



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

БОЈАНА ТУБИЋ

**ТЕСТИРАЊЕ РАЗЛИЧИТИХ МЕТОДА УЗОРКОВАЊА
МАКРОБЕСКИЧМЕЊАКА У ВОДЕНИМ ЕКОСИСТЕМИМА И
МОГУЋНОСТИ СТАНДАРДИЗАЦИЈЕ**

Докторска дисертација

др Момир Пауновић, ментор

Крагујевац, 2016.

I Аутор
Име и презиме: Бојана Тубић
Датум и место рођења: 22.01.1976. године, Смедеревска Паланка
Садашње запослење: истраживач сарадник Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Универзитет у Београду
II Докторска дисертација
Наслов: Тестирање различитих метода узорковања макробескичмењака у воденим екосистемима и могућности стандардизације
Број страница: 131
Број слика: 42 слике, 11 табела, 3 прилога
Број библиографских података: 146
Установа и место где је рад израђен: Универзитет у Крагујевцу, Природно-математички факултет
Научна област (УДК): Општа екологија, Биоценологија, Хидробиологија, Биогеографија (574). Природа. Изучавање и чување природе. Заштита природе и живог света (502/504)
Ментор: др Момир Пауновић , научни саветник Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Универзитет у Београду
III Оцена и одбрана
Датум пријаве теме: 30.06.2016
Број одлуке и датум прихватања теме докторске дисертације: IV-01-698/8, 13.07.2016. године
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата:
<ol style="list-style-type: none"> 1. др Владица Симић, редовни професор Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област: Екологија, биогеографија и заштита животне средине, 2. др Ана Петровић, доцент Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област: Екологија, биогеографија и заштита животне средине, 3. др Наташа Поповић, научни сарадник Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Универзитета у Београду, ужа научна област: Хидрокологија и 4. др Момир Пауновић, научни саветник Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Универзитета у Београду, ужа научна област: Хидробиологија.
Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације:
<hr/> <p>др Владица Симић, редовни професор Природно-математичког факултета, Универзитета у Крагујевцу. Ужа научна област: Екологија, биогеографија и заштита животне средине, председник комисије,</p> <hr/> <p>др Наташа Поповић, научни сарадник Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Универзитет у Београду. Ужа научна област: Хидрокологија,</p> <hr/> <p>др Ана Петровић, доцент Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу. Ужа научна област: Екологија, биогеографија и заштита животне средине.</p>
Датум одбране докторске дисертације:

Мојим девојцицама

Захвалница

Истраживања обављена у циљу израде ове докторске дисертације реализована су у оквиру пројеката „Еволуција у хетерогеним срединама: механизми адаптација, биомониторинг и конзервација биодиверзитета” ОИ 173025 и „Мерење и моделирање физичких, хемијских, биолошких и морфодинамичких параметара река и водних акумулација” ТР 37009 Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

У овом раду коришћени су подаци и материјал међународних пројеката: AQUATERRA - Study on river-sediment-soil-groundwater pollution interaction, modeling, monitoring tools; Учесник пројекта (EU 6th Framework Programme, No. 505428), „Заједничко испитивање Дунава 3”, Међународна комисија за заштиту реке Дунав („Joint Danube Survey 3”, ICPDR, International river expedition), „Заједничко испитивање Дунава 2”, Међународна комисија за заштиту реке Дунав („Joint Danube Survey 2”, ICPDR, International river expedition), „Процена нивоа биоконтаминације великих река Хрватске и Србије”, пројекат билатералне сарадње са Хрватском, Природословно-математички факултет Универзитета у Загребу и Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић”, Универзитет у Београду (бр. 451-03-615/2011-14/0224) и „Study of the Biological Monitoring of the Rivers and Lakes/Reservoirs in Bosnia and Herzegovina”, (RFP no: BA-PMT-QCBS/02/CS/08-BQS Water Quality Protection Project, Loan: GEF Trust Fund Grant No.055265).

Коришћени су такође подаци и материјал који су уступиле колеге са Института за биологију и екологију Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу.

Велику захвалност дугујем мом ментору *др Момиру Пауновићу*, научном саветнику Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Универзитета у Београду, веома сам захвална на великој помоћи у свим фазама израде докторске дисертације, изузетном залагању, безрезервној подршци и указаном поверењу од самог почетка. Мокси, хвала ти до неба за све!

Др Владици Симићу, редовном професору Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу, на великом поверењу које ми је указао, идејама приликом избора теме, на помоћи и подршци у свим фазама израде докторске дисертације.

Др Наташи Поповић, научном сараднику Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Универзитета у Београду захваљујем се на свим сугестијама, предлозима и корекцијама које су знатно помогле и унапредиле изглед овог рада. Нале, много ти хвала, све је било лакше одрадити уз твоју помоћ.

Др Ани Петровић, доценту Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу, изузетно сам захвална што је прихватила да буде део Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације. Анчи, уз твоју помоћ, сугестије, предлоге и корекције све је ишло много лакше.

Посебну захвалност дугујем *др Снежани Симић*, ванредном професору на Природно-математичком факултету Универзитета у Крагујевцу, на разумевању и несебичној помоћи током техничке реализације ове докторске дисертације.

Драгим колегиницама и колегама са Института за биологију и екологију Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу *Невени, Александри, Симони, Наташи, Милени, Милошу* и *Марку* велико хвала на разумевању и подршци.

Неизмерно сам захвалана колегиницама и колегама са Одељења за хидроекологију и заштиту вода ИБИСС, *Велету, Маји, Јеци Т., Кати, Ани, Божици, Маргарети, Јеци Ђ., Мари, Јеци Ч.А., Вањи, Николи* и *Стефану* на драгоцену помоћи коју су ми пружили када је било најпотребније, на великом подстицају и разумевању, на лепој сарадњи, веселој атмосфери током свих година заједничког рада, као и током израде дисертације. Другари, без вас би рад на овом докторату био много тежи. Сви сте били од велике помоћи.

Захваљујем се мом пријатељу *Жељку Васићу* на одвојеном времену и корисним саветима приликом техничког сређивања овог рада.

На крају, можда и највећу захвалност дугујем мојој породици на стрпљењу, подршци и пре свега, великој љубави коју ми пружају.

Бојана Тубић

Тестирање различитих метода узорковања макробескичмењака у воденим екосистемима и могућности стандардизације

Резиме:

Заједнице водених макробескичмењака имају особине које их сврставају у добре и поуздане показатеље промена еколошких услова који владају и сукцесивно се мењају у акватичном екосистему. Прегледом примене Оквирне директиве о водама у европским земљама, уочено је да су, у већини случајева, водени макробескичмењаци коришћени као примарни типолошки биолошки елемент, као и да су референтни услови засновани, углавном, на истраживањима поменуте групе хидробионата.

Савремена истраживања у Европи везана су за преглед и проналажење функционалних метода узорковања макробескичмењака у циљу имплементације Оквирне директиве о водама. Теренски рад је предуслов за све даље анализе заједнице макробескичмењака, те је од изузетног значаја избор ефикасних метода у односу на тип екосистема и циљ студије. Недостатак финансијских и стручних ресурса за мониторинг и примењена истраживања захтевају да се одреди ефикасна методологија за прикупљање биолошких узорака и изврши хармонизација приступа због могућности поређења података. Примењена истраживања зависе од расположивих финансијских средстава и научног циља.

У овом раду разматране су различите технике прикупљања узорака за изучавање заједница водених макробескичмењака, специфичности везане за узорковање појединих фаунистичко-еколошких група, као и потешкоће везане за истраживање типова водних тела, понаособ, на основу материјала прикупљеног са укупно 320 локалитета у периоду 2004-2016. на разноврсним типовима, пре свега, текућих вода у Србији. Део података који је разматран са циљем утврђивања ефикасности појединих метода односи се и на локалитете ван Србије – материјал са Дунава (сектор дужине 2500 km, од Регензбурга до делте Дунава), Саве (цео ток реке, у дужини од 937 km) и река Неретва и Босна са притокама (у Босни и Херцеговини).

Представљен је детаљан протокол прикупљања материјала и пратећих података, што подразумева опис методологије узорковања водених макробескичмењака, избор и карактеризацију локалитета, приказ процедуре обраде материјала, као и разматрање метода за анализе резултата.

Анализа резултата вршена је употребом програмских пакета ASTERICS 4.0.4 (AQEM Consortium, 2002) и "Statistica" верзија 7 (StatSoft, Inc., 2004). Поређење различитих метода узорковања везаних за заједницу водених макробескичмењака, као и за појединачне групе макробескичмењака у оквиру ове заједнице, уз поређење са претходним публикацијама које разматрају ову проблематику, дало је одговоре везане за стандардизацију методологије, утицај појединачних метода узорковања на резултате истраживања везане за разноврсност и просторну динамику заједнице водених макробескичмењака у различитим воденим екосистемима.

На основу добијених резултата извршена је оптимизација методологије узорковања водених бескичмењака за водене екосистеме Србије, предложена је методологија за одређени тип екосистема као и избор адекватних метода за одређени

тип истраживања, као и за специфичnu групу организама (шкољке) са посебним акцентом на велике и веома велике реке (по типологији текућих вода Србије), које представљају комплексне екосистеме.

Testing different methods for sampling macroinvertebrates in aquatic ecosystems and examination of the possibility for their standardization

Summary:

Aquatic macroinvertebrate communities possess certain characteristics which render them as reliable indicators of environmental changes in aquatic ecosystems. In the review of the application of the Water Framework Directive in European countries, it was observed that in most cases water macroinvertebrates serve as the significant typological element, and that the reference conditions are based mainly on the researched group of hydro-biota.

Current research in Europe is aimed at reviewing and establishing practical methods for sampling macroinvertebrates in order to ensure the successful implementation of the Water Framework Directive. Field work is the first step in every analysis of an macroinvertebrate community and the choice of efficient methods with regard to the type of ecosystem and goals of the study is of a great importance. Insufficient financial and technical resources for monitoring and applied research require the establishment of an effective methodology for collecting biological samples and a harmonized approach to insure data comparability. Applied research depends on the available financial resources and the scientific objective.

This paper presents different sampling techniques for the study of aquatic macroinvertebrate communities. It examines the problems encountered during sampling of specific faunistic ecological groups and different types of water bodies. The material was collected at 320 sites located primarily along different running waters in Serbia, from 2004 to 2016. To establish the efficiency of a particular method, we used data that was collected at sites outside of Serbia as follows: (i) the Danube River (a 2,500 km long sector from Regensburg to the Danube Delta); (ii) the Sava River (the entire course of the river with a length of 937 km); (iii) the rivers Neretva and Bosna in Bosnia and Herzegovina, including their tributaries.

A detailed protocol for collecting material and supporting data is presented, including description of aquatic macroinvertebrate sampling techniques, selection and characterization of the sites, reviews of procedures used for the processing of the sampled material, as well as a discussion of the methods employed for the analysis of the obtained results.

The results were analyzed with the software package ASTERICS 4.0.4 (AQEM Consortium, 2002) and "Statistica" Version 7 (StatSoft, Inc., 2004). Comparison of the different sampling methods for aquatic macroinvertebrate communities and specific groups within communities provided answers with regard to the standardization of the methodologies, the effects of the individual sampling methods on the results related to the diversity and spatial dynamics of the aquatic macroinvertebrate communities in different aquatic ecosystems.

Based on the obtained results, we optimized the aquatic macroinvertebrate sampling methodology for the aquatic ecosystems in Serbia. Also, methodologies for specific types of ecosystems and appropriate methods of selection for specific types of research are suggested, as well as methodologies best suited for a specific group of organisms (Mussels), with

emphasis on large and very large rivers (based on the National typology of running waters in Serbia) which represent complex ecosystems.

САДРЖАЈ

1. УВОД	1
1.1. Преглед доступних техника прикупљања материјала за изучавање водених макробескичмењака.....	7
1.1.1. Прикупљање материјала	9
1.1.1.2. Избор одговарајућих локалитета узорковања	9
1.1.2. Процедура узорковања	11
1.1.2.1. Квалитативне методе узорковања	11
1.1.2.2. Семиквантитативне методе	13
1.1.2.3. Квантитативне технике	14
1.1.2. Стандардна методологија узорковања	20
1.1.3. Обрада материјала	23
1.1.3.1. Третман узорака	25
1.1.3.2. Идентификација и чување организама.....	25
1.1.4. Анализа података.....	26
1.1.4.1. Сакупљање подузорака и квантификација	26
1.1.4.2. Руковање и складиштење података	27
1.1.4.3. Избор одговарајућих мерних скала и метода процене еколошког статуса	28
2. ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА.....	30
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ.....	32
3.1. ПОДРУЧЈЕ ИСТРАЖИВАЊА	33
3.1.1. Брдско - планинско подручје.....	33
3.1.1.1. Слив Велике Мораве	33
3.1.1.2. Слив Западне Мораве.....	34
3.1.1.3. Слив Јужне Мораве	34
3.1.1.4. Слив Нишаве.....	34
3.1.1.5. Слив Тимока	35
3.1.1.6. Слив Колубаре	35
3.1.1.7. Слив Дрине	36
3.1.1.8. Слив Уваца.....	36
3.1.1.9. Слив Млаве	36
3.1.1.10. Река Нера.....	37
3.1.1.11. Слив Егејског мора.....	37
3.1.2. Река Дунав.....	37
3.1.3. Река Сава	39
3.1.4. Реке Босне и Херцеговине.....	39
3.1.4.1. Река Босна	39
3.1.4.2. Река Неретва	40
3.2. Материјал.....	40
3.3. Методологија узорковања.....	43
3.3.1. Методологија узорковања брдско-планинских текућица.....	43
3.3.2. Методологија узорковања већих равничарских река – река Дунав.....	44

3.3.3. Методологија узорковања - JDS 2 експедиција.....	45
3.3.4. Методологија узорковања - JDS 3 експедиција	46
3.3.5. Методологија узорковања на Ђердапском сектору (акумулацији)	49
3.3.6. Методологија узорковања на реци Сави.....	49
3.3.7. Методологија узорковања на рекама Неретва и Босна са притокама.....	49
3.4. Анализа резултата.....	50
4. РЕЗУЛТАТИ	52
4.1. Поређење методологије узорковања на брдско-планинским текућицама	53
4.2. Поређење методологије узорковања на реци Дунав (<i>Aquaterra</i> експедиција)	56
4.3. Поређење методологије узорковања на реци Дунав (JDS 2 експедиција).....	61
4.4. Поређење методологије узорковања на реци Дунав (JDS 3 истраживање).....	65
4.4.1. Поређење резултата добијених анализом различитих метода узорковања током JDS 2 и JDS 3 експедиције.....	69
4.5. Поређење методологије узорковања на реци Дунав – Ђердапски сектор (акумулација)	70
4.6. Поређење методологија узорковања у периоду ниских вода на реци Дунав - Ђердапски сектор (акумулација).....	71
4.7. Поређење методологија узорковања у периоду високих вода на реци Дунав - Ђердапски сектор (акумулација).....	74
4.8. Поређење методологија узорковања на реци Сави	78
4.9. Поређење методологија узорковања на рекама Неретви и Босни са притокама...	83
4.10. Анализа броја узорака потребних за истраживање и мониторинг	88
4.11. Ефикасност метода узорковања	89
5. ДИСКУСИЈА	91
5.1. Оптимизација методологије узорковања водених бескичмењака за водене екосистеме Србије	102
6. ЗАКЉУЧЦИ	105
7. ЛИТЕРАТУРА	107
8. ПРИЛОЗИ	122

СПИСАК ТАБЕЛА

Табела 1. Процена удела микростаништа на месту узорковања.....	21
Табела 2. Препоручени ниво идентификације према таксономским групама:.....	26
Табела 3. Препоручена скала релативне бројности према Csanyi, 2002.....	27
Табела 4. Резултати MW–U теста којим су поређена два сета параметара добијених анализом узорака узетих K&S метода и Sürber мрежом на брдско-планинским текућицама (црвено – статистички значајне вредности за $p<0,05$)	55
Табела 5. Резултати MW–U теста којим су поређена два сета параметара добијених анализом узорака узетих Air-lift/MHS/Multicorer и K&S/дреца - Дунав JDS 2 (црвено – статистички значајне вредности за $p<0,05$).....	63
Табела 6. Резултати MW–U теста којим су поређена два сета параметара добијених анализом узорака узетих K&S методом и дрецом - Дунав JDS 3 (црвено – статистички значајне вредности за $p<0,05$).....	68
Табела 7. Резултати MW–U теста којим су поређена два сета параметара добијених анализом узорака узетих K&S методом и Van Veen багером у периоду ниских вода (Дунав – „Ђердап”) (црвено – статистички значајне вредности за $p<0,05$).....	73
Табела 8. Резултати MW–U теста којим су поређена два сета параметара добијених анализом узорака узетих K&S методом и Van Veen багером у периоду високих вода (Дунав – „Ђердап”) (црвено – статистички значајне вредности за $p<0,05$).....	76
Табела 9. Резултати MW–U теста којим су поређена два сета параметара добијених анализом узорака узетих K&S методом са природне и вештачке подлоге на реци Сави (црвено – статистички значајне вредности за $p<0,05$).....	81
Табела 10. Резултати MW–U теста којим су поређена два сета параметара добијених анализом узорака узетих AQEM и K&S методама на рекама Неретва и Босна са притокама (црвено – статистички значајне вредности за $p<0,05$).....	86
Табела 11. Ефикасност прикупљања узорака код две тестиране методе узорковања.....	89

СПИСАК СЛИКА

Слика 1. Типови ручних бентолошких мрежа	11
Слика 2. Бентолошка дреца	12
Слика 3. Сита различитих промера окаца	13
Слика 4. а) <i>Sürber</i> мрежа б) <i>Hesse</i> мрежа	14
Слика 5. Типови бентолошких багера: а) <i>Van Veen</i> , б) <i>Eckman</i> в) <i>Peterson</i>	16
Слика 6. а) <i>Core</i> узорковач б) <i>multiple core</i> узорковач	18
Слика 7. <i>Air lift</i> узорковач, преузето и прилагођено према Rehofe, 1998.	19
Слика 8. Узорковање хидрауличним <i>polyp</i> багером са истраживачког брода Аргус.....	20
Слика 9. Пример одређивања микростаништа у теоријском истраживању локалитета према MHS методи.....	22
Слика 10. Опрема за одређивање подузорка - <i>Sub-sampler</i>	24
Слика 11. Пример узимања подузорака са свих доступних станишта са једног локалитета.....	47
Слика 12. Различити типови супстрата узорковани дрецом током JDS 3 истраживања	48
Слика 13. Приказ просечног броја таксона унутар група макробескичмењака прикупљених K&S методом и <i>Sürber</i> мрежом	53
Слика 14. Просечан број индивидуа унутар група макробескичмењака прикупљених K&S методом и <i>Sürber</i> мрежом	54
Слика 15. Број таксона унутар група макробескичмењака прикупљених K&S методом, дрецом и хидрауличним <i>polyp</i> багером (ADS 1-2).....	57
Слика 16. Број идивидуа унутар група макробескичмењака прикупљених K&S методом, дрецом и хидрауличним <i>polyp</i> багером (ADS 1-2).....	57
Слика 17. Број таксона унутар група макробескичмењака прикупљених K&S методом и хидрауличним <i>polyp</i> багером (ADS 1-18)	58
Слика 18. Укупан број таксона у узорцима прикупљеним K&S методом и хидрауличним <i>polyp</i> багером (ADS 1-18)	59
Слика 19. Број идивидуа унутар најзаступљенијих група макробескичмењака прикупљених K&S методом и хидрауличним <i>polyp</i> багером (ADS 1-18).....	60
Слика 20. Број таксона унутар инсекатских група макробескичмењака прикупљених K&S методом и хидрауличним <i>polyp</i> багером (ADS 1-18)	60

Слика 21. Укупан број таксона у узорцима прикупљеним К&S/дреца и <i>Air-lift</i> /MHS/ <i>Multicorer</i> методама (JDS 2).....	61
Слика 22. Број таксона унутар најзаступљенијих група макробескичмењака прикупљених К&S/дреца и <i>Air-lift</i> /MHS/ <i>Multicorer</i> методама (JDS 2).....	62
Слика 23. Број индивидуа унутар најзаступљенијих група макробескичмењака прикупљених К&S/дреца и <i>Air-lift</i> /MHS/ <i>Multicorer</i> методама (JDS 2).....	63
Слика 24. Укупан број таксона у узорцима прикупљеним К&S методом и дрецом.....	66
(JDS 3).....	66
Слика 25. Број таксона унутар најзаступљенијих група макробескичмењака прикупљених К&S методом и дрецом (JDS 3).....	66
Слика 26. Укупан број индивидуа у узорцима прикупљеним К&S методом и дрецом (JDS 3).....	67
Слика 27. Број индивидуа унутар најзаступљенијих група макробескичмењака прикупљених К&S методом и дрецом (JDS 3).....	67
Слика 28. Приказ поређења резултата добијених различитим методама узорковања током JDS2 и JDS 3 истраживања	70
Слика 29. Укупан број таксона у узорцима прикупљеним К&S методом и <i>Van Veen</i> багером у периоду ниских вода (Дунав – Ђердап)	71
Слика 30. Број таксона унутар група макробескичмењака у узорцима прикупљеним К&S методом и <i>Van Veen</i> багером у периоду ниских вода (Дунав – Ђердап).....	72
Слика 31. Број индивидуа унутар група макробескичмењака у узорцима прикупљеним К&S методом и <i>Van Veen</i> багером у периоду ниских вода (Дунав – „Ђердап”)	72
Слика 32. Укупан број таксона у узорцима прикупљеним К&S методом и <i>Van Veen</i> багером у периоду високих вода (Дунав – „Ђердап”).....	75
Слика 33. Број таксона унутар група макробескичмењака у узорцима прикупљеним К&S методом и <i>Van Veen</i> багером у периоду високих вода (Дунав – „Ђердап”).....	75
Слика 34. Број индивидуа унутар група макробескичмењака у узорцима прикупљеним К&S методом и <i>Van Veen</i> багером у периоду високих вода (Дунав – „Ђердап”).....	76
Слика 35. Укупан број таксона унутар група макробескичмењака у узорцима прикупљеним К&S методом и <i>Van Veen</i> багером у периоду ниских и високих вода (Дунав – „Ђердап”)	78
Слика 36. Укупан број таксона у узорцима прикупљеним К&S методом на природној и вештачкој подлози (Сава).....	79

Слика 37. Број таксона унутар најбројнијих група макробескичмењака у узорцима прикупљеним K&S методом на природној и вештачкој подлози (Сава).....	80
Слика 38. Број индивидуа унутар најбројнијих група макробескичмењака у узорцима прикупљеним K&S методом на природној и вештачкој подлози (Сава).....	80
Слика 39. Укупан број таксона у узорцима прикупљеним K&S и AQEM методама (Неретва и Босна са притокама).....	84
Слика 40. Број таксона унутар група макробескичмењака у узорцима прикупљеним K&S и AQEM методама (Неретва и Босна са притокама)	85
Слика 41. Број индивидуа унутар група макробескичмењака у узорцима прикупљеним K&S и AQEM методама (Неретва и Босна са притокама)	86
Слика 42. Приказ кумулативног броја врста идентификованих у односу на број прикупљених узорака у горњем Дунаву	88

СПИСАК ПРИЛОГА

Прилог 1. Пример протокола за попуњавање на терену (JDS 2).....	123
Прилог 2. Списак литературе оја се користи за идентификацију водених бескичмењака у Одељењу за хидрокологију и заштиту вода (ИБИСС).....	127
Прилог 3. Локалитети узорковања у оквиру истраживаних водотокова, у периоду 2004-2016. Година.....	131

1. УВОД

Водени макробескичмењаци, су организми који, бар у једном делу животног циклуса, насељавају водене екосистеме (дно, детритус, макрофите, филаментозне алге) и који се могу захватити мрежом величине окца $\geq 200 \mu\text{m}$ (Rosenberg и Resh, 1993). Често се ова група организама поистовећује са макрзообентосом, међутим, термин водени макробескичмењаци тачније описује ову еколошку групу од термина макрзообентос, макрзообентон и фауна дна (Рауновић, 2007а), те ће у овом раду бити коришћен термин водени макробескичмењаци. Сматра се да су називи макрзообентос, макрзообентон, односно фауна дна, термини који се односе на организме који насељавају дно водених екосистема, док термин водени макробескичмењаци описује све бескичмењаке који насељавају водени екосистем, без обзира на микростаниште за које су везани, што подразумева и неустон (организме који насељавају површину воде), бентос (организме који насељавају дно) и епифлорал (организме који насељавају субмерзну вегетацију).

Водени макробескичмењаци обухватају више фаунистичко-еколошких група организама различитих форми, од којих су најчешће: Insecta - Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera, Odonata, Coleoptera, Diptera, Heteroptera, Megaloptera и Neuroptera; Annelida - Oligochaeta, Hirudinea и Polychaeta; Mollusca - Bivalvia и Gastropoda; Platyhelminthes - Turbellaria; Crustacea - Isopoda, Mysida, Amphipoda и Decapoda као и неке мање честе и абундантне групе - Nematoda, Hydracarina, Collembola, Porifera.

Распрострањеност макробескичмењака у рекама одликује се релативно правилним променама квалитативног сатава заједнице и њене биомасе, а карактер тих промена разликује се од типа реке и еколошких прилика у самом екосистему (Simić и Simić, 2009).

Сам извор текућица, креон, сматра се посебном целином. Одликује се стабилношћу већине еколошких фактора. Заједница макробескичмењака извора састављена је од оксифилних и хладностенотермних представника (Simić и Simić, 2009). Детаљан преглед заједнице макробескичмењака у изворима Србије даје Marković (1998). На основу обимних истраживања макробескичмењака извора и изворишних делова текућица Србије, Marković (1998) закључује да се велики број испитиваних станишта одликује специфичним заједницама. Исти аутор истиче већу међусобну сличност кречњачких врела у односу на изворе са другим типовима геолошке подлоге. Његов закључак је да структура макробескичмењака испитиваних изворских екосистема највише зависи од типа супстрата, температуре воде и количине раствореног кисеоника.

Подручје ритрона насељено је углавном реофилним животињским формама макробескичмењака. Горње делове речних токова насељавају пре свега ларве различитих врста инсеката. На већим надморским висинама поред ларви инсеката, среће се и велики број представника амфиподних ракова, који преферирају реке са већим садржајем кречњака. Marković и сар. (1997) се баве питањем разлика изворске и поточне фауне макробескичмењака на територији Србије и разматрају факторе који утичу на трансформацију типа ове заједнице, што пружа драгоцене податке за типологију текућих вода. У средњим и доњим деловима ритрона такође су најбројније ларве инсеката, али се могу уочити и представници других група као што су Turbellaria, Gastropoda, Crustacea, Oligochaeta (Simić и Simić, 2009). Већина поменутих група организама прилагођена је на велику брзину воде, камениту подлогу, релативно ниску температуру и високу концентрацију кисеоника. Морфолошке, анатомске и физиолошке адаптације представника макробескичмењака на поменуте еколошке услове су специфичне, а нарочито се истичу адаптације које омогућавају опстанак у јакој струји воде. Тело неких организама је дорзовентрално спљоштено, а на рубовима често проширено, због приснијег контакта са подлогом (нпр. Plecoptera и Ephemeroptera). Осим тога, неке врсте луче слуз (Turbellaria) која им помаже у приљубљивању за подлогу. Код неких врста макробескичмењака јавља се разлика у величини плоча за приљубљивање за подлогу у односу на остали део тела (*Lymnaea* sp., *Ancylus fluviatilis*). Врсте које живе у најјачој струји воде поседују делове тела или посебне органе за качење и/или причвршћивање за подлогу или биљке и тиме се штите од одношења (Plecoptera, Ephemeroptera, Trichoptera, Diptera, Coleoptera). Неке врсте ларви Trichoptera изграђују кућице од различитог материјала, а неке излучују посебну лепљиву материју којом кућицу причвршћују за подлогу. Поједини представници макробескичмењака се од брзих водених струја штите пасивно, користећи камење као заклон.

Брзина струјања воде утиче и на низ адаптација везаних за исхрану макробескичмењака који живе у таквим условима. На основу типа хране коју конзумирају, грађе усног апарата и понашања при храњењу можемо разликовати неколико функционалних типова исхране (кидачи, сакупљачи, стругачи и предатори). Одређивање функционалних типова исхране је добар индикатор квалитета копнених вода (Compin и Cereghino, 2007). Врсте макробескичмењака које грицкају или кидају обраштај имају добро развијен усни апарат. Код других представника су усни апарат и први пар екстремитета снабдевени длачицама и прилагођени су за стругање и

филтрирање хранљивих честица, или су прилагођени за активно хватање плена. Код слабо покретљивих, и представника причвршћених за подлогу постоје посебно развијени органи у виду финих разгранатих продужетака на екстремитетима и/или антенама који задржавају хранљиве честице које носи вода, док неке изграђују мреже за лов (ларве Trichoptera).

Еколошки услови у рекама потамонског типа (смањена брзина воде, мекано дно, нижа концентрација кисеоника, изражена колебања температуре воде и количине кисеоника) одражавају се на присуство другачијих форми макробескичмењака, са другачијим адаптацијама у односу на ритронске форме (Simić и Simić, 2009). Тип подлоге, као што је муљ, песак, наслаге финог детритуса, условљавају доминацију црволикх форми из групе Oligochaeta (Tubificidae) и ларви Chironomidae (Diptera). Квалитативни састав ове заједнице условљен је количином хране и кисеоника. Представници црвених Chironomidae (Diptera) мањак кисеоника надокнађују поседовањем посебне врсте хемоглобина у крвном ткиву, који им омогућава ефикасније везивање и искоришћавање мале количине кисеоника. Представници других група као што су Ephemeroptera, Odonata, Amphipoda и Gastropoda срећу се на местима јачег струјања воде, каменитој и шљунковитој подлози. Каменито-песковиту и песковито-муљевиту подлогу насељавају представници Bivalvia (Unionida) и Gastropoda из родова *Theodoxus*, *Lithoglyphus*, *Bythinia*. Станишта богата детритусом, која су често обрасла макровегетацијом, карактеришу се присуством Amphipoda, Hydracarina, Oligochaeta, Gastropoda (*Viviparus* sp., *Lymnaea* sp., *Planorbis* sp.), Hirudinea, ларви Trichoptera и Odonata. Представници Ephemeroptera и Odonata имају добро развијене и разгранате шкрге за усвајање кисеоника. Због смањене брзине воде таложе се велике количине седимента те многи претставници имају развијене адаптације које их штите од засипања овим честицама.

Проучавање макроинвертебрата једна је од централних тема хидроекологије (Allan, 1995). Према Wallace и Webster (1996) макроинвертебрате представљају значајне карике у ланцу исхране, као и извор хране за многе врсте риба. Могу имати значајан утицај на кружење нутријената, примарну продукцију, декомпозицију и транслокацију материја.

Заједнице водених макроинвертебрата имају особине које их сврставају у добре и поуздане показатеље промена еколошких услова који владају и сукцесивно се мењају у акватичном екосистему. За разлику од хемијских параметара квалитета воде који

представљају показатеље тренутног стања у екосистему, ове заједнице својом структуром показују тренд промена.

Мерење физичких и хемијских параметара воде даје слику о тренутном загађењу, али оно мора бити комбиновано са биомониторингом, јер живи свет акватичних екосистема одсликава кумулативно и истовремено дејство свих еколошких фактора, чије промене некада нису довољне јачине и учесталости да би могле бити регистроване методама аналитичке хемије.

Заједнице акватичних макроинвертебрата су најчешће коришћене у биомониторинг програмима (Rosenberg и Resh, 1993), иако су историјски гледано, прве биолошке процене квалитета вода биле засноване на планктонској заједници као индикатору (углавном у оквиру сапробних система). Таква пракса одржала се најдуже у земљама централне Европе. Осим макроинвертебрата и планктонских заједница, организми који се данас, мање или више успешно, користе у оквиру биолошких мониторинга су: макрофите, фитобентос, перифитонске заједнице и ихтиофауна. Како Rosenberg и Resh (1993) наводе за ово постоје два разлога, и то су - биолошке карактеристике група/врста и практични (технички) разлози.

Од биолошких карактеристика могу се издвојити: слаба покретљивост већине организама, дуг животни циклус у поређењу са другим групама водених организама, осетљивост великог броја таксона на факторе средине, широко распрострањење ове групе хидробионата као и сразмерно велики број врста акватичних макроинвертебрата. У основи, слаба покретљивост ових организама омогућава анализу утицаја фактора средине и стреса, у простору, док релативно дугачак животни циклус обезбеђује испитивање промена које, као последица промена у окружењу, настају у времену. Квалитативно богатство водених макробескичмењака омогућава праћење спектра одговора на утицај средине, док широка распрострањеност и еуривалентност појединих организама дозвољава анализу утицаја фактора окружења у простору – омогућава анализу у различитим типовима акватичних екосистема и стаништима у оквиру њих.

Практични (технички) разлози, који подржавају тренд интензивног коришћења макроинвертебрата у примењеној хидробиологији су методолошке природе. Прикупљање узорака врши се коришћењем једноставне, релативно јефтине опреме. Таксономија већине група добро је проучена, а кључеви за детерминацију су, у већини случајева, бројни и доступни (Рауповић, 2007а). Методе у којима се водени бескичмењаци користе у истраживању унапређују се и имају висок степен поузданости.

Одговори појединих организама на факторе средине, као што су тип и интензитет стреса, су специфични и прецизно дефинисани у појединим случајевима.

Тешкоће које се јављају приликом истраживања водених макроинвертебрата везане су за сложену и дуготрајну детерминацију појединих таксона; постоји потреба за релативно великим бројем проба; резултати могу бити непоуздани услед комбинованог деловања притисака; карактеристичан склоп еколошких услова на дну и у доњим слојевима водених екосистема може се битно разликовати од услова у слободној води - утицај карактеристика подлоге је доминантан; велики је број микростаништа која се битно разликују у карактеристичном саставу заједница и отпорности на загађење. Док се физички и хемијски параметри могу изразити као апсолутне вредности, то је често није могуће са биолошким подацима (Guhl, 1987).

Оквирна директива о водама – ОДВ, Еевропске Уније (WFD 2000/60/EC) прописује оквире у области уређења и праћења квалитета воде, уважавањем принципа одрживог развоја и интегралног управљања водама, са циљем да се постигне добар статус свих водних тела на територији ЕУ у року од 15 година (до 2015. године). Анекс V посебно истиче следеће биолошке параметре за класификацију еколошког статуса река: састав и богатство водене флоре, састав и богатство фауне водених макробескичмењака и састав, богатство и старост фауне риба. Као општи физичко-хемијски елементи који прате биолошке елементе наводе се: температура, кисеонични режим, салинитет, концентрација нутријената и рН вредност. Трећа група параметара еколошког статуса обухвата хидроморфолошке елементе, односно параметре који одражавају ниво физичке деградације воденог екосистема, укључујући корито, обале и ободни појас и плавну зону. На основу биолошког, физичко-хемијског и мониторинга хидроморфолошког стања, површинске воде је могуће окарактерисати неким од следећих еколошких статуса/потенцијала: одличан (I), добар (II), умерен (III), слаб (IV) и лош (V) статус/потенцијал (Službeni glasnik, 2011).

Прегледом стања примене ОДВ у европским земљама, при чему је акценат стављен на подунавске државе, уочено је да су, у већини случајева, водени макробескичмењаци коришћени као примарни типолошки биолошки елемент, као и да су референтни услови засновани, углавном, на истраживањима поменуте групе хидробионата.

Основни циљ ОДВ је постизање доброг статуса површинских водних тела што означава добар еколошки и добар хемијски статус. За дефинисање еколошког статуса, неопходно је одредити услове и границе класа за све изабране елементе биолошког

квалитета, али да оне такође подржавају физичко-хемијске, хемијске и хидроморфолошке елементе. Неопходно је прикупити детаљне информације о елементима биолошког квалитета и пратећим елементима да би се проценио еколошки статус, пружили подаци о природним/референтним условима, неизмењеним или приближно неизмењеним условима, као и подаци о различитом степену њихових промена, како би се указало на значај антропогеног утицаја. Претходно поменуте информације се могу обезбедити једино детаљним и добро припремљеним планом мониторинга.

Програм мониторинга треба да садржи важне тип специфичне биолошке елементе квалитета и остале пратеће елементе као што су методе узорковања, анализе и процене статуса. Елементи биолошког квалитета дефинисани су саставом таксона, саставом и бројношћу врста и морају реаговати на важне притиске/стресоре. Све ове карактеристике трансформисане су у форму параметара/индекса. На основу параметара за процену еколошког статуса, у различитим европским земљама, користи се мултипараметарски приступ, или анализа појединачних параметара.

Тип-специфична процена еколошког статуса заснива се на одређеним параметрима који се тичу референтних, неизмењених структура заједница (WFD 2000/60/EC). Најважнији захтев за тачно дефинисање оваквих услова је поседовање података који се односе на оне локалитете, у сваком типу водног тела, у којима одсуствује антропогени утицај, или је он минималан. Процена треба истовремено да буде тип-специфична и стресор-специфична.

1.1. Преглед доступних техника прикупљања материјала за изучавање водених макробескичмењака

Историја модерног биомониторинга почиње у Европи у двадесетом веку, у време интензивног развоја примењене биологије, када су постале доступне ефикасне и добро осмишљене методе биолошке оцене квалитета животне средине. То је, уједно, и период интензивног негативног дејства људске популације на природне екосистеме.

Концепт биолошких индикатора потиче од Kolkwitza и Marssona (1908, 1909) који су развили идеју сапробности (степен загађења) у рекама као меру степена контаминације органским материјама (првенствено отпадним водама) и смањење раствореног кисеоника. Сапробни систем проширен је и ревидиран више пута од стране

европских научника (Kolkwitz, 1950; Liebmann, 1951, 1962; Fjordingstad, 1965; Sladecsek, 1965, 1973; Bick, 1971; Foissner, 1988).

На ову тему надовезује се и проблематика начина узорковања водених макробескичмењака, о којој су дискутовали многи аутори још 60-их и 70-их година прошлог века (Macan, 1958; Cummins, 1962; Mundie, 1971; Hynes, 1971; Mason, 1976; Merritt и сар., 1978; Resh, 1979; Waters и Resh, 1979).

Савремена истраживања у Европи везана су за преглед и проналажење функционалних метода узорковања макробескичмењака, а у циљу примене ОДВ. Ефикасност узорковања макробескичмењака и стандардизација методологије интензивно је проучавана (De Pauw и сар., 1986; Resh и McElravy 1993; Resh и сар. 1995; Buffagni 2001; Davies и Tsomides, 2002; García-Criado и Trigal 2005; Birk и сар. 2012a), али ипак ово питање остаје отворено, нарочито у погледу неких типова водних тела - велике равничарске реке (Graf и сар., 2015). Birk и сар. (2012b) дају предлог више начина за процену квалитета површинских вода на територији Европе, као и преглед биолошких метода које се тренутно користе.

Због разноврсности водених екосистема и динамике популација различитих организама у њима (дневне, сезонске, просторне), понекад је веома тешко прикупити поуздане податке потребне за праћење и истраживање поменутих екосистема, нарочито великих река.

У зависности од тога да ли је циљ студије праћење квалитета воде и еколошког статуса, или истраживање, односно анализа диверзитета и/или функционалности екосистема, постоје различити приступи узорковању и прикупљању додатних података (подаци о локалитетима узорковања, пратећи физичко-хемијски параметри и оцена хидроморфолошког статуса локалитета узорковања и сектора истраживања). Треба напоменути да ограничени ресурси за мониторинг и примењена истраживања (недостатак финансијских и стручних ресурса) захтевају да се одреди ефикасна методологија за прикупљање биолошких узорака. Примењена истраживања зависе од расположивих финансијских средстава и научног циља.

Протоколи за прикупљање података који „подржавају“ биолошке елементе квалитета/статуса, нису стандардизовани и потребно је увести хармонизован приступ, због могућности поређења података.

Коришћење макробескичмењака у биолошком мониторингу обухвата следеће кораке:

1. Прикупљање материјала:

- избор одговарајућих локалитета узорковања,
- процедура узорковања,

2. Обрада материјала:

- третман узорака,
- идентификација и чување организама,

3. Анализа резултата:

- унос података,
- методе процене еколошког статуса.

1.1.1. Прикупљање материјала

1.1.1.2. Избор одговарајућих локалитета узорковања

Место узорковања дефинише се тек након обиласка терена. Само се на лицу места може проценити да ли је неко место узорковања репрезентативно за део водног тела које треба испитати, тј. да ли представља општи квалитет водног тела. Узорковање у близини специфичних техничких објеката (мостова, преграда, обалоутврда, брана) треба избегавати, уколико другачије није дефинисано у циљевима истраживања. Ови објекти утичу на промене услова подлоге и брзину тока, што може имати за последицу измењен састав заједнице макробескичмењака, који није репрезентативан за дато водно тело. Узорковањем на једном месту, нарочито код већих текућих вода, не могу се добити потпуне информације о својствима целокупног тока, тако да је неопходно одредити неколико тачака узорковања узводно од ушћа (минимум три - извор, средњи део тока, ушће). Узорци не би требало да се узимају за време, или непосредно после поплава, већ четири до шест недеља након тога, као и за време или непосредно после суше.

Након избора локалитета требало би документовати места узорковања фотографисањем и текстуалним описом у теренском дневнику, као и одређивањем координата помоћу *GPS* уређаја. Неопходно је припремити опрему за узорковање, калибрисати уређаје за мерење температуре, кисеоника, рН вредности и проводљивости, припремити хемикалије за конзервирање узорака и расхладну технику

за њихов транспорт, одабрати посуде за узорке према материјалу који се узоркује и трајно их обележити.

Записник треба водити за свако узорковање. Поред датума и времена узорковања, у теренски дневник треба забележити сва запажања током узорковања, као и резултате мерења свих параметара. Услови и појаве које могу бити значајне за каснију интерпретацију резултата, као нпр. временски услови, супстрат, морају се такође унети у записник. Сврсисходно је да записник буде допуњен фотографијама локалитета.

Још један од услова за успешан рад на терену је коришћење ефикасног и прецизног протокола који садржи четири радне стране за попуњавање података (прилог 1), у који се уписују подаци о локалитету и процедури узорковања. Употреба протокола омогућава добијање упоредивих података са различитих локалитета од стране различитих тимова.

Адекватно обележавање веома је важан део узорковања. Препоручује се обележавање са спољашње стране амбалаже, као и убацивање папирне ознаке у узорак. Обележавање може да се обави на лицу места помоћу перманентног маркера, или на папирним етикетама. Ако се обележава на папирној етикети, препоручује се да се покрије провидном траком. Ознаке које иду у сам узорак се пишу графитном оловком на папиру високог квалитета.

Етикета треба да садржи основне информације о узорку као што су:

- Датум,
- Име реке,
- Име локалитета,
- Број узорка/локалитета.

Ефикасно и стандардизовано прикупљање биолошког матерјала неопходно је за добијање репрезентативних узорака, што обезбеђује поредивост података и квалитетан систем процене статуса/потенцијала. Узимање узорка представља кључни корак приликом спровођења истраживања. Треба истаћи да су други кораци у мониторингу дискутабилни без примене адекватне процедуре узорковања.

Издавају се три основне групе метода узорковања:

- Квалитативне,
- Семиквантитативне,
- Квантитативне.

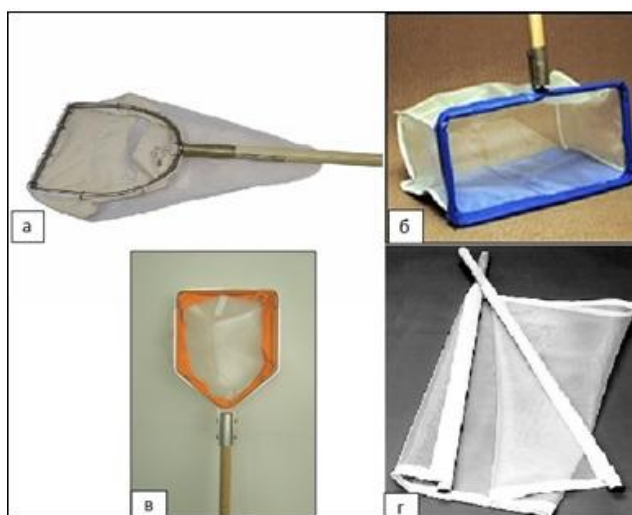
1.1.2. Процедура узорковања

1.1.2.1. Квалитативне методе узорковања

Квалитативним методама прикупљају се узорци са супстрата чија површина није дефинисана. Обрадом ових узорака добијају се подаци о квалитативном саставу заједнице - броју присутних врста и донекле о њиховом бројном односу у узорку.

За прикупљање квалитативних узорака користе се:

Ручне бентолошке мреже: мрежа облика слова Д - енгл. *D frame net* (димензија 30x30 cm), четвороугаона мрежа (димензија 30x50 cm), британска ручна мрежа (енгл. *British FBA pond net*) и *kick-net* мреже (димензија 1x1 m) (слика 1),



Слика 1. Типови ручних бентолошких мрежа а) мрежа облика слова Д б) четвороугаона мрежа в) британска ручна мрежа г) kick-net мрежа.

Узорковање ручном мрежом почиње на низводном крају сектора и наставља се узводно. Приликом узорковања, мрежу треба држати управно на ток струје, низводно од стопала. Подизање материјала са подлоге врши се жустрим покретима ногу, забацивањем ногу уназад или ротирајућим покретима пете чизмама да би се фауна ослободила из супстрата слоја дебљине 10-15 cm и сакупила у мрежу која је оријентисана у правцу воденог тока. Крупнији материјал (веће камење, облаци, остаци биљака и др.) се пре одстрањивања из мреже мора испрати, како би се одвојили прилепљени организми. Површину меког седимента и fine органске материје треба узорковати лаганим повлачењем ручне мреже кроз површину 2-5 cm супстрата. За узорковање седимента у спором току, супстрат се може подићи стварањем струје покретима руку. Максимална дубина узоркованог дна је 15 cm у случају већег камења и неколико cm у случају дна са финим материјалом.

Бентолошке дреце: узимање узорака дрецом пружа информације о дистрибуцији организама дуж попречног пресека речног корита у дубљим деловима реке.

Дреца се састоји од металног, троугластог, назубљеног оквира на који се надовезује мрежа промера окаца 500 μm (слика 2). Узорковање дрецом обавља се уз помоћ моторог чамца.



Слика 2. Бентолошка дреца (преузето и прилагођено према www.icpdr.org/main/activities-projects/jds3).

Повлачење дреце врши се узводно. Прва 2 m канапа за повлачења су од тешког гвозденог ланца, како би се обезбедио хоризонталан положај и стаалан контакт отвора дреце са дном. Треба се трудити да се угао конопца одржи на мање од 25° у току

узорковања, јер се овако оријентисаном дрецом најефикасније прикупља материјал са дна.

Узоркован материјал се одлаже у канте. Обично се сакупи по 10 литара материјала. Теоретски, подаци добијени узорковањем дрецом се могу сматрати семи-квантитативним: троугласти метални оквир дреце дебљине 5m и ширине 25 cm обезбедиће узорак запремине 10 литара ако се дрца вуче око 80cm по дну реке. Ова површина ($25 \times 80 \text{ cm}^2$) представља $0,2 \text{ m}^2$. Појединчни узорак помножен са пет даје број индивидуа по метру квадратном. Узорковање се врши на дубинама већим од 1,5 m.

Сита различитих промера окаца (100 μm , 250 μm , 500 μm , 950 μm) при чему се узорковање врши директним прикупљањем материјала у сита (слика 3).



Слика 3. Сита различитих промера окаца (преузето и прилагођено према <https://encryptedtbn2.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcT8nWFei9KwVVJ4mN8DnbfJNm2jHmw0IvUXHFtIsSp5n4AiHrhqQ>).

1.1.2.2. Семиквантитативне методе

Семиквантитативне методе подразумевају коришћење исте опреме као и за квалитативно узорковање, с тим што се врши стандардизација прикупљања података и то:

- дефинисањем временског интервала узорковања,
- дефинисањем дужине трансекта,
- коришћењем истог “напора узорковања” (енгл. *the same “sampling effort”*).

1.1.2.3. Квантитативне технике

Квантитативне технике подразумевају прикупљање узорака са дефинисане површине, тако да резултати могу бити изражени као број индивидуа или биомаса по јединици запремине или површине. За прикупљање квантитативних узорака користи се неколико типова алата:

Мреже:

- *Sürber* мрежа: мала - димензије 300 cm^2 (фактор за прерачунавање на m^2 је 33,33) и велика - димензије 1000 cm^2 (фактор за прерачунавање на m^2 је 10) (слика 4),
- *Hesse* мрежа - слична као *Sürber*, може бити различитих димензија, од *Sürber* мреже се разликује по томе што има додаток на раму који спречава улазак организама донесених воденом струјом у мрежу (слика 4),



Слика 4. а) *Sürber* мрежа б) *Hesse* мрежа (преузето и прилагођено према

http://www.coleparmer.com/Product/Wildco_Hess_Stream_Bottom_Sampler_500_um_EPA_Net/EW-05491-24).

Sürber мрежа се користи за узорковање водених макробескичмењака у плитким, текућим водама. Вода која тече носи организме у мрежу, због тога су за овај узорковач неопходне специфична дубина и брзина воде да би се узорковање обавило правилно. Узорковачи различитих величина специфични су за одређене услове (мреже већих димензија могу да се користе у дубљим областима, док мреже мањих димензија понекад боље функционишу у плитким токовима са малом брзином воде). *Sürber* мрежа се поставља на местима где је дубина тока једнака или нижа од самог узорковача, а брзина воде таква да организме носи у мрежу. База узорковача се зарађана у подлогу

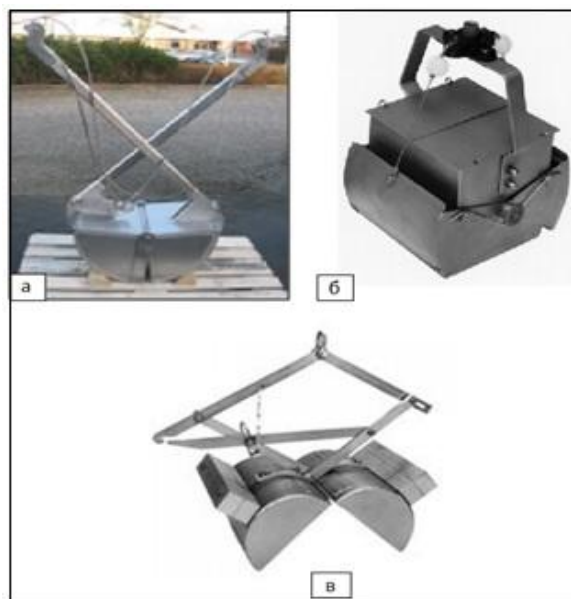
да би сви организми који су се нашли унутар оквира узорковача били прикупљени у мрежу и узорак био репрезентативан за дату површину оквира (слика 4). Прво се са већег камења, уколико се нађе унутар рама узорковача, ручно, пинцетом или четкицом скидају организми и убацују у мрежу (најефикасније је то радити унутар мреже узорковача). Након одстрањивања крупнијег камења, подручије унутар оквира са ситнијим супстратом помера се рукама или неким алатом. Овако узет узорак обезбеђује податке о квантитативном саставу заједнице множењем добијене бројности у узорку горе наведеним коефицијентом.

Стајаће воде не узоркују се овом врстом узорковача. Такође, врло плитки, споро текући делови потока (често се налазе у изворишним деловима река) не би требало узорковати овим узорковачем. Алтернативна квантитативна метода за узорковање поменутих типова вода је *Hesse* мрежа (Merritt и сар., 1996).

Подручја са крупнијим супстратом захтевају или веће *Sürber* мреже или друге методе узорковања.

Бентолошки багери, од којих су најпознатији:

- *Van Veen* - захватна површина 270 cm^2 (фактор за прерачунавање на m^2 је 37) (слика 5а),
- *Eckman* - захватна површина 225 cm^2 (фактор за прерачунавање на m^2 је 44,44) (слика 5б),
- *Peterson* - захватна површина 400 cm^2 (фактор за прерачунавање на m^2 је 25) (слика 5в).



Слика 5. Типови бентолошких багера: а) *Van Veen*, б) *Eckman* (преузето

<http://www.dynamicaqua.com/samplingequipment.html#bottom>)

в) *Peterson* (преузето <http://www.geneq.com/en/environment/water/sampling-205/peterson-grab.html>).

Сви типови багера (слика 5) функционишу на исти начин. Пре спуштања у воду „вилнице“ багера се отворе и фиксирају. Багер, везан за кабл/конопац, спушта се полако у воду да се спречи прерано затварање (тешко је спуштати багер са чамца/брда у покрету јер је вода тада узбуркана). Остаци седимента на спољној страни затвореног и празног багера указују да је багер затворен прерано.

Постоје прорези у „вилнице“, тако да ваздух и вода могу да прођу док се багер спушта дуж воденог стуба. Чим багер дотакне дно, вода и ваздух се кроз прорезе ослободе. Када се багер повуче канапом, шипке уз помоћ ефекта полуге аутоматски затворе „вилнице“. Количина узорка углавном зависи од структуре подлоге.

Тежи багер узима већи узорак. Због тога су одређене верзије багера појачане теговима. Кабл има тежину да би смањило одступање од вертикалног спуштања у водама са јачим воденим струјама.

Препоручује се узимање најмање 5 узорака са сваког локалитета и на основу прикупљеног матерјала врши се анализа заједнице. Ово је посебно важно ако је на локалитету структура поллоге различита.

Упркос великој сили затварања, камен или други већи објекти могу да спрече потпуно затварање „вилнице“. У таквим случајевима узорак није репрезентативан. У овом случају мање компоненте узорка биће изгубљене док се багер вади из воде.

Садржај багера се убацује у кофу а редукција садржаја узорка врши се цеђењем кроз сита промера окаца 100 μ или 500 μm . За свако наредно узорковање багер треба испразнити и очистити.

Van Veen багер се првенствено користи за узорковање морског дна али је адаптиран и за слатководне екосистеме. Њиме се могу узорковати супстрати као што су песак, шљунак, муљ и глина. Урања у подлогу до дубине 5-7 cm. Предности овог узорковача је што се вилице добро затварају и постоји могућност узорковања са различитих типова супстрата. Недостатак је што је тежак и захтева велики чамац са јаком дизалицом.

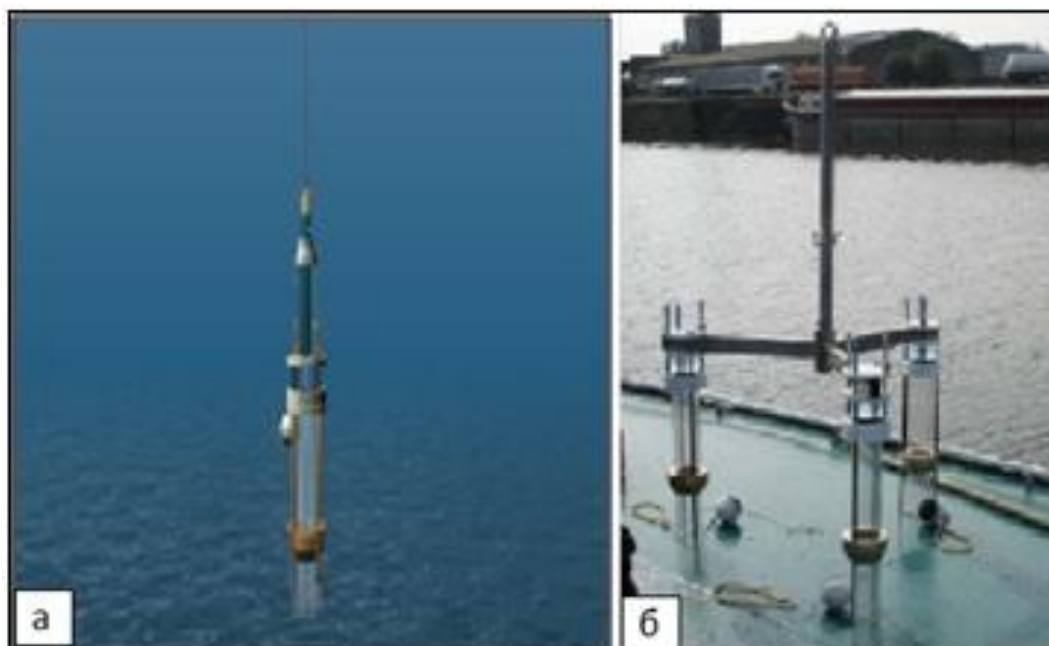
Eckman багер служи за прикупљање узорака из река, језера и акумулација које се одликују слабијим протоком и меканим седимент, као што су нечистоће и муљ. Овај узорковач је ефикасан само на меканом седименту али додатком тежине може дубље да продре у фини песак. Са њим се лако рукује без дизалице. Може се гурнути у супстрат у плићим водама, а врата са шаркама на врху спречавају испирање.

Опрема која се монтира на брод

Peterson багер служи за узорковање у рекама, језерима и акумулацијама са песковитим дном, шљунком и глином. Стандардни багер је тежак и захтева чамац са дизалицом. Ако се сувише брзо спусти на дно „вилице” се затворе прерано, тако да се дубље укопани организми не захвате, вилице се често лако блокирају детритусом и тако изазивају губитак дела узорка, међутим тешко се користи при неповољним временским условима.

Core узорковачи

Постоји више типова *Core* узорковача различитих димензија, а у новије време користе се уређаји који се састоје из више туба - *multiple core* узорковачи (енгл. *multiple core sampler*) (слика 6).

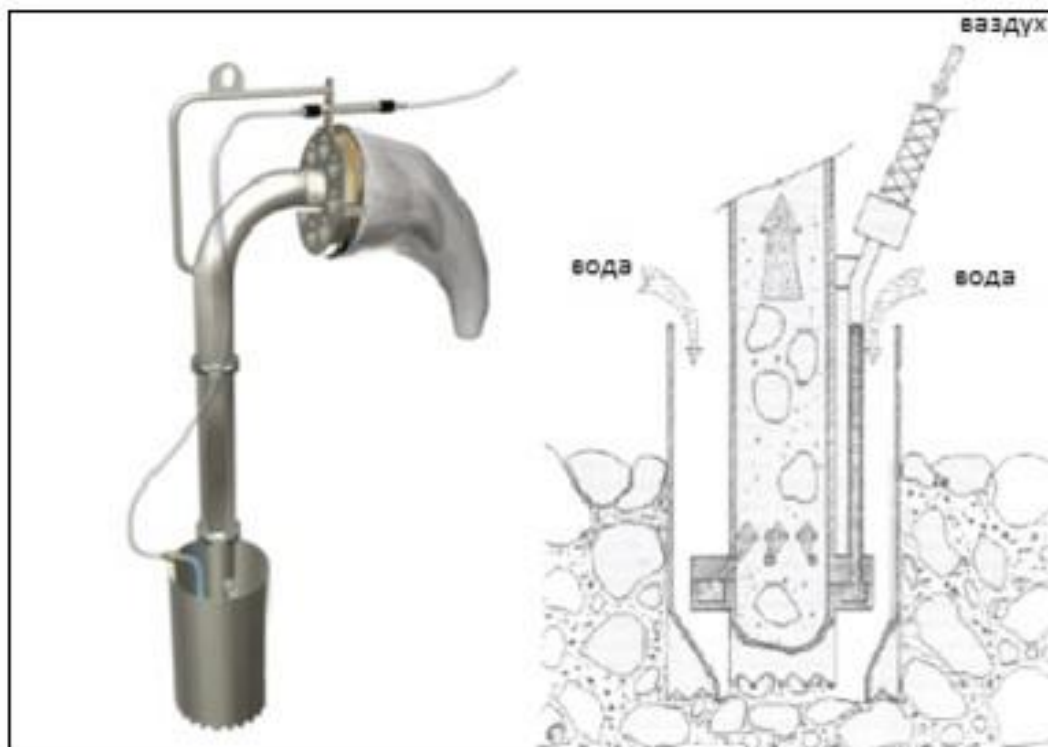


Слика 6. а) *Core* узорковач б) *multiple core* узорковач, преузето и прилагођено према [https://www.icpdr.org/jds/files/ICPDR Technical Report for web low corrected.pdf](https://www.icpdr.org/jds/files/ICPDR_Technical_Report_for_web_low_corrected.pdf).

