AMBI} \geq 0.80$ . At sampling sites AMBI and  $EQR_{AMBI}$  range 0.79-0.84 and 0.88-0.89, respectively.

All the disturbance-sensitive taxa of the type-specific communities associated with undisturbed conditions are present. Relative abundances of EG assessed by AMBI indicate normal or slightly impoverished community and unpolluted site.

Sensitive taxa (EG I) are dominant; indifferent and/or tolerant taxa (EG II, EG III) are subdominant and opportunistic taxa (EG IV+EG V) are absent or have negligible abundance.

High status of BQE BI is described for communities from WT P2\_2-OM (site BB-P2) - Ombla River Estuary, P2\_2-ZR (site BB-P16a) – Zrmanja River Estuary and P2\_3-KR (site BB-P13b)- Krka River Estuary.

---

## DESCRIPTION OF THE BIOLOGICAL COMMUNITIES AT GOOD STATUS

---

At Good status AMBI for BQE Benthic Invertebrates  $\leq 3.3$  and  $EQR_{AMBI} \geq 0.60$ . At sampling sites AMBI and  $EQR_{AMBI}$  range 1.54 -2.38 and 0.66-0.81, respectively.

Most of the sensitive taxa of the type-specific communities are present. Relative abundances of EG assessed by AMBI indicate slightly unbalanced community and slightly polluted site. Sensitive and indifferent taxa (EG I and EG II) are dominant, tolerant taxa (EG III) are mainly subdominant (except BB-P18, BB-P20, where dominated), while opportunistic taxa (EG IV and EG V) abundance may range from negligible or low share up to 25%.

Good status of BQE BI is described for most communities from TW, i.e. for communities from BB-P4a, BB-P5b (Neretva R.E.), BB-P8 (Cetina R.E.), BB-P11, BB-P13, BB-P13b (Krka R.E.), BB-P16 (Zrmanja R.E.) BB-P18 (Rječina R.E.), BB-P20 (Raša R.E.), BB-P22 (Mirna R.E.).

---

## DESCRIPTION OF THE BIOLOGICAL COMMUNITIES AT MODERATE STATUS

---

At Good status AMBI for BQE Benthic Invertebrates  $\leq 4.3$  and  $EQR_{AMBI} \geq 0.40$ . At sampling sites AMBI is 3.45 and  $EQR_{AMBI}$  range 1.2 -3.3 and 0.50-0.52.

Relative abundances of EG assessed by AMBI indicate communities transitional to pollution and moderately polluted site. Opportunistic taxa (EG IV+EG V) are dominant; sensitive, indifferent and tolerant taxa are subdominant and mainly co-dominate with abundances 10-20%.

Moderate status of BQE BI is described only for community from WT P2\_2 JAP (site BBP-10a), Jadro River Estuary.

---

## 6. REFERENCES

---

- Boon, A.R., et al., Van Loon W.M.G.M., Gittenberger, A., 2011. Review of Marine Benthic Indicators and Metrics for the WFD and design of an optimized BEQI. *Deltares*, 1-57.
- Borja, A., Franco, J, Pérez, V, 2000. A marine biotic index to establish the ecological quality of soft bottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Marine Pollution Bulletin*, 40(12): 1100-1114.
- Borja, A., Franco, J., Valencia, V., Bald, J., Muxika, I., Belzunce, M.J., Solaun, O., 2004. Implementation of the European Water Framework Directive from the Basque Country (northern Spain): a methodological approach, *Marine Pollution Bulletin*, 48(3-4): 209-218.
- Borja, A., Muxika, I., 2005. Guidelines for the use of AMBI (AZTI's Marine Biotic Index) in the assessment of the benthic ecological quality. *Marine Pollution Bulletin*, (7):787-9.
- Borja, Á., Mader, J., Muxika I., 2012. Instructions for the use of the AMBI index software (Version 5.0). *Revista de Investigación Marina, AZTI-Tecnalia*, 19(3): 71-82
- EC, 2003a. European Communities Common implementation strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC) Guidance Document No. 5, Transitional and Coastal Waters Typology, Reference Conditions and Classification Systems.
- EC, 2003b. European Communities Common implementation strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC) Guidance Document No. 3, Analysis of Pressures and Impacts.

EC 2009. Water Framework Directive Intercalibration Technical Report Part 3: coastal and transitional waters. A. Carletti, A.S. Heiskanen (Eds.), OPOCE, European Commission Joint Research Centre Institute for Environment and Sustainability, Fermi, Italy.

EC, 2013. Intercalibration of biological elements for transitional and coastal water bodies 2013. Guidance Document No. 30.

Flo, E., Camp, J., Garcés, E., 2011. Assessment pressure methodology: land uses simplified index (LUSI) BQE Phytoplankton, Work document (MedGIG meeting, Rome), Apain, Catalonia.

Hrvatske vode, 2015. Metodologija uzorkovanja, laboratorijskih analiza i određivanja omjera ekološke kakvoće.

Kušpilić, G., Precali, R., Grbec, B., Morović, M., Ninčević-Gladan, Ž., Nikolić, V., Despalatović, M., Travizi, A., Iveša, Lj., Matić Skoko, S., Dulčić, J., Bogner, D., Dadić, V., 2011. Karakterizacija područja i izrada prijedloga programa i provedba monitoringa stanja. IOR, Split.

