

**ОПИСАНИЕ НА МЕТОДА ЗА БЕК ФИТОПЛАНКТОН НА РЕКИ,
НАЦИОНАЛЕН ТИП R6 (СРЕДЕН И ДОЛЕН ДУНАВ)**

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДА	ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ
1. Приложение на метриките и ограничения при приложението	Метод: PhytoFluss Index version 4.0 За БЕК фитопланктон на р. Дунав, България прилага германския метод PhytoFluss 4.0 за големи реки с висок специфичен отток (съответства на германския тип 20.1). Методът се разработва в ИК група по вариант 2. Той е чувствителен към налягането на еутрофикацията (ТР). Приложение на метриките: Методът включва следните метрики: - Биомаса на фитопланктона (параметър: хлорофил а (коригиран за феофитин) в µg/L); - ТР индекс. Основава се на нов индикаторен списък за екорегiona на р. Дунав със 109 таксона. Ограничения при приложението: За надеждна оценка с ТР индекса трябва да бъдат намерени повече от три индикаторни таксона през годината. При по- малък брой индикатори ТР се счита за несигурен и не се включва в общия индекс. * Информацията за метода се базира на Report: XGIG Large River Intercalibration Exercise – Milestone 6 Report. Intercalibrating the national classifications of ecological status for very large rivers in Europe. Biological Quality Element: Phytoplankton. Version 1 – October 2016. (файл: XGIG_LR_Phytoplankton_Compliance_Class_comparision_17Oct2016).
2. Методика за пробонабиране	Водните проби се вземат в съответствие с описание на метода за пробонабиране (Mischke & Behrendt, 2007).

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

2.1. Условия за представителност на пробата

Препоръчва се 6кратно пробонабиране в периода от април до октомври включително. Пробите се вземат на дълбочина 0.5 м от средата на речното течение (с лодка или от мост), чрез батометър. Фитопланктонната проба и пробата за хлорофил-а трябва да произхождат от една и съща изходна проба. При пробонабирането трябва да бъдат регистрирани и съответните химични и физични параметри на водата. За микроскопския анализ пробите се консервират на място с Луголов разтвор или 4% формалин (крайна концентрация). Пробите се съхраняват в тъмни стъклени банки, на хладно. Качественият състав на фитопланктона се изследва на стандартен светлинен микроскоп при максимално увеличение най-малко 400х. За идентификация за видовете кремъчни водорасли се препоръчва, но не е задължително изработване на трайни микроскопски препарати. Количественият анализ на фитопланктона се извършва на инвертен (обърнат) микроскоп по метода на Utermöhl (1958). Определянето на биообема на фитопланктона се основава на изчисляването на обема на всяка водораслова единица по съответните геометрични формули (Hillebrand et al., 1999).

2.2. Необходими материали и оборудване

Оборудване:

- ✓ Батометър тип Ruttner (2 л.);
- ✓ Диск на Секки ;
- ✓ Планктонна мрежа (качествена тип Apstein, 10µm);
- ✓ Калибрирани полеви уреди за измерване „in situ” на: разтворен кислород, насищане с кислород, температура, активна реакция, мътност, електропроводимост;
- ✓ Хладилна чанта;
- ✓ Фотоапарат;
- ✓ GPS.

Материали:

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

2.3. Описание на процедурата за пробонабиране

Банки за фитопланктонните и физико-химичните проби; полеви протоколи; Лугол.

Допълнително:

Разрешително (копие от него) за работа със защитени видове

Разрешително (копие от него) за работа в гранични региони

Процедурата по пробонабиране на фитопланктон включва:

1. Измерване на прозрачността с диск на Секки;
2. Вземане чрез батометър на фитопланктонна проба от средата на речното течение (дълбочина 30-50 см под повърхността);
3. Измерване на физико-химичните параметри с преносими калибрани уреди в последователност:
 - ✓ Разтворен кислород (mg L^{-1});
 - ✓ Насищане с кислород (%);
 - ✓ Температура;
 - ✓ Активна реакция /pH/;
 - ✓ Електропроводимост ($\mu\text{S}/\text{cm}$);
 - ✓ Мътност.
4. Отделяне на подпроба (1 л.) за химични анализи в лабораторията;
5. Отделяне на подпроби за изследване на фитопланктона:
 - ✓ Количествена (1,5 л.). Фиксира се на място;
 - ✓ Качествена (1,0 л.). Към нея се добавя проба, събрана чрез филтруване на около 30 л. вода чрез планктонна мрежа (качествена тип Apstein, 10 μm). Служи до доуточняване на таксономичния състав на фитопланктона. Фиксира се на място.
6. Отделяне на подпроба за хлорофил А.

2.4. Оптимален сезон и честота на пробонабиране

Препоръчва се най-малко 6 кратно пробонабиране през вегетационния сезон (април-октомври).

2.5. Референции и стандарти

Nixdorf, B., Hoehn, E., Riedmüller, U., Mischke U. & I. Schönfelder (2010): III-4.3.1

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

	Probenahme und Analyse des Phytoplanktons in Seen und Flüssen zur ökologischen Bewertung gemäß der EU-WRRL. In: Handbuch Angewandte Limnologie – 27. Erg.Lfg. 2/10 1. S. 1- 24 (book chapter). Mischke, U. & H. Behrendt, 2007. Handbuch zum Praxistest eines Bewertungsverfahrens von Fließgewässern mittels Phytoplankton zur Umsetzung der EU-Wasserrahmenrichtlinie in Deutschland. Press: Weissensee Verlag, Berlin: 1-88.
2.6. Образец на протокол за пробонабиране	Анекс 1 (Протокол за пробонабиране)
3. Методика за лабораторна обработка	Консервираните фитопланктонни проби се съхраняват в стъклени бутилки на тъмно при ниска температура (Mischke & Behrendt, 2007). Процедурата за преброяване на фитопланктона следва БДС EN 15204:2006, с допълнително определяне на биообема на таксоните по Hillebrandt <i>et al.</i> (1999). Концентрацията на коригирания хлорофил-а се определя съгласно БДС ISO 10260:2002.
3.1. Необходими материали и оборудване	Оборудване: ✓ Стандартен светлинен микроскоп, с дигитална камера за микроснимки; ✓ Инвертен микроскоп; ✓ Филтрувално устройство; ✓ Спектрофотометър. Материали: ✓ Определители/Флори; ✓ Тъмни стъклени банки; ✓ Стъклено-влакнести филтри; ✓ Етанол.

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

3.2. Описание на процедурата за лабораторна обработка

Лабораторната обработка и анализ на фитопланктонните проби включва следните етапи:

1. Измерване концентрацията на коригирания хлорофил а ($\mu\text{g l}^{-1}$) по спектрофотометричния метод, в съответствие с БДС ISO 10260:2002;
2. Концентриране на качествената и количествената проби - чрез използване на утаяващия метод и последващо отдекантиране;
3. Определяне на таксономичния състав на фитопланктона до ниво вид на стандартен светлинен микроскоп. За определяне на кремъчните водорасли до вид се препоръчва, но не е задължително изработване на трайни микроскопски препарати. При идентификация на таксоните се използват утвърдени в практиката Флори и Определители за различните таксономични групи;
4. Изброяване на фитопланктона на инвертен микроскоп по метода на Utermöhl (БДС EN 15204:2006)
5. Определяне на биообема на таксоните ($\text{mm}^3 \text{l}^{-1}$) чрез изчисляване на обема на всяка водораслова единица по подходяща геометрична формула (Hillebrandt et al., 1999).

3.3. Референции и стандарти

Стандарти:

БДС EN 15204:2006 – Качество на водата. Ръководство за изброяване на фитопланктон чрез използване на инвертна микроскопия (Utermöhl technique);

БДС ISO 10260:2002 – Качество на водата. Определяне на биохимични параметри. Спектрометрично определяне на концентрацията на хлорофил-а.

Референции:

Hillebrand, H., C.D. Dürselen, D. Kirschtel, U. Pollinger & T. Zohary, 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. J. Phycol. 35: 403–424.

Mischke, U. (2016): Endbericht zum Teilvorhaben „Modul 3 Weiterentwicklung

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

4. Изчисления и представяне на резултата

des Verfahrens „PhytoFluss“ Within main project FKZ 3714 22 211 0 supported by Federal Environ. Agency [PhytoFluss 4.0].
Utermöhl, H., 1958. Zur Vervollkommnung der quantitative Phytolankton-Methodik. Mitt. Int. ver. Theor. Angew. Limnol. 9: 1–38.

Към момента са разработени 3 различни версии на метода: PhytoFluss 2.2 (действащ официален метод в Германия), PhytoFluss 3.0 (с подобрени индикаторни списъци) и PhytoFluss 4.0 (с промени в метриките и оценката: като метрика за биомаса се използва коригирания хлорофил *a*; не включва метриките водораслови класове; нови типовоспецифични коефициенти на единичните метрики за претегляне в общия индекс).
България прие да прилага версия PhytoFluss 4.0, при която беше демонстрирана по-силна връзка налягане-въздействие към общия фосфор. Очаква се версия PhytoFluss 4.0 да бъде приет като официален метод за Германия в края на 2016г.

Метрика Биомаса

Метриката Биомаса се базира на оценката на компонентите "средно сезонна стойност" на хлорофил *a* и "максимална стойност" на хлорофил *a*. Максималната стойност се избира за вегетационния период (април-октомври) и се оценява с отделни граници, за да се прецени цъфтежа на водораслите. Тя се оценява допълнително, само когато единичните стойности, са по-големи от 150% от средносезонната стойност за хлорофил *a*. Индексът за Биомаса се изчислява чрез типовоспецифични функции за оценка, посочени в табл. 1 и 2.

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

Табл. 1. Горни граници на средно сезонните стойности за хлорофил a ($\mu\text{g/L}$) в класовете за състояние и функции за оценката.

Клас граници	Национален тип R6 (съответства на *германски PP тип 20.1)
H/G	7,9
G/M	13,5
M/P	23,2
P/V	39,78
Функция за оценка	Chla функция = $\ln(\text{Chla}) * 1,8527 + (-2,322)$

*германски тип 20.1 - големи реки с висок специфичен отток ($>10\text{L s}^{-1} \text{ km}^{-2}$)

Табл. 2. Горни граници за максималната стойност на хлорофил a ($\mu\text{g/L}$) в класовете за състояние и функции за оценката.

Клас граници	Национален тип R6 (съответства на *германски PP тип 20.1)
H/G	15,8
G/M	27,0
M/P	46,4
P/V	79,6
Функция	MAX функция =

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

за оценка

$$\ln (\text{MAX Chla}) * 1,8527 + (-3,68)$$

След прилагане на функцията за оценка, индексът за Биомаса заема стойност между 0.5 до 5.5. При стойности на индекса под 0,5 се определя стойност равна на 0,5, а при стойности по-големи от 5,5, се определя стойност равна на 5.5.

Метрика TИР

Представява трофичен индекс, който се базира на специфичен за екорегиона на р. Дунав индикаторен списък с трофични оценки. Пълният списък на индикаторните таксони и оценки е посочен в табл. Phytofluss-4d (Mischke & Riedmüller, 2013) и табл. 14 (Mischke, 2016).

Трофичните оценки са калибрирани и подредени по скалата на общия фосфор (ТР). ТИР се изчислява за всяка проба, след което чрез осредняване се получава годишната стойност на ТИР индекса.

Изчисляването на индекса за всички индикаторни таксони, намерени в един речен пункт става по следното уравнение:

$$TIP = \frac{\sum (BK_i \times TI_i \times WF_i)}{\sum (BK_i \times WF_i)}$$

където:

Ti - трофична оценка на i-тия индикаторен таксон в пробата;

WFi – тегловен коефициент на i-тия индикаторен таксон в пробата;

BKi – клас биообем на i-тия индикаторен таксон

Таблица за получаване на съответен клас биообем (BK), базиран на биообема на таксона:

Биообем на таксоните
(mm³/l)

БК

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

≤ 0,0001	1
> 0,0001-0,001	2
> 0,001-0,01	3
> 0,01-0,1	4
> 0,1-1	5
> 1-10	6

Годишният TIP индекс е корелиран с определена TP стойност. Окончателната оценка на годишния TIP индекс се извършва чрез сравняване с TP границите за всеки клас състояние, които са еднакви за всички речни типове (Табл. 3).

Табл. 3. Горни граници на общия фосфор за клас състояние в речните типове по БЕК фитопланктон.

Клас Екологично състояние	Горни граници на класовете за TP (µg/L)
Отлично	54
Добро	90
Умерено	150
Лошо	250
Много лошо	> 250

Ако броят на индикаторните таксони е под 4 таксона средно, TIP метриката не бива да се прилага.

Тегловни коефициенти на единичните метрики при изчисляване на общия индекс PhytoFluss 4.0

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

4.1. Образец на работен протокол/
протокол от анализ

5. Изисквания за квалификацията на операторите

6. Класификация на екологичното състояние

За национален тип R6 (съответства на германски тип 20.1) биомасата на фитопланктона остава ниска в пълния обхват на налягане (изразен като ТР), докато индикаторните таксони (метрика ТІР) се оказват по-чувствителни към ТР. Ето защо, ТІР метриката е с по-голям тегловен коефициент от Биомасата при изчисляване на общия индекс:

$$(1 * chla + 3 * TIR) / 4$$

Анекс 2 (Работен протокол/Протокол от анализ)

За пробонабиране на БЕК Фитопланктон са необходими 2^{ма} оператори. За лабораторната обработка и анализ – биолози, с опит областта на алгологията.

Екологичното състояние се оценява по РДВ петстепенна скала (от отлично до много лошо състояние), в зависимост от отклонението спрямо референтното състояние (Табл. 4). При изчисляване на стойността на общия индекс единичните метрики Биомаса и ТІР участват с коефициенти, които са типовоспецифични за националния речен тип R6 (съответства на германски речен тип 20.1: големи реки с висок специфичен отток).

