



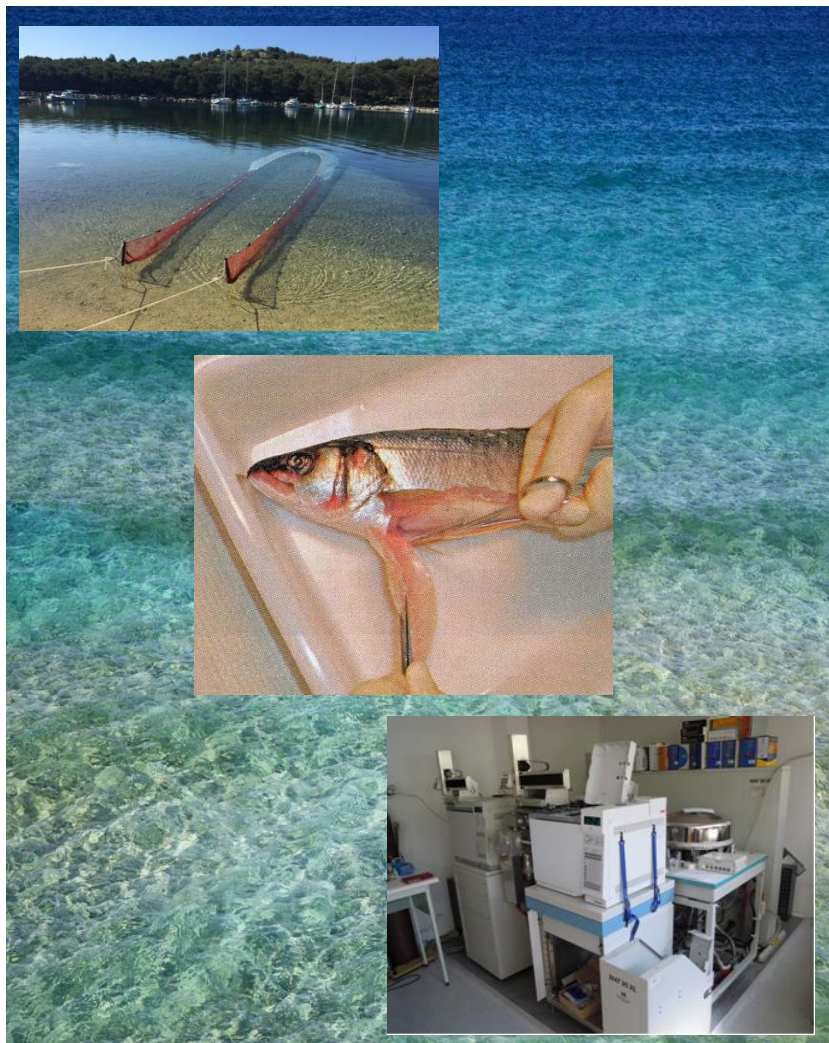
INSTITUT ZA OCEANOLOGIJU I RIBARSTVO SPLIT



Institut Ruđer Bošković



**NACIONALNI LABORATORIJ ZA
ZDRAVJE, OKOLJE IN HRANO**



METODOLOGIJA PROVOĐENJA MONITORINGA BIOTE U PRIJELAZNIM I PRIOBALNIM VODAMA

Split, rujan 2018.



INSTITUT ZA OCEANOGRAFIJU I RIBARSTVO

Šetalište I. Meštrovića 63

21000 Split

HRVATSKA

INSTITUT RUĐER BOŠKOVIĆ

Bijenička cesta 56

10000 Zagreb

Hrvatska

NACIONALNI LABORATORIJ ZA ZDRAVJE,

OKOLJE IN HRANO

Prvomajska ulica 1

2000 Maribor

Slovenija

**METODOLOGIJA PROVOĐENJA MONITORINGA BIOTE U PRIJELAZNIM I
PRIOBALNIM VODAMA**

PRILOG STUDIJE

**REZULTATI SUSTAVNOG ISTRAŽIVANJA KAKVOĆE PRIJELAZNIH I PRIOBALNIH
VODA U 2016. I 2017. GODINI**

Voditelj studije

Dr. sc. Grozdan Kušpilić

Za konzorcij

Ravnatelj

Institut za oceanografiju i ribarstvo

Dr. sc. Nedo Vrgoč

**INSTITUT
ZA OCEANOGRAFIJU I RIBARSTVO
SPLIT 1**

Split, rujan 2018.

Izvešće priredili:

Dr.sc. Nevenka Mikac, IRB

Dr.sc. Sanja Matić Skoko, IOR

Dr.sc. Daria Ezgeta-Balić, IOR

SADRŽAJ**str.**

Pojmovnik stručnih izraza i kratica	4
1. Uvod	5
2. Ciljevi donošenja SKVO za biotu i način definiranja SKVO _{biota}	5
3. Preporuke za provođenja monitoringa biote u okviru Europske direktive o vodama	8
3.1. Dizajniranje programa uzorkovanja	8
3.2. Odabir vrste monitoringa (pasivni ili aktivni biomonitoring)	8
3.3. Preporuke za provođenje pasivnog biomonitoringa	9
3.4. Obrada i prikaz rezultata	10
3.4.1. Normalizacija na sadržaj masti i suhe tvari	10
3.4.2. Utjecaj trofičkog nivoa na ocjenu sukladnosti sa SKVO _{biota}	11
4. Problem usklađivanja rezultata monitoringa biote sa SKVO _{biota} za neke prioritetne tvari	12
5. Izbor vrsta riba za određivanje prioritetnih tvari u prijelaznim i priobalnim vodama	13
5.1. Izbor vrsta riba za određivanje prioritetnih tvari u prijelaznim vodama	13
5.1.1. Ugroženost i zaštita odabranih vrsta riba	14
5.1.2. Ekologija odabranih vrsta riba	14
5.1.3. Trofički nivo odabranih vrsta riba	14
5.2. Izbor vrsta riba za određivanje prioritetnih tvari u priobalnim vodama	15
5.2.1. Ugroženost i zaštita odabranih vrsta riba	16
5.2.2. Ekologija odabranih vrsta riba	16
5.2.3. Trofički nivo odabranih vrsta riba	17
6. Izbor beskralježnjaka za određivanje prioritetnih tvari u prijelaznim i priobalnim vodama	18
6.1. Ekologija odabranih školjkaša	18
7. Problemi pri uzorkovanju biote u nekim vodnim tijelima	19
8. Zaključak	19
9. Literatura	20
10. Prilozi	23
1. Upute za uzorkovanje i pripremu riba za monitoring biote u prijelaznim i priobalnim vodama	23
2. Upute za uzorkovanje i pripremu školjkaša za monitoring biote u prijelaznim i priobalnim vodama	30

Pojmovnik stručnih izraza i kratica

Aktivni biomonitoring – uzorkovanje uzgajanih organizama

Pasivni biomonitoring – uzorkovanje nativnih organizama

PBDE – polibromirani difenileteri

PAH – poliaromatski ugljikovodici

Hg – živa

HCB – heksaklorbenzen

HBCDD – heksabromociklododekan

PFOS – perfluorooktansulfonska kiselina

CIS - CIS (Common Implementation Strategy) vodiči u okviru ODV

ODV – okvirna direktiva o vodama

SKV – standard kakvoće

SKVO – standard kakvoće okoliša

SKVO_{biota} – standard kakvoće okoliša za biotu

SKV_{biota, sek.trov} – standard kakvoće za biotu kad je cilj zaštita organizama na vrhu trofičkog lanca od sekundarnog trovanja

SKV_{biota,ljud.zdrav} – standard kakvoće za biotu kad je cilj zaštita ljudskog zdravlja

1. UVOD

Direktivom 2013/39/EZ o izmjeni Okvirne direktive o vodama 2000/60/EZ i direktive 2008/105/EZ u odnosu na prioritetne tvari u području vodne politike, proširena je lista prioritetnih tvari za koje su definirani standardi kakvoće okoliša (SKVO), te su za odabrane prioritetne tvari definirani kriteriji za biotu. Navedene promjene (definiranje SKVO za biotu) uvedene su u hrvatsku regulativu Uredbom o izmjenama i dopunama uredbe o standardu kakvoće voda iz 2015. godine (NN 78/2015), a kojom se nadopunjava Uredba o standardu kakvoće vode iz 2013. godine (NN 73/2013). Postojanje hrvatske regulative o ocjeni kemijskog stanja voda na osnovu mjerenja koncentracija prioritetnih tvari u bioti omogućava korištenje biote u monitoringu vodnih tijela i ocjeni njihovog kemijskog stanja. U svrhu razvoja usklađene strategije monitoringa voda u okviru Okvirne direktive o vodama (2000/60/EZ), 2014. godine objavljen je Dokument Evropske komisije br. 32 „O monitoringu biote (primjeni SKVO za biotu) u okviru Evropske direktive o vodama“ (Evropska komisija, 2014a). Taj dokument daje preporuke za provođenje monitoringa biote u državama članicama Evropske unije i služi kao baza za donošenje metodologije provođenja monitoringa biote u Hrvatskoj. Na osnovu tog dokumenta potrebno je donijeti preporuke za provođenje monitoringa biote na osnovu postojećih hrvatskih dokumenata o provođenju monitoringa u Okviru direktive o vodama, te dostupnim vodenim organizmima u već definiranim vodnim tijelima u Hrvatskoj u kojima se sustavno istraživanje površinskih voda provodi od 2012. godine.

2. Ciljevi donošenja SKVO za biotu i način definiranja SKVO_{biota}

Standardi kvalitete okoliša za biotu doneseni su sa ciljem zaštite slatkovodnih i morskih sustava od neželjenih učinaka koje štetne tvari mogu imati na vodene organizme i čovjeka putem prehrane vodenim organizmima. SKVO u za biotu imaju dva osnovna cilja:

- 1) zaštita od bioakumulacije štetnih tvari u prehrambenom lancu, što se posebno odnosi na sisavce i ptice koje se nalaze na vrhu prehrambenog lanca i kod kojih postoji rizik od sekundarnog trovanja putem konzumacije ulova zagađenog opasnim tvarima. Standard se označava sa SKVO_{biota, sek.trov}.
- 2) zaštita ljudskog zdravlja od štetnih efekata zbog konzumacije vodenih organizama (ribe, školjkaša, rakova, ribljih ulja i sl.) kontaminiranih opasnim tvarima. Standard se označava sa SKVO_{biota, ljud.zdrav}.

U dokumentu kojim se definira način donošenja SKVO za biotu (Evropska komisija, 2011) navodi se da su navedeni standardi definirani za ptice i sisavce, ali da se također smatraju prihvatljivim i za zaštitu bentoskih i pelagičkih organizama.

Trenutno su u Evropi i Hrvatskoj SKVO za biotu definirani za 11 prioritetnih tvari koje su navedene u Tablici 1., a koje su utvrđene na osnovu ekotoksikoloških testova o toksičnim učincima tih tvari na istraživane organizme, uzimajući u obzir i odgovarajući faktor procjene rizika.

Tablica 1. Prioritetne tvari za koje su definirane SKVO za biotu.

Broj	Naziv prioritetne tvari	CAS broj	EU broj	Utvrđena kao prioritetna opasna tvar	SKVO _{biota} µg/kg m.t.
(5)	Polibromirani difenileteri	32534-91-9		X	0,0085
(15)	Fluoranten	206-44-0	205-912-4		30
(16)	Heksaklorbenzen	118-74-1	204-273-9	X	10
(17)	Heksaklorobutadien	87-68-3	201-765-5	X	55
(21)	Živa i njezini spojevi	7439-97-6	231-106-7	X	20
(28)	Benzo(a)piren	50-32-8	200-028-5	X	5
(34)	Dikofol	115-32-3	204-082-0	X	33
(35)	Perfluoroktansulfonska kiselina (PFOS)	1763-23-1	217-179-8	X	9,1
(37)	Dioksini i spojevi poput dioksina	-	-	X	0,0065 (zbroj TEQ)
(43)	Heksabromociklododekan (HBCDD)	25637-99-43194-55-6	-	X	167
(44)	Heptaklor i heptaklorepoksid	76-44-8/1024-57-3	200-962-3/213-831-0	X	0,0067

TEQ- toksični ekvivalenti prema čimbenicima toksične ekvivalencije

U dokumentu je također definirano u kojoj se vrsti organizama, s obzirom na njezin položaj u prehrambenom lancu, trebaju analizirati pojedine prioritetne tvari (Tablica 2). Izbor vrste organizma definiran je potencijalom pojedinih prioritetnih tvari za biomagnifikaciju u prehrambenom lancu. Većina prioritetnih tvari je podložne biomagnifikaciji i one se trebaju analizirati u ribama koje su na višem trofičkom nivou. Izuzetak su PAH-ovi (poliaromatski ugljikovodici) kao što su fluoranten i benzo(a)piren koji se jače akumuliraju u beskralježnjacima, zbog toga što se ti spojevi metaboliziraju u ribama, te se PAH-ovi trebaju analizirati u organizmima na nižem trofičkom nivou kao što su rakovi ili školjkaši. Za analizu riba predviđena je analiza dviju različitih vrsta tkiva, s obzirom na to da li se radi o zaštiti od sekundarnog trovanja ili zaštiti ljudskog zdravlja. Za zaštitu predatora koji konzumiraju cijelu ribu predviđena je analiza cijele ribe, a za zaštitu zdravlja čovjeka (kad se konzumira očišćena riba) predviđena je analiza mišićnog tkiva ribe. U Tablici 2. prikazano je za svaku prioritetnu tvar za koju je definiran SKVO_{biota} koji je cilj zaštite, koja vrsta organizma se treba analizirati, kao i tip tkiva koji treba analizirati kod riba.

