

Утвърдил: .....

**ЕМИЛ ДИМИТРОВ**  
**МИНИСТЪР НА ОКОЛНАТА СРЕДА И ВОДИТЕ**

## **ПОДХОД ЗА ОЦЕНКА НА ТЕНДЕНЦИИТЕ В ИЗМЕНЕНИЕ НА КОНЦЕНТРАЦИИТЕ НА ЗАМЪРСИТЕЛИ В СЕДИМЕНТ И БИОТА**

Настоящият подход може да бъде приложен при спазване на всички посочени по-долу дейности по отношение на мониторинг, обработка на пробите и нормализиране на резултатите.

### **ОЦЕНКА НА ТЕНДЕНЦИИ В КОНЦЕНТРАЦИИТЕ НА ЗАМЪРСИТЕЛИТЕ ПРИ АНАЛИЗ НА СЕДИМЕНТИ**

Като правило програмите за мониторинг на седименти се разработват в синхрон с програмите за мониторинг на водната фаза, за да се постигне необходимия допълващ ефект в началото и съответната ефективност в края на периода на изпълнение.

Анализът на седимент не може да бъде използван за оценка на химично състояние, тъй като няма приети СКОС за седименти за приоритетните замърсители. Изведените национални стандарти за качество са ориентировъчни, изведени на базата на коефициенти на разпределение на замърсителите и могат да се използват само като стойности, чието надвишаване води до риск за водната околна среда. Определянето на замърсители в седимент може да се използва за дългосрочна оценка на тенденциите в концентрациите на замърсителите и от тази гледна точка трябва да бъдат разработени програмите за мониторинг на хидрофобни замърсители със склонност за акумулиране в седимент.

#### **1. ПРОБОВЗЕМАНЕ НА СЕДИМЕНТИ**

##### **Избор на пункт за пробовземане с цел мониторинг**

Като определящи за избор на седимент за мониторинг на хидрофобни замърсители приемаме критериите:

Очаквано замърсяване. Избират се пунктове, за които има предварителна информация за наличие на замърсяване.

Големина и представителност на водното тяло. Тенденции се оценяват предимно за по-големи водни тела със сериозно въздействие върху водната околна среда. Малки водни тела, със силно променливи водни количества, с неясна скорост на седиментация не са подходящи за оценка на тенденции.

Наличие на подходящ седимент и възможност за пробовземане. Наличие на подходящ седимент означава достатъчно високо съдържание на финна фракция, която в

действителност акумулира замърсителите. Мониторинг на седимент се препоръчва за спокойни води с ниска турбулентност. Като правило пунктовете за мониторинг на седимент трябва да са разположени далеч от зоните на смесване – избират се пунктове надолу по течението когато е постигнато пълно смесване.

Пунктовете трябва да са добре описани и охарактеризирани, да е осигурена възможност за многократно пробовземане за оценка на дългосрочни тенденции – географски координати, описание на седимента при пробовземане, особености на седимента.

**Дълбочина на пробовземане** – препоръчва се пробовземане от повърхностния слой 1-5 cm .

**Честотата на мониторинга** – от 1 до 3 години. Доколкото докладваните цикли съгласно РДВ са 6 годишни и поради липса на данни се препоръчва за оценка на тенденциите да се приеме честота един път в годината. Пробовземането като правило се провежда в сезони когато турбулентността е най-ниска и когато биологичната активност е най-ниска. Пробовземане след наводнение не се провежда. В този аспект трябва да се избягват пунктове, които често са обект на наводнения. Разумно е пробовземането на седимент да се провежда в един и същи период на годината и при едни и същи водни потоци.

**Фракция по размер на частиците на седимента, която се анализира** - препоръчва се фракцията < 63  $\mu\text{m}$ .

**Параметри необходими за охарактеризиране на седимента:**

Разпределение на частиците по размер

Съдържание на органичен въглерод

*Редокс потенциал и рН на поровите води* - (само като препоръка)

За химични елементи – съдържание на Li.

## 2. АНАЛИЗ НА СЕДИМЕНТИ

За всеки пункт е разумно да се вземат няколко паралелни проби. За началната фаза на обследване се препоръчват 5 паралелни проби, които с течение на времето намаляват – в зависимост от целта, те могат да се анализират поотделно, за да се охарактеризира степента на нехомогенност при оценка на дългосрочни тенденции или да се подготви лабораторна средна проба чрез подходящо смесване. Смесване на пробите не се препоръчва в началната фаза на мониторинг. Паралелните проби се разполагат така, че максимално добре да опишат разпространението на замърсителите. Трябва да бъде въведена процедура за контрол на качеството на пробовземането като част от общата аналитична процедура. Веднъж въведена процедурата се спазва за всяко следващо пробовземане, за да е възможна оценка на тенденциите.

## Подход за анализ на седимент – резюме:

Таблица: Параметри за мониторинг на седименти

Честота на пробовземане	Веднъж годишно
Дълбочина на пробовземане	1÷5 cm
Фракция за анализ	< 63 µm
Паралелни проби	Пет проби при първия етап на пробовземане. Една смесена проба формирана от три единични проби, взети от опробвана площ с размер минимум 3 m <sup>2</sup> .
Изпълнение на пробовземане	БДС ISO 5667-12
Аналитичен метод	Методи удовлетворяващи изискванията за докладване

Пробите се вземат от обучен персонал, използват се чисти ръкавици и се полагат усилия да се избегне пряк контакт със седимента. Седиментите се вземат от избрани пунктове на левия и/или десния речен бряг, като се препоръчва те да съвпадат с точките, от където се вземат проби мекотели. За предпочитане са фини проби тиня, като се избягват пясъчни наноси. Пробовзема се повърхностен седимент. Използват се различни варианти на пробовземане, като за целта се използват различни пробовземни устройства, съгласно препоръките на стандарт БДС ISO 5667-12. Изборът на пробовземни устройства се определя в зависимост от спецификата на място за пробовземане, дълбочината на водата и типа на седимента. За плитки води пробите се събират чрез драгиране на височина около 5 cm, като се използват лопатки или ръчни пробовземни устройства тип челюстни пробовзематели (Grab systems).

Когато вземането на пробите се осъществява в по-дълбоки води се използват ръчни пробовзематели за „ядкови“ проби и в този случай се взема седимент около 20 cm, като се запази най-горния слой до 5 cm дълбочина, който е обект на обследване за целите на мониторинга.

Дейностите по вземане на проби в технически аспект зависят повече от дълбочината на водата отколкото от типа на водния обект.

Още преди стартирането на пробовземането е важно да се провери дали мястото на вземане на проби е нарушено от неочаквани събития (туризъм, движение на плавателни съдове, отломки и др.). Пробите трябва да се събират от физически ненарушени седименти. Например при ръчно вземане на проби в близост до крайбрежието, лицето, взимащо пробата, трябва да избягва да взема проби в собствените си стъпки.

Пробонабраният за изпитване седимент се взема с достатъчно количество вода от мястото на пробовземане, с цел да се подпомогне процеса на мокро пресяване в лабораторни условия. На мястото на пробовземане пробите се хомогенизират добре, след което в зависимост от

спецификата на компонентите, които ще се определят се поставят в подходящи контейнери за съхранение и транспорт до лабораторията. Пробите, които ще се изпитват за съдържание на органични компоненти и общ органичен въглерод се съхраняват в широкогърлени буркани изработени от тъмно стъкло, а пробите, които ще бъдат подложени на изпитване за съдържание на тежки метали и металоиди в съдове изработени от PP или HDPE. Тъй като частиците седименти имат малка площ, която е в досег с повърхността на контейнера, рискът от замърсяване е ограничен и е възможно да се използва стъклен буркан за всички определяния, за да се опрости характеризирането на седиментите. За живака, пробите трябва да се съхраняват в промит с киселина контейнер от боросиликатно стъкло или кварц, тъй като живакът може да преминава през стените на пластмасови съдове.