Табл. 4. Оценка на екологичното състояние на речен тип R6 по БЕК Фитопланктон, чрез стойността на общия индекс и коефициента EQR.

Клас състояние	Стойност на общия индекс	EQR
Отлично	<1.51	0.8–1.0
Добро	1.51 - 2.5	0.6–0.8
Умерено	2.51 - 3.5	0.4–0.6
Лошо	3.51 - 4.5	0.2–0.4

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДА**ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ****Много лошо****> 4.5****< 0.2**

Анекс 1: Образец на протокол за пробонабиране

Полеви протокол за пробонабиране на БЕК Фитопланктон	
Полеви данни	
Дата:	
Мисия №	
Ръководител:	
Експерт:	
Име на Река/Езеро:	
Поречие:	
Код на пункт	
Име на пункт	
Начален час на теренна работа	
Краен час на теренна работа	

Използван метод:	
Дълбочини на вземане на проби:	
№ на количествена проба:	
№ на качествена проба:	
GPS данни:	
Снимки:	
Допълнителни бележки по пробонабирането:	

Подпис:

Анекс 2: Образец на работен протокол/ протокол от анализ

БЕК	Фитопланктон		WT	EC	pH	O2	O2-sat	
Код на пункт		Снимка от пункта						
Речен тип								
Река			Taxonomic Group	Taxon	BioVol	BK	TI	WF
Име на пункт								
N								
E								
Надморска височина								
Година на пробонабиране								
Дата на пробонабиране								
Командировка								
Експерт								
ChlA								
nChlA								
Total BioVol								
SD								
TIP								
Забележка								

Температура на водата	Water temperature	WT	°C						
Електропроводимост	Conductance	EC	µS/cm						
Активна реакция(pH)	pH	pH	pH						
Разтворен кислород	Oxygen content	O2	mg/L						
Наситеност на кислород	Oxygen saturation	O2-sat	%						
Прозрачност по Секки	Transparency	SD	m						
Надморска височина	Altitude	Alt	m						
Хлорофил А, Коригиран	Chlorophyll-a	Chl-a	µg/L						
Хлорофил А, Некоригиран	Uncorrected chlorophyll a	nChlA	µg/L						
Феопигмент	Pheopigment	Pheopigment	µg/L						
Биообем	BioVolume	BioVol	mm3 l-1						
Клас биообем	BioVolume class	BK	1÷7						
Трофична оценка на индикаторните таксони	Trophic score for indicator taxa	TI	Indicator taxa list German method PhytoFluss 4.0 (Danube and tributaries)						
Тегловен коефициент на индикаторните таксони	Weighting factor for indicator taxa	WF	Indicator taxa list German method PhytoFluss 4.0 (Danube and tributaries)						

ОПИСАНИЕ НА МЕТОДА ЗА БЕК ФИТОБЕНТОС НА РЕКИ НАЦИОНАЛЕН ТИП R6

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА	ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ
3. Приложение на метриците и ограничения при приложението	ДИАТОМЕЕН ИНДЕКС ЗА ЗАМЪРСЯВАНЕ IPS (INDICE DE POLLUO-SENSIBILITÉ) DIATOM INDEX IPS (SPECIFIC POLLUTION SENSITIVITY INDEX). Индексът за замърсяване IPS (Coste in CEMAGREF 1982) използва всички срещащи се в пробата таксони кремъчни водорасли, определени до таксономично ниво вид, разновидност и форма и дава интегрална оценка за органично замърсяване и еутрофикация в реки и езера. IPS е корелиран с редица физични и химични показатели (в т.ч. рН, електропроводимост, ХПК, БПК, азот, фосфор и др.) и е индикативен за ефектите от всички типове замърсяване (органично, токсично), еутрофикация, повишени нива на биогени. За пресмятането на индекса IPS се използва специализираната програма за изчисляване на диатомейни индекси Omnidia© (Software for taxonomy, calculation of diatom indices and inventories management), като IPS може да има стойности от 1 (най-замърсено) до 20 (най-добро състояние). Чрез стойностите на IPS се изчислява коефициента EQR (Ecological Quality Ratio). Приложение на метриците: Методът изисква изпълнение на всички условия за представителност при пробонабиране и лабораторна обработка на фитобентосните проби. След правилното изпълнение на условията се определя видов състав на кремъчните водорасли до най-ниско таксономично ниво – вид/

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

	разновидност/форма, като се определя относителното обилие на всеки един представен таксон в пробата. За целта се преброяват между 300-500 диатомови валви (черупки), като е препоръчително преброяването на минимум 400 валви. Методиката отчита и наличие на нишковидни водорасли и бактериални повлекла. Ограничения при приложение на метода: Непредставителност на резултатите поради: 1.) пробонабиране в неподходящ период от вегетационния сезон и/или 2.) неправилно методологическо събиране на пробата и/или 3.) неправилна лабораторна обработка и/или 4.) неправилна таксономична детерминация на кремъчните водорасли.
4. Методика за пробонабиране	Методиката за пробонабиране на БЕК фитобентос (кремъчни водорасли) от реки от тип R6 се осъществява съгласно Европейски стандарт: БДС EN 13946:2014
4.1. Условия за представителност на пробата	Пробите трябва да бъдат събирани от изцяло потопени, средно големи камъни, които могат да бъдат извадени на брега, а при липса, от скали, бетонни стени, корита или друг естествен и/или изкуствен каменен субстрат (епилитни кремъчни водорасли). Пробонабирането трябва да бъде осъществено в слънчев участък от реката, като се обхванат разнообразни епилитни микрохабитати в района на пункта. Пробите се събират от участък от коритото на реката с изразено наличие на течение на водата, като се избягват места със застояла вода, разливи, мъртвици и др. Всички използвани пособия за пробонабиране трябва да са чисти, за да не се замърсят пробите.
4.2. Необходими материали и оборудване	✓ Контейнери от 50-100 мл, плътно затварящи се; ✓ Етикети за контейнерите, външни (залепящи се) и вътрешни, от водонеразтворим материал (напр. фотографска хартия); ✓ Твърда четка за зъби;

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

4.3. Описание на процедурата за пробонабиране

- ✓ Хидробиологична ваничка или пластмасов съд (200-500 мл.) с голям отвор;
- ✓ Формалдехид;
- ✓ Етилов спирт 96%;
- ✓ Дестилирана вода;
- ✓ Перманентен маркер и молив;
- ✓ Високи ботуши/гащеризон;
- ✓ Термометър, оксиметър, рН-метър, кондуктометър;
- ✓ GPS;
- ✓ Фотоапарат;
- ✓ Хладилна чанта;
- ✓ Протокол за пробонабиране за всеки пункт.
- ✓ Разрешителното (копие от него) за работа със защитени видове 1
- ✓ Разрешителното (копие от него) за работа в гранични региони

1. Събиране на водна проба (1,5 л.) за химични анализи в лаборатория.
2. Измерване на физико-химичните параметри с преносими калибрирани уреди в последователност:
 - ✓ Разтворен кислород (mg L^{-1});
 - ✓ Насищане с кислород (%);
 - ✓ Температура;
 - ✓ Активна реакция /рН/;
 - ✓ Електропроводимост ($\mu\text{S/cm}$).
3. Събиране на проба за БЕК фитобентос (извършва по БДС 13946:2014) със следните допълнителни условия към методологията на пробонабиране за речен тип R6:
 - ✓ Пробите се събират в рамките на еуфотичната зона (0.5 – 1.5 м дълбочина) от изцяло потопени камъни, които могат да бъдат извадени на брега, а при липса на такива, от скали, бетонни стени или друг естествен и/или изкуствен каменен субстрат.

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

- ✓ При липса на каменен субстрат, може да се използва и друг твърд субстрат, напр. паднали дървета в реката, както и случайно попаднали предмети, престоили достатъчно дълго (поне един месец) на дъното, видимо обрасли с фитобентос.
- ✓ Проби могат да бъдат събрани и от хидрофитна растителност (епифитни кремъчни водорасли), но единствено в случай, че на пункта напълно липсва твърд субстрат. При липса на достатъчно каменен субстрат и наличие на водна макрофитна растителност, пробата може да е смесена, епифитна и епилитна.
- ✓ Възможно е използването на предварително заложен в реката субстрат, но най-малко месец преди пробонабирането.
- ✓ Проби за фитобентос не трябва да бъдат събирани от частично потопени камъни и/или от тинест (фин) субстрат и/или от места с липса на течение. Ако липсва всякакъв подходящ субстрат на съответния пункт, то в този случай, този пункт не е представителен за определяне на екологично състояние по БЕК фитобентос и трябва да бъде изместен по-нагоре или по-надолу.

Епилитните проби се събират с помощта на твърда четка, с която се остъргват над хидробиологична ваничка от горната и странична повърхност 5 – 6 средно големи потопени камъка, бетонни стени или друг твърд субстрат на 5 – 6 места. Средната площ за всеки камък, от която се събира пробата, е около 20 кв. см (или еквивалентна от друг субстрат). Предварително повърхността на камъните (субстрата) се почиства от груби частици, нишковидни зелени водорасли и др. Остърганите камъни се обливат последователно с минимално количество вода над ваничката. Когато субстратът е водна растителност, откъснати части от растенията се поставят в контейнер с малко вода и се разклаща интензивно за отделяне на прикрепените епифитни диатомеи или потопените части на растението се изстискват. Получената сборна проба трябва да с обем около 50 – 100 мл, като се пресипва в добре затварящо се шишенце (контейнер), на място се

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

	фиксира с 4% формалдехид (1/10 от обема на пробата) и се етикетира отвън и отвътре. Всички използвани съдове и четката се изплакват много добре, за да не се замърсят следващите проби. 4. Попълва се полеви протокол (<i>Виж Анекс 1</i>). 5. Прилагане на снимков материал.
a. Оптимален сезон и честота на пробонабиране	Пробонабиранията се извършват минимум веднъж в годината, в периода юли-септември.
b. Референции и стандарти	БДС EN 13946:2014 – Качество на водата. Указания за рутинно вземане на проба и подготовка на бентосни диатомеи от реки и езера. Белкинова, Д., Гечева, Г., Чешмеджиев, С., Димитрова-Дюлгерова, И., Младенов, Р., Маринов, М., Тенева, И., Стоянов, П., Иванов, П., Михов, С., Пехливанов, Л., Варадинова, Е., Карагьозова, Ц., Василев, М., Апостолу, А., Велков, Б., Павлова, М. 2013. Биологичен анализ и екологична оценка на типовете повърхностни води в България. ПУИ, Пловдив, 234с.
c. Образец на протокол за пробонабиране	Анекс 1
3. Методика за лабораторна обработка	Лабораторната обработка следва Европейски стандарти: БДС EN 13946:2014 и БДС EN 14407:2014
3.4. Необходими материали и оборудване	✓ Бехерови чаши с обем около 200 мл, номерирани с номера на пробата – по една за проба; ✓ Три бехерови чаши с обем около 500 мл, за разтворите на сярна киселина (H_2SO_4), калиев перманганат ($KMnO_4$) и оксалова киселина ($C_2H_2O_4$) и 3 петрита за подложки; ✓ Дестилирана вода – мин. 2л/проба; ✓ Сярна киселина (H_2SO_4) – около 20мл/проба, ✓ Калиев перманганат ($KMnO_4$) около 1-2 г/проба; ✓ Оксалова киселина ($C_2H_2O_4$) на кристали – около 1-2 г/проба; ✓ Стъклени бъркалки - по една за проба + 2 за разтворите на калиев перманганат и оксалова киселина;

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

а. Описание на процедурата за лабораторна обработка

- ✓ Лакмус;
- ✓ Камина с вентилация;
- ✓ Маркер и молив за стъкло;
- ✓ Пинсети с тънък връх;
- ✓ Голям картон за покриване на пробите;
- ✓ Защитно облекло - престилка и гумени ръкавици.
- ✓ Пипети с тънък връх (пастьорови пипети) – по 1 за проба;
- ✓ Покривни стъкла за препарати, добре измити и държани в 96% етанол;
- ✓ Предметни стъкла за препарати, добре измити и държани в 96% етанол;
- ✓ 96% етанол – по 1мл/проба;
- ✓ Включваща среда - Naphrax© разреден с толуен по предписанието му;
- ✓ Термоплоча, работеща на 170-180°C;
- ✓ Бръснарско ножче;
- ✓ Етикети за предметни стъкла и маркер за стъкло;
- ✓ Имерсионно масло;
- ✓ Микроскоп с имерсионен обектив (мин. x1000) и окуляр миркометър;
- ✓ Съвременна таксономична литература;
- ✓ Кутия за съхранение на микроскопски препарати.

От всяка проба след разклащане се отсипва около 10-20 мл в бехерова чаша с обем около 200 мл. Пробите се промиват поне 3 пъти от формалина с дестилирана вода, като след седиментация на кремъчните водорасли се отдекантират. Следва окисление на промитата, утаена и отдекантирана проба по един от посочените в стандарта методи. При метода с концентрирана сярна киселина (H_2SO_4) се работи в следната последователност: След последното промиване, утайката се залива с концентрирана сярна киселина (H_2SO_4) в съотношение 1:1 спрямо количеството на останалата в чашата проба. Разклаща се докато изгорят

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

органичните остатъци и пробата потъмнее. За катализатор на реакцията се добавя наситен разтвор на калиев перманганат (KMnO_4) до постигане на траен пурпурен (или червенеещ) цвят на разтвора. След приключване на реакцията (след изстиване на пробата) се добавя по малко наситен разтвор на оксалова киселина ($\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$) до избистряне на пробите. Пробите се промиват 6 до 8 пъти с дестилирана вода до неутрална реакция (проверява се с лакмус), като се запазва утайката. По време на цялата процедура чашите се предпазват от замърсяване. Лабораторната обработка на пробите се извършва в камина с вентилация и със защитно облекло – престилка и устойчиви спрямо киселина гумени ръкавици. За разбъркване може да се ползват стъклени пръчки. След приключване на работата стъкларията се измива добре и се изплаква с дестилирана вода. Така получените проби с почистени черупки на кремъчни водорасли се съхраняват неограничено дълго време в малки плътно затварящи се и етикетирани контейнери като се добавя същият обем 96% етанол. След това, се приготвят трайни микроскопски препарати с висока разделителна способност за работа при увеличение над 1000 пъти (с имерсионен обектив), като включваща среда се използва Naphrax®.