Kod riba cilj zaštite (sekundarno trovanje ili ljudsko zdravlje) značajno utječe na vrijednost standarda kakvoće (Tablica 3), zbog činjenice da se u jednom slučaju odnosi na analizu cijele ribe, a u drugom na analizu mišićnog tkiva. Naime, većina spojeva nije u ribama raspodijeljena jednoliko po tkivima, nego se, ovisno o kemijskim svojstvima, više akumuliraju u masnim tkivima (hidrofobni organski spojevi), u mišićnom tkivu (MeHg) ili u utrobnim organima (metali). Zbog izrazito velikih razlika u SKVO_{biota} za ta dva cilja, posebice za PBDE, fluoranten i heptaklor, korištenjem samo jedne vrste tkiva za analizu svih prioritetnih tvari (što bi bilo praktično s aspekta provođenja monitoringa) onemogućava se relevantna ocjena kemijskog stanja putem korištenja SKVO_{biota} za ciljeve kako su definirani u regulativi. Ako bi se analizirao samo mišić riba generalno bi se podcijenio rizik za predatore kao i ljude koji konzumiraju cijelu ribu, a kod analize cijele ribe dolazilo bi do precjenjivanja rizika za ljudsko zdravlje za većinu spojeva (naročito za PBDE, HCB, PFOS, dioksine i heptaklor/heptaklorepoksid), osim za živu čija koncentracija je viša u mišiću. Moguće je odrediti konverzijski faktor između

koncentracije u cijeloj ribi i mišiću, ali s obzirom na veći broj vrsta koji se obično u monitoringu koristi, određivanje takvog faktora tražilo bi zahtjevna dodatna istraživanja. Također je moguće koristiti normalizaciju na sadržaj lipida, ali taj pristup je također zahtjevan i može rezultirati velikim greškama ako normalizacija nije ispravno provedena. Zbog svega navedenog smatramo da se najkorektnija ocjenu kemijskog stanja putem biomonitoringa može provesti na način da se za prioritete tvari za koje je cilj zaštita od sekundarnog trovanja analizira cijela riba, a za one za koje je cilj zaštita ljudskog zdravlja analizira mišićno tkivo.

Tablica 2. Vrsta organizama, cilj zaštite i vrsta ribljeg tkiva za analizu za svaku pojedinu prioritetnu tvar za koju je definirana vrijednost $SKVO_{biota}$

Broj	Naziv prioritetne tvari	Vrsta organizma	Cilj zaštite	Tkivo za analizu
(5)	Polibromirani difenileteri	Ribe	Ljudsko zdravlje	Mišić ribe
(15)	Fluoranten	Rakovi i školjkaši	Ljudsko zdravlje	Ukupno meko tkivo
(16)	Heksaklorbenzen	Ribe	Ljudsko zdravlje	Mišić ribe
(17)	Heksaklorobutadien	Ribe	Sekundarno trovanje	Cijela riba
(21)	Živa i njezini spojevi	Ribe	Sekundarno trovanje	Cijela riba
(28)	Benzo(a)piren	Rakovi i školjkaši	Ljudsko zdravlje	Ukupno meko tkivo
(34)	Dikofol	Ribe	Sekundarno trovanje	Cijela riba
(35)	Perfluoroktansulfonska kiselina (PFOS)	Ribe	Ljudsko zdravlje	Mišić ribe
(37)	Dioksini i spojevi poput dioksina	Ribe, rakovi i školjkaši	Ljudsko zdravlje	Mišić ribe ili ukupno meko tkivo
(43)	Heksabromociklododekan (HBCDD)	Ribe	Sekundarno trovanje	Cijela riba
(44)	Heptaklor i heptaklorepoxid	Ribe	Ljudsko zdravlje	Mišić ribe

Tablica 3. Standardi kakvoće (SKV_{biota}) za dva različita cilja zaštite.

Broj	Naziv prioritetne tvari	$SKVO_{biota, ljud. zdrav.}$ $\mu\text{g}/\text{kg m.t.}$	$SKVO_{biota, sek. trov.}$ $\mu\text{g}/\text{kg m.t.}$
(5)	Polibromirani difenileteri (PBDE)	0,0085	44
(15)	Fluoranten (PAH)	30	11522
(16)	Heksaklorbenzen (HCB)	10	16,7
(17)	Heksaklorobutadien (HCBE)	12,2	55
(21)	Živa i njezini spojevi (Hg)	500	20
(28)	Benzo(a)piren (PAH)	5	Nema podataka
(34)	Dikofol	134	33
(35)	Perfluoroktansulfonska kiselina (PFOS)	9,1	33
(37)	Dioksini i spojevi poput dioksina	0,0065 (zbroj TEQ)	0,0012 (zbroj TEQ)
(43)	Heksabromociklododekan (HBCDD)	6100	167
(44)	Heptaklor i heptaklorepoxid	0,0067	33

3. Preporuke za provođenja monitoringa biote u okviru Europske direktive o vodama

3.1. Osmišljavanje programa uzorkovanja

Sustavno istraživanje ekološkog i kemijskog stanja prijelaznih i priobalnih voda u Republici Hrvatskoj, prema zahtjevima Okvirne direktive o vodama koji su preneseni u hrvatsko zakonodavstvo, organizira se na način da se može ocijeniti ekološko i kemijsko stanje unutar razmatranog vodnog tijela/bazena. Uzorkovanje biote može se provoditi unutar nadzornog, operativnog ili istraživačkog monitoringa, međutim najčešće se provodi unutar nadzornog monitoringa. Preporuka je da se uzorkovanje biote provodi jednom godišnje na svim lokacijama koje su odabrane za provođenje nadzornog monitoringa. Iz praktičnih razloga trebalo bi razmotriti mogućnost kombiniranja uzorkovanje biote za kemijski monitoring sa uzorkovanjem biote za ekološki monitoring, čime se osigurava smanjenje troškova, kao i kompletna biološka karakterizacija biote koja se koristi u kemijskom monitoringu. Potreban broj uzoraka biote, koji omogućava pouzdanu ocjenu dobivenih rezultata s obzirom na definirane SKVO za biotu, ovisi o očekivanoj (mjerenoj) varijabilnosti koncentracije u tim uzorcima kao i zadanom nivou pouzdanosti kod usklađivanja sa $SKVO_{biota}$. Varijabilnost koncentracija na pojedinoj lokaciji trebala bi se utvrditi analizom većeg broja individualnih uzoraka biote za što bi bio potreban dodatni istraživački monitoring. S obzirom da su sredstva za takve svrhe obično ograničena, smatra se da kombinirani uzorci biote koji sadrže veći broj individualnih uzoraka daju dovoljno dobru procjenu srednje koncentracije pojedine prioritetne tvari u bioti na određenoj lokaciji, premda je tim pristupom izgubljen podatak o varijabilnosti koncentracija.

U preporukama navedenim u Dokumentu br. 32 (Evropska komisija, 2014a) spominje se i mogućnost prethodne ocjene stupnja zagađenja područja u kojem treba provoditi monitoring na osnovu mjerenja provedenih u vodi ili sedimentu, te uvođenja monitoringa biote samo u vodnim tijelima gdje je zagađenje utvrđeno. Međutim, kako su koncentracije tvari u vodi podložne velikim varijacijama, a za većinu prioritetnih tvari nema pouzdanih podataka o bioakumulacijskim faktorima, iz koncentracija u vodi nije moguće pouzdano procijeniti akumulaciju u žive organizme. Također se spominje moguće korištenje pasivnih uzorkivača (koji se mogu koristiti i za vodu i za sediment) za procjenu udjela tvari koji je biodostupan. Korištenje pasivnih uzorkivača omogućava procjenu bioakumulacije hidrofobnih organskih tvari u organizme na najnižem stupnju trofičkog lanca.

3.2. Odabir vrste monitoringa (pasivni ili aktivni biomonitoring)

Prilikom monitoringa biote mogu se koristiti dva pristupa, pasivni monitoring (uzorkovanje nativnih organizama) i aktivni monitoring (korištenje uzgajanih organizama). Prednosti i nedostaci za ta dva pristupa biomonitoringu ukratko su navedeni u Tablici 4.

Pasivni monitoring, tj. uzorkovanje nativnih vodenih organizama na odabranim lokacijama je metoda koja se najčešće koristi i za koju je razvijena standardna metodologija biomonitoringa. Glavne prednosti te metode su da daje mogućnost ocjene dugoročnog utjecaja zagađenja i da je primjenljiva (uz odgovarajući izbor vrsta) istovremeno na velikom broju lokacija. Za razliku od pasivnog, aktivni monitoring daje uvid samo u kratkoročne efekte zagađenja (ograničen trajanjem uzgoja), ograničen je na odabrane lokacije gdje postoji uzgoj, kao i na mali broj vrsta koji se mogu uzgajati. Zbog toga se aktivni monitoring preporuča samo na lokacijama gdje nije moguće uzorkovanje nativnih organizama, a potrebno je provesti biomonitoring i ocijeniti akumulaciju prioritetnih tvari u bioti.

Tablica 4. Prednosti i nedostaci pasivnog i aktivnog biomonitoringa.

	Pasivni biomonitoring (korištenje nativnih organizama)	Aktivni biomonitoring (korištenje uzgajanih organizama)
Prednosti	Jednostavna organizacija uzorkovanja Moguća ocjena dugoročnog zagađenja Najčešće korišten, postoji metodologija Relevantan za lokalnu ekologiju	Moguć izbor i vrijeme mjesta uzorkovanja Poznato vrijeme izloženosti zagađenju Moguća kontrola biotskih parametara Predvidljivost troškova uzorkovanja
Nedostaci	Ovisnost o geografskoj rasprostranjenosti Pokretljivost i migracije vrsta Broj jedinki varira od lokacije do lokacije Nepoznato vrijeme izloženosti zagađenju Biotski faktori utječu na rezultat Mogući utjecaj na lokalnu populaciju	Nije primjenljiv na sve vrste Ukazuje samo na kratkoročni utjecaj zagađenja Nema standardizirane metodologije Primjenjuje se rijetko Način uzgoja utječe na organizme i akumulaciju Nije moguća ocjena utjecaja sedimenta

3.3. Preporuke za provođenje pasivnog biomonitoringa

Odabrane vrste organizama trebaju po mogućnosti zadovoljiti slijedeće kriterije:

- Rasprostranjenost i zastupljenost u području istraživanja
- Široka rasprostranjenost u zemlji u kojoj se provodi monitoring (korištenje različitih vrsta je obično neizbježno, ali treba težiti korištenju što manjeg broja vrsta)
- Vežanost za područje (sedentarni organizmi koji odražavaju lokalni stupanj zagađenja)
- Dugoživuće vrste koje omogućavaju bioakumulaciju zagađivala u dužem periodu (starosti 3-5 godina za ribe, ako je moguće)
- Veličina jedinki koja omogućava prikupljanje dovoljne količine tkiva za analizu
- Nisu zaštićene vrste i njihovo uzorkovanje ne ugrožava socioekonomske interese
- Nalaze se na trofičkom nivou koji odgovara cilju zaštite (TL = 3,5-4,5 za ribe, ako je moguće)

Izbor odgovarajućih vrsta donosi se na bazi postojećih saznanja i nacionalnih baza podataka o vrstama u područjima gdje se provodi monitoring, a uzimajući u obzir gore navedene kriterije. S obzirom na velike klimatske razlike u Evropi nemoguće je odabrati jednu vrstu koja bi se koristila u više zemalja. Također se često unutar jednog riječnog sustava koristi jedna vrsta u gornjem, brzinskom toku, a druga vrsta u donjem, mirnom dijelu rijeke. Najčešće korištene vrste riba u biomonitoringu u Evropskim rijekama su pastrva, klen, mrena, grgeč i deverika, a u Sredozemnom moru trlja, lubin, orada, arbun i vrste iz porodice glavoča. Konačni izbor vrste obično je kompromis između vrste koja zadovoljava većinu potrebnih kriterija i vrste koju se realno može uzorkovati u dovoljnom broju i na većini lokacija na kojima se monitoring provodi.

Niz bioloških faktora utječe na akumulaciju tvari u organizme, kao što su prehrana, nivo u prehrambenom lancu, količina masti, veličina i starost, spol, migracije i sezona. Jedna od najvažnijih je veličina ribe tj. njezina starost. Zbog toga bi bilo poželjno da se uzorkuju ribe unutar određenih veličinskih granica, tj. relativno definirane starosti, te da se iz veličine ribe procijeni njezina starost koristeći podatke o lokalnim populacijama u nacionalnim bazama podataka. Ako je moguće, bilo bi poželjno odrediti starost ribe koristeći otolite ili škrge. Preporučena starost riba za biomonitoring bila bi 3-5 godina, ali s obzirom da tu preporuku često nije moguće slijediti, potrebno je barem uvijek uzorkovati istu vrstu riba u definiranom rasponu veličine. Dobro bi bilo odrediti i kondicijski faktor

riba ($K=100 W/TL^3$; W – masa, TL -ukupna dužina), za što je potrebno odrediti ukupnu dužinu i masu ribe, mada nije pokazano da K znatno utječe na akumulaciju zagađivala, osim u ekstremnim slučajevima pothranjenosti riba. Premda spol može utjecati na koncentraciju zagađivala, taj utjecaj je mali, a određivanje spola nije jednostavno, tako da određivanje spola nije potrebno. Utjecaj sezone na koncentraciju u tkivu može biti značajno zbog reproduksijskih ciklusa, pogotovo direktno prije i poslije mrijesta. Zbog toga je potrebno izbjegavati uzorkovanje riba i školjaka za vrijeme i direktno prije i poslije sezone mriještenja.