Kušpilić, G., Cvitković, I., Dadić, V., Despalatović, M., Dulčić, J., Grbec, B., Grubišić, L., Krstulović, N., Matić, S., Matijević, S., Marasović, I., Ninčević Gladan, Ž., Šolić, M., Tudor, M., Žuljević, A., 2016. Novelacija karakterizacije prijelaznih i priobalnih voda. IOR, Split.

Muxika, I., Á. Borja, J. Bald, 2007. Using historical data, expert judgement and multivariate analysis in assessing reference conditions and benthic ecological status, according to the European Water Framework Directive, Marine Pollution Bulletin, 55: 16-29.

Pearson TH, Rosenberg R., 1977. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. Oceanogr Mar Biol Ann Rev 16: 229-311.

REFCOND, 2003. Guidance on establishing reference conditions and ecological status class boundaries for inland surface waters. Produced by Working Group 2.31 Reference conditions for inland surface (REFCOND), Common Implementation Strategy of the WaterFramework Directive, European Commission, 86 pp.

Software used for calculation of National metrics: AZTI Technalia AMBI index software (Version 5.0), freely obtained from <http://ambi.azti.es>.

## DODATAK III

Izvešće Republike Hrvatske o klasifikacijskoj metodi za makrozoobentos u priobalnim vodama (JRC format, originalna verzija na engleskom jeziku)

### 3. INTRODUCTION

---

- Member State; **Croatia**
- BQE; **Benthic invertebrates** (macroinvertebrates)
- Water body category (type) **Coastal waters**

### 4. DESCRIPTION OF NATIONAL ASSESSMENT METHODS

---

MS has to provide the complete description of the method in the Annex. The main features should be given below.

The Multiparametric AMBI (**M-AMBI**) (Muxika *et al.*, 2007) is classification method selected for the assessment on the Ecological Quality Status (**EQS**) in the Croatian Coastal Waters (**CW**). It is based on the AZTI's Marine Biotic Index (**AMBI**), developed for soft-bottom macrozoobenthos of European estuarine and coastal environments (Borja *et al.*, 2000). M-AMBI is a multimetric biotic index that incorporates three metrics: 1) the number of species (S), 2) Shannon-Wiener diversity index (H') and 3) the AMBI index. The first one refers to the number of taxa identifiable to species level and/or to those identified to some higher taxonomic level, i.e. "Operational units" (e.g. *Turitella* sp.1, *Nucula* sp., Spionidae etc.), which are listed in AZTI AMBI database, and can be unambiguously attributed to one of five ecological groups (EG I-EG V). Shannon-Wiener diversity index incorporates two elements - the species richness and equitability. Unlike above-mentioned discreet biotic indices (S and H'), AMBI formula integrates continuous Biotic Coefficient (BC) – which makes it more suitable for statistical analysis and free from subjectivity (Borja *et al.*, 2000). AMBI is derived from the proportions of individual abundance in five functional Ecological Groups (EG I – EG V) which are related to the degree of sensitivity/tolerance to an environmental stress gradient (Pearson and Rosenberg, 1977; Borja *et al.*, 2000), hence it takes into consideration taxonomic and functional composition of benthic invertebrate species. The M-AMBI index is compliant to WFD normative definition of five EQS classes, that describe High (H), Good (G), Moderate (M), Poor (P) and Bad (B) EQS (Borja *et al.*, 2004), following continuous distribution of Ecological Quality Ratio (**EQR<sub>M-AMBI</sub>**) values on 0-1 scale. It was selected as the national assessment method and applied to dataset of benthic macroinvertebrates obtained in coastal waters of Croatia.

#### 2.1. METHODS AND REQUIRED BQE PARAMETERS

---

Table 2.1.1. Overview of the metrics included in the national method - example given for phytoplankton. For other BQEs there will be other indicative parameters (see Table 1. Page 17, IC Guidance)

MS	Taxonomic composition	Abundance	Disturbance sensitive taxa
HR	Not in strict sense (only composition of 5 preclassified sensitivity classes)	Not in strict sense (only relative abundance of 5 preclassified sensitivity classes)	5 sensitivity classes

MS	Diversity	Taxa indicative of pollution	Combination rule of metrics
HR	Shannon-Wiener's index (H'), Species richness (S), linear relationship	Specific opportunistic species	M-AMBI (see below)

Combination rule used in the method

Multivariate factorial analysis performed on combination of AMBI index, Shannon\_Wiener's diversity index (H') and species richness (S).



Conclusion on the WFD compliance (are all the indicative parameters included; if not, why)  
All indicative parameters were included.

---

## 2.2. SAMPLING AND DATA PROCESSING

---

Description of sampling and data processing:

- **Sampling time and frequency;**

Sampling frequency for Biological Quality Element Benthic Invertebrates (**BQE BI**) is scheduled once in year, triennially, in a worm season. Data set used in this study is obtained in 2012-2017 period. Sampling was conducted once per site in summer 2012, 2013, 2014, 2015 and 2016, and the early autumn 2017.