Капка от изчистения и разреден до подходяща концентрация материал се поставя с пипета с тънък връх (пастъорова пипета) върху покривно стъкло (18x18 мм), на което предварително е капнат етанол (за по добро омокряне и по-равномерно разпределяне на материала върху стъклото). На микроскоп се следи гъстотата на пробата, която да позволява определяне на видовете и тяхното броене – клетките трябва да са равномерно разпределени, а не припокриващи се. Стъклата се изсушават на въздух, покрити от запрашаване за няколко часа. След като изсъхнат покривните

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

стъкла се залепят с материала надолу върху почистени и надписани предметни стъкла. Като включваща среда се използва Naphrax© разреден с толуен, по предписанието му. Капка от разредения Naphrax© се капва на предметното стъкло и върху нея се обръща изсъхналото покривно стъкло. Предметното стъкло (с покривното нагоре) се поставя върху загрята до около 170°C термopлoчa и след като спре да ври интензивно (около 20-50 сек.) се сваля. С леко и кратко натискане покривното стъкло се залепя за предметното, като мехурчета въздух трябва да излязат напълно, и препаратът се оставя да изстине. Ако има среда попаднала върху предметното и/или покривното стъкло, тя се отстранява с бръснарско ножче. Така приготвените трайни препарати могат да се съхраняват неограничено дълго време. На микроскоп препаратът се наблюдава с имерсионен обектив (мин. x1000) и се извършва таксономичното определяне и броене на валвите (черупките) на кремъчните водорасли. Отчита се всяка валва, която е цяла и не е повредена („счупена“). Вземат се предвид и неразделените валви – броят се за 2. Кремъчните водорасли се определят до таксономично ниво вид/разновидност/форма и се отчита относителното обилие на всеки един представен таксон в пробата. Определянето се извършва на последователни зрителни полета, като се спазват посоките на преместване, за да не се повторят броени вече валви. Може да се започне от произволно място. Високото качество на микроскопската техника е от ключово значение за правилната детерминация на таксоните. Броенето продължава до достигане на поне 400 валви от проба. Попълва се лабораторен протокол (в Excel) с видовия състав, буквени кодове на кремъчните водорасли и относителното им обилие (брои валви).

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

б. Референции и стандарти	БДС EN 13946:2014 – Качество на водата. Указания за рутинно вземане на проба и подготовка на бентосни диатомеи от реки и езера. БДС EN 14407:2014 – Качество на водата. Указания за идентификация и изброяване на проби от бентосни диатомеи от реки и езера. Белкинова, Д., Гечева, Г., Чешмеджиев, С., Димитрова-Дюлгерова, И., Младенов, Р., Маринов, М., Тенева, И., Стоянов, П., Иванов, П., Михов, С., Пехливанов, Л., Варадинова, Е., Карагьозова, Ц., Василев, М., Апостолу, А., Велков, Б., Павлова, М. 2013. Биологичен анализ и екологична оценка на типовете повърхностни води в България. ПУИ, Пловдив, 234с.
4. Изчисления и представяне на резултата	Лабораторният протокол с определените и преброени валви на кремъчни водорасли за всеки вид, разновидност и форма със съответстващите им буквени кодове се импортират от .xls файл в софтуерната програма Omnidia. Изчислява се диатомеиният индекс IPS, като той може да има стойности от 1 (най-замърсено) до 20 (най-добро състояние). Чрез стойностите на IPS се изчислява коефициента EQR (Ecological Quality Ratio). Използва се типово-специфична скала за оценка, разработена за речния тип (R6) със стойностите на индекса IPS и на коефициента EQR съответстващи на всеки клас екологично състояние. Таксономичният списък, съответстващите кодове на видовете, относителното им обилие, стойностите на индекса IPS, коефициента EQR и екологичното състояние се нанасят в протокол (<i>Виж Анекс 2</i>).
4.2. Образец на работен протокол/ протокол от анализ	Анекс 2
7. Изисквания за квалификацията на операторите	Теренната работа се извършва от оператор с опит, познаващ изискванията за пробонабиране и представителност на пробите. Лабораторната обработка се извършва от биолог-специалист и/или

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

8. Класификация на екологичното състояние

оператор с опит при изготвяне на препарати от фитобентосни проби.

Таксомичната детерминация на кремъчните водорасли до ниво вид/разновидност и форма и изчисляването на междинните и крайните резултати от анализа изисква висше биологично образование с минимум степен магистър по алгология със специализация по таксономия на кремъчни водорасли.

Екологичното състояние се оценява по петобална скала (от отлично до много лошо състояние) в зависимост от отклонението му от това състояние, в което би се намирала екосистемата без човешко въздействие – т. е. референтно състояние. Използва се типово-специфична скала за оценка, разработена за речния тип (R6) със стойностите на индекса IPS и на коефициента EQR съответстващи на всеки клас екологично състояние. Корекции на екологичното състояние при наличие на нишковидни водорасли и бактериални повлекла: При обилно развитие на нишковидни зелени водорасли *Cladophora* spp. – талуси с дължина над 0.5 см и над 50% покритие на субстрата, екологичното състояние е не по-високо от средно, а при дължина над 1 м и над 90 % покритие на субстрата - не по-високо от лошо. При наличие на слизести бактериални повлекла (*Sphaerotilus* и др.) екологичното състояние е: не по-високо от средно - ако повлеклата са много малки и с много малко покритие (следи); не по-високо от лошо - ако повлеклата са с неголеми размери и не покриват плътно субстрата; много лошо - при обилното им развитие върху субстрата. При по-особени случаи, проби при които има много ниско видово разнообразие (само един до няколко таксона), например в резултат на силно токсично замърсяване, оценката може да бъде коригирана по експертно мнение.

Типово-специфична скала за оценка на екологичното състояние на речен тип R6 по БЕК „Фитобентос“ (кремъчни водорасли) чрез диатомеиния индекс IPS и коефициента EQR.

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА**ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ**

Екологично състояние R6	IPS	EQR
Отлично	15.3-20	0.77-1
Добро	11.7-15.2	0.59-0.76
Умерено	8.2-11.6	0.41-0.58
Лошо	4.6-8.1	0.23-0.405
Много лошо	1-4.5	0-0.225

Анекс 1: Полеви протокол пробонабиране

Полеви протокол за пробонабиране на фитобентос от реки.	
I. Данни от полевата работа	
Дата/Date:	
Код на проба/Sample code:	
Река/River:	
Поречие/River basin:	
Температура/Water temperature, °C:	
pH:	
Електропроводимост/Conductivity, µS:	
Разтв. Кислород/Oxygen concentration, mg/l:	
Насищане/Oxygen saturation, %:	
Субстрат на пробата/Substrate of diatom sample (rocks, sand, plants etc.):	
Зелени нишковидни водорасли, дължина на талуса и степен на покритие на субстрата/Green filament algae, talus length and substrate area coverage:	

Червени водорасли, дължина на талуса и/или степен на покритие на субстрата/Red algae, talus length and/or substrate area coverage:	
Слизести бактериални повлекла, дължина и степен на покритие на субстрата/Slimy filamentous bacteria (e.g. <i>Sphaerotilus</i>) length and substrate area coverage:	
Бележки по пробонабирането/Additional notes on the sampling:	
Снимки/Photographs:	
Събрал пробата/Sampler:	

Анекс2: Образец на работен протокол/ протокол от анализ

БЕК	Фитобентос
Код на пункт	
Речен тип	
Река	
Име на пункт	
N	
Е	
Надморска височина	
Година на пробонабиране	
Дата на пробонабиране	
Мисия	
Експерт	
Субстрат на пробата	
Зелени нишковидни водорасли	
Червени водорасли,	
Слизести бактерии	

[illegible]

IPS	
EQR	
ES	
Забележка	

Снимка от пункта

Мерни единици:

Abbrev	Name_EN/ BG measure	Measure
WT	Water temperature/Температура на водата	°C
EC	Conductance/Електропроводимост	μS/cm
pH	pH/Активна реакция	pH
O2	Oxygen content/Разтворен кислород	mg/L
O2-sat	Oxygen saturation/Насищане с кислород	%
Alt	Altitude/Надморска височина	m

ОПИСАНИЕ НА МЕТОДА ЗА БЕК МАКРОФИТИ НА РЕКИ НАЦИОНАЛЕН ТИП R 6

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА	ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ
5. Приложение на метриките и ограничения при приложението	"АИМ за Българската част на река Дунав" Адаптиран Австрийски Индекс за макрофити за Дунав (AIM for Danube). Национален метод в съответствие с нормативните изисквания на РДВ. В ХGIG "Големи реки" към момента БЕК Макрофити не са част от интеркалибрационното упражнение. Методът е чувствителен към еутрофикация и обща деградация.
6. Методика за пробонабиране	Пробонабирането се извършва в представителен участък с дължина до 1000 м. Мониторингът има за цел да установи видовете водни макрофити и тяхното обилие. Пробонабирането съответства напълно на пробонабирането, извършвано в другите типове реки в България (Гечева и др., 2013) с изключение на по-голямата дължина на участъка и необходимостта от използването на моторна лодка. 6.1. Условия за представителност на пробата Пробонабирането следва да е извършено в периода м.юни-м.септември, в представителен речен участък. При регулярен мониторинг описанията да се извършват всяка година в един и същи пункт. Не се пробонабира в периоди на наводнения (периодът между наводнение и обследване следва да е минимум 4 седмици). 6.2. Необходими материали и оборудване Лодка; гащеризон; ехолот; GPS; фотоапарат; гребло; комбиниран оксиметър/ рН-метър/кондуктометър, хладилна чанта,пликове; маркер; копие от методиката; полеви протокол; определител; Разрешително (копие от него) за работа със защитени видове; Разрешително (копие от него) за

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

6.3. Описание на процедурата за пробонабиране	работа в гранични региони. Пробонабирането се извършва един (или повече) представителни изследвани участък(ци) с дължина до 1000 м. Извършва се описание на видовете макрофити (определянето на видовете се извършва на терен; при необходимост се вземат екземпляри за лабораторно определяне), след което се поставя и количествена оценка. Пробонабирането завършва с попълване на общата информация в полевия протокол и данните за структурните параметри. Измерване на физико-химичните параметри с преносими калибрани уреди в последователност: ✓ Разтворен кислород (mg L^{-1}); ✓ Насищане с кислород (%); ✓ Температура; ✓ Активна реакция /pH/; ✓ Електропроводимост ($\mu\text{S/cm}$). Отделяне на проба (1,5 л.) за химични анализи в лаборатория, фиксира се на място. Прилага се снимков материал.
6.4. Оптимален сезон и честота на пробонабиране	м. юни-м.септември; еднократно в годината
6.5. Референции и стандарти	БДС EN 14996:2006 Pall K., G. Gecheva. 2016. AIM for the Bulgarian Danube. – a WFD-compliant assessment system for the Danube in Bulgaria.- in prep. Гечева Г., И. Димитрова-Дюлгерова, С. Чешмеджиев. 2013. Макрофити. В: Биологичен анализ и екологична оценка на типовете повърхностни води в България. Белкинова Д. & Гечева Г. (Ред.). УИ „П. Хилендарски“, Пловдив, 127-146.
6.6. Образец на протокол за пробонабиране	Виж приложение Анекс 1
3. Методика за лабораторна обработка	Доколкото е възможно, определянето на видовете се извършва на терен.

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

3.5. Необходими материали и оборудване	При необходимост се вземат екземпляри за лабораторно определяне. Микроскоп; Бинокулярна лупа; предметни и покривни стъкла; определители.
3.6. Описание на процедурата за лабораторна обработка	Най-често на лабораторно определяне подлежат водните бриофити, които се съхраняват в изсушено състояние до определянето им. Видовата детерминация изисква микроскоп. Някои водни семенни растения като напр. представители на р. <i>Potamogeton</i> също изискват лабораторно определяне.
3.7. Референции и стандарти	Pall K., G. Gecheva. 2016. AIM for the Bulgarian Danube. – a WFD-compliant assessment system for the Danube in Bulgaria.- in prep. Гечева Г., И. Димитрова-Дюлгерова, С. Чешмеджиев. 2013. Макрофити. В: Биологичен анализ и екологична оценка на типовете повърхностни води в България. Белкинова Д. & Гечева Г. (Ред.). УИ „П. Хилендарски“, Пловдив, 127-146.
4. Изчисления и представяне на резултата	Въз основа на адаптирания списък с индикаторни таксони (виж Анекс 3) се въвеждат категориите на регистрираните в изследвания пункт видове. Тази класификация следва да се отнесе към установените в конкретния пункт видове, респективно към тяхното обилие, както и да се отчете към колко на брой класове е класифициран всеки вид. Следващата стъпка е обилието на всеки вид да се внесе към съответните класове. Всяка стойност на обилие се разделя на квадрата от числото на дадения клас. По този начин видовете със специфични нужди са с по-голяма тежест при оценката в сравнение с тези, които имат широк екологичен диапазон. Еврибионтите се изключват от оценката като при тях обилието се умножава по 0. Получените стойности следва да се сумират по колони за всеки индивидуален клас (Сума PM_{IxG}; Виж Анекс 2). Така получените числа се умножават по съответния клас (от 1 до 4) (Сума $PM_{IxG \times KL}$). Трябва да се определят и общите стойности за PM_{IxG} и $PM_{IxG \times KL}$ (Сума А и Сума В). Накрая стойността на индекса се определя като се раздели $PM_{IxG \times KL}$ (т.е. Сума В) на PM_{IxG} (Сума А). Крайният резултат се закръгля до цяло число.