3.4. Obrada i prikaz rezultata

3.4.1. Normalizacija na sadržaj masti i suhe tvari

Normalizacija koncentracija izmjerenih u bioti na sadržaj masti ili suhe tvari omogućava bolju usporedbu podataka u različitim Evropskim zemljama, te pomaže kod procjene bioakumulacijskog potencijala za pojedine vrste u usporedbi s koncentracijama tih tvari u vodi. Premda normalizacija izmjerenih koncentracija na standardni sadržaj masti odnosno suhe tvari u bioti može biti korisna pri usporedbi ocjene usklađenosti stanja u različitim Evropskim zemljama, njezino korištenje se ne preporuča za ocjenu usklađenosti u lokalnim sustavima, tj. u pojedinim zemljama.

Za hidrofobne prioritetne tvari koje imaju afinitet prema akumulaciji u masnim tkivima riba izmjerene koncentracije mogu biti normalizirane na prosječni sadržaj masti (EC, 2011). Osnova za normalizaciju na sadržaj masti je pretpostavka da je sadržaj prioritetne tvari u masti proporcionalan sadržaju te tvari u cijelom organizmu. Za tvari koje se ne akumuliraju u masnom tkivu, kao što je to npr. živa, normalizacija se može provesti na sadržaj suhe tvari.

Na nivou Evrope preporučene su vrijednosti sadržaja masti i suhe tvari u ribama i školjkašima (slatkovodnim i morskim) na koje treba vršiti normalizaciju koncentracija tvari izmjerenu u mokrim tkivima. Za normalizaciju na sadržaj masti koncentracije mjerene u ribama se normaliziraju na 5 % masti (EC, 2011), dok se za školjke normaliziraju na 1 % masti. Za normalizaciju na suhu težinu kod riba se koristi standardni sadržaj suhe tvari od 26 %, a kod školjkaša 8,3 % (EFSA, 2009). Da bi se normalizacija mogla napraviti potrebno je izmjeriti sadržaj masti i suhe tvari u analiziranim uzorcima. U tu svrhu bi se mogli koristiti i podaci za sadržaj masti i suhe tvari za analizirane vrste iz FishBase, ali se zbog varijabilnosti tih podataka za prirodne uzorke preporuča određivanje u sadržaja masti i suhe tvari u stvarnim uzorcima na kojima se provodi monitoring.

Izračun koncentracija normaliziranih na sadržaj masti ($conc_{norm,masti}$) i na sadržaj suhe tvari ($conc_{norm,s.t.}$) iz izmjerenih koncentracija ($conc_{izmj}$) vrši se prema slijedećim formulama:

Za ribe:

$$conc_{norm,masti} = conc_{izmj} \times 0,05 / \text{sadržaj masti} \text{ i } conc_{norm,s.t.} = conc_{izmj} \times 0,26 / \text{sadržaj suhe tvari}$$

Za školjkaše:

$$conc_{norm,masti} = conc_{izmj} \times 0,01 / \text{sadržaj masti} \text{ i } conc_{norm,s.t.} = conc_{izmj} \times 0,083 / \text{sadržaj suhe tvari}$$

U preporukama za provedbu Monitoringa (EC, 2014a) za rakove nije definiran sadržaj masti i suhe tvari na koje treba vršiti normalizaciju koncentracija.

3.4.2. Utjecaj trofičkog nivoa na ocjenu sukladnosti sa SKVO_{biota}

Standardi za biotu trebali bi se primijeniti za određivanje u vrstama koje su najviše izložene akumulaciji prioriternih tvari, tj. onih koje se nalaze na vrhu vodenog prehrambenog lanca. Za one tvari koje su podložne biomagnifikaciji (povećavanju koncentracije u prehrambenom lancu) kritična koncentracija se obično dostiže na trofičkom nivou (TL) 3 do 4 za slatkovodni prehrambeni lanac i TL = 5 za morski prehrambeni lanac. Bioakumulacija u prehrambenom lancu karakteristika je većine prioriternih tvari za koje su definirani SKVO_{biota}, osim za PAH-ove (fluoranten i benzo(a)piren), koji se puno više akumuliraju na nižim nivoima prehrambenog lanca (TL = 2), a metaboliziraju se u ribama. Zbog toga nije pogodno određivati PAH-ove u ribama, već ih treba određivati u školjkašima i rakovima. Smatra se da se grabežljivci na koje se odnosi zaštita (sisavci i ptice) uglavnom nalaze na trofičkom nivou 4,5 u slatkovodnom i 5,5 u morskom prehrambenom lancu. To znači da se organizmi kojima se hrane nalaze na trofičkom nivou 3,5 u slatkovodnom i 4,5 u morskom prehrambenom lancu. Podaci o konzumaciji slatkovodne i morske ribe u Evropi pokazuju da se konzumiraju uglavnom vrste koje se nalaze na trofičkom nivou oko 4 (srednji trofički nivo iz FishBaze je 3,8). Zbog toga je SKVO_{biota} za ribe definiran za ribe koje se nalaze na TL = 3, 5 do 4,5.

Organizmi koji se uzorkuju u okviru monitoringa i u kojima se određuju prioritetne tvari trebali bi biti na sličnom položaju u trofičkom lancu kao i organizmi za koje su definirani SKVO_{biota}. Trofički nivo nije točno definiran za svaku pojedinu vrstu ribe, jer on značajno varira od jednog ekosustava do drugog i od jedne jedinice do druge, ovisno o dostupnosti hrane i uvjetima u okolišu. To znači da bi svakoj lokalnoj vrsti koja se koristi za analizu prioriternih tvari trebalo odrediti na kojem nivou prehrambenog lanca se nalazi. Određivanje položaja u prehrambenom lancu se vrši pomoću određivanja stabilnih izotopa dušika ($\delta^{15}\text{N}$) na različitim stupnjevima trofičkog lanca prema formuli:

$$\text{TL} = ((\delta^{15}\text{N}(\text{riba}) - \delta^{15}\text{N}(\text{školjka}))/\text{TMF} + 2$$

gdje TMF (trophic magnification factor – faktor trofičkog obogaćenja) faktor obogaćenja za svaki naredni stupanj i opisuje prosječno povećanje koncentracije tvari od jednog nivoa na drugi, a preporučeno je (EC, 2014b) da se za TMF koristi vrijednost 3.4.

S obzirom da nije uvijek moguće uzorkovati ribe na odgovarajućem nivou u prehrambenom lancu koji put se preporuča ili preračun postojećih SKVO_{biota} na drugi trofički nivo, ili preračun izmjerenih koncentracija na onaj trofički nivo za koji je definiran SKVO_{biota}. Preračun na nižeg na viši trofički nivo (ako je SKVO_{biota} definiran za taj nivo) se ne preporuča jer se proces suprotan biomagnifikaciji („biorazređivanje“) ne može odgovarajuće kvantificirati. Moguće je, međutim, preračunavanje vrijednosti SKVO_{biota} sa višeg trofičkog nivoa na niži trofički nivo „x“ (SKVO_{biota,x}) na kome se nalaze organizmi koji se koriste u monitoringu, ili pak preračunavanje izmjerene koncentracije na trofički nivo za koji je definiran SKVO_{biota} prema formulama:

$$\text{SKVO}_{\text{biota},x} = \text{SKVO}_{\text{biota}}/\text{TMF}^{(4-\text{TL}(x))} \quad \text{ili} \quad \text{konc}_{\text{TL-kor}} = \text{konc}_{\text{izm}}/\text{TMF}^{(4-\text{TL}(x))}$$

Međutim, kako je određivanje trofičkog nivoa za lokalne riblje vrste vrlo zahtjevno, a korekcije izmjerenih podataka na neki drugi trofički nivo mogu uvesti velike pogreške u sustav ocjene usklađenosti sa SKVO_{biota} (prije svega zbog nepouzdanosti faktora TMF za lokalne prehrambene lance), ne preporuča se korištenje tih korekcija u okviru monitoringa. Bilo bi međutim poželjno mjeriti koncentracije u ribama koje su na TL = 3,5 – 4,5 za koje su definirani SKVO_{biota}. Ukoliko to nije

moguće svakako treba za korištene vrste riba prikupiti podatke o trofičkom nivou na kojem se nalaze ili iz dostupnih baza podataka (FishBase), ili, što bi bilo poželjnije, konkretne podatke za te vrste riba.

4. Problem usklađivanja rezultata monitoringa biote sa SKVO_{biota} za neke prioritetne tvari

Nakon što se monitoring biote za prioritetne tvari počeo provoditi u zemljama Evropske unije pokazalo se da su neke od definiranih SKVO vrijednosti za ribe tako niske da gotovo sva mjerenja u uzorcima slatkovodnih i morskih riba pokazuju višestruko veće koncentracije od SKVO_{biota} vrijednosti.

Najveći problem u tom smislu predstavlja vrlo niska vrijednost za SKVO za Hg u ribama (20 µg/kg m.t.) koja je definirana za zaštitu od sekundarnog trovanja ptica i sisavaca koji se hrane ribama. Svi dostupni podatci o koncentracijama Hg u slatkovodnim i morskim ribama (Atlantik, Mediteran, Jadran), pogotovo za vrste koje zadovoljavaju zahtjeve za monitoring (mesojedi ili svežderi, starost 3-4 godine, TL=3,5-4,5) znatno su viši od te SKVO vrijednosti (Živković i sur., 2017; OSPAR 2016; Vignati i sur., 2013). OSPAR-ova komisija je u 2016. godini napravila studiju „Procjena žive u morskom okolišu, usporedba kriterija (EAC/EQS) za živu“ u kojoj je pokazano da uz primjenu SKVO kriterija (uz korekciju na traženi trofički nivo za školjkaše i ribe koje se nalaze na nižim TL) niti jedna 12 evropskih zemalja koja sudjeluje u monitoringu u okviru OSPARA nije zadovoljila SKVO kriterij za Hg. U istom izvještaju se međutim navodi da je s ekotoksikološkog aspekta SKVO za Hg opravdano tako nizak, premda je napomenuto da su laboratorijska ekotoksikološka ispitivanja u stvari nedostatna. U istom izvještaju je naglašeno da korekcije na potreban trofički nivo ne bi trebalo provoditi koristeći generičke podatke o TL za pojedine organizme, nego da bi trebalo odrediti TL za analizirane vrste u lokalnim vodenim sustavima, jer upotreba generičkih podataka dovodi do velikih pogrešaka. Također se navodi potreba da se za analizirane vrste riba definiraju omjeri koncentracija filet/cijela riba, što je posebno važno za Hg, jer se u okviru morske direktive (koja treba biti povezana sa direktivom o vodama) treba ocjenjivati i opasnost za predatore (deskriptor 8) i za ljudsko zdravlje (deskriptor 9). U kratkom osvrtu na to kako zemlje članice mogu pristupiti problemu nezadovoljavanja kriterija za SKVO za biotu za Hg Vignati i sur. (2013) navode nekoliko opcija koje se mogu razmotriti: korištenje SKVO baziranom na koncentraciji Hg u vodi; mjerenje Hg u nižim organizmima, npr. školjkašima; ili definiranje nove lokalne SKVO vrijednosti za pojedinu zemlju ovisno o nivou Hg u lokalnim ribama (određivanje lokalnih bazičnih koncentracija). Međutim, u diskusiji autori odbacuju sve te tri ideje kao rješenje i predlažu da se počne provoditi prošireni monitoring Hg u bioti koji bi omogućio definiranje raspona koncentracija za pojedine organizme i vremenskih trendova, a onda i posljedično možda omogućio donošenje manje striktnih kriterija za SKVO za Hg u bioti. Naime bioakumulacija i biomagnifikacija Hg u vodenom trofičkim lancu je izuzetno kompleksna i u velikoj mjeri ovisi o biogeokemijskim karakteristikama samog sustava, a ne samo o stupnju zagađenja okoliša živom (Cossa i sur., 2012).

Za polibromirane difeniletere (PBDE) također je postavljena vrlo niska vrijednost za SKVO za biotu od 0,0085 µg/kg m.t. Rezultati znanstvenih istraživanja (Eljatrat i Barcelo, 2018) i monitoringa biote (HELCOM, 2018) pokazuju da je trenutačno situacija takva da sve mjerene koncentracije daleko premašuju SKVO za PBDE. Premda višegodišnji trendovi u morskim (HELCOM; 2018) i slatkovodnim (Eljatrat i Barcelo, 2018) ribama pokazuju da koncentracije PBDE-ova u ribama smanjuju, jer upotreba PBDE-ova opada nakon što je njihovo korištenje zabranjeno u Evropskoj uniji 2004. godine, nije za očekivati da će navedeni kriterij biti dosegnut do 2021. godine, kako je traženo u Evropskoj

direktivi. Dakle u okviru monitoringa biote u prijelaznim i priobalnim vodama svakako bi trebalo provoditi monitoring PBDE-ova u bioti da se utvrde trendovi smanjenja njihove koncentracije.