Core узорковачи се користе за анализу вертикалне дистрибуције макробескичмењака који насељавају седимент. Ови узорковачи су тешки, што им омогућава да продру у наслагe седимента са лугом, отвореном цеви. Окидач затвара врх језгра цеви и задржава узорак који се извлачи на брод. Појединачна језгра *Core* узорковача се производе у различитим величинама у распону од 3 cm² до 855 cm². *Multiple corers* су дизајнирани да смање напор узорковања (Flannagan, 1970; Hamilton и сар., 1970; Nakala, 1971; Milbrink и Wiederholm, 1973; Carter, 1978). *Core* узорковаче треба лагано спуштати да би се смањио ефекат „повратног таласа”. Ова метода је ефикасна за узорковање на местима са финим наносом седимента.

Air lift узорковач

Air lift узорковач продире 20-25cm у подлогу. Површина коју захвата обично је 415 cm², а маса узорка око 14 kg. Пумпа убризгава компресовани ваздух на дно испустне цеви која је уроњен у подлогу (Rehofer, 1998). Компресовани ваздух се меша са садржајем унутар цеви и чини да ова смеша буде мање густа од супстрата око цеви, што омогућава да се диже навише (слика 7). Прикупљени узорци пропуштају се кроз сита промера окаца 100µm.



Слика 7. *Air lift* узорковач, преузето и прилагођено према Pehofer, 1998.

Овом методом узорковања забележена је већа абундантност водених макробескичмењака за разлику од других доступних метода за узорковање дубоких и брзо текућих вода (багери и *freeze corers* узорковачи), иако фини седимент брзо може довести до блокирања и пуцања колекторске тубе, посебно ако је величина промера оцаца мала (Pehofer, 1998). *Air lift* метода је мање подложна утицају људског фактора у односу на друге методе, па самим тим даје боље резултате за поређење, а и варијабилност унутар узорака је смањена у односу на друге методе узорковања дубоких вода (Neale и сар., 2006).

Хидраулични „*polyp*” багер



Слика 8. Узорковање хидрауличним *polyp* багером са истраживачког брода Аргус, преузето и прилагођено према Рауновић, 2007.

Метода узорковања помоћу хидрауличног *polyp* багера врши се са брода, у областима где се у обалском региону налази велико камење (слика 8). Извучено камење се добро и пажљиво испира. Организми и чврсти отпаци сакупљају се у сито промера окаца 500 μm .

1.1.2. Стандардна методологија узорковања

Поуздана, стандардизована процедура узорковања је основа ефикасног програма мониторинга. Циљ сакупљања података о абунданци у заједници макробескичмењака на нивоу врста је, слично као и за друге биолошке елементе, да се омогући процена еколошког статуса водних тела током ОДВ - комплементарног мониторинга, што даје оквир за ефикасан менаџмент речних токова.

Методу узорковања водених бескичмењака у текућим и стајаћим водама се разликују. Њихово праћење одређено је међународним стандардом EN 27828: 1998.

Према европском систему за процену еколошког квалитета река и потока на основу заједнице макробескичмењака (енгл. *Assessment System for the Ecological Quality of Streams Rivers throughout Europe using Benthic Macroinvertebrates - AQEM*) узорковање са свих доступних станишта (енгл. *Multihabitat sampling, MHS*) је препоручена и добро

развијена метода за узорковања малих река и река средње величине које се могу прегазити. Ова метода је предложена и за велике, и веома велике реке, али је узорковање ограничено на обалну зону до 1,5m дубине. MHS методологија је заснована на протоколу за брзу процену (енгл. *Rapid Bioassessment Protocols*) (Barbour и сар., 1999), процедури агенције за животну средину Енглеске и Велса (енгл. *Environment Agency of England and Wales*) (Murray-Bligh, 1999), аустријском протоколу за процену сапробиолошког квалитета река и потока (енгл. *Austrian Guidelines for the Assessment of the Saprobiological Water Quality of Rivers and Streams*) (Moog и сар., 1999), ISO 7828, AQEM протоколу (AQEM Consortium, 2002), AQEM и STAR протоколу за локалитете (AQEM & STAR site protocol, 2002), немачкој методологији као што је описано на www.fliessgewaesserbewertung.de и на аустријским стандардима (Austrian Standards M 6119-2).

Узорковање у великим и веома великим рекама (које одликују дубоке зоне које не могу да се прегазе) још увек није усклађено на европском нивоу. Овај методолошки проблем разматран је од стране ECOSTAT и стручне групе за интеркалибрацију за велике реке (енгл. *Intercalibration Expert Group for Large Rivers*) из два угла: (1) методе узорковања и (2) опрема за процену еколошког статуса, код које је проблем у постављању референтних услова у сливовима великих низијских река.

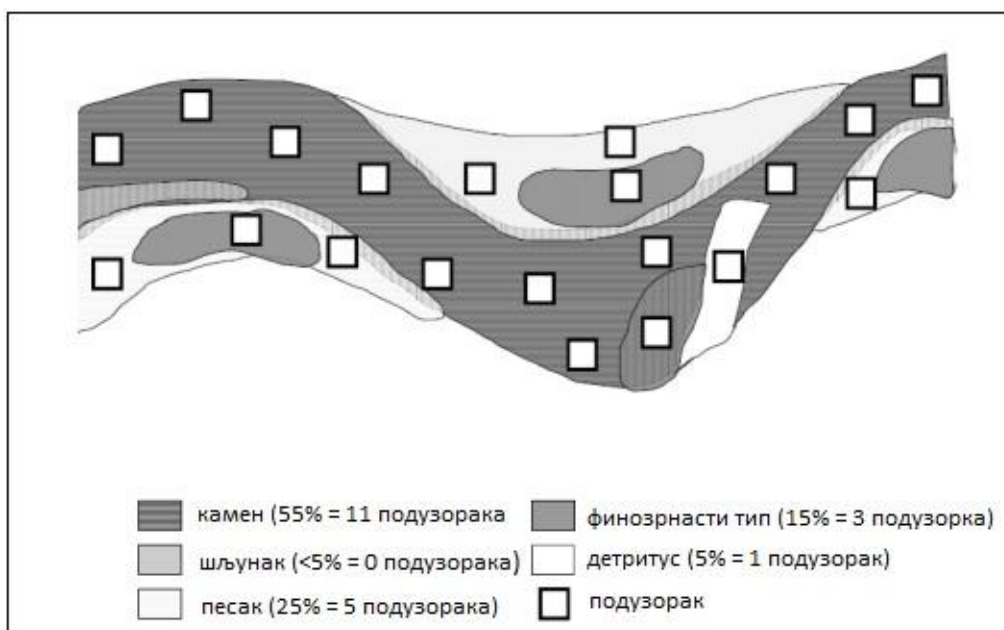
Пре узорковања треба урадити детаљну процену удела типова супстрата (станишта) према табели 1.

Табела 1. Процена удела микростаништа на месту узорковања

Фракција/тип микрохабитата	Величина доминантних честица/елемената
крупан камен/блокови	> 40 cm
камен облутак	20 – 40 cm
шљунак	6-20 cm
крупнији песак	2-6 cm
песак	0,2-2 cm
муљ	6µm-0,2cm
глина	<6 µm
алге, маховина, макрофите	биљке
детритус	органски остаци

Након процене, потребно је одредити број подузорака према процентуалном уделу релевантних микростаништа. Један подузорак треба да се узме за сваких 5% покривености, укупно 20 подузорака треба распоредити дуж сектора реке на ком се узоркује (слика 9).

Према AQEM протоколу (AQEM Consortium, 2002), микростаништа која покривају мање од 5% нису од интереса за узорковање. Ова станишта треба узорковати посебно и добијене податке треба користити само у сврху употпуњавања листе таксона, не за процену статуса.



Слика 9. Пример одређивања микростаништа у теоријском истраживању локалитета према MHS методи, преузето и прилагођено према AQEM Consortium, 2002.

AQEM метода је заснована на MHS процедури која је осмишљена за узорковање главних станишта пропорционално њиховој заступљености у зони узорковања (AQEM Consortium, 2002). Број подузорака са сваког типа подлоге одређује се према уделу главних типова станишта описаних у AQEM протоколу на сектору реке који се истражује. Узорак се састоји из 20 подузорака прикупљених са свих типова микростаништа на истраживаном локалитету (сектору), од којих сваки тип станишта има удео од најмање 5% у оквиру узоркованог сектора. Подузорак подразумева стационарно узорковање (0,25x0,25 m), које се обавља тако што се постави мрежа и протресе супстрат на удаљености која је једнака квадрату ширине рама узводно од мреже - стандардна мрежа са промером окаца 500 μm . Укупно 20 реплика треба да буде

распоређено према уделу микростаништа. Узорковање се врши дуж попречног профила.

Као алтернатива AQEM методи, користи се једноставнија метода узорковања, која подразумева подизање материјала са подлоге покретима ногу и његово сакупљање у мрежу која је оријентисана у правцу воденог тока, које се врши у приобалним деловима река са свих доступних станишта (*Kick and Sweep* метода - K&S) (Barbour, 1999). Узорковање треба да буде стандардизовано тако што се користи једнак напор при сваком узорковању у дефинисаном временском интервалу, било да се користи иста дужина узорковања, или да се спроводи исти број замаха приликом узорковања. Овом процедуром прикупљају се семиквантитативни узорци. Препоручује се употреба истог броја замаха приликом узорковања – *kick* радњу поновити 5 пута у дужини од 3 m. *Kick* радња подразумева померање уназад у узводном смеру (узорковање почиње на низводном крају сектора и наставља се узводно) и подизање супстрата са дна стопалима. Мрежа треба да буде постављена испред особе која врши узорковање и држи се тако да материјал који је подигнут заједно са организмима улази у мрежу. Након *kick* радње, додатне организме треба сакупити са неколико површина помоћу пинцете или спирањем/четкањем и додати истом узорку (*sweep* радња). Додатне површине за узорковање *sweep* радњом могу бити веће камење, макрофите, трула дебла или различити потопљени објекти. Обе описане методе узорковања се могу користити на дубини до 1,5m.

Максимална дубина узоркованог дна је 15 cm у случају већег камења и неколико cm у случају дна са финим материјалом. Садржај ручне мреже треба редовно празнити у посуду да би се избегло нагомилавање матерјала.

Након узорковања (односи се на све процедуре узорковања), запремина узорака треба да се смањи уклањањем крупнијих делова, које треба испрати у ручној мрежи пре уклањања, да би се задржали организми који су били закачени.

1.1.3. Обрада материјала

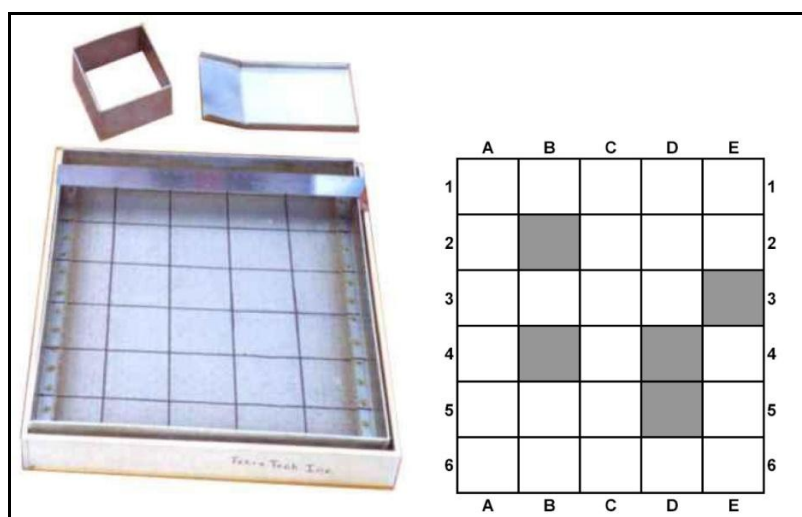
Након сакупљања материјала, велике делове треба уклонити из узорка (камење, парчиће дрвета), узорак треба пропустити кроз сито окаца 500 μm да би се уклонио меки седимент. Овај поступак смањује запремину узорка.

Биолошки материјал се потом пребацује у бочице за узорке. Величина бочице зависи од запремине узорка. Требало би користити бочице од 250, 500 и 1000 ml.

Уколико се очекује да ће број узорака бити велики, за чување се могу користити издржљиве пластичне кесе, да би се смањио потребан простор за одлагање. Ако се узорци чувају у пластичним кесама, за презервацију се може користи само формалдехид, зато што алкохол разграђује пластику. Узорци се чувају у формалдехиду концентрације 4% или у етил-алкохолу концентрације 70%. Иако се препоручује употреба етил-алкохола, презервација материјала 4% формалдехидом, је у неким случајевима поузданија, нарочито ако се у узорку налази већа количина органског материјала (детритуса, дрвенастих остатака биљака) или крупније индивидуе (обично шкољке или пужеви). У тим случајевима за презервацију узорка потребна је велика количина етил-алкохола, коју није практично носити на терен.

Препоручљиво је да се узорци чувају у кутијама са поклопцем (нпр. ручни фрижидер) током транспорта, да би се заштитили и да би се спречило испаравање.

Неопходан, минималан број сортираних јединки треба да буде 500 по узорку. Ако има превише јединки у узорку, треба урадити подузорак – који мора бити хомогенизован и издвојен у лабораторији помоћу опреме за сортирање (опрема за одређивање подузорка) (слика 10)



Слика 10. Опрема за одређивање подузорка - *Sub-sampler*, преузето и прилагођено према AQEM Consortium, 2002.

Опрема за одређивање подзорака - *Sub-sampler*, направљена је од челичног рама 30x36 cm, са мрежом промера окаца од 500 μ m, издељеног у 5x6 квадратних поља (укупно 30). Из насумично одабраних 5 квадратних поља препоручљиво је издвојити најмање 500 организама.

1.1.3.1. Третман узорака

Крупнији материјал треба издвојити из узорка на терену. Гране и камење треба одстранити након испирања и провере да на њима нема сесилних или закачених организама. Велике и ретке организме који се лако уочавају и детерминишу, као и оне који су осетљиви на фиксацију и транспорт, треба уписати у протокол узорковања и вратити живе у воду.

1.1.3.2. Идентификација и чување организама

Пре него што се започне анализа узорка, потребно је очистити материјал и одстранити остатке супстрата или делове биљака. Узорак треба темељно испрати водом како би се у потпуности уклонио фиксатив.

Идентификација се врши коришћењем бинокуларне лупе и микроскопа, уз помоћ одговарајућих приручника и/или кључева за идентификацију. Кључеви за идентификацију су, најчешће, оргнизовани по систему дихотомо гранатих тврдњи. У кључевима се користе одређене особине организама које их одвајају од других, тзв. таксономски карактери. Највећу вредност имају они карактери који на датом нивоу одвајају таксон један од другог. Ти карактери називају се таксономске особине. Могу бити морфометријски (континуирани) и меристички (дисконтинуирани). Морфометријски карактери су они који се мере одговарајућим јединицама, најчешће дужина тела или појединих делова организма. Меристички карактери су они који се изражавају целим бројевима - број екстремитета, број длака на вентралном делу главене капсуле итд. У прилогу 2 дат је списак кључева који се користе у лабораторији Одељења за хидроекологију и заштиту вода, Института за биолошка истраживања Сениша Станковић.

Препоручљива је што детаљнија идентификација макробескичмењака. Листа таксона идентификованих до нивоа врсте, може да се користити за израчунавање разних параметара везаних за мониторинг/истраживања текућих вода (табела 2).

Табела 2. Препоручени ниво идентификације према таксономским групама:

Таксономска група	Препоручени ниво идентификације	Таксономска група	Препоручени ниво идентификације
Turbellaria	Врста	Trichoptera	Врста, род
Oligochaeta	Врста	Odonata	Врста, род
Hirudinea	Врста	Megaloptera	Врста, род
Mollusca	Врста	Heteroptera	Род, врста
Crustacea	Врста	Coleoptera	Род, врста
Plecoptera	Врста, род (за таксоне за које идентификација ларвених стадијума није поуздана)	Diptera	Врста, род, суб-фамилија (Chironomidae 1. и 2. ларвеног стадијума)
Ephemeroptera	Врста, група врста, род	Hydracarina	Присуство

За рутински мониторинг, неопходно је развити „оперативну листу таксона - списак таксона који се обично користе у биолошком мониторингу. Листа таксона се може формирати на основу предложеног нивоа таксономске идентификације.

Након обраде материјала, узорци се одлажу у посебно прилагођене просторије за чување материјала - збирке.

1.1.4. Анализа података

1.1.4.1. Сакупљање подузорака и квантификација

Како би прикупљени подаци били поуздани, неопходно је да минимални број јединки у узорку буде 500. Узорак може садржати мање од 500 јединки, уколико се узорковање врши наизразито загађеним рекама или у изворишним регионима потока. Укупан број организама за поједине таксономске групе се односи на укупну површину

узорковања од 1,25 m² на основу чега се може израчунати број јединки по m², односно по јединици површине.

За квантификацију препоручује се коришћење два приступа:

- Квантитативни приступ, бројност се изражава бројем јединки по m²;
- Семи-квантитативни приступ, бројност се изражава бројем јединки у узорку или релативном бројношћу која се заснива на скали релативне бројности (табела 3).

Ако се користи семи-квантитативни приступ, у случају великих река, релативна бројност се изражава као број јединки у узорку, заснован на процентуалном учешћу и коришћењем вредности у распону 1-5 за бројност (Csanyi, 2002) или скала за изражавање релативне бројности у распону 1-9 (Pantle и Buck, 1955).

Табела 3. Препоручена скала релативне бројности према Csanyi, 2002

Бројност	Опис	Број јединки по узорку
1.	Присутне	1-2
2.	Ретке	3-4
3.	Честе	5-20
4.	Уобичајене	21-100
5.	Врло уобичајене, присутне у маси	>100

Коришћење скала релативне бројности омогућава поређење података прикупљених различитим техникама узорковања, као и узорци узети из различитих типова река.

1.1.4.2. Руковање и складиштење података

Следећи подаци се морају чувати:

- Општи подаци (назив реке, локалитета, координате, датум узорковања, процена супстрата);
- Списак врста макроинвертебрата сваког појединачног узорка са бројем индивидуа унутар сваке таксономске групе/врсте (бр. јединки по m², релативна бројност према скали релативне бројности или као процентуално учешће врста у заједници)

ц) Индекси за прерачунавање мерних скала релативне бројности (Csanyi, 2002; Pantle и Buck, 1955).

Потребно је направити јединствену базу за складиштење биолошких података. База би требало да буде једноставна како би се подаци лако уписивали а уједно би требало да претставља и ефикасан филтер који би спречавао уношење погрешних имена врста, да има могућност лаког израчунавања релевантних мерних скала и аутоматску евалуацију еколошког статуса (специфичну за тип водног тела). База података треба да садржи конкретне податке о локалитету узорковања (типу) и врстама (оперативну листу таксона са кодовима таксона, информације о таксону, податке о биологији таксона - аутеколошке информације).

1.1.4.3. Избор одговарајућих мерних скала и метода процене еколошког статуса

На основу анализе одговора на стрес, треба изабрати одговарајуће биолошке параметре заједнице који одражавају тип и ниво стреса у оквиру одређеног водотока.

За процену еколошког статуса/потенцијала најчешће се узимају следећи биолошки параметри:

- Абунданца (релативна абунданца - број јединки по узорку и/или апсолутна - број јединки по m^2);
- Сапробни индекси (Индекс сапробности – S (Pantle и Buck, 1955), Сапробна валенца - X (Zelinka и Marvan, 1961), Немачки сапробни систем, Аустријски сапробни систем, Чешки сапробни систем (AQEM Consortium, 2002)
- Индекси диверзитета (*Shannon* индекс – H' (Shannon и Weaver, 1949), *Simpson* индекс - D (Simpson, 1949), *Evennes* индекс – J (Pielou, 1966), *Margalef* индекс – d (Margalef, 1958)
- Оригинални BMWP и ASPT скор (Armitage и сар., 1983), или модификовани BMWP и ASPT скор (AQEM Consortium, 2002)
- Укупан број таксона,
- Број таксона унутар одређене таксономске групе,
- Релативна бројност одређених таксономских група,

- Процентуално присуство таксона Ephemeroptera, Plecoptera и Trichoptera - ЕРТ индекс (AQEM Consortium, 2002);
- Процентуално учешће таксона унутар функционалних група у исхрани (FFG) (Cummins и Klug, 1979);
- Балкан Биотички Индекс (ББИ) (Simić и Simić, 1999).

За израчунавање релевантних мерних скала потребни су база података о врстама макробескичмењака и њиховим аутоколошким особинама. Може се користити ASTERICS програмски пакет који садржи више од 150 мерних скала као што су сапробни индекси, мере толеранције, показатељи зоналности, тренутне преференце, избор микростаништа, мере диверзитета, тип исхране, начин кретања, мере састава врста, мере богатства врстама, абунданцу итд.

ASTERICS програмски пакет нуди коришћење разних сапробних индекса развијених за Немачку, Аустрију, Чешку или Холандију, оригиналну верзију BMWP/ASPT индекса, као и модификоване верзије ових индекса за различите европске регионе. Као основа за израчунавање поменутих индекса, користе се различите улазне листе индикаторских организама са подацима о сапробним валенцама и индикаторским тежинама. Треба нагласити да су параметри у оквиру ASTERICS програмског пакета развијени за различите географске регионе. Ове листе су развијене за конкретне области и у будућности их треба модификовати за употребу у нашем региону.

2. ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА

Сакупљање поузданих података о заједници макробескичмењака, слично као и за друге биолошке елементе, има за циљ да се омогући поуздана оцена разноврсности, диверзитета и функционалности водених екосистема. Поуздана и стандардизована процедура узорковања основа је ефикасног истраживања и мониторинга. Примењени аспект хидробиолошких студија огледа се кроз процену еколошког статуса водних тела, на основу рутинског мониторинга усаглашеног са препорукама ОДВ (WFD 2000/60/ЕС), што даје оквир за ефикасно управљање водама.

На основу досадашњих истраживања и расположивих података, дефинисани су следећи циљеви, како би се остварила основна намера у овом раду – тестирање методологије узорковања да би се утврдило ефикасно и стандардизовано прикупљање биолошких узорака неопходно за добијање репрезентативних података и поредивих резултата. Сакупљање узорака представља кључни корак истраживања и утиче на све остале фазе.

Циљеви ове докторске дисертације су:

- отклањање недостатака појединачних техника,
- оптимизација техника узорковања за водене екосистеме Србије,
- стандардизација методологије за одређени тип екосистема,
- избор адекватних метода узорковања за одређени тип истраживања, као и за специфичну групу организама (шкољке) са посебним акцентом на велике и веома велике реке које представљају комплексне екосистеме.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3.1. Подручје истраживања

Територија Републике Србије се према општим карактеристикама може поделити на два региона: Панонски басен (северно од Дунава) и брдско-планински регион (јужно од Дунава). Прелазно подручје чини слив реке Саве, низводни део слива Дрине и део слива Колубаре. Брдско-планинско подручје је разноврсније у погледу општих природних карактеристика у односу на знатно хомогенију област северно од Дунава, што погодује распрострањењу флоре и фауне, укључујући и водене организме. Реке Србије припадају сливовима Јадранског, Егејског или Црног мора (Gavrilović и Dukić, 2002). Највећу површину у Србији покрива црноморски слив (92% територије Србије) и све веће реке припадају овом басену, а преко Дунава се уливају у Црно море. Јадрански слив захвата приближно 5% површине Србије – западни део Косова и Метохије, док Егејски слив који је најмањи, захвата приближно 3% територије, и простире се у јужном делу Србије, обухватајући сливове Лепенаце, Пчиње и Драговиштице.

3.1.1. Брдско - планинско подручје

3.1.1.1.Слив Велике Мораве

Велика Морава настаје спајањем Западне и Јужне Мораве и дужине је 175 km. Сливно подручје обухвата површину од 38.000 km² са средњим годишњим протоком од 230 m³/s (код Љубичева у близини ушћа у Дунав) (Gavrilović и Dukić, 2002). Обзиром да протиче кроз густо насељену област, река је под утицајем различитих типова загађења као што су органско загађење, загађење нутријентима, загађење индустријским и комуналним отпадом, као и под утицајем хидроморфолошких измена (просецања меандара, изградње канала, експлоатације шљунка и песка) (Marković и сар., 2011, 2014). Велика Морава има 32 притоке (12 са леве и 20 са десне стране) од којих су веће Јовановачка река, Црница, Раваница, Лепеница, Ресава и Јасеница.

3.1.1.2. Слив Западне Мораве

Западна Морава настаје спајањем река Голијске Моравице и Ђетиње, а северно од Сталаћа спаја се са Јужном Моравом формирајући реку Велику Мораву. Обухвата сливно подручје од 15.567 km², што чини 42,3% целокупног слива Велике Мораве (Gavrilović и Dukić, 2002; Рауновић и сар., 2010). Просечан годишњи проток износи 120 m³/s и није пловна река. На њеном току изграђене су бране и формиране акумулације Парменац, Међувршје и Овчар. Укупно прима воду из 85 притока, а Ибар представља њену највећу и најзначајнију притоку. Поред њега значајне су и Гружа, Расина, Каменица и Чемерница.

3.1.1.3. Слив Јужне Мораве

Јужна Морава настаје на Скопској Црној Гори, у данашњој републици Македонији, а дужина њеног тока кроз Србију износи 246 km (Gavrilović и Dukić, 2002; Milošević, 2013). Површина њеног слива је 15.469 km² од којих се 92.91% налази у Србији. Јужна Морава има сложену долину, тј. чини је наизменично смењивање клисура и котлина. Има 157 притока од којих су најважније леве притоке Јабланица, Ветерница, Пуста река, Топлица, Турија и Рибарска река, а десне Врла, Цепска река, Предејанска река, Козарачка река, Власина, Нишава (најдужа) и Сокобањска Моравица. Јужна Морава има значајан потенцијал за производњу електричне енергије, али се он уопште не користи. Велики енергетски систем саграђен је у њеном сливу, на Власини (електране Врла I-IV). У извесној мери, њена вода се користи за наводњавање.

3.1.1.4. Слив Нишаве

Нишава извире у Бугарској испод врха Ком на Старој планини. Извориште је у близини границе са Србијом, тако да ток Нишаве у Бугарској износи свега 67 km, без већих притока (Gavrilović и Dukić, 2002).

Нишава припада црноморском сливу, њен слив покрива територију од 3.950 km² (1.237 km² у Бугарској, 2.713 km² у Србији). Нишава данас није пловна река, у антици је то била. Нишава има пуно малих притока, као што су Височица са десне и Јерма, Црвена Река, Коритница, Кутинска река и Габровачка река са леве стране. Око 10 km западно од Ниша (код села Трупала) улива се у Јужну Мораву.

3.1.1.5. Слив Тимока

Слив реке Тимок се својим већим делом налази на територији Србије, у источној регији (4.607 km², 98%), док се мањим делом простире на територији Бугарске (93 km², 2%). Река Тимок (позната и као Велики Тимок) је последња притока Дунава у Србији, а настаје спајањем Белог (који настаје спајањем Сврљишког и Трговишког Тимока) и Црног Тимока низводно од града Зајечара и дужине је 85 km (Gavrilović и Dukić, 2002). Најзначајнија притока Тимока је Борска (Бела) река. Водотоци овог слива се, начелно, одликују спорим током, нестабилним нивоом воде и ниским хидро-потенцијалом. Пољопривредно земљиште заузима значајан део површине слива Тимока (Paunović и сар., 2008а). Рударско топионичарски басен „Бор” је један од основних фактора који утиче на економију и животно окружење ове области. Ситуација која се тиче отпадних вода у сливном подручју је сложена, захваљујући утицају неколико већих насеља и бројних села, као и испуста отпадне воде из три рудника и металуршког комплекса, у комбинацији са санитарним отпадом града Бора и неколико села. Цео комплекс значајно утиче на водене екосистеме.

3.1.1.6. Слив Колубаре

Колубара настаје спајањем река Обнице и Јабланице узводно од Ваљева и утиче у Саву у Обреновцу (Stefanović и сар, 2009). Укупна површина колубарског басена износи око 3.640 km². Главне леве притоке јесу Кладница, Уб и Тамнава, а десне Градац, Лепеница, Рибница, Топлица, Љиг, Пештан и Турија са Бељаницом. Град Обреновац простире се дуж обала Саве, али се отпадне и комуналне воде испуштају у Колубару без претходне обраде (RBC Report, 2007, Popović и сар, 2015). Такође, велика површина колубарског басена густо је насељена, у малим насељима не постоји канализациона мрежа, па се употребљавају септичке јаме. У овој области смештени су и важни индустријски и енергетски центри као и значајна транспортна инфраструктура, а важно је поменути да је развијена и пољопривреда (RBC Report, 2007, Popović и сар, 2015).

3.1.1.7. Слив Дрине

Дрина настаје код Шћепан Поља спајањем река Таре и Пиве. Дужина тока Дрине износи 346 km. Код Босанске Раче, Дрина се улива у Саву и представља њену највећу притоку (Влагојевић и сар., 2005). Сливно подручје Дрине обухвата југозападни и западни део Србије, северни део Црне Горе и источни део Босне и Херцеговине, укупне површине око 19.926 km². Веће притоке са леве стране су Сутјеска, Бистрица, Дрињача и Јања, а са десне Ћехотина, Лим, Рзав, Љубовиђа и Јадар.

3.1.1.8. Слив Уваца

Увац је река дуга 119 km која протиче између планина Златибор и Златар и представља јужну границу Златибора (Gavrilović и Dukić, 2002). На њему су изграђене хидро – електране Кокин брод (20 MW) и Увац (31 MW). Извире југоисточно од Јадовика, а на Златибор долази код села Ојковице, где прима притоку Тисовицу. Одатле тече поред села Негбине, Бурађе, Сјеништа, Доброселице и Јабланице, примајући многе притоке, а неке од већих су: Шупљица (улива се у Увац у Негбини), Раснички поток (улива се у Расници), Доброселички и Шарански поток (уливају се у Доброселици). Увац је главна притока реке Лим. Неколико задњих километара, река Увац представља границу између Србије и Републике Српске, БиХ, односно границу општина Прибој и Рудо. Река Увац заузима површину од 1.310 km² и припада сливу Црног мора. Просечан годишњи проток на ушћу Увца у Лим је 18 m³/s.

3.1.1.9. Слив Млаве

Млава је дугачка 334 km и десна је притока Дунава. Највећа притока Млаве су реке Кључава и Пек (Marković, 1990). Река Млава је позната по риболову, пловности задњих 20 km од ушћа и њеној делти коју прави при ушћу у Дунав. Млава настаје као Тисница у Кучајским планинама у источној Србији, под врхом Велики Крш. Река тече на север и протиче поред источних падина планине Бељаница, кроз скоро ненасељено подручје. Након што стигне до Хомоља, у Тисницу се на висини од 320 метара улива јако Жагубичко врело и од те тачке река је надаље позната као Млава. Мерећи од Жагубичког врела, река је дугачка 232km. Слив Млаве заузима површину од 1.830km² и припада сливу Црног мора. Просечан проток у години на ушћу Млаве је 14m³/s.

3.1.1.10. Река Нера

Нера је река у области Баната, у Србији и Румунији, лева је притока Дунава. Нера је дуга 124 километра (Marković, 1990). Река Нера истиче из планина Семеник у румунском Банату, близу града Решица. Првим делом тока река тече јужно, да би затим скренула ка југозападу правећи клисуру између Банатских планина и Семеника. Овде Нера прима главну притоку Рудерију, а затим мења правац ка северозападу до Најдаша и Кусића где постаје гранична река између Србије и Румуније.

Тако тече наредних 14 km до ушћа у Дунав код Банатске Паланке. Постоји неколико потока који се у уливају у Неру (Кусићки, Буканов, Лесковачки). При ушћу Нера је широка између 20 и 40 m.

3.1.1.11. Слив Егејског мора

Слив Егејског мора обухвата само 2,2% територије Србије. Њему припадају реке Лепенац, Пчиња и Драговиштица, али само делови њихових токова. Лепенац и Пчиња прелазе на територију Републике Македоније и уливају се у Вардар, а Драговиштица отиче ка Струми у НР Бугарској (Gavrilović и Đukić, 2002). Воде Лепенице користе се за наводњавање у оквиру хидромелиорационих система „Ибар – Лепенац“, на Пчињи је подигнуто више вештачких Пастрмских рибњака, док су воде Божачке и Љубатске реке, саставница Драговиштице, претворене у Власинско језеро ради добијања електричне енергије.

3.1.2. Река Дунав

Дунав предстаља једну од највећих и најзначајнијих европских река, са укупном површином слива од 817000 km² и дужине тока од 2.857 km. На основу геоморфолошких карактеристика може се поделити на 10 сектора (Robert и сар., 2003):

- 1) Горњи ток Дунава (гкм 2.786 – 2.581) који није плован.
- 2) Западно - алпско подножје Дунава (гкм 2.581 – 2.225). У овом сектору, Дунав има одлике алпске реке, протиче између области Швапски Алб на северу и Баварске на југу. На хидролошке одлике знатно утичу притоке Илер, Лех и Изар. Сектор обухвата ток Дунава све до ушћа реке Ин.

3) Источно - алпско подножје Дунава (гкм 2.225 – 2.001). Највећи утицај у овом сектору има притока Ин. Са протоком од $737 \text{ m}^3/\text{s}$ Ин знатно утиче на температуру, провидност и концентрацију суспендованих материја у Дунаву. Кроз читав сектор, река је преграђена бројним бранама.

4) Доњи ток алпско подножја Дунава (гкм 2.001 – 1.789,5). Највећи антропогени утицај у овом сектору имају градови Беч (1,7 милиона становника) и Братислава (450.000 становника) као и хидроцентрала Габчиково. Услед преграђивања реке хидроцентралом Габчиково, формирана је акумулација, па Дунав у овом делу има карактеристике језера.

5) Мађарски део тока Дунава (гкм 1.789,5 – 1.497). У овом сектору Дунав полако поприма карактеристике равничарске реке. Најбитнија притока у хидролошком смислу је Вах. Највећи антропогени утицај има град Будимпешта (1,7 милиона становника). У овом сектору се налази и нуклеарна електрана Пакш.

6) Панонски део Дунава (гкм 1497 - 1075). Већи део тока кроз Србију (588 km) припада Панонском басену (358 km). Дунав у овом сектору има карактеристике равничарске реке. Највећи антропогени утицај имају градови Нови Сад (150.000 становника) као и највеће насеље на самој реци град Београд (2 милиона становника). У овом сектору Дунав прима велике количине непрерађених отпадних вода и фекалног загађења које се одражава на хемијске карактеристике воде и на биоту. Највеће притоке су Драва, Тиса, Сава са својим притокама (Дрином, Колубаром и Босутом) и Велика Морава, које значајно утичу на његове хидролошке карактеристике. Драва не ремети много водни режим (средњи вишегодишњи проток износи $2.355 \text{ m}^3/\text{s}$). Највећи утицај на режим вода има река Сава, јер средњи вишегодишњи проток низводно од ове реке износи $5310 \text{ m}^3/\text{s}$, затим Тиса, са средњим вишегодишњим протоком од $3690 \text{ m}^3/\text{s}$, док Велика Морава нема битног утицаја на проток Дунава.

7) Ђердапски део Дунава (гкм 1.075 - 942). Због бране хидроелектране Ђердап, река у првом делу сектора има успорен ток који се знатно убрзава проласком кроз Ђердапску клисуру. На проширењима у клисури стварају се акумулације. Изградња брана ХЕ "Ђердап 1" и ХЕ "Ђердап 2" узроковала је константно таложјење наноса на делу акумулације у Ђердапској клисури. Дунав напушта територију Србије на 845 гкм.

8) Западно - понтијски део Дунава (гкм 943 – 375,5). Сектор се протеже од бране хидроцентрале Ђердап 1 па до аде Балта Иаломитеји, недалеко од нуклеарне електране Черна вода. Највеће притоке у овом делу тока су Тимок, Искар, Олт, Јантра и Арђеш, а због високог степена загађења (отпадне воде из града Русе – 260.000 становника)

неопходно је поменути и мању притоку Русенски Лом. У овом сектору се налази и нуклеарна електрана Козлодуј. Низводно од Ђердапа, на самој реци више нема брана, тако да Дунав у овом сектору има слободан ток.

9) Источни влашко-низијски део Дунава (гкм 375,5 - 100). У овом сектору Дунав има слободан ток. Велике притоке су Сирет и Прут. У овом сектору се налази град Браила са 180.000 становника.

10) Делта Дунава (гкм 100 - 7). Делта реке Дунав се састоји од три главна рукавца: Килиа рукавац, Сулина рукавац и рукавац Свети Ђорђе. Главни рукавци су међусобно повезани системом канала и мочварним земљиштем. На крају рукавца Килија налази се ознака за нулти километар реке.

3.1.3. Река Сава

Река Сава настаје спајањем Саве Долинке и Саве Бохињке код места Радовљица у Словенији, и представља један од најзначајнијих сливова у региону (дужина тока 940 km, сливно подручје површине 95.419 km²) (Gavrilović и Đukić, 2002; Atanacković и сар., 2011). Кроз Србију протиче њен доњи део тока (206 km). Просечни годишњи проток код Сремске Митровице износи око 1.500 m³/s. Највећа је притока Дунава (по дужини и водности) у који се улива у Београду (гкм 1170). У горњем току река Сава је под хидролошким притиском, на средњи ток највише утиче интензивна пољопривредна активност и еутрофикација, а на доњи ток индустријско и урбано загађење (Torsten и сар., 2008; Milasic и сар., 2010). Доњи део тока реке (површине слива око 15.147 km² и дужине тока од 206 km) протиче кроз Србију и има карактеристике типичног равничарског водотока. Највеће притоке реке Саве у Србији су реке Дрина и Колубара.

3.1.4. Реке Босне и Херцеговине

3.1.4.1. Река Босна

Босна је река у Републици Босни и Херцеговини (<http://www.fhmzbih.gov.ba/latinica/ONAMA/FHMZ-registar.php>). Извире из крашких врела у селу Врутци у близини Илиће, у подножју планине Игман, на 500 m надморске висине. Протиче централним делом Босне, а код Босанског Шамца се улива у реку Саву те припада црноморском сливу. Дуга је 273 km са сливним подручјем површине 10.460 km². Главне притоке реке

Босне су: Жељезница, Миљацка, Криваја, Спреча и Ставња (десне притоке), Фојничка ријека, Лашва и Усора (леве притоке). У горњем току, од извора до Зенице, протиче кроз Сарајевско, Височко, Какањско и Зеничко поље која раздвајају клисуре. У средњем току се пробија кроз клисуре усечене у чврсте стене, Врандук-Немила и Маглај-Добој. У доњем току, од Добоја до ушћа, Босна протиче нестабилним коритом кроз алувијалну равницу где прави више рукаваца, ада и окука. Долина реке Босне је најнасељенија област Босне и Херцеговине и индустријски је центар државе, што значи да је цео ток под великим индустријским и урбаним притиском. У долини Босне налазе се градови Сарајево, Високо, Какањ, Зеница, Завидовићи, Жепче, Маглај, Добој, Модрича и Босански Шамац.

3.1.4.2. Река Неретва

Река Неретва дуга је 230 km, са сливним подручјем површине 10.380 km², која највећим делом протиче кроз Босну и Херцеговину (208 km), а мањим делом, пре ушћа у Јадранско море, кроз Републику Хрватску (22 km) (Trozić-Vogovac и сар., 2011). Најдужа је притока Јадранског мора с источне обале. Извире испод планине Јабуре у Босни и Херцеговини. Заједно с притокама чини засебну природну целину и јединствен екосистем. Извире у планинским пределима високе Херцеговине и већим делом свог тока има одлике планинске реке до првог града кроз који протиче, Коњица, одакле постаје река равничарског типа. Због тих одлика на њој су изграђене хидроелектране Јабланица, Грабовица, Салаковац, Врапчићи и Чапљина. Десне притоке Неретве су Зуревића поток, Међењак, Језерница или Татинак, Горњи и Доњи Крупац, Диндолка, Бјелимићка ријека, Слатиница, Рачица, Ракитница, Коњичка Љута, Трешаница, Неретвица, Рама, Дољанка, Дрежанка, Грабовица, Радобоља, и Требижат. Леве притоке Неретве су Живашница, Лађаница, Жупски Крупац, Буковица, Шиштица, Идбар, Глогошница, Мостарска Бијела, Буна, Брегава и Крупа. Неретва протиче кроз градове: Коњиц, Јабланица, Мостар, Чапљина и Почитељ. Улива се у Јадранско море у хрватском граду Плоче.

3.2. Материјал

На основу материјала прикупљеног у периоду 2004 - 2016 године, приликом реализације истраживања обављених у оквиру Одељења за хидрокологију и заштиту

вода, Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ (ИБИСС) као и Одељења за хидрокологију Лабораторије за хидрокологију и заштиту вода Института за биологију и екологију Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу, на разноврсним типовима, пре свега, текућих вода у Србији разматране су различите технике прикупљања узорака за изучавање заједница водених макробескичмењака. Анализирани су подаци са укупно 320 локалитета. Део података узетих у разматрање, а са циљем утврђивања ефикасности појединих метода, односи се и на локалитете ван оквира Републике Србије.

Део материјала који је коришћен за анализу методологије узорковања различитих брдско-планинских водотока Србије прикупљен је у периоду 2005-2012 године. Подаци обухватају тип брдских и планинских река, малих и средњих токова, са доминацијом крупне подлоге које припадају водотоцима типа 3-5 према типологији текућих вода Србије (Рауповић и сар., 2011). У анализу су укључени подаци са 93 локалитета (прилог 3) чији је еколошки статус оцењен као добар и веома добар/одличан.

Материјал са Дунава, прикупљен је у оквиру програма Истраживање Дунава *AquaTerra* (*AquaTerra Danube Survey - ADS*), на делу тока између Клостернојбурга (Аустрија, гкм 1942) и Видин - Калафата (Бугарска-Румунија, гкм 795) у периоду август - септембар 2004. године, које је обављено у сарадњи са Међународном комисијом за заштиту реке Дунав (*International Commission for the Protection of the Danube River - ICPDR*). Материјал је прикупљен на укупно 30 локалитета (прилог 3). Основни циљ ове студије био је да се на основу анализе различитих нивоа биоте и њихових интеракција са органским и неорганским микрополутантима у земљишту, седименту и води, утврде потенцијално ризичне локације загађења у овом делу Дунава.

ICPDR сваких 6 година организује међународну експедицију Заједничко испитивање Дунава (*Joint Danube Survey – JDS*), у којој учествују научници из свих подунавских земаља. Узорци су прикупљани са пловног дела Дунава, који обихвата сектор дужине од 2500 km, од Регензбурга до делте. Сакупљани су узорци макрозообентоса, фитобентоса, фитопланктона, ихтиофауне, макрофита, као и узорци за хемијску и микробиолошку анализу. Циљ експедиција је да се процени тренутно стање реке Дунав на основу анализа биолошких елемената квалитета, заједно са

хемијским и хидроморфолошким анализама. Тестирање различитих метода узорковања водених макробескичмењака Дунава, рађено је на локалитетима обрађиваним у оквиру JDS 2 и JDS 3 експедиција.

Експедиција JDS 2 реализована је у периоду август - септембар 2007. године. Узорковано је на укупно 109 локалитета, 88 на главном делу тока и 21 локалитет на притокама (прилог 3). Узорци макробескичмењака прикупљени су на 96 локалитета.

Експедиција JDS 3 реализована је у периоду август - септембар 2013. године. Укупно је узорковано на 57 локалитета на главном току и 16 локалитета на притокама. Макробескичмењаци прикупљени су на 52 локалитета главног речног тока и 16 локалитета на притокама (прилог 3).

Истраживања обављена у оквиру пројекта „Програм праћења и анализе промена квалитета воде реке Дунав у сектору под успором” за 2014. годину остварена су под координацијом Института за водопривреду „Јарослав Черни” из Београда. Биолошка истраживања реализовао је Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић”, Универзитет у Београду. Циљ истраживања је процена стања воденог екосистема на подручју које се налази под утицајем хидроелектрана „Ђердап 1“ и „Ђердап 2“. Студија обухвата истраживање Дунава на сектору од Лединаца (1262 гkm) до Радујевца (851 гkm). Две серије узорковања, обављене су у периоду ниских вода (септембар/октобар и новембар 2014. године), док су друге две обављене у периоду високих вода (април и мај 2015. године). Локалитети који су обухваћени програмом истраживања и анализирани у овом раду дати су у прилогу 3.

Материјал са реке Саве (цео ток, у дужини од 937 km) прикупљен је за потребе реализације пројекта билатералне сарадње са Републиком Хрватском („Процена нивоа Биоконтаминације великих река Хрватске и Србије“), током септембра 2011. и 2012. године. Узорковање макробескичмењака вршено на 12 локалитета и обухвата сектор од Врхова (Словенија) до Београда (Србија) (прилог 3).

Материјал који је прикупљен у периоду октобар/новембар 2008. године у оквиру пројекта “Study of the Biological Monitoring of the Rivers and Lakes/Reservoirs in Bosnia and Herzegovina” обухватао је реке Неретву и Босну са притокама. Теренско узорковање на одабраним водним телима у Босни и Херцеговини спроведено је у октобру 2008. Од десет локалитета на којима је обављено узорковање, шест се налази на рекама, а четири на језерима/акумулацијама (узорци су изузети из анализе). Анализирани су узорци реке

Неретве – 1 локалитет, код места Житомислић и реке Босне са 5 локалитета, 3 на главном току реке и 2 на њеним притокама, Црној ријеци и Фојничкој ријеци (прилог 3).

3.3. Методологија узорковања

Узорковање, паковање, презервација материјала као и анализа, вршена је према светским и европским стандардима: ISO 5667-3:1995, EN 27828:1994, EN 28265:1994, EN ISO 9391:1995, EN ISO 8689-1:1999 и EN ISO 8689-2:1999.

Начин прикупљања материјала условљен је типом истраживаног екосистема. Узорци су прикупљени бентолошком мрежом, у свим случајевима где је то било могуће, како би се обезбедили подаци које је могуће поредити на адекватан начин. Остали алати за прикупљање материјала коришћени су у случајевима када узорке није било могуће прикупити мрежама због велике дубине или брзине тока.

3.3.1. Методологија узорковања брдско-планинских текућица

Материјал, који је коришћен за анализу брдско – планинских текућица, прикупљен је коришћењем две методе узорковања, семиквантитативне K&S методе и квантитативним узорковањем помоћу *Sürber* мреже.

K&S метода узорковања је коришћена у приобалном региону до 1,5 m дубине коришћењем одговарајућег стандарда (EN 27828:1994) према MHS процедуре. Материјал је прикупљан употребом ручне бентолошке мреже промера окаца 500 μm . Узорковање је вршено комбинованом техником подизања материјала са подлоге трзајима ногу и његовим сакупљањем у мрежу која је оријентисана у правцу воденог тока и ручним сакупљањем са подлоге (EN 27828:1994), семи-квантитативним узорковањем у дефинисаном временском интервалу, при чему је прикупљано са свих доступних станишта, пропорционално њиховој заступљености. У циљу семиквантитативног приступа, уложен је исти напор приликом сваког узорковања. Приликом прикупљања узорака у обзир је узет део водотока од око 100 m дужине, на коме је извршена визуелна процена доминантне подлоге, процена средње дубине и ширине тока, процена покривности/обраштаја, а према MHS процедуре која подразумева процену расположивих станишта на потезу узорковања и прикупљање материјала са свих доступних станишта која су заступљена са више од 5% (AQEM

Consortium, 2002). Визуелна класификација супстрата по величини честица је урађена према скали датај у делу *Увод* у табели 1.

Квантитативно узорковање *Sürber* мрежом, промера окаца 500 μm и рамом величине 25x25 cm, извршено је на истој деоници где је вршено и K&S узорковање. Свако узорковање укључује пет подзорка који покривају површину од 3.125 cm^2 , односно 0,3125 m^2 . Подзорци су прикупљени са доминантних врста подлоге како би се обезбедио репрезентативни узорак за дати део тока.

За очување узорака прикупљених у брдско-планинским текућицама као фиксатив је коришћен 4 % формалдехид.

3.3.2. Методологија узорковања већих равничарских река – река Дунав

Током истраживања Дунава у оквиру пројекта *Aquaterra* коришћене су три методе узорковања водених макробескичмењака (Slobodnik, 2005).

У случају када је примењена K&S метода, коришћена је британска ручна мрежа (енгл. *British FBA pond net*) промера окаца величине 950 μm . Прикупљени су семи-квантитативни узорци и то применом истог „напора узорковања” и дефинисањем временског интервала за прикупљање узорака. K&S метода је примењена и на левој и на десној страни приобалне зоне сваког профила на дубини до 1,5 m. Овом техником је узорковано на свих 30 локалитета Дунава.

Макробескичмењаци су прикупљани и роњењем на дах. Ручна мрежа је коришћена слично као код K&S методе. Урађана је у подлогу и прикупљен је материјал са дна заједно са организмима. Шкољке су такође прикупљане роњењем и стављане у мрежу. Максимална дубина зарона износила је 4 m. Прикупљање узорака роњењем показало се најефикаснијом методом за узорковање шкољки на већини локалитета чак и на мањим дубинама.

Дреца је коришћена у обалској зони као и дубокој води уз употребу моторног чамца. Ова метода узорковања је примењена на два локалитета (ADS 1 и 2). Даљна употреба дреце није била могућа због недостатка времена и обимног програма узорковања. Приликом узорковања коришћена је дреца са троугластим и назубљеним металним оквиром, промера окаца 500 μm . Дреца је вучена канапом дужине 20 m са чамца, по дну реке на дужини од око 10 m.

Метода узорковања помоћу хидрауличког *polyp* багера вршена је са брода „Аргус” на локалитетима од 1 до 18. Низводно од ових локалитета, у доњем делу Дунава, тешко се налази велико камење у обалском региону. Извучено камење је добро и пажљиво испрано. Организми и чврсти отпаци су сакупљени у сито промера окаца 500 μm .

Узорци водених макробескичмењака обележени су и фиксирани у 70% раствору етил-алкохола.

За сваку технику узорковања уложен је исти „напор узорковања” због могућности квантитативног поређење података.

3.3.3. Методологија узорковања - JDS 2 експедиција

За прикупљање фауне водених макробескичмењака на експедицији JDS2 коришћене су *Air-lift* и *Multicorer* технике као стандардне методе. Опрема која је коришћена за обе технике узорковања монтирана је на брод. Поред тога, узорци су узети и у обалској зони K&S техником (Graf, 2008).

Примена *Air-lift*/*MHS*/*Multicorer* методе узорковања

Током JDS 2 истраживања водени макробескичмењаци су узорковани са речног дна (на дубини између 1,2 m и 11,5 m; просчна дубина 4,9 m). *Air-lift* методом (Prehofer, 1998) узорци су прикупљени са 81 локалитета. Због ниског водостаја и врло финог наноса седимента на одређеним локалитетима, као алтернатива, примењене су методе *MHS* узорковања (9 тачака, углавном на притокама) и *Multicorer* узорковања (6 тачака).

Узорци су прикупљени са 96 локалитета. На сваком локалитету узето је по шест подузорака (три на левој и три на десној страни) који су спајани у један узорак. На местима где се састав подлоге или брзина тока битно разликују, узорци са леве и десне стране чувани су одвојено.

Прикупљен материјал испиран је кроз мрежу величине промера окаца 100 μm . Сакупљени узорци фиксирани су и чувани у формалдехиду (4%), а затим обрађени у лабораторијама *ВOKU* института у Бечу.

Примена K&S/дреца методе узорковања

У плиткој, приобалној, зони главног тока Дунава (на 74 локалитета) и на притокама (на 9 локалитета) примењена је K&S метода узорковања (EN 27828:1994). Узорци су прикупљени ручном мрежом промера окаца 500 μ m, са дубине од 1,5 m. Узорковање је вршено на скоро свим типовима станишта у приобалној зони.

Због повишеног нивоа воде низводно од „Ђердапа” 2 (локалитети JDS 65 да JDS 96 - укупно 32 профила, укључујући и 6 притока), као алтернативна метода узорковања, коришћена је дреца са троугластим челичним оквиром (промер отвора 25 cm). Сви подзорци са профила (десно, средина и лево) чувани су за касније анализе као засебни узорци.

Материјал прикупљен K&S техником и дрецом испиран је кроз мрежу промера окаца 500 μ m.

Узорци су чувани у формалдехиду (4%) и касније обрађени на VITUKI Институту у Будимпешти.

3.3.4. Методологија узорковања - JDS 3 експедиција

Узорковање водених макробескичмењака током JDS 3 истраживања обављено је применом различитих метода које се могу поделити у три одвојене групе (Graf, 2015).

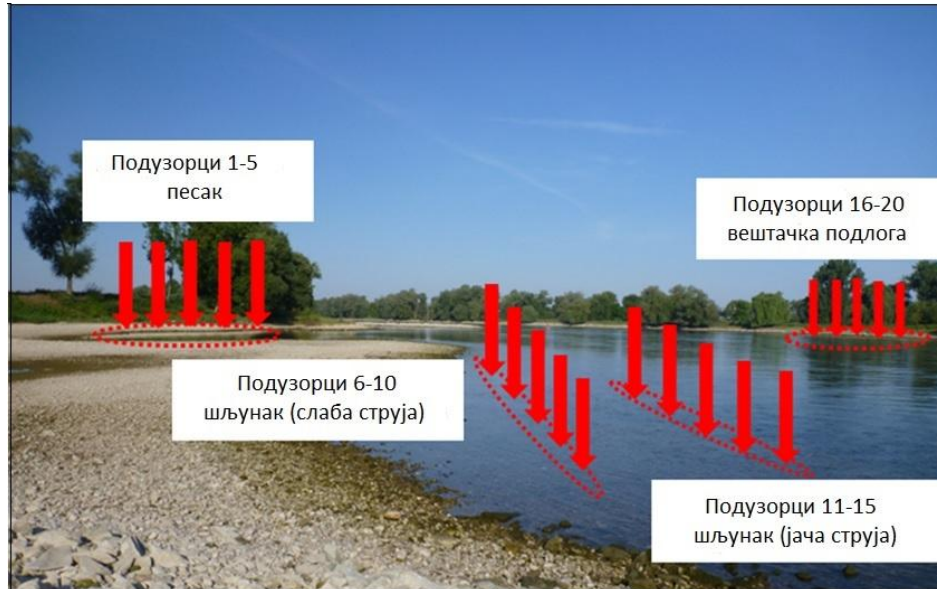
Примена MHS метода узорковања

Главни приступ била је стандардна MHS метода за процену еколошког статуса/потенцијала у складу са ОДВ (AQEM Consortium, 2002).

Узорковање водених макробескичмењака са специфичних станишта у приобалној зони је обављено је MHS мрежом димензија оквира 25 x 25 cm. Ова семи-квантитативна метода обезбеђује узорак од 0,0625 m² по јединици површине.

На сваком локалитету MHS методом узет је узорак који се састоји од 20 подзорака прикупљених са свих типова станишта чији је удео већи од 5% (AQEM Consortium, 2002). Подзорци су чувани одвојено. Типови станишта су изабрани проценом обављеном са моторног чамца. На сваком дефинисаном типу станиште узето је по пет подзорака због лакше статистичке обраде података (слика 11). За сваку групу подзорка са одређене подлоге одређена је дубина воде и брзине протока. Узорковане

јединице са сваког станишта су чуване одвојено. У случају хомогеног супстрата, исти тип супстрата је узоркован покретима различите снаге. Узорковано је укупно 20 подузорака са најмање четири различита типа станишта по локалитету.



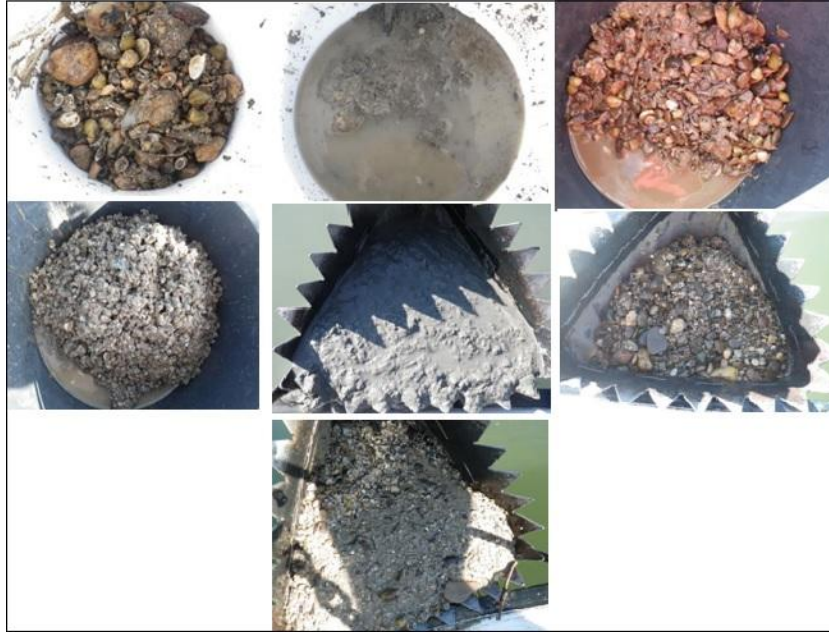
Слика 11. Пример узимања подузорака са свих доступних станишта са једног локалитета, преузето и прилагођено према фотографи Момира Пауновића

Методологија узорковања у дубокој води (енгл. *Deep Water Sampling - DWS*)

За прикупљање узорака у дубоким деловима реке примењена је техника узорковања профила дрецом. Овај приступ је коришћен због могућности поређења података прикупљених *Air-lift* техником за узорковање дубоких делова реке, која је примењена током JDS 2 истраживања 2007. године.

Узимање узорака дрецом пружа информације о дистрибуцији организама дуж попречног пресека речног корита у дубљим деловима реке.

Локалитети на којима је узорковано дрецом имају забележене координате са GPS уређајем, док је дубина воде мерена сонаром. На сваком од локалитета прикупљено је по 10 литара материјала, а он је одлаган у канте означене серијским бројевима 1-5, идући од десне ка левој обали. Фотографијама је документована расподела величине супстрата у узорку (слика 12).



Слика 12. Различити типови супстрата узорковани дрецом током JDS 3 истраживања
(фотографија Јожеф Секереш)

Теоретски, подаци добијени узорковањем дрецом се могу сматрати семи-квантитативним: троугласти метални оквир дреце дебљине 5 cm и ширине 25 cm обезбеђује узорак запремине 10 литара ако се дрца вуче око 80 cm по дну реке. Ова површина ($25 \times 80 \text{ cm}^2$) представља $0,2 \text{ m}^2$. Појединични узорак помножен са пет даје број индивидуа по метру квадратном.

Узорковање је вршено на дубинама већим од 1,5 m. Највећа дубина на којој је успешно узет узорак дрецом је већа од 20 m (рукавац Килиа).

Примена K&S методе узорковања

K&S узорковање подразумева узимање узорака ручном мрежом у приобалном региону како би подаци могли да се пореде са подацима JDS 2 истраживања прикупљеним истом техником.

K&S узорковање (EN 27828:1994) обавља се у обалском региону коришћењем ручне мреже промера окаца 500 μm узорци су прикупљени у приобалној зони са дубине до 1,5m. Роњење на дах обављено је како би се са веће дубине прикупили узорци слатководних шкољки (до 4 m дубине).

Циљ коришћења K&S методе је да се MHS подаци допуне, између осталог и подацима о дистрибуцији шкољки у приобалном региону.

Сви узорци су фиксирани 4% формалдехидом.