It performed at twenty-four sampling sites distributed within seventeen coastal Water Bodies (**WB**) along Croatian coast of the Adriatic Sea: O313-BAZ, O313-KASP, O412-ZOI, O412-PULP, O413-LIK, O413-RAZ, O413-PAG, O413-PZK, O413-STLP, O422-SJI, O422-KVV, O422-VIS, O423-KVA, O423-RIZ, O423-RILP, O423-VIK and O423-KVJ.

- **Sampling method;**

Sampling was performed from the Research vessel (using hydraulic winch) by Van Veen grab (0.1 m<sup>2</sup>). At each site, four replicate grab samples were taken on each occasion. On the board, sediment from each single grab was rinsed with seawater and sieved through 1mm mesh size. Rough separation (invertebrates > 5mm) and fixation (70% ethanol) were performed on board - parallel with sieving. Sediment remained on the sieve was fixed in 4% formaldehyde sea-water solution, labelled and stored until the next step (final separation, invertebrates < 5mm). In the laboratory, all invertebrates were sorted and classified to higher taxa level (basic operational units of macrozoobenthos), counted (total census method) and fixed in 70% ethanol. Two predominant phyla (Annelida and Mollusca) were identified to species level. All organisms were stored if there is a possibility for afterward reliable determination of unidentified species.

- **Data processing;**

Data set contains all replicate samples of identified species and their absolute abundances. Prior to statistical analysis data was pooled on the site level. At sites sampling twice, samples from each year were analysed separately. M-AMBI method is based on the relative abundance of species belonging to one of five functional groups, according species-specific sensitivity to pollution. Statistical analyses of data set was performed using by AMBI<sup>®</sup> V 5.0 AZTI's software and accompanying Guidance (Borja *et al.*, 2012). Software provides an abundant database of BI, with its affiliation to one of five Ecological Groups (EG I - EG V) with different sensitivity/tolerance to disturbance. M-AMBI analysis and resulted in:

- percentage share of each single EG
- calculation of BI and AMBI index
- calculation of species richness (S) and Shannon-Wiener diversity index (H')
- calculation of  $EQR_{M-AMBI}$
- classification into one of five sensitivity classes indicated EQS categories: High, Good, Moderate, Poor and Bad

- **Identification level.**

Above-mentioned taxa (Annelida and Mollusca) mainly comprised >75% of total macrofauna and they are considered reliable indicators of environmental disturbance. Due to their high abundance, indicators' performance and reliability of identification, their identification should be sufficiently representative for assessment of EQS using BEK BI. Here, we need to stress that reliable identification of benthic

invertebrates on the species level is possible exclusively by taxonomic experts for particular higher taxa. Since all methods and results for assessment of EQS based on BQI BI are highly dependent on the reliability of species identification, and since due to global crisis of taxonomist very few state have available experts for all invertebrate Phyla, non-expert analysis can easily lead to misidentification. In lack of experts for less abundant Phyla, we are limited to incomplete but credible and suitable solution, to avoid the risk of misidentification. In other words, taxonomic level selected in this study offers an adequate confidence and precision in species classification.

---

### 2.3. NATIONAL REFERENCE CONDITIONS

---

According to Water Framework Directive (**WFD**), the reference condition for a type-specific **WB** is a description of the biological elements which corresponds totally, or nearly totally, to undisturbed (= pristine) conditions, i.e. a marine environment with no, or with only a very minor, impact from human activities. Compliant to WFD normative definitions, such conditions are associated with two upper classes (High and Good) of the Ecological Quality Status (EQS) (EC 2003 a)

The WFD identifies four main options for deriving reference conditions: 1) comparison with an existing 'pristine'/undisturbed site (or a site with minor disturbance), 2) historical data and information, 3) models and 4) expert judgement. The alternative is certain combination of above-mentioned options (EC 2003a, 2003b).

In the initial phase of WFD implementation, Reference Condition (**RC**) in Croatian transitional waters were selected using historical data/information, corresponded to totally and/or near-totally undisturbed conditions. Historical data on the composition of soft-bottom benthic invertebrates, obtained between 1973 and 1986 from coastal waters of Limski zaljev, Rovinj coastal area, zaljev Raša and Kvarner region (seventeen sites, 5 WB). It was a baseline for the analysis of functional structure of benthic communities, calculation of biotic indices (AMBI, M-AMBI), assessment of ecological quality status and definition of national reference conditions. Due to low amount of historical data and the absence of full environmental gradient, classification was performed using original classification setting (REFCOND, 2003), with a boundary 0.83 between High and Good classes, and other boundaries set equidistantly to H/G. Out of seventeen sites analysed for  $EQR_{M-AMBI}$ , ten were assigned to High and seven to Good EQS. Based on that analysis, we described preliminary/1<sup>st</sup> generation RC (Hrvatske vode, 2015), in accordance with WFD normative definition.

Since the climate, land cover, and marine ecosystems vary naturally over periods relevant for WFD, characterization of WB and RC are not permanent and from 2013 have to be reviewed every six years (EC, 2003a, 2003b). Consequently, in the period 2012-2017 BEK BI monitoring were performed at 24 stations – twice at BB-O38 (Fig. 2.3.1.) within 17 coastal WB (Fig. 2.3.2.). Sampling sites were selected due to: 1) geographical representativeness (data corresponded to majority of WB scheduled to implementation of the WFD, 2) the strength of taxonomic lists, 3) the minor impact of human activities and 4) methodological approach (sampling, laboratory analyses) eligible for EQS assessment.