5. Izbor vrsta riba za određivanje prioriternih tvari u prijelaznim i priobalnim vodama

5.1. Izbor vrsta riba za određivanje prioriternih tvari u prijelaznim vodama

Za određivanje prioriternih tvari u prijelaznim vodama izabrane su vrste oligi, *Atherina boyeri* (Risso, 1810) i komarča, *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758). Naime, iako se u prijelaznim vodama lovi više od 125 vrsta riba samo se oligi pojavljuje s visokim postotkom, dok su ostale vrste prisutne s manje od 5 % ukoliko se gledaju srednje vrijednosti po svim tipovima prijelaznih voda (Tablica 5):

Tablica 5. Zastupljenost pojedinih vrsta riba u prijelaznim vodama uzduž istočnojadranske obale

Vrsta	Zastupljenost (%)
<i>Atherina boyeri</i>	63,94
<i>Liza ramada</i>	3,44
<i>Sarpa salpa</i>	2,63
<i>Lithognathus mormyrus</i>	2,42
<i>Symphodus ocellatus</i>	2,40
<i>Pomatoschistus marmoratus</i>	2,23
<i>Liza aurata</i>	2,13
<i>Sardina pilchardus</i>	1,55
<i>Liza saliens</i>	1,51
<i>Sparus aurata</i>	1,38
Ostalo	16,36

Obje izabrane vrste zadovoljavaju većinu karakteristika koje se zahtijevaju za biomonitoring:

- rasprostranjena je duž cijele hrvatske obale Jadrana
- sedentarni organizam koji odražava lokalni stupanj zagađenja
- dugoživuća vrsta koja tolerira široki raspon uvjeta u okolišu
- može akumulirati visoke koncentracije tvari iz morske vode aktivnom ishranom
- veličina jedinki omogućava lako prikupljanje dovoljne količine tkiva za analizu
- nije zaštićena vrsta i njeno uzorkovanje ne ugrožava socioekonomske interese
- nalazi se na trofičkom nivou koji odgovara cilju zaštite (TL = 3)

Za analizu treba koristiti jedinke starosti 1-5 godina. Preporučeno uzorkovanje je izvan sezone mrijesta (Tablica 6). Detalji o mrijestu su opisani pod ekologijom izabrane vrste.

Tablica 6. Preporučena vrsta riba za uzorkovanje u prijelaznim vodama, potrebna dužina i preporučeno razdoblje uzorkovanja.

Vrsta ribe	Dužina (starost)	Period uzorkovanja
oliga, <i>Atherina boyeri</i>	4,5-9,0 cm (1 ⁺ -2 ⁺)	1.7. - 30.10.
komarča, <i>Sparus aurata</i>	20,0-35,0 cm (3 ⁺ -5 ⁺)	1.4. - 30.10.

5.1.1. Ugroženost i zaštita odabranih vrsta riba

Oliga, *Atherina boyeri*: Prema IUCN listi ugroženih vrsta vodi kao najmanje zabrinjavajuća (Least Concern (LC)). Bezopasna je i ima komercijalnu važnost. Lovi se različitim okružujućim mrežama i potegačama (oližnice) te mrežama stajaćicama. Ulov prema statistici FAO-a je oko 6 t (2011).

Komarča, *Sparus aurata*: Prema IUCN listi ugroženih vrsta, ona se vodi kao najmanje zabrinjavajuća (Least Concern (LC)). Bezopasna je i ima komercijalnu važnost. Lovi se različitim okružujućim mrežama, potegačama, mrežama stajaćicama te udičarskim alatima. Prijavljeni ulov prema statistici FAO-a je oko 74 t (2011).

5.1.2. Ekologija odabranih vrsta riba

Oliga, *Atherina boyeri*: Rasprostranjena u istočnom Atlantiku, od Portugala i Španjolske do Mauritanije i Madeire, te u cijelom Sredozemnom i Crnom moru. U Jadranu česta uzduž cijele obale. Visoko eurihalina vrste, čiji odrasli se često nalaze i u prijelaznim i priobalnim vodama, preferirajući mirne ili spore prijelazne vode (Kottelat and Freyhof, 1972; Maugé, 1990;). Nalaze se u donjim dijelovima rijeka, blizu ušća. Odrasli čine guste plove. Oni su mesojedi koji se hrane malim rakovima, crvima, mekušcima (Quignard and Pras, 1986) i ličinkama riba (Kottelat and Freyhof, 1972, Muus and Nielsen, 1999). Trofički status $3,2 \pm 0,36$ (Blanco et al., 2003). Obično može živjeti 1 do 2 godine, rijetko do 4 godine (Kleanthidis and Stergiou, 2006). Neke populacije prolaze migracije u estuarije. Spolovi su odvojeni (diecični), a oplodnja je vanjska. Zreli jedinke se mrijeste u nekoliko navrata (Creech, 1992) s jednim izraženim pikom početkom lipnja. Jaja su bentoska, s dugačkim dlakavim nastavcima s kojima se pričvršćuje za podlogu, često na dubinama od 2 do 6 m. Ličinke su pelagične i često formiraju plove blizu obale (Kottelat and Freyhof, 1972). Dužina prve zrelosti je iznad 5.8 cm pri prvoj godini starosti. Maksimalna zabilježena ukupna dužina je 20 cm.

Komarča, *Sparus aurata*: Rasprostranjena u istočnom Atlantiku, od Britanskog otočja, Gibraltarskih vrata do Zelenog rta i okolo Kanarskog otočja, te u cijelom Sredozemnom moru (Bauchot and Hureau, 1990). Najčešće obitava u livadama morskih cvjetnica i pješćanom dnu, ali i u plitkom području do 30 m dubine, iako se odrasli pojavljuju i do 150 m dubine. Komarča je sedentarna, nalazi se pojedinačno ili u manjim grupama. U proljeće, se često pojavljuje u prijelaznim vodama. Uglavnom mesojed, ponekad biljojed (Bauchot and Hureau, 1990). Hrani se školjkašima, posebice dagnjama i kamenicama. Trofički status $3,7 \pm 0,46$ (Pita et al., 2002). Jedna je od najvažnijih vrsta u akvakulturi Sredozemnog mora. Komarča je proteandrični dvospolac. Prvo sazrijeva kao mužjak, sazrijeva u 1-2 godini života, a mužjaci postaju ženke otprilike u 3 godini života. (Buxton and Garratt, 1990). Mrijest se uglavnom odvija u prosincu. Zrelost dostiže između 25-33 cm, zadnjih godina učestalo ispod 30 cm. Maksimalna dužina 70 cm, uobičajeno oko 35 cm. Najveća zabilježena starost 22 godina (Kraljević et al., 1998).

5.1.3. Trofička razina odabranih vrsta riba

Oliga, *Atherina boyeri*: Oliga je karnivor koji se hrani različitim bentoskim organizmima i ličinkama riba (Kottelat and Freyhof, 1972; Quignard and Pras, 1986; Muus and Nielsen, 1999) i ličinkama riba. Trofički status $3,2 \pm 0,36$ (Blanco et al., 2003).

Komarča, *Sparus aurata*: Hrani se školjkašima, posebice dagnjama i kamenicama. Trofički status $3,7 \pm 0,46$ (Pita et al., 2002).

5.2. Izbor vrsta riba za određivanje prioriternih tvari u priobalnim vodama

Za određivanje prioriternih tvari u priobalnim vodama izabrane su vrste komarča, *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758), trlja blatarica, *Mullus barbatus* (Linnaeus, 1758), trlja od kamena, *Mullus surmuletus* (Linnaeus, 1758), mol, *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758) i arbun, *Pagellus erythrinus* (Linnaeus, 1758). Naime, iako se u priobalnim vodama lovi više od 110 različitih vrsta riba koje imaju komercijalni interes, samo se njih desetak pojavljuje s visokim postotkom ukoliko izdvojimo malu pelagičnu ribu (srdele, incuni) na koje uglavnom otpada preko 60 % ukupnog ulova Republike Hrvatske. To su komarča u priobalnom ribolovu korištenjem različitih pasivnih alata, prvenstveno mreža stajačica i mreža potegača, te mol, trlje i arbun u kočarskom ribolovu, iako se sve navedene vrste mogu uloviti gotovo svim ribolovnim alatima koji su dopušteni u hrvatskom morskom ribarstvu (Tablica 7):

Tablica 7. Zastupljenost pojedinih vrsta riba u komercijalnom ulovu u priobalnim vodama uzduž istočnojadranske obale (nacionalna statistika, 2014)

Vrsta	Zastupljenost (%)
<i>Merluccius merluccius</i>	13,41
<i>Mullus barbatus</i>	13,02
<i>Scomber japonicus</i>	6,62
<i>Trachurus sp.</i>	5,43
<i>Solea sp.</i>	2,98
<i>Sparus aurata</i>	0,90
<i>Pagellus erythrinus</i>	0,85
<i>Mullus surmuletus</i>	0,25
Ostalo	56,53

Svih pet izabranih vrsta zadovoljavaju većinu karakteristika koje se zahtijevaju za biomonitoring:

- rasprostranjena je duž cijele hrvatske obale Jadrana
- sedentarni organizam koji odražava lokalni stupanj zagađenja
- dugoživa vrsta koja tolerira široki raspon uvjeta u okolišu
- može akumulirati visoke koncentracije tvari iz morske vode aktivnom ishranom
- veličina jedinki omogućava lako prikupljanje dovoljne količine tkiva za analizu
- nije zaštićena vrsta i njeno uzorkovanje ne ugrožava socioekonomske interese
- nalazi se na trofičkom nivou koji odgovara cilju zaštite (TL = 3)

Za analizu treba koristiti jedinke starosti 3-5 godina. Preporučeno uzorkovanje je izvan sezone mrijesta (Tablica 8). Detalji o mrijestu su opisani pod ekologijom izabrane vrste.

Tablica 8. Preporučena vrsta riba za uzorkovanje u priobalnim vodama, potrebna dužina i starost pri uzorkovanju.

Vrsta ribe	Dužina (starost)	Mrijest	Vrijeme uzorkovanja
komarča, <i>Sparus aurata</i>	20,0-35,0 cm (3 ⁺ -5 ⁺)	prosinac	1.4. - 30.10.
trlja blatarica, <i>Mullus barbatus</i>	11,0-22,0 cm (3 ⁺ -5 ⁺)	svibanj	1.7. - 30.10.
trlja od kamena, <i>Mullus surmuletus</i>	11,0-25,0 cm (3 ⁺ -5 ⁺)	svibanj	1.7. - 30.10.
mol, <i>Merluccius merluccius</i>	20,0-30,0 cm (3 ⁺ -5 ⁺)	svibanj	1.7. - 30.10.
arbun, <i>Pagellus erythrinus</i>	15,0-25,0 cm (3 ⁺ -5 ⁺)	svibanj	1.7. - 30.10.

5.2.1. Ugroženost i zaštita odabranih vrsta riba

Komarča, *Sparus aurata*: Prema IUCN listi ugroženih vrsta, ona se vodi kao najmanje zabrinjavajuća (Least Concern (LC)). Bezopasna je i ima komercijalnu važnost. Lovi se različitim okružujućim mrežama, potegačama, mrežama stajaćicama te udičarskim alatima. Prijavljeni ulov prema statistici FAO-a za Hrvatsku je oko 74 t (2011).

Trlja blatarica, *Mullus barbatus*: Prema IUCN listi ugroženih vrsta, ona se vodi kao najmanje zabrinjavajuća (Least Concern (LC)). Bezopasna je i ima komercijalnu važnost. Lovi se različitim alatima, ali najčešće povlačnom mrežom kočom. Prijavljeni ulov prema statistici FAO-a za Hrvatsku je oko 110 t (2014).

Trlja od kamena, *Mullus surmuletus*: Prema IUCN listi ugroženih vrsta, ona se vodi kao najmanje zabrinjavajuća (Least Concern (LC)). Bezopasna je i ima komercijalnu važnost. Lovi se različitim alatima, ali najčešće povlačnom mrežom kočom i različitim potegačama te mrežama stajaćicama. Prijavljeni ulov prema statistici FAO-a za Hrvatsku je oko 20 t (2014).

Mol, *Merluccius merluccius*: Prema IUCN listi ugroženih vrsta, ona se vodi kao najmanje zabrinjavajuća (Least Concern (LC)). Bezopasna je i ima komercijalnu važnost. Lovi se različitim alatima, ali najčešće povlačnom mrežom kočom. Prijavljeni ulov prema statistici FAO-a za Hrvatsku je oko 114 t (2014).

Arbun, *Pagellus erythrinus*: Prema IUCN listi ugroženih vrsta, ona se vodi kao najmanje zabrinjavajuća (Least Concern (LC)). Bezopasna je i ima komercijalnu važnost. Lovi se različitim alatima, ali najčešće povlačnom mrežom kočom. Prijavljeni ulov prema statistici FAO-a za Hrvatsku je oko 72 t (2014).