В зависимост от съдържанието на субстрата във водното тяло т.е. наличието на камъни, чакъл, пясък и нанос, изходното количество на взетата проба за анализ варира от 1L до 5 L. Контейнерите, в които се съхраняват пробите трябва да бъдат надлежно етикетирани, с ясна и четлива идентификация за мястото на вземане на пробата и датата на вземане. В допълнение могат да се отбележат и характеристиките обект на анализ, както и други наблюдения, свързани с пункта. Веднага след вземане на пробата от седимента, тя се поставя в хладилна чанта/ хладилник, подsigуряващи съхранение на пробите по време на транспорта им до лабораторията при температура от 4<sup>0</sup>C .

До окончателното пресяване, при което се изолират фините частици за последващ анализ, което обикновено се извършва в лабораторията, пробата може да се съхранява при 4<sup>0</sup>C за около една седмица и до 3 месеца, когато е замразена при -20<sup>0</sup>C, освен ако не е посочено друго в методите за анализ за определени разграждащи се съединения. Когато е възможно, трябва да се избягва замразяването, защото то може да промени разпределението на размера на частиците на седимента.

При осъществяване на мокрото пресяване на пробите в лабораторни условия процесът се подпомага, като към пробите за пресяване се прибавя дестилирана вода в приблизително съотношение (3:2) обем седимент: обем дестилирана вода.

Получената смес седимент/вода се пресява през сита с различни размери на отворите, както следва: 5,0 mm; 1,0 mm; 0,5 mm; 0,25 mm; 0,125 mm и 63 μm.

Фракцията с размер на частиците < 63 μm получена при процеса на пресяване се събира, след което се подлага на криогенно сушене, претегля се и се ползва за провеждане на планираните аналитични изпитвания. Фракциите, които са с размер на частиците > 63 μm се събират, изсушават при 105<sup>0</sup>C до постоянно тегло и претеглят. Теглата на фракциите < 63 μm и > 63 μm се преизчисляват спрямо съдържанието на влага в пробата.

Сумарното количество на фракциите > 63 μm и < 63 μm дават информация за изходното количество проба взета за анализ, спрямо която се определя в отношение g/g количеството на фракцията < 63 μm. Мокрото пресяване се извършва посредством вибрационна ситова машина за мокро пресяване, като се прилага вибрация с амплитуда 0,5 и 1,5 mm.

Препоръчаното максималното време на съхраняване на изсушените чрез замразяване седименти преди анализа е около 180 дни и 30 дни за Hg , при условие, че се съхраняват на хладно и тъмно място.

### **3. ФОРМА НА ПОДДЪРЖАНА /НАЦИОНАЛНА/ БАЗА ДАННИ, С ОТЧИТАНЕ НА НЕЙНОТО БЪДЕЩО ДОПЪЛВАНЕ И РАЗВИТИЕ**

За да има унифицираност, може да се ползва формата на базата данни за води със съответните промени за седименти.

### **4. НОРМАЛИЗАЦИЯ НА РЕЗУЛТАТИТЕ.**

Определянето на процентното съдържание на фракцията с размер на частиците < 63 µm, спрямо взетото изходно количество седимент е първия фактор за нормализация на резултатите за седименти.

Нормализиране на резултатите по фактор общ органичен въглерод се прилага за органични замърсители, като се предлага следната формулата:

$$C_{(\text{норм.}<63\mu\text{m})} = \frac{C_{(\text{изм.}<63\mu\text{m})} * 0,025}{m}$$

Където:

$C_{(\text{норм.}<63\mu\text{m})}$  – нормализираната концентрация

$C_{(\text{изм.}<63\mu\text{m})}$  – измерената концентрация

$m$  – съдържание на органичен въглерод в %.

0,025 – коефициент за нормализиране спрямо съдържание на общ органичен въглерод 2.5 %.

**Фракцията < 63 µm** се използва като изходна за определяне съдържанието на органичните замърсители, химичните елементи и съдържанието на общ органичен въглерод.

#### **Изчисляване на окончателните резултати за съдържание на замърсители в седимент:**

Нормализиране на резултатите спрямо взетия седимент от пункта за мониторинг се осъществява спрямо количеството на фракцията с размер на частиците < 63 µm, изразена в g и представена в g от пробонабрания седимент т.е g < 63 µm/ g седимент.

Резултат за съдържание на замърсители в седимент:

$$C_{(\text{норм. седимент})} = C_{(\text{норм.}<63\mu\text{m})} * N$$

Където:

$N$  - грамове фракция с размер на частиците < 63 µm, съдържащи се в грам сухо тегло от изходната проба седимент

## **5. ВИЗУАЛИЗАЦИЯ НА ПОЛУЧЕНИТЕ РЕЗУЛТАТИ.**

Предлага се да се приеме разпространен и в другите страни членки и някои международни програми, подход на „светлина на светофар“, при който фоновите нива се премат за зелена светлина.

Тъй като за България нямаме измерени фоновы стойности, за нас измерени концентрации под приетия национален стандарт за качество да се отбелязват със зелено за съответния замърсител, а измерени концентрации над приетия национален стандарт за качество с червено.

За визуализация на тренда се предлага използване на стрелка нагоре или надолу съответно за възходящ и низходящ тренд. Липсата на стрелка означава, че няма промяна в концентрациите на замърсители.

### **ОЦЕНКА НА ТЕНДЕНЦИИ В КОНЦЕНТРАЦИИТЕ НА ЗАМЪРСИТЕЛИТЕ ПРИ АНАЛИЗ НА БИОТА**

Две са основните задачи, които се поставят при провеждане на мониторинг чрез анализ на биота:

- Оценка на химичното състояние на водното тяло, като се прилагат изведените СКОС за избраните замърсители в биота.
- Оценка на дългосрочни промени в концентрациите на избраните замърсители чрез определяне на концентрациите им в биота.

Трябва да се подчертае, че оценката на дългосрочни тенденции чрез анализ на биота е значително по трудно и по недостоверно в сравнение с анализа на седимент. Проблемът е още по-съществен за нашата страна като се има предвид, че трудно се осигурява една и съща биота с едни и същи биометрични показатели от избраните пунктове. Изискването за определяне на химично състояние по анализ на биота като единствен вариант, налага разработване на по-широка мрежа от пунктове за мониторинг. Само за част от тези пунктове, за които може да се осигури подходящата биота е разумно да се прави оценка на дългосрочни тенденции.

От друг страна оценката на химично състояние по биота в даден пункт лесно се интегрира за цялото водно тяло доколкото рибите мигрират на определени разстояние. Счита се, че донякъде те разпространяват замърсяването като храна за други хищни организми. По тази причина хищниците са донякъде предпочитана биота при оценка на химично състояние.

### **1. ИЗБОР НА ПОДХОДЯЩ ОРГАНИЗЪМ И ПУНКТОВЕ ЗА МОНИТОРИНГ – трябва да се разглеждат съвместно от гледна точка на реализирането им.**

Изборът на подходяща биота се базира основно на способността на биотата да рефлектира качеството на водното тяло.

Най общо фактори, които трябва да се имат предвид при избор на биологични видове с цел максимално да се намали естествената вариабилност, характерна за работата с живи организми и да се изпълни изискването за получаване на дългосрочна информация за оценка на тенденции и за оценка на статуса на водното тяло са:

- ✓ На първо място да имат високи коефициенти за акумулиране на замърсители, да отразяват качеството на водата и да се намират на подходящо място в трофичната верига (за което е изведен СКОС);
- ✓ Широко разпространение, често срещан се вид, за да позволява сравнителен анализ на получаваните резултати;
- ✓ Не е защитен вид, не е мигриращ вид;
- ✓ Видът е достъчно дългоживущ, за да позволява анализ на видове по възрастни от година;
- ✓ Лесен е за пробовземане и не е особено капризен, така че да оцелява и в по-неблагоприятна среда;
- ✓ Лесно се определят биометрични показатели (възраст, пол, размер, степен на съзряване). Има достъчен размер за получаване на представителна за анализ проба;
- ✓ Лесно се определя и лесно се отделят подходящи за анализ органи, ако е необходимо;
- ✓ Видове, които не са типични и характерни, а са внесени по някаква причина във водното тяло не би трябвало да се избират за анализ;
- ✓ Препоръчва се да се използват видовете, които се използват за оценка на екологичния статус;
- ✓ Препоръчва се, ако е възможно, да се използват видове, които се консумират от хора и бозайници.
- ✓ Полезно е, ако се предлагат различни видове организми, те да представляват различни трофични нива.
- ✓ Полезно е ако избраният вид е биоиндикатор, т.е. реагира на повишени концентрации на замърсители и като отнасяне и като разпространение.