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

Окончателната оценка следва класификационната система, посочена на Табл. 1 (т. 6). Получените резултати могат да бъдат изразени и като EQR.

$$EQR = \frac{\text{Observed value}}{\text{Reference value}}$$

Най-ниската възможна стойност на индекса е 1 и тя се отъждествява с референтни условия, докато възможно най-лошото състояние се изразява със стойност на индекса 5 (т.е. неговата максимална стойност). Поради тази причина формулата за изчисление на EQR трябва да следва противоположна процедура, посочена по-долу.

$$EQR = \frac{\text{МаксAIM} - \text{ПолученAIM}}{\text{МаксAIM} - \text{РефAIM}}$$

или

$$EQR = \frac{5 - \text{ПолученAIM}}{4}$$

4.3. Образец на работен протокол/
протокол от анализ

Виж приложение Анекс 2

9. Изисквания за квалификацията на операторите

Образование: висше;
образователно-квалификационна степен: бакалавър/магистър;
професионално направление: биологически науки;
професионална квалификация: биолог, еколог.
Опит: базисни познания и практически опит в областта на ботаниката.

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

10. Класификация на екологичното състояние

Екологичното състояние се определя в 5 класа, както е представено по-долу.

Гранични стойности	АИМ-Бг Дунав	EQR
Реф условия	100	1.00
Отлично / Добро	1,49	0.875
Добро / Умерено	2,49	0,625
Умерено / Лошо	3,49	0,375
Лошо / Много лошо	5	0
Много лошо състояние	Макрофитна депопулация	

Табл. 1. Граници между класовете екологично състояние по БЕК Макрофити за тип R6.

Анекс 1: Образец на протокол за пробонабиране

Полеви протокол БЕК макрофити R6 №		
пункт	дължина на участъка	водно ниво

	m надм. в.		m	ниско средно високо
код на пункта				
координати			МЪТНОСТ	оцветяване
N	E		без средна силна	мирис pH t°C C DO
най-близко населено място	снимки №			
експерт	дата			
скорост (по BLfW,1995)				
	I	не се забелязва	почти застояло	
	II	слабо забележимо	течението много слабо, но видимо	
	III	слабо течаща	течението видимо, водната повърхност гладка	
	IV	бързо течаща	течението с умерена скорост	
	V	бързо течаща	бързо течение	
	VI	буйно течаща	бързо, шумно течение	
засенченост (по Wörlein, 1992)				

	1 напълно осветено	слънчево от изгрев до залез	
	2 осветено	слънчево през по-голямата част от деня, но винаги в най-топлите часове	разположение на МФ покриват голяма площ мозаечно
	3 частично засенчено	предимно слънчево, но в сянка в най-топлите часове	
	4 полузасенчено	в сянка по обед и над половин ден	
	5 напълно засенчено	напълно в сянка от дървета	
доминираща растит. в крайречната зона			Забележки
	ливади и пасища		
	тревна растителност		
	храсталаци		
	крайречна гора		
	единични дървета от местни видове		
	изкуствени дървесни насаждения		
	обработваеми земи и неофити		
	урбанизиран район		
субстрат		%	Чужди елементи по речното легло
	тиня		корекция в надлъжна посока
	глина		корекция в напречна посока
	фин пясък		диги/модиф. на брегове
	едър пясък		зауствания

	чакъл		тръби
	малки камъни		отпадъци
	камъни		други
	скално легло		
ВИД			ОБИЛИЕ

Анекс 2: Образец на работен протокол/ протокол от анализ

БЕК	МАКРОФИТИ
Код на пункт	
Речен тип	
Река	
Име на пункт	
N	

WT	EC	pH	O2		
Species	Code	Submerged	Abundanse 0-1	Abundanse 2-4	Abundanse >4

Забележка:

***обилие (1-5) в дълбочинна зона**

Мерни единици:

Abbrev	Name_EN/ BG measure	Measure
WT	Water temperature/Температура на водата	°C
EC	Conductance/Електропроводимост	μS/cm
pH	pH/Активна реакция	pH
O2	Oxygen content/Разтворен кислород	mg/L
O2-sat	Oxygen saturation/Насищане с кислород	%
Alt	Altitude/Надморска височина	m

Протокол анализ на БЕК Макрофити R6 №

пункт
експерт

код на пункта
дата

Видове	Обилие (PMI)	Клас				Брой класове
		1	2	3	4	
Вид 1	PMI ₁	PMI ₁				1
Вид 2	PMI ₂	PMI ₂ / 3 ²	PMI ₂ / 3 ²	PMI ₂ / 3 ²		3
Вид 3	PMI ₃	PMI ₃				1
Вид 4	PMI ₄	PMI ₄ / 2 ²	PMI ₄ / 2 ²			2
Вид 5	PMI ₅	PMI ₅ x 0	PMI ₅ x 0	PMI ₅ x 0	PMI ₅ x 0	4
...						

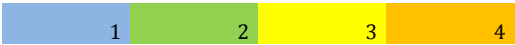
Сума PMIxG		Сума ₁	Сума ₂	Сума ₃	Сума ₄	Сума А (сума 1 до сума 4)
Сума РАIxGxKL		Сума ₁ x 1	Сума ₂ x 2	Сума ₃ x 3	Сума ₄ x 4	Сума В (сума 1 x KL до сума 4 x KL)
Индекс						Сума В / Сума А
Клас екологично състояние (ESC)						Стойността на индекса, закръглена до цяло число

Анекс 3: Адаптиран списък с индикаторните таксони

	1	2	3	4		1	2	3	4
Charophyta					Spermatophyta				
Chara spp.	1				AGR.STO		1		
					ALI.LAN		1	1	
Bryophyta					ALI.PLA		1	1	
ANE.PIN	1				BER.ERE	1	1		
BRA.PLU	1	1			BUT.UMB		1	1	
BRA.RIV	1	1			CAL.COP	1	1	1	
Chiloscyphus spp.	1				CAL.PAL			1	
CIN.AQU	1				CAL.PLA	1	1		
CIN.DAN		1			CAL.STA		1	1	
CIN.FON	1	1			CAL.T.PAL		1		
CIN.RIP		1	1		CER.DEM			1	1
CON.CON	1	1	1		ELE.ACI	1	1		
CRA.FIL	1				ELO.CAN				1

	1	2	3	4
FON.ANT	1	1		
HYG.HUM		1	1	
HYG.VAR		1	1	
HYG.TEN	1	1		
HYG.LUR	1			
LEP.RIP		1	1	
MAR.POL	1	1		
PEL.END	1			
Philonotis spp.	1			
PLA.RIP	1	1		
Pteridophyta				
EQU.FLU	1	1		
EQU.PAL		1		
SAL.NAT			1	1

	1	2	3	4
ELO.NUT			1	1
GLY.FLU		1	1	
GLY.MAX				1
GRO.DEN	1			
HIP.VUL		1	1	
LEM.MIN			1	1
LEM.GIB			1	1
MEN.AQU		1		
MYR.SPI		1		
MYR.VER			1	
NAJ.MAR			1	1
NAS.OFF	1	1	1	
NUP.LUT			1	1
NYM.ALB			1	1
POL.AMP		1		
POL.HYD		1	1	
POL.MIT		1	1	
POT.ACU	1			
POT.BER				1
POT.CRI		1	1	
POT.GRA	1			
POT.LUC			1	
POT.NAT		1	1	
POT.NOD		1	1	
POT.PEC		1	1	
POT.PER	1	1		
POT.POL	1			
POT.PRA	1			
POT.PUS	1	1		



	1	2	3	4
POT.TRI				1
RAN.AQU			1	
RAN.TRI		1	1	1
ROR.AMP			1	1
SCI.LAC			1	
SPA.ERE			1	
SPI.POL		1	1	
VAL.SPI	1	1		
VER.ANA		1	1	
VER.BEC		1	1	1
ZAN.PAL				1

ОПИСАНИЕ НА МЕТОДА ЗА БЕК МАКРОЗООБЕНТОС НА РЕКИ НАЦИОНАЛЕН ТИП R6

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА	ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ
7. Приложение на метриците и ограничения при приложението	Метриката се използва само за отчитане на състоянието на р. Дунав, тя е индикативна за органично натоварване и от части за хидроморфологични промени.
8. Методика за пробонабиране	Модифициран Експресен Метод за Биологичен Мониторинг (Modified Rapid Biological Assessment, mRBA). Този метод първоначално е разработен за басейна на р. Прут (подбасейн Украйна и Молдова) като Rapid Biological Assessment (RBA).
8.1. Условия за представителност на пробата	Стабилно ниско ниво на р. Дунав, без големи флуктуации. Проби не трябва да се събират: ➤ по време или веднага след наводнения; ➤ - по време на висока неестествена мътност.
8.2. Необходими материали и оборудване	✓ Стандартна ръчна хидробиологична мрежа с дълга дръжка и размер на отворите на мрежата 500µm; ✓ Сита с размери: d – 20 см и големина на отворите: 8 мм; 2 мм; 0,5 мм; ✓ Пинцети; ✓ Непромокаеми ботуши; ✓ Комбиниран оксиметър/ рН-метър/кондуктометър; ✓ 1 л пластмасов (стъклен) контейнер; ✓ Неизтриващ се водоустойчив маркер и молив;

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

8.3. Описание на процедурата за пробонабиране

- ✓ Спирт или формалдехид; може да се използва и смес от двете в съотношение 3:1 в полза на спирта;
- ✓ Протокол за пробонабиране;
- ✓ Хладилна чанта – за случаите, когато се изисква изпращане на проби за хим. анализ в лаборатория;
- ✓ GPS;
- ✓ Фотоапарат;
- ✓ Разрешително (копие от него) за работа със защитени видове;
- ✓ Разрешително (копие от него) за работа в гранични региони.

1. Прилага се мултихабитатен метод за събиране на проби (Barbour et al., 1999). Събират се проби (подпроби) от всички основни дънни хабитати (биотопи) и се обединяват в една обща представителна проба. Броят на подпробите се съобразява с процентния дял на представените дънни хабитати (биотопи). Пробонабирането се извършва по определена схема:

Пробонабират се 10 рамки/мрежи от всеки пункт като общата площ на пробонабиране трябва да бъде 1 м^2 (10 рамки/мрежи $\times 0,1 \text{ м}^2$). Площта, от която се събира всяка от подпробите (площа на ритане и обмиване) е равна на проекцията на рамката на мрежата върху дънното. Разпределението на 10-те рамки/мрежи се съобразява с процентното присъствие на субстратит/биотопите. Например 10% камъни, 30% едър чакъл, 20% дребен чакъл, 10% пясък, 30% макрофити означават, че десетте рамки се разпределят по следния начин:

- ✓ 1 рамка – камъни (ритане или обмиване – по преценка);
- ✓ 3 рамки – едър чакъл (2 ритане, 1 обмиване);
- ✓ 2 рамки – дребен чакъл (ритане);
- ✓ 1 рамка – пясък (по-удобно е с ритане);
- ✓ 3 рамки – макрофити (само обмиване).

Пробонабирането се извършва срещу течението. Пробите се взимат като се постави мрежата срещу течението и кракът се поставя пред отвора на мрежата, с пръсти насочени надолу по течението срещу мрежата. Кракът се движи назад срещу течението, като зообентоса и дънните субстрати се вкарват от течението в

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

10.1. Оптимален сезон и честота на пробонабиране

хидробиологичната мрежа. След като водата се избистри, процедурата се повтаря без да се мести мрежата.

За да могат в пробата да се включат и здраво прикрепените организми, заедно с ритането на дънния субстрат се отделя и време за обмиване на камъни. При слабо течение на водата при ритане на дънния субстрат, мрежата се придвижва срещу течението, за да компенсира ниската скорост.

Дълбоките реки изискват специален подход – в повечето случаи се прекарва хидробиологичната мрежа през растителността покрай брега или по дъното. В по-дълбоки води обаче липсата на достатъчно екземпляри или таксони може да бъде проблем. В такива случаи се налага броя на мрежите трябва да се увеличи до 20, за да се осигури представителна проба.

Взети по този начин подпробите се смесват след, което се пресяват с поредица от сита, и се фиксират според стандартната процедура (фиксиране на терена с 4% формалин или 96 % алкохол). Цялата процедура по пробонабирането се описва подробно в протокол (Анекс 1).

2. Измерване на физико-химичните параметри с преносими калибрирани уреди в последователност:

- ✓ Разтворен кислород (mg L^{-1});
- ✓ Насищане с кислород (%);
- ✓ Температура;
- ✓ Активна реакция /pH/;
- ✓ Електропроводимост ($\mu\text{S/cm}$).

9. При изискване на хим. анализ в лаборатория се отделя проба (1,5 л.) и се поставя в хладилна чанта, в случай на нужда пробата се фиксира на място.

10. Прилагане на снимков материал.

Веднъж годишно при ясно изразено маловодие на р. Дунав, което обикновено е най-ясно изразено през периода август-септември.