5.2.2. Ekologija odabranih vrsta riba

Komarča, *Sparus aurata*: Rasprostranjena u istočnom Atlantiku, od Britanskog otočja, Gibraltarskih vrata do Zelenog rta i okolo Kanarskog otočja, te u cijelom Sredozemnom moru (Bauchot and Hureau, 1990). Najčešće obitava u livadama morskih cvjetnica i pješčanom dnu, ali i u plitkom području do 30 m dubine, iako se odrasli pojavljuju i do 150 m dubine. Komarča je sedentarna, nalazi se pojedinačno ili u manjim grupama. U proljeće, se često pojavljuje u prijelaznim vodama. Uglavnom mesojed, ponekad biljojed (Bauchot and Hureau, 1990). Hrani se školjkašima, posebice dagnjama i kamenicama. Trofički status $3,7 \pm 0,46$ (Pita et al., 2002). Jedna je od najvažnijih vrsta u akvakulturi Sredozemnog mora. Komarča je proteandrični dvospolac. Prvo sazrijeva kao mužjak, sazrijeva u 1-2 godini života, a mužjaci postaju ženke otprilike u 3 godini života (Buxton and Garratt, 1990). Mrijest se uglavnom odvija u prosincu. Zrelost dostiže između 25-33 cm, zadnjih godina učestalo ispod 30 cm. Maksimalna dužina 70 cm, uobičajeno oko 35 cm. Najveća zabilježena starost 22 godina (Kraljević et al., 1998).

Trlja blatarica, *Mullus barbatus*: Rasprostranjena u istočnom Atlantiku, od Britanskog otočja to Dakra, Senegala, Kanarskog otčja, Sredozemnog i Crnog mora (Ben-Tuvia, 1990). Ima je i na otočju Azori. Spolnu zrelost dostiže s 11,1 cm, a maksimalno zabilježena dužina je 33,2 cm (Filiz, 2011). Nastanjuje pjeskovita i muljevita dna kontinentalnog šelfa raspona dubine od 10-300 m (Ben-Tuvia, 1990) pa sve do 328 m u istočnom Jonskom moru (Mytilineou, 2005). Hrani se malim bentoskim rakovima, crvima i mekušcima (Hureau, 1986). Trofička razina je $3,14 \pm 0,30$ (Papaconstantinou and

Caragitsou, 1987). Odvojenih je spolova s vanjskom oplodnjom. Mrijest se odvija jednom godišnje s vrhuncem u svibnju (Hureau, 1986). Maksimalna zabilježena starost od 11 godina (Stergiou, 1997).

Trlja od kamena, *Mullus surmuletus*: Rasprostranjena u istočnom Atlantiku, od zapadne Norveške, Engleskog kanala (rijetko u Sjevernom moru) do Dakra, Senegala, Kanarskog otočja, Sredozemnog i Crnog mora (Ben-Tuvia, 1990). Spolnu zrelost dostiže s 16,1 cm (ϕ), a maksimalno zabilježena dužina je 40,0 cm (Bauchot, 1987). Nastanjuje čvrsta, pjeskovita i muljevita dna kontinentalnog šelfa raspona dubine od 5-60 m (Ben-Tuvia, 1990) pa sve do 409 m u istočnom Jonskom moru (Mytilineou, 2005). Hrani se malim bentoskim rakovima, amfipodima, crvima, mekušcima i bentičkim ribama (Arculeo et al, 1989). Trofička razina je $3,50 \pm 0,30$. Odvojenih je spolova s vanjskom oplodnjom. Mrijest se odvija jednom godišnje s vrhuncem u svibnju. Maksimalna zabilježena starost od 11 godina (ICES, 2012).

Mol, *Merluccius merluccius*: Rasprostranjen je u istočnom Atlantiku, od Norveške do Islanda do južno od Mauritanije, te u Sredozemnom i Crnom moru (Cohen et al., 1990). Dužina prve spolne zrelosti za Jadran je 24 cm (Dulčić et al., 2005). Maksimalna starost 20 godina (Muus and Nielsen, 1999). Obično obitava na dubinama od 70 do 370 m. Odrasli žive blizu dna tijekom dana, ali se dižu prema površini po noći. Hrane se uglavnom ribom (mali moli, srdele, inćuni,...). Nedorasli se hrane rakovima (posebno eufazidima i amfipodima). Trofički status $4,43 \pm 1,05$ (Bozzano et al., 1997). Mrijeste se u više navrata (Murua and Saborido-Rey, 2003) s vrhuncem u svibnju. U proljeće, nedorasli lokalno migriraju u pliće kanale srednjeg Jadrana radi hrane, a odrasli radi mrijesta. Odrasli se uglavnom love na dubinama od 100-150 m. Zimi nakon mrijesta, odrasli migriraju u dublje vode, i prezimljuju s nedoraslima (Županović and Jardas, 1989). Izgleda da su stockovi poprilično prelovljeni (Muus and Nielsen, 1999).

Arbun, *Pagellus erythrinus*: Rasprostranjen u istočnom Atlantiku, od Norveške do Sredozemnog mora i Gvineje-Bissau, uključujući Zelenortske otočje, Madeiru i Kanare, rijetko zabilježen i u Skandinaviji (Bauchot and Hureau, 1990). Spolnu zrelost dostiže oko 15 cm, a maksimalna zabilježena dužina je 60 cm. Arbun je protoginični dvospolac s vanjskom oplodnjom. Promjena spola iz ženki u mužjake se događa oko 17 cm (3 godina) (Buxton and Garratt, 1990). Moguće da postoje dva razdoblja mrijesta u Sredozemnom moru (Bauchot and Hureau, 1990), ali u Jadranu je vrhunac u svibnju. Nastanjuje obalne vode, na različitom dnu (stjenovito, šljunkovito, pjeskovito i muljevito) do 200m dubine (Sredozemno more) i 300m (Atlantik) i migrira u dublje vode zimi. Omnivoran je, ali uglavnom se hrani bentoskim beskralježnjacima i malom ribom (Bauchot and Hureau, 1990). Trofički status $3,48 \pm 0,12$ (Rosecchi, 1983).

4.2.3. Trofička razina odabranih vrsta riba

Komarča, *Sparus aurata*: Hrani se školjkašima, posebice dagnjama i kamenicama. Trofički status $3,7 \pm 0,46$ (Pita et al., 2002).

Trlja blatarica, *Mullus barbatus*: Hrani se malim bentoskim rakovima, crvima i mekušcima (Hureau, 1986). Trofička razina je $3,14 \pm 0,30$ (Papaconstantinou and Caragitsou, 1987).

Trlja od kamena, *Mullus surmuletus*: Hrani se malim bentoskim rakovima, amfipodima, crvima, mekušcima i bentičkim ribama (Arculeo et al, 1989). Trofička razina je $3,50 \pm 0,30$ (Papaconstantinou and Caragitsou, 1987).

Mol, *Merluccius merluccius*: Hrane se uglavnom ribom (mali moli, srdele, incuni,...). Nedorasli se hrane rakovima (posebno eufazidima i amfipodima). Trofički status $4,43 \pm 1,05$ (Bozzano et al., 1997).

Arbun, *Pagellus erythrinus*: Omnivoran je, ali uglavnom se hrani bentoskim beskralježnjacima i malom ribom (Bauchot and Hureau, 1990). Trofički status $3,48 \pm 0,12$ (Rosecchi, 1983).

6. Izbor beskralježnjaka za određivanje prioriternih tvari u prijelaznim i priobalnim vodama

Za kemijsku ocjenu stanja s obzirom na koncentraciju poliaromatskih ugljikovodika (fluorantena i benzo(a)pirena potrebno je analizirati beskralježnjake koji se nalaze na drugom stupnju trofičkog lanca, tj. mekušce ili rakove.

Za monitoring PAH-ova u prijelaznim i priobalnim vodama odabrana je dagnja *Mytilus galloprovincialis* jer zadovoljava većinu karakteristika koje se zahtijevaju za biomonitoring:

- rasprostranjena je duž cijele hrvatske obale Jadrana
- sedentarni organizam koji odražava lokalni stupanj zagađenja
- dugoživuća vrsta koja tolerira široki raspon uvjeta u okolišu
- može akumulirati visoke koncentracije tvari iz morske vode filtriranjem
- veličina jedinki omogućava lako prikupljanje dovoljne količine tkiva za analizu
- nije zaštićena vrsta i njeno uzorkovanje ne ugrožava socioekonomske interese
- nalazi se na trofičkom nivou koji odgovara cilju zaštite (TL = 2)

Osim toga dagnja *Mytilus galloprovincialis* je organizam koji se već desetljećima koristi kao monitoring organizam u okviru UNEP/MEDPOL programa za praćenje stupnja zagađenja Sredozemnog mora metalima i organskim tvarima, te postoje dugogodišnji nizovi podataka o sadržaju tih tvari u dagnjama sa hrvatske obale Jadrana (<http://baltazar.izor.hr/azopub/bindex>).

Za analizu treba koristiti jedinke veličine 3-6 cm koje odgovaraju starosti od 1-2 godine, a preporučeno je uzorkovanje izvan sezone mrijesta (kraj zime, početak proljeća) (Tablica 9).

Tablica 9. Preporučena vrsta školjaka za uzorkovanje u prijelaznim i priobalnim vodama, potrebna dužina i preporučeni period uzorkovanja.

Vrsta školjaka	Dužina	Period uzorkovanja
Dagnja <i>Mytilus galloprovincialis</i>	3-6 cm	1.3. - 30.4.

6.1. Ekologija dagnje *Mytilus galloprovincialis*

Dagnja, *Mytilus galloprovincialis* rasprostranjena je diljem Mediterana, Crnog mora i Jadranskog mora i tu predstavlja autohtonu vrstu dok se u drugim morima kao npr. duž istočne i zapadne obale Amerike smatra alohtonom i invazivnom vrstom (www.marinespecies.org). Vrsta *M. galloprovincialis* ima određene invazivne značajke i veliku sposobnost uspješnog naseljavanja novih područja (Wonham, 2004). U Jadrana ova vrsta je široko rasprostranjena u prirodnom staništu kao i akvakulturi. Rast i razmnožavanje ove vrste, kao i kod drugih školjkaša može se razlikovati ovisno o uvjetima okoliša, prvenstveno temperaturi i dostupnosti hrane (Gosling, 2015). Ukoliko su uvjeti okoliša povoljni, jedinka može veličinu od 60 do 80 mm postići već u drugoj godini (Marušić et al., 2010). U Jadrano dagnja se mrijesti više puta godišnje, a sazrijevanje i otpuštanje gonada odvija se tijekom većeg dijela godine, od rane jeseni pa do kasnog proljeća a ponekad čak i ljeti (Hrs-Brenko,

1971; Marušić et al 2009). Mrijest dagnje je i u Mediteranu primijećen kroz čitavu godinu, s proljetnim i jesenskim vrhuncem (Dardignac-Corbel, 1990). Raspon saliniteta koji ova vrsta tolerira kreće si između 12 i 38 ‰ (Bayne, 1976).

7. Problemi pri uzorkovanju biote u nekim vodnim tijelima prijelaznih voda

Tijekom prvog uzorkovanja školjaka i riba u svrhu provođenja biološkog monitoringa prioriternih tvari u toku 2016-2017. godine pojavili su se problemi u nalaženju adekvatnih uzoraka u nekim vodnim tijelima prijelaznih voda. U 7 unutarnjih vodnih tijela na granici sa slatkom vodom nisu bile prisutne native dagnje zbog preniskog saliniteta. Radi se o unutarnjim dijelovima ušća rijeka Cetine (P1_2-CEP), Krke (P1_3-KR), Zrmanje (P1_2-ZR), Rječine (P1_2-RJP), Raše (P1_3-RA), Mirne (P1_2-MIP) i Dragonje (P1_2-DRP). Na tim lokacijama nema niti drugih vrsta školjaka, a nisu prisutni niti rakovi, tako da nije bilo moguće naći adekvatne organizme za određivanje PAH-ova koje treba određivati u organizmima na nižoj trofičkoj razini. U slučaju da se utvrdi zagađenje nekog od tih vodnih tijela PAH-ovima (u vodi ili sedimentu), za utvrđivanje biodostupne frakcije mogli bi se eventualno primijeniti pasivni uzorkivači, mada je to vrlo skupa metoda, a rezultate nije jednostavno interpretirati u smislu ocjene bioakumulacije u vodene organizme. U 3 vodna tijela prijelaznih voda u ušćima rijeka Rječine (P1_2-RJP) i Dragonje (P1_2-DRP i P2_2-DR) nije bilo moguće uzorkovanje riba zbog nepovoljne konfiguracije terena (geomorfološke i biološke prepreke). U 3 vodna tijela prijelaznih voda u ušćima rijeka Neretve (P1_2-NEP), Jadro (P1_2-JA) i Raša (P2_3-RA) tijekom svih terenskih izlazaka u 2016. godini nije ustanovljena ciljane vrsta ili je bila prisutna u brojnosti nedovoljnoj za analize. Dakle u dva vodna tijela, unutarnjem dijelu rijeka Rječine (P1_2-RJP) i Dragonje (P1_2-DRP) nije uopće moguće uzorkovanje biote (niti dagnji niti riba), dok u preostalim 9 vodnih tijela nije moguće uzorkovanje ili dagnji ili riba, dakle moguća nije moguća analiza svih prioriternih tvari u bioti.

8. Zaključak

Monitoring biote važan je pri ocjeni kemijskog stanja voda jer omogućava uvid u akumulaciju prioriternih tvari u vodene organizme, kao i procjenu njihovih štetnih učinaka, što nije moguće ocijeniti putem mjerenja koncentracije tvari u vodi i sedimentu.