### **1.1. НАБАВЯНЕ НА ЦЕЛЕВИТЕ ВИДОВЕ РИБИ (СЪГЛ. РЪКОВОДСТВО №25)**

Целевите видове от ихтиофауната следва да са съобразени с примерния списък от Ръководство № 25. Съгласно предварителните анализи и обсъждане, пробонабиранията по изпълнение на поръчката бяха насочени главно към следните нативни (обикновени) видове у нас: кефал (*Leuciscus cephalus*, сега *Squalius cephalus*); платика (*Abramis brama*); пъстървови риби; други шаранови риби (шаран, червеноперка), костур; в преходни води и попчета и др. По време на теренните пробонабирания на много места бе установена и мряна и бе събирана като подходящ вид. Трябва да се има предвид, че част от видовете (мряна, кефал), упоменати в Ръководство № 25 у нас са представени с други, алтернативни видове. Така например, кефалът (*Sc. cephalus*) у нас се среща само в северните и черноморски басейни, а в поречията от егейския водосбор (Струма, Марица, Тунджа, Арда и др.) е разпространен видът егейски кефал (*Sc. orpheus*). Тези два вида са на практика екологично

еквивалентни и могат да се приемат като такива за целите на анализа. Подобно е положението и с мряната - черната мряна (*Barbus meridionalis petenyi*) е разпространена в северните течения, видът маришка мряна (*Barbus cyclolepis*) е ендемитен и се среща в егейския водосбор. В черноморския водосбор се открива *B. petenyi* и видът *B. bergi*. В рамките на двете теренни кампании са улавяни екземпляри от тези различни видове, но видът, обитаващ даден водосбор има сходния в екологично отношение свой еквивалентен вид, който заема същото място в екосистемата и с успех може да се използва за анализ.

Съгласно проведените изследвания в основната част от проучените пунктове е набавен необходимия фаунистичен състав (видове риби). Трудностите и особеностите при пробонабирането, които бяха констатирани са следните и следва да се имат предвид при бъдещия мониторинг:

1). На някои пунктове не бе открита риба и с голяма степен на вероятност в бъдещи изследвания няма да се открие поради силно антропогенно въздействие върху водоема (токсично замърсяване, канално-битови води, промишлено въздействие, хидроморфологични промени) или поради естествени неблагоприятни условия. Такива съгласно проведените изследвания са р. Тимок, р. Златна Панега, р. Съзлийка, р. Доспатска, р. Искър под София, р. Врана при с. Кочово и при с. Хан Крум, р. Айтоска и други. Подобни случаи следва да отпаднат от бъдещи изследвания. На някои пунктове, разположени на реки е откриван един вид риба, а в следващия сезон там обитава друг вид. Това е естествена биологична закономерност, обуславяща се от постоянните миграции, които видовете извършват през годината. Например, мряната със захладането на водата (есента) се отправя към долните течения или близките язовири / езера, където търси по-дълбоки води. Това е характерно за много реофилни видове. Ето защо, бъдещ мониторинг следва да се извършва еднократно през годината, най-добре в летния сезон до ранна есен. Ако не бъде открит целевия вид (напр. този, уловен предишна година), следва да се започне последователно изследване надолу (понякога нагоре) по течението, например през 5-10 км.

2). По отношение на стоящите водоеми (язовири) не бе възможно събирането само на един конкретен вид риба, поради естествените промени в разпределението и поведението на различните видове, както и в редица случаи поради засилен риболовен натиск. За целите на бъдещ мониторинг не е приложимо това да се очаква. Обикновено рибната фауна в язовири (езера) е следствие на зарибяване и видовият състав е ограничен. Следва да се ползва всеки един вид уловена риба, стига да е с подходящи размери и тегло. Още повече, че самият метод на улов (мрежите) е неселективен - тоест се улавя всичката риба, която попадне в мрежата. Улавянето означава и почти сигурна смърт вследствие оплитането и задушаването. Поради това, следва да се приеме стратегията, да се разчита на всеки един улов, разбира се, с приоритет към целевите видове.

3). В малка част от случаите целевите видове не бяха установени поради други причини, като:, липса на неподходящи биотопи, напълно недостъпен за работа речен участък, наличие само на специфични видове (напр. в черноморски езера). Подобни **проблеми** и предложения за техните **алтернативи за решение** са предложени на база на настоящите



проучвания като насоки за бъдещия мониторинг и под формата на алгоритъм, съгласно **таблица 1**.

### **1.2. НАБАВЯНЕ НА ДОСТАТЪЧНО КОЛИЧЕСТВО ОТ ЦЕЛЕВИТЕ ВИДОВЕ РИБИ (РАЗМЕРИ, БИОМАСА, БРОЙКИ).**

В основната си част проведените теренни изследвания доставиха достатъчно количество риби - с подходяща обща биомаса, размери и бройки. Съгласно опитът от проучванията върху предварително набелязаните пунктове, на някои места не бе набавено достатъчно количество или въобще не бяха открити риби. Причините за това са сходни с причините, поради които не са открити целеви видове, но тук има открити видове, без те да осигуряват достатъчно голяма извадка (проба). Част от тези причини вече са представени и обсъждани, а именно: обезрибяване от масовия незаконен риболов (разбира се, основно засягащо едрите по размери екземпляри); липса на условия за добро пробонабиране - напр. при високи води и повишена мътност операторът не вижда какво, колко и как попада в сака на електрофишера; често в неблагоприятни хидрологични и климатични условия са достъпни само дребноразмерните екземпляри, големите се отправят към дълбоки места, укрития, имат по-голяма сила и извършват дълги миграции. Съгласно проведените изследвания, такива реки са р. Марица при Поповица, р. Арда след Маджарово, р. Искър при Ореховица, р. Златна Панега и др.; и тяхното бъдещо изследване би трябвало да се ревизира. Причина за недостатъчното количество целеви видове може да е и влиянието на други видове (ендемита, черноморски - напр. яз. Мандра, специфични за водоема). Алтернатива за осигуряване на достатъчно обилен материал за анализ при бъдещ мониторинг е повтаряне на някои пунктове при по-подходящи условия (ниски води, подходяща климатична ситуация) - за тези участъци, където все пак е улавяна риба от целевите видове; пълно отпадане на пункта за анализ на риби - там, където следствие двете пробонабирания ние не сме установили достатъчна по размери рибна фауна. В последния случай следва да се изберат нови пунктове, разположени по-надолу или нагоре по речния басейн, или да се заменят със сходни по типология и очаквано замърсяване пунктове от други реки. На **таблица 1** са представени по-важните проблеми при осигуряване на достатъчно материал и евентуални алтернативни решения.

### **1.3. КРАТКО ОПИСАНИЕ НА ЦЕЛЕВИТЕ ИНДИКАТОРНИ ВИДОВЕ РИБИ**

За улеснение на работата на терен при бъдещ мониторинг, екипът предлага кратко описание на биологията и отличителните белези на целевите видове.

**Кефал** – целеви вид с първостепенно значение. В България се срещат три вида, които въпреки ясните морфологични различия, могат да се считат за екологични еквиваленти и за целите на мониторинга са много подходящи.