Изборът на подходящ сезон е от изключително значение за мониторинга на макрозообентоса и сравнимостта на резултатите. Всички данни за макрозообентоса

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

10.2. Референции и стандарти	извън подходящия сезон следва да се считат за непредставителни. БДС EN 16150: 2012 – Качество на водата. Ръководство за вземане на пропорционални проби от мултихабитата на прикрепени макробезгръбначни животни от плитки реки; БДС EN ISO 10870: 2012 Качество на водата. Указания за избор на методи и способности за вземане на проби за прикрепени макробезгръбначни в пресни води (ISO 10870);
10.3. Образец на протокол за пробонабиране	Виж приложение Анекс 1
3. Методика за лабораторна обработка	Обработката на пробите се извършва по методи и процедури, съпоставими с EN ISO 5667-3:2003/AC:2007 Water quality - Sampling - Part 3: Guidance on the preservation and handling of water samples.
3.8. Необходими материали и оборудване	Проточна вода, спирт за съхранение на промитите проби, меки пинцети, бинокулар с увеличение до 50 пъти, препараторна игла, различни по обем епруветки с капачки.
3.9. Описание на процедурата за лабораторна обработка	Лабораторна обработка на събраната проба включва промиване с чиста вода, до пълното отмиване на консерванта, прехвърляне в петриева паничка и пристъпване към микроскопски анализ. След отделяне на макробезгръбначните организми от попадналия в пробата субстрат се извършва сортирането им в 5 индикаторни групи, съобразно толерантността им към замърсяването на водата. В лабораторни условия се извършва микроскопска таксономична детерминация и изброяване на намерените дънни безгръбначни за всяка ключова и индикаторна група. Изисква се да се направи възможно най-пълна таксономична детерминация на събраните дънни безгръбначни (необходимо таксономично ниво на индикаторните и ключовите групи).
3.10. Референции и стандарти	БДС EN ISO 5667- 3: 2012 – Качество на водата. Вземане на проба. Част 3: Ръководство за консервиране и подготовка на водните проби (ISO 5667- 3: 2012), EN ISO 5667-3:2003/AC:2007 Water quality - Sampling - Part 3: Guidance on the preservation and handling of water samples.“
4. Изчисления и представяне на	Принципния подход е същият както при изчисляването на БИ за реките от останалите

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

резултата

типове (R7/R8, R14, както и останалите интеркалибрирани вече типове). Има разлика при индикаторните групи.

Основните групи **Таксони** са представени в долния списък:

Термина „Таксон/Таксони“ е използван при този метод в зависимост от нивото на определяне както следва:

<i>Turbellaria</i> :	genus
<i>Oligochaeta</i> :	order
<i>Polychaeta</i> :	family
<i>Hirudinea</i> :	genus
<i>Mollusca</i> :	genus/species
<i>Crustacea</i> :	family/genus
<i>Plecoptera</i> :	family
<i>Ephemeroptera</i> :	genus/species
<i>Trichoptera</i> :	family
<i>Odonata</i> :	genus
<i>Megaloptera</i> :	genus
<i>Heteroptera</i> :	family
<i>Coleoptera</i> :	genus
<i>Diptera</i> :	family
<i>Rheotanytarsus</i> sp. или <i>Chironomus</i> sp. или останалите <i>Chironomidae</i>	
<i>Hydrachnidia</i> (<i>Hydracarina</i>)	присъствие
Останалите 'групи:	присъствие

За индикаторни групи не се считат:

Coelenterata
Dugesia tigrina
Nematoda
Rotatoria

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

Gastrotricha
Nematomorpha
Nemertini
Branchiobdellida

Crustacea indet. Различни от Amphipoda, Isopoda, Decapoda and Mysida - -

Araneae

Ephemeroptera различни от изброените в таблицата (viz. Ameletidae, **Ametropodidae**, **Arthropleidae**, **Behningiidae**, **Isonychiidae**, **Neoephemeridae**, **Prosopistomatidae**)

Trichoptera indet. различни от изброените

Hymenoptera

Chaoboridae

Culicidae

Diptera indet. различни от изброените

За целите на **mRBA** процедурата дънните макробезгръбначни са разделени на пет „индикаторни групи“ по следния начин. Група А (чувствителни форми), Група В (по-малко чувствителни форми), Група С (толерантни форми), Група D (много толерантни форми) и Група Е (изключително толерантни форми). Тези групи и тяхното съотношение при определянето на mRBA са показани в представената **Таблица** по-долу. В **Анекс 3** е представен списъка с индикаторните таксони.

При изчислението се взимат под внимание както Общия Брой на Таксоните така и видовото богатство в индикаторните групи (А, В, С, D, Е), т.е. методът използва едновременно две метрики.

Резултатите се представят като процентно отклонение от референтната стойност, която се приема за 100 %.

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

Индикаторна група	Брой таксони в индикаторната група	Общ брой на таксоните				
		0-1	2-5	6-10	11-15	16+
		Стойност на mRBA (%)				
A	3+	Неприложимо	75	80	90	100
	2	Неприложимо	60	75	80	95
	1	5	40	60	75	85
B	3+	Неприложимо	40	60	75	80
	1-3	5	25	50	65	70
C	Всички по-горни индикаторни групи липсват	5	25	35	45	55
D	Всички по-горни индикаторни групи липсват	5	20	25	30	Неприложимо
E	Всички по-горни индикаторни групи липсват	0	10	15	Неприложимо	Неприложимо

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

4.4. Образец на работен протокол/ протокол от анализ	В зависимост от относителните пропорции на толерантните групи, mRBA индекса може да бъде намален, ако са изпълнени следните критерии: • Когато EQR показва <i>отличен статус</i>: Ако относителното обилие на група А е по-малко от 5% или ако относителното обилие на обединените групи D+E е >2% или ако относителното обилие на Baetis, Gammaridae или Hydropsyche е >50% или ако относителното обилие на който и да е таксон от група С е >20% ТОГАВА стойността на индекса се намалява • Когато EQR показва <i>добър статус</i>: Ако относителното обилие на група В е <2% или ако относителното обилие на група С е >50% ТОГАВА се намалява • Когато EQR показва <i>умерен статус</i>: Ако относителното обилие на група D е >50% или ако относителното обилие на група E е >10% ТОГАВА се намалява Виж приложение Анекс 2		
11. Изисквания за квалификацията на операторите	Събирането на пробите допуска средно или средно специално образование(лаборанти, техници). Детерминацията на индикаторните групи и изчисленията и оценката на резултатите задължително изисква по-висока квалификация - висше биологично образование. Ежегодни упражнения по интеркалибрация между персонала включен във всички етапи на мониторинга, както и контрол от независим външен експерт са задължителни, понеже методът е нов е необходимо да се обърне особено внимание на неговите специфики.		
12. Класификация на екологичното състояние	EQR се изчислява като отношение на измерената стойност на mRBA и референтната стойност. Границите на класовете са разделени пропорционално на части между 0.0 и 1.0 (те са определени основно на базата на експертния опит) Границите на класовете лош/много лош е определена на 0.25 вместо 0.20) <table border="1" data-bbox="880 1337 1296 1374"> <tr> <td>mRBA %</td><td>EQR</td></tr> </table>	mRBA %	EQR
mRBA %	EQR		

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА		ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ		
		80 ÷ 100	0.80 ÷ 1.0	
		60 ÷ 75	0.60 ÷ 0.75	
		40 ÷ 55	0.40 ÷ 0.55	
		25 ÷ 35	0.25 ÷ 0.35	
		0 ÷ 0.20	0.00 ÷ 0.20	

Приложение: Разширена схема за определяне на mRBA (mRBA Алгоритъм)

Анекс 1: Образец на протокол за пробонабиране

1. ВОДЕН ОБЕКТ: р. Дунав				КОД: JDS72	
МЯСТО: с. Загражден					
Тип: R6				Водно тяло име/код:	
Община:			Водосбор:		
2. ПРОБОНАБИРАНЕ Дата и час:			Технически средства:		Агенция: Дунавска
Брой мрежи / площ:			Площ на пробонабиране [m ²] :		
Стратегия на пробонабиране:			Промити камъни:		Промити макрофити:
3. Полево наблюдение, Имена на експерта:					
GPS координати		N: 43.75158		E: 24.57011	
				Надморска височина (м): 40	
Субстрат (%)		Прозрачност		Водна повърхност	
Бързей / вирове					
Скали [> 4 м]		Прозрачно: ☐	Чисто: ☐	Бързей: ☐	
Големи камъни [256 мм - 4 м]		Мътно: ☐	Пяна: ☐	Пункт без бързей: ☐	
Камъни [64-256 мм]	10	Оцветено: ☐	Отпадъци: ☐	Бързей с вирове: ☐	
Малки камъни [16-64 мм]	5	Скорост		Засенченост	
Чакъл [2-16 мм]		Много бавно: ☐	Няма: ☐	Урбанизирана територия: ☐	
Пясък [0,06-2 мм]	45	Бавно: ☐	Ниска: ☐	Широколистни гори: ☐	
Тиня / кал	40	Средно: ☐	Средна: ☐	Иглолистни гори: ☐	
Детрит (шума и подобни)		Бързо: ☐	Висока: ☐	Смесени гори: ☐	
Естествена органика / фин детрит / торф		Много бързо: ☐	Много висока: ☐	Храсти: ☐	
Дървесни клони		Турболентно: ☐	O₂ (mg/l): %:	Пасища и ливади: ☐	
Изкуствено дъно		Ширина (м):	pH: Т°C:	Обработваеми площи: ☐	
Друго:		Дълбочина (м):	ЕС (µS/cm):	Други: ☐	
Друга фауна/флора		Макрофити описание – описание Kohler (1÷5) + % покритие (50 m зона)			
Потопени макрофити		Плаващи макрофити		Хелфити / амфифити	
Влакнести водорасли (%):					
Други водорасли:					
Торфен мъх (%):					
Земноводни:					
Други:					
Обилие					
Ниско ☐					

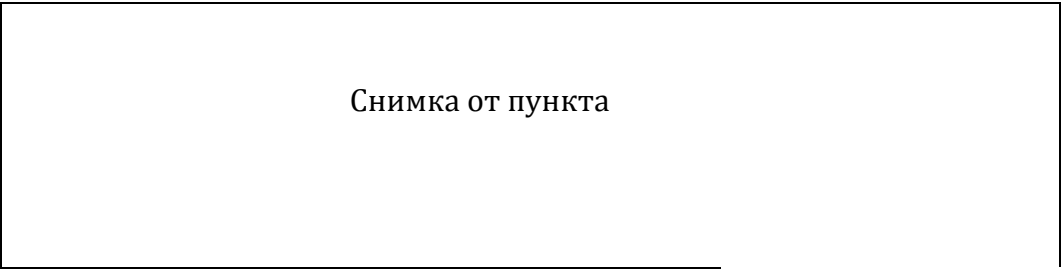
Средно ☐									
Високо ☐									
Общо обилие, м ²									
МЗБ фауна (относително обилие)									
Единични (1-5 ind.)		Представени (6-20)		Често срещащи се (21-50)		Многобройни (51-100)		Доминиращи (100+)	
Dreissena polymorpha Jaera istri Hydrozoa Gen. sp. Esperiana esperi Microcolpia daudebartii acicularis Corbicula fluminea Cryptochironomus sp.		Cloeon dipterum Holandriana holandrii Cryptochironomus defectus Gammaridae sp. Corophiidae Gen. sp. Limnomysis benedeni Ceratopogonidae Gen. sp. Glyptotendipes sp.				Theodoxus fluviatilis Potamothenix moldaviensis		Limnodrilus sp. Chironomus sp.	
Брой таксони		Биоразнообразие		Коментари:		EQR			
Рибни		Ниско ☐				BMWP		NA	
		Средно ☐				ASPT		NA	
		Високо ☐				Общ брой семейства		NA	
		BI (1 – 5) NA				H (Shanon&Weaver)		NA	
		mRBA				HMMI		NA	

Изготвил:

Анекс 2: Образец на работен протокол/ протокол от анализ

БЕК	Макрозообентос	Температура	Ел. проводимост	pH	O ₂	O ₂ -разтворен
Код на пункт						
Речен тип		Видове	Група	Код	Номер	Релативно обилие
Река						
Име на пункт						
N						
E`						
Alt						
Година на пробонабиране						
Дата на пробонабиране						
Командировка №						
Експерт						
Скала(%)						
Камъни>40(%)						
Камъни20-40(%)						
Камъни6-20(%)						
Камъни 2-6(%)						
Чакъл(%)						
Пясък(%)						
Тиня и пясък(%)						
Тиня(%)						
Глина(%)						
Обраствания(%)						
Висши растения(%)						
Мъртва дървесина(%)						
Друго(%)						
Засенченост						
Обилие						

ASPT					
mRBA					
EQR					
ES					
Забележка					



Забележка:		
Abbrev	Name_EN/ BG measure	Мерни единици
WT	Water temperature/Температура на водата	°C
EC	Conductance/Електропроводимост	µS/cm
pH	pH/Активна реакция	pH
O ₂	Oxygen content/Разтворен кислород	mg/L
O ₂ -sat	Oxygen saturation/Насищане с кислород	%
Alt	Altitude/Надморска височина	м
mRBA	Modified Rapid Biological Assessment	%
ASPT	Avarege Score Per Taxon	

Изготвил:

Анекс 3 : Списък на индикаторните таксони към групите A, B, C, D, E

Група А Чувствителни таксони	Група В По слабо чувствителни таксони	Група С Относително толерантни таксони	Група D Толерантни форми	Група E Най-толерантни форми
<i>Crenobia, Polycelis</i> All Plecoptera (с изкл. на <i>Leuctridae</i>) <i>Heptageniidae</i> <i>(Siphonuridae</i> <i>Ephemeridae</i> <i>Polymitarcyidae</i> <i>(Ephoron)</i> <i>Oligoneuriidae</i> <i>Cordulegastridae</i> <i>Hydrobiidae</i> (<i>Gastropoda</i> , excl. <i>Lithoglyphus</i> and <i>Potamopyrgus</i>) <i>Blephariceridae</i> (<i>Diptera</i>)	<i>Dugesiiidae</i> (с изкл. на <i>Dugesia tigrina</i>) <i>Leuctridae</i> (<i>Plecoptera</i>) <i>Baetidae</i> (с изкл. на <i>Baetis</i>) <i>Ephemerellidae</i> , <i>Leptophlebiidae</i> , <i>Potamanthidae</i> (<i>Potamanthus luteus</i>) (<i>Ephemeroptera</i>) <i>Trichoptera cased</i> , <i>Ecnomidae</i> , <i>Philopotamidae</i> , <i>Polycentropodidae</i> , <i>Psychomyiidae</i> , <i>Rhyacophilidae</i> (<i>Trichoptera</i>) <i>Odonata</i> <i>Sialidae</i> (<i>Megaloptera</i>) <i>Aphelocheirus</i> (<i>Heteroptera</i>) <i>Jaera</i> (<i>Janiridae</i> , <i>Isopoda</i> , <i>Crustacea</i>) <i>Rheotanytarsus</i> <i>(Chironomidae)</i> , <i>Athericidae</i> , <i>Limoniidae</i> , <i>Pediciidae</i> , <i>Tipulidae</i> (<i>Diptera</i>) <i>Bithyniidae</i> (<i>Bithynia</i> , <i>Gastropoda</i>) <i>Porifera (Spongilidae)</i>	<i>Turbellaria</i> (с изкл. на <i>Crenobia, Polycelis, Dugesia gonocephala/lugubris/polychroa</i>) <i>Baetis</i> (<i>Baetidae</i>), <i>Caenidae</i> (<i>Ephemeroptera</i>) <i>Hydropsychidae</i> <i>(Trichoptera)</i> <i>Heteroptera</i> (с изкл. на <i>Aphelocheirus</i>) <i>Coleoptera</i> <i>Simuliidae</i> <i>Ceratopogonidae</i> , <i>Chaoboridae</i> , <i>Culicidae</i> , <i>Cylindrotomidae</i> , <i>Empididae</i> , <i>Tabanidae</i> , <i>Muscidae</i> , <i>Dixidae</i> , <i>Thaumaleidae</i> (<i>Diptera</i>) <i>Lepidoptera</i> <i>Hydrachnidia</i> <i>(Hydracarina)</i> <i>Gammaridae Corophiidae</i> <i>(Amphipoda, Crustacea)</i> <i>Mysidae</i> (<i>Crustacea</i>) <i>Potamidae</i> (<i>Crustacea</i>) <i>Astacidae</i> (<i>Crustacea</i>) <i>Planorbidae (incl. Ancylus)</i> <i>Neritidae</i> (<i>Theodoxus fluviatilis</i>) <i>Unionidae</i> <i>Polychaeta</i> (<i>Hypania invalida</i> и др.) <i>Bryozoa</i>	<i>Asellus</i> (<i>Asellidae, Isopoda, Crustacea</i>) <i>Chironomidae</i> (с изкл. на <i>Rheotanytarsus, Chironomus</i>) <i>Psychodidae</i> , <i>Stratiomyiidae</i> , <i>Ephydriidae</i> , <i>Sciomyzidae</i> (<i>Diptera</i>) <i>Gastropoda</i> (с изкл. на <i>Neritidae, Planorbidae</i>) <i>Bivalvia</i> (с изкл. на <i>Unionidae</i>) <i>Hirudinea Oligochaeta</i> (с изкл. на червено оцветените <i>Tubificidae</i>)	<i>Tubificidae</i> (червено оцветените) <i>Chironomus</i> (червено оцветените големи <i>Chironomidae</i> , <i>Diptera</i>) <i>Eristalis</i> (<i>Syrphidae</i> , <i>Diptera</i>)

Приложение към метода

Разширена схема за определяне на mRBA (mRBA Алгоритъм)

Отлично състояние (90-100%) с референтни условия се определя ако:

- [1] Група А е поне обичайна: обикновено представена с 3-4 или повече таксона като *Heptageniidae* species, *Ephemera* sp., *Plecoptera*, и др.;
- [2] Група В варира, може да е представена от няколко таксона, както и да отсъства или да е изобилна;
- [3] Група С като правило е от обилна до по-малко обилна, но някои таксони могат да се окажат понякога домининантни, например *Baetis*, *Gammaridae*, *Hydropsyche*, и др.;
- [4] Група D и Е са спорадични (няколко) или отсъстват напълно;
- [5] Макрофитите, ако присъстват, са разнообразни и не са развити прекомерно;
- [6] Нишковидните водорасли (*Cladophora*, и др.), ако присъстват, то не са развити прекомерно;
- [7] Комплекси от *Sphaerotilus* (нишковидни бактерии) и други слизести обраствания не присъстват;
- [8] Субстратът е чист, без тиня;
- [9] РК (Разтворения кислород) е близък до 100% по всяко време на денонощието.

Много добро състояние (80-85%) близко до референтното, се определя ако:

- [1] Присъства поне един таксон от Група А, с най-малко 6 индивида в пробата. Обикновено присъстват от 1-3 таксони от Група А;
- [2] Таксоните от Група В могат да бъдат обилни, често срещани, няколко или да отсъстват . Рядко таксоните от Група В могат да бъдат доминантни (бавно течаща вода, 'макрофитни' типове реки, и т.н.);
- [3] *Baetis*, *Gammaridae*, *Hydropsyche* често са доминантни, но никога повече от 300+ индивида. Другите таксони от Група С никога не са обилни;
- [4] Група D и Е могат да бъдат представени в малко количество (няколко) или да отсъстват;
- [5] Ръстта на макрофитите и водораслите не е голям;
- [6] *Cladophora*, ако се срещат, то не са развити прекомерно;

- [7] *Sphaerotilus* комплекси (нишковидни бактерии) и други слизести/комплекси не присъстват
- [8] Субстратът може да бъде леко затинен;
- [9] РК варира обикновено от 80 до 120%.

■ Добър статус (60-75% Прут/Днепър) се присъжда ако:

- [1] Най-малко един таксон от Група А присъства, най-малко с няколко индивида в пробата (представени с повече от 2 индивида);
- [2] Таксоните от група В могат да са обилни, обикновени, няколко или да отсъстват. Често те могат да бъдат доминантни (бавно течаща вода, 'макрофитен' тип река, и др.);
- [3] Група С са обилни, доминантни и дори изобилни /супер доминиращи (с над 300+ индивиди);
- [4] Група D – често са обикновени, до присъстващи, няколко или отсъстващи. Някои *Chironomidae Gen sp.* или видове *Mollusca* могат да бъдат обилни или да доминират;
- [5] Група Е - винаги са няколко или напълно отсъстват;
- [6] Растежът на Макрофитите и водораслите обикновено е буен, често прекомерен;
- [7] *Cladophora*, обикновено са добре развити;
- [8] *Sphaerotilus* комплекси (нишковидни бактерии) и други слизести нараствания/комплекси понякога се срещат в малки количества;
- [9] Субстратът може да бъде значително затинен (особено в местата с бавно течение);
- [10] РК варира обикновено от <80 до >120%.

■ Умерен (среден) статус (40-55% Река Прут) се присъжда ако:

- [1] Таксоните от Група А отсъстват;
- [2] Група В – присъства, може да присъстват от няколко представителя до пълно отсъствие (рядко са обилни);
- [3] Група С – обилна/супер доминантна (над 300+ индивиди). (Някои *Gammaridae*, *Hydropsyche*, и др. могат да бъдат нападнати от гъби);
- [4] Група D (с изключение на *Asellus aquaticus* <21 представителя) са обикновени, няколко или отсъстват. Някои *Chironomidae Gen sp.* или видове *Mollusca* могат да бъдат изобилни или доминиращи;
- [5] Група Е – с няколко представителя или да отсъства;

- [6] Макрофитите, ако присъстват, листата им често са покрити с тиня и/или епифитни водорасли;
- [7] *Cladophora*, обикновено са обилни;
- [8] *Sphaerotilus* комплексите (нишковидни бактерии) и други слизести нараствания понякога са в големи количества;
- [9] Субстратът може да бъде силно затинен;
- [10] РК варира обикновено от <80 до >120%.

 Лош статус (25-35% река Прут) се присъжда ако:

- [1] Групи А и В отсъстват;
- [2] От Група С – се срещат отделни представители или отсъстват напълно;
- [3] *Asellus aquaticus* е от обикновен до прекомерно срещан. Други таксони от Група D могат да бъдат обичайни, обилни, доминиращи или прекомерно разпространени;
- [4] Група Е могат да бъдат обикновени;
- [5] Макрофитите, ако присъстват, са с листа покрити с тиня и/или покрити от епифитни водорасли, фикомицети или нишковидни бактерии (*Sphaerotilus natans*);
- [6] *Cladophora*, обикновено не са представени добре;
- [1] *Sphaerotilus* комплексите (нишковидни бактерии) и други слизести образувания обикновено са значителни;
- [7] Субстратът обикновено е силно покрит с тиня. Често мътността е много висока и мирише на канализационни води/детергент;
- [8] РК обикновено е доста нисък (20 – 50%).

 Много лош статус (<25% река Прут/Днепър) се определя ако:

- [1] Групите А, В и С отсъстват;
- [2] Група D присъства в малка степен или отсъства (рядко обилни – *Chironomidae Gen. sp.*; *Oligochaeta Fem. sp.* с изключение на *Tubificidae*);
- [3] Група Е е обилна или доминираща;
- [4] Макрофити - отсъстват;
- [5] *Cladophora* - отсъстват;

- [6] *Sphaerotilus* комплексите (нишковидни бактерии) и други слизести образувания присъстват при (органично натоварване) или отсъстват (токсично замърсяване);
- [7] Субстратът е силно затинет с наноси от анаеробни отлагания. Често мирише на H₂S;
- [8] РК обикновено е много нисък, понякога е нула.

Бележки към Схемата за определяне на mRBA:

Б1: Представената по-горе схема (mRBA алгоритъм) описва типичния състав на макробезгръбначните на реки и потоци, незасегнати от човешката дейност (mRBA=90-100%) или засегнати в различна степен (mRBA=0-85%) от антропогенен натиск (предимно като приемници на органични замърсяване или обща деградация).

Б2: Когато е възможно следва да се вземат проби от всички налични местообитания чрез kick sampling, отмиване на камъни и обраствания с акцент върху местата с бързеи (riffle sites) и макрофити (ако има такива). Част от финия субстрат, например пясък /глина/ органична тиня¹ просто трябва да бъде проверяван за организми от mRBA оператора, защото те могат сериозно да възпрепятстват реалната оценка на екологичното състояние.

Б3: Единичните индивиди могат да бъдат пренебрегнати, тъй като те вероятно са донесени от течението. Това зависи от експертната оценка и трябва да се отбележи в протокола за mRBA.

Б4: Референтни условия (mRBA=90-100%), се приписват само при наличието на абсолютно или близко до девствени условия с разнообразна и функционално-балансирана съобщества.

Б5: Специфични условия могат да окажат влияние върху mRBA. Обикновено 20-30% от пунктовете за пробонабиране са специфични случаи (или mRBA изключения). Понякога фаунистичните критерии за отличен и добър статус не са изпълнени поради:

Б5-1: Значителен подхранване с подпочвените води;

Б5-2: Много твърда, варовита вода, (условия на калцификация);

Б5-3: Ултра-олиготрофни условия;

Б5-4: Специфичен субстрат – скално корито, торф;

¹ Оператора вземащ пробите трябва да различава органичната тиня и кал от естествения фин детрит в реките.

- Б5-5: Много специфични речни типове или подтипове, например пресъхващи (сезонни) реки, реки с много утайки и променливо речно корито, много бавно течащи води с прекомерно количество водни макрофити (близки до блатните условия и водно-блатни условия) и др.;
- Б5-6: Токсично и друго замърсяване с ниска концентрация, например тежки метали, някои пестициди, устойчиви органични замърсители), някои въглеводороди и т.н.;
- Б5-7: Други релевантни фактори, например влияние на някои водни инвазивни видове, влиянието на бобрите върху малките реки в рамките на Горен Днепър в Република Беларус, след езера/язовири и др.

Всички тези специфични условия следва внимателно да бъдат описани като приложения към методологията на mRBA като се нанесат някои корекции в индекса или като официално приети изключения. Записът на данни за специфичните условия следва да се актуализира най-малко на всеки 6 години.