U ovoj metodologiji date su preporuke za provođenje monitoringa biote u obalnom području hrvatskog Jadrana, a prema generalnim uputama Evropske komisije o monitoringu biote u okviru ODV. U prvom dijelu su predstavljeni ciljevi donošenja standarda kvalitete okoliša za biotu, način dizajniranja monitoringa, kao i preporuke za provođenje pasivnog monitoringa na nativnim organizmima. Definirani su zahtjevi koji se postavljaju na izbor vodenih organizama u kojima se određuje koncentracija prioriternih tvari u svrhu postizanja sukladnosti sa SKVO_{biota} (vrsta, starost, period uzorkovanja itd.), čime se omogućava donošenje ocjene kemijskog stanja voda s obzirom na 11 tvari za koje su definirane SKVO_{biota}. Poliaromatske ugljikovodike, floranten i benzo(a)piren potrebno je određivati u beskralježnjacima, dok se ostale tvari određuju u ribama koje su na višoj trofičkoj razini. Da bi se postigla usklađenost sa SKVO_{biota} (s obzirom na ciljeve zaštite definirane u ODV), predloženo je da se tvari za koje je cilj zaštita od bioakumulacije u prehrambenom lancu (heksaklorobutadien, živa, dikofol, HBCDD) određuju u cijeloj ribi, a da se tvari za koje je cilj zaštita ljudskog zdravlja (PBDE, heksaklorbenzen, PFOS, dioksini) određuju u mišiću ribe. Opisane su i metode obrade podataka koje se eventualno mogu primijeniti po potrebi (normalizacija na masti i suhu tvar), a u svrhu usporedbe izmjerenih koncentracija u bioti na nivou Evropske Unije.

Na osnovu saznanja o prisutnosti i rasprostranjenosti beskralježnjaka i riba u prijelaznim i priobalnim vodama hrvatskog Jadrana predložene su vrste koje treba uzorkovati u pojedinim vodnim tijelima. Za analizu PAH-ova predložena je dagnja *Mytilus Galloprovincialis* i za prijelazne i priobalne vode, te je opisan postupak njezinog uzorkovanja i pripreme za analizu. Uvidom u stanje svih vodnih tijela, utvrđeno je, međutim, da u 7 unutarnjih dijelova vodnih tijela prijelaznih voda dagnja nije prisutna, a nema niti drugih adekvatnih organizama za određivanje PAH-ova. Za analizu ostalih prioriternih tvari predložene su za svako vodno tijelo po 2 vrste riba koje su najprikladnije za uzorkovanje u svrhu monitoringa biote, te je opisana njihova ekologija. Uvidom u mogućnost uzorkovanja riba u svim vodnim tijelima utvrđeno je da u 6 vodnih tijela prijelaznih voda uzorkovanje riba nije bilo moguće, ili zbog nedostatka ribe ili zbog neprikladnih uvjeta za njihovo uzorkovanje. Opisan je način uzorkovanja i pripreme uzoraka, te su definirane količine potrebne za analizu. Kratki opisi uzorkovanja i pripreme za dagnje i ribe dati su u prilogu u obliku kratkih naputaka, kako bi se olakšala primjena predložene metodologije.

9. Literatura

- Arculeo, M., C. Froglija and S. Riggio, 1989. Cossiderazioni sull' alimentazione di alcune specie ittiche dei fondali infralitorali den Golfo di Palermo. *Oebalia* 15, 57-65.
- Bauchot, M.-L. and J.-C. Hureau, 1990. Sparidae. p. 790-812. In J.C. Quero, J.C. Hureau, C. Karrer, A. Post and L. Saldanha (eds.) Check-list of the fishes of the eastern tropical Atlantic (CLOFETA). JNICT, Lisbon; SEI, Paris; and UNESCO, Paris. Vol. 2.
- Bauchot, M.-L., 1987. Poissons osseux. p. 891-1421. In W. Fischer, M.L. Bauchot and M. Schneider (eds.) Fiches FAO d'identification pour les besoins de la pêche. (rev. 1). Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche 37. Vol. II. Commission des Communautés Européennes and FAO, Rome.
- Bayne, B.L. (1976) *Marine Mussels: Their Ecology and Physiology*. Cambridge University Press, 506 pp.
- Ben-Tuvia, A., 1990. Mullidae. p. 827-829. In J.C. Quero, J.C. Hureau, C. Karrer, A. Post and L. Saldanha (eds.) Check-list of the fishes of the eastern tropical Atlantic (CLOFETA). JNICT, Lisbon; SEI, Paris; and UNESCO, Paris. Vol. 2.
- Blanco, S., S. Romo, M.-J. Villena and S. Martínez, 2003. Fish communities and food web interactions in some shallow Mediterranean lakes. *Hydrobiologia* 506-509:473-480.
- Bozzano, A., L. Recasens and P. Sartor, 1997. Diet of the European hake *Merluccius merluccius* (Pisces: Merlucciidae) in the western Mediterranean (Gulf of Lions). *Sci. Mar.* 61, 1-8.
- Buxton, C.D. and P.A. Garratt, 1990. Alternative reproductive styles in seabreams (Pisces: Sparidae). *Environ. Biol. Fish.* 28(1-4):113-124.
- Cohen, D.M., T. Inada, T. Iwamoto and N. Scialabba, 1990. FAO species catalogue. Vol. 10. Gadiform fishes of the world (Order Gadiformes). An annotated and illustrated catalogue of cods, hakes, grenadiers and other gadiform fishes known to date. FAO Fish. Synop. 125(10). Rome: FAO. 442 p.
- Creech, S., 1992. A study of the population biology of *Atherina boyeri* Risso, 1810 in Aberthaw Lagoon, on the Bristol Channel, in South Wales. *J. Fish Biol.* 41:277-286.
- Dardignac-Corbel, M.J. (1990) Traditional mussel culture, In: *Aquaculture Vol. I*, , D. G. Barnabe, (Ed.), Ellis Horwood Chichester, pp 284–341.
- Direktiva 2000/60/EZ Europskog parlamenta i Vijeća od 23. listopada 2000. o uspostavi okvira za djelovanje Zajednice u području vodne politike (Okvirna direktiva o vodama) (SL L 327, 22. 12. 2000.).
- Direktiva 2008/105/EZ Europskog parlamenta i Vijeća od 16. prosinca 2008. o standardima kvalitete okoliša u području vodne politike i o izmjeni i kasnijem stavljanju izvan snage Direktiva Vijeća

82/176/EEZ, 83/513/EEZ, 84/156/EEZ, 84/491/EEZ, 86/280EEZ i izmjeni Direktive 2000/60/EZ Europskog parlamenta i Vijeća (SL L 348, 24. 12. 2008.) – članak 10.

Direktiva 2013/39/EU Europskog parlamenta i Vijeća od 12. kolovoza 2013. o izmjeni direktiva 2000/60/EZ i 2008/105/EZ u odnosu na prioritete tvari u području vodne politike (Tekst značajan za EGP) (SL L 226, 24. 8. 2013.).

Dulčić, J., A. Soldo and I. Jardas, 2005. Review of Croatian selected scientific literature on species mostly exploited by the national small-scale fisheries. p. 134-179. In *AdriaMed. Adriatic Sea Small-scale Fisheries. Report of the AdriaMed Technical Consultation on Adriatic Sea Small-Scale. FAO-MiPAF Scientific Cooperation to Support Responsible Fisheries in the Adriatic Sea. GCP/RER/010/ITA/TD15. AdriaMed Technical Documents, 15:184 pp.*

Eljarrat E., Bareclo D. 2018. How do measured PBDE and HCB levels in river fish compare to the European Environmental Quality Standards? *Environmental Research*, 160, 203-211.

Europska komisija (2010), CIS vodič broj 25. Uputa za kemijski monitoring sedimenta i biote unutar Okvirne direktive o vodama.

Europska komisija (2011), CIS vodič broj 27. Tehnička uputa za uspostavljanje standarda kakvoće okoliša unutar Okvirne direktive o vodama.

Europska komisija (2014a), CIS vodič broj 32. Uputa za monitoring biote unutar Okvirne direktive o vodama

Europska komisija (2014b), CIS vodič broj 33. Uputa za analitičke metode za monitoring biote unutar Okvirne direktive o vodama

Filiz, H., 2011. A new maximum length for the red mullet, *Mullus barbatus* Linnaeus, 1758. *Bijološki Bilimljeni Arasturma Dergisi* 4(2):131-135.

Gosling, E. (2015) *Marine Bivalve Molluscs*, 2nd Edition, Wiley-Blackwell, 536 pp.

HELCOM, 2017. Core indicator report, Polybrominated diphenyl ethers (PBDE), July 2017.

Hrs-Brenko, M. (1971) The reproductive cycle of the *Mytilus galloprovincialis* Lamk in the Northern Adriatic Sea and *Mytilus edulis* L. at Long Island Sound. *Thalass. Jugosl.* 7(2): 533-542 In: *Thalassia Jugoslavica*. Center for Marine Research/Yugoslav Academy of Sciences and Arts: Zagreb. ISSN 0495-4025

Hureau, J.-C., 1986. Mullidae. p. 877-882. In P.J.P. Whitehead, M.-L. Bauchot, J.-C. Hureau, J. Nielsen and E. Tortonese (eds.) *Fishes of the north-eastern Atlantic and the Mediterranean*. UNESCO, Paris. Vol. 2.

ICES, 2012. Report of the Working Group on the Assessment of Demersal Stocks in the North Sea and Skagerrak (WGNSSK), 27 April - 03 May 2012, ICES Headquarters, Copenhagen. ICES CM 2012/ACON:13. 1346 p.

Kleanthidis, P.K. and K.I. Stergiou, 2006. Growth parameters and length-length relationships of Greek freshwater fishes. p. 69-77. In M.L.D. Palomares, K.I. Stergiou and D. Pauly (eds.) *Fishes in databases and ecosystems*. Fisheries Centre Research Reports 14(4). Fisheries Centre, University of British Columbia.

Kottelat, M. and J. Freyhof, 1972. *Handbook of European freshwater fishes*. Publications Kottelat, Cornol and Freyhof, Berlin. 646 pp.

Kraljević, M., Dulčić, J., Tudor M., 1998. Growth parameters of the gilt-head sea bream *Sparus aurata* L. in the eastern Adriatic (Croatian waters). *Periodicum Biologorum* 100:87-91.

Marušić, N., Vidaček, S., Medić, H., Petrak, T. (2009) Indeks kondicije dagnji (*Mytilus galloprovincialis*) u Uvali Budava i u Zaljevu Raša. *Ribarstvo : znanstveno-stručni časopis za ribarstvo* 67, 3; 91-99

Marušić, N., Vidaček, S., Medić, H., Petrak, T. (2010) Rast dagnji (*Mytilus galloprovincialis*, Lamarck, 1819) na istočnoj obali Istre. *Ribarstvo : znanstveno-stručni časopis za ribarstvo* 68, 1; 19-25

- Maugé, L.A., 1990. Atherinidae. p. 604-605. In J.C. Quéro, J.C. Hureau, C. Karrer, A. Post and L. Saldanha (eds.) Check-list of the fishes of the eastern tropical Atlantic (CLOFETA). JNICT, Lisbon; SEI, Paris; and UNESCO, Paris. Vol. 2.
- Murua, H. and F. Saborido-Rey, 2003. Female reproductive strategies of marine fish species of the North Atlantic. *J. Northwest Atl. Fish. Sci.* 33:23-31.
- Muus, B.J. and J.G. Nielsen, 1999. Sea fish. Scandinavian Fishing Year Book, Hedehusene, Denmark. 340 p.
- Mytilineou, C., C.-Y. Politou, C. Papaconstantinou, S. Kavadas, G. D'Onghia and L. Sion, 2005. Deep-water fish fauna in the Eastern Ionian Sea. *Belg. J. Zool.*, 135(2):229-233.
- Narodne novine, 73/13: Uredba o standardu kakvoće voda
- Narodne novine, 151/14: Uredba o standardu kakvoće voda
- Narodne novine, 78/15: Uredba o izmjenama i dopunama uredbe o standardu kakvoće voda
- Narodne novine 152/14: Zakon o morskom ribarstvu
- OSPAR komisija (2016) Mercury assessment in the marine environment. Assessment criteria comparison (EAC/EQS) for mercury.
- Papaconstantinou, C. and E. Caragitsou, 1987. A preliminary study of the feeding habits of red mullet *Mullus barbatus* L. in three marine regions off the western coast of Hellas. *Proc. of the Second Hellenic Symposium on Oceanography and Fisheries*, 577-83.
- Pita, C., S. Gamito and K. Erzini, 2002. Feeding habits of the gilthead seabream (*Sparus aurata*) from the Ria Formosa (southern Portugal) as compared to the black seabream (*Spondyllosoma cantharus*) and the annular seabream (*Diplodus annularis*). *J. Appl. Ichthyol.* 18:81-86.
- Quignard, J.-P. and A. Pras, 1986. Atherinidae. p. 1207-1210. In P.J.P. Whitehead, M.-L. Bauchot, J.-C. Hureau, J. Nielsen and E. Tortonese (eds.) *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean*. UNESCO, Paris. Vol. 3.
- Rosecchi, E., 1983. Régime alimentaire du pageot, *Pagellus erythrinus*, Linne 1758, (Pisces, Sparidae) dans le Golfe du Lion. *Cybium* 7(3):17-29.
- Stergiou, K.I., E.D. Christou, D. Georgopoulous, A. Zenetos and C. Souvermezoglou, 1997. The Hellenic seas: physics, chemistry, biology and fisheries. p. 415-538. In A.D. Ansell, R.N. Gibson and M. Barnes (eds.). *Oceanography and marine biology: an annual review*. UCL Press.
- Vignatti DAL, Polesello S, Bettinetti R, Bank MS, 2013. Mercury environmental quality standard for biota in Europe: Opportunities and challenges, *Integr. Environ. Assess. Manag.* 9, 167-168.
- Wonhman, M.J. (2004): Mini review: distribution of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* (Bivalvia: Mytilidae) and hybrids in the Northeast Pacific. *J. Shell. Res.*, 23(2), 535–543.
- Živković I, Šolić M, Kotnik J, Žižek S, Horvat M, (2017). The abundance and speciation of mercury in the Adriatic plankton, bivalves and fish – a review. *Acta Adriatica*, 58(3):391-420.
- Županović, Š., Jardas, I. (1989) *Fauna i flora Jadrana*. Logos Split. 526 pp.