3.3.5. Методологија узорковања на Ђердапском сектору (акумулацији)

Узорци су узети квалитативно, ручном мрежом, промера окаца 250 μm , у приобалној зони методом K&S са свих присутних микростаништа (MHS - метода) и *Van Veen* багером захватне површине 270 cm^2 .

Узорци водених макробескичмењака обележени су и фиксирани у 70% раствору етил-алкохола.

3.3.6. Методологија узорковања на реци Сави

Узорци су прикупљени помоћу ручне мреже (промера окаца 500 μm) на подручју 0,0625 m^2 , у приобалном региону (на дубини од 1,5 m), са свих расположивих врста микростаништа/подлога, како са природних (пп) - камена, шљунка, песка, муља тако и са вештачких структура (вп) - брана, насипа и мостова. Током прикупљања материјала узета су у обзир сва присутна доступна микростаништа. Број узорака сакупљених са одређеног микростаништа на сваком локалитету, одговара релативном присуству одређеног микростаништа у односу на целокупну подлогу датог локалитета (10% = 1 узорак). Узето је по 10 подузорака са природне и исто толико са вештачке подлоге на сваком локалитету. Организми са површине камења сакупљени су пинцетом и уколико је било потребно, стругањем четкицом. Рођење на дах је коришћено за прикупљање шкољки. Приближна дужина испитиваног трансекта на сваком локалитету износила је око 100 m дуж приобалног региона.

За чување узорака прикупљених током овог истраживања као фиксатив коришћен је 70 % етил-алкохол.

3.3.7. Методологија узорковања на рекама Неретва и Босна са притокама

Узорци су узети са свих доступних типова станишта који представљају више од 5% укупне површине станишта на истраживаном току. У овом случају узорковање је изведено применом K&S и AQEM метода (AQEM Consortium, 2002), у плиткој

литоралној зони, током периода ниских вода (EN 27828: 1994). У овом случају резултате је могуће поредити као семи-квантитативне податке с обзиром на разноликост услова. Узорци су прикупљени са дубине од 1,5 m ручном мрежом промера окца 500 μm . Већина типова станишта у приобалној зони укључена је у програм узорковања.

За очување прикупљених узорака као фиксатив коришћен је 4% формалдехид.

3.4. Анализа резултата

Програмски пакет ASTERICS 4.0.4 (AQEM Consortium, 2002) коришћен је за израчунавање биолошких параметара. Параметри у оквиру овог програмског пакета су развијени за различите географске регионе.

Одабрани биолошки параметри анализирани су употребом статистичког програмског пакета „Statistica” верзија 7 (StatSoft, Inc., 2004). Утврђено је да ниједна група анализираних параметара нема нормалну расподелу, па је за процену статистичких разлика међу њима коришћен непараметарски Ман Витни тест (енгл. *Mann-Whitney U Test* - MW-U тест), којим се пореде одабрани биолошки параметри добијени анализом узорака прикупљених двома различитим методама узорковања, које у овом случају представљају независне варијабле.

Из статистичке анализе изузети су биолошки параметри са ADS истраживања, јер је поређење техника узорковања обухватило мањи део испитиваног тока, па се сматра да статистички показатељи не би дали праву слику о две поређене методе.

У обзир су узети следећи биолошки параметри:

- Параметри диверзитета (укупна абунданца заједнице, укупан број таксона/врста, родова и фамилија по узорку, број осетљивих таксона по узорку, број таксона унутар главних таксономских група макробескичмењака по узорку, број индивидуа унутар главних таксономских група по узорку, ЕРТ индекс, H' индекс (Shannon и Weaver, 1949)),
- Параметри унутар функционалних група (процентуално учешће FFG (Cummins и Klug, 1979), процентуално учешће таксона унутар функционалних група са дефинисаном преференцом за одређени тип микростаништа)
- Процентуално учешће таксона са дефинисаном сапробном валенцом (Pantle и Buck, 1955),
- Сапробна валенца - X (Zelinka и Marvan, 1961),

- BMWP и ASPT скор (Armitage и сар., 1983).

Утрошак времена за сваки анализирани сет података, узет двема различитим методама узорковања које се пореде, приказан је табеларно. Време потребно за прикупљање података о локалитетима (подлоге, ширине и дубине тока, ниво хидроморфолошке деградације, итд) није узето у разматрање. Разматрано је прикупљање узорака, смањење обима узорака (елиминација крупнијих делова), паковање узорка и фиксирање. Ефикасност времена узорковања реке Саве није разматрана, јер се у овом случају пореде подаци узети истом методом узорковања са различитог типа подлоге.

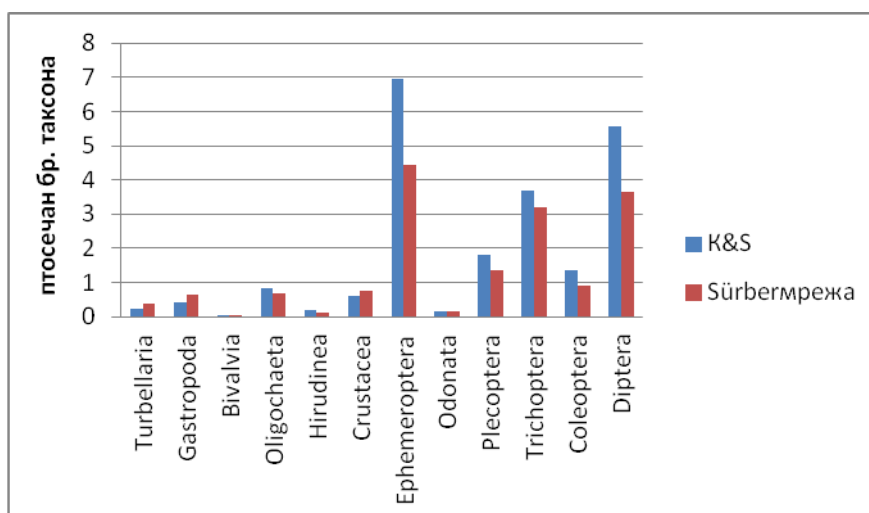
Како би се оценила финансијска ефикасност разматраних техника узорковања, поред временске компоненте, анализиран је и потребан број људи за прикупљање узорака, транспорт опреме и људи, као и време потребно за обраду материјала.

4. РЕЗУЛТАТИ

У наредном делу текста, приказани су резултати истраживања, систематизовани према испитиваном типу екосистема и коришћеним техникама узорковања.

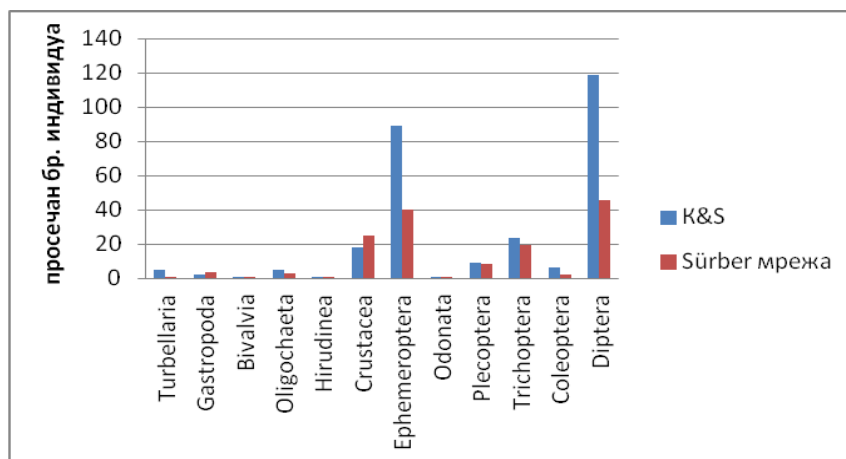
4.1. Поређење методологије узорковања на брдско-планинским текућицама

На основу прикупљеног материјала из испитиваних брдско-планинских текућица, идентификовано је више од 270 врста водених макробескичмењака. Инсекти су најразноврснија група, а међу њима се издвајају групе Ephemeroptera, Diptera и Trichoptera, као главне компоненте заједнице водених макробескичмењака у испитиваном типу вода (слика 13).



Слика 13. Приказ просечног броја таксона унутар група макробескичмењака прикупљених K&S методом и *Sürber* мрежом

На слици 14 дат је приказ просечног броја индивидуа у оквиру детерминисаних група макробескичмењака прикупљених двама различитим техникама узорковања, K&S методом и *Sürber* мрежом, где се могу уочити разлике у бројности две најзаступљеније инсекатске групе, Ephemeroptera и Diptera. Разлике у просечном броју таксона и просечном броју индивидуа код других таксономских група, прикупљених различитим методама узорковања, нису значајне.



Слика 14. Просечан број индивидуа унутар група макробескичмењака прикупљених K&S методом и *Sürber* мрежом

Међу идентификованим врстама преобладавају организама који указују на бета-месосапробни степен органског загађења (21,78%). Следе групе, показатељи олигосапробног (13,3%) и алфамезосапробног (8,3%) загађења. Ксеносапробна и полисапробна група организама заступљена је са мање од 5%. Анализом односа у заједници у оквиру функционалних група у исхрани, најзаступљенији су сакупљачи са 28,9% и кидачи/стругачи са 27,01%, што је више од половине од укупног броја забележених врста. Остатак чине представници група секача и предатора чија је појединачна процентуална заступљеност испод 10%, што је очекивано за овакав тип текућица и у складу је са концептом речног континуума (енгл. *River Continuum Concept*) (Vannote и сар., 1980).

Параметари коришћени за поређење ефикасности два приступа за узимање узорка искључују функционалне групе организама везане за одређени тип подлоге, јер сви анализирани локалитети припадају истом типу, брдских и планинских, малих и средњих токова, са доминацијом крупне подлоге.

На основу резултата MW-U теста, којим су анализирани две технике узимања узорка (табела 4), уочава се да следећи параметри показују статистички значајну разлику ($p < 0,05$): укупна абунданца, укупан број таксона, број фамилија и родова, број осетљивих таксона, број таксона унутар група Ephemeroptera, Coleoptera и Diptera као и број ЕРТ-таксона, број индивидуа у оквиру група Ephemeroptera, Plecoptera, Coleoptera и Diptera. Процентуални удео кидача и стругача у оквиру две технике узорковања је

значајно другачија. Остали анализирани параметри нису показали статистички значајне разлике у два различита сета узорка.

Табела 4. Резултати MW–U теста којим су поређена два сета параметара добијених анализом узорка узетих K&S метода и Sürber мрежом на брдско-планинским текућицама (црвено – статистички значајне вредности за $p < 0,05$)

Биолошки параметри	U	Z	P - вредност	Z	P- вредност
Абунданца [ind/m ²]	773,500	2,117985	0,034177	2,118024	0,034174
Број таксона	645,000	3,122269	0,001795	3,125559	0,001775
Број фамилија	670,000	2,92688	0,003424	2,93504	0,003335
Број родова	677,500	2,86827	0,004128	2,87274	0,004070
Број осетљивих таксона (Аустрија)	738,500	2,39153	0,016779	2,41107	0,015907
Сапробни индекс (Zelinka и Marvan)	921,500	0,824696	0,409545	0,824702	0,409541
Shannon индекс диверзитета	818,000	1,770198	0,076695	1,770204	0,076694
BMWP скор	703,500	2,665066	0,007698	2,665513	0,007687
ASPT	806,000	1,863983	0,062325	1,864282	0,062283
Број таксона Turbellaria	897,500	-1,14887	0,250610	-1,51062	0,130887
Број таксона Gastropoda	943,000	-0,79327	0,427623	-0,91719	0,359043
Број таксона Bivalvia	1034,500	0,07815	0,937705	0,25537	0,798438
Број таксона Oligochaeta	1010,000	0,26963	0,787443	0,29544	0,767657
Број таксона Hirudinea	990,000	0,42594	0,670151	0,66794	0,504174
Број таксона Crustacea	1033,500	-0,08597	0,931490	-0,09559	0,923847
Број таксона Ephemeroptera	598,500	3,48569	0,000491	3,50332	0,000460
Број таксона Odonata	1032,000	0,09769	0,922176	0,16241	0,870986
Број таксона Plecoptera	819,500	1,75847	0,078668	1,80959	0,070360
Број таксона Trichoptera	876,500	1,31299	0,189186	1,32425	0,185421
Број таксона Coleoptera	791,500	1,97731	0,048008	2,06021	0,039379
Број таксона Diptera	560,500	3,78267	0,000155	3,82227	0,000132
ЕРТ-таксони	690,000	2,77057	0,005596	2,77500	0,005521
Број индивидуа Turbellaria	938,500	-0,82844	0,407424	-1,07924	0,280480
Број индивидуа Gastropoda	916,500	-1,00038	0,317129	-1,13426	0,256687
Број индивидуа Bivalvia	1034,000	0,08206	0,934597	0,26811	0,788618
Број индивидуа Oligochaeta	981,000	0,49628	0,619697	0,52899	0,596813
Број индивидуа Hirudinea	995,500	0,38296	0,701752	0,59850	0,549505
Број индивидуа Crustacea	1018,500	0,20320	0,838978	0,21345	0,830973
Број индивидуа Ephemeroptera	708,500	2,62599	0,008640	2,62634	0,008631
Број индивидуа Odonata	1035,500	0,07034	0,943924	0,11674	0,907067
Број индивидуа Plecoptera	786,000	2,02029	0,043354	2,03422	0,041930
Број индивидуа Trichoptera	866,000	1,39506	0,163000	1,39710	0,162384
Број индивидуа Coleoptera	761,000	2,21568	0,026714	2,27089	0,023154
Број индивидуа Diptera	781,000	2,05937	0,039460	2,06022	0,039378
ксеносапробни организми [%]	955,500	-0,695574	0,486696	-0,696758	0,485955

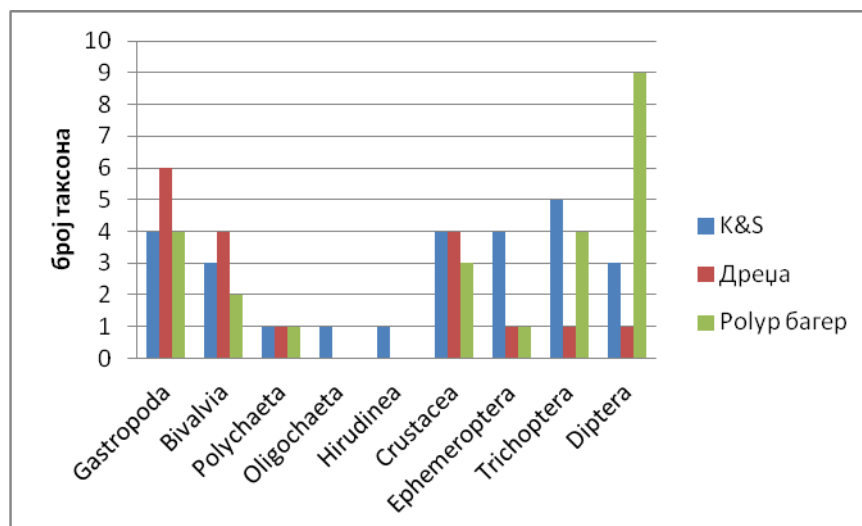
олигосапробни организми [%]	1017,000	-0,214925	0,829826	-0,214929	0,829823
бетамезосапробни организми [%]	1001,000	0,339972	0,733878	0,339972	0,733878
алфамезосапробни организми [%]	1018,000	-0,207109	0,835925	-0,207110	0,835924
полисапробни организми [%]	994,500	0,390772	0,695966	0,500690	0,616589
[%] Стругачи	785,000	2,02811	0,042550	2,02812	0,042549
[%] Секачи	948,000	0,75419	0,450736	0,75481	0,450364
[%] Колектори	905,000	1,09025	0,275602	1,09025	0,275602
[%] Филтратори	931,000	0,88705	0,375051	0,88745	0,374836

4.2. Поређење методологије узорковања на реци Дунав (*Aquaterra* експедиција)

На прва два локалитета *Aquaterra* експедиције примењене су све три наведене методе узорковања (K&S, хидраулични *polyp* багер и дреца). Узорковање хидрауличним *polyp* багером и K&S методом у приобалној зони вршено је истовремено, док се узорковање дрецом вршило након завршетка прве две процедуре.

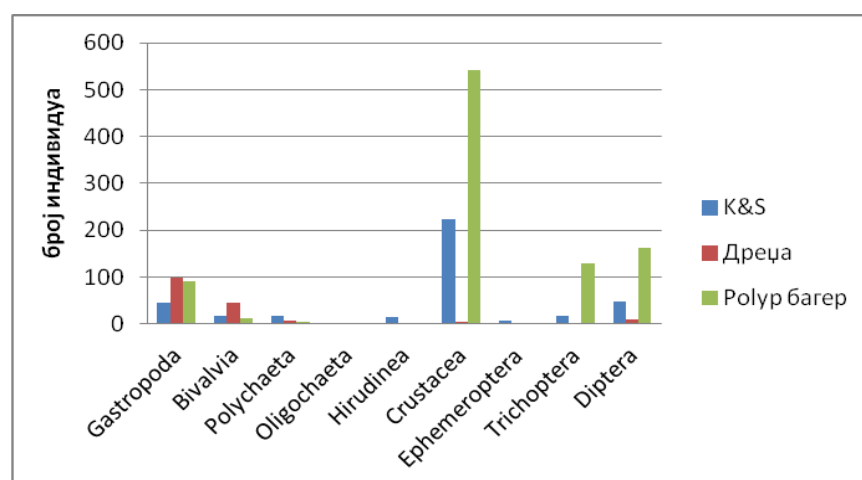
На терену је закључено је да је за узорковање дрецом потребно пуно времена, и да би то утицало на целокупан процес узорковања током овог истраживања, тако да није коришћено у даљем току узорковања на локалитетима од ADS 3 до ADS 30. Узорковање хидрауличним *polyp* багером и K&S метода примењене су истовремено на локалитетима од ADS 1 до ADS 18. У наставку експедиције коришћена је само K&S метода (Slobodnik, 2005).

Анализа узорака са прва два локалитета (ADS 1- 2), прикупљених применом све три поменуте методе узорковања, показује да су групе Crustace и Insecta, најзаступљеније и таксономски најбогатије групе у горњем делу Дунава. У оквиру инсекатских група на два испитивана локалитета доминирају таксони Diptera, посебно Chironomidae, Trichoptera и Ephemeroptera. Следе Mollusca у оквиру којих је група Gastropoda бројнија од групе Bivalvia. Остале забележене групе су мање заступљене (Polychaeta, Oligochaeta и Hirudinea). Ефикасност узорковања три технике приказан је као број таксона у оквиру идентификованих група на слици 15 и као број индивидуа у оквиру идентификованих група (слика 16). Уочава се да узорковање дрецом није било најефикаснија метода у погледу забележених инсекатских група на датим локалитетима. У случају K&S методе број поменутих таксона и индивидуа у оквиру ових таксономских група био је већи.



Слика 15. Број таксона унутар група макробескичмењака прикупљених K&S методом, дрецом и хидрауличним *polyp* багером (ADS 1-2)

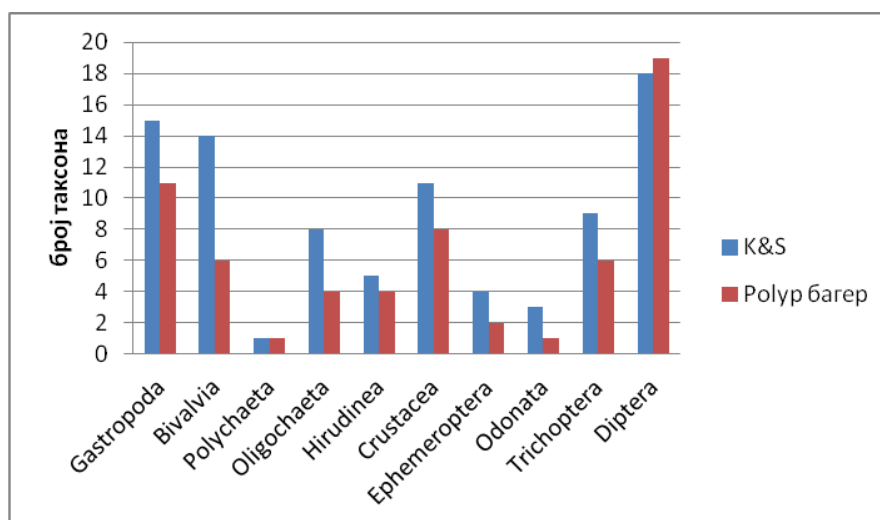
K&S методом узорковања прикупљено је укупно 10 таксона из групе Crustacea, а дрецом и багером 7 таксона. K&S методом прикупљено је 12 инсекатских таксона, багером 14, а дрецом само 3 представника ове групе. Узимајући у обзир број индивидуа у оквиру група ситуација је слична. Преко 200 индивидуа Crustacea је прикупљено K&S методом, односно 500 *polyp* багером. Из дреце је издвојено свега 5 индивидуа. Број индивидуа групе Mollusca био је значајанији у случају узорковања дрецом (Gastropoda 99, Bivalvia 46). Значајан број индивидуа поменуте групе забележен је и у узорцима прикупљеним K&S методом (Gastropoda 45, Bivalvia 16) и *polyp* багером (Gastropoda 91, Bivalvia 13) (слика 16).



Слика 16. Број индивидуа унутар група макробескичмењака прикупљених K&S методом, дрецом и хидрауличним *polyp* багером (ADS 1-2)

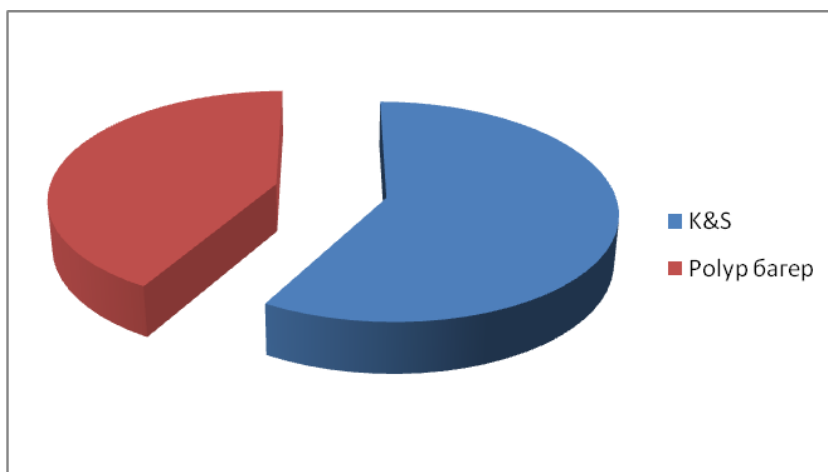
Узорковање дрецом је најефикасније за прикупљање *Gastropoda* и *Bivalvia*, али на прва два локалитета ови организми не представљају значајне групе у оквиру заједнице водених макробескичмењака. То се може објаснити саставом подлоге у овом делу Дунава, која се састоји углавном од песка, ситнијег и крупнијег камена (шљунковита/каменита), те нису заступљена станишта погодна за поменуте групе организама.

Узорковање хидрауличним *polyp* багером и K&S техником вршено је паралелно на локалитетима од ADS 1 до ADS 18. Резултати ове две методе узорковања поређени су како би се анализирала њихова ефикасност. Детаљни резултати о броју таксона приказани су на слици 17.



Слика 17. Број таксона унутар група макробескичмењака прикупљених K&S методом и хидрауличним *polyp* багером (ADS 1-18)

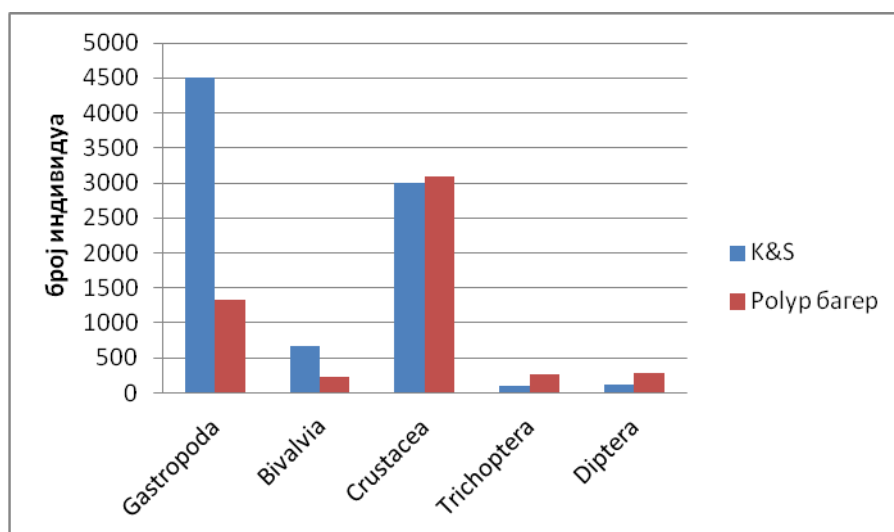
На слици 18 се уочава да је K&S метода ефикаснија кад је у питању броја таксона макробескичмењака у оквиру најзаступљенијих таксономских група. Постоји значајна разлика у укупном броју таксона између ове две методе узорковања. Укупно 74 таксона је забележено након обраде узорака прикупљених K&S методом. Анализом узорака прикупљених багером забележено је укупно 53 таксона (слика 18).



Слика 18. Укупан број таксона у узорцима прикупљеним К&S методом и хидрауличним *polyp* багером (ADS 1-18)

Начелно, може се закључити да постоји око 10-20% разлике између ефикасности ове два технике узорковања, осим кад су у питању врсте из група *Bivalvia*, јер је ефикасност К&S методе дупло већа од узорковања багером. Ово се може објаснити тиме што је уз К&S узорковање обављено додатно претраживање терена рођењем, што је веома важан део ове методе због специфичне дистрибуције врста из групе *Bivalvia*.

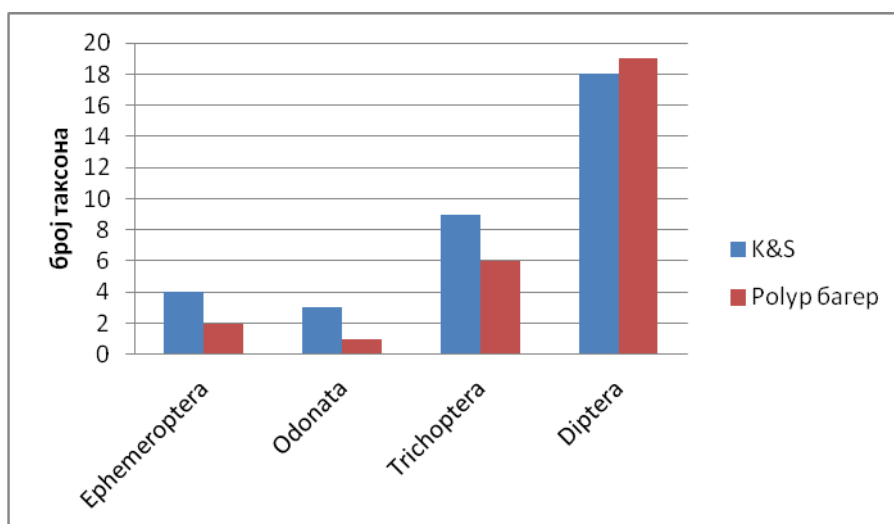
На слици 19 приказан је број индивидуа у оквиру најзаступљенијих таксономских група где се јасно уочава да не постоје значајне разлике у бројности идентификованих таксономских група прикупљених двема техникама, осим код групе *Gastropoda*. Три пута више примерака је било присутно у узорцима прикупљеним К&S техником него у узорцима прикупљеним *polyp* багером. Ово се може објаснити тиме што најзаступљенија врста *Gastropoda* у Дунаву, *Lithoglyphus naticoides* (Pfeiffer, 1828), преферира подлогу са меким наносом седимента. Багером се захвата подлога која садржи углавном крупно камење, у којој су представници ове групе слабије заступљени. Подлога богата седиментом начелно је искључена из узорака прикупљених хидрауличним багером, те у овом случају узорци узети К&S методом садрже више група организама које су бројније.



Слика 19. Број индивидуа унутар најзаступљенијих група макробескичмењака прикупљених K&S методом и хидрауличним *polyp* багером (ADS 1-18)

Поред Gastropoda, Crustacea представља једну од најзаступљенијих група макробескичмењака у Дунаву. Није забележена значајна разлика у ефикасности узорковања ове групе у оквиру две испитиване методе узорковања.

Слика 20 илуструје бројност таксона у оквиру инсекатских група узоркованих два методама. Нису идентификоване значајне разлике појединачне бројности у оквиру група сем код Trichoptera и Ephemeroptera.

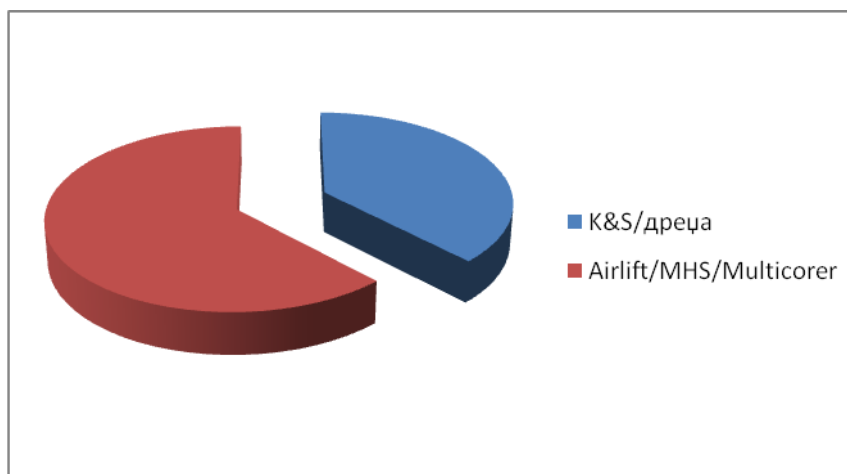


Слика 20. Број таксона унутар инсекатских група макробескичмењака прикупљених K&S методом и хидрауличним *polyp* багером (ADS 1-18)

Тешко је дати конкретан закључак о односу ове три методе узорковања због чињенице да постоје велике разлике везане за део реке који се узоркује сваком методом. Подаци за све три методе постоје само са два локалитета који се налазе на најузводнијем делу испитиваног подручја реке Дунав. Треба нагласити да је потребна прецизнија и детаљнија примена узорковања дрецом за анализирање њених могућности. У одређеним условима (поплаве) овај приступ може бити једина практична метода узорковања за испитивање тако велике реке као што је Дунав.

4.3. Поређење методологије узорковања на реци Дунав (JDS 2 експедиција)

Анализом свих узорака прикупљених током JDS 2 истраживања свим коришћеним методама узорковања (*Air-lift*, *Multicorer*, MHS, K&S и дреца) забележен је укупно 441 таксон водених макробескичмењака. *Air-lift*/MHS/*Multicorer* методама прикупљено је 362 таксона, а 220 таксона K&S/дреца методама (слика 21).



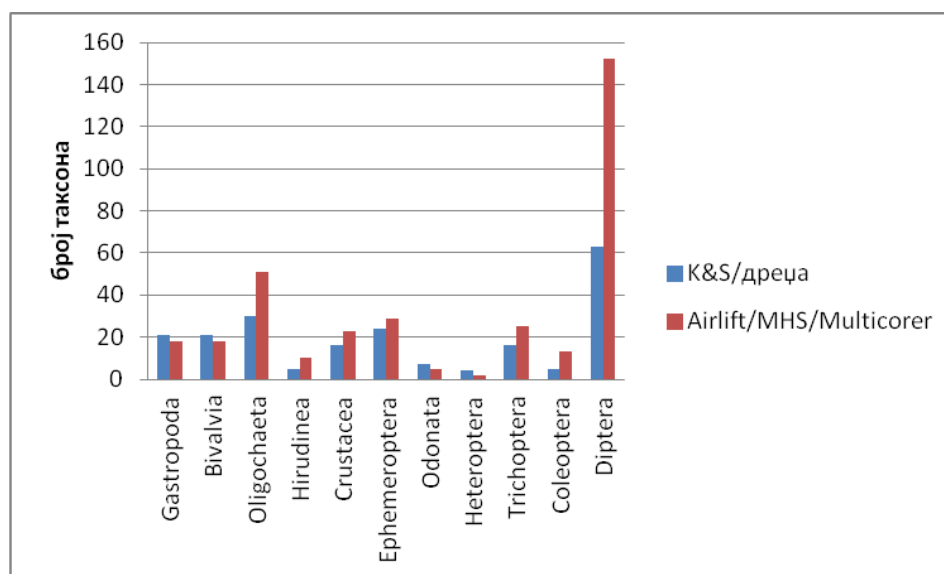
Слика 21. Укупан број таксона у узорцима прикупљеним K&S/дрецa и *Air-lift*/MHS/*Multicorer* методама (JDS 2)

Међу идентификованим врстама превађавају организми који толеришу алфа- (66,83%) и бета-мезосапробни (20,36%) степен органског загађења. Ксеносапробна, олигосапробна и полисапробна група организама заступљена је са мање од 10 %.

Анализом односа у заједници, у оквиру функционалних група у исхрани, стругачи се издвајају као доминантна група са процентуалним учешћем од 67,82%, док

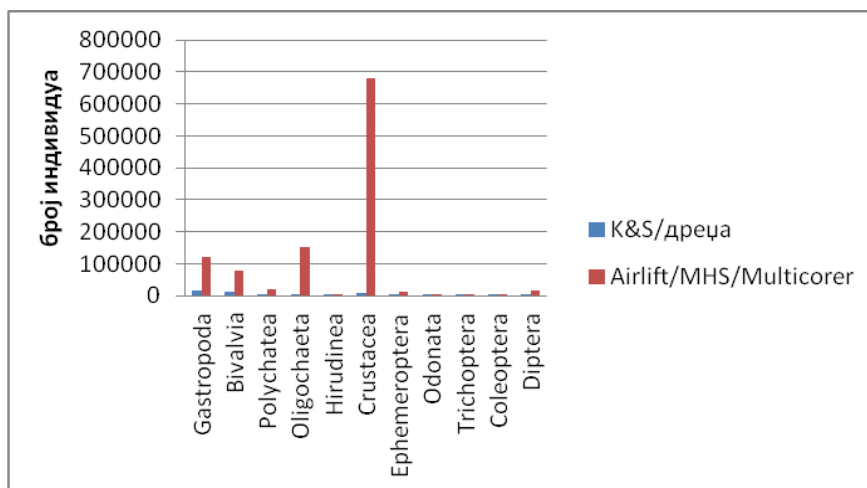
су остале групе готово подједнако заступљене у анализираној заједници (предатори – 16,93%, сакупљачи -12,34%, секачи – 11,74%).

Најразноврсније групе биле су Diptera (174 таксона) и Oligochaeta (53 таксона), следе групе Ephemeroptera (42 врста), Trichoptera (35 таксона) и Mollusca (Bivalvia са 26 таксона, Gastropoda са 27 таксона). Забележене су и групе Coleoptera (17 таксона), Amphipoda (13 таксона) и Hirudinea (11 таксона). Остале нађене групе су мање разноврсне. Ови подаци се односе се на испитивани део тока Дунава, с тим да се број инсекатских група значајно смањује идући низводно.



Слика 22. Број таксона унутар најзаступљенијих група макробескичмењака прикупљених K&S/дреца и *Air-lift/MHS/Multicorer* методама (JDS 2)

Поређењем сета података у узорцима прикупљеним *Air-lift/MHS/Multicorer* методама забележен је велики број таксона унутар група Oligochaeta и Diptera (фамилија Chironomidae чини већину забележених Diptera). Већина других група такође је ефикасно прикупљена овим методама. K&S/дреца методе узорковања биле су ефикасније за прикупљање група Mollusca, Odonata и Heteroptera (слика 22).



Слика 23. Број индивидуа унутар најзаступљенијих група макробескичмењака прикупљених К&S/дреца и *Air-lift/MHS/Multicorer* методама (JDS 2)

Унутар најзаступљенијих група забележена је значајна бројност индивидуа у оквиру Crustacea, Oligochaeta, Gastropoda и Bivalvia у узорцима прикупљеним *Air-lift/MHS/Multicorer* методама у односу на К&S/дреца узорке (слика 23).

Поређење метода *Air-lift/MHS/Multicorer* и К&S/дреца је тешко, јер се два приступа не разликују само технички, већ и у погледу узорковања различитих просторних зона реке што показују и резултати MW - U теста приказани у табели 5. Уочава се да већина анализираних биолошких параметара показује статистички значајну разлику ($p < 0,05$).

Табела 5. Резултати MW–U теста којим су поређена два сета параметара добијених анализом узорака узетих *Air-lift/MHS/Multicorer* и К&S/дреца - Дунав JDS 2 (црвено – статистички значајне вредности за $p < 0,05$)

Биолошки параметри	U	Z	P-вредност	Z	P-вредност
Абунданца [ind/m ²]	262,000	-9,58664	0,000000	-9,58664	0,000000
Број таксона	2564,500	0,93216	0,351252	0,93294	0,350852
Број фамилија	2563,000	-0,93780	0,348347	-0,94135	0,346528
Број родова	2782,500	0,11276	0,910219	0,11298	0,910047
Број осетљивих таксона	1170,500	6,17183	0,000000	6,37096	0,000000
Сапробни индекс (Zelinka и Marvan)	272,000	9,54905	0,000000	9,54912	0,000000
Shannon индекс диверзитета	670,000	8,05307	0,000000	8,05307	0,000000
BMWP Скор	1755,000	3,97485	0,000070	3,97661	0,000070
ASPT	840,500	7,41221	0,000000	7,41455	0,000000
Број таксона Porifera	2550,000	-0,98667	0,323807	-2,02469	0,042900
Број таксона Turbellaria	2812,500	0,00000	1,000000	0,00000	1,000000

Број таксона Nematoda	1875,000	-3,52381	0,000425	-5,45894	0,000000
Број таксона Gastropoda	843,500	7,40094	0,000000	7,50256	0,000000
Број таксона Bivalvia	902,500	7,17917	0,000000	7,28255	0,000000
Број таксона Polychaeta	1575,000	-4,65143	0,000003	-5,46698	0,000000
Број таксона Oligochaeta	1972,500	-3,15733	0,001592	-3,17591	0,001494
Број таксона Hirudinea	2542,000	-1,01674	0,309280	-1,40824	0,159062
Број таксона Crustacea	1562,000	-4,70029	0,000003	-4,75018	0,000002
Број таксона Ephemeroptera	2724,500	-0,33077	0,740820	-0,54868	0,583229
Број таксона Odonata	1896,000	3,44487	0,000571	4,24084	0,000022
Број таксона Plecoptera	2775,500	-0,13907	0,889393	-0,57349	0,566314
Број таксона Heteroptera	2737,500	-0,28190	0,778017	-1,01022	0,312390
Број таксона Megaloptera	2775,000	0,14095	0,887908	1,00000	0,317311
Број таксона Trichoptera	2379,000	-1,62941	0,103228	-1,96608	0,049290
Број таксона Coleoptera	2036,000	-2,91865	0,003516	-4,67152	0,000003
Број таксона Diptera	2783,000	-0,11088	0,911710	-0,11194	0,910872
Број таксона Bryozoa	2662,500	0,56381	0,572884	2,02044	0,043338
ЕРТ-Таксони	2324,500	-1,83426	0,066616	-2,07065	0,038392
Број индивидуа Porifera	2535,000	-1,0430	0,296927	-2,1376	0,032547
Број индивидуа Turbellaria	2812,500	0,0000	1,000000	0,0000	1,000000
Број индивидуа Nematoda	1875,000	-3,5238	0,000425	-5,4291	0,000000
Број индивидуа Gastropoda	2172,500	2,4056	0,016147	2,4064	0,016109
Број индивидуа Bivalvia	1779,500	-3,8828	0,000103	-3,8828	0,000103
Број индивидуа Polychaeta	1353,000	-5,4859	0,000000	-6,1679	0,000000
Број индивидуа Oligochaeta	113,500	-10,1448	0,000000	-10,1617	0,000000
Број индивидуа Hirudinea	2463,000	-1,3137	0,188956	-1,8125	0,069914
Број индивидуа Crustacea	917,500	-7,1228	0,000000	-7,1233	0,000000
Број индивидуа Ephemeroptera	2687,000	-0,4717	0,637127	-0,7820	0,434238
Број индивидуа Odonata	2089,000	2,7194	0,006540	3,3084	0,000938
Број индивидуа Plecoptera	2776,000	-0,1372	0,890878	-0,5657	0,571578
Број индивидуа Heteroptera	2739,000	-0,2763	0,782344	-0,9899	0,322216
Број индивидуа Megaloptera	2775,000	0,1410	0,887908	1,0000	0,317311
Број индивидуа Trichoptera	2247,500	-2,1237	0,033698	-2,5484	0,010823
Број индивидуа Coleoptera	2032,500	-2,9318	0,003370	-4,6771	0,000003
Број индивидуа Diptera	1603,000	-4,5462	0,000005	-4,5713	0,000005
Број индивидуа Bryozoa	2662,500	0,5638	0,572884	2,0204	0,043338
ксеносапробни организми [%]	1861,500	-3,57455	0,000351	-4,44353	0,000009
олигосапробни организми [%]	867,500	7,31073	0,000000	7,31073	0,000000
бетамезосапробни организми [%]	158,000	9,97754	0,000000	9,97756	0,000000
алфамезосапробни организми [%]	522,000	8,60937	0,000000	8,60937	0,000000
полисапробни организми [%]	2507,500	-1,14641	0,251626	-1,15016	0,250080
[%] Стругачи	364,500	9,20137	0,000000	9,20137	0,000000
[%] Секачи	356,500	9,23144	0,000000	10,09247	0,000000
[%] Сакупљачи	371,000	9,17693	0,000000	9,17693	0,000000
[%] Филтратори	354,000	9,24083	0,000000	9,24083	0,000000
[%] Организми који насељавају муљ	687,000	7,989176	0,000000	7,989176	0,000000

[%] Организми који насељавају глину	876,000	7,278777	0,000000	7,284069	0,000000
[%] Организми који насељавају песак	444,000	8,902547	0,000000	8,902547	0,000000
[%] Организми који насељавају крупнији песак	2439,500	1,402006	0,160915	1,402014	0,160912
[%] Организми који насељавају шљунак/камен	822,000	7,481748	0,000000	7,481781	0,000000
[%] Организми који насељавају алге, маховина, макрофите	1692,500	4,209775	0,000026	4,210236	0,000026
[%] Организми који насељавају финозрнасту фракцију	1779,500	3,882766	0,000103	3,882887	0,000103

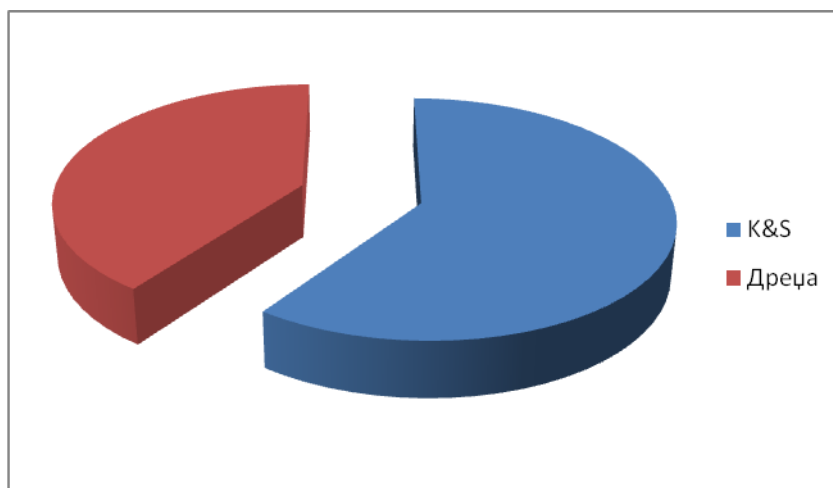
4.4 Поређење методологије узорковања на реци Дунав (JDS 3 истраживање)

Анализом узорака узетих свим методама узорковања (MHS, K&S метода, дреца) идентификовано је укупно 460 таксона. Инсектска група, са 319 таксона, је доминантна компонента заједнице макробескичмењака. Diptera са 222 таксона је најразноврснија група, од тога 200 врста припада фамилији Chironomidae. Остале забележене групе су: Oligochaeta (55 таксона), Mollusca (43 таксона - Bivalvia 23 и Gastropoda 20), Trichoptera (40 таксона), Ephemeroptera (32 таксона), Coleoptera (15 таксона), Amphipoda (15 таксона) и Odonata (13 таксона). Друге забележене таксономске групе биле су мање разноврсне.

Бета-мезосапробни организми су процентуално најзаступљенији у анализираној заједници макробескичмењака (32,54%). Процентуално учешће алфа-мезосапробних организама у испитиваној заједници је дупло мање (15,81%) Ксеносапробна, олигосапробна и полисапробна група организама била је заступљена са мање од 10 %.

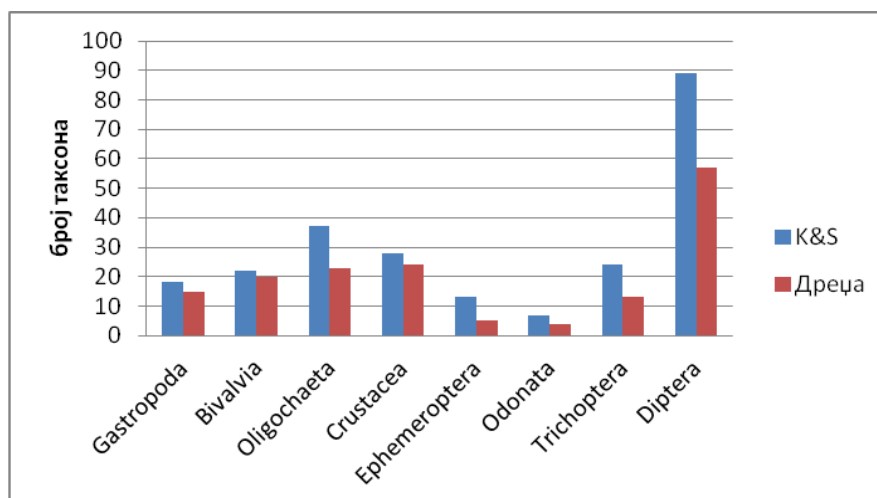
У оквиру функционалних група у исхрани очекивано су се издвојили сакупљачи као доминантна група у оквиру анализиране заједнице, са процентуалним учешћем од 67,44 %. Следе стругачи са процентуалним учешћем од 10,29 %, док су предатори и секачи заступљени са мање од 5%.

Мањи број таксона је забележен у дубљим зонама реке (дреча) него у узорцима из приобалне зоне прикупљеним K&S техником (слика 24). Ово се може објаснити чињеницом да се дубљи делови великих река одликују мањом густином и хомогеном насељеошћу, што је узроковано нестабилним условима седимента (Moog и сар., 2000; Csányi и сар., 2012).



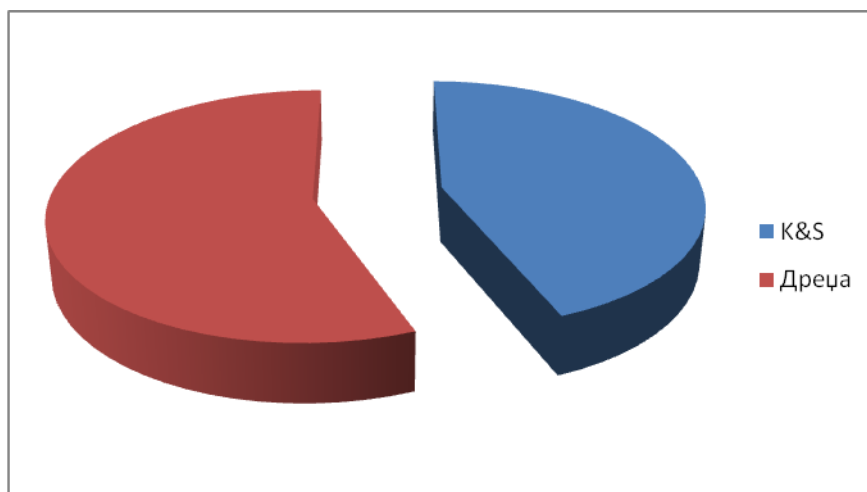
Слика 24. Укупан број таксона у узорцима прикупљеним К&S методом и дрецом (JDS 3)

На слици 25 се јасно уочава да су, сем групе Diptera, Trichoptera и Oligochaeta, остали таксони готово једнако заступљени у узорцима прикупљеним дрецом и К&S методом.



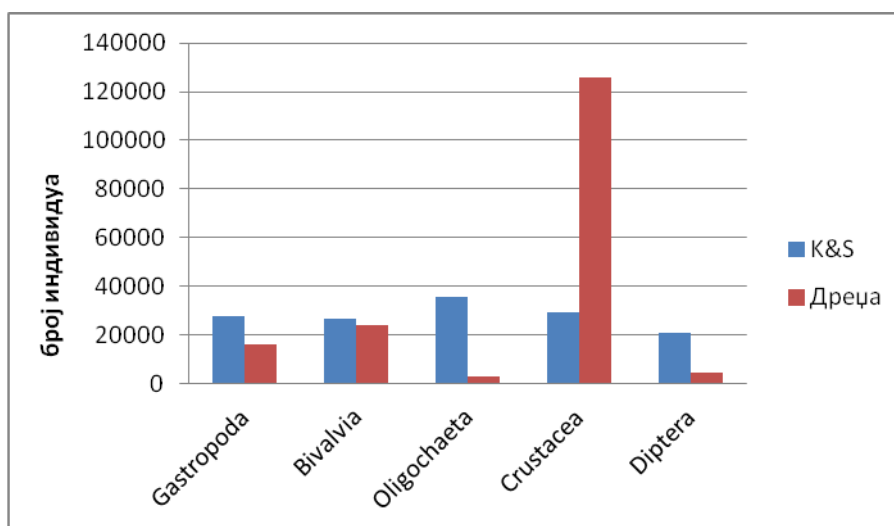
Слика 25. Број таксона унутар најзаступљенијих група макробескичмењака прикупљених К&S методом и дрецом (JDS 3)

Интересантан је однос укупног броја индивидуа у узорцима две поређене методе (слика 26). У узорцима прикупљеним дрецом забележен је већи број индивидуа.



Слика 26. Укупан број индивидуа у узорцима прикупљеним K&S методом и дреџом (JDS 3)

То се нарочито односи на бројност представника групе Crustacea који су изузетно бројни у узорцима прикупљеним дреџом, док је број представника група Oligochaeta и Diptera већи у узорцима прикупљеним K&S методом (слика 27). Код осталих забележених група није забележена значајна разлика у броју индивидуа у узорцима прикупљеним два анализираним методама.



Слика 27. Број индивидуа унутар најзаступљенијих група макробескичмењака прикупљених K&S методом и дреџом (JDS 3)

Поређењем података добијених током овог истраживања применом два приступа узорковања, као и у случају JDS 2 истраживања, јасно се уочава раздвајање метода, што су потврдили резултати MW-U теста приказани у табели 6, у којој се види

да већина анализираних биолошких параметара показује статистички значајну разлику ($p < 0,05$) што значи да се сваком методом обезбеђује узорковање јединствене фауне - фауна дубоких вода - дреца) и фауна приобалне зоне - K&S.

Табела 6. Резултати MW-U теста којим су поређена два сета параметара добијених анализом узорака узетих K&S методом и дрецом - Дунав JDS 3 (црвено – статистички значајне вредности за $p < 0,05$)

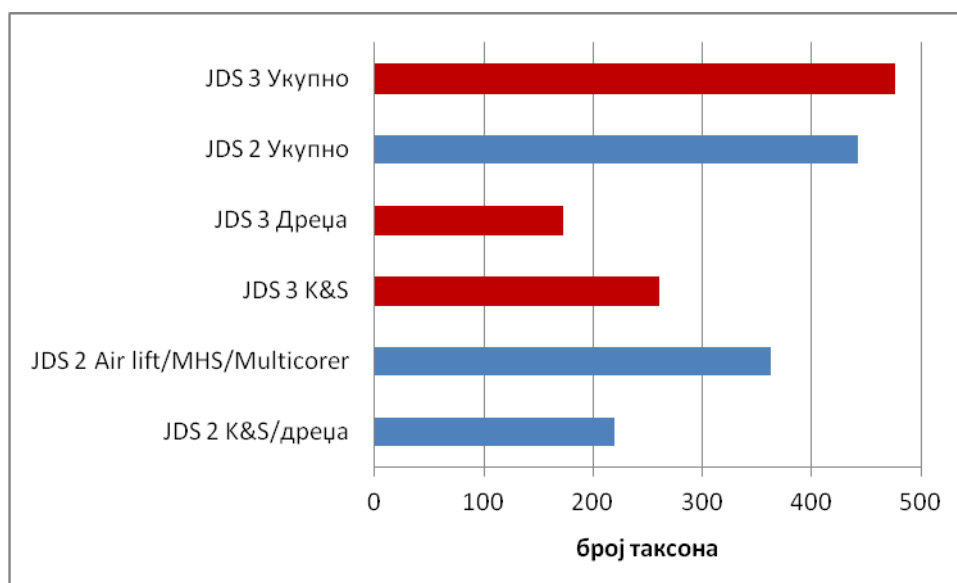
Биолошки параметри	U	Z	P- вредност	Z	P- вредност
Абунданца [ind/m ²]	1353,000	0,160228	0,872702	0,160229	0,872701
Број таксона	558,500	5,252270	0,000000	5,255145	0,000000
Број фамилија	752,000	4,01211	0,000060	4,02732	0,000056
Број родова	443,500	5,98932	0,000000	5,99333	0,000000
Број осетљивих таксона	966,000	2,640555	0,008277	2,740012	0,006144
Сапробни индекс (Zelinka и Marvan)	520,000	5,499021	0,000000	5,499092	0,000000
Shannon индекс диверзитета	670,500	4,534449	0,000006	4,534496	0,000006
BMWP Скор	1054,000	2,076553	0,037844	2,077561	0,037751
ASPT	1356,000	-0,141001	0,887870	-0,141085	0,887803
Број таксона Porifera	1272,000	0,67937	0,496906	2,04862	0,040500
Број таксона Turbellaria	1164,500	1,36835	0,171205	2,32391	0,020131
Број таксона Nematoda	1300,000	-0,49991	0,617138	-1,73237	0,083208
Број таксона Gastropoda	1256,500	0,77871	0,436153	0,78827	0,430537
Број таксона Bivalvia	872,000	3,24301	0,001183	3,27282	0,001065
Број таксона Polychaeta	1255,500	-0,78512	0,432386	-1,29436	0,195542
Број таксона Oligochaeta	397,500	6,28414	0,000000	6,32662	0,000000
Број таксона Hirudinea	1260,500	-0,75307	0,451408	-1,23917	0,215282
Број таксона Crustacea	1339,500	-0,24675	0,805101	-0,24887	0,803461
Број таксона Ephemeroptera	1335,000	0,27559	0,782862	0,34718	0,728460
Број таксона Odonata	1012,500	2,34253	0,019154	2,66595	0,007677
Број таксона Plecoptera	1377,500	0,00320	0,997443	0,01353	0,989201
Број таксона Heteroptera	1139,500	1,52857	0,126371	3,14926	0,001637
Број таксона Planipennia	1351,500	0,16984	0,865135	1,00957	0,312702
Број таксона Trichoptera	935,500	-2,83603	0,004568	-2,90120	0,003718
Број таксона Coleoptera	1245,000	0,85241	0,393986	1,97286	0,048512
Број таксона Diptera	465,500	5,84832	0,000000	5,86092	0,000000
ЕРТ-Таксони	1014,000	-2,33292	0,019653	-2,37522	0,017539
Број индивидуа Porifera	1272,000	0,67937	0,496906	2,04847	0,040515
Број индивидуа Turbellaria	1158,500	1,40680	0,159487	2,38408	0,017123
Број индивидуа Nematoda	1300,000	-0,49991	0,617138	-1,73221	0,083237
Број индивидуа Gastropoda	985,000	2,51878	0,011777	2,51902	0,011769
Број индивидуа Bivalvia	1037,000	2,18551	0,028852	2,18565	0,028842
Број индивидуа Polychaeta	1244,000	-0,85882	0,390440	-1,41156	0,158080
Број индивидуа Oligochaeta	397,000	6,28734	0,000000	6,30406	0,000000

Број индивидуа Hirudinea	1263,000	-0,73705	0,461094	-1,21201	0,225510
Број индивидуа Crustacea	816,000	-3,60192	0,000316	-3,60199	0,000316
Број индивидуа Ephemeroptera	1366,000	0,07691	0,938696	0,09659	0,923051
Број индивидуа Odonata	1035,000	2,19833	0,027927	2,45809	0,013968
Број индивидуа Plecoptera	1377,000	0,00641	0,994886	0,02707	0,978406
Број индивидуа Heteroptera	1139,500	1,52857	0,126371	3,14870	0,001640
Број индивидуа Planipennia	1351,500	0,16984	0,865135	1,00957	0,312702
Број индивидуа Trichoptera	653,000	-4,64661	0,000003	-4,69600	0,000003
Број индивидуа Coleoptera	1244,000	0,85882	0,390440	1,98670	0,046956
Број индивидуа Diptera	655,500	4,63059	0,000004	4,63188	0,000004
ксеносапробни организми [%]	1308,500	0,445434	0,656007	0,565331	0,571849
олигосапробни организми [%]	1233,500	0,926117	0,354386	0,926120	0,354385
бетамезосапробни организми [%]	1365,000	0,083318	0,933598	0,083318	0,933598
алфамезосапробни организми [%]	634,000	4,768382	0,000002	4,768382	0,000002
полисапробни организми [%]	301,000	6,902617	0,000000	6,904819	0,000000
[%] Стругачи	1070,000	1,974008	0,048382	1,974008	0,048382
[%] Секачи	1114,000	1,692006	0,090646	1,692099	0,090628
[%] Колектори	445,000	5,979705	0,000000	5,979705	0,000000
[%] Филтратори	429,000	6,082250	0,000000	6,082250	0,000000
[%] Предатори	1314,000	-0,410183	0,681672	-0,410186	0,681670
[%] Организми који насељавају муљ	431,000	6,06943	0,000000	6,06945	0,000000
[%] Организми који насељавају глину	870,500	3,25263	0,001144	3,25312	0,001142
[%] Организми који насељавају песак	410,000	6,20402	0,000000	6,20406	0,000000
[%] Организми који насељавају крупнији песак	532,500	5,41891	0,000000	5,41972	0,000000
[%] Организми који насељавају шљунак/камен	1164,000	-1,37155	0,170204	-1,37155	0,170204
[%] Организми који насељавају алге, маховина, макрофите	884,500	3,16290	0,001562	3,16291	0,001562
[%] Организми који насељавају финозрнасту фракцију	699,500	4,34858	0,000014	4,34861	0,000014

4.4.1. Поређење резултата добијених анализом различитих метода узорковања током JDS 2 и JDS 3 експедиције

Поређењем резултата добијених анализом различитих метода узорковања током JDS 2 и JDS 3 истраживања, узорци прикупљени *Air-lift/MHS/Multicorer* методама (JDS 2) показују већу сличност са узорцима прикупљеним дрецом (JDS 3), док су подаци о фауни, прикупљени K&S методом (JDS2 и JDS 3), у складу са чињеницом да се фауна дубљих делова реке разликује од приобалне фауне. *Airlift, Multicorer* и дреца, односно DWS методе покривају организме дубље речне зоне, док K&S метода покрива фауну приобаља (слика 28). Рзлика у укупном броју таксона прикупљених током JDS2 и JDS 3 истраживања, као и између узорака прикупљених K&S/дрца методом (JDS 3) и K&S техником (JDS 3) није значајна, али посматрајући методе појединачно, уочава се да је

највећи број таксона забележен у узорцима прикупљеним *Air-lift/MHS/Multicorer* техником узорковања (JDS 2).