- Речен кефал (*Squalius cephalus*) - тялото е продълговато, почти цилиндрично. На дължина може да достигне до 50-80 см и тегло до 2-4 кг, като обичайните големи размери са 30-40 см и 0,5-1,5 кг. Отличителни белези - устата е голяма, крайна, достига вертикалата, спусната от предния край на окото; анална перка с 3 твърди и 7-8 разклонени лъча. Предпочита бързотечащи реки с пясъчно-каменисто дъно от северните и черноморски басейни.
- Малък кефал (*Petroleuciscus borysthenicus*) - най-често се среща с размери до около 15-17 см и тегло до 50 гр. Отличителни белези - по-малка уста, по-голям брой разклонени лъчи в аналната перка. Обитава бавнотечащи плитки реки, лимани и блата от Черноморския басейн, Тунджа и Места, обрасли с водна растителност.
- Егейски речен кефал (*Squalius orpheus*)- характерен вид за Егейския басейн /водосбора на Марица, Струма и др./, среща се в течащи води със средна скорост на течението.

**Други шаранови риби** – поради масовото си разпространение в почти всички типове водоеми в България са подходящи за пробонабиране на представителни по размер и брой проби.

- Бяла мряна (*Barbus barbus*) – достига до 80 см дължина и няколко кг тегло. Удължено тяло, заоблено със силно сплеснато опашно стъбло. Среща се в Дунав и дунавските притоци, предпочита средни и долни течения с пясъчно-чакълесто дъно.
- Маришка мряна (*Barbus cyclolepis*) – дължина до 30 см и 300 гр тегло. Обитава водосборите на Струма, Места и Марица – горни и средни течения и пясъчно-чакълесто дъно.
- Сребриста каракуда (*Carassius gibelio*) - размери до 45 см и 2-3 кг, най-често се улавят екземпляри не-надвишаващи 1 кг. Отличителни белези са липсата на мустачки, последният твърд лъч на гръбната и аналната перка, който е по-дебел, по-едро назъбен и с по-малко зъбчета, разположени на разстояние от началото му, по-дълбоко врязана опашна перка, слабо вдлъбната гръбна перка. Няма предпочитания към жизнените условия, освен към скоростта на течение - предпочита бавни участъци. Има бърз темп на нарастване. Много подходящ вид при наличие на силно замърсяване във водоема, тъй като е много издържлив и оцелява при ниски кислородни концентрации.
- Бабушка (*Rutilus rutilus*) – достига размери до 40 см и 1 кг, най-често срещани са 100-200 гр. екземпляри, които са подходящи за пробонабиране поради масовостта си и лесния улов. Тялото е слабо удължено, странично сплеснато. Ключови отличителни белези са: цвят на очите - червено-оранжев, често с червена шарка над тях; гръбна перка, разположена на вертикалата с коремните; коса, крайна уста и едноредни

гълътъчни зъби. Предпочита бавнотечащи реки и стоящи водоеми, обрасли с висша водна растителност, полово съзрява на 2-3 год.

- *Морунаш (Vimba vimba)* – дължина до 40 см и 1-2 кг тегло. Отличителен белег и наличието на два кила – зад гръбната и коремните перки. Обитава главно долните течения на реки.

**Костурови риби** – целеви видове за стоящи водни тела поради хищническия си начин на живот; особено костурът е доста масов и позволява набиране на представителни проби. Отличителен белег са двете гръбни перки – първа с твърди, бодливи лъчи, втора с 1-3 твърди и много на брой меки лъчи.

- *Бяла риба (Sander lucioperca)* – може да достигне големи размери и нормално се очаква улов на екземпляри над 0,5 кг. Предпочита бавнотечащи и стоящи водоеми, достига полова зрялост на 2-3 год. и е с бърз темп на растеж.
- *Костур (Perca fluviatilis)* – дължина до 50 см и няколко кг тегло. Предпочита стоящи водоеми, обрасли с растителност. Отстрани на тялото има напречни черни пояси.

**Други риби** – целеви видове, подходящи за черноморските и преходните води.

- *Стронгил (Neogobius melanostomus)* – размери до 15-20 см и тегло до 100-150 гр. Характерен белег е наличието на черно петно със светъл ореол върху задния край на първата гръбна перка. Среца се навсякъде по крайбрежието, в почти всички черноморски езера и долни течения на притоци.

#### **1.4. НАБАВЯНЕ НА ЦЕЛЕВИТЕ ВИДОВЕ МЕКОТЕЛИ - КОЛИЧЕСТВО, БРОЙ.**

Теренните изследвания за мекотели показаха наличие на мекотели в твърде малко от наличните пунктове. Съгласно литературните данни, както и опитът и резултатите от всички изследвани пунктове следва да се уточнят някои особености на тази група организми. **1).** Мекотелите следва да се търсят в долните течения на по-големите реки, тъй като там се създават условия за естествено натрупване на тинести наслаги, които са най-подходящият биотоп за мидите. На места с песъкливо дъно или особено на камъни, на речно скално легло, мидите няма как да се развиват (укриват). Подобни условия обаче за голяма част от пунктовете не са изпълнени и не следва да се очаква намирането на мекотели там. Това бе установено за 20 от изследваните пунктове. **2).** Мекотелите са силно чувствително на резки флукутации във водното ниво (поливните язовири напр., долните течения на реките след дъждове или целия пролетен/есенен сезон), тъй като мидите остават на брега и загиват (констатирано в редица случаи по време на теренните изследвания) или водата ги залива и стават напълно недостъпни за пробонабиране. Подобни трудности бяха констатирани в 19 от изследваните пунктове, съгласно представените вече протоколи за теренен анализ. **3).** На

някои места бяха събирани безгръбначни, различни от едрите молюски, но количествените им характеристики са крайно недостатъчни - напр. на р. Искър са събирани ларви *Chironomus* sp., (Нови Искър), на други места са събирани пиявици, но след няколкочасова работа по изваждане на дребните екземпляри от седиментите, след почистване им (едно по едно с пинсета) от тинята, се събират едва няколко грама биомаса, която не е достатъчна за анализи. Приемаме, че за бъдещи изследвания това е крайно неефективно и нецелесъобразно и следва да серазчита само на едрите молюски и евентуално висши ракообразни – речен рак, езерен рак.

4). Молюските са чувствителни към по-силни замърсявания на водите и за разлика от рибите не могат да се придвижат към по-добри места, а загиват. На пунктовете със сериозно токсично или канално-битово замърсяване не сме откривали миди, това са 12 от пунктовете.

5). Наличие на неподходящи за изследването видове молюски. Такива са защитените видове, за които специално е обърнато внимание, че трябва да бъдат избягвани за събиране и анализ (*Unio crassus*, бисерна мида). Такива са и инвазивните видове миди (у нас *Anodonta woodiana* и *Corbicula fuminea*). За цели поречия (Искър, Струма) такива видове са доминиращи, и макар да са в достатъчно количества (често дори масови), тяхното събиране е избягвано.

## 1.5. МОЛЮСКИ – ПРОБЛЕМИ И АЛТЕРНАТИВИ ЗА РЕШАВАНЕ

Съгласно проведените изследвания и анализиране на установените трудности, екипът предлага алтернативи за решаването им за целите на бъдещия мониторинг, представени също така и на Табл. 1:

а) Препоръчва се предварително специализирано теренно проучване, целящо събиране само на молюски. Провеждането му да не е съобразено само с пунктовете за събиране на риби, а да се посетят възможно най-голям брой речни участъци в България и на възможно повече язовири (езера). У нас това не е правено и затова не може да се разчита на литературни данни, които да насочат бъдещите изследвания. Подобно проучване е многократно по-лесно и ефективно от финансова, времева, логистична и т.нт. гледна точка, сравнение с ихтиологичните (риби) изследвания. От организационна гледна точка това пробонабиране трябва да е независимо от изследването за риби и задължително да бъде извършвано от специалист- бентосолог. Той може да извършва обхождания по речното течение независимо от ихтиолога, а често микрохабитатите (условията за живот) на рибите са коренно противоположни от тези за молюски. В настоящите изследвания сме се съобразявали основно с нуждата от събиране на рибна фауна. Бъдещо мащабно проучване (на пунктовете, където се очаква натрупване на замърсители в мекотели) ще даде много по-ясна представа кои са най-подходящите пунктове за подобен мониторинг.