Prilog 1. Upute za uzorkovanje i pripremu riba za monitoring biote u prijelaznim i priobalnim vodama

1. Vrsta riba, preporučena dužina i starost, te period uzorkovanja

Vrste riba koje zadovoljavaju potrebne kriterije i koje su pogodne za monitoring prioriternih tvari u bioti u prijelaznim i priobalnim vodama navedene su u tablicama 1. i 2. zajedno sa podacima o preporučenoj starosti, odnosno dužini riba, te razdoblju godine u kojem treba obaviti uzorkovanje. U tablicama 3. i 4. navedene su po dvije vrste riba za svako vodno tijelo (tj. lokaciju uzorkovanja) koje je moguće naći u tim vodnim tijelima. Važno je da se u pojedinom vodnom tijelu (lokaciji uzorkovanja) uvijek uzorkuje ista vrsta ribe koje ima dostatnim količinama, tako da se može analizirati ista vrsta ribe više godina za redom. Kao prva vrsta u tablicama 3. i 4. (podcrtana) navedena je ona vrsta koja je uzorkovana u prijelaznim vodama u 2016. godini i u priobalnim vodama u 2017. godini i tu vrstu bi, ako je ikako moguće, trebalo i dalje uzorkovati. Međutim, kako možda neće uvijek biti moguće uzorkovati tu vrstu riba, navedena je i druga (rezervna) vrsta koju treba uzorkovati u slučaju nemogućnosti uzorkovanja prve vrste. Tablici 3. i 4. iz vrstu ribe naveden je i način njihovog uzorkovanja, kao i opaske u kojim vodnim tijelima nije bilo moguće uzorkovanje riba u 2016/2017 godini ili zbog neodgovarajuće konfiguracije terena ili zbog saznanja da riba na toj lokaciji nije prisutna u dovoljnim količinama.

Dužina ribe daje samo okvirni uvid u starost ribe i jer brzina rasta ovisi od niza faktora i nije ista na svim lokacijama uzorkovanja. Stoga je prikazan širi raspon dužina kako bi bili sigurni da će se uzorkovanjem obuhvatiti predložena starost ribe. Nakon uzorkovanja potrebno je izmjeriti dužinu i težinu riba kako bi se mogla izračunati prosječna dužina/težina riba u uzorku i okvirno procijeniti starost, što je važno kod interpretacije dobivenih podataka, posebno za tvari koje su podložne biomagnifikaciji i bioakumulaciji kao što je to živa.

Tablica 1. Preporučene vrste riba za uzorkovanje u prijelaznim vodama, preporučena starost i dužina primjeraka te period njihovog uzorkovanja.

Vrsta ribe	Dužina (starost)	Period uzorkovanja
oliga, <i>Atherina boyeri</i>	4,5-9,0 cm (1 ⁺ -2 ⁺)	1.7. - 30.10.
komarča, <i>Sparus aurata</i>	20,0-35,0 cm (3 ⁺ -5 ⁺)	1.4. - 30.10.

Tablica 2. Preporučene vrste riba za uzorkovanje u priobalnim vodama, preporučena starost i dužina primjeraka, te period uzorkovanja.

Vrsta ribe	Dužina (cm) i starost (godina)	Mjesec u godini kad se mrijesti	Pogodno razdoblje za uzorkovanje
komarča, <i>Sparus aurata</i>	20,0-35,0 (3 ⁺ -5 ⁺)	prosinac	1.4. - 30.10.
trlja blatarica, <i>Mullus barbatus</i>	11,0-22,0 (3 ⁺ -5 ⁺)	svibanj	1.7. - 30.10.
trlja od kamena, <i>Mullus surmuletus</i>	11,0-25,0 (3 ⁺ -5 ⁺)	svibanj	1.7. - 30.10.
mol, <i>Merluccius merluccius</i>	20,0-30,0 (3 ⁺ -5 ⁺)	svibanj	1.7. - 30.10.
arbut, <i>Pagellus erythrinus</i>	15,0-25,0 (3 ⁺ -5 ⁺)	svibanj	1.7. - 30.10.

Tablica 3. Preporučene vrste riba za uzorkovanje u vodnim tijelima prijelaznih voda (po mogućnosti uzorkovati prvu, podcrtanu vrstu), prijedlog razdoblja u kojima se preporuča uzorkovanje, način uzorkovanja i opaske vezane za nemogućnost uzorkovanja riba u pojedinim vodnim tijelima.

Vodno tijelo	Geografski položaj vodnog tijela	Površina vodnih tijela (km ²)	Prosječna dubina (m)	Prijedlog ciljane vrste za uzorkovanje	Prijedlog razdoblja za uzorkovanje	Uzorkovanje/ Napomena
P1_3-OM	Unutarnji dio prijelaznih voda rijeke Omble na granici sa slatkom vodom	0,249	5	<u><i>Atherina boyeri</i></u> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	IOR
P2_2-OM	Vanjski dio prijelaznih voda rijeke Omble na granici s priobalnom vodom	0,980	15	<u><i>Atherina boyeri</i></u> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	IOR
P1_2-NEP	Unutarnji dio prijelaznih voda rijeke Neretve na granici sa slatkom vodom	47,083	4	x		Riba nije prisutna u VT
P2_2-NEP	Središnji dio prijelaznih voda rijeke Neretve	5,298	9	<u><i>Atherina boyeri</i></u> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	IOR
P2_3-NE	Vanjski dio prijelaznih voda rijeke Neretve na granici s priobalnom vodom	26,882	23	<u><i>Atherina boyeri</i></u> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	IOR
P2_3-LPP	Prijelazne vode rijeke Neretve u području Luke Ploče	1,341	10	<u><i>Atherina boyeri</i></u> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	IOR
P1_2-CEP	Unutarnji dio prijelaznih voda rijeke Cetine na granici sa slatkom vodom	0,168	4	<u><i>Atherina boyeri</i></u> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	IOR
P2_2-CE	Središnji dio prijelaznih voda rijeke Cetine	2,176	30	<u><i>Atherina boyeri</i></u> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	IOR
P2_3-CE	Vanjski dio prijelaznih voda rijeke Cetine na granici s priobalnom vodom	13,504	41	<u><i>Atherina boyeri</i></u> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	IOR
P1_2-JA	Unutarnji dio prijelaznih voda rijeke Jadra na granici sa slatkom vodom	0,009	2	x		Riba nije prisutna u VT
P2_2-JAP	Vanjski dio prijelaznih voda rijeke Jadra na granici s priobalnom vodom	0,308	12	<u><i>Atherina boyeri</i></u> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	IOR
P1_3-KR	Unutarnji dio prijelaznih voda rijeke Krke na granici sa slatkom vodom	1,318	10	<u><i>Atherina boyeri</i></u> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	IOR
P2_3-KR	Središnji dio prijelaznih voda rijeke Krke	15,201	15	<u><i>Atherina boyeri</i></u> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	IOR
P2_3-KRP	Vanjski dio prijelaznih voda rijeke Krke na granici s priobalnom vodom	5,866	27	<u><i>Atherina boyeri</i></u> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	IOR

P1_2-ZR	Unutarnji dio prijelaznih voda rijeke Zrmanje na granici sa slatkom vodom	0,403	5	<i>Atherina boyeri</i> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	IOR
P2_2-ZR	Vanjski dio prijelaznih voda rijeke prijelaznih voda rijeke Zrmanje na granici s priobalnom vodom	0,776	25	<i>Atherina boyeri</i> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	IOR
P2_3-ZR	Središnji dio prijelaznih voda rijeke Zrmanje	35,714	19	<i>Atherina boyeri</i> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	IOR
P1_2-RJP	Unutarnji dio prijelaznih voda rijeke Rječine na granici sa slatkom vodom	0,034	0,5	x		Poteg se ne može obaviti
P2_2-RJP	Vanjski dio prijelaznih voda rijeke Rječine na granici s priobalnom vodom	0,639	33	<i>Atherina boyeri</i> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	IOR
P1_3-RAP	Unutarnji dio prijelaznih voda rijeke Raše na granici sa slatkom vodom	0,145	2	<i>Atherina boyeri</i> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	IOR
P2-3-RA	Vanjski dio prijelaznih voda rijeke Raše na granici s priobalnom vodom	1,361	2	<i>Atherina boyeri</i> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	Riba nije prisutna u VT
P1_2-MIP	Unutarnji dio prijelaznih voda rijeke Mirne na granici sa slatkom vodom	0,099	2	<i>Atherina boyeri</i> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	IOR
P2_2-MI	Vanjski dio prijelaznih voda rijeke Mirne na granici s priobalnom vodom	0,970	5	<i>Atherina boyeri</i> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	IOR
P1_2-DRP	Unutarnji dio prijelaznih voda rijeke Dragonje na granici sa slatkom vodom	0,060	2	x		Poteg se ne može obaviti
P2_2-DR	Vanjski dio prijelaznih voda rijeke Dragonje na granici s priobalnom vodom	0,100	6	x		Poteg se ne može obaviti zbog periske

Napomena: * - prvo razdoblje se odnosi na prvu, a drugo na drugu vrstu

Tablica 4. Preporučene vrste riba za uzorkovanje u vodnim tijelima priobalnih voda (po mogućnosti uzorkovati prvu, podcrtanu vrstu), prijedlog razdoblja u kojima se preporuča uzorkovanje, način uzorkovanja i opaske vezane za nemogućnost uzorkovanja riba u pojedinim vodnim tijelima.

Vodno tijelo	Geografski položaj vodnog tijela	Površina vodnih tijela (km ²)	Prosječna dubina (m)	Prijedlog ciljane vrste za uzorkovanje	Prijedlog razdoblja za uzorkovanje	Uzorkovanje/ Napomena
O313-BAZ	Bakarski zaljev	3,867	34	<u>Merluccius merluccius</u> <u>Mullus barbatus</u>	1.7.-30.10.	Lokalni ribari/IOR
O313-JVE	Južni dio Velebitskog kanala	73,348	33	<u>Sparus aurata</u> <u>Merluccius merluccius</u>	1.4.-30.10.* 1.7.-30.10	Lokalni ribari/IOR
O313-KZ	Središnji dio Kaštelanskog zaljeva	34,092	32	<u>Merluccius merluccius</u> <u>Sparus aurata</u>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	Lokalni ribari/IOR
O313-KASP	Sjeverni rub Kaštelanskog zaljeva, Trogirski zaljev, Marinski zaljev	44,306	23	<u>Sparus aurata</u> <u>Mullus barbatus</u>	1.4.-30.10. 1.7.-30.10.	Lokalni ribari/IOR
O313-NEK	Neretvanski kanal	252,825	35	<u>Mullus barbatus</u> <u>Pagellus erythrinus</u>	1.7.-30.10.	MEDITS
O313-MMZ	Malo more i Malostonski zaljev	55,071	19	<u>Sparus aurata</u> <u>Mullus barbatus</u>	1.4.-30.10. 1.7.-30.10.	Lokalni ribari/IOR
O313-ŽUC	Župski zaljev-Cavtat	12,934	28	<u>Mullus surmuletus</u> <u>Sparus aurata</u>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	Lokalni ribari/IOR
O412-ZOI	Zapadna obala istarskog poluotoka	475,003	24	<u>Sparus aurata</u> <u>Pagellus erythrinus</u>	1.4.-30.10. 1.7.-30.10.	MEDITS, lokalni ribari
O412-PULP	Luka Pula	6,705	20	<u>Mullus barbatus</u> <u>Pagellus erythrinus</u>	1.7.-30.10.	Lokalni ribari/IOR
O413-LIK	Limski kanal	6,686	25	<u>Sparus aurata</u> <u>Pagellus erythrinus</u>	1.4.-30.10. 1.7.-30.10.	Lokalni ribari/IOR
O413-RAZ	Zaljev Raša	10,298	29	<u>Pagellus erythrinus</u> <u>Sparus aurata</u>	1.7.-30.10 1.4.-30.10.	Lokalni ribari/IOR
O413-PAG	Uvala naselja Pag	30,012	26	<u>Sparus aurata</u> <u>Pagellus erythrinus</u>	1.4.-30.10. 1.7.-30.10.	Lokalni ribari/IOR
O413-PZK	Pašmanski i Zadarski kanal	196,528	17	<u>Mullus barbatus</u> <u>Pagellus erythrinus</u>	1.7.-30.10.	MEDITS
O413-STLP	Luka Split	0,633	7	<u>Pagellus erythrinus</u> <u>Sparus aurata</u>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	Lokalni ribari/IOR
O422-SJI	Sjeverni Jadran od južnog dijela istarskog poluotoka do Dugog Otoka	1939,117	45,5	<u>Mullus barbatus</u> <u>Pagellus erythrinus</u>	1.7.-30.10.	MEDITS