Results obtained during six year monitoring indicated High EQS for 6, Good EQS for 15 and Moderate EQS for 4 sampling sites (Fig. 2.3.3.). Biological communities in High status that corresponded nearly totally to undisturbed conditions (nutrients, chl-a and bottom dissolved oxygen are in High status, LUSI=1) were selected for description of National Reference Conditions (**NRC**). Reference criteria used for selection of RS was minor anthropogenic influence met the following biological criteria: low AMBI value, high S and H', dominance of sensitive and indifferent taxa (EGI and EG II) and minimal share of opportunistic taxa (EG IV and EG V).

Accordingly, reference condition values are set as follows:

$EQR_{M-AMBI} \geq 82^{**}$ ,  $AMBI < 2$ ;  $S > 40$ ;  $H' > 4,5$   
 $EG I \text{ and } EG II \geq 70\%$ ,  $EG III \leq 25\%$ ,  $EG IV \text{ I } EG V \leq 5\%$

\*\* 10<sup>o</sup> Percentile of distribution  $EQR_{M-AMBI}$  values derived from H/G data

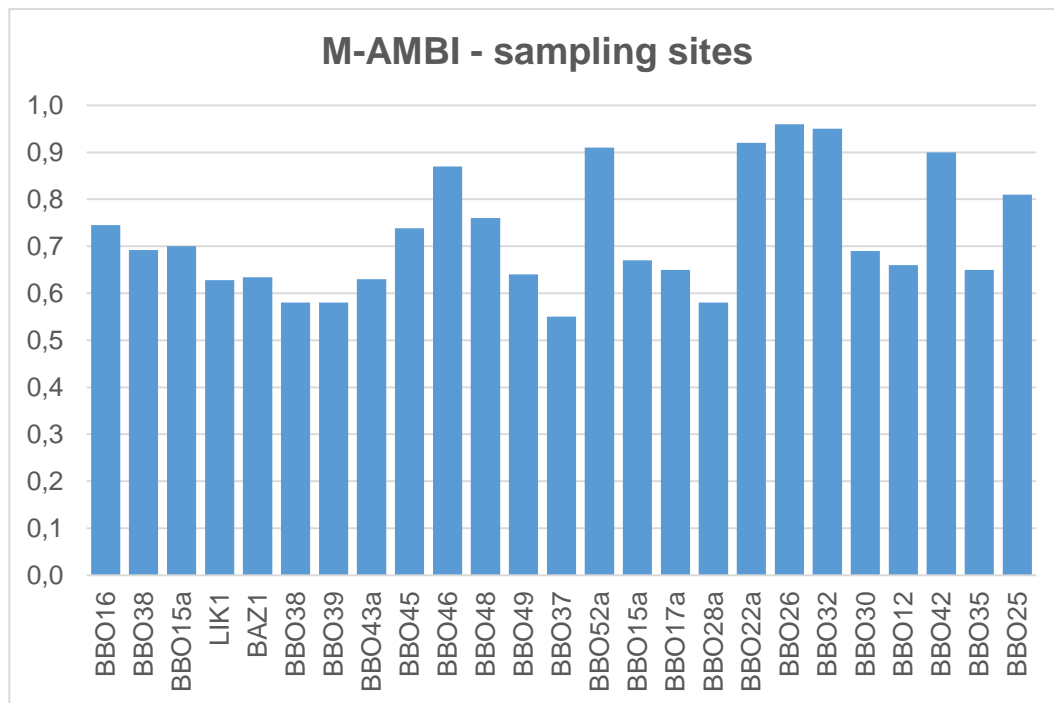


Figure 2.3.1. M-AMBI scores for Coastal Water sampling sites (2012-2017).