б) За някои езера (язовири), където има данни за съществуването на молюски, те не са открити по време на изследванията, но тяхното пробонабиране е от голямо значение за бъдещия мониторинг се препоръчва алтернативна методика за пробонабиране.

Леководолазните спускания могат да бъдат приложени с най-голям успех в търсенето на дълбоките зони, където мидите може да са се укрили. По отношение на количествените параметри, леководолазен екип за едно спускане може да направи оглед на 200-500 м<sup>2</sup> дънна площ (до 10-20м дълбочина), докато събирането на молюски със сега прилаганата методика се разчита на по-малка изследвана площ (например 10- 20 места x 0,25 м<sup>2</sup>, колкото е отвора на сакчето) и само на дълбочина, подходяща за газене. Трябва да се има предвид, че в научните среди има достатъчен брой добре обучени леководолази, притежаващи необходимите сертификати и опит: колеги в ИБЕИ – БАН, СУ - БФ. Трябва да се има предвид ниската ефективност и високата себестойност на подобна работа - един екип от трима водолази (двама във водата, трети подготвен за сигурност) може да изследва един, максимум два водоема в рамките на един ден.

в) Видовете молюски, събирани за анализиране на химични замърсители трябва да са само най- едрите представители, като мидите *Anodonta* spp. и *Unio* spp. Опитът ни от събраните в единични случаи други безгръбначни показва, че да се разчита на дребни по размери, макар и масови и срещащи се почти навсякъде организми е неприложимо.

г) Пробонабирането трябва да се осъществява само в периода на най-ниски водни нива (лято – ранна есен), поне няколко дни след евентуално паднали валежи. Наличието на високи води и повишена мътност на водата сериозно възпрепятстват визуалното откриване на видовете.

д) Да се приеме за алтернатива използването на инвазивни (чужди, неместни) видове молюски. Такива у нас са китайската блатна мида (*Anodonta woodiana*) и китайската курбикула (*Corbicula fulminea*) и други. Следва да се подчертае, че тези видове са откривани в много големи количества по долните течения на дунавските протоци, както и в някои язовири. Повечето инвазивни видове са от десетилетия в България и с голяма сигурност ще останат дълго, вкл. ще се приспособят към местните условия (на примера на морския рапан). Те са дълголетни видове, слабоподвижни или напълно неподвижни и натрупването на вещества в тях вероятно е напълно съизмеримо с това, за местните видове.

**Таблица 1.** Идентифициране на основни проблеми според проведените изследвания и натрупания опит. Алтернативи за тяхното решаване.

Проблем при пробонабирането	Предлагано решение
<p>1. Невъзможност за осигуряване на проби за анализ поради липса на биота - риби</p>	<p>Пояснение: При някои от пунктове беше установена пълна липса на биота (риби, молюски) през едното или двете пробонабирания. Основните причини са дискутирани по-горе в текста: силно токсично замърсяване, натоварване с битово-канални непречистени води, неподходящ субстрат и достъп до пункта;</p>

	<p><i>Решения:</i> <b>1).</b> При някои от пунктовете е възможно да се предложат алтернативни пунктове, разположени по-надолу (по-нагоре) по течението- за реки. <b>2).</b> За някои от пунктовете не е възможен избор на алтернативен такъв (езера) и те следва да отпаднат или да се заменят с алтернативни, със сходна типология или условия</p>
<p><b>2.</b> Невъзможност за осигуряване на проби за анализ поради липса на целеви видове, при наличие на други алтернативни видове - риби, мекотели</p>	<p><i>Пояснение:</i> Както беше посочено още преди започване на пробонабиранията, поради редица локални особености - прекомерен улов, нерегулярно зарибяване с неясни параметри, голямо разнообразие на типове повърхностни водни тела и двата екорегiona за съжаление не е възможно да се набележат два или три целеви вида, върху които да се базира целия мониторинг на ихтиофауната в България.</p> <p><i>Решения.</i> <b>1).</b> Обходите при предварителните теренни наблюдения и през двете пробовземания набелязаха няколко вида, които бяха приоритизирани като целеви поради масовото им представяне в ихтиофауната на повечето водни тела – <i>речен, егейски и черноморски кефал, бяла и маришка мряна</i>. Това са ендемитни видове, но те са екологичен аналог на посочените в Ръководство № 25 видове. Пробонабирането в тези случаи беше успешно. <b>2).</b> В някои пунктове алтернативни видове липсват напълно или не са в количество, което да позволи събиране на представителна проба. При този случай, екипът предлага при възможност да бъде събирана проба от нецелеви вид, например други шаранови риби: в някои от язовирите (яз. Огоста, Тополница) има добър потенциал за пробонабиране на представителна проба от <i>сребриста каракуда</i>; видът <i>бабушка</i> бе открит за доста от ЧМ реки; попчето <i>стронгил</i> в Белославското и Варненско езеро; в някои от язовирите има популации с добри количествени параметри и размери от хищни риби - <i>бяла риба</i> в яз. Ал. Стамболийски; <i>костур</i> в Пчелина, Студен Кладенец. Обобщено, в язовирите следва да се разчита на локалните популации от по-едри видове, разбира се с приоритет към тези, отбелязани в Ръководствата, но не може да се разчита на 2-3 повсеместно разпространени видове.</p>
<p><b>3.</b> Невъзможност за</p>	<p><i>Пояснение:</i> Размерите, които бяха целево заложили при</p>

<p>пробонабиране на представителни проби - недостатъчни количество, размери и тегло на уловените екземпляри</p>	<p>изготвянето на стратегията и методиката за пробонабиране са 500-600 гр. и 15 см за екземпляр, с улов между 2 и 25 броя. Както показаха проведените теренни пробонабирания, тези размери не се достигат при голям брой от рибните популации в редица пунктове.</p> <p><i>Решения.1).</i> Като алтернатива предлагаме там, където рибите са в по-ниските размерни класове, но все пак с близки до заложените размери и достатъчно като количество да бъде извършвано пробонабиране. <b>2).</b> Ако установените екземпляри не са близки до желаните, а са маломерни, не се събират. Алтернативата е да се разчита на всеки по-голям екземпляр от други, нецелеви видове. <b>3).</b> Вероятно голямо значение има сезонността (обсъждана специално по-долу), не следва да се очаква през пролетните месеци да има големи риби, а късната есен вече отрасналите индивиди извършват миграции. Ето защо, пробовземането трябва да се осъществи по време на летния минимум при ниски води. <b>4).</b> Да се избягва пробонабиране от речните пунктове, които се намират под язовири - задължително да няма в близките седмици изпускане на води.</p>
<p><b>4.</b> Невъзможност за пробонабиране на представителни проби от мекотели в голям процент от пунктовете</p>	<p><i>Решения:</i> <b>1.</b> Провеждане на предварителни целенасочени изследвания върху разпространение на молюските в хидрографските райони, където има очаквано замърсяване и вероятност за натрупване в телата им. Проучват се само водоеми, където се очаква потенциално наличие на молюски, с особено внимание към: подходящ биотоп (тип дъно), липса на прекалено голямо канално -битово замърсяване; проучват се долни течения на реки; проучват се само язовири с малки колебания в нивото <b>2.</b> Тестване на алтернативни методи за пробонабиране - леководолазен оглед на голяма част от дъното (реално 10-100кратно по голяма от стандартните методи). Приложим само за язовирите, които не могат да отпаднат от мрежата пунктове поради важноста като водни обекти, поради очакване на специфично замърсяване и др. <b>3.</b> Пробонабиране само на едри представители (<i>Anodonta</i> spp., <i>Unio</i> spp.), избягване на дребните видове и другите безгръбначни. <b>4.</b> Пробонабиране само при ниски водни нива и</p>

	прозрачни води (мътни водоеми се избягват) - визуално откриване. <b>5.</b> Задължително използване на няколкото инвазивни вида, които на места са масово развити, а и са изместили нашите видове.
<b>5.</b> Проблеми в прилаганата методика за пробонабиране - риби и мекотели	Съгласно проведените изследвания и експертния опит, не са констатирани значими проблеми, свързани с прилаганата методика. Екипът приема, че при наличие и достатъчно количество на целевите видове, прилаганите методи са достатъчно добри за пробонабиране. Единствено като алтернатива на пробонабиранията за мекотели в язовири (езера) може да се изтъкнат предимствата на леководолазното спускане, чрез което се обхваща многократно по-голяма площ, отколкото при стандартното хидробиологично проучване
<b>6.</b> Неподходящ сезон за пробонабиране	<i>Пояснение:</i> На база проведените изследвания се констатира, че в предварително зададените пунктове има сериозен проблем по отношение възможността за събиране на проби и наличие на целеви видове - високо водно ниво, рязка смяна на нивото.  <i>Решение:</i> мониторингът да се извършва само през лятно - ранно есенния период, например от юли до октомври, като конкретните теренни изследвания да са съобразени с краткосрочната прогноза, а след паднали валежи да се изчаква поне 2-3 дни до оттичане на водата. Трябва да се има предвид обаче, че почти цялата 2015г. бе характерна с високи водни нива на язовири, на долни течения на реки.