O422-KVV	Dio Kvarnerića i dio Velebitskog kanala	496,016	69	<u>Merluccius merluccius</u> <i>Sparus aurata</i>	1.7.-30.10. 1.4.-30.10.	Lokalni ribari/IOR
O422-VIS	Otoci Vis i Biševo	184,249	86	<i>Mullus surmuletus</i>	1.7.-30.10.	Lokalni ribari/IOR
O423-KVA	Kvarner	686,967	49	<u>Merluccius merluccius</u> <i>Mullus barbatus</i>	1.7.-30.10.	Lokalni ribari/IOR
O423-RIZ	Riječki zaljev	475,107	58	<u>Merluccius merluccius</u> <i>Pagellus erythrinus</i>	1.7.-30.10.	Lokalni ribari/IOR
O423-RILP	Luka Rijeka	5,627	43	<u>Merluccius merluccius</u> <i>Mullus barbatus</i>	1.7.-30.10.	Lokalni ribari/IOR
O423-VIK	Vinodolski kanal	455,412	63	<u>Merluccius merluccius</u> <i>Pagellus erythrinus</i>	1.7.-30.10.	Lokalni ribari/IOR
O423-KVS	Sjeverni dio Kvarnerića	577,204	80	<i>Mullus barbatus</i> <i>Pagellus erythrinus</i>	1.7.-30.10.	MEDITS
O423-KVJ	Južni dio Kvarnerića	1143,520	75	<u>Pagellus erythrinus</u> <i>Mullus barbatus</i>	1.7.-30.10.	MEDITS
O423-KOR	Kornati i šibensko priobalje	1731,855	47	<u>Sparus aurata</u> <i>Mullus surmuletus</i>	1.4.-30.10. 1.7.-30.10.	Lokalni ribari/IOR
O423-BSK	Brački i Splitski kanal	614,114	49,5	<u>Pagellus erythrinus</u> <i>Mullus barbatus</i>	1.7.-30.10.	MEDITS
O423-MOP	Od Prevlake do Rta Ploče do Splitskog kanala, uključujući područja Mljetskog, Lastovskog, Korčulanskog, Hvarskog i Viškog kanala	4238,747	70	<u>Mullus barbatus</u> <i>Pagellus erythrinus</i>	1.7.-30.10.	MEDITS

Napomena: * - prvo razdoblje se odnosi na prvu, a drugo na drugu vrstu.

2. Način uzorkovanja riba

Uzorkovanje u prijelaznim vodama će se obaviti prema Metodologiji uzorkovanja, laboratorijskih analiza i određivanja omjera ekološke kakvoće bioloških elemenata kakvoće koju su donijele Hrvatske vode te je objavljena na mrežnim stranicama ministarstva nadležnog za vodno gospodarstvo i Hrvatskih voda, a na temelju članka 19. stavka 6. Uredbe o standardu kakvoće voda (Narodne novine, br. 73/13, 151/14 i 78/15) koje Hrvatske vode donose. Uzorkovanje u priobalnim vodama će se obaviti u suradnji s lokalnim ribarima uz pomoć ribolovnih alata koji su dozvoljeni za korištenje prema Zakonu o morskome ribarstvu i pripadajućim pravilnicima (NN 152/14).

3. Obrada i priprema riba za analizu

Vrsta i količina tkiva riba koja je potrebna za analizu prioriternih tvari u ribama definirani su ciljevima zaštite za te prioritne tvari, zadanim vrijednostima $SKVO_{biota}$, te osjetljivošću analitičkih metoda koje se koriste. Od 9 prioriternih tvari koje se analiziraju u ribama, zbog različitih ciljeva zaštite, 4 se analiziraju u mišiću ribe (cilj - zaštita ljudskog zdravlja), a 4 u cijeloj ribi (cilj - zaštita od sekundarnog trovanja) (tablica 5.). U Tablici 5. su navedene minimalne težine mokre mase mišića i cijele ribe koje su potrebne za analizu pojedinih prioriternih tvari. Za analizu svih prioriternih tvari koje se određuju u ribama potrebno je minimalno 200 g mokre mase mišića riba (ili 600 g cijele ribe prije uklanjanja mišića) i 200 g mokre težine cijele ribe, dakle ukupno najmanje 800 g mokre težine riba za analizu svih 9 prioriternih tvari. S obzirom da je priprema uzoraka kompleksna, a udio mišića ovisan o veličini ribe, da bi se osigurala potrebna količina uzorka bilo bi najsigurnije uloviti 1000 g ribe, a kod manjih riba i 1300 g. Treba napomenuti da analitička metoda koja se koristi također utječe na količinu tkiva koja je potrebna za analizu (za vrlo osjetljive metode potrebna je veća količina tkiva), tako da se količine tkiva potrebne za analizu trebaju uskladiti sa zahtjevima analitičkih metoda koje se koriste, dakle modificirati prilikom svake provedbe monitoringa. Tako je za analizu PBDE-a u mišiću ribe tehnikom GC-ICPMS potrebno 30 g mokrog tkiva (metoda korištena u 2016/2017 godini), a za analizu metodom GC-HRMS potrebno je 100 g mokrog tkiva (metoda korištena u 2018/2019 godini).

Rukovanje s uzorcima riba obavlja se u zaštitnim, plastičnim rukavicama kako bi se spriječila kontaminacija. Riba treba zamrznuti nakon uzorkovanja i čuvati u plastičnim vrećicama na -20°C do obrade u laboratoriju. Prije obrade svakoj ribi treba odrediti dužinu i težinu, kako bi se mogla procijeniti njihova starost. Odvajanje mišića iz uzorka cijele ribe treba provesti na poluodmrznutim uzorcima, kako bi se izbjeglo kompletno otapanje tkiva i eventualno zagađenje mišića utrobnim organima ribe. Izdvajaju se glava, ljuske, koža i utrobni organi, a mišić većeg broja riba se spoji i homogenizira. Za analizu cijele ribe, spojeni uzorak potrebnog broja riba se homogenizira.

Vrijednosti za $SKVO_{biota}$ su izražene na mokru težinu, tako da je potrebno izmjerene vrijednosti izraziti na mokru težinu uzorka. Međutim zbog lakšeg transporta uzoraka do mjesta analize uzorke nakon homogenizacije treba liofolizirati. Za svaki uzorak mora se odrediti suha težina kako bi se izmjerene koncentracije mogle preračunati na mokru težinu i napraviti procjena usklađenosti sa $SKVO_{biota}$. Liofilizirane uzorke potrebno je čuvati na -20°C do analize. U svrhu lakše interpretacije rezultata za lipofilne prioritne tvari, kao i eventualne normalizacije na sadržaj masti, za sve homogenizirane uzorke riba potrebno je nakon homogenizacije izmjeriti sadržaj masti.

Tablica 5. Količina uzorka potrebna za analizu pojedinih prioriternih tvari u cijelim ribama i u mišiću riba (podaci za 2016/2017. godinu).

Prioritetna tvar	Težina mokrog uzorka potrebna za analizu
Analize koje se rade u mišiću riba (cilj zaštita ljudskog zdravlja)	
Polibromirani difenileteri	30 g
Heksaklorbenzen	30 g
Heptaklor i heptaklorepoksid	
PFOS	30 g
Dioksini	100 g
Ukupno za analizu tvari u mišiću riba	200 g ili 300 g (600 g ili 1000g neočišćene ribe)
Analize koje se rade u cijeloj ribi (cilj zaštita od sekundarnog trovanja)	
Hg	30 g
HBCDD	30 g
Heksaklorobutadien	30 g
Dikofol	100 g
Ukupno za analizu tvari u cijeloj ribi	200 g

Faktor preračuna sa mokre na suhu težinu za ribe je oko 4 (tkivo riba sadrži prosječno 26 % suhe tvari) tako da je nakon liofiliziranja potrebno ukupno za sve analize najmanje 50 g suhe težine za mišić i 50 g suhe težine za cijelu ribu.

U Tablici 6. prikazan je primjer odnosa veličine ribe i broja komada od kojih se formira zajednički uzorak za pojedine vrste riba, a koji je potreban da bi se dobila količina materijala dostatna za sve analize prioriternih tvari kako je navedeno u Tablici 5.

Tablica 6. Potreban broj primjeraka riba u jednom uzorku ovisno o veličini (dužini) ulovljenih riba za dobivanje dovoljne količine uzorka za sve analize (podaci iz 2016/2017 godine).

Vrsta ribe	Raspon dužine riba i potreban broj primjeraka za dovoljnu količinu uzorka
oliga, <i>Atherina boyeri</i>	6-7 cm : 300-400 kom; 7-8 cm: 200-300 kom
komarča, <i>Sparus aurata</i>	25-30 cm : 5-10 kom
trlja <i>Mullus barbatus i sarmuletus</i>	12-15 cm : 30-40 kom; 15-22 cm: 10-20 kom
mol, <i>Merluccius merluccius</i>	28-30 cm : 5-10 kom
arbun, <i>Pagellus erythrinus</i>	15-20 cm : 20-30 kom; 20-25 cm: 5-10 kom

Analitičke metode koje se koriste za analizu prioriternih tvari u bioti opisane su u preporukama Evropske komisije za analizu prioriternih tvari br. 33 (Europska komisija, 2014b). Općenito se postupak za određivanje organskih prioriternih tvari sastoji od ekstrakcije organskim otapalom, čišćenja, frakcioniranja, odvajanja kromatografskim tehnikama (plinskom ili tekućinskom kromatografijom, zavisno o vrsti spoja) i detekciji masenom spektrometrijom. Koncentracija žive u ribama određuje se tehnikom atomske spektroskopije hladnih para nakon razgradnje uzorka mineralnim kiselinama. Trebaju se koristiti analitičke metode koje su validirane i imaju granicu detekcije nižu od SKVO_{biota}, koje su bazirane na prihvaćenim HR EN ili ISO normama i u skladu su sa Smjernicama za osiguranje kakvoće biološkog i ekološkog ispitivanja u vodenom okolišu (HR EN 14996:2006).

Prilog 2. Upute za uzorkovanje i pripremu školjkaša za monitoring biote u prijelaznim i priobalnim vodama

Dvije od 11 prioriternih tvari za koje su definirane vrijednosti $SKVO_{biota}$, antracen i benzo(a)piren treba analizirati u školjkašima i za to je odabrana dagnja (*Mytilus galloprovincialis*) koja je široko zastupljena duž cijele jadranske obale. Kako period mrijesta utječe na koncentraciju tvari u tkivima dagnje uzorkovanje se vrši izvan perioda mrijesta, u mjesecu ožujku ili travnju (tablica 1).

Potrebno je sakupiti 20 jedinki u rasponu dužine od 3-6 cm i pohraniti u plastičnu vrećicu. Ako se uzorci dagnje čiste unutar 24 sata od uzorkovanja čuvaju se na hladnom mjestu na 4 °C. Ako je period prije obrade duži, dagnje je potrebno odmah nakon uzorkovanja zamrznuti i do obrade čuvati na temperaturi od -20 °C. Prije obrade potrebno je izmjeriti dužinu i težinu školjke (cijele školjke i mesa) kako bi se mogao odrediti indeks kondicije. Za analizu se koriste ukupna meka tkiva. Cijelo tkivo 20 školjaka se homogenizira i liofilizira. Liofilizirane uzorke potrebno je čuvati na temperaturi od -20 °C. Za svaki uzorak potrebno je odrediti suhu težinu, kako bi se izmjerene koncentracije mogle preračunati na mokru težinu i ocijeniti usklađenost sa $SKVO_{biota}$.

Tablica 1. Preporučena vrsta školjaka za uzorkovanje u prijelaznim i priobalnim vodama, potreban broj jedinki i njihova veličina, preporučeni period uzorkovanja i količina tkiva za analizu.

Vrsta školjaka	Potreban broj jedinki	Dužina	Period uzorkovanja	Potrebna težina mokrog tkiva
Dagnja	15-20	3-6 cm	1.3. - 30.4.	30 g

Faktor preračuna sa mokre na suhu težinu za ribe je 12 (tkivo dagnji sadrži prosječno 8,3 % suhe tvari) tako da je nakon liofiliziranja potrebno oko 3 g suhe težine dagnje za analizu PAH-ova.

U prijelaznim vodama u 7 unutarnjih dijelova prijelaznih voda na granici sa slatkom vodom nisu prisutne native dagnje zbog preniskog saliniteta. Radi se o unutarnjim dijelovima ušća rijeka Cetine (P1_2-CEP), Krke (P1_3-KR), Zrmanje (P1_2-ZR), Rječine (P1_2-RJP), Raše (P1_3-RA), Mirne (P1_2-MIP) i Dragonje (P1_2-DRP). U svim vodnim tijelima priobalnih voda dagnje su dostupne za uzorkovanje.

Analitičke metode koje se koriste za analizu prioriternih tvari opisane su u preporukama Evropske komisije za analizu prioriternih tvari broj 33 (Europska komisija, 2014b). Postupak za određivanje PAH-ova sastoji se od ekstrakcije organskim otapalom, čišćenja, frakcioniranja, razdvajanja plinskom kromatografijom i detekcije masenom spektrometrijom. Treba se koristiti analitička metoda koja je validirana i ima granicu detekcije nižu od $SKVO_{biota}$, koja je bazirana na prihvaćenim HR EN ili ISO normama i u skladu je sa Smjernicama za osiguranje kakvoće biološkog i ekološkog ispitivanja u vodenom okolišu (HR EN 14996:2006).