Слика 28. Приказ поређења резултата добијених различитим методама узорковања током JDS2 и JDS 3 истраживања

4.5. Поређење методологије узорковања на реци Дунав – Ђердапски сектор (акумулација)

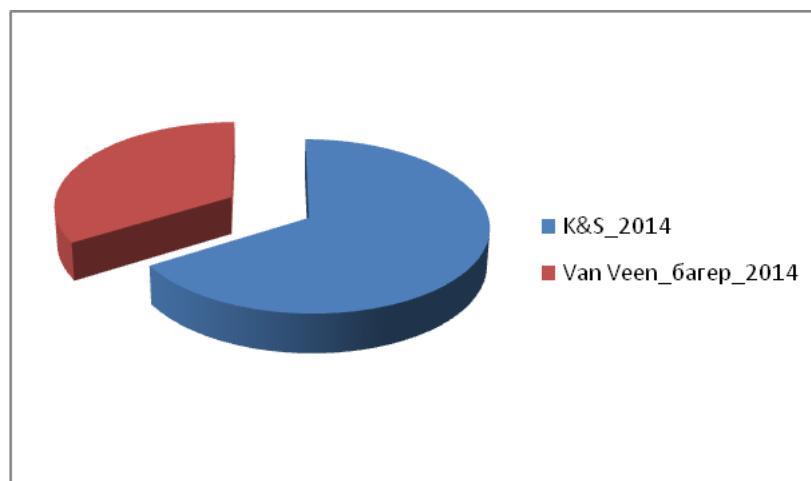
На испитиваним локалитетима Дунава у периоду ниских (септембар/октобар и новембар 2014. године) и високих вода (април и мај 2015. године), забележено је укупно 156 таксона у оквиру 16 таксономско-еколошких група.

Према еколошкој класификацији таксона, у односу на сапробну валенцу (Moog 2002), уочава се да за готово 50% организама није одређена сапробна валенца. Остатак анализираних заједнице припада бетамезосапробним организмима (20,73%). Приближно је слична бројност процентуалног учешћа алфамезосапробних (13,4%) и полисапробних организама (13,1%) који толеришу већи степен органског загађења. Процентуално учешће олигосапробних организама, који толеришу слабо органско загађење, је изузетно мало (4,7%)

За испитивани део Дунава, који је потамонског типа, очекиван је велики проценат учешћа сакупљача у анализираној заједници водених макробескичмењака и износи 80,57%. Процентуално учешће стругача у заједници износи приближно 8%, док су предатори заступљени са 3%. Овакав састав заједнице у оквиру функционалних група у исхрани поклапа се са концептом речног континуума (Vannote и сар., 1980).

4.6. Поређење методологија узорковања у периоду ниских вода на реци Дунав - Ђердапски сектор (акумулација)

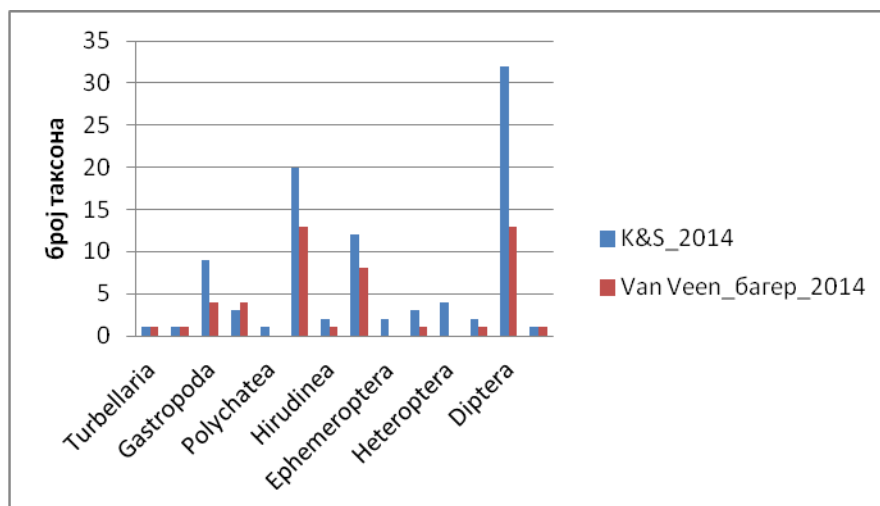
Током анализе узорака водених макробескичмењака прикупљених K&S методом и *Van Veen* багером, у периоду ниских вода (септембар/октобар и новембар 2014. године), забележено је укупно 102 таксона у оквиру 14 таксономских група. На слици 29 је приказан укупан број таксона прикупљених различитим техникама узорковања.



Слика 29. Укупан број таксона у узорцима прикупљеним K&S методом и *Van Veen* багером у периоду ниских вода (Дунав – Ђердап)

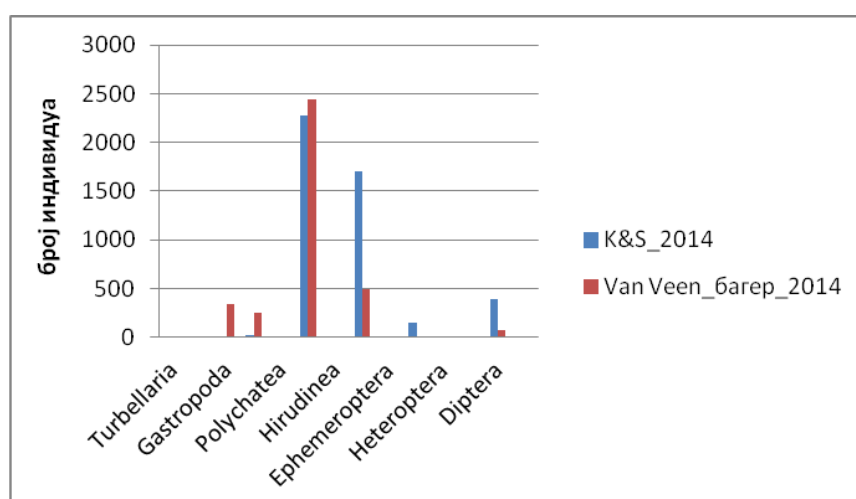
У узорцима прикупљеним у периоду ниских вода обема методама забележена је највећа разноврсност: Diptera са 36 забележених таксона, међу којима је најзначајнији удео фамилије Chironomidae са 25 таксона најбројнија, Oligochaeta са 22 и Crustacea са 12. Следи група Gastropoda са 9 таксона, док се остале групе одликују присуством мањег броја таксона (Heteroptera, Bivalvia и Odonata са 4, Trichoptera и Ephemeroptera са 2 и Hydrachnidia, Hirudinea, Polychatea, Nematoda и Turbellaria са по 1 забележеним таксоном).

На слици 30 је приказан број таксона унутар група у узорцима прикупљеним различитим методама у периоду ниских вода. Значајно већи број таксона Diptera, Gastropoda и Oligochaeta прикупљен је K&S методом. Остали забележени таксони, иако мање бројни углавном су заступљенији у узорцима прикупљени овом техником.



Слика 30. Број таксона унутар група макробескичмењака у узорцима прикупљеним К&S методом и *Van Veen* багером у периоду ниских вода (Дунав – Ђердап)

Интересантан је однос броја индивидуа унутар забележених група макробескичмењака у узорцима прикупљеним различитим методама. Уочава се велика разлика у броју индивидуа Crustacea у узорцима прикупљеним К&S методом у односу на узорке прикупљене *Van Veen* багером, као и удео инсекатске компоненте, што је и очекивано јер се узорковање овом методом врши у приобалном делу где се и налазе станишта која преферирају ове групе организама. У узорцима прикупљеним багером бројнији су пело- и аргилофилни представници група *Oligochaeta*, *Gastropoda* и *Bivalvia* (слика 31).



Слика 31. Број индивидуа унутар група макробескичмењака у узорцима прикупљеним К&S методом и *Van Veen* багером у периоду ниских вода (Дунав – „Ђердап”)

Поређењем сетова података добијених анализом узорака прикупљених у периоду ниских вода применом два приступа узорковања јасно се уочавају разлике, што су потврдили резултати MW-U теста приказани у табели 7, у којој се види да доста анализираних биолошких параметара показује статистички значајне разлике ($p < 0,05$).

Табела 7. Резултати MW-U теста којим су поређена два сета параметара добијених анализом узорака узетих K&S методом и *Van Veen* багером у периоду ниских вода (Дунав – „Ђердап”) (црвено – статистички значајне вредности за $p < 0,05$)

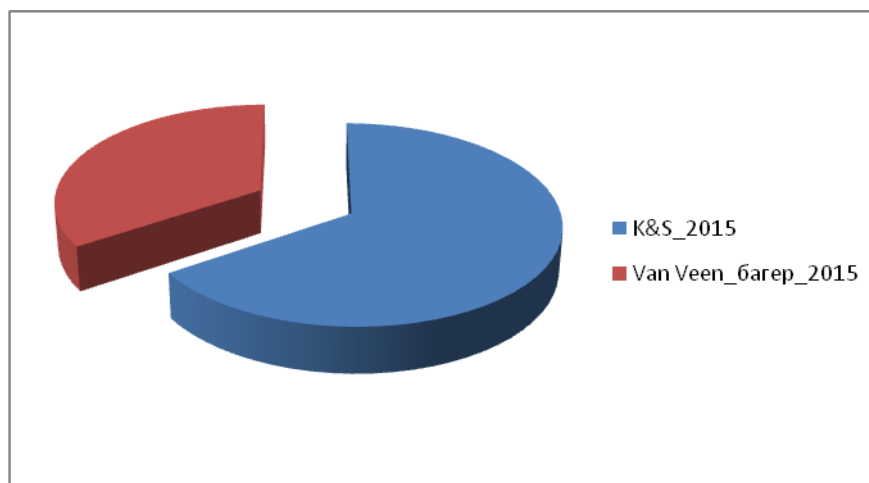
Биолошки параметри	U	Z	p-вредност	Z	p-вредност
Абунданца [ind/m ²]	82,5000	1,71485	0,086374	1,71516	0,086317
Број таксона	64,5000	2,39325	0,016701	2,39875	0,016452
Број фамилија	65,5000	2,355557	0,018496	2,369496	0,017813
Број родова	67,0000	2,299024	0,021504	2,307498	0,021028
Број осетљивих таксона	92,0000	1,35680	0,174845	1,59260	0,111252
Сапробни индекс (Zelinka и Marvan)	46,0000	-3,09049	0,001998	-3,09077	0,001997
Shannon индекс диверзитета	82,0000	1,73369	0,082974	1,73385	0,082946
BMWP Скор	73,0000	2,07289	0,038183	2,07976	0,037548
ASPT	55,0000	2,75129	0,005936	2,76092	0,005764
Број таксона Turbellaria	128,0000	0,000000	1,000000	0,000000	1,000000
Број таксона Nematoda	128,0000	0,000000	1,000000	0,000000	1,000000
Број таксона Gastropoda	95,0000	1,243734	0,213598	1,323248	0,185754
Број таксона Bivalvia	125,5000	-0,094222	0,924933	-0,109974	0,912430
Број таксона Polychaeta	120,0000	0,301511	0,763025	1,000000	0,317311
Број таксона Oligochaeta	111,5000	0,621867	0,534030	0,629411	0,529081
Број таксона Hirudinea	112,0000	0,603023	0,546494	1,052209	0,292705
Број таксона Crustacea	50,5000	2,920891	0,003491	2,982763	0,002857
Број таксона Ephemeroptera	112,0000	0,603023	0,546494	1,437591	0,150551
Број таксона Odonata	87,5000	1,526401	0,126911	2,122777	0,033773
Број таксона Heteroptera	104,0000	0,904534	0,365713	1,788214	0,073742
Број таксона Trichoptera	127,5000	0,018844	0,984965	0,044901	0,964186
Број таксона Diptera	66,5000	2,317868	0,020457	2,365159	0,018023
Број таксона Hydrachnidia	128,0000	0,000000	1,000000	0,000000	1,000000
ЕРТ-Таксони	119,0000	0,339200	0,734459	0,670580	0,502489
Број индивидуа Turbellaria	128,0000	0,000000	1,000000	0,000000	1,000000
Број индивидуа Nematoda	122,5000	0,207289	0,835784	0,252503	0,800652
Број индивидуа Gastropoda	93,0000	1,319112	0,187133	1,393649	0,163425
Број индивидуа Bivalvia	128,0000	0,000000	1,000000	0,000000	1,000000
Број индивидуа Polychaeta	120,0000	0,301511	0,763025	1,000000	0,317311
Број индивидуа Oligochaeta	123,5000	-0,169600	0,865325	-0,169678	0,865264
Број индивидуа Hirudinea	111,5000	0,621867	0,534030	1,083278	0,278686
Број индивидуа Crustacea	41,0000	3,278936	0,001042	3,330300	0,000868
Број индивидуа Ephemeroptera	112,0000	0,603023	0,546494	1,436842	0,150764

Број индивида Odonata	88,0000	1,507557	0,131669	2,083683	0,037190
Број индивида Heteroptera	104,0000	0,904534	0,365713	1,788214	0,073742
Број индивида Trichoptera	127,5000	-0,018844	0,984965	-0,044901	0,964186
Број индивида Diptera	73,0000	2,072890	0,038183	2,085350	0,037038
Број индивида Hydrachnidia	128,0000	0,000000	1,000000	0,000000	1,000000
ксеносапробни организми [%]	90,0000	1,43218	0,152094	1,97950	0,047761
олигосапробни организми [%]	26,0000	3,84427	0,000121	3,84780	0,000119
бетамезосапробни организми [%]	58,0000	2,63822	0,008335	2,63847	0,008329
алфамезосапробни организми [%]	39,0000	-3,35431	0,000796	-3,35585	0,000791
полисапробни организми [%]	49,0000	-2,97742	0,002907	-2,97879	0,002894
[%] Стругачи	86,5000	1,56409	0,117797	1,56928	0,116585
[%] Секачи	56,5000	2,69476	0,007044	2,73645	0,006211
[%] Колектори	33,5000	-3,56160	0,000369	-3,56520	0,000364
[%] Филтратори	33,0000	3,58045	0,000343	3,59199	0,000328
[%] Предатори	52,0000	2,86436	0,004179	2,87917	0,003987
[%] Организми који насељавају муљ	46,0000	-3,09049	0,001998	-3,09106	0,001995
[%] Организми који насељавају глину	124,0000	0,15076	0,880169	0,15487	0,876924
[%] Организми који насељавају песак	50,0000	-2,93974	0,003285	-2,94108	0,003271
[%] Организми који насељавају крупнији песак	93,0000	1,31911	0,187133	1,35524	0,175343
[%] Организми који насељавају шљунак/камен	101,0000	1,01760	0,308868	1,02286	0,306373
[%] Организми који насељавају алге, маховина, макрофите	70,5000	2,16711	0,030227	2,22625	0,025998
[%] Организми који насељавају финозрнасту фракцију	111,5000	-0,62187	0,534030	-0,62671	0,530850

4.7. Поређење методологија узорковања у периоду високих вода на реци Дунав - Ђердапски сектор (акумулација)

У узорцима водених макробескичмењака прикупљеним у периоду високих вода током (април-мај) 2015. године, забележен је 71 таксон у оквиру 10 таксономских група.

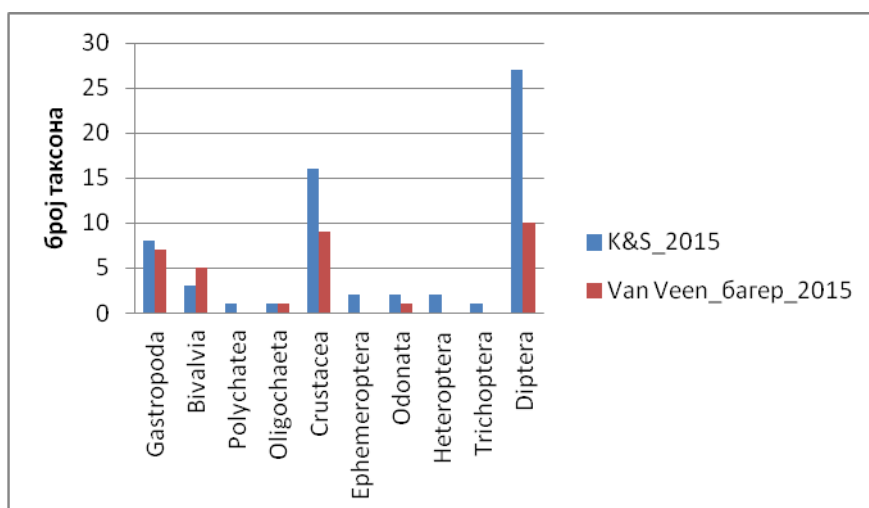
Слично као и у периоду ниских вода, укупан број таксона забележен у периоду високих вода, двома наведеним методама узорковања, показује значајну разлику у корист K&S методе (слика 32).



Слика 32. Укупан број таксона у узорцима прикупљеним К&S методом и *Van Veen* багером у периоду високих вода (Дунав – „Ђердап”)

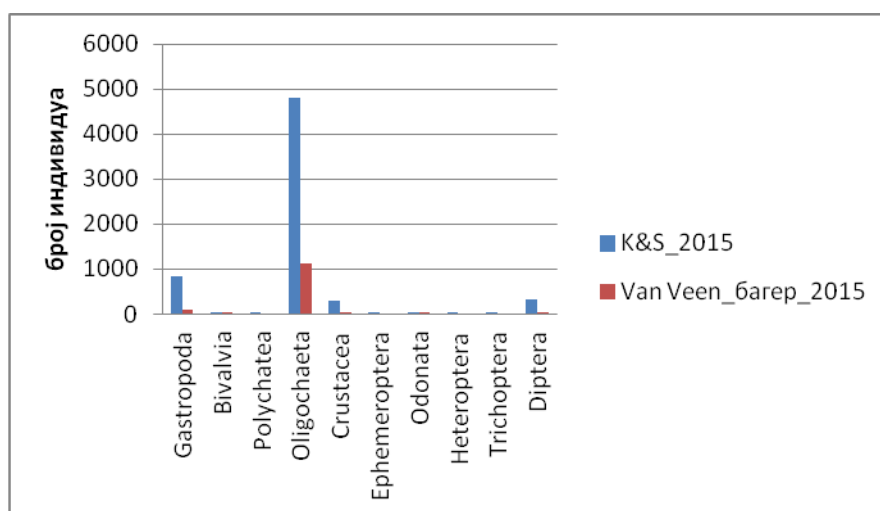
Најбројније групе биле су Diptera са 29 таксона (при чему је 27 таксона из фамилије Chironomidae), Crustacea са 17 и Gastropoda са 10 таксона, док се остале забележене групе одликују присуством мањег броја таксона (скика 33). Сличан је однос броја таксона унутар група анализираних узорка прикупљених два метода, у периоду ниских вода као код узорка прикупљених у периоду високих вода. У узорцима прикупљеним К&S методом приметно су бројнији таксони из група Diptera и Crustacea у односу на узорке узете багером.

ž



Слика 33. Број таксона унутар група макробескичмењака у узорцима прикупљеним К&S методом и *Van Veen* багером у периоду високих вода (Дунав – „Ђердап”)

На слици 34, на којој је приказан укупан број индивидуа прикупљених двема различитим методама узорковања. Уочава се да је значајно већи број индивидуа из групе Oligochaeta прикупљен K&S методом. Следе групе Gastropoda, Diptera и Crustacea, код којих је такође већи број индивидуа забележену узорцима прикупљеним K&S методом. Остале идентификоване групе су заступљене са мањим бројем индивидуа у узорцима прикупљеним обема техникама.



Слика 34. Број индивидуа унутар група макробескичмењака у узорцима прикупљеним K&S методом и Van Veen багером у периоду високих вода (Дунав – „Ђердап”)

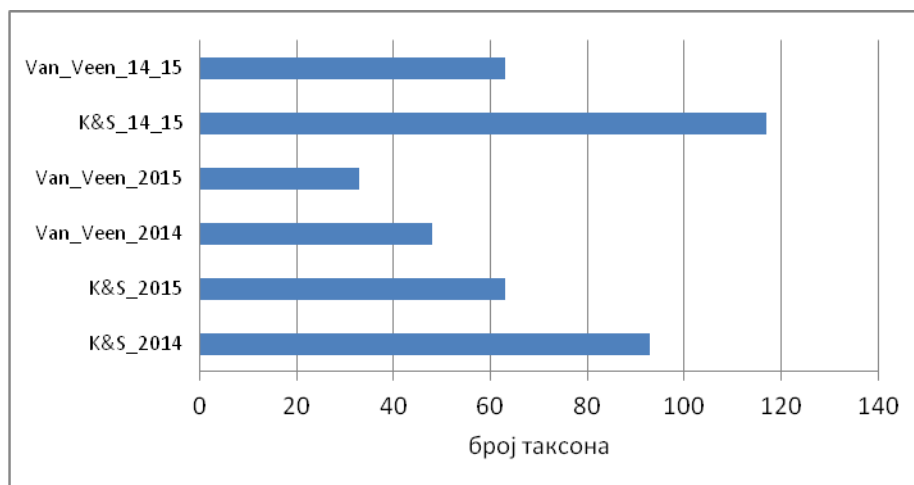
Резултати MW-U теста којим су поређена два сета биолошких параметара, прикупљених различитим техникама узорковања у периоду високих вода, приказани су у табели 8. Уочавају се статистички значајне разлике код великог броја анализираних параметара слично као и у периоду ниских вода.

Табела 8. Резултати MW-U теста којим су поређена два сета параметара добијених анализом узорака узетих K&S методом и Van Veen багером у периоду високих вода (Дунав – „Ђердап”) (црвено – статистички значајне вредности за $p < 0,05$)

Биолошки параметри	U	Z	P- вредност	Z	P- вредност
Абунданца [ind/m ²]	99,0000	1,99323	0,046237	1,99362	0,046195
Број таксона	63,5000	3,11640	0,001831	3,13298	0,001731
Број фамилија	86,5000	2,388714	0,016908	2,413378	0,015806
Број родова	60,5000	3,211318	0,001321	3,227979	0,001247
Број осетљивих таксона	153,5000	-0,26893	0,787985	-0,30429	0,760907

Сапробни индекс (Zelinka и Marvan)	110,0000	-0,35725	0,720906	-0,35743	0,720772
Shannon индекс диверзитета	66,5000	3,02149	0,002516	3,02363	0,002498
BMWP Скор	86,0000	2,40453	0,016194	2,41278	0,015832
ASPT	101,0000	1,92995	0,053613	1,93645	0,052814
Број таксона Gastropoda	161,0000	0,031639	0,974760	0,03376	0,973070
Број таксона Bivalvia	134,0000	-0,885881	0,375682	-1,06502	0,286869
Број таксона Polychaeta	153,0000	0,284747	0,775838	1,00000	0,317311
Број таксона Oligochaeta	135,0000	-0,854242	0,392971	-1,24568	0,212882
Број таксона Crustacea	71,0000	2,879113	0,003988	3,04994	0,002289
Број таксона Ephemeroptera	144,0000	0,569495	0,569021	1,43486	0,151328
Број таксона Odonata	144,0000	0,569495	0,569021	1,04583	0,295643
Број таксона Heteroptera	144,0000	0,569495	0,569021	1,43486	0,151328
Број таксона Trichoptera	153,0000	0,284747	0,775838	1,00000	0,317311
Број таксона Diptera	40,0000	3,859909	0,000113	3,96059	0,000075
ЕРТ-Таксони	144,0000	0,569495	0,569021	1,43427	0,151495
Број индивидуа Gastropoda	138,5000	0,743507	0,457175	0,765028	0,444256
Број индивидуа Bivalvia	143,5000	-0,585314	0,558337	-0,699520	0,484228
Број индивидуа Polychaeta	153,0000	0,284747	0,775838	1,000000	0,317311
Број индивидуа Oligochaeta	121,0000	1,297183	0,194569	1,301967	0,192929
Број индивидуа Crustacea	67,0000	3,005667	0,002650	3,179181	0,001477
Број индивидуа Ephemeroptera	144,0000	0,569495	0,569021	1,434860	0,151328
Број индивидуа Odonata	144,0000	0,569495	0,569021	1,045825	0,295643
Број индивидуа Heteroptera	144,0000	0,569495	0,569021	1,434274	0,151495
Број индивидуа Trichoptera	153,0000	0,284747	0,775838	1,000000	0,317311
Број индивидуа Diptera	36,5000	3,970644	0,000072	4,018775	0,000059
ксеносапробни организми [%]	117,0000	1,42374	0,154524	2,36748	0,017910
олигосапробни организми [%]	91,0000	2,24634	0,024683	2,26389	0,023582
бетамезосапробни организми [%]	109,0000	1,67685	0,093574	1,67901	0,093151
алфамезосапробни организми [%]	104,0000	1,83504	0,066501	1,83752	0,066134
полисапробни организми [%]	132,0000	0,94916	0,342541	1,37361	0,169565
[%] Стругачи	93,0000	2,18306	0,029032	2,18447	0,028928
[%] Секачи	74,5000	2,76838	0,005634	3,04107	0,002358
[%] Колектори	105,0000	-1,80340	0,071326	-1,80352	0,071308
[%] Филтратори	78,5000	2,64182	0,008247	2,65639	0,007899
[%] Предатори	99,0000	1,99323	0,046237	2,08678	0,036909
[%] Организми који насељавају муљ	103,5000	-1,85086	0,064191	-1,85336	0,063831
[%] Организми који насељавају глину	159,0000	0,09492	0,924382	0,10600	0,915583
[%] Организми који насељавају песак	64,0000	-3,10058	0,001932	-3,10558	0,001899
[%] Организми који насељавају крупнији песак	87,0000	-2,37289	0,017650	-2,37841	0,017388
[%] Организми који насељавају шљунак/камен	104,0000	-1,83504	0,066501	-1,83563	0,066413
[%] Организми који насељавају алге, маховина, макрофите	143,5000	0,58531	0,558337	0,64292	0,520277
[%] Организми који насељавају финозрнасту фракцију	119,0000	1,36046	0,173685	1,38630	0,165655

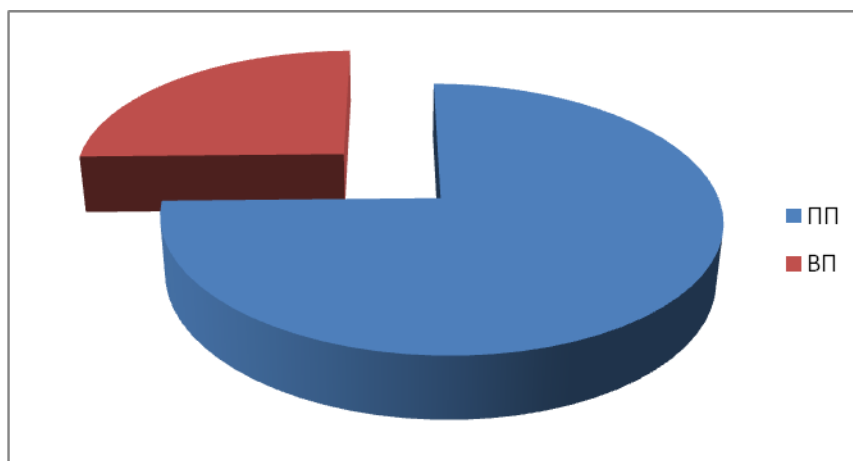
Анализом узорака прикупљених на Дунаву утврђено је да постоје значајне разлике у броју таксона у узорцима прикупљеним ручном мрежом и узорака узетих багером (слика 35). Може се закључити да бољи приказ стања заједнице водених макробескичмењака на испитиваном сектору дају узорци прикупљени ручном мрежом, те је стога објективно размишљати да се узорци у будуће узимају само квалитативно. Оправдано је мишљење да сакупљен материјал не даје праву слику о квалитету воде и еколошком статусу због ванредне ситуације и поплава које су предходиле узорковању (мај, 2014. године), јер није било довољно времена да се обнови и стабилизује заједница водених макробескичмењака.



Слика 35. Укупан број таксона унутар група макробескичмењака у узорцима прикупљеним K&S методом и *Van Veen* багером у периоду ниских и високих вода (Дунав – „Ђердап”)

4.8. Поређење методологија узорковања на реци Сави

На основу материјала прикупљеног K&S методом, са две врсте подлога (природна – пп и вештачка – вп) током 2011 и 2012. године, анализиран је састав заједница водених макробескичмењака. Анализирани сет података представља репрезентативни део комплетно прикупљеног материјала. Забележено је укупно 227 таксона у оквиру истраживаног сектора (177 – пп и 60 – вп) (слика 36).



Слика 36. Укупан број таксона у узорцима прикупљеним K&S методом на природној и вештачкој подлози (Сава)

Састав заједнице макробескичмењака је очекиван и типичан за овакав тип реке. Утврђено да водени инсекти чине главни део заједнице са 157 забележених таксона (113 –пп и 30 – вп) (слика 37). Међу инсектима, ред Diptera био је најбројнији са 70 идентификованих таксона, од којих 52 таксона припада фамилији Chironomidae. Инсекатске групе са значајним бројем идентификованих таксона, Trichoptera (35), Coleoptera (23) и Ephemeroptera (15), такође чине важан део заједнице макробескичмењака. Веће богатство таксона забележено је у оквиру групе Mollusca - 27 (Gastropoda 19 и Bivalvia 8) и Annelida - 24 (Oligochaeta 18, Hirudinea 5 и Polychaeta 1).

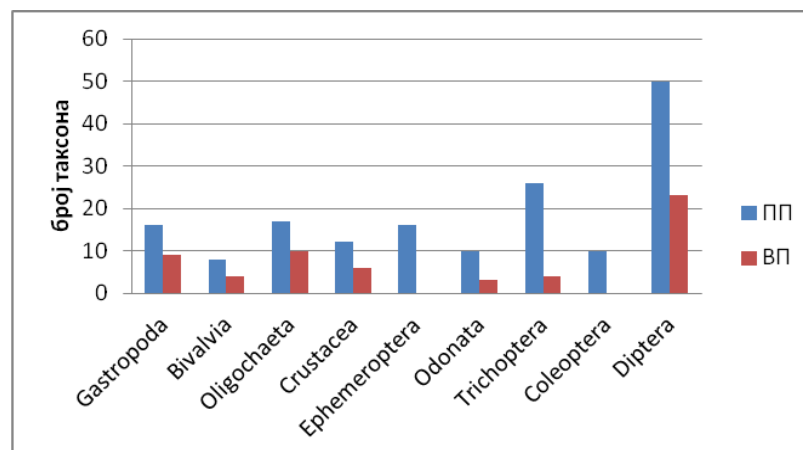
Поред разлика у укупном броју забележених таксона, разлике унутар заједница уочавају се и дуж речног континума по очекиваном обрасцу (Vannote и сар., 1980). Сакупљачи су процентуално најзаступљенији, са 33,38%, од тога половину чине активни филтратори (15,78%). Следе стругачи са процентуалном заступљеношћу од 15,91%, док су предатори и секачи заступљени са мање од 10% од укупног броја забележених макробескичмењака.

Од организама којима је одређена сапробна валенца, већину чине бетамезосапробни представници (29,54%). Алфамезосапробни (12,27%) и полисапробни (7,49%) организми, који толеришу виши степен органског загађења имали су мању заступљеност у анализираној заједници.

Смањење броја таксона представника Ephemeroptera и Trichoptera дуж тока јасно одражава промене карактеристика реке. Веће присуство ових инсеката обично је карактеристично за горње и средње делове речних токова у поређењу са доњим (Allan, 1995). Група Turbellaria забележена је на локалитетима 1-8. Број таксона унутар група

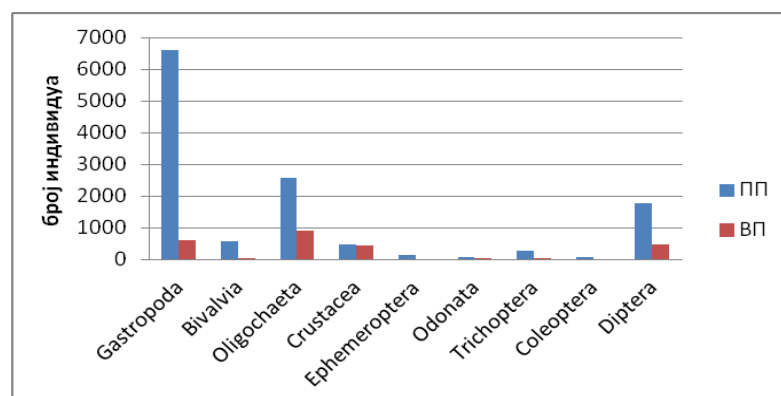
које су карактеристичне за велике равничарске реке (*Oligochaeta*, *Bivalvia*, *Gastropoda*, *Diptera* и *Odonata*) већа је на локалитетима 3-12 у односу на 1 и 2.

На слици 37 јасно се виде разлике у бројности унутар забележених таксономских група прикупљених на две врсте подлоге. Узорци са природне подлоге били су значајно обимнији што је и очекивано.



Слика 37. Број таксона унутар најбројнијих група макробескичмењака у узорцима прикупљеним K&S методом на природној и вештачкој подлози (Сава)

Разлике су биле израженије када се анализира број индивидуа у узорцима прикупљеним на различитим подлогама, нарочито код група *Gastropoda*, *Oligochaeta* и *Diptera* (слика 38). Ове групе организама преферирају подлоге са финијим наносом седимента што није случај код вештачке подлоге (броне, насипи, мостови) која је састављена од камених блокова.



Слика 38. Број индивидуа унутар најбројнијих група макробескичмењака у узорцима прикупљеним K&S методом на природној и вештачкој подлози (Сава)

Резултати непараметарског MW-U теста показују да параметаркао што су број осетљивих таксона, број таксона унутар група Bivalvia, Crustacea и Coleoptera Diptera, број индивидуа у оквиру група Coleoptera и Crustacea показују статистички значајну разлика ($p < 0,05$) (табела 9). Процентуални удео је значајно другачија код ксеносапробних и олигосапробних организама, секача као и организама који преферирају подлогу од глине, крупнијег песка и шљунка/камена. Остали анализирани параметри нису показали статистички значајне разлике у два различита сета узорака.

Табела 9. Резултати MW-U теста којим су поређена два сета параметара добијених анализом узорака узетих K&S методом са природне и вештачке подлоге на реци Сави (црвено – статистички значајне вредности за $p < 0,05$)

Биолошки параметри	U	Z	P- вредност	Z	P- вредност
Абунданца [ind/m ²]	36,00000	-1,33794	0,180917	-1,33794	0,180917
Број таксона	34,00000	1,47878	0,139201	1,48118	0,138559
Број фамилија	33,00000	1,54919	0,121336	1,55171	0,120732
Број родова	39,00000	1,12669	0,259876	1,12815	0,259257
Број осетљивих таксона	11,50000	3,06318	0,002190	3,15355	0,001613
Сапробни индекс (Zelinka и Marvan)	53,00000	0,14084	0,888000	0,14084	0,888000
Shannon индекс диверзитета	45,00000	0,70418	0,481322	0,70418	0,481322
BMWP Скор	29,00000	1,83086	0,067122	1,83205	0,066944
ASPT	44,00000	-0,77460	0,438579	-0,77460	0,438579
Број таксона Porifera	44,00000	-0,77460	0,438579	-1,52177	0,128067
Број таксона Turbellaria	40,00000	1,05627	0,290847	1,73619	0,082531
Број таксона Nematoda	35,00000	1,40836	0,159026	2,06835	0,038608
Број таксона Gastropoda	45,00000	0,70418	0,481322	0,71185	0,476560
Број таксона Bivalvia	25,50000	2,07733	0,037772	2,16104	0,030693
Број таксона Oligochaeta	42,50000	-0,88022	0,378739	-0,90124	0,367459
Број таксона Hirudinea	35,00000	1,40836	0,159026	2,05971	0,039427
Број таксона Crustacea	26,50000	-2,00691	0,044760	-2,06116	0,039289
Број таксона Ephemeroptera	30,00000	1,76045	0,078333	2,35852	0,018349
Број таксона Odonata	48,50000	0,45772	0,647157	0,46929	0,638865
Број таксона Heteroptera	45,00000	0,70418	0,481322	1,38170	0,167065
Број таксона Planipennia	50,00000	0,35209	0,724771	0,95346	0,340356
Број таксона Trichoptera	44,50000	0,73939	0,459672	0,75576	0,449794
Број таксона Coleoptera	25,00000	2,11254	0,034641	2,65091	0,008028
Број таксона Diptera	52,00000	0,21125	0,832689	0,21208	0,832044
Број таксона Bryozoa	50,00000	0,35209	0,724771	0,95346	0,340356
Број таксона Hydrachnidia	45,00000	0,70418	0,481322	1,38343	0,166534
ЕРТ-Таксони	39,00000	1,12669	0,259876	1,14582	0,251871
Број индивидуа Porifera	44,00000	-0,77460	0,438579	-1,52177	0,128067

Број индивидуа Turbellaria	40,00000	1,05627	0,290847	1,73619	0,082531
Број индивидуа Nematoda	35,00000	1,40836	0,159026	2,05544	0,039838
Број индивидуа Gastropoda	51,00000	-0,28167	0,778196	-0,28167	0,778196
Број индивидуа Bivalvia	45,50000	0,66897	0,503515	0,67006	0,502821
Број индивидуа Oligochaeta	39,00000	-1,12669	0,259876	-1,12742	0,259566
Број индивидуа Hirudinea	35,00000	1,40836	0,159026	2,05402	0,039975
Број индивидуа Crustacea	7,00000	-3,38006	0,000725	-3,39109	0,000696
Број индивидуа Ephemeroptera	30,00000	1,76045	0,078333	2,35715	0,018417
Број индивидуа Odonata	50,50000	-0,31688	0,751335	-0,31917	0,749599
Број индивидуа Heteroptera	45,00000	0,70418	0,481322	1,38170	0,167065
Број индивидуа Planipennia	50,00000	0,35209	0,724771	0,95346	0,340356
Број индивидуа Trichoptera	43,00000	0,84501	0,398103	0,85252	0,393926
Број индивидуа Coleoptera	25,00000	2,11254	0,034641	2,64820	0,008092
Број индивидуа Diptera	54,00000	-0,07042	0,943861	-0,07042	0,943861
Број индивидуа Bryozoa	50,00000	0,35209	0,724771	0,95346	0,340356
Број индивидуа Hydrachnidia	45,00000	0,70418	0,481322	1,38170	0,167065
ксеносапробни организми [%]	27,00000	-1,97170	0,048645	-2,00856	0,044585
олигосапробни организми [%]	18,00000	-2,60546	0,009175	-2,60546	0,009175
бетамезосапробни организми [%]	47,00000	-0,56334	0,573202	-0,56334	0,573202
алфамезосапробни организми [%]	54,00000	-0,07042	0,943861	-0,07042	0,943861
полисапробни организми [%]	43,00000	-0,84501	0,398103	-0,84501	0,398103
[%] Стругачи	50,00000	0,35209	0,724771	0,35209	0,724771
[%] Секачи	25,00000	2,11254	0,034641	2,11254	0,034641
[%] Колектори	38,00000	1,19710	0,231267	1,19710	0,231267
[%] Филтратори	48,00000	-0,49293	0,622066	-0,49293	0,622066
[%] Предатори	29,00000	1,83086	0,067122	1,83086	0,067122
[%] Организми који насељавају муљ	44,00000	0,77460	0,438579	0,77460	0,438579
[%] Организми који насељавају глину	13,00000	2,95755	0,003101	2,95755	0,003101
[%] Организми који насељавају песак	40,00000	1,05627	0,290847	1,05627	0,290847
[%] Организми који насељавају крупнији песак	26,00000	2,04212	0,041141	2,04212	0,041141
[%] Организми који насељавају шљунак/камен	27,00000	-1,97170	0,048645	-1,97170	0,048645
[%] Организми који насељавају алге, маховина, макрофите	33,00000	1,54919	0,121336	1,54919	0,121336
[%] Организми који насељавају финозрнасту фракцију	37,00000	1,26752	0,204970	1,26752	0,204970

Имајући у виду горе поменуте резултате, као и чињеницу да ово истраживање не обухвата део Саве узводно од места Храстник, који се разликује у односу на испитивани сектор, оправдано је очекивање да је укупан број таксона макробескичмењака много већи. То се потврдило истраживањима која су обављена 2014 и 2015. године у оквиру Међународног пројекта „Управљање ефектима вишеструких стресора у условима недостатка воде” – GlobAqua, који припада пројектима Седмог оквирног програма Европске Уније за истраживање, технолошки

развој и огледне активности (FP7 пројекат). Ово истраживање обухватило је цео ток Саве, а број забележених таксона био је 243, односно 338 (необјављени подаци). Додатни број таксона забележен је пре свега у оквиру група макробескичмењака, које укључују врсте карактеристичне за брзу воду и тврду подлогу (ЕРТ-таксони).

Временска ефикасност коришћених метода у овом случају није разматрана, јер су поређени подаци узети истом методом узорковања са различитог типа подлоге.

4.9. Поређење методологија узорковања на рекама Неретви и Босни са притокама

На 6 одабраних локалитета на рекама Неретви и Босни са притокама, Фојницом и Црном ријеком у Републици Босни и Херцеговини, уочена је богата фауна макроинвертебрата. Укупно је забележено 136 таксона. Забележене су групе Anelida (28 таксона Oligochaeta, 6 таксона Hirudinea), Diptera (21 таксон Chironomidae и 11 таксона из других група Diptera), 20 врста Trichoptera, 12 врста из реда Ephemeroptera. Plecoptera су заступљене са 8 врста. У групи Mollusca преовладале су Gastropoda (10 таксона), док је забележена само једна врста шкољке *Unio crassus* (Philipsson 1788).

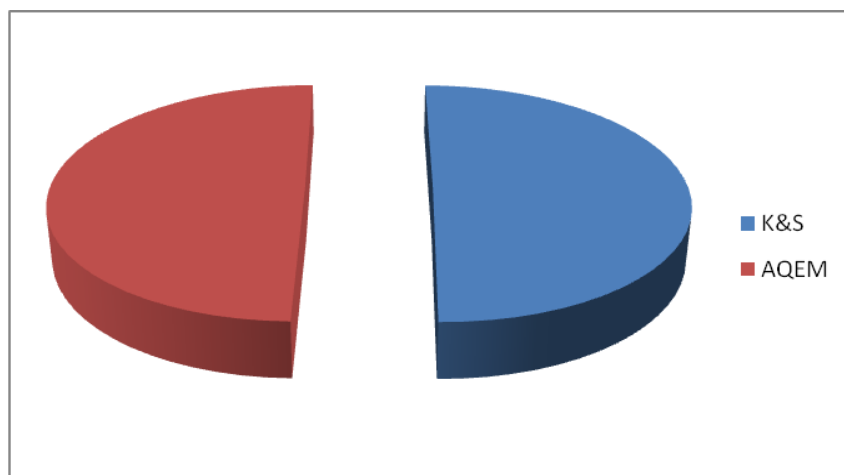
Међу идентификованим врстама преобладавају организама који указују на бетамезосапробни степен органског загађења (22,36%). Следе групе, показатељи олигосапробног (11,55%) и алфамезосапробног (9,86%) загађења. Ксеносапробна и полисапробна група организама је заступљена са мање од 5%.

Анализом односа у заједници у оквиру функционалних група у исхрани најзаступљенији су сакупљачи са 35,73% и кидачи/стругачи са 18,45%, што је више од половине укупног броја забележених врста. Остатак чине представници група секача и предатора чија је појединачна процентуална заступљеност била мања од 10%, што је очекивано за овакав тип текућица.

Инсекти су присутни у свим рекама при чему у Црној ријеци и Фојници представљају доминантну групу у оквиру заједнице. Састав заједнице је веома разноврстан у рекама Неретва, Врело Босне и Фојници где је свих пет главних група заступљено са неколико врста. У рекама Фојница и Босна (нарочито у низводном делу тока, код Модриче) забележено је приближно 1000 таксона Oligochaeta.

Током истраживања коришћене су различите технике узорковања, да би се сакупили репрезентативни узорци, утврдила прикладна методологија и упоредила ефикасност узорковања.

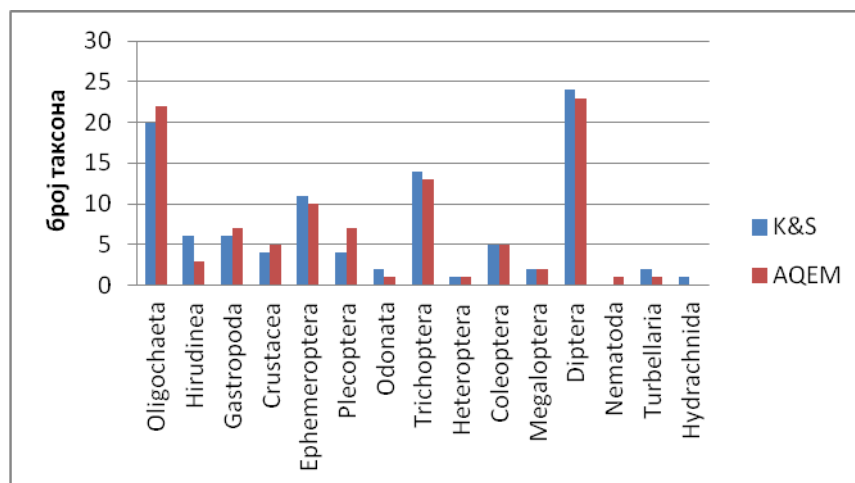
У овом делу представљени су резултати поређења ефикасности AQEM и K&S метода. Обављено је паралелно узорковање на шест тачака са обе технике. Укупан број таксона узетих различитим методама узорковања приказан је на слици 39. Иако се AQEM метода сматра детаљнијом, број таксона је готово исти као и у узорцима прикупљеним K&S методом, која се сматра једноставнијом.



Слика 39. Укупан број таксона у узорцима прикупљеним K&S и AQEM методама (Неретва и Босна са притокама)

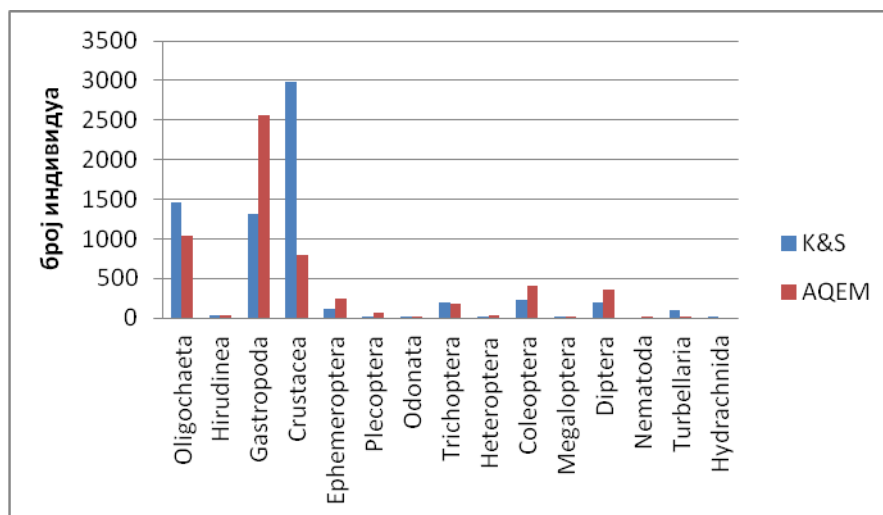
Неретва, Црна ријека и Босна код Модриче су пример где је већи број таксона забележен употребом K&S методе узорковања него употребом AQEM методе. Ово указује да примена релативно једноставније методе узорковања пружа такође детаљне резултате као и сложенија метода. У плићим рекама које се могу прегазити, као што је Црна ријека, AQEM узорак је детаљнији од K&S узорка.

Број таксона групе *Oligochaeta* је значајно висок, и у Фојници и у Босни, али је очигледна доминација ове групе само у случају реке Босне, нарочито низводно (1.000 индивидуа у K&S узорку и 500 индивидуа у AQEM узорку) (слика 40).



Слика 40. Број таксона унутар група макробескичмењака у узорцима прикупљеним К&S и AQEM методама (Неретва и Босна са притокама)

Инсекти су били најзаступљенији на локалитетима на Црној ријеци и Фојници. У Неретви и Црној ријеци К&S методом је забележен већи број таксона (слика 40), али је више јединки сакупљено AQEM методом (слика 41). Узорци са Неретве и узорци са локалитета Врело Босне узети AQEM методом садрже углавном ларве Coleoptera (Elmidae). У Црној ријеци све инсекатске групе имају високу бројност, док је у Фојници и Босни, веома бројна била група Diptera, нарочито фамилија Chironomidae. У Црној ријеци осим инсеката, друге групе нису забележене. У Фојници је присутан и велики број таксона и висока бројност Chironomidae. Mollusca и Gastropoda имају највећи број јединки на локалитету Неретва (Житомислић), нарочито у узорку прикупљеном К&S методом који обухвата више обалску зону, и где је у вегетацијском појасу, био заступљен велики број Gammarida. Исти однос био је и на локалитету Врело Босне, где су у К&S узорку доминирале Gammarida.



Слика 41. Број индивидуа унутар група макробескичмењака у узорцима прикупљеним K&S и AQEM методама (Неретва и Босна са притокама)

На основу резултата MW-U теста уочава се да нема статистички значајних разлика између два сета анализираних параметара добијених обрадом материјала прикупљањеног применом K&S и AQEM методе узорковања (табела 10). Само три параметра показују статистички значајну разлику: број таксона Trichoptera, број индивидуа Ephemeroptera и процентуална заступљеност филтатора.

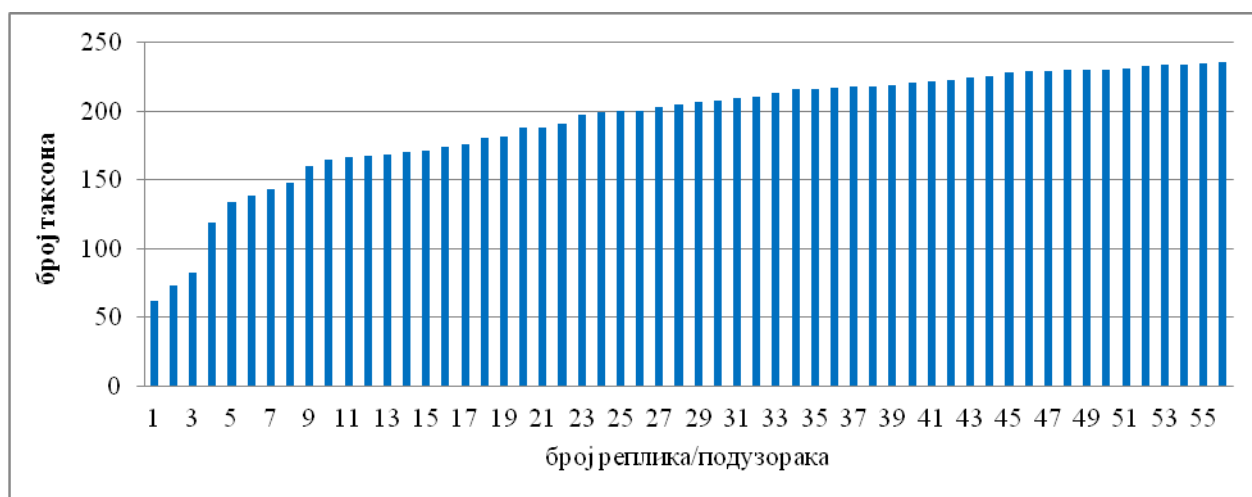
Табела 10. Резултати MW-U теста којим су поређена два сета параметара добијених анализом узорака узетих AQEM и K&S методама на рекама Неретва и Босна са притокама (црвено – статистички значајне вредности за $p < 0,05$)

Биолошки параметри	U	Z	P-вредност	Z	P-вредност
Абунданца [ind/m ²]	22,00000	-0,06667	0,946847	-0,06667	0,946847
Број таксона	14,00000	-1,13333	0,257075	-1,13961	0,254449
Број фамилија	14,00000	-1,13333	0,257075	-1,14600	0,251797
Број родова	14,50000	-1,06667	0,286123	-1,07377	0,282927
Број осетљивих таксона	13,00000	-1,26667	0,205275	-1,30146	0,193103
Сапробни индекс (Zelinka & Marvan)	15,50000	-0,93333	0,350649	-0,93436	0,350119
Shannon индекс диверзитета	18,00000	-0,60000	0,548507	-0,60000	0,548507
BMWP Скор	14,00000	-1,13333	0,257075	-1,13333	0,257075
ASPT	19,00000	-0,46667	0,640739	-0,46667	0,640739
Број таксона Turbellaria	16,50000	-0,80000	0,423711	-0,93095	0,351880
Број таксона Nematoda	18,00000	-0,60000	0,548507	-1,34164	0,179713
Број таксона Gastropoda	19,50000	0,40000	0,689157	0,41051	0,681432
Број таксона Oligochaeta	19,00000	-0,46667	0,640739	-0,47030	0,638142
Број таксона Hirudinea	21,00000	-0,20000	0,841481	-0,21438	0,830249

Број таксона Crustacea	18,50000	0,53333	0,593803	0,57979	0,562054
Број таксона Ephemeroptera	19,00000	-0,46667	0,640739	-0,47509	0,634720
Број таксона Odonata	12,00000	-1,40000	0,161514	-1,64391	0,100197
Број таксона Plecoptera	20,00000	-0,33333	0,738883	-0,37014	0,711275
Број таксона Heteroptera	18,50000	-0,53333	0,593803	-0,67987	0,496588
Број таксона Megaloptera	16,00000	-0,86667	0,386125	-1,21633	0,223860
Број таксона Trichoptera	7,00000	-2,06667	0,038766	-2,22089	0,026359
Број таксона Coleoptera	17,50000	-0,66667	0,504986	-0,68818	0,491341
Број таксона Diptera	15,00000	-1,00000	0,317311	-1,00778	0,313560
Број таксона Hydrachnidia	20,00000	0,33333	0,738883	0,74536	0,456057
ЕРТ-Таксони	13,00000	-1,26667	0,205275	-1,27795	0,201268
Број индивидуа Turbellaria	15,00000	-1,00000	0,317311	-1,10893	0,267460
Број индивидуа Nematoda	18,00000	-0,60000	0,548507	-1,34164	0,179713
Број индивидуа Gastropoda	17,50000	0,66667	0,504986	0,66740	0,504517
Број индивидуа Oligochaeta	15,00000	-1,00000	0,317311	-1,00442	0,315175
Број индивидуа Hirudinea	20,50000	-0,26667	0,789726	-0,26814	0,788589
Број индивидуа Crustacea	18,00000	0,60000	0,548507	0,64072	0,521703
Број индивидуа Ephemeroptera	5,00000	-2,33333	0,019631	-2,33590	0,019497
Број индивидуа Odonata	11,00000	-1,53333	0,125195	-1,79234	0,073080
Број индивидуа Plecoptera	20,50000	-0,26667	0,789726	-0,29532	0,767752
Број индивидуа Heteroptera	16,50000	-0,80000	0,423711	-1,00554	0,314638
Број индивидуа Megaloptera	15,00000	-1,00000	0,317311	-1,39443	0,163188
Број индивидуа Trichoptera	10,00000	-1,66667	0,095582	-1,67219	0,094488
Број индивидуа Coleoptera	17,00000	-0,73333	0,463356	-0,74488	0,456343
Број индивидуа Diptera	12,50000	-1,33333	0,182423	-1,33627	0,181461
Број индивидуа Hydrachnidia	20,00000	0,33333	0,738883	0,74536	0,456057
ксеносапробни организми [%]	19,00000	-0,46667	0,640739	-0,46718	0,640371
олигосапробни организми [%]	15,00000	-1,00000	0,317311	-1,00000	0,317311
бетамезосапробни организми [%]	19,00000	-0,46667	0,640739	-0,46667	0,640739
алфамезосапробни организми [%]	9,00000	-1,80000	0,071862	-1,80000	0,071862
полисапробни организми [%]	16,00000	-0,86667	0,386125	-0,86762	0,385603
[%] Стругачи	18,00000	-0,60000	0,548507	-0,60000	0,548507
[%] Секачи	19,00000	0,46667	0,640739	0,46667	0,640739
[%] Колектори	22,00000	-0,06667	0,946847	-0,06667	0,946847
[%] Филтратори	4,00000	-2,46667	0,013638	-2,46667	0,013638
[%] Предатори	12,00000	-1,40000	0,161514	-1,40000	0,161514
[%] Организми који насељавају муљ	19,00000	-0,46667	0,640739	-0,46667	0,640739
[%] Организми који насељавају глину	17,00000	-0,73333	0,463356	-0,73658	0,461379
[%] Организми који насељавају песак	21,00000	-0,20000	0,841481	-0,20000	0,841481
[%] Организми који насељавају крупнији песак	20,00000	0,33333	0,738883	0,33333	0,738883
[%] Организми који насељавају шљунак/камен	9,00000	-1,80000	0,071862	-1,80000	0,071862
[%] Организми који насељавају алге, маховина, макрофите	17,00000	-0,73333	0,463356	-0,73333	0,463356
[%] Организми који насељавају финозрнасту фракцију	14,00000	-1,13333	0,257075	-1,13333	0,257075

4.10. Анализа броја узорака потребних за истраживање и мониторинг

Како би се одредио укупан број узорака (подузорака или реплика) потребних за прикупљање података о разноврсности макробескичмењака на једном сектору реке, анализиран је кумулативни број врста у узорцима прикупљеним у горњем делу тока Дунава. У разматрање је узет сектор који је уједначен према општим природним карактеристикама и представља исти начелни тип реке (горњи Дунав – Robert и сар., 2003). У анализу је укључено укупно 56 узорака (слика 42), а из анализе су елиминисани узорци који потичу са локалитета који су значајно деградовани у погледу хидроморфолошких притисака.



Слика 42. Приказ кумулативног броја врста идентификованих у односу на број прикупљених узорака у горњем Дунаву

Као што се из слике 42 може закључити, кумулативан број идентификованих таксона уједначава се након десетог подузорка. Овај резултат индикује да је тај број оптималан за карактеризацију сектора у односу на разноврсност, по питању мониторинга.

Уколико је циљ истраживања израда листе таксона, пожељно је прикупити и већи број узорака, јер у готово сваком наредном узорку идентификован нови таксон.

4.11. Ефикасност метода узорковања

Како би се упоредила економска ефикасност коришћених метода, разматрано је просечно време потребно да се прикупи узорак, број људи, трошкови превоза опреме и људи, као и додатна средства потребна за рад на терену (коришћење брода, чамца или платформе (табела 11). Подаци су прикупљени на основу теренских записа са истраживања, за све типове текућих вода, за период 2008-2014. Подаци о максималном броју локација на којима је могуће обавити истраживање у једном дану употребом појединих техника обрађивани су у периоду август-септембар (због дужине обданице).

Табела 11. Ефикасност прикупљања узорака код две тестиране методе узорковања

Метода	Просечно време узорковања [min]	Број мерења	Број људи	Додатна опрема	Максималан број број локација по дану
K&S	14±5	50	2		8
AQEM	40±7	10	2		4
<i>Polyp</i>	45±10	10	5	неопходан брод	4
<i>Air-lift</i>	50±10	20	5	неопходан брод или платформа	3
<i>Sürber</i>	32±9	50	2		5

Из табеле 11 може се закључити да је K&S метода најприхватљивија са аспекта средстава потребних за узорковање. У односу на број потребних људи на терену, узорковање *polyp* багером и *Air-lift* метода су скупље 2,5 пута у поређењу са K&S методом. Када се у разматрање узме и употреба брода или платформе, која је неопходна за узорковање *Polyp* и *Air-lift* методама, као и максималан број узорака по дану који је могуће прикупити (табела 11), K&S метода 3-4 пута економски исплативија од друге две технике.

У поређењу са AQEM техником, K&S метода је 2 пута ефикаснија у погледу утrophка финансијских средстава, ако разматрамо максималан број локација на којима је могуће обавити истраживање у једном дану. K&S метода је ефикаснија и у поређењу

са *Sirber* мрежом, ако разматрамо максималан број дневних локација – осам, односно пет.