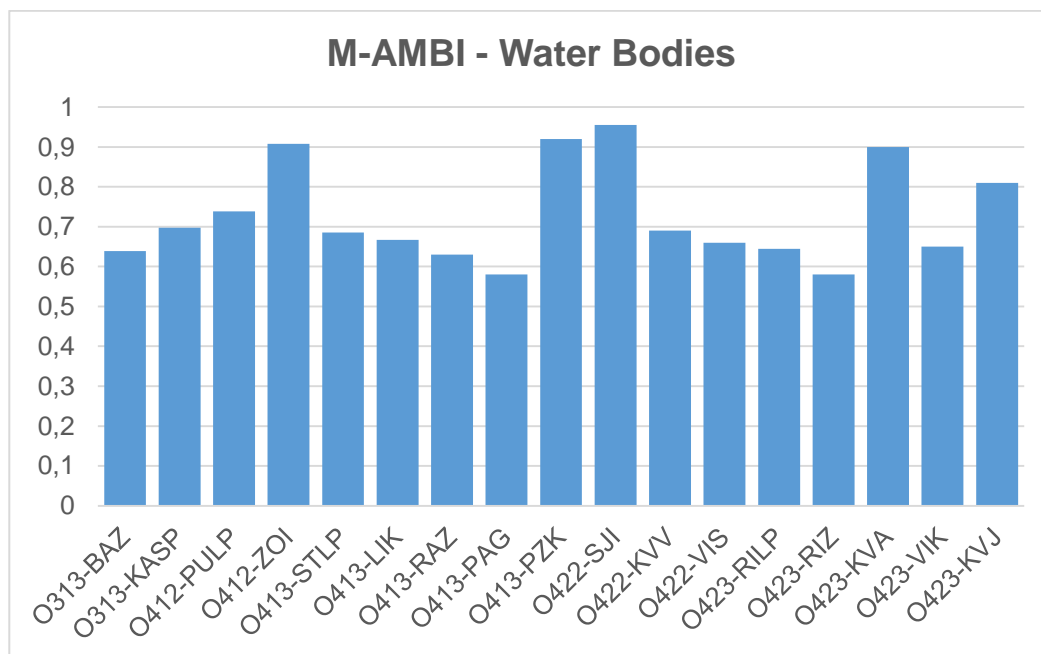


Figure 2.3.2. M-AMBI scores for Coastal Water Bodies (2012-2017).

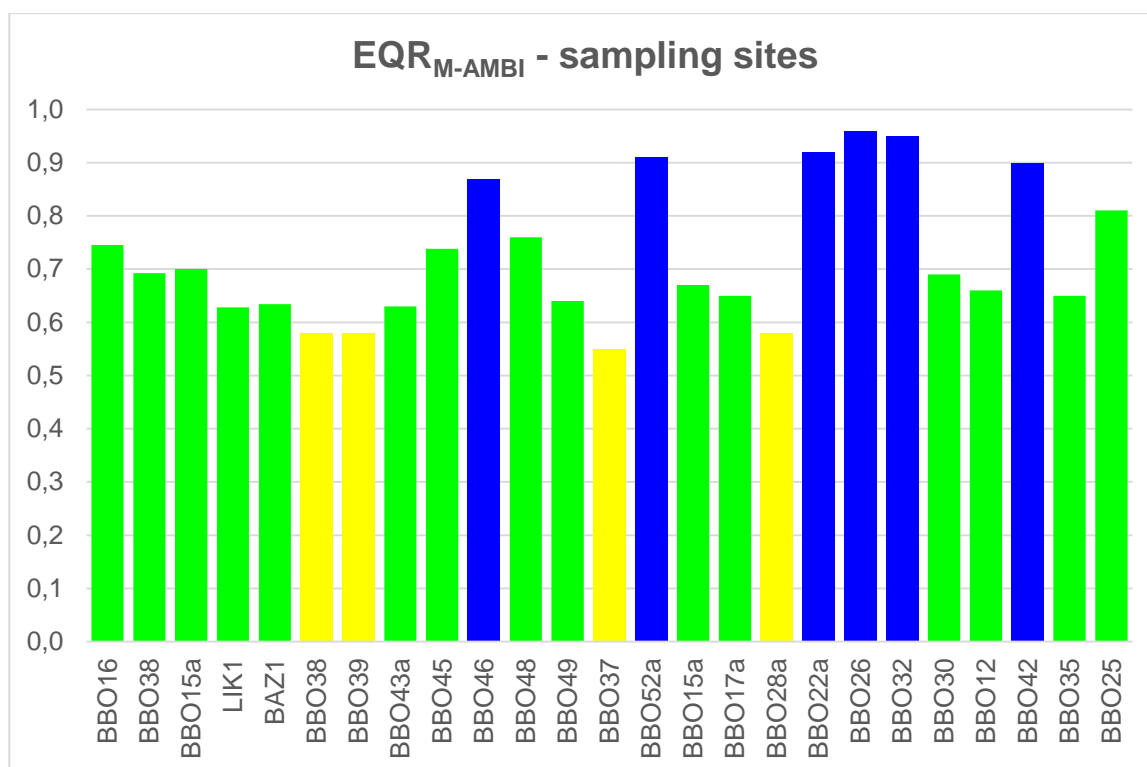


Figure 2.3.3. EQR<sub>M-AMBI</sub> for Coastal Water sampling sites (2012-2017).

Data selected for establishment of NCR are compliant with WFD normative definition in terms of: 1) spatial coverage, 2) methodological approach and 3) requirement of minor impact from human activities. According to above-mentioned criteria we selected five National Reference Sites (NRS) in coastal waters: WT O412-ZOI (BB-O46, BB-O52a, BB-O48); WT O422-SJI (BB-O26, BB-O32), WT O423-KVA (BB-O42).

The Republic of Croatia did not participate in IC exercises, due to late accession to the EU. Over here, we report national results in the case where the IC exercises were not possible and suggest updating of NCR in the Croatian part of the Adriatic Sea using data obtained during six year WFD monitoring (2012-2017). Updated NCR is compliant to WFD normative definitions, as follows in Description of the biological communities in High and Good status (chapter 5).

## 2.4. NATIONAL BOUNDARY SETTING

Detailed description of methodology used to derive ecological class boundaries.

### National boundaries setting

According to Water framework directive (WFD), the ecological status is preclassified into five classes (Bad, Poor, Moderate, Good, Very good/High), indicated differences in ecological status along a gradient of disturbance, based on BQE BI assessment. The initial boundaries between the ecological classes in the coastal waters of Croatia are those originally identified by REFCOND (2003) and applied by Muxika *et al.* (2007).