За всеки конкретен пункт за пробовземане се прави предварителен оглед и анализ на възможността за вземане на проба от биота. При липса на подходяща биота или при недостатъчно и непредставително количество проба, анализ на органични замърсители не се провежда.

Географските координати на пункта могат да се променят с цел улов на подходяща биота.



## 2. ПРОБОВЗЕМАНЕ НА БИОТА

### 2.1. ИЗБОР НА МЕТОДИ ЗА ПРОБОВЗЕМАНЕ.

#### Методика за пробовземане на риба от реки

Пробонабирането от плитки водоеми (реки) се извършва с електроагрегат, съгласно БДС EN 14011: Качаство на водата – вземане на проби от риба с електричество (*Water quality - sampling of fish with electricity*). В общи линии се прилага методиката, описана в ръководството „Биологичен анализ и екологична оценка на типовете повърхностни води в България“ (Белкинова и др., 2013). Пробонабиращият екип се състои от минимум двама души - оператор с електрориболовители (електрофишер) и помощен персонал, събиращ със сакче уловената риба. Използва се електрофишер, работещ с постоянен или импулсен ток (не променлив!) с мощност до 5КВт, захранван от акумулатор или бензинов генератор. Повечето модели електрофишери са снабдени със съответните защиты, но следва строго да се спазват всички правила при работа с уреда с цел избягване на инциденти. Екипът трябва да е екипиран с подходящи ботуши с противоплъзгаща се подметка, с цел избягване на падане във водата. Необходимо е носене на защитни ръкавици. Директно бъркане с ръце във водата е недопустимо. Не е позволена работа по време на дъжд, буря, гръмотевици и др. Пробонабиране с електрически ток чрез газене се извършва на дълбочина до 0,8-1,0 м. При по-голяма дълбочина е необходимо да се използва лодка. В плитки реки се обхожда цялата ширина на реката, а в по-дълбоки – крайбрежната зона или участъците с подходяща дълбочина. Придвижването се осъществява срещу течението. Големината на обследвания участък зависи от възможността да се събере необходимото количество ихтиологичен материал. Изследват се всички възможни микрохабитати. Пробонабирането се преустановява след събиране на поне на минималното количество риба. Стремехът е събиране на поне 2-25 екземпляра риба с размери, отговарящи на минимална възраст 3 години (в зависимост от вида риба), формиращи обща биомаса 500 гр. свежо тегло. Ако въпреки положените усилия в участък с дължина до 1 км уловеното количество риба не е достатъчно, се приема, че в този участък ихтиофауната е с много ниска плътност и следва пунктът да се ревизира. За най-подходящи целеви видове се приемат различните видове **кефал**: речен кефал (*Leuciscus cephalus*, актуално име *Squalius cephalus*), егейски кефал (*Sc. orpheus*). Като особено подходящ целеви вид се определя и **мряната**, намирана масово на повечето пунктове. Тук се включват: бялата мряна (*Barbus barbus*), черната мряна (*Barbus petenyi*), маришката мряна (*Barbus cyclolepis*), приморска мряната (*B. bergi*). Като алтернатива на кефала може да се използва морунашът (*Vimba vimba*) - често присъстващ на част от пунктовете в средните и долните течения. Това е бентосояден вид, дълго живеещ и имащ голям потенциал за натрупване на вещества. Друг вид, също достигащ на места висока численост и подходящи размери като целеви обект е скобарът (*Chondrostoma nasus*). Този вид обаче следва да се използва по-рядко (само при пълна липса на други), тъй като е фитобентософаг и в някои случаи може да натрупа по-малко вещества, отколкото другите видове.

Уловената риба се прехвърля в в съд с достатъчно количество вода, която се аерира постоянно докато приключи пробонабирането. Събраната риба се претегля на везна, измерва

се линейно и по-малките екземпляри се освобождават. Ако времето е много топло и има риск от преждевременно умираване на рибата, пробонабирането може да се извърши на няколко отделни етапа до събирането на необходимото количество. Важно е да се избегне смъртност, особено на по-малките по размери екземпляри, които не са подходящи за бъдещи анализи. Дължината на отделните екземпляри се измерва с точност до 1 см, а теглото – до 1 гр. Уловените риби се увиват (по-големите отделно) в защитно алуминиево фолио, след което се прехвърлят в найлонови торбички. При всички случаи се използват защитни ръкавици за избягване на компрометиране (замърсяване) на пробите. Задължително е етикетироването, като се записва информация за името на реката, местоположението на пункта, датата и вида риба. След измерване и опаковане на избраните за анализ риби, уловът се съхранява в хладилна чанта (4-10 °C) за минимално време (до едно денонощие), докато се прехвърли в хладилна камера за дълбоко замразяване (-20 °C).

### **Методика за пробовземане на риба от езера**

Пробонабирането от стоящи води (езера, язовири), но в някои случаи и от по-големи реки (Дунав, долни течения на вътрешни реки) се извършва чрез хрилни мрежи с подходящ размер на „окото“, чрез статичното им поставяне за определено време. При пробонабирането се следват общите принципи на БДС EN 14757 (*Water quality- sampling of fish with multi-mesh gillnets*). Стратегията за пробонабиране изисква разпъване на мрежите във водоема чрез лодка с гребла или двигател. При влизане с лодка се спазват всички правила за безопасност, а самият плавателен съд трябва да е оборудван с всички средства за безопасност: допълнително гребло, уреди за изгребване на водата, спасителни жилетки за екипажа, плаващо въже, котва. Поне единият член на екипажа трябва да притежава правоспособност за ползване на лодка. Влизането се осъществява само в тихо и ясно време, съобразявайки се с метеорологичните прогнози. Местата и дълбочините за поставяне на мрежите се определят в съответствие с търсените видове риби съгласно експертната преценка на изпълнителите. Препоръчва се поставяне на няколко дънни и плаващи мрежи на различна дълбочина, желателно – в близост до евентуални укрития - обраствания с тръстика, потопена растителност и др. Може да се използват и дънни мрежи, както и плаващи, разположени към повърхността. Преценката се извършва съгласно спецификата на водния обект и очакваните целеви видове. Използват се мрежи с по-голям размер на окото (напр. над 4 см.), т.к. необходимите за анализ целеви видове трябва да са от по-едри класове. Препоръчителната дължина на една мрежа е 50 -100 м., според конкретната ситуация и големина на водоема. За по-големите водоеми могат да се поставят повече мрежи. Трябва да се има предвид, че пространственото разпределение на рибите във водоема не е равномерно и се променя в зависимост от възрастта, физиологичното им състояние, денонощните и сезонните промени на поведението. Разпределението им зависи и от хабитатната хетерогенност. Най-подходящо е пробонабирането да се осъществява през лятото и ранна есен. Трябва да се избягва късно есенно и зимно пробонабиране, тъй като повечето видове са по-слабоподвижни, придържат се на по-голяма дълбочина и по-трудно се улавят при ниски температури на водата, а освен това работата на вода през зимата крие по-големи рискове за изпълнителите. Не е желателно също така и пробонабиране през