5. ДИСКУСИЈА

Методологија узимања узорака водених макробескичмењака, у текућим и стајаћим водама и даље је отворено питање (Csányi и Рауновић, 2006; Brua и сар., 2011; Graf и сар., 2015). Неопходно је уложити напор како би се постигла стандардизација методологија узорковања применљивих како у научне сврхе, тако и за рутински мониторинг статуса/квалитета вода. Веома је важно одабрати најприкладнију методу узорковања водених макробескичмењака, који се користе као биолошки елементи за одређивање квалитета воде у мониторинг програмима у складу са захтевима ОДВ.

Циљ коришћења различитих метода узорковања је одређивање њихове појединачне ефикасности (временске и финансијске), процена могућности коришћења у стандардним програмима мониторинга, као и процена могућности поређења добијених резултата са претходним истраживањима.

Узорци водених макробескичмењака из брдско-планинских текућица, прикупљени су у периоду пролеће - рано лето, како би се елиминисале разлике у заједници до којих долази услед временске динамике. Овај период је изабран за анализу фауне водених макробескичмењака ове групе текућих вода, јер је тада разноврсност највећа (Marković, 1995; Simić и Simić, 1999; Рауновић и сар., 1997, 1999, 2003, 2006а, 2006б). Идентификација материјала прикупљеног у овом периоду је поузданија, јер тада доминирају крупнији ларвени и нимфални стадијуми, за разлику од периода касно лето - јесен, када се бележи доста ларви у првом и другом стадијуму развића, нарочито представника фамилије Baetidae (Ephemeroptera) (Рауновић, 2006а), које су малих димензија и често компликоване за идентификацију.

Применљивост K&S методе узорковања врло је често потцењена у односу на њену ефикасност. Један од главних недостатака овог приступа је у томе што се најчешће ова метода сврстава у у групу квалитативних метода (García-Criado и Trigal, 2005). Ова техника се може третирати као семиквантитативна, уколико се дефинише временски интервал узорковања, или примени увек исти напор узорковања, чиме се обезбеђују поредиви подаци дуж просторног и временског градијента. Наши подаци показују да је K&S семиквантитативно узорковање ефикасније у односу на *Sürber* узорковање за прикупљање информација о општем диверзитету таксона, као и диверзитету унутар доминантних таксономских група у заједници малих и средњих токова са доминацијом крупног камена (Тубић и сар., 2016).

Сапробни индекс, параметар који се најчешће користи за процену статуса вода широм Европе (Birk и Hering, 2006), није показао значајну разлику резултата добијених

на основу материјала прикупљеног применом две различите методе узорковања. K&S метода је ефикаснија за утврђивање састава заједница макробескичмењака (Tubić и сар., 2016). Тестиране технике узорковања се са истом ефикасношћу могу примењивати за рутинско праћење еколошког статуса, али K&S метода је боље решење за истраживачке студије чији је циљ прикупљање информација о диверзитету. На основу изнетих података може се закључити да се две методе могу поредити у односу на сапробни индекс (Zelinka и Marvan, 1961), BMWP скор и ASPT (Armitage и сар., 1983). Слични резултати добијени су поређењем K&S методе и узимања узорака „U” мрежом (Brua и сар., 2011), где је пронађена сличност у односу на вредности параметара који одређују састав заједнице. У случају наведене студије (Brua и сар., 2011) узимање узорака „U” мрежом даје нешто боље податке о диверзитету и због тога поменути аутори дају предност овој методи за анализу биодиверзитета, иако је за прикупљање узорака на овај начин потребно више времена. K&S метода је ефикаснија у односу на *Sürber* методу јер је потребно мање времена за узорковање и економски је исплативије. Треба нагласити да је мање времена потребно и за обраду материјала прикупљеног K&S методом у односу на узорке прикупљене *Sürber* мрежом, али и у односу на друге методе узорковања, нпр. *polyp grab* техником (Csányi и Paunović, 2006a), Air Lift узорковањем (Brua и сар., 2011) или детаљну AQEM методу (AQEM Consortium, 2002).

Предност *Sürber* методе је у томе што даје квантитативне податке о заједници водених макробескичмењака, што је важно, уколико је циљ истраживања испитивање продуктивности водених екосистема, или процена доступности хране за бентиворне рибе.

Анализа узорака на изабраним водним телима у Босни и Херцеговини (реке које се могу прегазити и реке средње величине) фокусирана је на тестирање ефикасности детаљне MHS методе узорковања, са 20 подузорака распоређених у односу на заступљеност главних типова станишта према AQEM протоколу (AQEM Consortium, 2002) и K&S методе узорковања.

На основу анализе узорака прикупљених двома поређеним методама, добијени су готово идентични резултати, што је потврдила и статистичка анализа. Поставља се питање колико је подузорака неопходно да би се обавио рутински мониторинг и добио репрезентативан узорак, који довољно добро осликава састав заједнице водених макробескичмењака испитиваног подручја, на основу кога се процењује статус/потенцијал одабраног водног тела.

На локалитету Неретва (Житомислић), на коме је заступљен вегетацијски појас у приобалном региону, забележен је велики број *Gammarida*, нарочито у K&S узорку. Слична ситуација била је и на локалитету Врело Босне, где је у K&S узорку на сличан начин доминирала група *Gammarida*.

Овај податак иде у прилог чињеници да треба обратити пажњу на текућице са густим макрофитским покривачем који треба третирати као посебно микростаниште. Таква водна тела су честа на планинским заравнима, у тресетним подручјима, као и у мањим низијским рекама.

Неретва, Црна Ријека и Босна код Модриче су пример где је више таксона забележено употребом K&S методе узорковања него AQEM методом. Ово показује да примена једноставније методе узорковања пружа исто тако детаљне резултате као и комплекснија метода. У плићим рекама које се могу прегазити, као што је Црна Ријека, AQEM узорак је детаљнији од K&S узорка, чиме се наглашава употребљивост дефинисања пропорције станишта.

Неретва, као река средње величине на крашком подручју припада сливу Јадранског мора. За време овог истраживања уочене су неке тип-специфичне карактеристике заједнице. То се пре свега односи на популацију врсте *Emmericia patula* (Gastropoda) пронађену на локалитету Житомислић, као први налаз у региону. Значајно је споменути да је само у K&S узорцима регистрован овај таксон.

Узевши у обзир горе поменуте предности, као и претпоставку да узорковање у оквиру мониторинг програма треба да буде временски ефикасно и економски оправдано, K&S метода, као процедура семиквантитативног узорковања ручном мрежом може да се препоручи за даље разматрање о потенцијалној употреби за рутински мониторинг река које се могу прегазити.

Анализа фауне водених макробескичмењака већих равничарских река вршена је у периоду септембар - октобар (период ниских вода) како би се обезбедили поредиви подаци. У прилог овоме иде и чињеница да је узорке из великих река лакше прикупити у периоду ниских вода (Рауновић, 2007а).

Предуслов за одабир адекватне методологије узорковања је одређивање прецизних циљева истраживања. За процену стања сложених екосистема великих равничарских река, као што је Дунав, потребно је прикупити репрезентативне узорке са свих станишта на одабраним локалитетима, што није лако обавити једном методом. Коришћење комбинованих метода за еколошку процену статуса према ОДВ је изазов,

јер треба превазићи чињеницу да се референтни услови и ефикасност узорковања речног дна и приобалне зоне разликују. У овом раду разматране су и поређене готово све доступне методе за узорковање великих река: Хидраулични *polyp* багер, *Air-lift*, *Multicorer*, Дреца, MHS, K&S и роњење на дах.

На основу добијених резултата, поређење поменутих метода коришћених на типу реке као што је Дунав, је тешко, јер се поменути методолошки приступи не разликују само технички, већ и у погледу узорковања различитих просторних зона реке. Пре свега, треба напоменути да је за прве четири методе неопходан брод/чамац, на који се монтира опрема и обавља узорковање, што је и технички и финансијски захтевније, насупрот узорковању ручним мрежама (MHS, K&S), које пре свега, захтева много једноставнију опрему.

Узорковање помоћу хидрауличног *polyp* багера врши се са брода у обалском региону, у областима где се налази велико камење. У делу Дунава, низводно од Белегиша, ретко се налази на овакав тип подлоге, па се може закључити да је ова метода врло ограничена. На сектору Дунава, који обухвата 18 локалитета, на коме је обављено паралелно узорковање *polyp* багером и K&S методом, забележен је значајан број индивидуа у оквиру испитиване заједнице водених макробескичмењака. Ипак, K&S метода се показала као ефикаснија кад је у питању број таксона макробескичмењака у оквиру најзаступљенијих таксономских група. Начелно, може се закључити да су разлике у ефикасности ове два технике узорковања око 10-20%, осим у случају групе *Bivalvia*, јер је као додаток K&S методи, обављено претраживање терена роњењем на дах, што је важан део ове методе због специфичне дистрибуције врста ове групе.

Применом K&S технике и хидрауличног *polyp* багера обухваћен мањи сектор Дунава, због чега анализа и поређење ових метода узорковања није довољно поуздано.

Репрезентативно узорковање је тешко извести у доњм делу тока Дунава које се протеже од Београда до Ђердапске акумулације 1 и 2, због хидроморфолошких промена.

Главни проблем узорковања у великим рекама је на који начин квантификовати организме различитих величина, који имају другачије животне циклусе, различите еколошке захтеве (Сányi и Рауповић, 2006, Тубић и сар., 2013). За репрезентативно узорковање потребно је прецизно проценити структуру станишта у великим водним телима, чиме би се успешно решили недостаци просторних и временских димензија.

У случају JDS 2 и JDS 3 истраживања коришћени су стандардизовани приступи узорковања приобалних делова реке, заједно са методама за узорковање дубљих делова реке за процену еколошког статуса, а вршена је и процена преференције према типу станишта специфичних таксона. Поређење метода за узорковање дубљих делова реке (*Air-lift/Multicorer*/дреца) и метода коришћених у приобалном региону (*MHS/K&S*), је тешко, јер се ови приступи не разликују само у погледу технике, већ се њима узоркују различите просторне зоне реке, што је потврђено и статистичким анализама.

Из резултата добијених анализом узорака са JDS2 истраживања може се закључити да је више таксона прикупљено *Air-lift/MHS/Multicorer* методама (362) у поређењу са *K&S*/дреца методама (220).

У прилог овоме говоре и радови бројних аутора Åarefjord (1972), Drake и Elliott (1982), Maskey (1972), Norris (1980) и Pearson и сар. (1973), који се односе на поређење *Air-lift* методе узорковања са другим доступним методама. На основу ових истраживања закључено је да су различити типови *Air-lift* узорковача ефикаснији за узорковање фауне макробескичмењака од осталих тестираних метода (дреце, багери).

Multicorer метода, коришћена је као алтернатива за *Air-lift* методу (JDS 2) на деловима тока Дунава са врло финим наносом седимената. Врста подлоге је ограничавајући фактор за употребу ове врсте узорковача, па се не користи често за узорковање, али даје релативно тачан састав заједнице бентосних организама узоркованих области. Ово се посебно односи на заједницу хириномида (*Milbrink* и *Wiederholm*, 1973), представника рода *Chaoborus* (*Diptera*) (*Кајак* и сар., 1978), на узорке узете из врло течног, fino гранулисаног седимента (*Giani*, 1974) или муља (*Gale*, 1975). Ова метода није погодна за узорковање фауне макробескичмењака која насељава крупније фракције супстрата, састављене од песка, ситнијег и крупнијег шљунка и камена, како наводи *Prejs* (1970). За превазилажење овог проблема аутори *Taylor & Erman* (1980) предлажу ангажовање ронилаца са опремом, који би ручно заривали узорковач у овакав тип подлоге. Слично овоме, постоји могућност за ручну употребу *corer* узорковача у плитким деловима тока.

Због ниског водостаја на одређеним локалитетима (девет тачака, углавном на притокама) током JDS 2 истраживања, као алтернатива *Air-lift* методи, примењена је метода *MHS* узорковања.

Air-lift/MHS/Multicorer методе су ефикасније у погледу стандардизованих података као квантитативне методе и покривају највећу површину екосистема.

Air-lift и *Multicorer* методе су ефикасније за прикупљање података о фауни дна на већим дубинама на стандардизован начин, што потврђују и резултати овог рада. У узорцима прикупљеним овим методама забележена је велика бројност група *Oligochaeta* и *Diptera* (углавном представника фамилија *Chironomidae*), али су и друге групе организама успешно прикупљене. Анализом узорака прикупљених модификованим FBA *Airlift* узорковачем (Pehofer, 1998), утврђене су значајне разлике у саставу заједнице дубоких зона реке и узорака узетих *Hesse* мрежом са шљунковите подлоге у приобалној зони. Ово указује на то да узорци узети само у приобалној зони или само у дубоким деловима река не дају репрезентативни приказ целокупне заједнице водених макробескичмењака у великим рекама. То потврђују и Neale и сар. (2006) који су поредили ефикасност и подобност доступних техника за узорковање водених макробескичмењака у великим рекама заснованих на систему оцене статуса Велике Британије (*Airlift*, дреца, узорковачи приобалних зона, ручне мреже). Они препоручују *Airlift* као најпогоднију методу, али искључиво за ефикасну процену квалитета воде у дубљим деловима реке. Активност узорковања треба усмерити и на приобална станишта једнако као и на дубља станишта реке.

K&S метода се показала се као адекватна за процену фауне макробескичмењака приобалне зоне и анализу различит услова леве и десне обале. Због повишеног нивоа воде низводно од Ђердапа 2 (локалитети JDS 65 до JDS 96), дреца је коришћена као алтернативна метода узорковања на укупно 32 профила (укључујући и 6 притока) Треба имати у виду да је заједница макробескичмењака приобалне зоне под утицајем хидролошких услова. Комбинација обе методе даје комплетније резултате за потребе истраживања приобалне зоне.

K&S узорковање током JDS 3 истраживања. спроведено је у деловима Дунава који се могу прегазити, док је узорковање дрецом фокусирано на дубља станишта како би се добле информације о дистрибуцији организама дуж попречног пресека речног корита. Узорковање дубљих делова реке дрецом коришћено је и због могућности поређења са подацима прикупљеним *Air-lift* методом, која је примењена за узорковање дубљих делова реке током JDS 2 истраживања 2007. године.

Многи аутори (Fast, 1968; Elliott и Drake, 1981a; Probert, 1984), су поредили ефикасност узорковања разним типовима дреца али не и са другим методама. Према подацима Drake-а и Elliott-а (1982) дреца је погодана за узимање узорака са супстрата састављених од шљунка до већег камења, али није погодна за узимање узорака са финог супстрата (муљ, глине) као ни са станишта са крупним каменом (матична стена).

Насупрот томе, *Air-lift* је погодан за употребу на супстрату састављеном од финијих фракција (муља и глине) до шљунка. Ове две методе узорковања најбоље је користити истовремено како би се осигурало да се читав спектар супстрата у дубоким рекама обухвати квалитативним узорковањем. Рад на терену је најбољи начин да се одреде најадекватније методе узорковања као и да се формира протокол за узорковање одређеног типа реке.

Benjamin (1998) користи стандардизоване методе, које се примењују за узорковање фауне макробескичмењака у дубоким каналима, да би утврдио да ли методологија узорковања утиче на резултате, а самим тим и процену квалитета воде. Анализирани су резултати три технике узорковања на два локалитета, које укључују коришћење ручне мреже, дреце и багера. K&S метода и дреца су технике којима је прикупљен најразноврснији узорак са великим бројем таксона у односу на уложени напор узорковања. Ове две методе имале су и високе вредности биотичких скорова (BMWP и ASPT). Ипак, било је значајних разлика у резултатима добијеним анализом ових метода. Резултати оправдавају употребу K&S методе у комбинацији са дрецом, јер су утврђене значајне разлике фауни унутар узорака прикупљених овим методама, па је закључено да је неопходно користити обе методе да би се осигурао репрезентативни узорак целог водотока.

Ово сугерише да узорковање K&S методом треба да се ограничи на узорковање плићих делова реке и да треба користити друге методе као алтернативу за прикупљање узорака из дубљих делова. Утврђено је такође да је ручну мрежу тешко користити са брода/чамца (Bass et al. 2000).

Анализом узорака обухваћених овим радом донет је сличан закључак, што су потврдиле и статистичке анализе.

Велике реке састоје од два различита станишта: приобаља и много пространијег, дубљег дела, са већим протоком воде. Док је разноврсност станишта у приобаљу већа, дубљи део реке даје карактер целом сливу.

Резултати добијени анализом свих наведених истраживања обављених на Дунаву потврђују да је одређивање прецизних циљева истраживања предуслов за одабир адекватне методологије узорковања. Комбинација свих приступа везаних за специфична станишта пружа свеобухватан увид у састав фауне на одређеном локалитету за велике равничарске реке. Примена комбинованих метода узорковања на великим рекама омогућава да истраживање једнако буде усмерено на одређивање

еколошког статуса, биодиверзитета, као и на истраживање/распрострањење инвазивних врста.

Поређењем главних приступа који су примењени током JDS 3 и JDS 2 истраживања на основу таксономских група уочено је јасно раздвајање метода, што значи да се сваком методом обезбеђује узорковање јединствене фауне - фауне дубоке воде и фауне приобалне зоне.

Airlift узорци показују већу сличност са узорцима прикупљеним дрецом, док су MHS и K&S методе показале сличности јер обе покривају фауну приобаља, што је у складу са чињеницом да се фауна дубљих делова реке у одређеној мери разликује од фауне приобалне зоне.

На појединим секторима доступни типови станишта су хомогени, док су на другим разноврснији па би у таквим случајевима примена MHS методологије узимања узорака било најбоље решење.

Поређење броја индивидуа у оквиру таксона има ограничења. На локалитетима где је могуће узорковање са свих репрезентативних станишта, број индивидуа у оквиру нађених таксона се може поредити. У другим случајевима, када није могуће укључити све расположиве типове станишта у програм узорковања због великих димензија реке, овај начин анализе узорака може дати погрешну слику о односима у заједници (Marković и сар., 2012, Tubić и сар., 2013).

Постоји неколико локалитета на горњем и средњем току Дунава који имају добро дефинисан састав станишта. Прикупљени подаци на овим локалитетима су репрезентативни за међусобно поређење (између акумулације Габчиково и Дунафолдвара, горњег и средњег Мађарског дела Дунав) (Csányi и Raunović, 2006).

У овом раду су анализирани и узорци добијени употребом *Van Veen* багера који је коришћен за узорковање у сектору Дунава под успором, у комбинацији са K&S методом. Ове две методе такође покривају две различите зоне, те се и анализирани параметри заједнице очекивано разликују, што је и статистички потврђено.

Према Elliot и Drake (1981б), багери не остварују добре резултате на тврдим подлогама, нарочито на местима где је дубина воде већа од 1 m а брзина струјања већа од 0,5 m/s. Осим тога, из багера се често губи фини део фракције сакупљеног матерјала приликом подизања, што представља губитак дела узорка (Danielson, 2014). Овај проблем се повећава уколико камен или крупнији предмети спрече правлно и комплетно затварање „вилаца“ багера. Ови проблеми ограничавају узорковање багерима на подлоге са финим седиментом, у споријим токовима и искључује их из

употребе у редовним биомониторинг програмима, где узорци морају бити прикупљени са различитих типова подлога. На Дунаву у дубокој води велике брзине и *Peterson* багер се лоше показао (Herrig 1975) у поређењу са *Airlift* и *corer* узорковачима дизајнираним за узорковање фауне која насељава супстрат са финим наносом седимента у дубљим деловима реке (Bretschko и Schönbauer, 1998). Сличани резултати добијени су и на реци Елби (Petermeier & Schöll 1996). Обе студије не препоручују багере за рутинско узорковање дубоких река.

Резултати свих метода узорковања се допуњују: MHS подаци се користе за процену статуса, док методе за узорковање дубљих делова реке (*Air-lift*, *Multicorer*, дреца и *Van Veen* багер) и K&S методадају више информација о биодиверзитету и просторно - временској дистрибуцији таксона макробескичмењака али и о вертикалној дистрибуцији организама.

На групу Mollusca треба посебно обратити пажњу, за њихово детаљно истраживање неопходно је спровести детљан мониторинг специфичних станишта. Рођење може да обезбеди додатне информације, нарочито о популацији шкољки које живе у дубљим обалним зонама (Tomović, 2015).

Важан аспект је и време потребно за обављање узорковања са брода на великим рекама. Ако се узму у обзир све активности везане за узорковање, које подразумевају време потребно за прикупљање података о локалитету (састав подлоге, ширина и дубина тока, ниво хидроморфолошке деградације итд), ношење опреме, узорковање, редукција узорака, сортирање, обележавање, конзервација и паковање узорака, потребно је просечно 2 сата по сваком локалитету. На овај начин, могуће је узорковати два, евентуално три локалитета у току дана, уколико пут између два локалитета траје мање од сат времена.

Обрада узорака подразумева два одвојена корака: 1) издвајање макробескичмењака из супстрата и 2) идентификацију и бројање. Време потребно да се издвоје и разврстају индивидуе макробескичмењака из узорака са великих река, прикупљених различитим методама, зависи од особе која обрађује узорак. Треба истаћи да величина узорка варира и у великој мери зависи од методе узорковања и особина локалитета, упркос покушајима да узорци буду униформни. Поређено је време потребно за обраду узорака прикупљених стандардним методама. Количина материјала сакупљена дрецом и *Airlift* методом није била велика, али уколико је на неком од локалитета био већи проценат финог наноса, време обраде узорака се пролонгирало. Сортирање узорака узетих *Airlift* методом је временски захтевније у односу на узорке

узете дрецом и ручном мрежом (Neale и сар., 2006). Треба имати у виду да поред одабира адекватне методологије узорковања и ниво таксономске детерминације организама у великој мери утиче на резултате процене еколошког статуса (Birk и сар., 2012б; Hering и сар., 2004).

Искуства и резултати ових истраживања могу значајно допринети развоју свеобухватне методологије узимања узорака у великим рекама.

Поређење резултата добијених током овог истраживања односи се на узорке са различитог типа подлоге (природне и вештачке) узете истом методом узорковања, ручном мрежом са свих расположивих микростаништа. Добијене разлике у броју таксономских група, као и у броју индивидуа су значајне и очекивано дају предност природној подлози. Статистичка анализа, ипак, не показује толико значајне разлике између два типа подлоге, што се може објаснити тиме да су поређени узорци узети са истог сектора, па је састав заједница макробескичмењака на различитим подлогама сличан.

Због различитих утицаја дуж тока, изазваних различитим окружењем (рељеф, геолошка подлога, надморска висина, нагиб корита и клима), ова река је хетерогена у погледу општих услова станишта. Због географског положаја, различите климе, сатава стена, педолошке разноликости и орографских карактеристика, слив реке Саве је један од најкомплекснијих у Европи што се тиче дистрибуције биљних и животињских организама (Loratin и Matvejev, 1995). Истраживање дистрибуције водених макробескичмењака реке Саве је комплексно питање.

Mihaljević и сар. (1998) током деветогодишњег истраживања на вештачким подлогама у средњем делу Саве издвајају Chironomidae и Oligochaeta као доминантне групе, што је у складу са резултатима наше студије за средињи део тока Саве. Група Mollusca је такође једана од главних компоненти заједнице макробескичмењака у средњем и доњем делу реке Саве (Matonićkin и сар., 1975; Raunović и сар., 2008б, 2012; Tomović и сар., 2010, Popović и сар., 2016) Mollusca и Oligochaeta представљају две највеће групе макробескичмењака у великим равничарским рекама (Šprotka и Nagy, 1998; Raunović и сар., 2005, 2007а, 2007б; Atanacković и сар., 2011), у односу на број идентификованих врста и релативну абунданцу.

На основу налаза Urbanića (2008) и Lucić и сар. (2015), река Сава може се прелиминарно поделити у пет различита сектора - алпски, субалпски, горња посавска равница, средња Сава и доња Сава, што је у складу са резултатима овог истраживања,

као и са општим природним карактеристика региона. Горњу Саву (горња геоморфолошка јединица која обухвата алпску, субалпску и горњу посавску равницу) карактеришу стрме падине, притоке и доминација подлоге са грубом фракцијом (SRBA, 2009; SRBMP, 2013). Према расположивим подацима, до ушћа Уне и Сиска доминира шљунак. На потезу између Сиска и Славонског Брода у подлози доминирају песк и шљунак, а низводно песак и муљ. Како је подлога један од најзначајнијих фактора који утичу на расподелу макробескичмењака (Allan, 1995) карактер промена у заједници је очекиван.

5.1. Оптимизација методологије узорковања водених бескичмењака за водене екосистеме Србије

Имајући у виду горе поменуте чињенице и методолошке проблеме везане за узорковања водених макробескичмењака, у овом раду се предлажу следећи поступци узорковања за различита водна тела:

За реке које се могу прегазити препорука је да се користи модификована AQEM метода узорковања. Као што је више пута поменуто у овом раду, AQEM метода је заснована на MHS шеми, која је дизајнирана за узорковање главних станишта, пропорционално њиховом присуству у зони узорковања (AQEM Consortium 2002). Број реплика би требало одредити према пропорцији главних типова станишта описаних у AQEM протоколу. Узорак би се састојао од 10 реплика прикупљених са свих типова микростаништа на истраживаном локалитету, од којих сваки заузима више од 5% површине. На основу приказаних резултата у овом раду, 10 реплика је процењено као довољан број подузорака за приказ репрезентативног састава заједнице водених макробескичмењака.

Треба имати на уму следећа чињенице током узорковања са микростаништа:

- У случају узорковања микростаништа са воденом макровегетацијом, узоркује се површина дна (25x25cm), заједно са вегетацијом,
- Организми са узорковане вегетације спрају се помоћу мреже,
- У узорковање се укључује и минерална подлога испитиваног подручја,
- Флотантна вегетација се узоркује заједно са материјалом са дна;
- Узоркује се доминантна вегетација.

На основу добијених резултата вишегодишњих истраживања може се истаћи да је AQEM процедура узорковања применљива само за веома плитка водна тела. Израз „воде које се могу прегазити” одговара водним телима максималне дубине до 1m (узорковње је ризично, посебно у брзим рекама, како због јаке струје, тако и због клизавог покривача од алги на камењу и нестабилног дна). Да је потребна велика провидност за визуелну процену микростаништа; мутне воде су проблематичне за AQEM узорковање, и да је у дубоким и/или мутним водама неопходно озбиљно теренско искуство како би се спровела адекватна стратегија.

K&S методу, која је једноставнија и економски исплативија, треба користити као алтернативу AQEM методи за рутински мониторинг, или као додатну процедуру, да би се добио што прецизнији списак таксона приликом анализе заједнице. Узорковање треба да буде стандардизовано на такав начин да се апроксимативно користи једнак напор при сваком узорковању, било да се користи иста дужина узорковања или да се спроводи исти број замаха приликом узорковања. Овако постављена K&S процедура даје семиквантитативне узорке. Узете узорке на овај начин могуће је поредити.

На великим и веома великим рекама, примена AQEM методе узорковања према MHS шеми, захтева другачији приступ, због другачијег разматрања топологије, димензија реке и статистичке обраде. На оваквим водним телима, са резервом треба третирати AQEM узорковање као квантитативну методу. Процена броја индивидуа по јединици површине (i/m^2) није релевантна у већим рекама, јер велики део речног дна није могуће прегазити и није довољно провидно за визуелну процену свих постојећих типова станишта. Груба процена микростаништа у плиткој обалској зони може се добити гажењем дуж сектора где се узоркује, тип подлоге се може проценити на основу осећаја под стопалима, а такође седимент се може извадити ручном мрежом тако да је у том случају могуће извршити и визуелну процену седимента. Сектор узорковања требало би да износи између 50 и 100m.

Релативни удео различитих станишта у плићој зони, у случају великих река често може бити само грубо процењен, због мале провидности и турбулентности. Због тога се за средње и велике низијске реке предлаже употреба комбинованих метода за узорковање макробескичмењака.

Због чињеница да је обалски регион средњих, великих и веома великих река најнасељенији и да има највећи диверзитет заједница макробескичмењака, препорука је да се посебна пажња усмери на овај део воденог екосистема. Предложена

модификована AQEM процедура узорковања (10 подузорака) је задовољавајућа и ефикасна за рутинску процену статуса/потенцијала. Као допуну, за рутински мониторинг, на одабраним местима узорковања, треба користити и дрецу, чија се употреба препоручује само на одабраним местима за узорковање на сектору где је безбедно користити мали чамац са мотором.

Као и у сличачају мањих река које се могу прегазити, K&S методу, треба користити као алтернативу AQEM методе за рутински мониторинг, или као додатну процедуру, за детаљнија истраживања.

Препоручује се роњење без опреме на дубине до 4m. Да би се квантификовале шкољке, јединке треба сакупити са површине 0,5x0,5m. За одређивање површине за узорковање, може се користити челични рам. Процедуру треба поновити најмање 5 пута.

За истраживачки мониторинг и научна истраживања, неопходно је испитати и дубље делове реке, како би се добиле информације о диверзитету и абунданци макробескичмењака у дубљој зони. Препоручљиво је да се редовно испитује дубљи део реке, мада мање фреквентно, да би се добили неопходни подаци о динамици овог, често значајног дела реке.

Узорковање дрецом се испоставило као технички једноставнија и економски исплативија метода у односу на друге тестиране методе (*Airlift*, *Multicorer* и багери), за истраживање дубљих делова реке.

6. ЗАКЉУЧЦИ

-
- MHS метода, која се врши према AQEM протоколу, погодна је за еколошку процену статуса како река које се могу прегазити, тако и средњих, великих и веома великих река у периоду ниских вода,
 - MHS метода је стандардизована, стрес-специфичана метода, везана за специфична станишта, на основу које се може утврдити преференција за станиште различитих врста макробескичмењака,
 - ОДВ-компатибилни MHS узорци, који се састоје од 20 (10) подзорака, могу се користити за стандардне анализе (сапробност),
 - K&S метода је најприхватљивија, како технички тако и економски, за рутински мониторинг различитих водних тела,
 - Уколико се стандардизује, коришћењем истог напора узорковања и временског интервала, подаци добијени узорковањем K&S методом, могу се рачунати као семиквантитативни и поредиви су,
 - Узорци узети K&S методом се брже и лакше обрађују од узорака прикупљених осталим наведеним методама,
 - На методе узорковања дубљих делова реке (*Airlift, multicorer*, дреца, багер) не утиче ниво воде и погодне су за прикупљање података са свих дубљих делова и станишта великих река,
 - Пажљивим руковањем дрецом могу се обезбедити семи-квантитативни подаци,
 - Роњење обезбеђује додатне информације нарочито о популацији шкољки које живе у дубљим зонама поред обале.
 - Детаљно истраживања групе Mollusca захтева детљан мониторинг специфичних станишта.

7. ЛИТЕРАТУРА

- Åarefjord J. (1972). The use of an air-lift in freshwater bottom sampling. A comparison with the Ekman bottom sampler. *Verhandlungen der Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie*, 18, 701-705.
- Allan D.J. (1995). *Stream Ecology - Structure and function of running waters*. Chapman & Hall, London, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras, 388 pp.
- AQEM & STAR Site Protocol (2002): www.eu-star.at. Protocols
- AQEM Consortium (2002) Manual for the application of the AQEM system. A comprehensive method to assess European streams using benthic macroinvertebrates, developed for the purpose of the Water Framework Directive. Version 1.0, February 2002. Contract No: EVK1-CT1999-00027. 202 pp.
- Armitage, P.D., Moss, D., Wright, J.F. and Furse, M.T., (1983). The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running-water sites. *Water Research*, 17, 333-347.
- Atanacković A., Jakovčev-Todorović D., Simić V., Tubić B., Vasiljević B., Gačić Z. & Paunović M. (2011). Oligochaeta community of the main Serbian waterways. *Water Research and Management* 1(1): 47-54.
- Austrian Standards M 6119-2 (draft): Guidelines for the ecological study and assessment of rivers – Macrozoobenthos. Part 2: A Standardized Procedure for prorate Multi-Habitat-Sampling.
- Barbour, M. T., Gerritsen, J., Snyder B. D. & J. B. Stribling (1999): Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish. (2nd ed.) EPA/841-B-98-010. U.S. EPA. Office of Water, Washington, DC.
- Bass J. A. B., Wright J. F., Clarke R. T., Gunn R. J. M. & Davy-Bowker J. (2000). Assessment of sampling methods for macroinvertebrates (RIVPACS) in deep watercourses. Environment Agency R&D Technical Report E134. 57pp.
- Benjamin J. (1998). A comparative study of methods for sampling macroinvertebrates in Sussex Rifes. Unpublished report to Environment Agency, Southern Region. 103pp.
- Bick, H. (1971). The potentialities of ciliated Protozoa in the biological assessment of water pollution levels. In *Proceedings of the International Symposium on Identification and*

- Measurement of Environmental Pollutants, Ottawa, ON, June 14-17, 1971*, Chmn. I. Hoffman, pp. 305-9. National Research Council of Canada, Ottawa, ON.
- Birk S, van Kouwen L, Willby N. (2012a). Harmonising the bioassessment of large rivers in the absence of near-natural reference conditions - a case study of the Danube River. *Freshw Biol.*;57(8):1716–32.
- Birk S., Bonneb W., Borjac A., Brucetb S., Courratd A., Poikaneb S., Soliminie A., Bundb W., Zampoukasb N., Heringa D. (2012б). Three hundred ways to assess Europe's surface waters: An almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. *Ecological Indicators* 18: 31-41
- Birk S., Hering D. (2006) Direct comparison of assessment methods using benthic macroinvertebrates: A contribution to the EU Water Framework Directive intercalibration exercise. *Hydrobiologia* 566:401–415
- Blagojević M., Vlahović P., Gavrilović D., Gavrilović Lj., Dimitrijević R., Živojinović D., Mileusnić S., Simonović P., Stamenković S., Stanković S., Stepić M., Stefanović D., Tanasić S., Tešić M. & Ferjančić S. (2005). *Drina*. Zavod za udžbenike i nastavna sredstava, Beograd, Zavod za udžbenike i nastavna sredstava, Srpsko Sarajevo, 487 p.
- Bretschko G. & Schönbauer B. (1998). Quantitative sampling of the benthic fauna in a large, fast flowing river (Austrian Danube). *Archiv für Hydrobiologie Supplement*, 115: 195-211.
- Brua RB, Culp JM, Benoy GA (2011). Comparison of benthic macroinvertebrate communities by two methods: Kick- and U-net sampling. *Hydrobiologia* 658:293–302
- Buffagni A. (2001). A Europe-wide system for assessing the quality of rivers using macroinvertebrates: The AQEM Project and its importance for southern Europe (with special emphasis on Italy). *J Limnol.*; 60 Supplement, 1):39–48.
- Carter C.E. (1978). The fauna of the muddy sediments of Lough Neagh, with particular reference to eutrophication. *Freshwat. Biol.*, 8, 547-559.
- Compin A., Cereghino R., (2007). Spatial patterns of macroinvertebrate functional feeding groups in streams in relation to physical variables and land-cover in southwestern France. *Landscape Ecology* 22: 1215 - 1225.

- Csányi B. & Paunović M. (2006). The Aquatic Macroinvertebrate Community of the River Danube between Klostenburg (1942 rkm) and Calafat – Vidin (795 rkm). *Acta Biologica Debrecina Supplementum Oecologica Hungarica* 14: 91–106.
- Csányi B. (2002) Joint Danube Survey: Investigation of the Tisza River and its tributaries. Final Report of the ICPDR/VITUKI, Budapest, 1-135.
- Csányi, B., Szekeres, J., György Á. I., Szalóky Z., Falka I. (2012). Methodology of Macroinvertebrate Survey on Large Rivers: A Case Study on the Romanian Lower Danube. *Water Research and Management*, Vol. 2, No. 2: 25-40
- Cummins K.W. (1962). An evaluation of some techniques for the collection and analysis of benthic samples with special emphasis on lotic waters. *Am. Midl Nat.*, 67 477-504.
- Cummins, K.W, Klug, J.M. (1979). Feeding ecology of stream invertebrates. *Annual Review of Ecology and Systematic* 10, 147-172.
- Danielson, T. J., (2014). Protocols for Collecting Water Grab Samples in Rivers, Streams and Freshwater Wetlands. Maine Department of Environmental Protection, Augusta, ME. DEPLW0637A-2014.
- Davies, S.P., and L. Tsomides, (2002). Methods for Biological Sampling and Analysis of Maine's Rivers and Streams. Maine Department of Environmental Protection. Augusta, ME. DEP LW0387-B2002.
- Davies, S.P., Tsomides L., DiFranco J. and Courtemanch D. (1999). Biomonitoring retrospective: fifteen year summary for Maine rivers and streams. DEPLW1999- 26. Maine Department of Environmental Protection, Augusta, Maine. pp 190
- De Pauw N, Roels D, Fontoura AP. (1986). Use of artificial substrates for standardized sampling of macroinvertebrates in the assessment of water quality by the Belgian Biotic Index. *Hydrobiologia*.;133(3):237–58.
- Drake C.M. & Elliott J.M. (1982). A comparative study of three air-lift samplers for sampling benthic macro-invertebrates in rivers. *Freshwater Biology*, 12, 511-533.
- Elliott J.M. & Drake C.M. (1981a). A comparative study of four dredges used for sampling benthic macroinvertebrates in rivers. *Freshwater Biology*, 11, 245-261.
- Elliott J.M. & Drake C.M. (1981b). A comparative study of seven grabs used for sampling benthic macroinvertebrates in rivers. *Freshwater Biology*, 11, 99-120.

- EN 27828:1994 Water quality - Methods for biological sampling – Guidance on hand-net sampling of benthic macro-invertebrates.
- EN 28265:1994 Water quality - Methods of biological sampling – Guidance on the design and use of quantitative samplers for benthic macro-invertebrates on stony substrata in shallow waters.
- EN ISO 8689-2:1999 Biological classification of rivers PART 11 - Guidance on the presentation of biological quality data from surveys of benthic macro-invertebrates in running waters.
- EN ISO 9391:1995 Water quality - Sampling in deep waters for macroinvertebrates – Guidance on the use of colonisation, qualitative and quantitative samplers.
- Fast A.W. (1968). A drag dredge. *Progressive Fish Culturist*, 30, 57-61. 232.
- Fjordingstad, E. (1965). Taxonomy and saprobic valency of benthic phytomicro-organisms. *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie* 50:475-604.
- Flannagan J.F. (1970). Efficiencies of various grabs and corers in sampling freshwater benthos. *J. Fish. Res. Board Can.*, 27, 1691-1700.
- Foissner, W. (1988). Taxonomic and nomenclatural revision of Sladeczek's list of ciliates (Protozoa: Ciliophora) as indicators of water quality. *Hydrobiologia* 166: 1-64.
- Gale W.F. (1975) Bottom fauna of a segment of pool 19, Mississippi River, near Fort Madison, Iowa% 1967-1968. *Iowa State J. Res.*, 49, 353-372.
- García-Criado F, Trigo C. (2005). Comparison of several techniques for sampling macroinvertebrates in different habitats of a North Iberian pond. *Hydrobiologia*;545(1):103–15.
- Gavrilović Lj. & Đukić D. (2002). *Reke Srbije*. Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd, ISBN 86-17-06873-6.
- Giani N. (1974) Description d'un nouveau type de carottier pour les sediments tres fluides. *Ann. Limnol.*, 10, 99-108.
- Graf W, Csányi B, Leitner B, Paunovic M, Chiriac G, Stubauer I, Ofenböck T, Wagner F (2008) Macroinvertebrates. In: Liška I, Wagner F, Slobodník J (eds) *Joint Danube Survey Final Scientific Report*. Vienna: International Commission for the Protection of the Danube River – ICPDR; pp 41–53

- Graf W, Csányi B, Leitner P, Paunović M, Huber T, Szekeres J, Nagy C, Borza P. (2015). Macroinvertebrates. In: Liška I, Wagner F, Sengl M, Deutch K, Slobodnik J, editors. Joint Danube Survey 3 A Comprehensive Analysis of Danube Water Quality. Vienna: International Commission for the Protection of the Danube River - ICPDR; 81–99 p.
- Guhl, W. (1987). Aquatic Ecosystem Characterization by Biotic Indices. *Int. Revue. ges. Hydrobiol.* **72**, 4. 431-455.
- Hakala I. (1971). A new model of the Kajak bottom sampler and other improvements in the zoobenthos sampling technique. *Ann. Zool. Fenn.*, 8, 422-426.
- Hamilton A.L., Burton W. & Flannagan J.F. (1970). A multiple corer for sampling profundal benthos. *J. Fish. Res. Board Can.*, 27, 1867-1869.
- Hering, D., O. Moog, L. Sandin & P. F. M. Verdonschot (2004). Overview and application of the AQEM assessment system. *Hydrobiologia* 516: 1–20.
- Herrig H. (1975) Der Bodensauger – ein neuartiges Gerät zur Entnahme von Sohlenproben aus großen Fließgewässern. (The slurp gun – a novel device for river bottom sampling. – in German). *Deutsche Gewässerkdl. Mitteilungen* 19, 104-107.
- Hynes H.B.N. (1971). Benthos of flowing water. In W.T.Edmondson & G.C.Winberg (eds.), *A Manual on Methods for the Assessment of Secondary Productivity in Fresh Waters*. IBP Handbook No. 17. Oxford: Blackwell. pp.
- ISO 5667-3:1995 Water quality - Sampling - Part 3: Guidance on the preservation and handling of samples.
- ISO 7828:1985 Water quality - Methods of biological sampling - Guidance on handnet sampling of aquatic benthic macroinvertebrates.
- Kajak Z., Rybak J. & Ranke-Rybicka B. (1978) Fluctuations in numbers and changes in the distribution of *Chaoborus flavicans* (Meigen) (Diptera, Chaoboridae) in the eutrophic Mikolajskie Lake and dystrophic Lake Flosek. *Ekol. Pols.*, 26:259-272.
- Kolkwitz, R. (1950). *Ökologie der Saprobien*. *Schriftenreihe des Vereins für Wasser-, Boden- und Lufthygiene*. 4:1-64.
- Kolkwitz, R. and Marsson M. (1908). *Ökologie der pflanzlichen Saprobien*. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 26A:505-19.

- Kolkwitz, R. and Marsson M. (1909). Okologie der tierischen Saprobien. Beitrage zur Lehre von des biologischen Gewasserbeurteilung. *I nternationale Revue der Gesamten Hydrobiologie und Hydrographie* 2:126-52.
- Liebmann, H. (1951). The biological community of *Sphaerotilus* floes and the physico-chemical basis of their formation. *Vom Wasser* 20:24.
- Liebmann, H. (1962). *Handbuch der Frischwasser- und Abwasserbiologie*, Band I, 2 Aufлаг. Verlag R. Oldenbourg, Miinchen.
- Lopatin IK, Matvejev SD (1995) Kratka zoogeografija sa osnovama biogeografije i ekologije bioma Balkanskog poluostrva. Knjiga 1, Univerzitetski udžbenik, Ljubljana, 166 pp
- Lucić, A., Paunović, M., Tomović, J., Kovačević, S., Zorić, K., Simić, V., Atanacković, A., Marković, V., Kračun-Kolarević, M., Hudina, S., Lajtner, J., Gottstein, S., Milošević, Đ., Anđus, S., Žganec, K., Jaklič, M., Simčić, T., Vilenica, M. (2015). Aquatic macroinvertebrates of the Sava River. Pp. 335-359. In: Milačić, R., Ščančar, J. & Paunović, M. (eds.). *The Handbook of Environmental Chemistry Vol. 31: The Sava River*. Springer, Heidelberg, New York, Dordrecht, London.
- Macan T. T. (1958). Methods of sampling the bottom fauna in stony streams. *Mitt. Int Ver. Limnol.*, 8, 1-21.
- Mackey A.P. (1972). An air-lift for sampling freshwater benthos. *Oikos*, 23, 413-415.
- Margalef, R. (1958). Information theory in ecology. *Gen. Systems* 3, 36-71.
- Marković V., Atanacković A., Tubić B., Vasiljević B., Simić V., Tomović J., Nikolić V. & Paunović M. (2011). Indicative status assessment of the Velika Morava River based on aquatic macroinvertebrates. *Water Research and Management* 1(3): 47-53.
- Marković, V., Atanacković, A., Tubić, B., Vasiljević, B., Kračun, M., Tomović, J., Nikolić, V., Paunović, M. (2012). Indicative status assessment of the Danube River (Iron Gate sector 849 - 1,077 rkm) based on the aquatic macroinvertebrates. *Water Research and Management* 2 (2): 41-46
- Marković V., Tomović J., Atanacković A., Kračun-Kolarević M., Ilić M., Nikolić V., & Paunović M. (2014). Macroinvertebrate communities along the Velika Morava River. *Turkish Journal of Zoology* 39: 210-224.

- Marković J. (1990). Enciklopedijski geografski leksikon Jugoslavije. Sarajevo. Svjetlost. ISBN 978-86-01-0265-3
- Marković, Z. (1995). Reka Đetinja. Makrozoobentos u oceni kvaliteta vode. Ministarstvo za zaštitu životne sredine Republike Srbije, Naučno-istraživački centar, Užice. pp.131.
- Marković, Z. (1998). Izvori brdsko-planinskih područja Srbije - ekološka studija makrozoobentosa. Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu. 318.
- Marković, Z., Mitrović-Tutundžić, V., Savić, I., Randelović, N. (1997). Analysis of spring to stream fauna transition by example of the river Banja source (Serbia, Yugoslavia). *Ekologija* 32, 2, 57-63.
- Mason J.C. (1976). Evaluating a substrate tray for sampling the invertebrate fauna of small streams, with comment on general sampling problems. *Arch. Hydrobiol.*, 78, 51-70.
- Matoničkin I, Pavletić Z, Habdija I, Stilinović B (1975) Prilog valorizaciji voda ekosistema rijeke Save. Sveučilišna Naklada Liber 95, Zagreb [Contribution to evaluation of the Sava River ecosystem. University of Zagreb and Liber University Press 95]
- Merritt R.W., Cummins K.W. & Resh V.H. (1978). Collecting, sampling, and rearing methods for aquatic insects. In R.W.Merritt & K.W.Cummins (eds.), *An Introduction to the Aquatic Insects of North America*, Dubuque, Iowa, USA: Kendall-Hunt Publ. Co.
- Merritt, R.W., V.H. Resh, Cummins K.W. (1996). Design of Aquatic Insect Studies: Collecting Sampling, and Rearing Procedures. p. 12-28 *in* *An Introduction to the Aquatic Insects of North America*. R.W. Merritt and K.W. Cummins eds. 3rd edition. Kendall/Hunt Publishing Company, Dubuque, Iowa.
- Mihaljević Z, Kerovec M, Tavčar V, Bukvić I (1998). Macroinvertebrate community on an artificial substrate in the Sava River: long-term changes in the community structure and water quality. *Biologia, Bratislava* 53(5):611–620
- Milacic R., Scancar J., Murko S., Kocman D., Horvat M. (2010). A complex investigation of the extent of pollution in sediments of the Sava River. Part 1: selected elements. *Environ Monit Assess*;163:263–75.
- Milbrink G. & Wiederholm T. (1973) Sampling efficiency of four types of mud bottom samplers. *Oikos*, 24, 479-482.

- Milbrink G. & Wiederholm T. (1973). Sampling efficiency of four types of mud bottom samplers. *Oikos*, 24, 479-482.
- Milošević Đ. (2013). Larve porodice Chironomidae (Diptera, Insecta) sliva Južne Morave i njihova primena u proceni ekološkog statusa tekućih vodenih ekosistema - Doktorska disertacija, Univerzitet u Kragujevcu, 182 p.
- Moog O., Brunner, S., Humpesch, U.H. and Schmidt - Kloiber, A. (2000). The distribution of benthic invertebrates along the Austrian stretch of the River Danube and its relevance as an indicator of zoogeographical and water quality patterns. Part 2. *Archiv für Hydrobiologie*. 115: 473-509.
- Moog O., Chovanec A., Hinteregger H. & A. Römer (1999): Richtlinie für die saprobiologische Gewässergütebeurteilung von Fließgewässern. Wasserwirtschaftskataster, Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Wien: 144 p.
- Mundie J.H. (1971). Sampling benthos and substrate materials down to 50 microns in size in shallow streams. *J. Fish. Res. Board Can.*, 28, 849-860.
- Murray-Bligh, J. A. D. (1999). Procedures for collecting and analysing macro-invertebrate samples. *Quality Management Systems for Environmental Monitoring: Biological Techniques*, BT001. (Version 2.0, 30 July 1999), Environment Agency, Bristol.
- Neale MW, Kneebone NT, Bass JAB, Blackburn JH, Clarke RT, Corbin TA, Davy- Bowker J, Gunn RJM, Furse MT, Jones JI. (2006). Assessment of the Effectiveness and Suitability of Available Techniques for Sampling Invertebrates in Deep Rivers. North South Shared Aquatic Resource (NS Share).
- Norris R.H. (1980). An appraisal of an air-lift sampler for sampling stream macroinvertebrates. *Bulletin of the Australian Society of Limnology*, 7: 9-15.
- Pantle R., Buck H. (1955): Die biologische Überwachung der Gewässer und die Darstellung der Ergebnisse. *Gas - und Wasserfach* 96 (18): 604.
- Paunović M, Borković S, Pavlović S, Saičić Z, Cakić P (2008) Results of the 2006 Sava survey – aquatic macroinvertebrates. *Arch Biol Sci* 60:265–270.
- Paunović M, Jakovčev-Todorović D, Simić V, Stojanović B, Cakić P (2007) Macroinvertebrates along the Serbian section of the Danube River (stream km 1429-925). *Biologia*, Bratislava 62:1–9.

- Paunović M, Simić V, Jakovčev-Todorović D, Stojanović B (2005) Results on macroinvertebrate community investigation in the Danube River in the sector upstream the Iron Gate (1083-1071 km). *Arch Biol Sci* 57:57–63.
- Paunović M, Simić V, Simić S, Vuković D, Petrović A, Vasiljević B, Zorić K, Tomović J, Atanacković A, Marković V (2011) Biological Quality Elements in WFD implementation in Serbia—typology, reference conditions and ecological status class boundaries. Technical Report, Contracts.
- Paunović M, Tomović J, Kovačević S, Zorić K, Žganec K, Simić V, Atanacković A, Marković V, Kračun M, Hudina S, Lajtner J, Gottstein S, Lučić A (2012) Macroinvertebrates of the Natural Substrate of the Sava River – preliminary results. *Water Res Manag* 2(4):32–39.
- Paunović M. (2007a). Struktura zajednica makroinvertebrata kao indikator tipova tekućih voda Srbije. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu.
- Paunović M., Simić V., Pantović N., Đikanović V., Slavevska-Stamenković V. & Cakić P. (2010). Water quality assessment based on saprobiological analyses of the macroinvertebrate communities in the Zapadna Morava river basin. BALWOIS 2010 - Ohrid, Republic of Macedonia - 25-29 May 2010.
- Paunović M., Vassilev V., Cheshmedjiev S. & Simić V. (2008a). Procena stanja životne sredine i rizika na slivu reke Timok. Regional environmental Center, 58 p.
- Paunović, M., Jakovčev-Todorović, D., Simić, V., Stojanović, B., Veljković, A. (2006a). Species composition, spatial distribution and temporal occurrence of mayflies (Ephemeroptera) in the Vlasina River (Southeast Serbia). *Archive Biological Sciences*, 58 (1), 37-43.
- Paunović, M., Jakovčev-Todorović, D., Simić, V., Stojanović, B., Petrović, A. (2006b) Trophic relations between macroinvertebrates in the Vlasina River (Serbia). *Arch. Biol. Sci., Belgrade*, 58 (2), 105-114.
- Paunović, M., Kalafatić, V., Jakovčev, D. & V. Martinović-Vitanović (1997). Periphyton and Benthos of the Vlasina River. 32. Arbeitstagung der IAD, SIL, Wissenschaftliche Kurzreferate, 193-198, Wien.

- Paunović, M., Kalafatić, V., Jakovčev, D., Martinović-Vitanović, V. (2003). Oligochaetes (Annelida, Oligochaeta) of the River Vlasina (Southeast Serbia) - diversity and distribution. *Biologia (Bratislava), Section Zoology*. **58/5**, 903-911.
- Paunović, M., Kalafatić, V., Martinović, J.M., Jakovčev, D., Martinović-Vitanović, V. (1999). The Vlasina River - Water quality, environmental quality assessment and preservation. The 28th Annual Conference of Yugoslav Water Pollution Control Society "Water Pollution Control 1999", Conference Proceedings, 37-46. [in Serbian].
- Pearson R.G., Litterick M.R. & Jones N.V. (1973). An air-lift for quantitative sampling of the benthos. *Freshwater Biology*, 3, 309-315.
- Pehofer H. E. (1998). A new quantitative air-lift sampler for collecting invertebrates designed for operation in deep, fast-flowing gravelbed rivers. *Archiv für Hydrobiologie Supplement*, 101: 213- 232.
- Petermeier A. & Schöll F. (1996) Das hyporheische Interstitial der Elbe – Methodenrecherche. Bundesanstalt für Gewässerkunde, Koblenz. BfG-1038.
- Pielou, E.C. (1966). The measurement of diversity in different types of biological collections. *Journal of Theoretical Biology*, 13, 131-44 pp.
- Popović, N., Đuknić, J., Čanak-Atlagić, J., Raković, M., Tubić, B., Anđus, S., Paunović, M. (2015). The relation between chironomid (Diptera: Chironomidae) assemblages and environmental variables: The Kolubara River case study. *Archives of Biological Sciences*. DOI:10.2298/ABS150521123P
- Popović, N., Đuknić, J., Čanak Atlagić, J., Raković, M., Marinković, N., Tubić, B., Paunović, M. (2016). Application of Water Pollution Index in the assessment of the ecological status of rivers – the Sava case study. *Acta Zoologica Bulgarica*, 68, 1, 97-102.
- Prejs K. (1970). Some problems of the ecology of benthic nematodes (Nematoda) of Mikolajskie Lake. *Ekol. Pols.*, 18: 225-242.
- Probert P.K. (1984). A comparison of macrofaunal samples taken by box corer and anchor-box dredge. *NZOI Records*, 4 (13), 149-15.
- RBC Report (2007). Characterization Report for the Kolubara River Basin. EC CARDS Regional Programme 2003 "Pilot River Basin Plan for Sava River".

- Resh V.H. (1979). Sampling variability and life history features: basic considerations in the design of aquatic insect studies. *J. Fish. Res. Board Can.*, 36, 290-311.
- Resh VH, McElravy EP. (1993). Contemporary quantitative approaches to biomonitoring using benthic macroinvertebrates. In: *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates..* p. 159–94.
- Resh VH, Norris RH, Barbour MT. (1995). Design and implementation of rapid assessment approaches for water resource monitoring using benthic macroinvertebrates. *Aust J Ecol.*;20:108–21.
- Robert S., Birk S. & Somenhauser M. (2003). Typology of the Danube River – part 1: Top-down approach. In: *UNDP/GEF Danube Regional Project, Activity 1.1.6*, pp. 51–59. *Typology of Surface Waters and Definition of Reference Conditions for the Danube River –Final report.*
- Rosenberg, D.M., Resh, V.H. (eds), (1993). *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates.* Chapman & Hall, New York, London. 488 pp.
- Schönbauer B. (1999). Spatio-temporal patterns of macrobenthic invertebrates in a free-flowing section of the River Danube in Austria. *Archiv für Hydrobiologie. Supplement* 115 (3): 375-397.
- Shannon, C.E., Weaver, W. (1949). *The Mathematical Theory of Communication.* The Univ. of Illinois, Press, Urbana, IL.
- Simić S. & Simić V. (2009). *Ekologija kopnenih voda (Hidrobiologija I).* Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu; Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Kragujevcu, ISBN 978-86-7078-062-0
- Simić, V., Simić, S. (1999). Use of the river macrozoobenthos of Serbia to formulate a biotic index. *Hydrobiologia.* 416: 51-64. Netherlands.
- Simpson E.H. (1949). Measurement of diversity. *Nature*, 163: 688
- Sladeczek, V. (1965). The future of the saprobity system. *Hydrobiologia* 25:518-37.
- Sladeczek, V. (1973). System of water quality from the biological point of view. *Archiv für Hydrobiologie Ergebnisse der Limnologie* 7:1-218.
- Slobodnik, J., Hamchevichi, C., Liška, I., Shearman, A., Csányi, B., Makovinská, J., Paunović, M., Tóthová, L., Stahlschmidt-Allner, P., Allner, B. (2005). Final report on

- sampling, chemical analysis and ecotoxicological studies. AquaTerra – Integrated Modelling of the river–sediment–soil–groundwater system; advanced tools for the management of catchment areas and river basins in the context of global change, Integrated Project, Thematic Priority: Sustainable development, global change and ecosystems, Deliverable No.: BASIN 5.11, 148 p.
- Službeni glasnik (2011). Pravilnik o parametrima ekološkog i hemijskog statusa površinskih voda i parametrima hemijskog i kvantitativnog statusa podzemnih voda. 74/2011
- Šporka F, Nagy S. (1998). The macrozoobenthos of parapotamon-type side arms of the Danube river and its response to flowing conditions. *Biologia* 53(5):633–643
- SRBA (2009) Sava River Basin analysis. ISRBC, Zagreb (<http://www.savacommission.org/>). Accessed 08.03.2014
- SRBMP (2013) Draft Sava River Basin management plan. International Sava River Basin Commission (ISRBC), Zagreb, with financial support of the European Union, 236 pp. http://www.savacommission.org/dms/docs/dokumenti/srbmp_micro_web/srbmp_final/sava_rbm_draft_eng_03_2013.pdf. Accessed 08.03.2014
- StatSoft Inc. (2004): STATISTICA, version 7, <http://www.statsoft.com>
- Stefanović, K., Nikolić, V., Tubić, B., Tomović, J., Atanacković, A., Simić, V., Paunović, M. (2009). Aquatic macroinvertebrates of the Jablanica River, Serbia. *Archives of Biological Sciences, Belgrade*, Vol. 61, No. 4, pp 787-794.
- Taylor T. P. & Erman DC. (1980). The littoral bottom fauna of high elevation lakes in Kings Canyon National Park. *Calif. Fish Game*, 66, 112-119.
- Tomović J, Vranković J, Zorić K, Borković Mitić S, Pavlović S, Saičić Z, Paunović M (2010) Chapter 12 Malakofauna of the Serbian stretch of the Danube River and studied tributaries (the Tisa, Sava and Velika Morava). In: Paunović M, Simonović P, Simi V, Simić S (eds) *Danube in Serbia – Joint Danube survey 2*. Ministry of Agriculture, Forestry and Water Management – Directorate for Water, University of Kragujevac, Faculty of Science, Institute for Biology and Ecology, University of Belgrade, Institute for Biological Research “Sinis̄a Stanković”, Belgrade, pp 207–224
- Tomović J. (2015). *Ekologija, biodiverzitet i konzervacija slatkovodnih školjki familije Unionida u Srbiji - Doktorska disertacija*, Univerzitet u Kragujevcu, 157 p.