Natural variability, presumed to be around 20%, defines width of High class interval. The boundary H/G was derived calculating median value of EQR<sub>M-AMBI</sub> scores associated with High ecological class (0,91) corrected for 10% of calculated natural variability (2 decimal places rounded). Subtracting 10% was needed because median of the actual data lays 9,5% from the upper limit of the High class. Accordingly, H/G boundary is set up at 0.82, and other boundaries are set equidistantly:

H/G=82  
 G/M=62  
 M/P=41  
 P/B=20

$EQR_{M-AMBI}$  intervals associated with each of five ecological class is presented in Table 2.4.1.

Table 2.4.1. EQS classification scheme with corresponding EQR intervals. Based on results obtained during six year monitoring on total of 100 samples, taken at 25 sampling tours from 23 sampling sites.

ECOLOGICAL STATE CATEGORY (EQS)	M-AMBI EQR CLASS BOUNDARIES
HIGH / VERY GOOD	0.82-1.00
GOOD	0.62-0.82
MODERATE	0.41-0.62
POOR	0.20-0.41
BAD	0.00-0.20

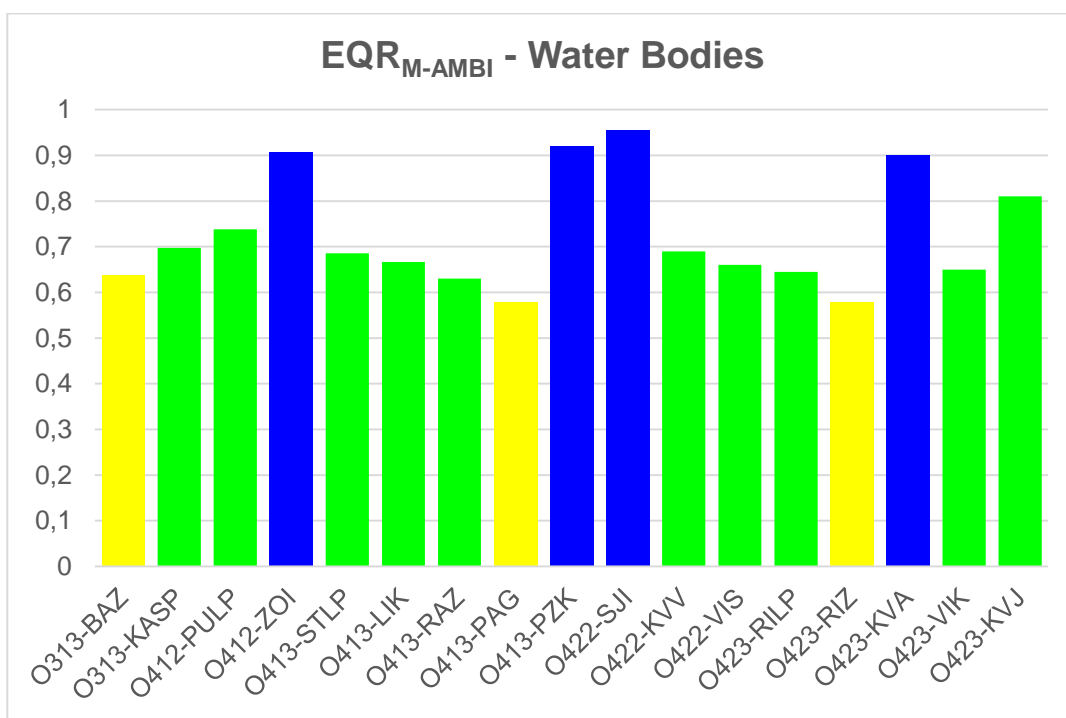


Figure 2.4.1. Type-specific water bodies in Coastal Waters. Ecological quality status (EQS) assessment using M-AMBI classification method (2012-2017).

Croatian CW dataset for National Boundary Setting (NBS) related to 17 WB monitored during 2012-2017. Results obtained during six year monitoring were unequally distributed between High and Moderate classes, indicated High EQS for 4, Good EQS for 10 and Moderate EQS for 3 WB (Fig. 2.4.1.).

## 2.5. PRESSURES ADDRESSED

Please describe the pressures addressed by the method and provide pressure-response relationship (graph, equation)

Pressures considered ascertaining the relationship between anthropogenic pressures and BQE BI were land usage (urbanization, industry, agriculture) and sea usage (mariculture, ports, wastewater discharge). These pressures were preliminarily evaluated through organic matter content in sediment and assessment of land use pressures according to Corine Land Cover information system - using "Land Uses Simplified Index" (LUSI), calculated according Flo *et al.* (2011) and EC (2013). The scoring system is slightly modified and presented in Table 2.5.1. Modification is provided using one additional score for hydrological pressures (rivers, channels, influence of adjacent water bodies) and/or harbor pressure, respectively (if it was significant). The anthropogenic disturbance was measured through an integrative LUSI index of the existing pressures in a water body. Assessment of anthropogenic pressure on the BQI BI in coastal waters using LUSI index was analyzed in the area within 3 km radius from the sampling site.

TABLE 2.5.1. Land uses simplified index (LUSI) scoring system. LUSI quantifying potential pressure according to percent of land used in different anthropogenic activities.