пролетта и до средата на юни, когато е размножителният период на повечето видове. Тъй като уловите през тъмната част на денонощието като правило са по-резултатни, се препоръчва мрежите да се поставят привечер и да се изваждат на разсъмване. Така уловите се обработват през деня. При слабопродуктивни водоеми мрежите могат да се оставят за 24 часа. В някои случаи (когато има вероятност да бъде уловено много голямо количество риба или има опасност от кражба на мрежите) мрежите могат да се поставят и през деня, като продължителността на експозицията се определя по експертна преценка. Трябва да се има предвид, че веднъж попаднали в мрежите, повечето риби не оцеляват след повторно връщане във водата. При слаб или никакъв улов след 24 часова експозиция следва да се приеме, че в изследвания водоем ихтиофауната е с много ниско обилие – ситуация силно зависеща и от браконьерския риболов, особено в малки водоеми. След приключване на уловите и изваждането на мрежите, рибата се освобождава от тях, избират се целевите видове с достатъчни ориентировъчни размери и се измерва индивидуалната дължина (с точност до 1 см) и тегло (с точност до 1 г). Необходимо е събиране на поне 2-25 екземпляра риба с размери, отговарящи на минимална възраст 3 години (в зависимост от вида риба), формиращи обща биомаса 500 г свежо тегло. За най-подходящи целеви видове се приемат тези, водещи придънен начин на живот, поради по-големия потенциал за натрупване на вещества. От пелагичните видове са важни хищниците (напр. бяла риба), също заради по-голяма потенциална възможност за натрупване – те са крайно звено в хранителната пирамида. Подходящи целеви видове са: сребриста каракуда (*Carassius gibelio*), бяла риба (*Sander lucioperca*), костур (*Perca fluviatilis*), шаран (*Cyprinus carpio*), бабушка (*Rutilus rutilus*), платика (*Abramis brama*), речен кефал (*Leuciscus cephalus*, сега *Squalius cephalus*), егейски кефал (*Sc. orpheus*), маришки морунаш (*Vimba melanops*). Пелагичните планктоноядни видове с малки размери (напр., уклей, ранновъзрастови бяла риба и костур, и др. под.) не са подходящи. За преходните и черноморски водоеми подходящи са и някои видове морски риби като стронгила (*Neogobius melanostomus*), откриван във Варненско и Белославско езеро. За черноморските видове трябва да се има предвид, че дори зрелите индивиди (особено при стронгила) рядко надвишават 10-15 см. Всяка отделна риба (особено по-големите) се увива в защитно алуминиево фолио, след което се поставя в найлонов плик. Задължително се поставя етикет с информация за водния басейн, вида риба, датата на пробонабиране и др. Всички операции по изваждане на рибите от мрежите, размерните и тегловни анализи и опаковането се извършват с подходящи латексови ръкавици. Подготвените проби се прехвърлят в хладилна преносима камера (до 4-10 °C), където се съхранява до края на теренния ден. Възможно най-бързо рибната проба се предава за съхранение в хладилна камера за дълбоко замразяване (на -20 °C).

#### **Методика за пробовземане на мекотели**

Мекотели се събират със стандартни хидробиологични уреди за пробонабиране на бентосологична (дънна) проба. Подходящо е използването на ръчна мрежа (сакче), съгласно стандарта БДС EN ISO10870:2012 (*Water quality - guidelines for the selection of sampling methods and devices for benthic macroinvertebrates in fresh waters*). Алтернатива са нестандартизирани уреди като дънни драги. Пробонабирането се извършва от брега (езера,

язовири) или във водата, до 1м. дълбочина (реки). Извадените молюски се почистват от кал, тиня, премерват се на електронна везна и се поставят в защитно фолио с подходящ етикет. Молюските могат да издържат живи извън водата поне за 1-2 денонощия при ниска температура (хладилна чанта с 4-10 °С), но дългосрочното съхранение се извършва в камера за дълбоко замразяване (-20 °С). Търсенето на миди е оправдано само в долни течения на реки, устия, някои естествени водоеми (блата, езера). Не може да се очаква намирането им в язовири със силно колебание на водните нива (напр. използваните за поливане), тъй като мидите не успяват да се придвижат достатъчно бързо и загиват. Наличието на замърсени води също е пречка за развитието им. Част от жизнения цикъл на мидите е свързан с рибите - мидената ларва („глохидиум“) е микроскопичен паразит, захващащ се за рибите и използващ ги и за разпространяване. Ако пробонабирането за риби в даден водоем е неуспешно, не следва да се очаква намиране и на миди. Местообитанията, в които се очаква най-вероятно намиране на миди са с тинесто-песъклив дънен субстрат, под който е разположена твърда основа (скално легло, камъни, уплътнен чакъл), с по-бавна скорост на течението, но дълбочината може да е малка (дори 10 - 20 см.).

## **2.2 ИЗБОР НА ПОДХОДЯЩ СЕЗОН ЗА ПРОБОНАБИРАНЕ (РИБИ И МЕКОТЕЛИ).**

Пробонабирането на риби от реки съгласно стандартните изисквания, както и с оглед изискванията за безопасност, се извършва през периодите на ниски води. Пробонабирането на ихтиофауна от стоящите водоеми трябва да е съобразено с биологичните особености и сезонните изменения в пространственото разпределение на целевите видове, но също така и режима на източване на язовирите, с конкретната хидрологична обстановка, както и с климатичната ситуация. Трябва да се избягва работа по време на дъжд, буря, силни вълни и течение. Неподходящо е пробонабиране след рязка промяна на водното ниво. Пробонабирането за молюски се извършва само при стабилно водно ниво: ако има рязко спадане, молюските са останали на сушата, намират се само черупки; ако има рязко повишаване на нивото, молюските остават в дълбокото и не са достъпни.

Съгласно *опита от проведените проучвания* трябва да се вземат предвид и няколко допълнителни условия. **1).** Пробонабирането за риба в някои случаи бе силно затруднено поради наличие на високи водни нива в реките (напр. след дъждове). От една страна, на няколко пункта операторът не може да се придвижва във водата - при стръмни брегове и дълбочина над 1,5 метра; от друга страна рибите се укриват в подобна ситуация. **2).** Пробонабиране за молюски бе невъзможно в места с рязка промяна на нивото - на различни пунктове бяха констатирани стотици мъртви (черупки) екземпляри от миди, без да се открият подходящи живи. Предполага се, че в по-подходящо време успехът за пробовземане би бил голям. **3).** Пробовземането в силно замътена вода - след наводнения, дъждове, изпускане на язовири, мътна от битово-канално замърсяване често беше силно затруднено- операторът не може да е сигурен кога улавя риба, това води до силно снижаване на резултатите. За молюските това е още по-валидно - визуалното им намиране е напълно невъзможно.

Съгласно горното, екипът предлага като *най-подходящ сезон* да се приеме календарният период юли-средата на октомври, но задължително съобразявайки се с климатичната и

хидрологична обстановка. През този лятно-ранно есенен период следва да се очаква ниско водно ниво и по-малко валежи. Ако има евентуални валежи, следва да се изчака поне 2-3 дни до оттичане на водата от водосборната област и избистряне.

### **3. АНАЛИЗ НА БИОТА**

Начинът на представяне на аналитичните резултати се определя от акредитираната лаборатория, извършваща анализа. Препоръчва се представяне на средна стойност със съответната неопределеност. Поради ограничения брой на резултатите и липсата на предварителна информация не може да се прави оценка за резултати-бегълци. Акредитираната лаборатория гарантира достоверността на резултата.

Съществено първоначално и задължително изискване както при разработването на подхода за оценка на тенденциите при биота, така и при неговото прилагане е използването на стабилни и надеждни аналитични методи с точно дефинирани граници на определяне и възпроизводимост. Промяната на границите на определяне може да доведе до неправилна оценка за наличие на тренд. Ако границата на определяне на използвания аналитичен метод отговаря на изискването  $LOQ=0.3CKOC$  и не се променя в периода на оценка на тенденцията, то при получаване на резултати от анализ по-малки от  $LOQ$ , може да се приеме допускането, че резултатът= $LOQ/2$ .