- Torsten K, Milačić R, Smital T, Thomas K, Vraneš S, Tollefsen K-E. (2008). Chronic toxicity of the Sava River (SE Europe) sediments and river water to the algae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Water Res*, 42:2146–56.
- Trozic-Borovac S., Hafner D., Sarac M., Skrijelj R., Antunović M., Gajević M., Loncarevic A. (2011). Qualitative And Quantitative Composition Of Benthos Community In Evaluation Of Water Quality Of Neretva River At Visici And Zitomislici Sites. V International Conference “AQUACULTURE & FISHERY” - Conference Proceedings, 307-314 p.
- Tubić, B. P., Popović, N. Z., Raković, M.J., Petrović, A. S., Simić, V. M., Paunović, M. M. (2016). Comparison of the effectiveness of kick and sweep hand net and Surber net sampling techniques used for collecting aquatic macroinvertebrate samples. *Archives of Biological Sciences*. DOI:10.2298/ABS160622087T
- Tubić B, Simić V, Zorić K, Gačić Z, Atanacković A, Csányi B, Paunović M (2013) Stream section types of the Danube River in Serbia according to the distribution of macroinvertebrates. *Biologia* 68(2):294–302.
- Urbanič G (2008) Redelineation of European inland water ecoregions in Slovenia. *Rev Hydrobiol* 1:17–25.
- Vannote R. L., Minshall G. W., Cummins K. W., Sedell J. R., Cushing C. E., 1980. The River Continuum Concept. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 37: 130 – 137.9 .
- Wallace J.B., Webster J.R. (1996). The role of macroinvertebrates in stream ecosystem function. *Annual Review of Entomology* 41:115–139.
- Waters T.F. & Resh V.H. (1979). Ecological and statistical features of sampling insect populations in forest and aquatic environments. In G.P.Patil & M.Rosenzweig (eds.), *Contemporary Quantitative Ecology and Related Econometrics*, Fairland, Maryland: Int. Co-op. Publ. House.
- WFD (2000). Water Framework Directive- Directive of the European Parliament and of the Council 2000/60/EC - Establishing a Framework for Community Action in the Field of Water Policy.
- Zelinka, M. & Marvan, P. (1961). Zur Präzisierung der biologischen Klassifikation der Reinheit fließender Gewässer. – *Arch. Für Hydrobiol.*, Stuttgart, 57: 389-407.

<http://www.fhmzbih.gov.ba/latinica/O-NAMA/FHMZ-registar.php>

www.fliessgewaesserbewertung.de

https://en.wikipedia.org/wiki/Airlift_pump

www.fliessgewaesserbewertung.de

8. ПРИЛОЗИ

Прилог 1. Пример протокола за попуњавање на терену (JDS 2)

JDS11

site name <i>Škečevac Mikroreca</i>	date <i>1.09.2007.</i>	sample no. <i>2</i>	investigator <i>Šuš</i>
Site related information: Site description			
1 map (No., scale)	2 stream name <i>Sava</i>		
	3 stream system (river flowing into the sea) <i>Drena</i>		
	4 country <i>Srbija</i>		
	5 federal state <i>Srbija</i>		
	6 map no.		
	7 longitude (degree, min, sec) <i>E 19° 36' 48"</i>		
	8 latitude (degree, min, sec) <i>N 44° 57' 41,2"</i>		
	9 distance to source [km]		
	10 stream order (Strahler system)		
11 slope of the valley floor [%]			
12 subregion (if applicable)		13 ecoregion and ecoregion no.	
14 altitude of sampling site [m a. s. l.] <i>79 m</i>		15 altitude class	
16 catchment area [km ²] at sampling site		17 size class based on catchment area	
18 Geology (dominant type)		19 geology class	
20 stream type (mark system and fill in name) <input type="checkbox"/> System A <input type="checkbox"/> System B			
21 photographs (a. downstream)		(b. upstream)	
22 short description			

- PAGE 1 - AQEM

site name	date	sample no.	investigator																																								
Sample related information, to be recorded just once																																											
Stream morphology and hydrology at sampling site (☺ = one mark, ☹ = more than one mark possible)																																											
25 valley form ☺ <input type="checkbox"/> canyon	<input type="checkbox"/> meander valley	<input checked="" type="checkbox"/> U-shaped valley																																									
<input type="checkbox"/> V-shaped valley	<input type="checkbox"/> plain floodplain	<input type="checkbox"/> trough																																									
26 channel form ☺ <input type="checkbox"/> meandering	<input type="checkbox"/> sinuate	<input checked="" type="checkbox"/> constrained (natural)																																									
<input type="checkbox"/> braided	<input type="checkbox"/> constrained (artificial)	<input type="checkbox"/> anabranching																																									
27 cross section 		a) width of floodplain [m] _____ b) flood prone area width [m] _____ c) entrenchment depth [m] _____ d) average stream width [m] _____ e) mean depth water body [m] _____ f) maximum depth water body [m] _____																																									
28 relation riffles/pools [share of pools%] estimated for a stretch 20 x av. stream width or 100 m, whichever is longer																																											
29 debris dams ☺ (POM accumul. >0.3 m³) at sampling site <input type="checkbox"/> none <input type="checkbox"/> few <input type="checkbox"/> several <input type="checkbox"/> many		30 logs ☺ (>10 cm Ø) at sampling site <input type="checkbox"/> none <input type="checkbox"/> few <input type="checkbox"/> several <input type="checkbox"/> many																																									
31 bank and bed fixation ☺ <table style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 5px;"> <thead> <tr> <th style="width: 30%;"></th> <th style="width: 15%; text-align: center;">left shoreline</th> <th style="width: 15%; text-align: center;">bed</th> <th style="width: 30%; text-align: center;">right shoreline</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>concrete without seams</td> <td style="text-align: center;"><input checked="" type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input checked="" type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>concrete with seams</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>stones</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>wood</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>trees</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>stone plastering with interstices</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>stone plastering without interstices</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>other materials _____</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>no bank fixation</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> </tbody> </table>					left shoreline	bed	right shoreline	concrete without seams	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	concrete with seams	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	stones	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	wood	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	trees	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	stone plastering with interstices	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	stone plastering without interstices	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	other materials _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	no bank fixation	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	left shoreline	bed	right shoreline																																								
concrete without seams	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																								
concrete with seams	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																								
stones	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																								
wood	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																								
trees	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																								
stone plastering with interstices	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																								
stone plastering without interstices	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																								
other materials _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																								
no bank fixation	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																								
32 dams <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/> ?	33 oth. transv. structures <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/> ?	34 pulse releases <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/> ?	35 water abstract. <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/> ?																																								
36 stagnation <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/> ?	37 torrent modification <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/> ?	38 channelg. for navigation <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/> ?	39 straightening <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/> ?																																								
40 removal of CWD <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/> ?	41 cut-off meanders <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/> ?	42 scouring [m bel. surface] <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no [m] <input type="checkbox"/> ?	43 culverting <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/> ?																																								
44 fire incident <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/> ?	45 waste <input type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no	46 others																																									

Прилог 2. Списак литературе која се користи за идентификацију водених бескичмењака у Одељењу за хидроекологију и заштиту вода (ИБИСС)

Mollusca

- CLENCH, J. W. 1959. Mollusca. 1117-1160. In: Edmondson, W.T. ed. Freshwater Biology. 2nd edition. John Wiley & Sons, Seattle.
- MACAN, T.T. 1969. A key to the British Fresh and Brackish Water Gastropods. Freshwater Biological Association. Scientific Publication No. 13.
- SANSONI, G. 1998b. Bivalvi. In: Atlante per il riconoscimento dei Macroinvertebrati dei corsi d'acqua Italiani. Provincia Autonoma di Trento. Agenzia Provinciale per la Protezione dell' Ambiente, 3rd edition, Trento, 154-161.
- ZHADIN, V.I. 1952. Mollusks of Fresh and Brackish Waters of the U.S.S.R. Izdatel' stvo Akademii Nauk SSSR, Moskva, Leningrad.
- BUFFAGNI, A. 1997. Taxonomic and Faunistic notes on the *Caenis pseudorivulorum* group Ephemeroptera, Caenidae. Istituto di Ricerca Sulle Acque C.N.R. Via Della Mornera 25. I-20047 Brugherio MI, Italie.
- BUFFAGNI, A. 1998. *Heptagenia longicauda*, nuova per l' Italia, nel fiume Po Ephemeroptera Heptageniidae. Boll. Soc. Entomol. Ital. 1301, 13-16.
- BUFFAGNI, A. 1999. Tassonomia Faunistica ed Ecologia di alcune specie Italiane del genere *Caenis* Ephemeroptera, Caenidae. Fragmenta entomologica Roma 311, 1- 13.
- ELLIOTT, J.M. & U.H. HUMPESCH 1983. A key to the Adults of the British Ephemeroptera with notes on their ecology. Freshwater Biological Association. Scientific Publication No. 47, 1-101.
- GRANDI, M. 1960. Ephemeroidea. In: Fauna d' Italia, Volume III. Edizioni Calderini, Bologna.
- KLAPALEK F. & K. GRUENBERG 1909. Ephemera, Plecoptera, Lepidoptera. Heft 8. In: Brauer, A. ed. 1961. Die Suesswasserfauna Deutschlands. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- MACAN, T.T. 1979. A key to the nymphs of British Ephemeroptera. Freshwater Biological Association. Scientific Publication No. 20 3rd edition, 1-79.

Oligochaeta

- BRINKHURST, R.O. & B.G.M.Ed. JAMIESON 1971. Aquatic Oligochaeta of the World. Edinburg, 860 pp.
- CEKANOVSKAYA, O.V. 1962. The aquatic Oligochaete fauna of the USSR. Opred. Faune SSSR 78: 411 pp.
- HRABĚ, S. 1954. Máloštětinatci - Oligochaeta. Klíč zvířeny ČSR. Praha 1: 287-323.

-
- HRABE, S. 1981. Vodní máloštětinatci Oligochaeta Československa. Acta Universitatis Carolinae - Biologica 1-2 1979: 167 pp.
- NIELSEN, C.O. & B. CHRISTENSEN 1959. The Enchytraeidae: Critical revision and taxonomy of European species. Studies on Enchytraeidae. Natura jutlandica 8-9: 167 pp.
- NIELSEN, C.O. & B. CHRISTENSEN 1961. The Enchytraeidae: Critical revision and taxonomy of European species. Suppl. 1. Natura jutlandica 10: 23 pp.
- NIELSEN, C.O. & B. CHRISTENSEN 1963. The Enchytraeidae: Critical revision and taxonomy of European species. Suppl.2. Natura jutlandica 10: 19 pp.
- SPERBER, C. 1950. A guide for the determination of the European Naididae. Zool. Bidr.Upps., 29: 78 pp.
- WACHS, B. 1967. Die häufigsten hämoglobinführenden Oligochaeten der mitteleuropäischen Binnengewässer. Hydrobiologia 30, 225-247.

Hirudinea

- ELLIOTT, J.M. & K.H. MANN 1979. A key to the British freshwater leeches with notes on their life cycles and ecology. Freshw. Biol. Ass. Sci. Publ. 40, 72 pp.

Heteroptera

- GULDE, J. ed. 1935. Die Wanzen Mitteleuropas. XII.Teil. Verlag des Internationalen Entomologischen Vereins e. V., 105 pp.
- SAVAGE, A.A. 1989. Adults of the British Aquatic Hemiptera Heteroptera. Freshwater Biological Association. Scientific Publication No. 50, 1-173.
- TAMANINI, L. 1979. Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne Italiane. Eterotteri acquatici Heteroptera: Gerromorpha, Nepomorpha. No 6. Consiglio Nazionale delle Ricerche, 106 pp.

Megaloptera, Neuroptera

- ELLIOTT, J.M. 1996. A key to the larvae and adults of british freshwater Megaloptera and Neuroptera. Freshwater Biological Association. Scientific Publication No. 54, 68 pp.

Ephemeroptera

- BELFIORE, C. 1983. Efemerotteri Ephemeroptera. In: Consiglio Nazionale delle Ricerche AQ/1/201 Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane 24, 113 pp.

- BELFIORE, C. & E. GAINO 1984. Le specie italiane del genere *Habrophlebia* Eaton, 1841 Ephemeroptera, Leptophlebiidae. Boll. Ass. romana Ent. 39, 11-18.
- BELFIORE, C. & A. BUFFAGNI 1994. Revision of the Italian species of the *Ecdyonurus helveticus* - group: taxonomy of the nymphs Ephemeroptera, Heptageniidae. Mitt. Schweiz. Ent. Ges. 67, 143-149.
- ELLIOTT, J.M. & U.H. HUMPECH 1983. A key to the Adults of the British Ephemeroptera with notes on their ecology. Freshwater Biological Association. Scientific Publication No. 47, 1-101.
- ELLIOTT, J.M., U.H. HUMPECH & T.T. MACAN 1988. Larvae of British Ephemeroptera: a key with ecological notes. Freshwater Biological Association. Scientific Publication No. 49, 1-145.
- ENGBLOM, E. 1996. Ephemeroptera. Mayflies. 13-53. In: Nilsson, A.N. ed.. Aquatic Insects of North Europe. A taxonomic handbook. Vol 1: Ephemeroptera, Plecoptera, Heteroptera, Neuroptera, Magaloptera, Coleoptera, Trichoptera and Lepidoptera. Apollo Books, Stenstrup, 274 pp.
- GRANDI, M. 1960. Ephemeroidea. In: Fauna d' Italia, Volume III. Edizioni Calderini, Bologna.
- MACAN, T.T. 1952. Taxonomy of the British species of Leptophlebiidae Ephem.. Hydrobiologia 4, 363-376.

Plecoptera

- HYNES, H.B.N. 1977. A Key to the adults and nymphs of the British Stoneflies Plecoptera. With notes on their Ecology and Distribution. Freshwater Biological Association. Scientific Publication No.7, 90 pp.
- SCHMEDTJE, U., P. ZWICK & A. WEINZIERL 1992. Plecoptera. In: Schmedtje, U. & Kohmann, F. ed.. Bestimmungsschlüssel für die Saprobier-DIN-Arten Makroorganismen. Landesamt f. Wasserwirtschaft 2/88, 133-149.
- ZWICK, P. 1980. Plecoptera Steinfliegen. Handbuch der Zoologie IV Band: Arthropoda, 2. Hälfte: Insecta, 2. Teil: Spezielles. Walter de Gruyter, Berlin, New York, 115 pp.

Coleoptera

- HOLMEN, M. 1987. The aquatic Adepaga Coleoptera of Fennoscandia and Denmark. I. Gyrinidae, Haliplidae, Hygrobiidae and Noteridae. Fauna Entomologica Scandinavica 20, 1-168.
- NILSSON, A.N. & M. HOLMEN 1995. The aquatic Adepaga Coleoptera of Fennoscandia and Denmark. II Dytscidae. Fauna Entomologica Scandinavica 32, 1-192.

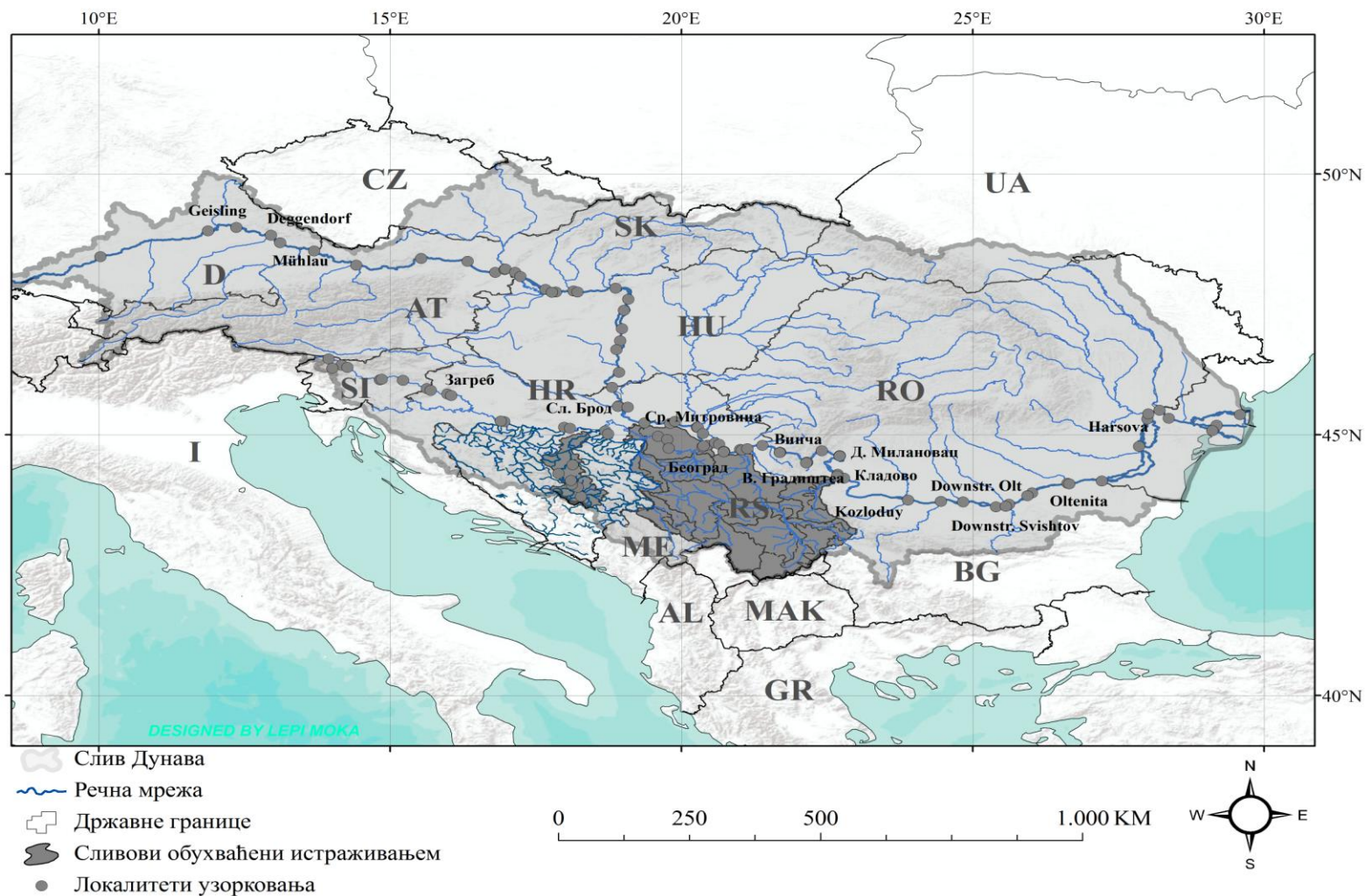
Trichoptera

- MACAN, T.T. 1973. A key to the adults of the British Trichoptera. Freshwater Biological Association. Scientific Publication No. 28, 151 pp.
- MALICKY, H. 1983. Atlas of European Trichoptera. The Hague, 298 pp.
- WALLACE, I.D., B. WALLACE & G.N. PHILIPSON 1990. A key to the case-bearing caddis larvae of Britain and Ireland. Freshwater Biological Association. Scientific Publication No. 51, 1-237.

Diptera

- BRUNDIN, L. 1983. The larvae of Podonominae Diptera: Chironomidae of the Holarctic region - Keys and Diagnoses. Ent. Scan. Suppl. 19. 23-31.
- CRANSTON, P.S. 1983. The larvae of Telmatogetoninae Diptera: Chironomidae of the Holarctic region - Keys and Diagnoses. Ent. Scan. Suppl. 19. 17-22.
- CRANSTON, P.S., D.R. OLIVER & O.A.SAETHER 1983. The larvae of Orthoclaadiinae Diptera: Chironomidae of the Holarctic region - Keys and Diagnoses. Ent. Scan. Suppl. 19, 149-291.
- FITTKAU, E.J. & S.S. ROBACK 1983. The larvae of Tanypodinae Diptera: Chironomidae of the Holarctic region - Keys and Diagnoses. Ent. Scan. Suppl. 19, 33-110.
- KNOZ, J. 1965. To identification of Czechoslovakian black-flies Diptera, Simuliidae. Folia prirod. Fak. Univ. Purkyne Biol. 2, 6, 5, 1-142.
- OLIVER, D.R. 1983. The larvae of Diamesinae Diptera: Chironomidae of the Holarctic region - Keys and Diagnoses. Ent. Scan. Suppl. 19, 115-138.
- PINDER, L.C.V. & F. REISS 1983. The larvae of Chironominae Diptera: Chironomidae of the Holarctic region - Keys and Diagnoses. Ent. Scan. Suppl. 19, 293-435.
- SAETHER, O.A. 1983. The larvae of Prodiamesinae Diptera: Chironomidae of the Holarctic region - Keys and Diagnoses. Ent. Scan. Suppl. 19. 141-147.

Прилог 3. Локалитети узорковања у оквиру истраживаних водотокова у периоду 2004-2016. година



БИБЛИОТЕЧКА ДОКУМЕНТАЦИЈА



Универзитет у Крагујевцу
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ
ИНСТИТУТ ЗА БИОЛОГИЈУ И ЕКОЛОГИЈУ



Радоја Домановића 12, 34000 Крагујевац, Србија

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈА

Редни број	
Тип записа	Текстуални штампани материјал
Врста рада	Докторска дисертација
Аутор	Бојана Тубић
Ментор	др Момир Пауновић, научни саветник
Наслов рада	Тестирање различитих метода узорковања макробескичмењака у воденим екосистемима и могућности стандардизације
Језик публикације	Српски (ћирилица)
Језик извода	Српски
Земља публикавања	Србија
Година публикације	2016.
Издавач	Ауторски репринт
Место и адреса	Радоја Домановића 12 34000 Крагујевац, Србија
Научна област	Биологија
Научна дисциплина	Хидробиологија
Предметна одредница/кључне речи	водени макробескичмењаци; методе узорковања; ефикасност узорковања; стандардизација; дизајн истраживања
Чува се	У библиотеци Природно-математичког факултета у Крагујевцу, Р. Домановића 12, 34000 Крагујевац, Србија
Важна напомена	

Извод

Заједнице водених макробескичмењака имају особине које их сврставају у добре и поуздане показатеље промена еколошких услова који владају и сукцесивно се мењају у акватичном екосистему. Прегледом примене Оквирне директиве о водама у европским земљама, уочено је да су, у већини случајева, водени макробескичмењаци коришћени као примарни типолошки биолошки елемент, као и да су референтни услови засновани, углавном, на истраживањима поменуте групе хидробионата.

Савремена истраживања у Европи везана су за преглед и проналажење функционалних метода узорковања макробескичмењака у циљу имплементације Оквирне директиве о водама. Теренски рад је предуслов за све даље анализе заједнице макробескичмењака, те је од изузетног значаја избор ефикасних метода у односу на тип екосистема и циљ студије. Недостатак финансијских и стручних ресурса за мониторинг и примењена истраживања захтевају да се одреди ефикасна методологија за прикупљање биолошких узорака и изврши хармонизација приступа због могућности поређења података. Примењена истраживања зависе од расположивих финансијских средстава и научног циља.

У овом раду разматране су различите технике прикупљања узорака за изучавање заједница водених макробескичмењака, специфичности везане за узорковање појединих фаунистичко-еколошких група, као и потешкоће везане за истраживање типова водних тела, понаособ, на основу материјала прикупљеног са укупно 320 локалитета у периоду 2004-2016. на разноврсним типовима, пре свега, текућих вода у Србији. Део података који је разматран са циљем утврђивања ефикасности појединих метода односи се и на локалитете ван Србије – материјал са Дунава (сектор дужине 2 500 km, од Регензбурга до делте Дунава), Саве (цео ток реке, у дужини од 937 km) и река Неретва и Босна са притокама (у Босни и Херцеговини).

Представљен је детаљан протокол прикупљања материјала и пратећих података, што подразумева опис методологије узорковања водених макробескичмењака, избор и карактеризацију локалитета, приказ процедуре обраде материјала, као и разматрање метода за анализе резултата.

Анализа резултата вршена је употребом програмских пакета ASTERICS 4.0.4 (AQEM Consortium, 2002) и "Statistica" верзија 7 (StatSoft, Inc., 2004). Поређење различитих метода узорковања везаних за заједницу водених макробескичмењака, као и за појединачне групе макробескичмењака у оквиру ове заједнице, уз поређење са претходним публикацијама које разматрају ову проблематику, дало је одговоре везане за стандардизацију методологије, утицај појединачних метода узорковања на резултате истраживања везане за разноврсност и просторну динамику заједнице водених макробескичмењака у различитим воденим екосистемима.

На основу добијених резултата извршена је оптимизација методологије узорковања водених бескичмењака за водене екосистеме Србије, предложена је методологија за одређени тип екосистема као и избор адекватних метода за одређени тип истраживања, као и за специфичну групу организама (шкољке) са посебним акцентом на велике и веома велике реке (по типологији текућих вода Србије), које представљају комплексне екосистеме.

Датум прихватања теме од стране ННВ	
Датум одбране	
Чланови комисије	Проф. др Владица Симић, председник комисије Научни сарадник др Наташа Поповић Доцент др Ана Петровић



Универзитет у Крагујевцу
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

ИНСТИТУТ ЗА БИОЛОГИЈУ И ЕКОЛОГИЈУ

Радоја Домановића 12, 34000 Крагујевац, Србија



KEY WORDS DOKUMENTATION

Accession number	
Type of record	Textual material, printed
Contents code	PhD thesis
Author	Bojana Tubić
Mentor	Dr Momir Paunović,
Title	Testing different methods for sampling macroinvertebrates in aquatic ecosystems and examination of the possibility for their standardization
Language of text	Serbian (Roman) (scr)
Language of abstract	Serbian (Roman) / English
Country of publication	Serbia
Publication year	2016.
Publisher	Copyright reprint
Publisher place	Radoja Domanovića 12 34000 Kragujevac, Serbia
Scientific field	Biology
Scientific discipline	Hydrobiology
Key words	aquatic macroinvertebrates; sampling technique; sampling efficiency; standardization; study design
Holding data	In library of Faculty of Science, Kragujevac 34000 Kragujevac, Serbia, R. Domanovića 12
Note	

Abstract

Aquatic macroinvertebrate communities possess certain characteristics which render them as reliable indicators of environmental changes in aquatic ecosystems. In the review of the application of the Water Framework Directive in European countries, it was observed that in most cases water macroinvertebrates serve as the significant typological element, and that the reference conditions are based mainly on the researched group of hydro-biota.

Current research in Europe is aimed at reviewing and establishing practical methods for sampling macroinvertebrates in order to ensure the successful implementation of the Water Framework Directive. Field work is the first step in every analysis of an macroinvertebrate community and the choice of efficient methods with regard to the type of ecosystem and goals of the study is of a great importance. Insufficient financial and technical

resources for monitoring and applied research require the establishment of an effective methodology for collecting biological samples and a harmonized approach to insure data comparability. Applied research depends on the available financial resources and the scientific objective.

This paper presents different sampling techniques for the study of aquatic macroinvertebrate communities. It examines the problems encountered during sampling of specific faunistic ecological groups and different types of water bodies. The material was collected at 320 sites located primarily along different running waters in Serbia, from 2004 to 2016. To establish the efficiency of a particular method, we used data that was collected at sites outside of Serbia as follows: (i) the Danube River (a 2,500 km long sector from Regensburg to the Danube Delta); (ii) the Sava River (the entire course of the river with a length of 937 km); (iii) the rivers Neretva and Bosna in Bosnia and Herzegovina, including their tributaries.

A detailed protocol for collecting material and supporting data is presented, including description of aquatic macroinvertebrate sampling techniques, selection and characterization of the sites, reviews of procedures used for the processing of the sampled material, as well as a discussion of the methods employed for the analysis of the obtained results.

The results were analyzed with the software package ASTERICS 4.0.4 (AQEM Consortium, 2002) and "Statistica" Version 7 (StatSoft, Inc., 2004). Comparison of the different sampling methods for aquatic macroinvertebrate communities and specific groups within communities provided answers with regard to the standardization of the methodologies, the effects of the individual sampling methods on the results related to the diversity and spatial dynamics of the aquatic macroinvertebrate communities in different aquatic ecosystems.

Based on the obtained results, we optimized the aquatic macroinvertebrate sampling methodology for the aquatic ecosystems in Serbia. Also, methodologies for specific types of ecosystems and appropriate methods of selection for specific types of research are suggested, as well as methodologies best suited for a specific group of organisms (Mussels), with emphasis on large and very large rivers (based on the National typology of running waters in Serbia) which represent complex ecosystems.

Accepted by Scientific Board on	
Defended on	
Commission	Prof. Vladica Simić, PhD, President of the Commission Research Associate, Nataša Popović, PhD Associate Professor, Ana Petrović, PhD

ОБРАЗАЦ 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Бојана Тубић
број уписа 31/08

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом
Тестирање различитих метода узорковања макробески-
чмењака у воденим екосистемима и могућности стандардизације

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

У Крагујевцу, 12.10.2016.

Потпис аутора

Бојана Тубић

ОБРАЗАЦ 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Бојана Тубић
Број уписа 31/08
Студијски програм Докторске студије биологије
Наслов рада Тестирање различитих метода узорковања макроскопичких узорка у воденим екосистемама и могућности стандардизације
Ментор др Момчило Пауновић

Потписани Бојана Тубић

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу.**

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Крагујевцу.

У Крагујевцу, 12. 10. 2016.

Потпис аутора

Бојана Тубић

ОБРАЗАЦ 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Крагујевцу унесе моју докторску дисертацију под насловом:
Тестирање различитих метода узорковања макробактеријске
у воденим екосистемима и могућности стандардизације
која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Крагујевцу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство - некомерцијално - без прераде
4. Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
5. Ауторство - без прераде
6. Ауторство - делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, чији је кратак опис дат је на обрасцу број 4.).

Потпис аутора

у Крагујевцу, 12.10.2016.



БИОГРАФИЈА

Бојана Тубић, рођена је 22.01.1976. године у Смедеревској Паланци, где је завршила Основну школу и Гимназију. Биолошки факултет Универзитета у Београду (студијска група Биологија) уписала је школске 1993/1994 године и дипломирала 2002. са просечном оценом 8,34 и оценом 10 на дипломском испиту.

Школске 2008/2009. године уписује Докторске академске студије биологије на Институту за биологију и екологију Природно–математичког факултета Универзитета у Крагујевцу.

Од јула 2003. **Бојана Тубић** запослена је на Одељењу за хидрокологију и заштиту вода Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић” у Београду, као истраживач приправник У децембру 2009. године распоређена је на радно место млађег асистента и стиче звање истраживач сарадник.

Бојана Тубић бави се истраживањем разноврсности и просторне динамике заједнице водених бескичмењака, еколошкм интеракцијама водених макробескичмењака, утицајем параметара окружења на заједнице водених организама, као и применом макроинвертебрата у биолошком мониторингу, укључујући и развој индекса еколошког статуса за текуће воде Србије.

У текућем пројектном периоду **Бојана Тубић** учествује у реализацији два пројекта: „Еволуција у хетерогеним срединама: механизми адаптација, биомониторинг и конзервација биодиверзитета“ ОИ 173025 и „Мерење и моделирање физичких, хемијских, биолошких и морфодинамичких параметара река и водних акумулација“ ТР 37009 Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије. Осим тога учествује у активностима текућеих међународних пројеката: GLOBAQUA - Седми оквирни програм Европске комисије – FP7 (бр. 603629-ENV-2013-6.2.1) и STAWA – Процена еколошког статуса водних тела у сливу реке Саве. Стратегија ЕУ за Дунавски регион, СТАРТ - Дунавски регионални фонд за пројекте (Позив 1, бр. 09_PA04-C1).

Comparison of the effectiveness of kick and sweep hand net and surber net sampling techniques used for collecting aquatic macroinvertebrate samples

Tubić Bojana P., Popović Nataša Z., Raković Maja J., Petrović Ana S., Simić Vladica M., Paunović Momir M.

The objective of this work is to analyze the effectiveness of two widely used methods for collecting aquatic macroinvertebrate samples: the semiquantitative kick and sweep (K&S) and quantitative Surber net (SN) techniques. Based on our data, the methods were fully comparable as regards analysis of the macroinvertebrate metrics most often used in ecological status assessment (sensitivity/tolerance parameters), while K&S was found to be more successful in the evaluation of biodiversity. Thus, both methods could be used for routine monitoring of the status of water bodies, according to the recommendation of the EU Water Framework Directive, while for research, K&S is more advanced. K&S is also more effective timewise for material collecting. SN sampling is a quantitative method and could thus be used in studies of aquatic ecosystem productivity. [This work was supported by the European Communities 7th Framework Program Funding, Grant Agreement No. 603629-ENV-2013-6.2.1-Globaqua]

Keywords: aquatic macroinvertebrates, kick and sweep technique, Surber net technique, sampling efficiency

COMPARISON OF THE EFFECTIVENESS OF KICK AND SWEEP HAND NET AND SURBER NET SAMPLING TECHNIQUES USED FOR COLLECTING AQUATIC MACROINVERTEBRATE SAMPLES

Bojana P. Tubić^{1,*}, Nataša Z. Popović¹, Maja J. Raković¹, Ana S. Petrović², Vladica M. Simić² and Momir M. Paunović^{1,#}

¹*University of Belgrade, Institute for Biological Research “Siniša Stanković”, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Belgrade, Serbia*

¹*Institute of Biology and Ecology, Faculty of Science, University of Kragujevac, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac*

Corresponding authors: *bojana@ibiss.bg.ac.rs; #mpaunovi@ibiss.bg.ac.rs

Received: June 22, 2016; **Revised:** August 26, 2016; **Accepted:** September 20, 2016

Abstract: The objective of this work is to analyze the effectiveness of two widely used methods for collecting aquatic macroinvertebrate samples: the semiquantitative kick and sweep (K&S) and quantitative Surber net (SN) techniques. Based on our data, the methods were fully comparable as regards analysis of the macroinvertebrate metrics most often used in ecological status assessment (sensitivity/tolerance parameters), while K&S was found to be more successful in the evaluation of biodiversity. Thus, both methods could be used for routine monitoring of the status of water bodies, according to the recommendation of the EU Water Framework Directive, while for research, K&S is more advanced. K&S is also more effective timewise for material collecting. SN sampling is a quantitative method and could thus be used in studies of aquatic ecosystem productivity.

Key words: aquatic macroinvertebrates; kick and sweep technique; Surber net technique; sampling efficiency

INTRODUCTION

Aquatic macroinvertebrates are among the most frequently used biological quality elements in the assessment of the ecological status of water bodies [1,2] according to the requirements of the EU Water Framework Directive [3]. Selecting an appropriate sampling technique is a prerequisite for effective research and a reliable monitoring of the status of aquatic ecosystems. Sampling success significantly influences the overall results of a study, since it affects the number of species identified by the investigation, the proportion of different species groups per sample or target location [4–6], as well as proportions of indicator organisms. Thus, our capacity to detect species richness of a target water body or to discover some rare species depends not only on the sampling design, but also on the resulting indices which are used to assess water status and that significantly rely on the choice of effective sampling techniques. Limitations in the resources for monitoring and research (both financial and expert) have made the need for an effective methodology for collecting biological samples all the more important. The effectiveness of macroinvertebrate sampling and standardization of methodology has been extensively studied [7-12], but the issue remains open, especially in respect to some water types, such as large fluvial systems [13]. Sampling technique standardization is also important for

studies on the relationship of biota and environmental factors, including analyses of the influence of single and multiple stressors on aquatic macroinvertebrates assemblages [14].

In order to contribute to the process of selection of appropriate sampling technique, we compared two widely used techniques of collecting macroinvertebrate samples in a wadeable hilly and mountainous stream: the semiquantitative kick and sweep technique (K&S) and the quantitative Surber net (SN) method [15].

MATERIALS AND METHODS

Sample collection

The material used in this study was collected in period 2005-2012 in different hilly and mountainous watercourses in Serbia. A total of 40 sites on 17 watercourses was sampled using two sampling techniques in parallel: the semiquantitative K&S technique using a standard hand net with mesh size of 500 μm , and a quantitative sampling using a SN with the same mesh size and 25x25 cm frame. The time needed for sample collection was measured using a stopwatch for 100 sampling occasions (50 for K&S and 50 for SN sampling). The K&S sampling technique was used in the shore region up to a 1.5-m water depth following the respective standard [16] and multihabitat procedure. The same sampling effort was made on each sampling occasion. About 100 m of the watercourse was taken into consideration for data collecting (visual assessment of dominant bottom substrate, evaluation of mean depth and width of the stream, assessment of shadow coverage, etc.) and sampling. Multihabitat sampling involves the assessment of available habitats within a sampling stretch and collection of material from at least 5% of accessible habitats [17].

Quantitative sampling with SN was done along the same sampling stretch as in the case of K&S. Each sampling occasion involved five subsamples, thereby providing a sample of 5 replicates with a surface area of 3.125 cm^2 (0.3125 m^2). Subsamples were collected from dominant substrate types in order to provide a representative sample for the stretch.

The visual classification of bottom substrate by particle size was performed using the following scale: 1) fine substrate (silt-clay and very fine sand; grains imperceptible by eye; <0.125 mm), 2) fine sand (grains perceptible by eye; 0.125-0.5 mm), 3) coarse sand (0.5-2 mm), 4) gravel (2-16 mm), 5) pebble (16-34 mm), 6) cobble (64-256 mm), and 7) boulder (>256 mm) [18].

Data analysis

The initial dataset comprised 400 samples, of which 230 were collected by the K&S technique and 170 by the SN method. To reduce any error that may be caused by analyzing data from different watercourse types, only samples collected from sites with a domination of coarse bottom type – classes 5-7 based on visual bottom substrate assessment, were included in the analyses. In such a way, the dataset covered the type group of hilly and mountainous small- to medium-sized streams with a domination of hard bottom substrate – types 3-5 according to Serbian typology of running waters. Thus, in the second step of analyses, 243 samples were included (133 collected by K&S and 110 by SN).

In the next step, out of 243 samples, 93 were selected (55 by K&S and 38 by SN) by the elimination of sites exposed to moderate to high anthropogenic pressure, and thus involved only the data from sites that were pre-assessed as possessing a good and better ecological status. This step was done to minimize the influence of stress factors on output results. Pre-assessment of ecological status (as identified in the EU Water Framework Directive [3]) was done based on previous studies [19], using the criteria described in Table 1.

For comparison of sampling techniques, the following biological metrics were used: 1) relative abundance parameters (total abundance of the community, abundance of principal macroinvertebrate taxa groups, all expressed as number of individuals per sample); 2) diversity parameters (total number of species, genera and families per sample, number of species in principal macroinvertebrate taxa groups, number of Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera taxa – EPT Index, Shannon Diversity Index [20]); 3) functional traits (percentage share of functional feeding groups – concept introduced by Cummins & Klug [21], and participation of taxa with defined saprobic preference); 4) number of sensitive taxa, as well as widely used indices, or tolerance/intolerance measures – saprobic index [22], biological monitoring working party (BMWP) score and average score per taxon (ASPT) [23]. The complete list of tested parameters is given in Table 2.

All mentioned parameters were calculated using the ASTERICS Software Version 4.0.4. For the assessment of statistical differences between results obtained by the two sampling techniques, the nonparametric Mann-Whitney U test (MW-U-Test) was used. FLORA Statistical software [24] was used for the data processing.

RESULTS

Of the material collected, 478 species of aquatic macroinvertebrates were identified in the investigated hilly and mountainous watercourses. Insects were the most diversified with 343 species belonging to 272 genera and 120 families. Trichoptera, Diptera and Ephemeroptera were found to be the principal components of macroinvertebrate communities with 92, 82 and 64 species, respectively. The number of species per macroinvertebrate taxa-groups is presented in Table 3.

Among identified species, organisms that indicate oligo- and beta-mesosaprobic conditions prevailed (35.39%), while alpha- and polysaprobic indicators were represented with 11.25%. For more than 50% of organisms, there were no data on saprobic preference. In respect to feeding preference, scrapers/grazers, collector-gatherers and predators were almost equally represented in the communities, with 21.39, 23.27 and 23.26% of the total number of detected species, respectively.

All together 45 metrics out of numerous calculations provided by the ASTERICS Software Version 4.0.4 were used for comparison of effectiveness of the two sampling approaches. Based on the MW-U-test results (Table 2), the following metrics showed statistically significant difference ($p < 0.05$) when the two sampling techniques were analyzed: total number of individuals, number of individuals of Crustacea, Ephemeroptera and Diptera, total number of taxa, number of Crustacea, Ephemeroptera and Diptera species, as well as number of families (Fig. 1). In addition, the share of shredders identified by the two sampling techniques was significantly different. The other metrics, including the widely used tolerance/intolerance measures (saprobic index) [22], BMWP score and ASPT [23] did not show differences between the sets of samples. After the reduction of the dataset, when only samples collected from sites that have been pre-assessed as to having high or good status (93 samples; 55 collected by K&S and 38 by SN), we obtained similar results using the MW-U-test for comparison of the effectiveness, with the same set of metrics showing statistically significant difference, as well as number of individuals and number of Coleoptera taxa.

The results of time effectiveness are presented in Table 4. The time needed for the collection of data on the sampling sites (bottom substrate, stream width and depth, the level of hydromorphological degradation, etc.) was not taken into consideration, but only the sampling

collection, reduction of sample volume (by elimination of coarse debris), sample packing and fixation. As can be seen from the measurements, SN sampling was much more time-consuming in comparison to the K&S technique.

DISCUSSION

The effectiveness of the K&S sampling method is very often underestimated. One of the major shortcomings of this approach is that it is often considered as qualitative [8], whereas the technique also allows for a semiquantitative approach (in defined time interval, or applying “the same sampling effort”), thus providing the data that are comparable along spatial and temporal gradients. Additionally, the sampling and processing of material collected by K&S are less time consuming in compare to other procedures, e.g. the Polyp grab [4], airlift sampling [25] or a detailed AQEM procedure [17]. Our data showed that K&S semiquantitative sampling is more effective in comparison to SN sampling as regards general taxa richness and taxa richness within the principal components of the benthic communities in the type of watercourse covered by the study – small- to medium-sized streams with predominantly coarse bottom substrate. On the other hand, the metrics widely used for status assessment across Europe [1] belonging to the group of sensitivity/tolerance metrics, did not show significant differences in the resulting values based on the material collected by the two different sampling techniques. In that K&S was more effective in detecting the composition of the macroinvertebrate fauna, and that the tested sampling techniques were found to be of the same efficiency in respect to the mentioned metrics, indicates that both techniques are applicable in the routine monitoring of ecological status, but K&S is a better solution for investigative studies aimed at collecting information on taxa richness. Based on the data presented, the two methods are comparable in respect to sensitivity/tolerance metrics – e.g. saprobic index [22], BMWP and ASPT [23]. Similar results were obtained by comparing K&S with U-net sampling devices [26], where the methods were found to be similar in the values of benthic metrics and community composition. According to Brua et al. [26], U-shape net sampling provided slightly better data on diversity and thus the authors recommended this technique for biodiversity studies, despite the more time needed to complete sampling. It should be emphasized that K&S is much more efficient timewise than SN sampling, which is reflected in its economic effectiveness.

The advantage of the SN method is that it provides quantitative data, which is important in when dealing with the productivity of aquatic ecosystems, or if the aim of the research is to assess food availability for benthivorous fish, for example.

The selection of the most appropriate method to sample aquatic macroinvertebrates always depends on the particular goals, and there are several unanswered questions in this respect. Our study tried to answer a specific question regarding two widely used sampling methods for collecting appropriate faunistic information in small hilly water courses around Serbia.

Acknowledgments: This work was supported by the European Communities 7th Framework Program Funding, Grant Agreement No. 603629-ENV-2013-6.2.1-Globaqua.

REFERENCES

1. Birk S, Hering D. Direct comparison of assessment methods using benthic macroinvertebrates: A contribution to the EU Water Framework Directive intercalibration exercise. *Hydrobiologia*. 2006;566(1):401-15.
2. Verdonschot PFM, Nijboer RC. Testing the European stream typology of the Water Framework Directive for macroinvertebrates. *Hydrobiologia*. 2004;516(1-3):35-54.

3. EC. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. Official Journal of the European Communities 2000; L327:1-72.
4. Csányi B, Paunović M. The Aquatic Macroinvertebrate Community of the River Danube between Klosterburg (1942 rkm) and Calafat – Vidin (795 rkm). *Acta Biol Debrecina Suppl Oecologica Hungarica*. 2006;14:91-106.
5. Rosenberg D, Resh VH. *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. New York: Chapman and Hall; 1993. 488 p.
6. Birk S, Bonne W, Borja A, Brucet S, Courrat A, Poikane S, Solimini A, de Bund W, Zampoukas N, Hering D. Three hundred ways to assess Europe's surface waters: an almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. *Ecol Indic*. 2012;18:31-41.
7. Buffagni A. A Europe-wide system for assessing the quality of rivers using macroinvertebrates: The AQEM Project and its importance for southern Europe (with special emphasis on Italy). *J Limnol*. 2001;60(SUPPL. 1):39-48.
8. García-Criado F, Trigo C. Comparison of several techniques for sampling macroinvertebrates in different habitats of a North Iberian pond. *Hydrobiologia*. 2005;545(1):103-15.
9. De Pauw N, Roels D, Fontoura AP. Use of artificial substrates for standardized sampling of macroinvertebrates in the assessment of water quality by the Belgian Biotic Index. *Hydrobiologia*. 1986;133(3):237-58.
10. Resh VH, Norris RH, Barbour MT. Design and implementation of rapid assessment approaches for water resource monitoring using benthic macroinvertebrates. *Aust J Ecol*. 1995;20:108-21.
11. Birk S, van Kouwen L, Willby N. Harmonising the bioassessment of large rivers in the absence of near-natural reference conditions - a case study of the Danube River. *Freshw Biol*. 2012;57(8):1716-32.
12. Resh VH, McElravy EP. Contemporary quantitative approaches to biomonitoring using benthic macroinvertebrates. In: Rosenberg D, Resh VH. *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. New York: Chapman and Hall; 1993. p. 159-94.
13. Graf W, Csányi B, Leitner P, Paunović M, Huber T, Szekeres J, Nagy C, Borza P. Macroinvertebrates. In: Liška I, Wagner F, Sengl M, Deutch K, Slobodnik J, editors. *Joint Danube Survey 3 A Comprehensive Analysis of Danube Water Quality*. Vienna: International Commission for the Protection of the Danube River - ICPDR; 2015. p. 81-99.
14. Navarro-Ortega A, Acuña V, Bellin A, Burek P, Cassiani G, Choukr-Allah R, Dolédec S, Elozegi A, Ferrari F, Ginebreda A, Grathwohl P, Jones C, Rault PK, Kok K, Koundouri P, Ludwig RP, Merz R, Milacic R, Munoz I, Nikulin G, Paniconi C, Paunović M, Petrović M, Sabater L, Sabaterb S, Skoulikidis NT, Slob A, Teutsch G, Voulvoulis N, Barcelo D. Managing the effects of multiple stressors on aquatic ecosystems under water scarcity. The GLOBAQUA project. *Sci Total Environ*. 2015;503:3-9.
15. Brumley J, Schuster J, McKone K, Evans R, Arnold M, Keatley A, Hicks L, Goodmann P. *Methods for Sampling Benthic Macroinvertebrate Communities in Wadeable Waters*. Frankfort, Kentucky; 2015.
16. EN 27828:1994: Water quality - Methods for biological sampling - Guidance on hand-net sampling of benthic macro-invertebrates. 1994.
17. AQEM Consortium. *Manual for the application of the Aqem system: A comprehensive method to assess European streams using benthic macroinvertebrates, developed for the purpose of the Water Framework*. Essen: University Duisburg-Essen, Germany; 2002. 198 p.
18. Verdonschot PFM. Micro-distribution of oligochaetes in a soft-bottomed lowland stream (Elsbeek; The Netherlands). *Hydrobiologia*. 1999;406:149-63.
19. Paunović M. *Structure of macroinvertebrate communities as an indicator of running water types in Serbia [dissertation]*. Belgrade: University of Belgrade, Faculty of Biology; 2007.
20. Shannon CE, Weaver W. *The Mathematical Theory of Communication*. 10th ed. Urbana: The University of Illinois Press; 1964. 132 p.
21. Cummins KW, Klug MJ. Feeding ecology of stream invertebrates. *Ann Rev Ecol Syst*. 1979;10:147-72.
22. Zelinka M, Marvan P. Zur Präzisierung der biologischen Klassifikation der Reinheit fließender Gewässer. *Arch Hydrobiol*. 1961;(57):389-407.
23. Armitage PD, Moss D, Wright JF, Furse MT. The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running-water sites. *Water Res*. 1983;17(3):333-47.
24. Karadžić B. FLORA: A Software Package for Statistical Analysis of Ecological Data. *Water Res Manag*. 2013;3(2):45-54.

25. Graf W, Csányi B, Leitner P, Paunovic M, Chiriac G, Stubauer I, Ofenböck T, Wagner F. Macroinvertebrates. In: Liška I, Wagner F, Slobodník J, editors. Joint Danube Survey 2 Final Scientific Report. Vienna: International Commission for the Protection of the Danube River - ICPDR; 2008. p. 41-53.
26. Brua RB, Culp JM, Benoy GA. Comparison of benthic macroinvertebrate communities by two methods: Kick- and U-net sampling. *Hydrobiologia*. 2011;658(1):293-302.

Table 1. Criteria for the indicative assessment of site quality (pre-assessed ecological status).

Reference or “near natural” site	No settlements or agricultural surfaces detected upstream of the site, or the influence is minor. Hydromorphological degradation is not detected in sampling stretch or upstream. Biological communities are not affected by human activities.	1 – high ecological status
Site under the insignificant influence	Only small settlements and extensive agriculture present upstream of the site. Hydromorphological degradation within sampling stretch or upstream is local. The biological communities are not adversely affected by human activities.	2 – good ecological status
Site under moderate influence and worse	The influence of human activities could be detected within the sample stretch or upstream; thus the influence on biological communities is evident.	3 – moderate ecological status and worse

Table 2. Tested metrics and results of MW-U-Test.

	U	Z	p-level	Z	p-level
Total Number of ind./sample	5433.50	3.44967	0.00056	3.44974	0.00056
Total Number of Taxa	5889.50	2.61361	0.00896	2.61583	0.00890
Saprobic Index (Zelinka & Marvan)	6936.00	0.694885	0.487128	0.694890	0.487125
% of xenosaprobic taxa	7031.50	0.519788	0.603211	0.526394	0.598615
% of oligosaprobic taxa	7109.50	0.376778	0.706339	0.376801	0.706322
% of beta-mesosaprobic taxa	7254.50	-0.110925	0.911676	-0.110925	0.911676
% of alpha-mesosaprobic taxa	7187.00	0.234684	0.814454	0.234685	0.814453
% of polysaprobic taxa	7045.50	-0.494120	0.621222	-0.541611	0.588087
BMWP Score	6379.50	1.71521	0.086308	1.71536	0.086280
Average score per Taxon	7137.00	0.32636	0.744154	0.32640	0.744125
Simpson Diversity Index	7163.50	0.27777	0.781189	0.27778	0.781184
Shannon Weaver Diversity Index	6679.50	1.16517	0.243951	1.16517	0.243950
Evenness index	6641.50	-1.23484	0.216890	-1.23487	0.216881
No. of sensitive taxa	6555.00	1.39344	0.163489	1.40414	0.160278
% of grazers and scrapers	6522.00	1.45394	0.145964	1.45396	0.145957
% of shredders	6109.00	-2.21116	0.027025	-2.21921	0.026473
% of gatherers and collectors	6490.50	1.51170	0.130612	1.51170	0.130612
% of filtrators	6292.50	1.87472	0.060832	1.87510	0.060779
No. of taxa Turbellaria	7295.00	0.03667	0.970749	0.05703	0.954524
No. of taxa Gastropoda	6817.00	-0.91307	0.361208	-1.07114	0.284107
No. of taxa Bivalvia	6935.00	0.69672	0.485980	1.46294	0.143485
No. of taxa Oligochaeta	7113.00	-0.37036	0.711114	-0.38473	0.700440
No. of taxa Hirudinea	7257.50	-0.10542	0.916039	-0.15631	0.875788
No. of taxa Crustacea	6247.50	1.95723	0.050322	2.24106	0.025023
No. of taxa Ephemeroptera	5275.50	3.73936	0.000185	3.75931	0.000170
No. of taxa Odonata	6609.50	1.29351	0.195835	1.89813	0.057680
No. of taxa Plecoptera	6663.50	-1.19450	0.232281	-1.26036	0.207541
No. of taxa Trichoptera	6910.00	-0.74255	0.457752	-0.75156	0.452315
No. of taxa Coleoptera	6485.00	1.52178	0.128065	1.64457	0.100060
No. of taxa Diptera	5686.00	2.98672	0.002820	3.01517	0.002569
No. of EPT taxa	6541.00	1.41910	0.155869	1.42129	0.155232
No. ind. – Turbellaria	7189.50	0.230100	0.818014	0.356524	0.721448
No. ind. – Gastropoda	6935.50	-0.695801	0.486554	-0.809359	0.418309
No. ind. – Bivalvia	6931.00	0.704052	0.481401	1.477452	0.139556

	U	Z	p-level	Z	p-level
No. ind. – Oligochaeta	7297.50	0.032086	0.974404	0.032983	0.973689
No. ind. – Hirudinea	7257.50	-0.105424	0.916039	-0.155718	0.876256
No. ind. – Crustacea	6334.00	1.798633	0.072078	2.016751	0.043722
No. ind. – Ephemeroptera	5306.50	3.682522	0.000231	3.689109	0.000225
No. ind. – Odonata	6601.00	1.309097	0.190503	1.916056	0.055359
No. ind. – Plecoptera	7178.50	-0.250269	0.802380	-0.261547	0.793671
No. ind. – Trichoptera	7246.00	-0.126509	0.899329	-0.127121	0.898844
No. ind. – Coleoptera	6352.50	1.764714	0.077613	1.892118	0.058476
No. ind. – Diptera	5626.50	3.095812	0.001963	3.098037	0.001948
Number of Families	6077.50	2.268918	0.023274	2.272.694	0.023045
Number of Genera	6248.00	1.956311	0.050429	1.958927	0.050122

Table 3. Number of species per macroinvertebrates taxa group.

Taxa group	No. of species
Turbellaria	7
Nematoda	1
Gastropoda	28
Bivalvia	17
Polychaeta	1
Oligochaeta	53
Hirudinea	10
Crustacea	18
Ephemeroptera	64
Odonata	17
Plecoptera	39
Heteroptera	10
Megaloptera	2
Trichoptera	92
Coleoptera	37
Diptera	82

Table 4. Mean collection time for two tested sampling methods.

Method	Mean time needed for sampling	No. of measurements
1. K&S sampling	14±5	50
2. SN sampling (five replicates)	32±9	50

Figure Legends

Fig. 1. Box plots of the most important trait that reflects the differences between the effectiveness of the two sampling methods (1 – K&S sampling; 2 – SN sampling (five replicates)) widely used for collection of macroinvertebrate samples. Left side – number of individual metrics; right side – other diversity metrics that showed statistically significant difference (for $p < 0.05$).

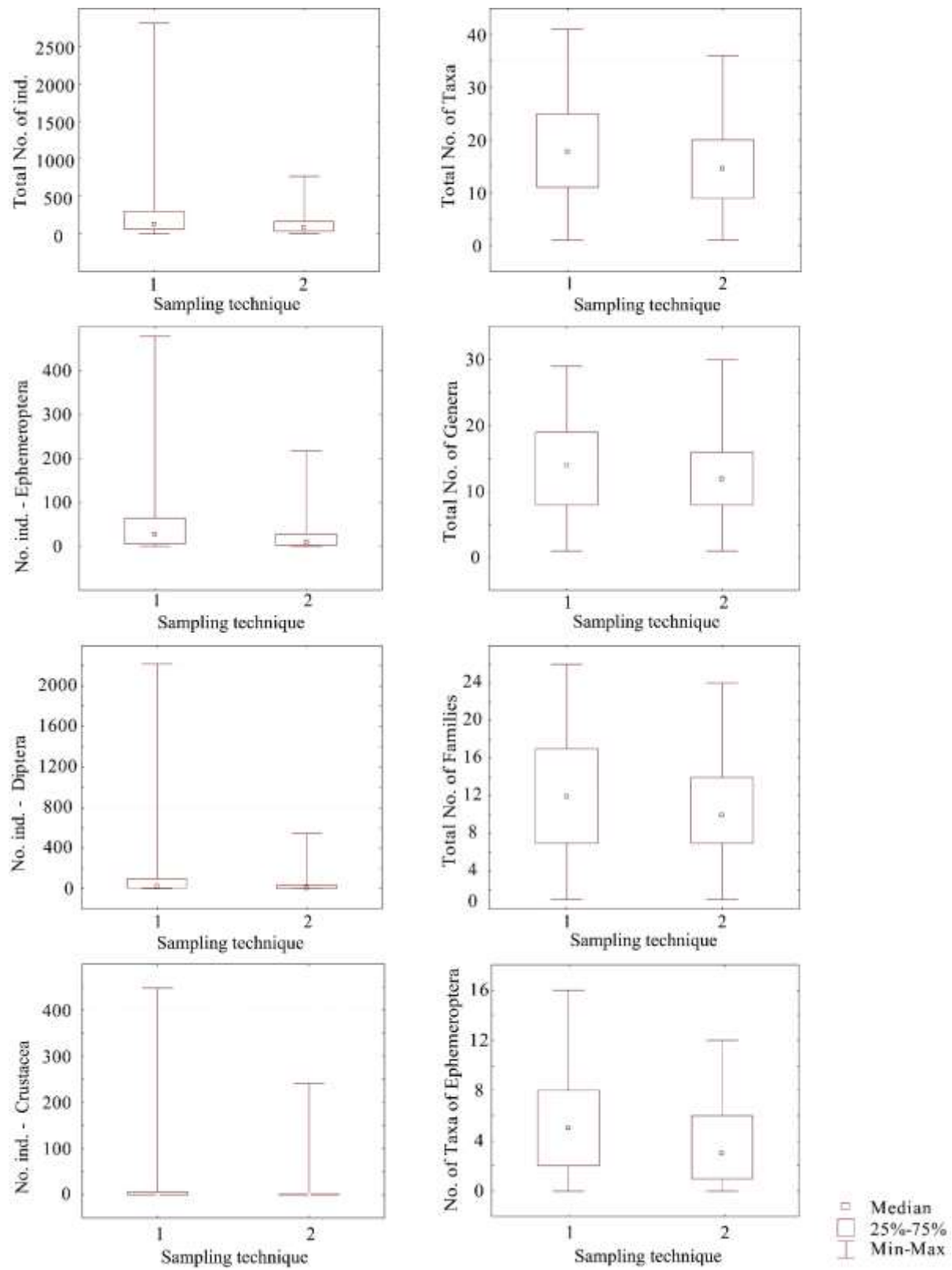


Fig. 1.

Stream section types of the Danube River in Serbia according to the distribution of macroinvertebrates

Bojana P. TUBIĆ¹, Vladica M. SIMIĆ², Katarina S. ZORIĆ¹, Zoran M. GAČIĆ³, Ana D. ATANACKOVIĆ¹, Bela J. CSÁNYI⁴ & Momir M. PAUNOVIĆ*

¹University of Belgrade, Institute for Biological Research “Siniša Stanković”, Despota Stefana 142 Blvd, 11000 Belgrade, Serbia; e-mail: mpaunovi@ibiss.bg.ac.rs

²University of Kragujevac, Institute of Biology and Ecology, Faculty of Science, Serbia

³University of Belgrade, Institute for Multidisciplinary Research, Serbia

⁴Environmental Protection and Water Management Research Institute (VITUKI Kht), Budapest, Hungary

Abstract: The aim of this study was to use the data on the distribution of aquatic macroinvertebrates obtained from 14 sites within a 413 km long stretch of the Danube River in Serbia to show the relevance of the bordering zone between the Middle and Lower Danube. A total of 68 macroinvertebrate taxa were observed. Molluscs were the major component with regard to species richness and relative abundance. *Lithoglyphus naticoides* (C. Pfeiffer, 1828) was the most abundant species and *Unio tumidus* (Retzius, 1788) was the most frequent species. Product-moment correlation coefficients or Pearson *r* coefficient was used to analyse the relation between the sites based on macroinvertebrate distribution. The data obtained by product-moment correlation served as input for cluster analyses. According to a cluster analyses Danube River in Serbia could be separated in the free-flowing sector, the stretch with a backwater effect and the area of the Iron Gate.

Key words: aquatic macroinvertebrates; bioindication; Danube River; Iron Gate; river section types

Introduction

As proposed by the Water Framework Directive (WFD 2000), a proper typology which is based on the principal natural characteristics of water types, is an important tool that serves as the basis for effective water management and for monitoring the ecological status. The grouping of similar rivers is a prerequisite for following the river-type specific approach of the WFD. Thus, the identification of river types, as relatively homogeneous hydrological and geological systems, implies the existence of linked biological communities.