URBAN (URB.)	AGRICULTURAL (AGR.)	INDUSTRIAL (IND.)	HARBOR (HAR.)	SCORE
<3	< 10	<10		0
3-33	10-40	> 10	1-10	1
33-66	> 40	> 30	> 10	2
>66		> 60		3

Pressure response relationship between selected classification method and anthropogenic pressures in coastal WB is presented in Fig. 2.5.1.

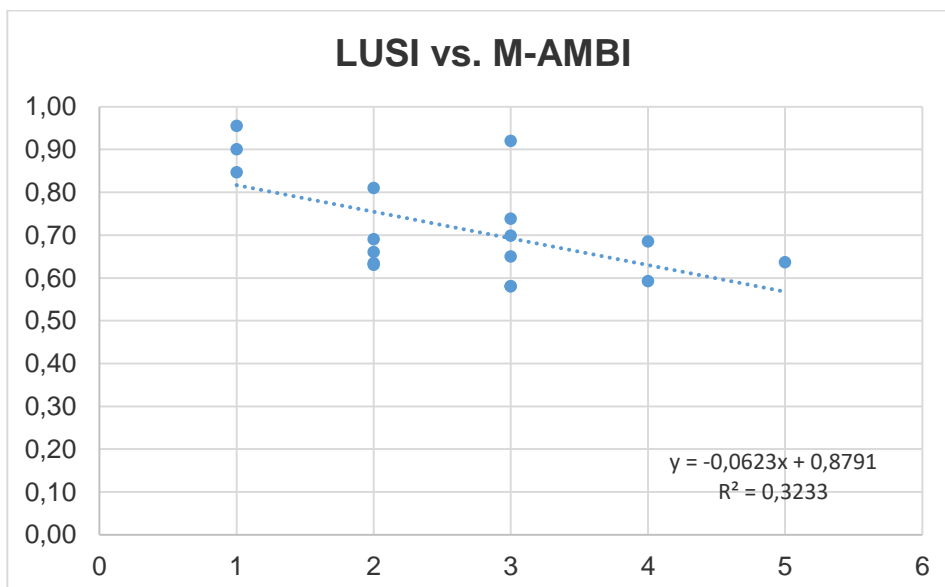


FIGURE 2.5.1. Linear relationship between LUSI and M-AMBI for the Croatian coastal waters data set. M-AMBI method shows communities' response to the pressures tested with the LUSI index (N=17, df=15,  $R^2= 0,3233$ ).

In the Croatian part of the Adriatic Sea statistically significant negative correlation between selected metrics and anthropogenic pressures is established ( $R=0,5686$  at  $p < 0.05$ ).

### 3. WFD COMPLIANCE CHECKING

The first step in the Intercalibration process requires the checking of national methods considering the following WFD compliance criteria.

Table 2. 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
<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
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.

The Republic of Croatia joined to EU on July 2013. In that time, the intercalibration process among MS involved in MED-GIG for CW was already completed. However, Croatia share the same assessment method and derived close class boundaries and intervals as two other MS (Italy and Slovenia), that successfully applied and intercalibrated method in MED-GIG IC process.

---

#### 4.1. TYPOLOGY

---

Does the national method address the same common type(s) as other methods in the Intercalibration group? Provide evaluation if IC feasibility regarding common IC types.

---

#### 4.2. PRESSURES ADDRESSED

---

Does the national method address the same pressure(s) as other methods in the Intercalibration group? Provide evaluation if IC feasibility regarding pressures addressed.

---

#### 4.3. ASSESSMENT CONCEPT

---

Does the national method follow the same assessment concept as other methods in the Intercalibration group? Provide evaluation if IC feasibility regarding assessment concept of the intercalibrated methods.

---

#### 4.4. CONCLUSION ON THE INTERCALIBRATION FEASIBILITY

---

Intercalibration of national methodology selected by Republic of Croatia is not possible with other MS that use the same methodology. IC process was completed before accession of Croatia to European Union.

---

### 5. DESCRIPTION OF THE BIOLOGICAL COMMUNITIES

---

---

#### DESCRIPT AT HIGH STATUS BQE BENTHIC INVERTEBRATES COMPRISES OFTEN HIGH NUMBER OF SPECIES OF THE BIOLOGICAL COMMUNITIES AT HIGH STATUS

---

At High status  $BQE_{M-AMBI}$  for BQE Benthic Invertebrates  $\geq 0.82$  and at sampling sites range between 0.85 and 0.86.

All the disturbance-sensitive taxa of the type-specific communities associated with undisturbed conditions are present. Relative abundances of EG assessed by AMBI indicate normal or slightly impoverished community and unpolluted site.

Communities often comprise  $\geq 70\%$  of sensitive and indifferent species (EG I and EG II). The percentage of EG III is usually  $< 25\%$ , while percentage of opportunistic species is very low (EG IV and EG V  $< 5\%$ ), except at one site (BB-O22a: EG IV and EG V=15%,  $AMBI \geq 2$ ). At High EQS, AMBI is often  $< 1.5$ ; species richness is rather high - mostly between 40-84 species per site (median=48). Shannon-Wiener index is  $> 4.5$  (median=4.96).

---

#### DESCRIPTION OF THE BIOLOGICAL COMMUNITIES AT GOOD STATUS

---

At Good status  $BQE_{M-AMBI}$  for BQE Benthic Invertebrates  $\geq 0.62$  and at sampling sites range between 0.63 and 0.81.