ОПИСАНИЕ НА МЕТОДА ЗА БЕК РИБИ НА РЕКИ НАЦИОНАЛЕН ТИП R6

БЪЛГАРСКИ РИБЕН ИНДЕКС ЗА Р. ДУНАВ (БРИД)

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА	ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ
11. Приложение на метриците и ограничения при приложението	Модифицираната версия на БРИ за р. Дунав е калибрирана да работи само за долното течение на реката, национален речен тип R6, тъй като референтната ихтиоценоза и референтни стойности са типово-специфични. Други ограничения за прилагането на метода са описани в точка 2.1: Условия за представителност на пробата. Връзката на индекса с отрицателното антропогенно влияние се оказва слаба ($R^2 < 0.1$), тъй като различните видове натиск са почти еднозначни за българския сектор на р. Дунав, без резки колебания в определени сектори. От друга страна при разглеждането на река Дунав, като транс-гранична река, би следвало да се отчита и натиска произхождащ от румънска страна.
12. Методика за пробонабиране	Българският рибен индекс за р. Дунав е базиран главно върху методиките за улов на риби с електрически ток съгласно стандарт EN 14011: 2003- Water quality. Sampling of fish with electricity, намерил отражение в българското законодателство като БДС EN 14011:2004. Пробонабирането чрез електроулов се извършва при променлива дълбочина с оглед оптимални резултати. Данните от електроулова задължително се допълват с други методи за пробонабиране – крайбрежен гриб и при възможност, според конкретните условия, дрифтерни мрежи. И трите метода за пробонабиране позволяват стандартизиране и съпоставяне на данните (брой екземпляри към единица площ). Отчитане на координати, снимки. Чрез специализирано оборудване се измерват на място физикохимичните параметри на водата : - Температура на водата в градуси Целзий; - Насищане с кислород (в проценти) и съдържание на кислород (в мг/л); - Електропроводимост (микросиверти на см); - Активна реакция на водата (pH). Оценка на локални антропогенни въздействия: ✓ Описват се източници на замърсяване, андигиране, укрепване на брега, промяна

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

12.1. Условия за представителност на пробата	на дъното и др. ✓ Изчислява се общата риболовна площ и дължината на изследвания речен участък. Обработката на улова се извършва <i>in situ</i> и включва: . Определяне на видоват принадлежност , преброяване и измерване на уловените екземпляри. Измерва се винаги цялата дължина на тялото от върха на муцуната до края на опашката – абсолютна дължина на тялото (TL). В протокола екземплярите се записват в размерни групи; - Определяне на видовата принадлежност и преброяване на нулевогодишните (ювенилните) екземпляри; - Преглеждане за ектопаразити, малформации, хибриди, заболявания. за определяне на ПС: - Численост /плътност (брой индивиди/ха); - Възрастова структура (размерни класове отговарящи на възрастови класове).
12.2. Необходими материали и оборудване	Пробонабиране не трябва да се извършва при необичайно състояние на реката – придошла, кална, буйна или с висока температура на водата, тогава се отлага до нормализиране на състоянието. Може да се извършва при ниско водно ниво, но не екстремно ниско. Работен екип – 6 експерти ЕКИПИРОВКА БРОЙ НА ЕКИП Лични вещи – за 1 човек ✓ яке за вятър и дъжд 1 бр. ✓ топла дреха 1 бр. ✓ ботуши или обувки (със сандали да не се работи!) 1 бр. ✓ дъждобран (ако прогнозата е за дъжд!) 1 бр. ✓ шапка, ръкавици (за студено и топло време!) 1 бр. ✓ зареден мобилен телефон 1 бр. ✓ непромокаема раница/торба 1 бр. ✓ постелка за сядане-походен стол 1 бр. ✓ нож 1 бр.

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

Екипировка за придвижване на терена и улов на риба – в зависимост от особеностите на мястото за лов

- ✓ високо проходим теренен автомобил 1 бр.
- ✓ колесар за лодка 1 бр.
- ✓ специално оборудвана лодка-работна платформа 1 бр.
- ✓ Извънбордов двигател 1 бр.
- ✓ Подходящи електроди - катод и анод 2 бр.
- ✓ бензинов генератор с трансформатор за електроулов, 7-10 кв. 1бр.
- ✓ резервоар за бензин 2 (за извънбордовия двигател и за ел. генератор)
- ✓ кепчета с дълги и къси дръжки 4 бр.
- ✓ гумени ръкавици 4 чифта
- ✓ дълбоки гумени ботуши 4 чифта
- ✓ гумен гащеризон 4 чифта
- ✓ поляризирани очила 4 бр.
- ✓ въжета 5, 8, 10 mm x 40 m 3 бр.
- ✓ едностенни хрилни мрежи с различна големина на отворите „очите“ “ 4 бр.
- ✓ тристенни хрилни мрежи с различна големина на “очите” 4 бр.
- ✓ гриб с дължина, височина 2 м и размер на око 5 мм 2 бр.
- ✓ спасителни жилетки 4 (по една за всеки член на екипа) бр.

Екипировка за обработка на улова

- ✓ пластмасова кофа (12 – 15 l) 2 бр.
- ✓ корито (100 l) 2 бр.
- ✓ акумулаторна помпа за аериране на вода 2 бр.
- ✓ мерителна дъска 1 бр.
- ✓ рулетка 1 бр.
- ✓ сгъваема маса 1 бр.

Техническо оборудване

- ✓ Полеви уреди за електрохимическо измерване на параметрите на водата:
 - рН метър 1 бр.
 - оксиметър 1 бр.

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

12.3. Описание на процедурата за пробонабиране

- кондуктометър 1 бр.
- ✓ Живачен/спиртен термометър 2 бр.
- ✓ Ръчен GPS приемник 1 бр.
- ✓ Преносим компютър (лаптоп) 1 бр.
- ✓ Цифров фотоапарат 1 бр.
- ✓ Електрически фенер/челник 4 бр.
- ✓ Радиостанции 1 компл.

Екипировка за документиране

- ✓ определител за риби мин. 1 бр. за екип!
- ✓ Протокол за пробонабиране 10 бр.
- ✓ Клипборд с капак- за писане и подложка при работа 1 бр.
- ✓ Тефтер или тетрадка за допълнителни бележки-непромокаеми 1 бр.
- ✓ Химикалки/моливи 3-4 бр.
- ✓ Карта на района 1 бр.
- ✓ Разрешително (копие от него) за електроулов на риба с научно-изследователски цели 1 бр.
- ✓ Разрешителното (копие от него) за улов на риба с научно изследователски цели 1 бр.
- ✓ Разрешително (копие от него) за работа със защитени видове 1
- ✓ Разрешително (копие от него) за работа в гранични региони 1

РАЗНИ

спрей/лосион против комари (ако се налага) 1 бр.

РЕЗЕРВИ

- ✓ резервен фенер/челник за екип 1 бр.
- ✓ резервни електроди 1 компл.
- ✓ резервни кабели и части за извънбордовия двигател и електроагрегата 1 компл.
- ✓ Резервни батерии за електрическите фенери

Стратегията пробонабиране е насочена към всички достъпни местообитания на рибите (мулти-хабитатно пробонабиране) с помощта на крайбрежен гриб в комбинация с

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

електроулов от лодка. Определените трансекти по двата метода трябва да обхващат пропорционално всички налични местообитания, по този начин се осигурява представителна извадка за приблизително 10 километров участък на р. Дунав (сбора на всички трансекти на пробовзимането е най-малко 1,5 км). Дрифтерни мрежи също могат да бъдат използвани в допълнение, но не задължително - само когато условията / водните нива са подходящи. Пробонабиране с дрифтерни мрежи се извършва само в т. нар. „тони“ участъци, чието дъно е чисто от големи камъни, потънали дървета и други препятствия, които могат да закачат мрежите.

Екипът в лодката се състои от трима души – един водач и двама експерти. Четвъртият експерт подsigурява екипа от брега. Пробонабира се от лодка с извънбордов двигател с електрофишер, работещ с постоянен или прав импулсен ток, вграден в рамка със собствено захранване, с мощност 7-10 кВт. Може да се използват обикновени аноди, но е препоръчително да се използват и буум-аноди, монтирани на лодката. се извършва успоредно на бреговете на реката като придвижването става по течението. Лодката трябва да е снабдена с двигател, който да позволява придвижване със скорост съвсем малко надвишаваща скоростта на течението. Дължината на трансектите за пробонабиране следва да е не по-малка от 100 м.

Уловените риби се съхраняват в контейнер на лодката с минимум 50 л вода и ако е необходимо – и с аератор. Обработката на улова се извършва непосредствено в лодката веднага след завършване на пробонабирането на всеки трансект, като рибите след обработката се връщат незабавно във водата.

Мерки за безопасност

Пожарогасител в лодката, всички носят спасителни жилетки.

Пробонабиране с греб се извършва в места с относително полегато дъно. Екипът за работа с греб се състои от двама експерти. Гребът се спуска внимателно във водата в горния край на трансекта и се придвижва без да се създава шум по течението успоредно на брега. Скоростта на придвижване трябва малко да надвишава скоростта на течението. По време на пробонабирането се следи долния край на греб да не се закача за подводни предмети.

При изваждането уловът се прехвърля незабавно в леген/бидон с вода и аератор.

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

	Обработката на улова от всеки трансект се извършва на брега веднага след изваждане на гриба от водата. Всички уловени индивиди се определят <i>in situ</i> до ниво вид, преброяват се, измерват се и се освобождават незабавно. Пробонабирането се извършва по следния начин в зависимост от конкретните условия и приложения метод: ➤ Крайбрежен гриб: най-малко 3 трансекта с обща дължина 100м, ➤ Електроулов от лодка: най-малко 5 нощни трансекта и 10 дневни трансекта, всеки трансект е дълъг най-малко 100м. ➤ Дрифтерни мрежи (не задължителни) само когато условията / водните нива са подходящи.
12.4. Оптимален сезон и честота на пробонабиране	Пробонабирането се извършва веднъж годишно през периода на маловодието: юни-октомври.
12.5. Референции и стандарти	1. Белкинова Д., Гечева Г., Чешмеджиев С., Димитрова-Дюлгерова И., Младенов Р., Маринов М., Тенева И., Стоянов, П., Иванов П., Михов С., Пехливанов Л., Варадинова Е., Карагъзова Ц., Василев М., Апостолу А., Велков Б., Павлова М., 2013. Биологичен анализ и екологичната оценка на типовете повърхностни води в България. Университетско издателство „Паисий Хилендарски “ 235pp. ISBN 978-954-423-824-7. 2. CEN document, 2003; Water quality – Sampling of fish with electricity. CEN/TC 230, Ref. No. EN 14011: 2003 E, pp. 16. 3. EU Water Framework Directive, 2000. Directive of the European parliament and of the council 2000/60/EC establishing a framework for community action in the field of water policy. Official Journal of the European Communities 22.12.2000 L 327/1.
12.6. Образец на протокол за пробонабиране	Виж приложение Анекс 1
3. Методика за лабораторна обработка	Изчисленията се извършват на базата на теренните данни а именно: видов състав, численост и възрастова структура на всеки вид, площ на пробонабиране. Видовете се характеризират на гилдии, спрямо техните екологични/биологични особености. БРИД се основава върху официално одобрената версия на БРИ, съгласно Наредба № Н-4

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

от 14.09.2012 г. за характеризиране на повърхностните води, описан в Белкинова и съавт., 2013. Основната разлика е, че не само референтните стойности са променени за изчислението на индекса (случаят със Типово-специфичния Български Рибен Индекс-ТсБРИ), а са променени и няколко метрики, предвид комплексността на рибните съобщества в река Дунав.

Преработеният индекс не се отразява върху изискванията на РДВ за представителност на определени параметри, а именно: чувствителни видове, видово разнообразие, успешно размножаване чрез възрастовия състав, чужди видове, численост, влияние на отрицателни фактори. Отделните метрики на индекса са описани в точка 3.2, а алгоритъма за неговото изчисление, както и състава на референтното съобщество, - в Анекс 2.б. Видовете в р. Дунав с оглед техните гилдии и друга специфика, са дадени в Анекс 3.

Промените на метриките на БРИД в сравнение с основната версия на БРИ и подобрения ТсБРИ се състоят в следното:

- Състоянието на хищните и на индикаторните видове са две отделни метрики, а не взаимно заменяеми според типологията на изследваната река;
- Отпада метриката за броят видове според ширината на реката. Ширината тук се приема като незначителен фактор, който определя параметрите на рибното съобщество. Определя се само общ брой видове спрямо референтния брой;
- Съотношението на чуждите видове се извършва като брой екземпляри към общ брой констатирани индивиди;
- Съотношението толерантни/не толерантни видове не се отчита, а само намалението на броя не толерантните видове, спрямо общия брой видове;
- Биомасата не се отчита, а само числеността, поради обикновено многочисления улов в р. Дунав и увеличените трансекти. Всяка допълнителна манипулация с уловените индивиди би увеличила смъртността многократно. Другите метрики оставят същите, въведените промени се дължат на специфичността на дунавската ихтиофауна.

Границите между отделните състояния са също адаптирани и отразяват промяната на точките в метриките, отговарящи на специфичността на дунавската ихтиофауна.

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

3.11. Необходими материали и оборудване

3.12. Описание на процедурата за лабораторна обработка

Референтното съобщество за р. Дунав се определя както следва:

- Повече от 10 индикаторни вида в доминантите;
- Повече от 2 хищни вида, представени от поне две възрастови групи;
- Повече от 2 мигриращи включително потамодромни вида, представени от поне две възрастови групи;
- Повече от 40% от всички видове са чувствителни, представени от поне две възрастови групи;
- Повече от две чувствителни вида са доминанти или еудоминантни;
- Общата численост е по-висока от 1000 ind/ha.
- Чуждите видове представляват по-малко от 2% от всички констатирани екземпляри;
- Общ брой видове поне 20.

Лаптоп, подходящ софтуер (MS Office, др.), интернет връзка.