The classification of biological and ecological systems with the aim of organizing information in order to further develop management principles and practices, has a long history. Attempts to classify the lakes in Europe (Thienemann 1928; Naumann 1932), based mostly on experience in the typology of lakes in North America (Stanković 1951), were initiated in the first half of 20th century. The lake typology system proposed by Naumann (1932) was widely accepted by the scientific community at the time. However, there was no general agreement as to the classification of running waters (Illies & Botosaneanu 1963). Running water classification was extensively discussed after the 1960s (e.g., Stanković 1962; Illies & Botosaneanu 1963; Van-

note et al. 1980; Horne & Goldman 1994; Allan 1995). In principle, two approaches could be distinguished: spatial (which takes into consideration the large scale character of a particular area, e.g., the ecoregions (Illies 1978), bioregions (Moog et al. 2001) and hydro-ecoregions (Wasson et al. 2002, etc.), and longitudinal (which considers the longitudinal changes along the watercourse, a concept proposed by Vannote et al. (1980). Until the WFD came into force, most attempts to classify running water focused on conceptual and regional approaches to stream classification rather than on general approaches, and thus remained applicable to narrow spatial areas.

The theoretical framework proposed by the WFD is comprised of both the spatial and longitudinal approaches to river classification. The concept offered by the WFD in regard to typology is complex. On one hand it requires the classification of water according to its functional entities, as characterized by the array of common features that could be described by biological traits. On the other hand, the system needs to be simple enough to be applicable to effective management, which also includes monitoring. Water typology, according to the WFD principles, implies a certain simplification of the relations in Nature, thus making it important to determine and standardise the level of this generalization.

* Corresponding author

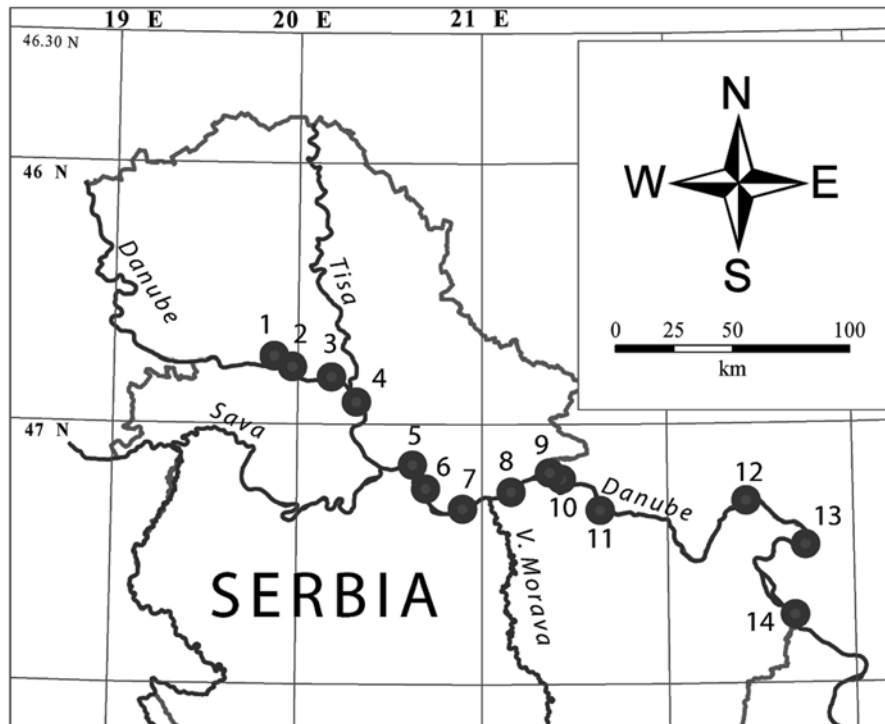


Fig. 1. Map showing the sampling sites along the investigated part of the Danube River.

The situation regarding the typology of large lowland rivers is also a complex issue. In an attempt to classify the typological units of the Danube River spatial typology fails because large rivers exhibit a self-contained development. Along the longitudinal gradient, a large river absorbs a catchment's characteristics that result in a mixture of different influences (Robert et al. 2003).

The peculiarity of the typology of large lowland rivers was underlined in German typology. German stream typology has distinguished between small and mid-sized rivers in great detail (15 and 11 types have been defined for both size classes, respectively), whereas only seven and two types have been defined for large and very large rivers, respectively (Pottgiesser & Sommerhäuser 2004).

The Danube river basin can be divided into three broad sections, with the impressive delta representing a separate and unique system. The Upper Basin extends from the source in Germany, to the mouth of the Morava River, upstream of Bratislava (the so-called Porta Hungarica). The Middle Basin is the largest and is comprised of the part from the mouth of the Morava River to the Iron Gate dams in Serbia and Romania. The Lower Basin extends from the Iron Gate to the entrance of the delta, downstream of the confluence of the Prut River. The Danube Delta is shared by Romania and Ukraine.

Several studies have dealt with the sectioning of the Danube (Lászlóffy 1965; Literáthy et al. 2002; Robert et al. 2003; Moog et al. 2008; Vogel et al. 2002). Lászlóffy (1965) suggested sectioning the Danube River into four sectors – Upper, Middle, Lower and the Danube Delta; Literáthy et al. (2002) defined nine geo-morphological

reaches, while Moog et al. (2008) divided the Danube into ten section types.

Regarding the sectioning of the Serbian stretch, Paunovic et al. (2007) indicated that three sectors of the Danube river could be distinguished – the upper (Pannonian), the Iron Gate sector and a sector represented by sites located at the entrance to the Iron Gate sector. A similar conclusion was subsequently presented by Paunović et al. (2010). According to the authors, the distribution pattern of aquatic macroinvertebrates supports differences between the Pannonian and Iron Gate sections of the Danube.

Furthermore, Paunovic et al. (2005) have presented evidence that the sector upstream from the Iron Gate (rkm 1083–1071) i.e. the stretch situated at the entrance to the Iron Gate (Djerdap) Gorge can be considered as the border zone between two Danube types – the Pannonian Plain Danube and the Iron Gate Danube. The authors pointed out that the sector is under the influence of both the downstream sector (Lower Danube) and the upstream zone (Middle Danube), as revealed by the faunistic composition of macroinvertebrates.

Study area

Until the end of the 19th century, the Danube was a generally undisturbed system with a preserved lateral connectivity along its large floodplain areas. The river was characterized by its natural dynamics, huge natural purification capacity and constant changes of its course. Since then, the anthropogenic impact (mostly flood protection, agriculture, energy production and navigation activities) has destroyed

Table 1. Sampling sites along the investigated part of the Danube River.

Mark	Site name	River km
1	Upstream Novi Sad	1262
2	Downstream Novi Sad	1252
3	Upstream Tisa confluence (Stari Slankamen)	1216
4	Downstream Tisa/Upstream Sava (Belegis)	1200
5	Upstream Pancevo/Downstream Sava	1159
6	Downstream Pancevo	1151
7	Upstream Velika Morava confluence	1107
8	Downstream Velika Morava confluence	1097
9	Stara Palanka – Ram	1077
10	Banatska Palanka – Bazias	1071
11	Irongate reservoir (Golubac/Koronin)	1040
12	Irongate reservoir (Tekija/Orsova)	955
13	Vrbica/Simijan,	926
14	Upstream Timok confluence (Radujevac)	849

over 80% of the Danube's wetlands, floodplains and floodplain forests.

The Danube River Basin covers an area of about 801,000 km² and it is shared by 19 countries in Central and South-Eastern Europe (Germany, Austria, Switzerland, Italy, Poland, the Czech Republic, Slovenia, Slovakia, Hungary, Croatia, Serbia, Romania, Bosnia and Herzegovina, Macedonia, Albania, Montenegro, Moldova, Bulgaria, and Ukraine), with more than 83 million people inhabiting the area (Sommerwerk et al. 2009).

The investigated reach of the Danube extends over a distance of 588 km, covering the middle and a part of the lower 220 km long waterway. The major part of this sector (358 km) belongs to the Pannonian basin. In this section the Danube is a typical lowland river with a slope of 0.05–0.04 per thousand.

The Serbian reach of the Danube has been extensively examined since the early sixties, (a review of the investigations is presented in Paunovic et al. 2007). The sector is under the influence of organic pollution and hydromorphological alteration. One of the most important problems that affect the nature of the Danube is river regulation and damming. In the Serbian part, due to dam construction (rkm 943) near Sip, a large reservoir, Iron Gate (Djerdap) was formed. Reservoir stretches 100 km in length, extending from the dam to Golubac (Iron Gate). After the damming of the Danube, the flow rate has slowed down upstream to Slankamen (1215 rkm).

Material and methods

Macroinvertebrate samples were collected during the Aqua-Terra Danube Survey (ADS – an investigation supported by the EU FP6 Project AquaTerra, Contract N°505428) on the River Danube between Klosterneuburg (Austria, 1942 rkm) and Vidin-Calafat (Bulgaria-Romania, 795 rkm), between 19 August and 04 September, 2004 (Csányi & Paunovic 2006). The material used in this work comprised data obtained from 14 sites within the sector flowing through Serbia (Table 1; Fig. 1). A 413 km long stretch of the Danube was examined (1262–849 rkm).

Material was collected with a benthological dredge (mesh size 1000 µm) and hand net (mesh size 1000 µm), using the Kick and Sweep technique. The fauna attached

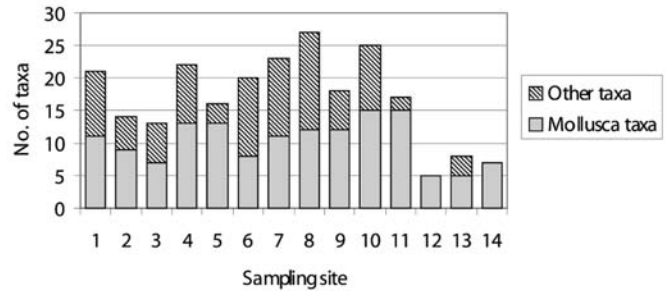


Fig. 2. Total and taxonomic richness of Mollusca at the sampling sites.

to stone surfaces was collected with tweezers and, if necessary, scraped with a brush. The sampling approach provided semi-quantitative data since the same sampling procedure was used at each sampling station.

The samples were preserved in 70% ethanol. Sorting and identification of the material (when possible to the species level) was performed in the laboratory.

The frequency of each taxa was calculated as the percentage of the taxa in all collected samples ($F = \text{No. of sites where the particular taxa was found} / \text{total No. of sites}$). The PCoA was used to analyse the relation between the sites based on macroinvertebrate distribution. "Flora" (Karadzić 1998) was used for statistical processing of the data.

Results

The main faunistic features of the Danube recorded during the ADS in the sector between Klosterneuburg (Austria, 1942 rkm) and Vidin-Calafat (Bulgaria-Romania, 795 rkm) have been presented by Csányi & Paunovic (2006). During the ADS, a total of 89 taxa were detected within the investigated section. With regard to species richness, Molluscs were found to be the dominant group in the macroinvertebrate community (35 taxa).

The present work is focused on the Serbian part of the river in order to underline the peculiarity of different stretches within the sector. The composition of the macroinvertebrate community along the Serbian stretch is presented in Table 2. A total of 68 macroinvertebrate taxa were observed within the 14 sampling sites along the Serbian stretch. Molluscs were found to be the principal component of the community in regard to species richness (Fig. 2) and relative abundance (Fig. 3). Gastropoda were represented with 16 species, while 10 species of Bivalvia were recorded. A total of 18 taxa of Annelida (Oligochaeta 10, Hirudinea 7 and Polychaeta 1) and 17 species of aquatic insects were identified. Chironomidae (Diptera) were found to be the most important component within the insects in regard to species richness, with seven recorded taxa. *Lithoglyphus naticoides* (C. Pfeiffer, 1828) was the most abundant species and its frequency of occurrence was $F = 0.78$. *Unio tumidus* Retzius, 1788 was the most frequent species ($F = 0.93$), followed by *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) ($F = 0.86$). *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) was also frequent along the examined

Table 2. Composition of benthic fauna of the Serbian part of the Danube.

Taxa name	Sampling site													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
MOLLUSCA														
<i>Theodoxus danubialis</i> (C. Pfeiffer, 1828)									2	3	22			6
<i>Theodoxus fluviatilis</i> (L., 1758)	18	34	90	39	12	19	22	2	98	7	45		7	2
<i>Viviparus acerosus</i> (L., 1758)			4	4	4									
<i>Viviparus viviparus</i> (L., 1758)								8		5	4			
<i>Lithoglyphus naticoides</i> (C. Pfeiffer, 1828)	940	420	526	233	495		54	100	17	1	80	12		
<i>Microcolpia daudebartii acicularis</i> (Ferussac, 1821)				27					57	17	44			17
<i>Esperiana esperi</i> (Ferrusac, 1823)	31			6					14	18	174			5
<i>Holandriana holandrii</i> (C. Pfeiffer, 1828)									1					13
<i>Bithynia tentaculata</i> (L., 1758)		1		8					4		5			
<i>Valvata naticina</i> (Menke, 1845)	2		2		69	3					31	7		
<i>Valvata piscinalis</i> (Müller, 1774)									1		5			
<i>Lymnaea auricularia</i> (L., 1758)										2	1			
<i>Lymnaea peregra</i> var. <i>ovata</i> (Draparnaud, 1805)					1		1	12		5	1		1	
<i>Lymnaea stagnalis</i> (L., 1758)		1					1	1		1				
<i>Physella acuta</i> Draparnaud, 1805					1	1	1	6		2			3	
<i>Planorbarius corneus</i> (L., 1758)										1				
<i>Unio pictorum</i> (L., 1759)	1			4	2			3			1		1	7
<i>Unio tumidus</i> Retzius, 1788	2	3		40	30	6	23	38	11	52	8	2	3	3
<i>Anodonta anatina</i> (L., 1758)	1			4	10	1	1	5		3	1	1		
<i>Anodonta cygnea</i> (L., 1758)								1						
<i>Sinanodonta woodiana</i> (Lea, 1834)		2		3	18	6	13	14	46	45				
<i>Pseudanodonta complanata</i> Rossmassler, 1835	1													
<i>Dreissena polymorpha</i> (Pallas, 1771)	15	18	21	10	8	6	17	2	80	3	24	6		
<i>Pisidium amnicum</i> (Müller, 1774)					5		4							
<i>Sphaerium rivicola</i> (Lamarck, 1799)	3	12	1	23	18	1								
<i>Corbicula fluminea</i> (Müller, 1774)	10	9	20	11			2		8			23	30	21
POLYCHAETA														
<i>Hypania invalida</i> (Grube, 1860)	2													
OLIGOCHAETA														
<i>Branchiura sowerbyi</i> Beddard, 1892						4	2	1						
<i>Criodrilus lacuum</i> Hoffmeister, 1845	2	1												
<i>Isochaetides michaelsoni</i> (Lastockin, 1937)	1													
<i>Limnodrilus claparedeianus</i> Ratzel, 1868	1					3	5	2					1	
<i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> Claparede, 1862						2	4						2	
<i>Limnodrilus profundicola</i> (Verrill, 1871)						2		3						
<i>Limnodrilus</i> sp.	1					3	3							
<i>Limnodrilus udekemianus</i> Claparede, 1862						3	1	1						
<i>Psammoryctides albicola</i> (Michaelsen, 1901)						2	1							
<i>Tubificidae</i> Gen. sp.				3		1								
HIRUDINEA														
<i>Glossiphonia complanata</i> (L., 1758)	4			2					1					
<i>Alboglossiphonia heteroclita</i> (L., 1761)								2		1				
<i>Alboglossiphonia hyalina</i> (O.F. Müller, 1774)								1						
<i>Piscicola geometra</i> (L., 1761)								1						
<i>Dina punctata</i> Johansson, 1927			1											
<i>Erpobdella octoculata</i> (L., 1758)	10	1							2					
<i>Helobdella stagnalis</i> (L., 1758)	1	1							1					
CRUSTACEA														
<i>Limnomysis benedeni</i> Czerniavsky, 1882					1	1	2	3	205	1				
<i>Corophium curvispinum</i> (Sars, 1895)			4	10										
<i>Dikerogammarus haemobaphes</i> (Eichwald, 1841)										1				
<i>Dikerogammarus villosus</i> (Sowinsky, 1894)			9	2	3	1			1	39				
<i>Obesogammarus obesus</i> (Sars, 1894)		1		3						4				
<i>Astacus leptodactylus</i> Eschscholz, 1823				1										
EPHEMEROPTERA														
<i>Cloeon dipterum</i> (L., 1761)								15		15				12
ODONATA														
<i>Calopteryx splendens</i> (Harris, 1780)				1			1							
<i>Stylurus flavipes</i> (Charpentier, 1825)	5	2	2											
<i>Erythromma najas</i> (Hansemann, 1823)						3								
<i>Ishnura elegans pontica</i> Schmidt, 1939						9		5		2				
HEMIPTERA														
<i>Gerris</i> sp.										1				
<i>Ilyocoris cimicoides</i> (L., 1758)						2		1		5				
<i>Sigara</i> sp.								70	1					
TRICHOPTERA														
<i>Hydropsyche bulgaromanorum</i> Malicky, 1977			8	10										
<i>Neureclipsis bimaculata</i> (L., 1758)				2										

Table 2. (continued)

Taxa name	Sampling site													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
DIPTERA														
<i>Chironomidae</i> Gen. sp.										2				
<i>Chironomus plumosus</i> (L., 1758)	2		1		1			2			5			
<i>Cricotopus intersectus</i> (Staeger, 1839)							1							
<i>Cryptochironomus</i> sp.								1						
<i>Demicrochironomus vulneratus</i> (Zetterstedt, 1838)							7							
<i>Parachironomus arcuatus</i> Goetghebuer, 1919							1							
<i>Procladius</i> sp.							34	3						

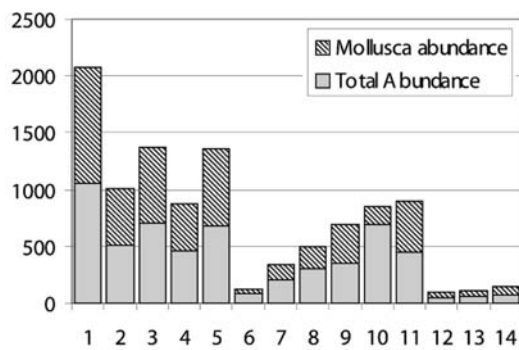


Fig. 3. Total relative abundance and relative abundance of Mollusca along the examined stretch.

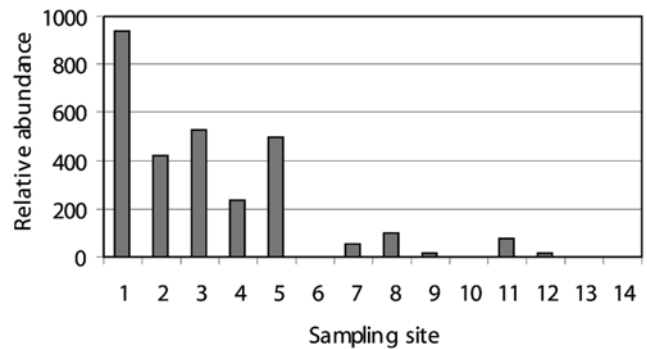


Fig. 5. Abundance of *Lithoglyphus naticoides* (C. Pfeiffer, 1828) along the examined stretch.

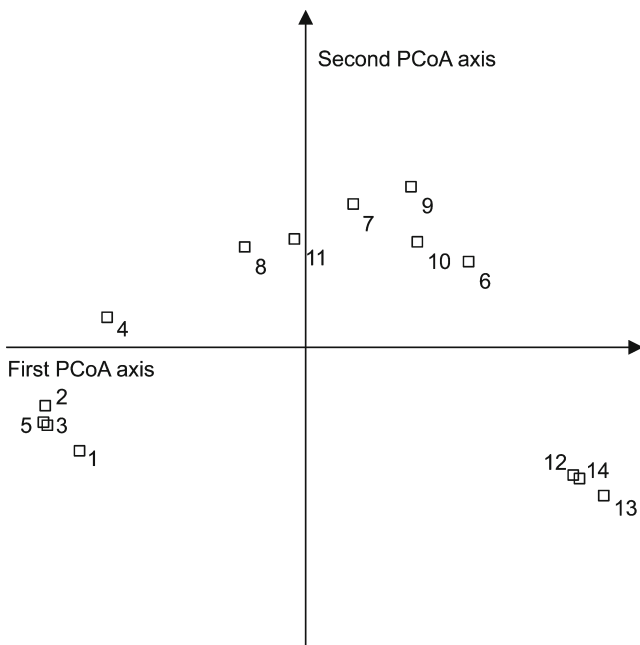


Fig. 4. The results of PCoA based on the abundance of taxa at the sampling sites.

stretch ($F = 0.64$). Other recorded species were found less frequently.

Based on the data on the relative abundance at the sampling sites, PCoA was performed. The results of PCoA are presented in Fig. 4. According to the result-

ing graph (Fig. 4), three sectors can be defined: (1) sites 1–5, the free-flowing section, (2) the Iron Gate reservoirs I and II section, sites 12 and 13 together with site 14, situated downstream of the second dam, (3) sections with a strong back water effect.

This result is a consequence of the shift in the benthic community, illustrated in Figs 2 and 3. A decline of species richness and abundance was observed in the Iron Gate sector (sites 12 and 13) as well as at the site situated downstream of the dam (14) when compared to the upstream sites. The relative abundance of the benthic community was highest in the “free-flowing section” (sites 1–5) upstream of Belgrade.

The change in the total benthocoenosis could be effectively followed by the analysis of the shift in the principal component – Mollusca (Figs 2, 3). The distribution of particular mollusc taxa, selected according to their participation in the abundance in the total community, is presented in Figs 5–7. *L. naticoides* (Fig. 5) and *Theodoxus fluviatilis* (L., 1758) (Fig. 6) were particularly abundant in the free-flowing section (sites 1–5), while *Theodoxus danubialis* (C. Pfeiffer, 1828) (Fig. 6) was recorded only in the lower stretch (sites 9, 10, 11 and 14). *Sphaerium rivicola* (Lamarck, 1799) was recorded exclusively within the “free-flowing section” (Fig. 7, sites 1, 2, 4 and 5). Furthermore, *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) was not observed in the Iron Gate sector (Fig. 7). *Holandriana holandrii* (C. Pfeiffer, 1828) was found with a higher relative abundance only at site 14 (Table 2).

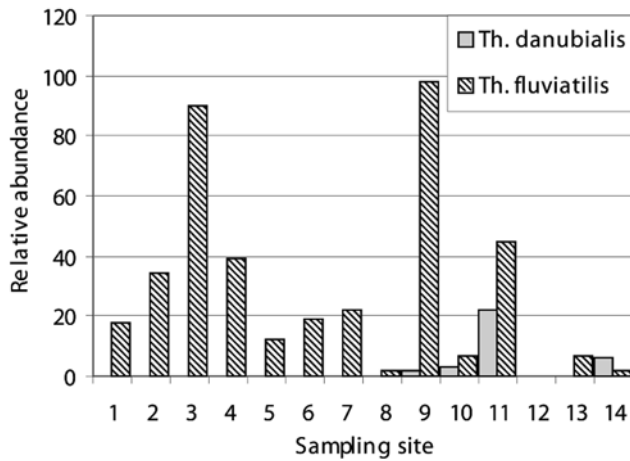


Fig. 6. Abundance of *Theodoxus fluviatilis* (L., 1758) and *Theodoxus danubialis* (C. Pfeiffer, 1828) along the examined stretch.

Discussion

Of the 89 species that were recorded along the entire stretch during the 2004 Danube Survey (Csányi & Paunovic 2006), 68 species were detected in the Serbian sector. The considerable decline in number of species per site was observed in the Iron Gate reservoirs I and II. A similar situation was observed in the upper sector, in the area of the Gabčíkovo Reservoir (Csányi & Paunovic 2006). This result indicates that hydromorphological changes cause the deterioration of the status of the river in the Iron Gate stretch, where the lowest taxa richness was recorded.

The lower number of taxa detected during the present study in comparison to the 2001 Danube survey (when Paunovic et al. 2007 reported 74 macroinvertebrate taxa), could be due to the lower number of sampling sites within the same stretch.

A similar community structure, with respect to the dominant macroinvertebrate groups, but with a larger proportion of some taxa, was also observed in the Hungarian (Nosek 2000; Oertel 2000) and Slovakian stretch of the Danube (Elexová 1998; Šporka & Nagy 1998). The Hungarian stretch is characterized by the domination of *Dikerogammarus villosus* (Sowinsky, 1894), *Corophium curvispinum* (Sars, 1895), and *L. naticoides* (Nosek 2000; Oertel 2000). According to Elexová (1998) and Šporka & Nagy (1998), Oligochaeta and Chironomidae (Diptera) were dominant in the side arm of the Slovakian stretch. The same groups were found to be dominant in the Hungarian sector in the Ráckevei (Soroksári) Danube arm. This situation is the result of the difference between the sectors, but also due to the sampling methodology that was applied in our study. As we used a benthological dredge and a FBA hand net with a mesh size of 1000 µm, smaller animals, mostly belonging to Oligochaeta and Chironomidae, could have been missed. Nosek (2000) and Oertel (2000) described a community, based on a 500 µm mesh size EU ISO-7828 type net (in addition, they applied qualitative and/or semiquantitative concurrent sampling methods: kicking and sweeping, and in some cases collection with a triangular shaped dredge and by hand) that could have contributed to a larger proportion of small-sized individuals in their samples.

Considering the differences between the Slovak and Serbian stretch of the Danube, the higher taxa richness of Ephemeroptera and Trichoptera that was reported by Elexová (1998) could be expected. Differences in the dominant sediment types between the Slovakian and Serbian stretches could be the main reason for the observed differences. The Slovakian sector is distinguished by a higher proportion of habitats with gravel, boulders and stones (Elexová 1998), while the Serbian part (Paunovic et al. 2007) is predominantly characterized

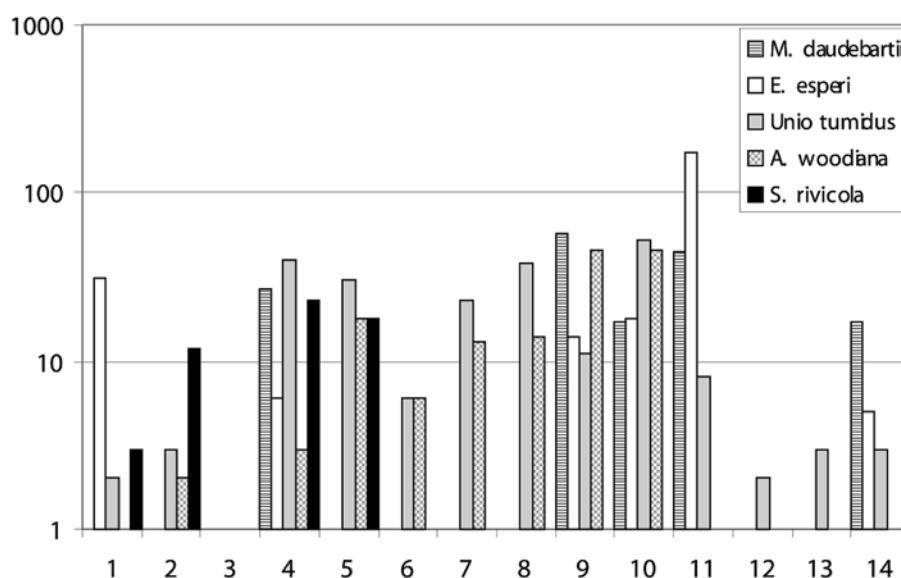


Fig. 7. Abundance of five selected mollusc taxa along the examined stretch.

by fine sediment particles (sand and mud) on the river bed.

In general, the community structure that was observed along the Serbian stretch was expected considering the watercourse type. In potamon-type rivers in Serbia, molluscs and oligochaetes are typically the most diverse and abundant groups, together with Chironomidae (Paunovic et al. 2007).

According to the presented results, three different sections could be distinguished within the investigated Serbian stretch: (1) the Iron Gate sector which covers the stretch distinguished by a back-water effect and part of the river situated downstream of the Iron Gate dam; (2) the part from Belgrade to the Iron Gate and the free-flowing stretch upstream of Belgrade. The results are similar to previous works on Danube River sectioning (Litheráty et al. 2002; Robert et al. 2003; Vogel et al. 2002). All of the authors agree that the Iron Gate is the border between distinct Danube types i.e. between the Middle and Lower Danube. Based on the data describing the qualitative composition of the macroinvertebrate fauna, Paunovic et al. (2007) also divided the Serbian stretch into three sectors. These are the upper (Pannonian) sector, the Iron Gate sector and the entrance sector to the Iron Gate stretch. During the 2001 study (Paunovic et al. 2007), a similar distribution pattern was observed along the Serbian sector of the Danube River, i.e. a higher density of *L. naticoides* and *D. villosus* in the upper stretch, while *T. danubialis*, *Esperiana esperi* (Ferrusac, 1823), *Valvata naticina* (Menke, 1845) and *Bithynia tentaculata* (L., 1758) were more abundant in the Iron Gate sector. These results also demonstrate the differences between the upper (Pannonian) sector and the Iron Gate sector. According to the results of the 2001 study (Paunovic et al. 2007), the species that were equally represented in the Serbian sector [*Tubifex tubifex* Muller, 1774, *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparede, 1862, *Limnodrilus claparedeanus* Ratzel, 1868, *Limnodrilus udekemianus* Claparede, 1862, *Limnodrilus profundicola* (Verrill, 1871) and *D. polymorpha*], were found to be ubiquitous, and their distribution was less dependent on changes in the environment.

According to the presented results, the sectioning of the Serbian stretch of the Danube into three distinct sectors represents an effective approach to define the monitoring and management entities.

The upper (Pannonian) sector (from Belgrade, 1071 rkm up to the Hungarian border) is similar to the Lower Hungarian stretch (Robert et al. 2003; Paunovic et al. 2005) and these sectors are classified as the same Danube type, referred to as the Pannonian Plain Danube (Robert et al. 2003). A general similarity was confirmed when comparing the macroinvertebrate community in the Hungarian (Nosek 2000; Oertel 2000) and Serbian stretches (the present study, as well as those of Paunovic et al. 2007, 2010).

In comparison to the upper stretch, the Iron Gate sector is different with regard to hydro-morphological conditions. The natural differences between the sectors

that are situated upstream and downstream 1071 rkm of the watercourse are illustrated by the fact that this point has been identified as the border between the general Danube sectors (Pannonian Plain Danube and Iron Gate Danube), as well as the boundary between Middle and Lower Danube (Robert et al. 2003).

According to previous studies (Paunovic et al. 2005), the stretch situated in the area of the entrance into the Iron Gate sector was found to be specific in regard to the macroinvertebrate community and could be considered as a transitional zone between the Middle and Lower Danube. This is an area of considerable diversity of macroinvertebrates in comparison to the upper (Jakovcev 1987, 1988; Djukic & Karaman 1994), as well as downstream stretches (Djukic & Karaman 1994; Simic et al. 1997; Simic & Simic 2004). The greater species richness of the transitional zone is mostly supported by its considerable habitat diversity in comparison to other sections, and is illustrated by the fact that Paunovic et al. (2005) reported 84 aquatic macroinvertebrate taxa in a short stretch of the river section (between 1083 rkm and 1076 rkm).

Proper sectioning or typology is a basic precondition for the establishment of an effective system of status assessment according to the WFD. Defining typology and designing a system of status assessment is generally a very complex process. It is particularly involved when large lowland rivers are assessed, partly because of their transboundary character. The system should be harmonised between countries through the process of intercalibration (Birk et al. 2009). Therefore, further work aimed at defining a type-specific system for the assessment of the ecological status in Serbia, should take into consideration the general similarity of the fauna in the Hungarian, Slovakian and Serbian stretches, as well as the fine shifts within communities which point to differences between stretches.

Conclusion

We conclude that the free-flowing sector, the stretch with a backwater effect and the area of the Iron Gate can be separated according to their macroinvertebrate communities. The results reveal differences between the Lower and Middle Danube, and point out the peculiarity of the stretches that are under the influence of the Iron Gate dams. The findings support a typology of the Danube that is based on selected abiotic parameters. According to the presented Danube typology, the Iron Gate area separates the Middle and Lower Danube.

Acknowledgements

The work was supported by EC FP6 Project AquaTerra (N°505428) and by the Ministry of Science and Environmental Protection of the Republic of Serbia, Project No. 173025 EHS. We wish to acknowledge the assistance of the Secretariat General of the International Commission for the Protection of the Danube River for its support during the investigation. We also express our thanks to Dr. Goran Poz-

nanovic for his constructive comments during preparation of the manuscript.

References

- Allan J.D. 1995. *Stream Ecology: The Structure and Function of Running Waters*. Chapman and Hall, London, 388 pp. ISBN: 0412355302, 9780412355301
- Birk S. & Kouwen L. 2009. Supportive analysis of the second Joint Danube Survey data (typology, intercalibration) and Technical support of the Eastern Continental Geographical Intercalibration Group, Final Report. Implementation of the EU Water Framework Directive for the development of the Danube River Basin Management Plan (WATERDRB-2009). International Commission for the Protection of the Danube River, Vienna, 83 pp.
- Csányi B. & Paunovic M. 2006. The aquatic macroinvertebrate community of the River Danube between Klostenburg (1942 rkm) and Calafat – Vidin (795 rkm). *Acta Biologica Debrecina, Supplementum Oecologica Hungarica* **14**: 91–106.
- Djukic N. & Karaman S. 1994. Qualitative and quantitative structure of the bottom fauna with a special reference to the oligochaeta community, pp. 124–130. In: Jankovic D. & Jovicic M. (eds), *The Danube in Yugoslavia – Contamination, Protection and Exploitation*, Institute for Biological Research “S. Stankovic”, Institute for Development of Water Resources “J. Cerni”, Commission of the European Communities, Brussels, Belgium, Belgrade, 218 pp.
- Gower J. C. 1966. Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. *Biometrika* **53** (3/4): 325–328.
- Elexová E. 1998. Interaction of the Danube River and its left side tributaries in Slovak stretch from benthic fauna point of view. *Biologia* **53** (5): 621–632.
- Horne A.J. & Goldman C.R. 1994. *Limnology*, Second Edition. McGraw Hill, Inc. New York, 480 pp. ISBN 10: 0070236739/ISBN 13: 9780070236738
- Illies J. 1978. *Limnofauna Europaea: eine Zusammenstellung aller der europäischen Binnengewässer bewohnenden mehrzelligen Tierarten mit Angaben über ihre Verbreitung und Ökologie*. Stuttgart, 532 pp. ISBN-10: 3437302469, ISBN-13: 978-3437302466
- Illies J. & Botosaneanu L. 1963. Problèmes et méthodes de la classification et de la zonation écologique des eaux courantes, considères surtout du point de vue faunistique. *Mitt. Int. Verein. Theor. Angew. Limnol.* **12**: 1–57.
- Jakovcev D. 1987. Die Saprobiologische Analyse der Donau im Belgrader Gebiet Anhand der Boden Fauna, pp. 529–532. In: 26. Arbeitstagung der IAD, SIL, Passau, Deutschland, Wissenschaftliche Referate.
- Jakovcev D. 1988. Die saprobiologische Wasser analyse der Donau im Belgrade Region Aufgrund der Benthofauna, pp. 265–269. In: 27. Arbeitstagung der IAD, SIL, Mamaia, Rumänien, Limnologische Berichte Donau.
- Karadžić B., Sašo-Jovanović V., Jovanović Z. & Popović R. 1998. “FLORA” a database and software for floristic and vegetation analyzes, pp. 69–72. In: Tsekos I. & Moustakas M. (eds), *Progress in Botanical Research, Proceedings of the 1st Balkan Botanical Congress*, Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, 632 pp.
- Lászlóffy W. 1965. Die Hydrographie der Donau. Der Fluß als Lebensraum, pp. 16–57. In: Liepolt R. (ed.), *Limnologie der Donau – Eine monographische Darstellung*. II. Kapitel, Schweizerbart, Stuttgart.
- Literáthy P., Koller-Kreimel V. & Liska I. 2002. Joint Danube Survey. Technical Report of the International Commission for the Protection of the Danube River, 261 pp. <http://www.icpdr.org/pls/danubis/docs/folder/HOME/ICPDR/ICPDRANNUALREPORTS/2002/INDEX.HTML>
- McCune B. & Grace J.B. 2002. *Analysis of Ecological Communities*. MjM Software Design, Gleneden Beach, Oregon, USA, 304 pp.
- Moog O., Schmidt-Kloiber A., Ofenböck T. & Gerritsen J. 2001. Aquatische Ökoregionen und Fließgewässer-Bioregionen Österreichs. Eine Gliederung nach geökologischen Milieufaktoren und Makrozoobenthos-Zönosen. Im Auftrag des Bundesministeriums für Land- & Forstwirtschaft, Umwelt & Wasserwirtschaft, Wien, 102 pp. ISBN: 3-85 174-043-2
- Moog O., Sommerhäuser M., Robert S., Battisti T., Birk S., Hering D., Ofenböck T., Schmedtje U., Schmidt-Kloiber A. & Vogel B. 2008. Typology of Danube River sections based on environmental characteristics and benthic invertebrate assemblages. pp. 127–144. In: Dokulil M., Hein T., Janauer G. & Teodorovic I. (eds), *Large Rivers*, Vol. 18, no. 1–2, Selected papers of the 36th IAD-Conference 4–8 September 2006 Vienna-Klosterneuburg (Austria), Transboundary River Management, Water Framework Directive/Arch. Hydrobiol., Suppl. *Large Rivers* **166** (1–2), E. Schweizerbart’sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, 360 pp.
- Naumann E. 1932. *Gundzüge der regionalen Limnologie*. Die Binnengewässer 11. Stuttgart, 176 pp. ISBN: 978-3-510-40711-8
- Nosek J.N. 2000. Macroinvertebrate studies at the Hungarian Danube section 2, Spatial pattern of macroinvertebrate community, pp. 263–270. In: IAD (2000): *The Danube and its Tributaries: Antropogenic Impacts and Revitalisation*. Limnological Reports, Proceedings of the 33rd Conference of the IAD, 3–9 Sept. 2000, Osijek/HR.
- Oertel N. 2000. Macroinvertebrate studies at the Hungarian Danube section 1. Fundamental and methodological questions of biomonitoring, pp. 271–278. In: IAD (2000): *The Danube and its Tributaries: Antropogenic Impacts and Revitalisation*. Limnological Reports, Proceedings of the 33rd Conference of the IAD, 3–9 Sept. 2000, Osijek/HR.
- Paunovic M., Csányi B., Simić V., Dikanović V., Petrović A., Miljanović B. & Atanacković A. 2010. Community structure of the aquatic macroinvertebrates of the Danube River and its main tributaries in Serbia, pp. 157–183. In: Simonović P., Simić V., Simić S. & Paunović M. (eds), *The Danube in Serbia – the Results of National Program of the Second Joint Danube Survey*. Republic of Serbia, Ministry of Agriculture, Forestry and Water Management – Directorate for Water, University of Belgrade, Institute for Biological Research „Siniša Stanković“, University of Kragujevac, Faculty of Science, Kragujevac, 339 pp.
- Paunovic M., Jakovcev-Todorovic D., Simic V., Stojanovic B. & Cakic P. 2007. Macroinvertebrates along the Serbian section of the Danube River (stream km 1429–925). *Biologia* **62**: 1–9. DOI: 10.2478/s11756-007-0032-5.
- Paunovic M., Simic V., Jakovcev-Todorovic D. & Stojanovic B. 2005. Results on macroinvertebrate community investigation in the Danube River in the sector upstream the Iron Gate (1083–1071 km). *Arch. Biol. Sci. Belgrade* **57** (1): 57–63.
- Pottgiesser T. & Sommerhäuser M. 2004. Fließgewässertypologie Deutschlands. Die Gewässertypen und ihre Steckbriefe als Beitrag zur Umsetzung der EU-Wasserrahmenrichtlinie, pp. 1–16. In: Steinberg C., Calmano W., Klapper H. & Wilken R.D. (eds), *Handbuch Angewandte Limnologie*, Ecomed 19. Erg.Lfg. 07/04, Landsberg/Lech.
- Robert S., Birk S. & Sommerhäuser M. 2003. Typology of the Danube River – part 1: top-down approach, pp. 6–14. In: UNDP/GEF Danube Regional Project, “Strengthening the implementation capacities for nutrient reduction and transboundary cooperation in the Danube River Basin”. Activity 1.1.6. Developing the typology of surface waters and defining the relevant reference conditions for the Danube River, Final Report. University of Duisburg-Essen, Germany, 97 pp.
- Simic S., Ostojic A., Simic V. & Jankovic D. 1997. Changes in structure of plankton and benthos in the part of the Danube from Veliko Gradiste to Prahovo (Serbia, Yugoslavia) during the summer period. *Ekologija* **32** (2): 65–80.
- Simic V. & Simic S. 2004. Macroinvertebrates and fishes in the part of the Danube river flowing through the Iron Gate National Park and possibilities of their protection under in situ and ex situ conditions. *Arch. Biol. Sci.* **56** (1–2): 53–57. DOI: 10.2298/ABS0402053S
- Sommerwerk N., Baumgartner C., Bloesch J., Hein T., Ostojic A., Paunovic M., Bloesch J., Siber R. & Tockner K. 2009. The

- Danube River Basin, pp. 59–112. In: Tockner K., Uehlinger U. & Robinson C.T. (eds), *Rivers of Europe*, Elsevier/Academic Press, Amsterdam, 700 pp. ISBN: 978-0-12-369449-2
- Stanković S. 1951. Le peuplement benthique des lacs Égéeens. *Verh. Int. Verein. Theor. Angew. Limnol.* **11**: 367–382.
- Stanković S. 1962. *Ekologija životinja*. Univerzitet u Beogradu i Zavod za izdavanje udžbenika SR Srbije, Beograd, 432 pp.
- Šporka F. & Nagy Š. 1998. The macrozoobenthos of parapotamon-type side arms of the Danube River and its response to flowing conditions. *Biologia* **53**: 633–643.
- Thienemann A. 1928 (ed.). *Die Binnengewässer Bd. IV* Stuttgart: Schweizerbart'sche Verlagbuchhandlung, 175 pp.
- Vannote R.L., Minshall G.W., Cummins K.W., Sedell J.R. & Cushing C.E. 1980. The river continuum concept. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **37**: 130–137.
- Vogel B. & Pall K. 2002. Nine Geo-morphological Danube Reaches, pp. 22–31. In: Literáthy P., Koller-Kreimel V. & Liška I. (eds), *Joint Danube Survey, Technical Report of the International Commission for the Protection of the Danube River/ICPDR*, 259 pp.
- Wasson J.G., Chandresis A., Pella H. & Blanc L. 2002. Typology and reference conditions for surface water bodies in France – the hydro-ecoregion approach. Summary of communication presented at the Symposium “Typology and ecological classification of lakes and rivers”, Finnish Environment Institute (SYKE), Helsinki, Finland, October 25–26, 2002, Published in TemaNord.
- WFD 2000. Water Framework Directive. Directive of European Parliament and of the Council 2000/60/EC – Establishing a Framework for Community Action in the Field of Water Policy. Journal reference: OJL 327, 22 December 2000, pp. 1–73, Made under: article 175(1).

Received April 20, 2011
Accepted December 15, 2012

THE RELATION BETWEEN CHIRONOMID (DIPTERA: CHIRONOMIDAE) ASSEMBLAGES AND ENVIRONMENTAL VARIABLES: THE KOLUBARA RIVER CASE STUDY

Nataša Z. Popović, Jelena A. Đuknić, Jelena Ž. Čanak Atlagić, Maja J. Raković, Bojana P. Tubić, Stefan P. Anđus, Momir M. Paunović*

Institute for Biological Research "Siniša Stanković", University of Belgrade, Bulevar Despota Stefana 142, Belgrade, Serbia

*Corresponding author: mpaunovi@ibiss.bg.ac.rs

Received: May 21, 2015; Revised: July 15, 2015; Accepted: July 15, 2015; Published online: October 19, 2015

Abstract: Chironomid larvae respond rapidly to environmental changes in aquatic ecosystems, with different species possessing different degrees of tolerance. Consequently, this group is considered an effective and reliable indicator of the ecological status. In this study, the relation between larval chironomid assemblages and environmental variables was examined at two sites on the Kolubara River. A nonparametric Mann-Whitney U test did not confirm significant seasonal differences between samples. Correspondence analysis indicated that the study sites are distinguished by their community composition. Based on forward selection analyses, 5 out of 28 analyzed water parameters and 3 out of 22 sediment parameters displayed the highest levels of correlation with chironomid assemblages. Forward selection analysis revealed that inorganic pollutants in the sediment (mercury, nickel and cadmium) exerted the greatest influence on the community. Results of canonical correspondence analysis indicated that the sediment characteristics have a more significant impact on chironomid communities than the analyzed water parameters. Our study confirmed that chironomids and sediment analyzes should be obligatorily included in the monitoring of ecological status, since chironomids are often a dominant component of benthic macroinvertebrate assemblages in freshwater ecosystems, with many species inhabiting the sediment with a proclivity for intake of toxic and persistent pollutants.

Key words: Chironomidae; Environmental parameters; Water; Sediment; Pollutants prioritization

INTRODUCTION

Chironomids (Insecta: Diptera, Chironomidae; non-biting midges) are an important component of freshwater ecosystems. They occupy a broad range of habitats and have a wide geographical distribution [1]. Chironomids are an important component of food webs, being the main prey for many invertebrates, fish and birds [2,3].

The abundance and taxonomic richness of chironomid larvae strongly correlate with environmental conditions and the physicochemical characteristics of the sediment and water [4]. The larval stages of non-biting midges show different degrees of tolerance [5-9] to changes in the environment, to which they can rapidly respond [10]. Therefore, they are suitable indicator organisms for the assessment of the ecologi-

cal condition of aquatic habitats [11], and an important tool in ecological and monitoring studies [12,13]. For bioassessment programs, it is very important to estimate how environmental factors influence the chironomid community [11].

This study was undertaken to investigate which environmental variables of water and sediment have the most significant influence on chironomid assemblages, as a part of activities within the GLOBAQUA EU Seventh Framework Project [14]. The Kolubara River is one of the largest tributaries of the Sava River, and one of the largest rivers in the Belgrade area (Fig. 1). It is 86.5 km long, with a drainage area of 3,636 km² and an average altitude of 206 m a.s.l. [15]. According to national legislation [16], the Kolubara is classified as a type 2 watercourse, which refers to large rivers with predominantly medium-sized substrates in the

riverbeds. The river along the investigated stretch is exposed to various pressures, including organic and nutrient pollution, from industry and due to hydro-morphological degradation [17]. The protected zone of the Belgrade water supply begins 10 km downstream from the confluence of the Kolubara into the Sava River. This has imposed the necessity for effective measures for improving the ecological status of the Kolubara River.

MATERIALS AND METHODS

The study period was from 2007 to 2011. Samples were collected from 2 localities on the Kolubara River: near the village Čelije (N44°22'36.17", E20°12'35.24") and the town of Obrenovac (N44°39'12", E20°13'27") (Fig. 1). These localities have been exposed to different types of anthropogenic pressure; the site near Čelije is exposed to pollution from the rural area, while the site near Obrenovac to pollution from urban industrial and wastewaters.

Water sampling and analysis

Physical and chemical water parameters were measured monthly (March–October) at both sites. Water samples were taken in Friedinger bottles (volume = 3 L), at a depth of 0.5 m, using standard methods (APHA AWWA WEF 1995, SRPS ISO 5667/2008, SRPS ISO 7828/1997, SRPS ISO 5667-6: 1997, SRPS EN ISO 5667-3: 2007, SRPS EN ISO 5667-1: 2008).

The transparency of the water (m) was assessed using a Secchi disk. Temperature (°C), pH values, conductivity ($\mu\text{S cm}^{-1}$), dissolved oxygen (DO) ($\text{mg L}^{-1} \text{O}_2$) and oxygen saturation ($\text{O}_2\%$) were measured with a Horiba W-23XD multiparametric probe (HORIBA Instruments Incorporation, USA) in the field. The biochemical oxygen demand for five days (BOD_5) ($\text{mg L}^{-1} \text{O}_2$) (SRPS ISO 5813: 1994, SRPS EN 1899-2: 2009), chemical oxygen demand (COD) ($\text{mg L}^{-1} \text{O}_2$) (SRPS ISO 6060: 1990), total organic carbon (TOC) ($\text{mg L}^{-1} \text{C}$) (SRPS ISO 8245:1994), total phosphates ($\text{mg L}^{-1} \text{P}$) (EPA 207. Rev 5, SRPS ENISO 6878: 2008), nitrites (NO_2) ($\text{mg L}^{-1} \text{N}$) (PRI P-V-32/A), nitrates (NO_3) ($\text{mg L}^{-1} \text{N}$) (EPA 300.1), suspended solids (mg L^{-1}) (SMEWW 19th method 2540 D), total nitrogen (N) (mg L^{-1}) (ISO 10048:1991, SRPS EN 12260:2008), alkalinity (Alk) ($\text{mg L}^{-1} \text{CaCO}_3$) (EPA method 310.1), total hardness (Tot H) ($\text{mg L}^{-1} \text{CaCO}_3$) (EPA 130.2), residues obtained after drying at 105°C (mg L^{-1}) (SMEWW 19th method 2540 B), ammonium ion (NH_4^+) ($\text{mg L}^{-1} \text{N}$) (PRI P-V-2A), chloride ($\text{mg L}^{-1} \text{Cl}^-$) (SRPS ISO 9297: 1994), sulphate (SO_4^{2-}) (mg L^{-1}) (EPA 300.1) and the following metals (mg L^{-1}): nickel (Ni), lead (Pb), cadmium (Cd), zinc (Zn), copper (Cu), arsenic (As), iron (Fe) (EPA 207. Rev 5, EPA 200.8), and mercury (Hg) (EPA 245.1) were measured. Detergents (mg L^{-1}) (SMEWW 16th method 512 B), phenols (mg L^{-1}) (SRPS ISO 6439:1997) and mineral oils (total hydrocarbons $\text{C}_{10}\text{-C}_{40}$) (mg L^{-1}) (SRPS ENISO 9377-2:2009) were measured at the Institute of Public Health, Belgrade.

Sediment sampling and analysis

Surface sediment samples were taken during the low water level regime in September/October at both sites. Sampling was performed according to the following methods: SRPS ISO 5667-2:1997, ISO 5667-15:1999, SRPS ISO 5667-12:2005, SRPS EN ISO 5667-3:2007, SRPS EN ISO 5667-1:2008. Sediment samples were prepared for analysis using the wet fragmentation method by separation of fractions smaller than 63 μm . Sediment samples were analyzed at the Institute of Public Health in Belgrade. The following parameters were analyzed: moisture content (%) (SRPS ISO 11465:2002), pH value (SRPS ISO 10390:2007), metal content (mg kg^{-1}): As, Cu, Zn, Cr, Cd, Ni, Pb (EPA 3050

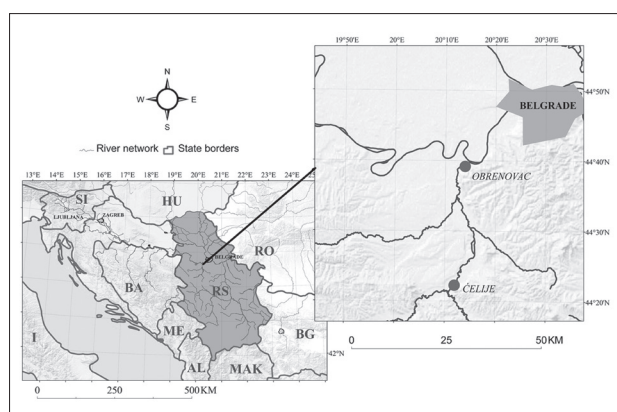


Fig. 1. Sampling sites on the Kolubara River.

B (method A) 1996, ISO 11466: 2004, EPA 200.72001) and Hg (EPA 245.1); pesticides ($\mu\text{g kg}^{-1}$) DDT + DDE + DDD, lindane, aldrin, endrin, dieldrin, HCH (α , β , δ), heptachlor, heptachlorepoxyd, alachlor, hexachlorobenzene, atrazine, simazine, propazine, trifluralin, dihlorbenil (ISO 10382 2002); polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) ($\mu\text{g kg}^{-1}$) anthracene, benzo(a)anthracene, benzo(k)fluoranthene, benzo(a)pyrene, chrysene, phenanthrene, fluoranthene, indeno(1,2,3-c, d)pyrene, naphthalene, benzo(g, h, i)perylene (ISO 18287: 2006). The total PAH refers to the sum of the above-mentioned 10 polycyclic aromatic hydrocarbons. Acenaphthylene, acenaphthene, fluorene, pyrene, benzo(b)fluoranthene, dibenzo(a, h)anthracene were measured using standard methods (ISO 18287: 2006); polychlorinated bisphenyls (PCB) (mg kg^{-1}): PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 118, PCB 138, PCB 153, PCB 180, and total PCB refers to the sum of the above-mentioned PCBs (ISO 10382: 2002); mineral oils were also measured (total hydrocarbons C10-C40) (mg kg^{-1}).

Sampling, identification and chironomid assemblages analysis

Samples of benthic fauna were collected during high (May/June) and low water level regimes (September/October) from 2007-2011, using a Van-Veen type of grab with a sample area of 270 cm^2 . The organisms were separated on site from the sediment with a $200 \mu\text{m}$ -mesh-size sieve and preserved in 4% formaldehyde.

Preparation of chironomid larvae for identification was performed according to the method described by Epler [18] and Orendt and Spies [19]. Identification was done to the lowest possible taxonomic level (preferably species) using the following identification keys: Hirvenoja [20], Lellak [21], Wiederholm [22], Maschwitz and Cook [23], Epler [18], Moller Pillot [24], Orendt and Spies [19].

Data analysis

The Shannon-Wiener diversity [25], density (ind. m^{-2}), and species richness indices were calculated to evaluate the structure of the chironomid assemblages. Classification based on the functional feeding groups

and habitat type, was performed according to Moog [26], Schmedtje and Colling [27] and Mandaville [28].

Seasonal differences between chironomid community structures during regimes of low and high water levels were analyzed by the nonparametric Mann-Whitney U test ($p < 0.05$), using the PAST statistical program, version 2.14 [29].

Correspondence analysis (CA) was used to compare the main faunistic features, while canonical correspondence analysis (CCA) was employed to evaluate the correlation between chironomid taxa and environmental variables of water and sediment at the researched localities [30-33], using the statistical program PAST, version 2.14 [29].

Forward selection analysis, based on Pearson's correlation test ($p < 0.05$), and the Monte Carlo permutation test (999 permutations, $p < 0.05$) was performed in order to identify the most influential environmental variables in the water and sediment, using FLORA software, version 2013 [32].

In the case of water parameters, the relation between chironomid assemblages and environmental variables was assessed using two data sets of physical and chemical parameters. The first data set included the values of the water variables that were measured at the time of fauna sampling from the riverbed. The second data set included three-month average values of water variables, two months before and on the month of sampling benthic fauna. The idea was to test the strength of the correlation in both cases.

RESULTS

Results of environmental variable analyses: water and sediment

The results of physicochemical analysis of the water and sediment at 2 sites (upstream – Ćelije and downstream – Obrenovac) on the Kolubara River during the five-year research period are shown in Tables 1. (for water) and 2. (for sediment).

Table 1. Minimal, maximal and average values of the physicochemical parameters of the water that were above the detection limit for the used method, measured during the 5-year period (2007-2011) at the study sites on the Kolubara River.

Localities	Čelije			Obrenovac		
	Min	Max	Average \pm SD	Min	Max	Average \pm SD
Transparency of the water (m)	-	-	-	0.15	1.20	0.46 \pm 0.24
Water temperature ($^{\circ}$ C)	3.70	27.70	15.99 \pm 6.04	4.40	27.20	17.01 \pm 6.23
pH value	7.60	8.40	8.12 \pm 0.15	7.90	8.50	8.12 \pm 0.12
Electrical conductivity (μ S cm^{-1})	320	580	441.39 \pm 68	250	600	471.71 \pm 81.62
Alkalinity (mg L^{-1} CaCO_3)	153.50	289.50	230.56 \pm 31.53	97	281	224.95 \pm 38.63
Total hardness (mg L^{-1} CaCO_3)	176.80	298.90	241.85 \pm 31.76	105.40	407.20	253.39 \pm 49.71
Suspended solids (mg L^{-1})	2	428	73.44 \pm 211.3	4	734	55.91 \pm 132
Residue dried at 105° C (mg L^{-1})	224	390	300.79 \pm 39.96	186	427	329.83 \pm 63.28
Dissolved oxygen (mg L^{-1} O_2)	5.70	11.60	8.78 \pm 1.41	6	15.50	8.41 \pm 1.94
Oxygen saturation (%)	62	102	68.78 \pm 9.16	67	185	86.88 \pm 22.38
BOD ₅ (mg L^{-1} O_2)	0.30	9.70	2.88 \pm 1.58	0.20	12.21	2.85 \pm 2.79
COD (mg L^{-1} O_2)	1.60	34.90	10.06 \pm 8.09	2.1	42.2	13.73 \pm 10.73
NH ₄ ⁺ (mg L^{-1} N)	0.05	0.85	0.30 \pm 0.2	0.06	1.06	0.36 \pm 0.24
Nitrite (mg L^{-1} N)	0.008	0.193	0.06 \pm 0.04	0.014	0.23	0.08 \pm 0.05
Nitrate (mg L^{-1} N)	0.70	6.10	1.92 \pm 0.9	0.70	3	1.70 \pm 0.47
Total nitrogen (mg L^{-1} N)	1.60	4.60	2.41 \pm 0.7	1	3.68	2.33 \pm 0.69
Total phosphate (mg L^{-1} P)	0.04	0.32	0.13 \pm 0.08	0.04	0.30	0.12 \pm 0.06
Total organic carbon (mg L^{-1})	1.88	36.21	4.22 \pm 5.8	2.48	8.29	4.35 \pm 1.26
Chloride (mg L^{-1} Cl)	5.60	23.70	11.18 \pm 4.5	6.30	24.40	13.98 \pm 5.26
Sulphate (mg L^{-1} SO_4)	16.70	36.90	21.79 \pm 5.99	17.40	68.10	36.88 \pm 17.33
Zn (mg L^{-1})	0.0008	0.0378	0.01 \pm 0.009	0.001	0.21	0.03 \pm 0.04
Cu (mg L^{-1})	0.002	0.02	0.004 \pm 0.004	0.001	0.05	0.006 \pm 0.01
Ni (mg L^{-1})	0.004	0.017	0.009 \pm 0.008	0.004	0.018	0.01 \pm 0.009
As (mg L^{-1})	0.001	0.007	0.002 \pm 0.001	0.001	0.04	0.01 \pm 0.01
Cd (mg L^{-1})	0.0006	0.002	0.0006 \pm 0.0004	0.0006	0.002	0.0006 \pm 0.0004
Fe (mg L^{-1})	0.008	2.58	0.25 \pm 0.51	0.002	2.34	0.44 \pm 0.66
Detergents (mg L^{-1})	<0.02	<0.02	-	0.02	0.13	0.02 \pm 0.03
Phenols (mg L^{-1})	0.001	0.003	0.001 \pm 0.0008	0.001	0.002	0.001 \pm 0.0003

Table 2. Minimal, maximal and average values of parameters for the surface layer of the sediment that were above the detection limit for the used method, measured during the 5-year period (2007-2011) at the Čelije and Obrenovac sites on the Kolubara River.