Most of the sensitive taxa of the type-specific communities are present. Relative abundances of EG assessed by AMBI indicate slightly unbalanced community and slightly polluted site.

Communities comprise  $> 45\%$  of sensitive/indifferent species (EG I and EG II). Relative abundances of tolerant and opportunistic taxa are very variable (EG III 12.8-33.7, median=21.25; EG IV and EG V 2.2-24.8, median=7.55), mainly due to results from sites with enlarged LUSI values (3-5). These sites are situated in



Rijeka, Pula and Split ports, and Splitsko-Kaštelanski zaljev bay, i.e. locations exposed to pronounced anthropogenic impacts (urban, ports and/or agriculture). On these sites high S and H' indices are recorded, usually accompanied with relatively high percentage of opportunistic species (~20%) - or very low abundance of sensitive species - or comparatively high abundance of indifferent/tolerant species. At Good EQS, AMBI index vary 0.49-2.69, (median=1.67) species richness range between 17-53 taxa (median=29.3) and Shannon-Wiener index between 3.6-5.4 (median=4.7).

---

#### DESCRIPTION OF THE BIOLOGICAL COMMUNITIES AT MODERATE STATUS

---

At Moderate status  $BQE_{M-AMBI}$  for BQE Benthic Invertebrates  $\geq 0.41$  and at sampling sites range between 0.58 and 0.59.

At Moderate EQS benthic Invertebrates usually comprise <25% sensitive species and > 50% indifferent and tolerant species, while opportunistic species range from very low (1-5%) to relatively high abundance (BB-O28a, 20%). At Moderate EQS we recorded further increase of AMBI (1.9-2.9), and decrease of species richness (S=20-25) and diversity (H'=1.9-3.7).

Data related sampling site BB-O37 are not included in this description, due to local anomaly of most indices (AMBI=0.43; EG I =82%, EG II=9%, EG III=8%). They were probably caused with microhabitat conditions, that support very high relative abundance of sensitive species, comparatively low abundance of indifferent and tolerant species, as well as very low species richness (S=20) and diversity (H'=1,9).

---

## 6. REFERENCES

---

Borja, A., J. Franco, V. Pérez, 2000. A marine biotic index to establish the ecological quality of soft bottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Marine Pollution Bulletin*, 40(12): 1100-1114.

Borja, A., J. Franco, V. Valencia, J. Bald, I. Muxika, M.J. Belzunce, O. Solaun, 2004. Implementation of the European Water Framework Directive from the Basque Country (northern Spain): a methodological approach, *Marine Pollution Bulletin*, 48(3-4): 209-218.

Borja, A., Muxika, I., 2005. Guidelines for the use of AMBI (AZTI's Marine Biotic Index) in the assessment of the benthic ecological quality. *Marine Pollution Bulletin*, (7):787-9.

Borja, Á., Mader, J., Muxika I., 2012. Instructions for the use of the AMBI index software (Version 5.0). *Revista de Investigación Marina, AZTI-Tecnalia*, 19(3): 71-82

EC, 2003a. European Communities Common implementation strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC) Guidance Document No. 5, Transitional and Coastal Waters Typology, Reference Conditions and Classification Systems.

EC, 2003b. European Communities Common implementation strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC) Guidance Document No. 3, Analysis of Pressures and Impacts.

EC, 2009. Water Framework Directive Intercalibration Technical Report Part 3: coastal and transitional waters. A. Carletti, A.S. Heiskanen (Eds.), OPOCE, European Commission Joint Research Centre Institute for Environment and Sustainability, Fermi, Italy.

EC, 2013. Intercalibration of biological elements for transitional and coastal water bodies 2013. Guidance Document No. 30.

Glo, E., Camp, J., Garcés, E., 2011. Assessment pressure methodology: land uses simplified index (LUSI) BQE Phytoplankton, Work document (MedGIG meeting, Rome), Apain, Catalonia.

Hrvatske vode, 2015. Metodologija uzorkovanja, laboratorijskih analiza i određivanja omjera ekološke kakvoće.

Kušpilić, G., Precali, R., Grbec, B., Morović, M., Ninčević-Gladan, Ž., Nikolić, V., Despalatović, M., Travizi, A., Iveša, Lj., Matić Skoko, S., Dulčić, J., Bogner, D., Dadić, V., 2011. Karakterizacija područja i izrada prijedloga programa i provedba monitoringa stanja.

Muxika, I., Á. Borja, J. Bald, 2007. Using historical data, expert judgement and multivariate analysis in assessing reference conditions and benthic ecological status, according to the European Water Framework Directive, Marine Pollution Bulletin, 55: 16-29.

Pearson TH, Rosenberg R., 1977. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanogr Mar Biol Ann Rev* 16: 229-311

REFCOND, 2003. Guidance on establishing reference conditions and ecological status class boundaries for inland surface waters. Produced by Working Group 2.31 Reference conditions for inland surface (REFCOND), Common Implementation Strategy of the WaterFramework Directive, European Commission, 86 pp.

Software used for calculation of National metrics: AZTI Technalia AMBI index software (Version 5.0), freely obtained from <http://ambi.azti.es>.