За изчислението на БРИД се определят стойностите на 8 метрики:

1. Численост и доминантност на индикаторните видове;
2. Численост и възрастова структура на хищните видове;
3. Численост и възрастова структура на мигриращите видове, включително потамодромните;
4. Численост и възрастова структура на чувствителните видове;
5. Доминиране на нетолерантните към толерантните видове;
6. Обща численост на местните видове (без чуждите) на хектар;
7. Наличие на инвазивни видове;

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА

ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ

3.13. Референции и стандарти 4. Изчисления и представяне на резултата 4.5. Образец на работен протокол/ протокол от анализ 13. Изисквания за квалификацията на операторите	8. Общ брой открити видове. БРИД се изчислява като EQR на базата на предварително определени референтни стойности по формулата: $\frac{\text{обща сума на моментните стойности}}{\text{обща сума на референтните стойности}}$ Белкинова Д., Гечева Г., Чешмеджиев С., Димитрова-Дюлгерова И., Младенов Р., Маринов М., Тенева И., Стоянов, П., Иванов П., Михов С., Пехливанов Л., Варадинова Е., Карагъзова Ц., Василев М., Апостолу А., Велков Б., Павлова М., 2013. Биологичен анализ и екологичната оценка на типовете повърхностни води в България. Университетско издателство „Паисий Хилендарски “ 235pp. ISBN 978-954-423-824-7. Изчисленията се извършват на базата на помощни таблици, определящи броя точки за всяка метрика, описваща моментното състояние на водното тяло. Тези таблици са подробно обяснени в Анекси 2б, 3 и 4. EQR за оценка на екологичното състояние произлиза като: общата сума от точките за всяка метрика, получени вследствие пробонабирането се дели на общата сума на референтните точки за всяка метрика, като за тип R6 - Долен Дунав е равна на 100. Виж приложение Анекс 2 Ръководител на екип: притежаване на най-малко магистърска степен по специалности ихтиология, хидробиология, екология или релевантни специалности, експерт с успешно извършени дейности и изпълнение на проекти по тези специалности. Изискват се научна основа (отлични познания за определяне на представителите на българската ихтиофауна), организационни способности, гъвкавост (работа в екип), аналитична мисъл. Изискват се също основни умения по корабоплаване и работа с лодка, окомплектована с извънбордов двигател. Полеви експерти: студенти най-малко четвърти курс по гореописаните специалности, бакалаври, магистри или специалисти работещи по тези специалности.
--	--

ЕЛЕМЕНТИ НА МЕТОДИКАТА**ОПИСАНИЕ НА ЕЛЕМЕНТИТЕ****14. Класификация на
екологичното състояние**

Екологичното състояние се определя по пет степенна бална система съгласно РДВ, като отделните граници са оптимизирани както следва:

отлично	>0,80
добър	0,60 - 0,79
умерен	0,40 - 0,59
лош	0,20 - 0,39
много лош	<0,19

Анекс 1а. протокол за пробонабиране - биологични параметри (полеви формуляр)

BQE	Fish
Site Code	
Riv Type	
River_EN	
Site Name_EN	
N	
E	
Alt	
Year Sampling	
Date Sampling	
Mission	
Experts	
Sample Lenght	
Sample Breadth	
River Breadth	
Notes	
WT	
EC	
pH	
O2	
O2-sat	

[illegible]

Анекс 16. протокол за пробонабиране - физични, химични и хидрологични параметри (полеви формуляр).

IC Sites Hydromorphology			ID	Alt	N	Y
SiteCode	CodeWBody	River	BD	E	X	
SiteName			JDS2Code	R14_RM2	☐	FISH
			JDS3Code	R2_RE1a	☐	MPh
Notes				R4_RE4_RE1b	☐	MZB
				R6_RL2	☐	PhB
				R7_RE3	☐	PhP
				R8_RE2	☐	
				L5_LEC1	☐	
Date/Дата	Time/Час	Expert				
SAMPLING AREA/УЧАСТЪК Length/Дължина Alt Start/Начало N1 E1 End/Край N2 E2 Breadth Min/Мин. ширина Breadth Max/Макс. ширина Depth Max/Макс. дълбочина Depth Avg/Средна дълбочина		CHARACTERISTICS OF FLOW/ХАРАКТЕР НА ТЕЧЕНИЕТО Waterfalls, cascade/Водопад, прагове ☐ Very Fast/Много бързо ☐ Fast to Moderate/Бързо до средно ☐ Slow/Бавно ☐ Very Slow/Много бавно ☐		SUBSTRATE OF BED/ДЪНЕН СУБСТРАТ[%] Bedrock/Скалено легло ☐ Sand/Песък ☐ Big Stones/Грани камъни(>250mm) ☐ Clay/Глина ☐ Stones/Камъни(64-250mm) ☐ Silt/Глинесто ☐ Gravel/Гравий ☐ Other/Други ☐ Sum must be 100%		
ALLUVIAL FORMS/НАНОСНИ ФОРМИ Side not Wooded/Странични незалесени ☐ Side Wooded/Странични залесени ☐ Middle not Wooded/В средата незалесени ☐ Middle Wooded/В средата залесени ☐		TRANSPARANCY/ПРОЗРАЧНОСТ OVERSHADOW/ЗАСЕНЧЕНОСТ 		CHARACTERISTICS OF RIVERBANKS/ХАРАКТЕР НА БРЕГА Natural/Естествен(%) Sum must be Man-made/Изкуствен(%) Type Man-made/Състои се от: брегове		
EMBANKMENTS/АНДИГИРАНЕ Left/Лев брег ☐ Right/Десен брег ☐		HYDROTECHNICAL FACILITIES/ХИДРОТЕХНИЧЕСКИ СЪОРУЖЕНИЯ 		RIVERBANK EROSION/ЕРОЗИЯ НА БРЕГА Left/Лев брег(%) Right/Десен брег(%) Max Height/Макс. височина		
MIGRATION BARRIERS/МИГРАЦИОННИ БАРИЕРИ Number of Barriers/Брой Max Height/Макс. височина Type/Описание		INERT MATERIAL EXTRACTION/ДОБИВ НА ИНЕРТНИ МАТЕРИАЛИ Length/Дължина на участък		MACROPHITES/МАКРОФИТНО ПОКРИТИЕ Sunk/Потопени(%) Float/Плаващи(%) Side/Крайбрежни(%)		

RIVERSIDE VEGETATION/КРАЙРЕЧНА РАСТИТЕЛНОСТ		TREE DISTRIBUTION/РАЗПРОСТРАНЕНИЕ НА ДЪРВЕТАТА	CHARACTERISTICS OF VEGETATION/ХАРАКТЕР НА РАСТИТЕЛНОСТТА
Trees above 10m/Дървета над 10m(%)			Natural/Естествена(%)
Trees below 10m/Дървета под 10m(%)			Artificial/Изкуствена(%)
Bush/Кустове(%)			
Grass/Трава(%)		Anthropogenic impact in 50-100 m area near river/Антропогенно въздействие в 50-100 метровата зона по двете речни тераси(%)	
Notes/Бележки 			
Signature/Подпис:			

Анекс 2а. Протоколи за анализ

BQE	Fish	WT	EC	pH	O ₂	O2-sat							
Site Code													
Riv Type	#N/A												
River_EN	#N/A	Species	Size	Number	Species	Weight	Count	<=15	>15	Area_m2	ind/ha	kg/ha	
Site Name_EN	#N/A						0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
N	#N/A						0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
E	#N/A						0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
Alt	#N/A						0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
Year Sampling	2015						0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
Date Sampling							0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
Mission							0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
Experts							0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
Sample Length							0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
Sample Breadth							0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
River Breadth							0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
BRID							0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
Notes							0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
Снимка от пункта							0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
							0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
							0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
							0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
							0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
Measur:							0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
Abbrev	Name EN/ BG measure	Measure					0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
WT	Water temperature/Температура на водата	°C					0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	
EC	Conductance/Електропроводимост	µS/cm					0	0	0	0	#DIV/0!	#DIV/0!	

[illegible]

Анекс 26. Алгоритъм за изчислението на БРИД

БРИД		изчисление на променливите				
Български Рибен Индекс за река Дунав		1. индикаторни видове		2. хищни видове		
Базиран върху Българския Рибен Индекс		най-малко десет вида от доминантни нагоре	10	два вида с най-малко две възрастови групи		10
Апостолу А., Пехливанов Л.		5-10 вида от доминантни нагоре	5	1-2 вида с по една добре представена възрастова група и представители на други възрастови групи		5
V. 1		2-3 вида от доминантни нагоре	2	един или повече вида с единични екземпляри		2
		к 2 вида от доминантни нагоре	0	няма		0
		3. митриращи видове				
		най-малко четири вида с най-малко две възрастови групи всеки				10
		2 или 3 вида с най-малко две възрастови групи или 3-4 вида с по една възрастова група				15
		2-3 с по една възрастова група				10
		единични екземпляри				5
		няма				0
		4. чувствителни видове				
		> 40% от видовете, многочислени с най-малко две добре представени възрастови групи				20
		20-40% от видовете, с една или две добре представени възрастови групи или > 40% от видовете с по една многочислена възрастова група				15
		< 20 % от видовете, с една многочислена възрастова група или с единични екземпляри от втора възрастова група или > 40% от видовете, с единични екземпляри				10
		< 40% от видовете, с единични екземпляри				5
		няма				0
		5. доминантни видове				
		най-малко две чувствителни/нетолерантни вида в доминантите и еудоминантите				20
		един чувствителен/не толерантен вид в доминантите и еудоминантите				10
		чувствителните/нетолерантни видове от субдоминантни надолу				5
		няма				0
		6. общо обилие		7. инвазивни (наместни) видове		
		обща численост под 200 екз/екз/х/а	-5	под 2 % от всички екземпляри на местните видове		15
		обща численост 2000 - 10000 екз/х/а	-3	2 - 3%		11
		обща численост над 10000 екз/х/а	0	3 - 10%		6
				над 10%		2
						0
		8. брой видове				
		точки	15	11	7	3
			15	11	7	3
			15-20	10-15	5-10	к 3

Изчисление на БРИ	
променливи	точки
1. състояние на индикаторните видове	10
2. състояние на хищните видове	10
3. състояние на митриращите видове	10
4. относителен брой и състояние на чувствителните видове	20
5. толерантност на доминиращите видове	20
6. обща численост	0
7. брой инвазивни (наместни) видове	15
8. видово разнообразие	15
общо точки	100
Дунавски рибен индекс (БРИД)	1.00
оценка за оценка на резултатите	
много добър	> 0.80
добър	0.60 - 0.79
умерен	0.40 - 0.59
лош	0.20 - 0.39
много лош	< 0.19
класиране по абсолютна доминантност	
1. еудоминант	> 10%
2. доминант	5-10%
3. субдоминант	2-5%
4. рецидент	1.1-2%
5. субрецидент	< 1.1%

Референтно съобщество
Повече от 10 индикаторни вида в доминантите
Повече от два хищнически вида, представени от поне две възрастови групи
Повече от два мигриращи и/или потамодромни вида, представени от поне две възрастови групи
Повече от 40% от регистрираните видове са чувствителни и представени от поне две възрастови групи
Повече от два чувствителни вида са доминантни или еудоминантни
Общата численост на всички видове освен чуждите е над 1000 ind/ha
Числеността на чуждите видове не представлява над 2% от общата численост на местните видове
Общия брой на видове е поне 20

Анекс 3. Помощна таблица на дунавските видове и тяхната специфика при изчислението на БРИД

Помощна таблица/само за р. Дунав		Чувствителност		Хранене		Хабитат				Размножаване			Тип хранене			Миграции	
Видово име	Индикаторни видове	Нетолерантни	Толерантни	Пелагично	Бентосно	Реофилни	Лимнофилни	Пелагични	Евритопни	Литофилни	Фитофилни	Пелагични	Насекомоядни	Всеядни	Хищници	Дълго мигриращи	Потамодромни
Abramis_ballerus						X				X				X			
Abramis_bjoerkna	X		X		X									X			
Abramis brama			X		X				X		X			X			X
Abramis_sapa					X	X				X				X			
Acipenser_gueldenstaedtii		X			X	X				X				X		X	
Acipenser_nudiventris		X			X	X				X				X		X	
Acipenser_ruthenus		X			X	X				X				X			X
Acipenser_stellatus		X			X	X				X				X		X	
Alburnus_alburnus	X		X						X			X		X			
Alosa_immaculata				X				X				X		X		X	
Alosa_tanaica				X				X				X		X		X	
Anguilla_anguilla			X		X				X					X		X	
Aspius_aspius	X	X		X				X		X		X			X		X
Barbus_barbus	X	X			X	X				X				X			X
Benthophiloides_brauneri		X			X				X					X			
Benthophilus_stellatus		X			X	X				X				X			
Carassius_carassius			X		X		X				X			X			
Carassius_gibelio	X		X		X		X				X			X			
Chalcalburnus_sarmaticus		X		X				X				X		X			X
Chondrostoma_nasus	X	X			X	X				X							X
Cobitis_elongatoides	X		X		X				X		X			X			
Cobitis_elongata		X			X	X				X				X			
Ctenopharyngodon_idella			X		X				X			X					X
Cyprinus_carpio			X		X				X		X			X			
Esox_lucius	X		X	X					X		X				X		
Eudontomyzon_mariae		X			X	X				X							X
Gambusia_holbrooki			X	X			X					X	X	X			
Gasterosteus_aculeatus			X		X				X		X			X			
Gymnocephalus_baloni		X			X	X				X				X			
Gymnocephalus_cernuus			X		X				X	X				X			
Gymnocephalus_schraetser		X			X	X				X				X			
Huso_huso		X			X	X				X					X	X	
Hypophthalmichthys_molitrix			X	X				X				X					X
Hypophthalmichthys_nobilis			X	X				X				X					X
Lepomis_gibbosus			X		X								X				
Leucaspis_delineatus		X			X				X		X			X			
Leuciscus_idus	X	X				X				X				X			X
Lota_lota		X			X	X				X					X		X
Misgurnus_fossilis		X			X		X				X			X			
Neogobius_gymnotrachelus	X	X			X				X	X				X			
Neogobius_fluviatilis	X		X		X				X	X				X			
Neogobius_kessleri	X	X			X	X				X					X		
Neogobius_melanostomus	X		X		X				X	X				X			
Oncorhynchus_mykiss			X			X				X				X			X
Pelecus_cultratus		X				X						X		X			X
Perca_fluviatilis	X		X						X		X				X		
Perccottus_glenii			X		X				X		X			X			
Proterorhinus_semilunaris	X		X		X				X	X				X			
Pseudorasbora_parva			X		X				X	X				X			
Pungitius_platygaster		X			X				X		X			X			
Rhodeus_amarus	X		X		X				X					X			
Romanogobio_vladykovi	X	X			X	X				X				X			
Rutilus_rutilus	X		X		X				X		X			X			
Sabanejewia_bulgarica	X	X			X	X				X			X				
Salmo_fario		X				X				X			X				X
Salmo_labrax		X				X				X			X			X	
Sander_luciperca	X	X							X		X				X		
Sander_volensis					X	X					X				X		