### **4. ФОРМА НА ПОДДЪРЖАНА /НАЦИОНАЛНА/ БАЗА ДАННИ, С ОТЧИТАНЕ НА НЕЙНОТО БЪДЕЩО ДОПЪЛВАНЕ И РАЗВИТИЕ**

За да има унифицираност, може да се ползва формата на базата данни за води със съответните промени за биота, включваща и пълното описание на биотата.

### **5. НОРМАЛИЗАЦИЯ НА РЕЗУЛТАТИТЕ ОТ АНАЛИЗ НА БИОТА.**

- Резултатите за съдържание на Hg в риби се нормализират по отношение на сухо тегло по формулата:

$$C(\text{норм.})=C(\text{изм.})*0.26/m$$

Където:

$C(\text{норм.})$  – нормализираната концентрация

$C(\text{изм.})$  – измерената концентрация

$m$  – определеното за съответната биота сухо тегло.

- Резултатите за съдържание на органични замърсители в риби се нормализират по отношение на съдържание на мазнини по формулата:

$$C(\text{норм.})=C(\text{изм.})*0.05/p$$

Където:

$C(\text{норм.})$  – нормализираната концентрация

C(изм.) – измерената концентрация

n – определеното съдържание на мазнини в рибите

- Резултатите за съдържание на органични замърсители в миди се нормализират по отношение на съдържание на мазнини по формулата:

$$C(\text{норм.})=C(\text{изм.})\cdot 0.01/n$$

Където:

C(норм.) – нормализираната концентрация

C(изм.) – измерената концентрация

n – определеното съдържание на мазнини в мидите

## **6. ВИЗУАЛИЗАЦИЯ НА ПОЛУЧЕНИТЕ РЕЗУЛТАТИ.**

За да се очертае разликата между замърсители, които се определят в биота за оценка на химично състояние от тези, които се определят за оценка на тенденциите се предлага:

Използване на син и червен цвят за резултатите, получени с цел оценка на химично състояние. Синият цвят е индикация, че получената стойност е под приетия SKOC. Червеният цвят е индикация, че получената стойност е над приетия SKOC съгласно общоприетите цветове за оценка на химично състояние.

За останалите замърсители, които се анализират с цел да се оценят тенденциите - концентрации под приетия национален стандарт за качество се отбелязват със зелено за съответния замърсител и измерени концентрации над приетия национален стандарт за качество с червено.

За визуализация на тренда се предлага използване на стрелка нагоре или надолу съответно за възходящ и низходящ тренд. Липсата на стрелка означава, че няма промяна в концентрациите на замърсители.

## ПОДХОД ЗА ОЦЕНКА НА ДЪЛГОСРОЧНИТЕ ТЕНДЕНЦИИ НА КОНЦЕНТРАЦИИТЕ НА ПРИОРИТЕТНИТЕ ВЕЩЕСТВА

Методът за оценка на промяната в концентрациите на замърсителите е един и същ за биота и седимент.

При получаване на поне 4 последователни резултата като подход за оценка на тенденциите да се използва непараметричния метод на Mann Kendall (Hirsch and Slack 1984). Методът е подходящ, защото позволява да се работи с по-малко от 6 резултата. Няма претенции за нормално разпределение на резултатите, което така или иначе, практически не може да бъде оценено с толкова малко резултати.

Непараметричния метод на Mann Kendall е приложим когато се счита, че резултатите за стойностите на замърсителите ( $x_i$ ) следват модела:

$$x_i = f(t_i) + \epsilon_i$$

където:  $f(t_i)$  е непрекъсната монотонна намаляваща или нарастваща функция на времето и остатъците  $\epsilon_i$  се предполага, че принадлежат на същото разпределение със средна стойност нула.

Проверява се нулевата хипотеза  $H_0$  – няма тенденция в резултатите, т.е. резултатите са случайно разпределени във времето, срещу алтернативната хипотеза  $H_1$  – наблюдава се намаляващ или нарастващ монотонен тренд. При изчисленията се прилагат и двете статистики:  $S$  – дадена от Gilbert (1987) и апроксимацията  $Z$ -статистика. За брой резултати под 10 се прилага  $S$  статистиката, за брой резултати над 10 се прилага  $Z$  статистиката с нормално разпределение.

За резултати под 10 при определена вероятност,  $H_0$  се отхвърля в полза на  $H_1$  ако абсолютната стойност на изчисления параметър  $S$  е равна или надвишава определена стойност на  $S_{\alpha/2}$ . Положителни или отрицателни стойности на  $S$  показват възходящ или низходящ тренд. Програмният продукт позволява работа при 4 нива на статистическа значимост  $\alpha$ : 0.1; 0.05; 0.01; 0.001 в зависимост от броя на данните съответно:  $n \geq 4$ ;  $n \geq 5$ ;  $n \geq 6$ ;  $n \geq 7$ . Статистическо ниво на значимост 0.001 означава, че съществува 0.1% вероятност стойностите  $x_i$  да са случайно разпределени и с тази вероятност да се отхвърли  $H_0$  т.е. липсата на тенденция. За брой резултати над 10 (трябва да има 10 различни стойности) се изчисляват вариациите на  $S$  по определено уравнение и след това  $Z$  по определена формула в зависимост от знака на  $S$ . Положителни или отрицателни стойности на  $Z$  показват възходящ или низходящ тренд, съответно. Статистиката  $Z$  има нормално разпределение. При определено ниво на значимост  $H_0$  се отхвърля ако абсолютната стойност на  $Z > Z_{(1-\alpha)/2}$

За оценка на наклона на тенденцията т.е. скоростта на промяната с времето се използва непараметричния метод на Sen. Предполага се линейна промяна на  $f(t)$  т.е.  $f(t) = Qt + B$ .  $Q$  – показва наклона на предполагаемата линейна зависимост.

Може да се приложи програмен продукт със свободен достъп.

Програмният продукт позволява и визуализация на получените резултати, показано е и разпределението на остатъците при линейната апроксимация.

Всички изчисления могат да бъдат извършени и ръчно с използване на съответните формули. Като се има предвид, че в следващите 6 години, максималният брой резултати ще бъде 6 може да се използва една опростена формула за изчисление.

Стъпка 1. Подреждат се резултатите по години и на всеки резултат се приписва ранк в зависимост от стойността му.

година	резултат	ранк
2015	24	2
2016	26	4
2017	23	1
2018	25	3
2019	27	5

Стъпка 2. Изчислява се сумата от всички възможни разлики между отделните години =  $n*(n-1)/2$  - в нашия случай –  $5*4/2=10$ .

Обща формула:

$$S = \sum_{k=1}^{n-1} \sum_{j=k+1}^n \text{sgn}(x_j - x_k)$$

Където  $x_j$  и  $x_k$  са съответните ранкове в последователни години.

$$\text{sgn}(x_j - x_k) = \begin{cases} 1 & \text{if } x_j - x_k > 0 \\ 0 & \text{if } x_j - x_k = 0 \\ -1 & \text{if } x_j - x_k < 0 \end{cases}$$

В нашия случай  $S = ((4-2)+(4-1)+(4-3)+(4-5)+(1-4)+(3-4)+(5-4) + (3-1)+(5-1) + (5-3)) = 4$

Стъпка 3. Нулевата хипотеза е няма тренд. Ниво на значимост  $\alpha=0.05$

Gilbert, стр.272 – проверяваме и за 5 проби и  $S=4$  стойността е 0.242. Ние не приели ниво на значимост  $\alpha=0.05$ , и понеже  $0.242 > 0.05$ , т.е. нулевата хипотеза, че няма тренд не може да се отхвърли. Следователно тези резултати не показват възходящ тренд.

За по-малък брой резултати да се ползва простия t-тест или Анова като Приложение в ексел.