Localities	Čelije			Obrenovac		
	min	max	average \pm SD	min	max	average \pm SD
Pb (mg kg^{-1})	24.10	41.20	31.97 \pm 7.34	27.60	38.50	33.64 \pm 3.94
Cd (mg kg^{-1})	0.20	0.70	0.35 \pm 0.24	0.30	1	0.56 \pm 0.29
Zn (mg kg^{-1})	43.20	86.90	63.82 \pm 19.50	60.20	78.50	72.80 \pm 7.56
Ni (mg kg^{-1})	45.90	179.40	117.57 \pm 54.81	117.10	145.90	130.60 \pm 12.48
Cr (mg kg^{-1})	22.20	779.90	242.57 \pm 359.41	43.50	113.50	88.40 \pm 26.99
Hg (mg kg^{-1})	0.10	0.20	0.12 \pm 0.05	0.10	0.60	0.24 \pm 0.21
As (mg kg^{-1})	8.80	10.90	10.05 \pm 0.90	7.50	14	11.04 \pm 2.59
Cu (mg kg^{-1})	21.90	34.60	25.50 \pm 6.10	22.70	34.20	28 \pm 4.87
Total PAH ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	85	251	133 \pm 106.72	20	529	184.90 \pm 227.72
Naphthalene ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	10	59	30.50 \pm 21.42	10	28	12.60 \pm 11.21
Fluoranthene ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	16	24	16.50 \pm 8.35	29	72	23.70 \pm 28.93
Phenanthrene ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	20	31	21 \pm 11.63	15	96	29.70 \pm 38.61

Table 2 continued:

Benzo(a)anthracene ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	5	28	11.25 ± 11.21	5	34	11.80 ± 12.60
Chrysene ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	13	22	11.25 ± 8.10	26	58	18.80 ± 24.03
Benzo(a)pyrene ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	12	15	9.25 ± 5.06	26	140	35.20 ± 59.41
Indeno(1,2,3-cd)pyrene ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	5	10	6.25 ± 2.50	5	20	8 ± 6.71
Acenaphthene ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	5	22	9.25 ± 8.50	5	5	5
Fluorene ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	<10	<10	-	14	24	9.60 ± 9.34
Pyrene ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	15	28	16.75 ± 9.53	24	80	28.30 ± 31.24
Benzo(b)fluoranthene ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	17	35	15.50 ± 14.18	26	42	15.60 ± 17.75
Total hydrocarbons (C_{10} - C_{40}) (mg kg^{-1})	24.80	158	82.33 ± 55.40	52.82	189	86.184 ± 58.20

Table 3. Autecological characteristics of chironomid taxa recorded in the Kolubra River at the Ćelije and Obrenovac localities during 2007-2011. Abbreviations: pel – pelal, ar – argyllal, ps – psamal, lit – lithal, ph – phytal; c-g – gatherers, c-f – filtrators, shr – shredders, scr – scrapers, pre – predators; S – saprobic valence (26); T – taxon tolerance (28); Hb – hemoglobin (24, 58, 59); FT – feeding type according to Moog (26); Schmedtje and Colling (27); Mandaville (28); HT – habitat type by Moog (26); Schmedtje and Colling (27); MT – type of microhabitat according to Schmedtje and Colling (27); / – no data; Abbr – Abbreviation.

Taxon name	Abbr	S	T	Hb	FT	HT	MT
<i>Einfeldia pagana</i> (Meigen, 1838)	Ein_pag	2.2	9	+	c-g	pot, rit	pel
<i>Dicrotendipes nervosus</i> (Staeger, 1839)	Dic_ner	2.7	8	+	c-g	pot, rit	pel, ps, lit
<i>Cladotanytarsus mancus</i> (Walker, 1856)	Cla_man	2.1	5	+	c-f	pot	pel
<i>Harnischia</i> sp.	Har_sp.	/	8	/	c-g, pre	/	pel, ps, lit
<i>Polypedilum scalaenum</i> (Schränk, 1803)	Pol_sca	2.3	6	+	shr	pot, rit	pel
<i>Polypedilum albicorne</i> (Meigen, 1838)	Pol_alb	0.8	6	+	shr	cre, rit	pel
<i>Polypedilum convictum</i> (Walker, 1856)	Pol_con	1.9	6	+	shr	rit, pot	pel
<i>Polypedilum pedestre</i> (Meigen, 1830)	Pol_ped	2.7	6	+	shr	pot, rit	pel
<i>Polypedilum nubeculosum</i> (Meigen, 1804)	Pol_nub	2.3	6	+	shr	pot, rit	pel, ps
<i>Chironomus</i> gr. <i>plumosus</i> (Linnaeus, 1758)	Ch_plu	3.6	10	+	c-g	Pot	pel
<i>Chironomus riparius</i> Meigen, 1804	Ch_rip	3.5	10	+	c-g	pot, rit	pel
<i>Demicryptochironomus vulneratus</i> (Zetterstedt, 1838)	Dem_vul	2.3	8	-	c-g	pot	pel
<i>Cryptochironomus</i> sp.	Cri_sp.	/	8	+	pre	pot	pel, ar, ps
<i>Cryptotendipes</i> sp.	Cry_sp.	/	6	/	c-g	/	pel, ar, ps
<i>Glyptotendipes</i> sp.	Gly_sp.	/	10	+	shr	/	ph, pel, ps
<i>Virgatanytarsus arduennensis</i> (Goetghebuer, 1922)	Vir_ard	2.0	/	/	c-g	pot, rit	/
<i>Cladopelma lateralis</i> (Goetghebuer, 1934)	Cla_lat	/	9	+	c-g	/	/
<i>Procladius</i> sp.	Pro_sp.	/	9	-	pre	/	pel, ps
<i>Cricotopus triannulatus</i> Macquart, 1826	Cri_tri	2.2	7	-	shr	pot, rit	lit
<i>Cricotopus sylvestris</i> (Fabricius, 1794)	Cri_syl	2.6	7	-	scr	Pot	pel, ph
<i>Cricotopus bicinctus</i> (Meigen, 1818)	Cri_bic	2.5	6	-	scr	pot, rit	/
<i>Orthocladius</i> sp.	Ort_sp.	/	6	-	c-g	/	/
<i>Eukiefferiella claripennis</i> (Lundbeck, 1898)	Euk_cla	2.3	8	-	c-g	rit, pot, cre	/
<i>Prodiamesa olivacea</i> (Meigen, 1818)	Pro_oli	/	8	/	c-g	rit, pot	ps, pel

In comparison to the values provided by the national Ecological Quality Standards – EQS [16,34], higher values of TOC, BOD_5 and nitrogen compounds were occasionally recorded. According to these parameters, ecological status of the Kolubara River can be classified as class IV for type 2 watercourses,

whereas according to the concentration of suspended solids and based on the national legislation [16,34], it can be classified as class V.

The contents of Cr, Hg and Ni in the sediment exceeded the value of the given limit according to na-

tional legislation [34] and international standards [35, 36]. The content of Cr was double than the remediation value. The value of Ni exceeded the maximum allowable values, while Hg content exceeded the target value. Based on the results of the sediment parameters, the Kolubara River in the Belgrade area can be classified as a class IV watercourse [34].

Community analysis

At the Kolubara River study sites, 24 taxa of the family Chironomidae were recorded and their autecological characteristics are shown in Table 3.

The minimal density of the chironomid community was recorded at Obrenovac (5,594 ind. m⁻²), and the maximal density (8,103 ind. m⁻²) was observed at the Ćelije study site. Among chironomids, Chironominae was the dominant (61.70%) and the most diverse subfamily, with 17 taxa belonging to 12 genera. Tanypodinae (19.70%) and Orthocladiinae (17.32%) were subdominant subfamilies. Former was presented only by one, while the latter by 5 taxa within 3 genera. The chironomid community structure at the investigated sites is presented in Fig. 2.

Species richness and diversity (*H'*) were higher at the Ćelije sampling site (20 taxa; 1.11 ± 0.74) compared to the Obrenovac site (12 taxa; 0.71 ± 0.54). At Ćelije the distribution of chironomid species was more homogenous, without any taxa predominating.

Results of the nonparametric Mann-Whitney U test (*p* = 0.36) showed that there were no statistically significant differences between the samples collected during regimes of low and high water levels at either site.

Based on community structure, CA showed marked separation of the study sites Ćelije and Obrenovac (Fig. 3). To perform the CCA, 5 out of 28 physicochemical water parameters were selected by forward selection (FS) analysis [32], both for 3-month average values, and for values recorded in the month community sampling. Different factors were selected from these two data sets. Factors with greater correlation strengths were obtained from the 3-month average value data set.

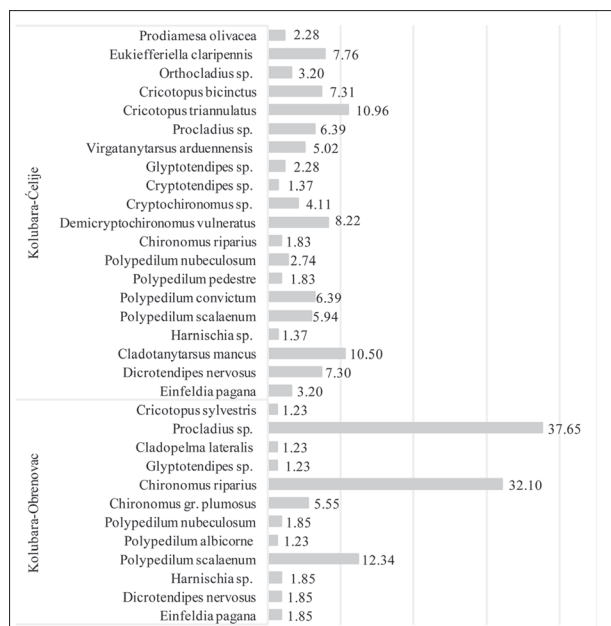


Fig. 2. Average percentage of chironomid taxa participation (%) in the community in the Kolubara River during 2007-2011.

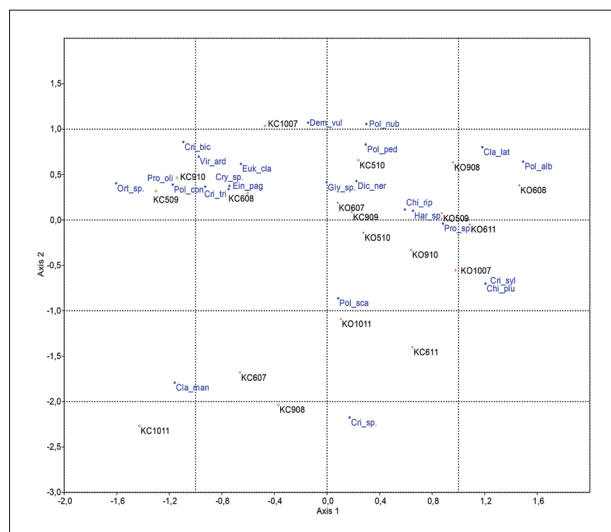


Fig. 3. Correspondence analysis of sampled chironomid communities (Ćelije – green; Obrenovac – red). The biplot is based on a matrix of 24 taxa and 20 samples displaying 27.73% of total variance (first axis 14.23%, second 13.50%). Abbreviations for the names of taxa are given in Table 3. The samples were coded as follows: KO (Obrenovac) / KC (Ćelije) – month – year (e.g. KO0910 – Kolubara Obrenovac October 2010).

Table 4. The results of FS analysis. Selected environmental factors with the greatest influence on chironomid communities ($p < 0.05$). A – Water environmental factors for 3-month average values; B – water environmental factors for values recorded at the month of community sampling; C – sediment environmental factors.

Selected environmental parameters											
A				B				C			
Factor	Eigen value	F statistics	p	Factor	Eigen value	F statistics	P	Factor	Eigen value	F statistics	p
Fe	0.4768	1.7209	0.0000	NH ₄ ⁺	0.5969	2.2072	0.0000	Hg	0.3636	1.3637	0.0060
COD	0.4605	1.6566	0.0000	Total P	0.4203	1.4998	0.0000	Ni	0.4991	1.9842	0.0180
NH ₄ ⁺	0.4451	1.5962	0.0000	Tot H	0.3962	1.4071	0.0000	Cd	0.6178	2.5918	0.0300
BOD ₅	0.4361	1.5612	0.0000	Tem	0.3936	1.3971	0.0000				
DO	0.4257	1.5208	0.0000	Alk	0.2500	0.8631	0.0380				

FS analysis was also carried out for the sediment variables; 3 out of 22 variables were selected as the most influential. Selected parameters are shown in Table 4. The first CCA was based on water environmental factors that were selected from the 3-month average values of variables. According to the first axis, the distribution of chironomids at both sites was the most influenced by the NH₄⁺ concentration. NH₄⁺ showed positive correlation with COD, BOD₅ and Fe (Fig. 4a). All of these variables were negatively correlated with DO. It is important to point out that COD, BOD₅ and NH₄⁺, which are indicators of organic pollution, correlated highly with samples from the Obrenovac locality. NH₄⁺ was positively correlated with following taxa: *Procladius* sp., *Polypedium scalae-num*, *P. albicorne*, *P. nubeculosum* and *Cladopelma lateralis*. Positive correlations with BOD₅, COD and Fe were found for *Chironomus riparius*, *Ch. plumosus*, *Cricotopus sylvestris* and *Harnischia* sp. at the locality Obrenovac. The taxa *C. bicinctus*, *Glyptotendipes* sp., *Virgatanytarsus arduennensis*, *Prodiamesa olivacea* and *P. convictum*, recorded at Čelije, displayed a negative correlation with these parameters and a positive correlation with DO.

The second CCA was based on the environmental factors of the water that were selected from the values recorded in the month of community sampling. According to the first CCA axis, the concentration of NH₄⁺ had the greatest impact on the structure of the chironomid community (Fig. 4b). The concentration of NH₄⁺ was positively correlated with *Ch. riparius*, *Ch. gr. plumosus*, *C. sylvestris*, *C. lateralis* and *Procladius* sp. from the Obrenovac site. Positive correlation with

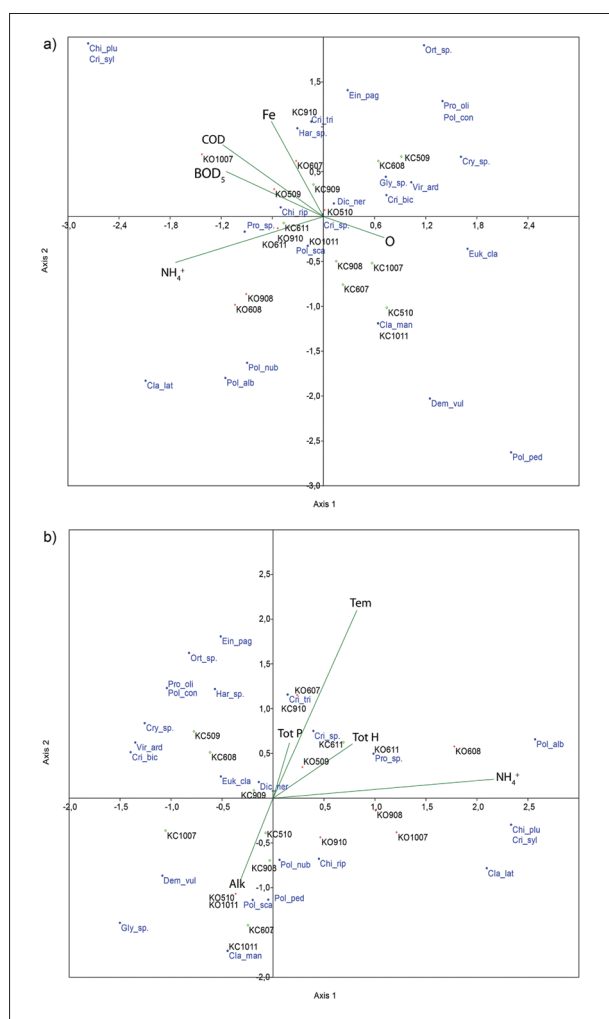


Fig. 4. CCA ordination triplot (matrix: 24 taxa \times 20 samples \times 5 environmental factors); a) selection of environmental factors was based on 3-month average values displaying 63.71% of total variance; b) selection of environmental factors was based on values recorded in the month of community sampling and which displayed 57.66% of total variance.

alkalinity was found for *P. scalaenum*, *P. pedestre*, *P. nubeculosum*, *D. vulneratus* and *Glyptotendipes* sp. Our results also revealed a positive correlation between temperature and *Cricotopus* sp. and *C. triannulatus*.

For the selected environmental factors of the sediment CCA was also performed (Fig. 5). The identified taxa indicate that Cd (according to the first CCA axis) and Hg (according to the second CCA axis) were variables with the highest influence. According to the first CCA axis, Ni also has a significant influence. At the Obrenovac site, *Ch. riparius* and *Procladius* sp. positively correlated with the content of Hg, and *Ch. plumosus*; *C. sylvestris* positively correlated with the content of Cd in the sediment. At the Čelije site, chironomid species *P. nubeculosum*, *P. albimanus*, *C. lateralis* and *D. nervosus* positively correlated with the content of Ni in the sediment.

DISCUSSION

Many studies have examined the relations between physical and chemical parameters of water and sediment and the composition and abundance of chironomid communities [8,37-39]. Our results are in agreement with Janse et al. [40] who reported that increased anthropogenic pressure reduces species diversity. Higher number of chironomid taxa and higher diversity were recorded at the study site Čelije than at the downstream site Obrenovac. This observation indicates that the latter site is exposed to greater anthropogenic influence. The higher number of polysaprobic taxa downstream (13.16% of total chironomid taxa), compared to upstream site Čelije (2.86%) confirmed this statement.

A number of authors have highlighted the importance of temporal dimension and its effect on the seasonal pattern of chironomid distribution [41-44]. These authors mainly studied communities in mountainous rivers and/or habitats exposed to lower anthropogenic pressure. Based on the results of the Mann-Whitney U test, the seasonal dynamic of non-biting midge assemblages in investigated river type was not pronounced. In addition, there were no sig-

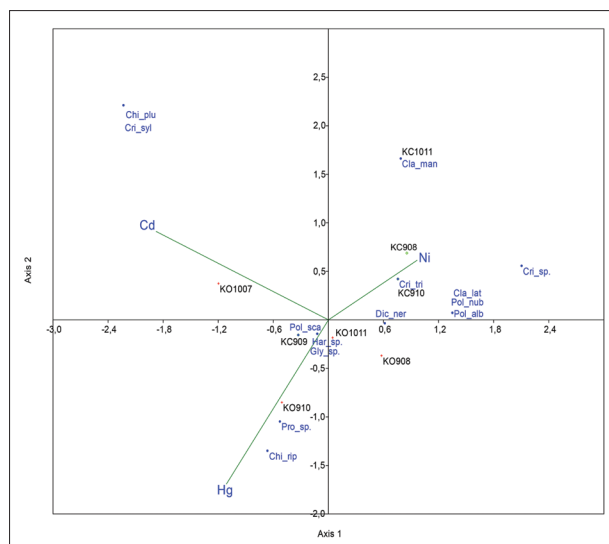


Fig. 5. CCA ordination triplot (matrix: 24 taxa \times 10 samples \times 3 environmental factors), displaying 98.80% of total variance. Analysis of the chironomid communities in Kolubara (Obrenovac – red, Čelije – green) and of selected physicochemical parameters of the sediment.

nificant differences in community structure between two sampling seasons. This could be explained by the long larval period of common taxa or by appearance of new generation [45].

The characteristics of the substrate and the presence of pollutants in the water affect chironomid distribution. Literature data show that the characteristics of riverbed substrate, which are related to its physicochemical profile, are the principal factor influencing chironomid distribution [42,46,47]. According to the results of FS and CCA, the contents of Ni, Cd and Hg in the sediment displayed the highest correlation with the structure of chironomid assemblages. The samples from Obrenovac, where increased values of inorganic pollutants were observed, stood in significant correlation with the elevated contents of Cd and Hg.

As pelophilous species were dominant, the impact of sediment quality on chironomid communities was expected [48]. Pelophilous species mix the upper part of the sediment with water by bioturbation, thereby increasing the availability not only of nutrients, but also of other substances (including toxic matters) to other members of the food web. Contamination of the

sediment with inorganic and persistent organic pollutants threatens the growth and survival of aquatic invertebrate communities [49].

Chironomids that live in the sediment and feed on detritus exhibit an adaptability to various pollutants in the sediment and can accumulate heavy and toxic metals [50,51]. The intensity of accumulation is proportional to the content of metals in the surroundings [52]. Michailova et al. [53] suggested that the chironomid genome is very sensitive to the presence of trace metals, but that heavy metals do not affect the diversity of chironomid species. Thus, it can be concluded that changes caused by metal pollution are not measurable by standard procedures at the community level. Most chironomids have hemoglobin in their hemolymph, which allows them to live in the suboxic sediment [54,55]. Studies have shown that the presence of Cd in the sediment can reduce the size of hemoglobin proteins in midges, and even its complete denaturation. This aspect should be examined further with the aim of developing a rapid bioassessment method for the detection of Cd in the environment [55,56]. Our results show that 54% of all 24 recorded taxa have hemoglobin in their hemolymph; 29% do not have hemoglobin (for 17% there are no data). At the Obrenovac locality, 9 of the 12 recorded species have hemoglobin. Based on these results we propose the use of chironomids for preliminary detection of Cd contamination of the sediment.

FS selected environmental variables (Fe, NH_4^+ , BOD_5 , COD, and DO) based on three month average data set showed better correlation with chironomid communities in comparison to variables (Alk, Tot H, Temp, NH_4^+ and Tot P) selected based on the values obtained at the time of community sampling). This indicates that in order to identify the influence of pollutants, a more reliable approach is to compare the mean values of longer time series of environmental parameters. In both cases (mean values and single measurements of environmental determinants), NH_4^+ was found to be the principal factor determining the structures of chironomid assemblages in the investigated river type. This variable showed significant correlation with the species *Cricotopus sylves-*

tris, *Polypedilum nubeculosum*, *Cladopelma lateralis*, *Chironomus plumosus* and *Procladius* sp, which were dominant in the investigated communities (except *C. lateralis*). BOD_5 , COD, DO were also found to be defining factors of chironomid assemblages. These variables reflect the level of organic pollution, which together with nutrient input exert the greatest pressure on Serbian Waters [57](SRBMP, 2013). Milošević et al. [11] identified the same set of parameters as the most important determinant of chironomid distribution. These authors also described the significant influence of PO_4 , NO_3 and electrical conductivity, albeit for a large river with a hard substrate, and for small mountain streams. Based on these findings, it can be concluded that NH_4^+ , BOD_5 , COD and DO have the most influence on the distribution of non-biting midges.

Multivariate analysis revealed that chironomid communities possess a high degree of correlation with habitat conditions. The results of our study indicate that the physicochemical characteristics of the sediment have a greater impact on chironomid communities than water parameters. Therefore, more effort should be devoted to sediment analyses in routine water-quality monitoring practice, especially to determine long-term pollution in an ecosystem. Since numerous chironomid species inhabit the sediment and absorb and retain toxic and persistent pollutants, they should be included in biomonitoring studies and in assessments of the ecological status of water ecosystems.

Acknowledgments: The study was supported by the Ministry of Education and Science of the Republic of Serbia – Grant No. 176018, No. 173025 and the European Communities 7th Framework Programme Funding – Grant No. 603629-ENV-2013-6.2.1-Globaqua. We are grateful to the Institute of Public Health, Belgrade.

Conflict of interest disclosure: There are no conflicts of interest

REFERENCES

1. Ferrington L, Jr. Global diversity of non-biting midges (Chironomidae; Insecta-Diptera) in freshwater. *Hydrobiologia*. 2008;595(1):447-55.

2. Goyke A, Hershey A. Effects of fish predation on larval chironomid (Diptera: Chironomidae) communities in an arctic ecosystem. *Hydrobiologia*. 1992;240(1-3):203-11.
3. Sánchez M, Green A, Castellanos E. Spatial and temporal fluctuations in presence and use of chironomid prey by shorebirds in the Odiel saltpans, south-west Spain. *Hydrobiologia*. 2006;567(1):329-40.
4. De Haas EM, Wagner C, Koelmans AA, Kraak MH, Admiraal W. Habitat selection by chironomid larvae: fast growth requires fast food. *J Anim Ecol*. 2006;75(1):148-55.
5. Rossaro B. Factors that determine chironomidae species distribution in fresh waters. *Bolletino di zoologia*. 1991;58(3):281-6.
6. Diggins TP, editor Cluster analysis of the Chironomidae of the polluted Buffalo River, New York, USA 2001.
7. Mousavi SK. Boreal chironomid communities and their relations to environmental factors — the impact of lake depth, size and acidity. *Boreal Environ Res*. 2002;7(1):63-75.
8. Helson JE, Williams DD, Turner D. Larval Chironomid Community Organization in Four Tropical Rivers: Human Impacts and Longitudinal Zonation. *Hydrobiologia*. 2006;559(1):413-31.
9. Luoto TP. The relationship between water quality and chironomid distribution in Finland—A new assemblage-based tool for assessments of long-term nutrient dynamics. *Ecol Ind*. 2011;11(2):255-62.
10. Beneberu G, Mengistou S, Eggermont H, Verschuren D. Chironomid distribution along a pollution gradient in Ethiopian rivers, and their potential for biological water quality monitoring. *African J Aquat Sci*. 2014;39(1):45-56.
11. Milošević D, Simić V, Stojković M, Živić I. Chironomid faunal composition represented by taxonomic distinctness index reveals environmental change in a lotic system over three decades. *Hydrobiologia*. 2012;683(1):69-82.
12. Rosenberg DM. Freshwater biomonitoring and Chironomidae. *Netherland J Aquat Ecol*. 1992;26(2-4):101-22.
13. Armitage PD, Cranston PS, Pinder LCV. *The Chironomidae: Biology and Ecology of Non-biting Midges*. London: Chapman & Hall; 1995
14. Navarro-Ortega A, Acuña V, Bellin A, Burek P, Cassiani G, Choukr-Allah R, et al. Managing the effects of multiple stressors on aquatic ecosystems under water scarcity. The GLOBAQUA project. *Sci Total Environ*. 2015;503-504:3-9.
15. Gavrilović L, Dukić D. *Rivers in Serbia*. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2002.
16. Official Gazette of RS No. 74/2011. Regulative on parameters of ecological and chemical status of surface waters and parameters of chemical and quantitative status of groundwaters
17. Paunović M, Tomović J, Kovačević S, Zorić K, Žganec K, Simić V, et al. Macroinvertebrates of the Natural Substrate of the Sava River - Preliminary Results. *Water Res Manag*. 2012;2(4):33-9.
18. Epler JH. *Identification Manual for the larval Chironomidae (Diptera) of North and South Carolina. A guide to the taxonomy of the midges of the southeastern United States, including Florida*. Special Publication SJ2001-SP13: North Carolina Department of Environment and Natural Resources, Raleigh, NC. and St. Johns River Water Management District, Palatka, FL; 2001. 526 p.
19. Orendt C, Spies M. *Chironomini (Diptera: Chironomidae: Chironominae): Keys to Central European larvae using mainly macroscopic characters*. Leipzig: Orendt Hydrobiologie; 2012. 64 p.
20. Hirvenoja M. *Revision der Gattung Cricotopus van der Wulp und ihrer Verwandten (Diptera, Chironomidae)*. *Annal Zool Fenn*. 1973;10(1):1-363.
21. Lellák J. *Pakomárovití - Chironomidae*. In: Rozkošný R, editor. *Klíč vodních larev hmyzu (Identification key to aquatic larvae of insects)*. Praha: Academia; 1980. p. 310-92 (In Czech).
22. Wiederholm T. *Chironomidae of the Holarctic region. Keys and diagnoses. Vol.1. Larvae*. *Entomologica Scandinavica*. 1983. 457 p.
23. Maschwitz DE, Cook EF. Revision of the Nearctic species of the genus *Polypedilum* Kieffer (Diptera: Chironomidae) in the subgenera *P. (Polypedilum)* Kieffer and *P. (Uresipedilum)* Oyewo and Sæther. *Bull Ohio Biol Surv*. 2000;12:1-135.
24. Moller PH. *Chironomidae Larvae of the Netherlands and Adjacent Lowlands. Biology and Ecology of the Chironomini*. The Netherlands: KNNV Publishing; 2009.
25. Shannon CE. *A Mathematical Theory of Communication*. *Bell System Technical Journal*. 1948;27(3):379-423.
26. Moog O. *Fauna Aquatica Austriaca - Catalogue for autecological classification of Austrian aquatic organisms with Ecological Notes*. 2 ed. Vienna: Federal Ministry of Agriculture, Forestry, Environment and Water Management Division VII (Water); 2002.
27. Schmedtje U, Colling M. *Ökologische Typisierung der aquatischen Makrofauna*. München: Informationsberichte des Bayerischen Landesamtes für Wasserwirtschaft; 1996.
28. Mandaville SM. *Benthic macroinvertebrates in freshwaters: Taxa tolerance values, metrics, and protocols: CiteSeer*; 2002.
29. Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD. *PAST: Paleontological Statistics Software Package for education and data analysis*. *Palaeontologia Electronica* 4. 2001.
30. Ter Braak CJF, Prentice IC. *A Theory of Gradient Analysis*. In: M. Begon AHFEDFaAM, editor. *Advances in Ecological Research*. Volume 18: Academic Press; 1988. p. 271-317.
31. ter Braak CJF, Verdonschot PFM. *Canonical correspondence analysis and related multivariate methods in aquatic ecology*. *Aquat Sci*. 1995;57(3):255-89.
32. Karadžić B. *FLORA: A Software Package for Statistical Analysis of Ecological Data*. *Serbian Water Pollution Control Society*; 2013. p. 45-54.
33. Lepš J, Šmilauer P. *Multivariate analysis of ecological data using CANOCO*: Cambridge university press; 2003.
34. Official Gazette of RS No. 50/2012. Regulation on limit values for pollutants in surface waters, groundwater and sediments, and deadlines for their achievement.

35. MacDonald DD, Ingersoll CG. A Guidance Manual to Support the Assessment of Contaminated Sediments in Freshwater Ecosystems. Interpretation of the Results of Sediment Quality Investigations Chicago, Illinois: United States Environmental Protection Agency; 2002.
36. Canadian Council Of Ministers Of The Environment. Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life: Summary Tables.: Canadian Council of Ministers of the Environment Winnipeg; 2001.
37. Oliver DR. Life History of the Chironomidae. *Ann Rev Entomol.* 1971;16(1):211-30.
38. Botts P. Spatial pattern, patch dynamics and successional change: chironomid assemblages in a Lake Erie coastal wetland. *Freshwater Biol.* 1997;37(2):277-86.
39. Entekin SA, Wallace JB, Eggert SL. The response of Chironomidae (Diptera) to a long-term exclusion of terrestrial organic matter. *Hydrobiologia.* 2007;575(1):401-13.
40. Janse JH, Kuiper JJ, Weijters MJ, Westerbeek EP, Jeuken MHJL, Bakkenes M, et al. GLOBIO-Aquatic, a global model of human impact on the biodiversity of inland aquatic ecosystems. *Environ Sci Policy.* 2015;48(0):99-114.
41. Rossaro B, Lencioni V, Boggero A, Marziali L. Chironomids from Southern Alpine Running Waters: Ecology, Biogeography. *Hydrobiologia.* 2006;562(1):231-46.
42. Principe RE, Boccolini MF, Corigliano MC. Structure and Spatial-Temporal Dynamics of Chironomidae Fauna (Diptera) in Upland and Lowland Fluvial Habitats of the Chocancharava River Basin (Argentina). *Int Rev Hydrobiol.* 2008;93(3):342-57.
43. Milošević D, Simić V, Stojković M, Čerba D, Mančev D, Petrović A, et al. Spatio-temporal pattern of the Chironomidae community: toward the use of non-biting midges in bioassessment programs. *Aquat Ecol.* 2013;47(1):37-55.
44. Marziali L, Lencioni V, Rossaro B. The chironomids (Diptera, Chironomidae) from 108 Italian alpine springs. *Verhandlungen der Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie.* 2010;30(9):1467-70.
45. Mey W, Nilsson, A. (ed.): Aquatic insects of Northern Europe. A taxonomic handbook, Vol. 2: Odonata. Diptera. 1997, 29 × 21 cm, 440 pp., hardbound, Apollo Books, DK – 5771 Stenstrup, Kirkeby Sand 19, ISBN 87-88757-15-3. *Deutsche Entomologische Zeitschrift.* 1997;46(1):112-.
46. Syrovátka V, Schenková J, Brabec K. The distribution of chironomid larvae and oligochaetes within a stony-bottomed river stretch: the role of substrate and hydraulic characteristics. *Fund Appl Limnol./Archiv für Hydrobiologie.* 2009; 174(1):43-62.
47. Vermonden K, Brodersen KP, Jacobsen D, van Kleef H, van der Velde G, Leuven RSEW. The influence of environmental factors and dredging on chironomid larval diversity in urban drainage systems in polders strongly influenced by seepage from large rivers. *J North Am Benthol Soc.* 2011;30(4):1074-92.
48. Palmer MA, Covich AP, Lake S, Biro P, Brooks JJ, Cole J, et al. Linkages between Aquatic Sediment Biota and Life Above Sediments as Potential Drivers of Biodiversity and Ecological Processes: A disruption or intensification of the direct and indirect chemical, physical, or biological interactions between aquatic sediment biota and biota living above the sediments may accelerate biodiversity loss and contribute to the degradation of aquatic and riparian habitats. *BioScience.* 2000;50(12):1062-75.
49. De Haas EM. Persistence of benthic invertebrates in polluted sediments: University of Amsterdam, Netherlands; 2004.
50. Reinhold JO, Hendriks AJ, Slager LK, Ohm M. Transfer of microcontaminants from sediment to chironomids, and the risk for the Pond bat *Myotis dasycneme* (Chiroptera) preying on them. *Aquat Ecol.* 1999;33(4):363-76.
51. Ristola T. Assessment of sediment toxicity using the midge *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae): University of Joensuu; 2000.
52. Arslan N, Koç B, Çiçek A. Metal Contents in Water, Sediment, and Oligochaeta-Chironomidae of Lake Uluabat, a Ramsar Site of Turkey*. *Sci World J.* 2010;10:1269-81.
53. Michailova P, Szarek-Gwiazda E, Kownacki A, Warchalowska-Sliwa E. Biodiversity of Chironomidae (Diptera) and genome response to trace metals in the environment. *Pestycydy.* 2011(1-4).
54. Lee S-M, Lee S-B, Park C-H, Choi J. Expression of heat shock protein and hemoglobin genes in *Chironomus tentans* (Diptera, chironomidae) larvae exposed to various environmental pollutants: A potential biomarker of freshwater monitoring. *Chemosphere.* 2006;65(6):1074-81.
55. Oh JT. Evaluating Acute Toxicity of Cadmium to Chironomid Using Hemoglobin as a Molecular BioMarker: Seton Hall; 2009.
56. Ha M-H, Choi J. Effects of environmental contaminants on hemoglobin of larvae of aquatic midge, *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae): A potential biomarker for ecotoxicity monitoring. *Chemosphere.* 2008;71(10):1928-36.
57. SRBMP. Sava River Basin Management Plan - Final Draft; 2013.
58. Cranston PS. Allergens of non-biting midges (Diptera: Chironomidae): a systematic survey of chironomid haemoglobins. *Med Vet Entomol.* 1988;2(2):117-27.
59. Vermonden K. Key factors for biodiversity of urban water systems: Radboud University, Nijmegen; 2010.

Application of the Water Pollution Index in the Assessment of the Ecological Status of Rivers: a Case Study of the Sava River, Serbia

*Nataša Z. Popović**, *Jelena A. Đuknić*, *Jelena Ž. Čanak Atlagić*, *Maja J. Raković*,
Nikola S. Marinković, *Bojana P. Tubić*, *Momir M. Paunović*

Institute for Biological Research “Siniša Stanković”, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

Abstract: Water quality and status assessment of water bodies could be based on a large number of various parameters, including physical, chemical, hydromorphological, microbiological and biological. Often it is difficult to interpret the results of water status assessment when numerous quality elements are analysed, since each may indicate different quality class. The Water Pollution Index (WPI) overcomes this problem by providing a single assessment score. Previously, WPI was calculated using physical and chemical parameters combined with microbiological parameters. Biological quality elements are recommended by the EU Water Framework Directive (WFD) as obligatory for the assessment of ecological status of water bodies. For the first time in this study, the index was modified to include also biological parameters. Sampling and field measurements were done in 2007–2011, at three sites on the Sava River in the Belgrade region. According to the obtained WPI values, the river was assessed as polluted in 2007, moderately polluted for the period 2008–2010 and slightly polluted (“pure”) in 2011. This result shows an overall improvement of the water quality during the period of examinations. Our study demonstrates that the WPI could be effectively used as a metric for ecological assessment according to the requirements of the WFD. It should be further elaborated to provide type- and stressor-specific assessment system.

KeyWords: Water Pollution Index, biological quality elements, ecological status, Sava River

Introduction

The quantification of water quality changes is inherently problematic. However, there are a number of specific indicators that represent different aspects of water quality, which can vary in its significance in different geographical regions (WALSH, WHEELER 2012). Furthermore, it can be difficult to convey relevant water quality information to policy makers and the public (WALSH, WHEELER 2012).

There is an array of indices used for the assessment of water quality based on physical, chemical or biological parameters, separately. Development history of these indices is discussed by many authors (e.g., ROSENBERG, RESH 1993, CHAPMAN 1996, AQEM 2002).

Often, it is difficult to interpret the results when numerous parameters are used for the evaluation of water quality, especially considering that single parameters reflect the influence of diverse pressures and could show different quality classes. On the other hand, the use of one or few metrics reduces the confidence of the assessment system. In practice, in multimetric assessment systems, usually the parameter of the poorest quality is used as determinant of the quality class (SIMONOVIĆ et al. 2007). The EU Water Framework Directive (Directive 2000/60/EC – WFD), requires the evaluation of the water quality status through estimation of the ecological and chemical status of the water bodies. Hence, there is

*Corresponding author: natasa.popovic@ibiss.bg.ac.rs

a need to interpret the results in a simple, objective, and realistic manner by combining a large data set of physical, chemical and biological quality elements into a single performance assessment.

The Water Pollution Index (WPI, LYULKO *et al.* 2001, FILATOV *et al.* 2005) represents an arithmetical way of integrating parameters for assessing the chemical and ecological status of inland waters. WPI, based on physical and chemical parameters, has already been used for rivers of Latvia (LYULKO *et al.* 2001), Greece (NIKOLAIDIS *et al.* 2008), and Serbia (MILJAŠEVIĆ *et al.* 2011, BRANKOV *et al.* 2012), as well as for the White Sea (FILATOV *et al.* 2005). These studies show that the use of this index simplifies the evaluation of the status and that it is suitable for application for different water body types. The advantage of the WPI index is that it allows combination of different parameters; in addition, there is no limitation in the number or types of the used parameters. In our case, we included parameters derived from the biological quality elements (BQE).

The Sava River is the biggest tributary of the Danube River and it flows 62 km through the city area of Belgrade. It supplies Belgrade with potable water and it is a recipient of waste waters. One of our study sites (Makiš) is the main source of water supply for Belgrade. According to the national regulation, the Sava River belongs to type 1: lowland watercourse with domination of fine sediment (OFFICIAL GAZETTE RS 74/2011). The river in the studied stretch is under significant influence of various pressures, including organic and nutrient pollution, industry and hydromorphological degradation (PAUNOVIĆ *et al.* 2012).

The aim of this article is to test a modification of the WPI, in which for the first time biological indices were included together with physical, chemical and microbiological parameters.

Materials and Methods

During the investigated period (2007–2011), samples were collected at three localities along the Sava River in the Belgrade region (Fig. 1): Zabran (N 44°40'06" E 20°14'40"), Duboko (N 44°44'06" E 20°18'14") and Makiš (N 44°45'34" E 20°21'24").

Physical and chemical water properties were measured once a month (March–October) *in situ* and in the laboratory of the Institute of Public Health, Belgrade, Serbia. Water samples were taken with Friedinger's bottle, volume 3 L, from 0.5 m depth, at all three localities, using standard methods (APHA AWWA WEF 1995, SRPS ISO 5667/2008, SRPS ISO 7828/1997, SRPS ISO 5667-6: 1997, SRPSEN ISO 5667-3: 2007, SRPS EN ISO 5667-1: 2008).

Water pH, conductivity ($\mu\text{S}/\text{cm}$), dissolved ox-

xygen (DO ; $\text{mg}/\text{l O}_2$), oxygen saturation (%), nitrites (NO_2 ; $\text{mg}/\text{l N}$; PRI P-V-32/A) and nitrates (NO_3 ; $\text{mg}/\text{l N}$; EPA 300.1) were measured with Horiba W-23XD multiparametric probe (HORIBA Instruments Incorporation, USA) in the field. We measured 5-day biochemical oxygen demand (BOD_5 ; $\text{mg}/\text{l O}_2$; SRPS ISO 5813: 1994, SRPS EN 1899-2: 2009), chemical oxygen demand (COD ; $\text{mg}/\text{l O}_2$; SRPS ISO 6060: 1990), total organic carbon (TOC ; $\text{mg}/\text{l C}$; SRPS ISO 8245:1994), total phosphates ($\text{mg}/\text{l P}$; EPA 207. Rev 5, SRPS EN ISO 6878: 2008), suspended particles (mg/l ; SMEWW 19th method 2540 D), ammonium ion (NH_4 ; $\text{mg}/\text{l N}$; PRI P-V-2A), chlorides (Cl ; $\text{mg}/\text{l Cl}$; SRPS ISO 9297: 1994) and metals Zinc (Zn), Copper (Cu), Arsenic (As), Iron (Fe; ml/l ; EPA 207. Rev 5, EPA 200.8).

Microbiological samples were taken once a month and analyses were done at the laboratory of the Institute of Public Health, Belgrade, Serbia, using standard methods (APHA AWWA WEF 1995, SMEWW 2010, SRPS EN ISO 9308-1: 2010). Macroinvertebrate samples were collected during high (May/June) and low water levels (September/October). Macroinvertebrates were collected from the river bottom using Van-Veen type of grab with sample area of 270 cm^2 (three replicates). The organisms were separated from the sediment with a sieve with mesh size $200 \mu\text{m}$. The samples were preserved on site with 4% formaldehyde.

Biological material was processed in the Institute for Biological Research "Siniša Stanković", University of Belgrade. Identification was done mostly to species level or to the lowest possible taxonomic level using the following identification keys: BRINKHURST, JAMIESON (1971), HIRVENOJA (1973), LELLAK (1980), WIEDERHOLM (1983), CROFT (1986), UZUNOV *et al.* (1988), HAMMOND (1997), TIMM (1999), MASCHWITZ, COOK (2000), PFLEGER (2000), EPLER (2001), KORNIUSHIN (2004) and MOLLER PILLOT (2009).

Ecological analysis of community structure was done for each site. The number of taxa, ASPT (Average Score per Taxon), BMWP (Biological Monitoring Working Party score; ARMITAGE *et al.* 1983), α -diversity index (H' ; SHANNON-WEAVER 1949) and the percentage of the family Tubificidae (Oligochaeta) in macroinvertebrate communities were calculated. Saprobic index (S) was used to estimate the water quality class of the Sava River (ZELINKA, MARVAN 1961), using bioindicator valences of each taxon (MOOG 2002). All biological indices were calculated using ASTERICS software package, version 3.1.1. (AQEM 2002).

The modified WPI (MILJAŠEVIĆ *et al.* 2011) was used to estimate the water quality class.

The WPI is calculated as the sum of the ratio of the measured annual average value A_i and the stand-

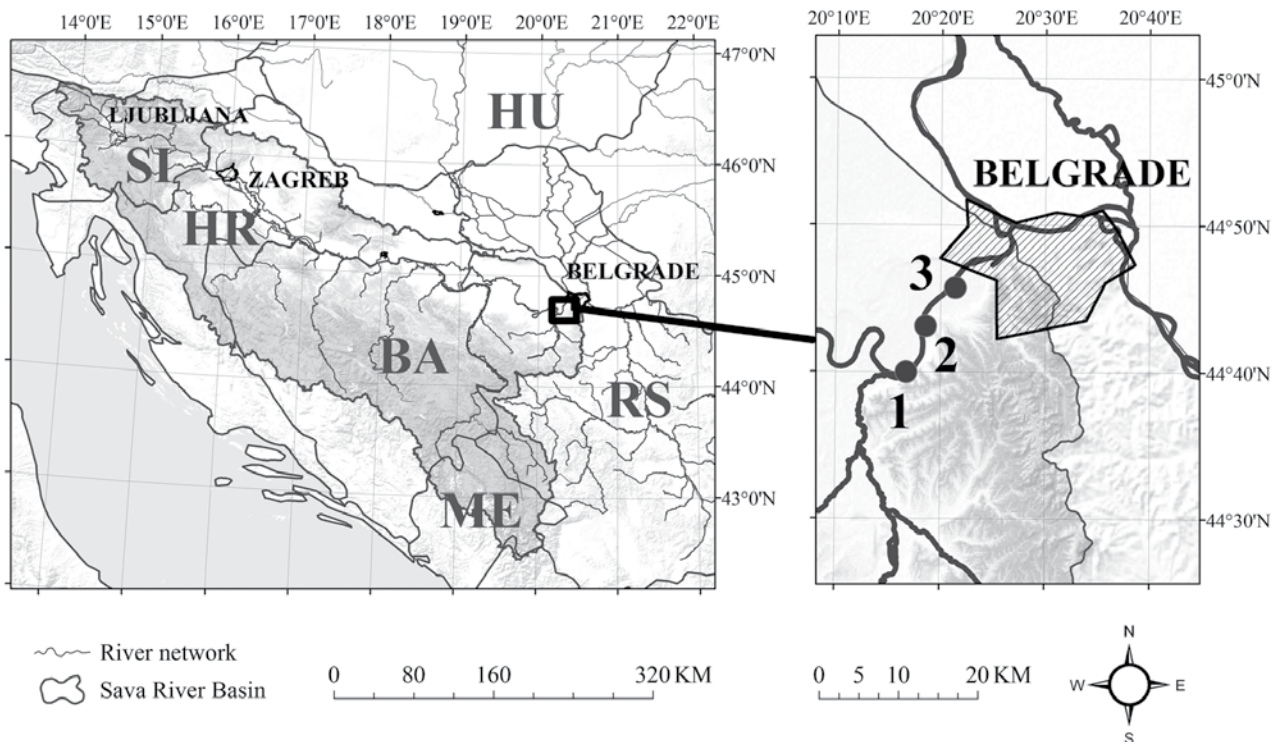


Fig. 1. Sampling sites on the Sava River

Table 1. Water quality classification based on the Water Pollution Index (WPI)

Water Quality Class		WPI
I	Very pure	≤ 0.3
II	Pure	0.3 – 1.0
III	Moderately polluted	1.0 – 2.0
IV	Polluted	2.0 – 4.0
V	Impure	4.0 – 6.0
VI	Heavily impure	> 6.0

and threshold values T for each parameter, divided by the number of used parameters (n):

$$WPI = \sum_{n=1}^n \frac{A_i}{T} \times \frac{1}{n}$$

The standard threshold values for all parameters are specific for each country, given as national legislative (OFFICIAL GAZETTE RS 74/2011), which should minimise the bias caused by ecological and geographical differences.

The quality class according to WPI (LYULKO et al. 2000, MILIJAŠEVIĆ et al. 2011) are given in Table 1.

Results

Annual average values of physical, chemical, microbiological and biological parameters are shown in Table 2. The majority of the measured physical and

chemical parameters were lower or near the threshold values for I water quality class, recommended for river type 1 (OFFICIAL GAZETTE RS 74/2011; Table 2). Slightly higher values were recorded for DO, oxygen saturation, NO_3 and TOC. For these parameters according to the national legislation (OFFICIAL GAZETTE RS 74/2011), water quality corresponded to class II. The number of coliform bacteria indicated III quality class (Table 2). The number of macroinvertebrate taxa was lower than the recommended for this type of river, which indicated III-IV water quality class. The values of Zelinka-Marvan saprobic index (S) indicated alpha-mesosaprobic to polysaprobic conditions, which is equivalent to III and IV water quality class. The Shannon–Wiener diversity index (H') indicated II-III water quality class while BMWP corresponded to V class of quality and ASPT indicated IV class. The percentage of Tubificidae in the macroinvertebrate communities was much greater than recommended, which indicated poor water quality (IV-V class).

The integrated water quality assessment using WPI for the five-year period is shown in Fig. 2. Based on our results, the Sava River had the poorest quality in year 2007 (IV class), with the WPI values 2.67 (Makiš), 2.39 (Duboko) and 2.26 (Zabran). In the period 2008–2010, the WPI indicated mainly III class with values ranging from 1.29 to 2.08 for Makiš, 1.07–1.83 for Duboko and 1.06–1.45 for Zabran. In 2011 water quality was assessed as II class, with WPI values 0.94 (Makiš), 0.90 (Duboko) and 0.84 (Zabran; Fig. 2).

Table 2. Annual average values of physical, chemical, microbiological and biological parameters at Sava River study sites. Threshold values (T) for I class are given as national legislative and water quality class for each measured parameter (I-V) (Official Gazette RS, 74/2011). M – Makiš, D – Duboko, Z – Zabran, in years 2007–2011

Parameter	T value	2007					2008					2009					2010					2011				
		M	D	Z	M	D	Z	M	D	Z	M	D	Z	M	D	Z	M	D	Z	M	D	Z				
pH	8.5	8.09 I	8.09 I	8.10 I	8.11 I	8.13 I	8.15 I	8.04 I	8.06 I	8.05 I	8.03 I	8.02 I	8.14 I	8.18 I	8.15 I											
Conductivity $\mu\text{S}/\text{cm}$	1000	361.88 I I	353.75 I I	352.50 I I	356.88 I I	358.75 I I	356.25 I I	352.67 I I	340.00 I I	340.00 I I	359.38 I I	358.75 I I	383.13 I I	385.00 I I												
Suspended matter mg/l	25	14.69 I	13.50 I	15.75 I	18.00 I	17.50 I	16.63 I	21.27 I	30.88 II I	32.25 II I	13.75 I	10.75 I	9.88 I	8.81 I												
Dissolved oxygen mg/l	8.5	7.96 II	8.44 II	8.35 II	8.86 I	9.10 I	9.10 I	8.25 II	8.50 I	8.41 II	8.08 II	8.00 II	8.17 II	8.21 II												
Oxygen saturation %	90	80.73 II I	91.13 I	89.25 II I	95.13 I	96.13 I	95.88 I	89.93 II I	90.00 I	89.63 II I	84.56 II I	83.38 II I	87.31 II I	88.13 II I												
BOD ₅ mg/l	2	1.64 I	1.84 I	1.39 I	1.67 I	3.79 II	1.41 I	1.16 I	1.29 I	0.99 I	1.33 I	0.87 I	1.06 I	0.83 I												
COD _{Mn} mg/l	10	9.69 I	9.10 I	9.31 I	9.41 I	7.96 I	9.58 I	9.37 I	10.65 II I	10.68 II I	2.76 I	2.53 I	1.97 I	1.74 I												
Ammonium ion mg/l	0.1	0.109 II I	0.081 I	0.076 I	0.108 II I	0.077 I	0.092 I	0.083 I	0.068 I	0.083 I	0.122 II I	0.121 II I	0.118 II I	0.083 I												
Nitrites mg/l	0.01	0.017 II I	0.015 II I	0.014 II I	0.015 II I	0.016 II I	0.016 II I	0.013 II I	0.013 II I	0.012 II I	0.014 II I	0.013 II I	0.016 II I	0.017 II I												
Nitrates mg/l	1	1.156 II I	1.038 II I	1.038 II I	0.950 I	0.988 I	1.000 I	1.068 II I	1.094 II I	1.129 II I	1.851 II I	1.116 II I	0.983 I	0.975 I												
Organic carbon mg/l	2	2.59 II	2.43 II	2.42 II	2.36 II	2.13 II	2.13 II	2.21 II	2.33 II	2.11 II	2.88 II	2.82 II	2.08 II	1.86 I												
Chlorides mg/l	50	12.89 I	13.25 I	12.58 I	10.65 I	13.28 I	14.26 I	12.51 I	11.98 I	12.50 I	13.01 I	11.78 I	17.37 I	16.63 I												
Zinc mg/l	0.5	0.0321 I I	0.0413 I I	0.0423 I I	0.0135 I I	0.0153 I I	0.0153 I I	0.0106 I I	0.0115 I I	0.0103 I I	0.0086 I I	0.0061 I I	0.0101 I I	0.0055 I I												
Copper mg/l	0.112	0.0043 I I	0.0108 I I	0.0075 I I	0.0027 I I	0.0028 I I	0.0045 I I	0.0028 I I	0.0030 I I	0.0028 I I	0.0029 I I	0.0019 I I	0.0034 I I	0.0019 I I												
Arsenic mg/l	0.005	0.0013 I I	0.0011 I I	0.0011 I I	0.0015 I I	0.0015 I I	0.0010 I I	0.0010 I I	0.0013 I I	0.0011 I I	0.0012 I I	0.0010 I I	0.0016 I I	0.0015 I I												
Iron mg/l	0.2	0.0264 I I	0.0266 I I	0.0270 I I	0.0306 I I	0.0374 I I	0.0301 I I	0.1017 I I	0.1125 I I	0.0773 I I	0.4144 II I	0.3103 II I	0.4279 II I	0.1510 I I												
Total phosphates mg/l	0.05	0.0634 II I	0.0628 II I	0.0588 II I	0.0614 II I	0.0579 II I	0.0591 II I	0.0555 II I	0.0525 II I	0.0475 I I	0.0498 I I	0.0523 II I	0.0498 I I	0.0434 I I												
Number of coliform	5000	193125 III	167375 III	154000 III	117863 III	48775 II I	53475 II I	155455 III	97433 II I	65000 II I	23409 II I	12950 II I	9640 II I	10325 II I												
Number of taxa	17	9.0 III	6.0 III	9.5 III	9.5 III	5.5 IV	8.5 IV	6.0 IV	6.5 IV	10.0 II	6.5 IV	9.0 III	8.0 IV	8.0 IV												
Saprobic index	2.1	3.28 V	3.10 IV	2.90 III	2.95 IV	3.09 IV V	3.24 V	2.53 II	2.85 III I	3.03 IV I	2.75 III I	2.74 III I	2.73 III I	2.67 III I												
BMWP score	50	13.0 IV	4.5 V	6.0 V	12.0 IV	6.5 V	10.0 IV V	5.0 V	6.5 V	8.5 V	3.5 V	7.0 V	9.0 V	10.5 IV V												
ASPT score	5	3.00 III	1.75 V	2.00 IV	3.25 III	2.42 IV I	2.88 IV I	2.00 IV	2.50 IV I	2.50 IV I	1.50 V	2.67 IV I	2.50 IV I	3.00 III I												
Diversity index	2.2	0.976 IV I	1.241 III I	1.695 II I	1.493 III I	1.470 III I	1.399 III I	1.480 III I	1.627 II I	1.981 II I	1.373 III I	1.870 II I	1.595 II I	1.719 II I												
% of Tubificidae	10	92.01 V I	87.03 V I	83.89 V I	45.37 IV I	81.65 V I	84.71 V I	40.80 IV I	86.71 V I	54.64 IV I	93.80 V I	72.79 V I	44.02 IV I	52.62 IV I												

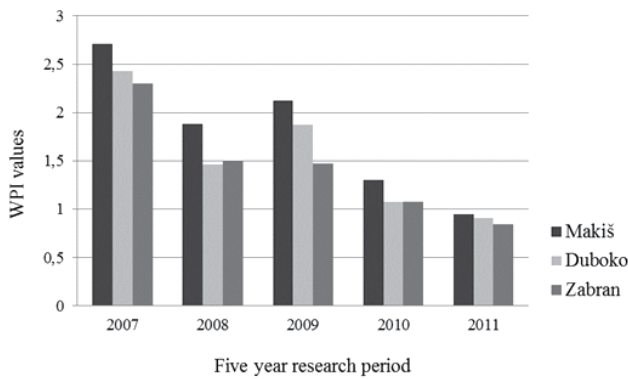


Fig. 2. Water quality class according to WPI at three localities of the Sava River

Discussion

In this paper, we discuss the possibility of combining the results of water quality/status assessment by different quality elements in a single value. Physical, chemical, microbiological and biological parameters are used to evaluate the status of the Sava River in Belgrade area. This river stretch is appropriate for testing the assessment of the lotic systems effectiveness, since the area is under the influence of different stressors, including organic and nutrient pollution, influence of industry and hydromorphological degradation (SIMIĆ *et al.* 2015).

Physical and chemical analyses do not show considerable deviations from I and II quality class according to the national regulation (OFFICIAL GAZETTE RS 74/2011). Minor organic pollution was detected. On the other hand, high number of coliform bacteria is the consequence of pollution with waste waters (KOLAREVIĆ *et al.* 2011) since Belgrade does not have a system for treating municipal waste waters (ŽIVADINOVIĆ *et al.* 2010). Also, the results of assessment based on BQE suggest worse ecological status. According to the biological parameters, water quality of the Sava River varied in wide range from III to V quality class. These results are consistent with the fact that the Sava River in Belgrade area is primarily under significant organic pollution pressure (PAUNOVIĆ *et al.* 2012, OGRINC *et al.* 2015). According to the WPI values, the studied stretch in Belgrade region could be assessed as polluted in 2007, moderately polluted for the period 2008-2010, and slightly polluted in 2011. Considering the WPI results, the Sava River shows tendency of overall water quality improvement (Fig. 2). The WPI reflected combined results of single assessments by physical, chemical, microbiological and biological water status assessment and provided more reliable evaluation of the status of the water body. As described above, single assessment based on physical and chemical parameters indicated better status than expected, having

in mind the known pressures occurred regularly in investigated stretch of the Sava River (OGRINC *et al.* 2015), while microbiological and biological parameters provided more realistic status assessment results. This clearly underlines the need for further calibration of threshold values for the ecological status class boundaries for physical and chemical parameters, and confirms the necessity of multimetric approach in water monitoring, including biological and microbiological metrics.

Biological parameters are essential assessment tool since they can represent long-term influence of pollution (DORN 2007). BQE are mandatory to be used in assessment of the ecological status according to the requirements of the WFD and the national legislation of all EU countries and a considerable number of non-EU countries (e.g. Serbia, Bosnia and Herzegovina, etc.).

Our results show that the WPI is useful tool for integrating the assessments results based on different quality elements; adding biological quality parameters can improve the confidence of the assessment. There is a need for further development of the WPI and the index should be tested for different water body types to verify its applicability. However, our study is based on quantitative sampling approach only, which could lead to underestimation of the species richness, but can also overestimate the influence of stressors (CSANYI, PAUNOVIC 2006, CSANYI *et al.* 2014) and thus could reflect worse ecological status than the actual state. The index should also be tested for other BQE and different sampling methods. This approach should be harmonised with other methods of assessment of water body status, which were developed based on the requirements of the WFD. Hence, the index should include (river) type specific threshold values, as well as stressor specific metrics (relevant for hydromorphological degradation, organic, hazardous and other chemical pollution). Any future use of the WPI should encompass the use of final score presented through a 5-class assessment result, as required by the WFD. Furthermore, for the purpose of harmonisation, the WPI values should range from 0 to 1, so that the Index of Ecological Status (ecological potential in the case of heavily modified and artificial water bodies) could be expressed as a single value, comparable with other assessment systems provided across Europe.

Acknowledgements: The study was supported by the European Community 7th Framework Programme Funding – Grant No. 603629-ENV-2013-6.2.1 – Globaqua and by the Serbian Ministry of Education and Science – Grant No. 176018. We would like to express our gratitude to the Public Health Institute of Belgrade for providing physical, chemical and microbiological data used in this paper, especially to Aljoša Tanasković.

References

- AQEM 2002. Manual for the application of the AQEM system. A comprehensive method to assess European streams using benthic macroinvertebrates, developed for the purpose of the Water Framework Directive.
- APHA-AWWA-WEF 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19th ed. Eaton D, Clesceri S, Greenberg E., American Public Health Association, Washington, DC.
- ARMITAGE P. D., D. MOSS, J. F. WRIGHT, M. T. FURSE 1983. The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running-water sites. – *Water Research*, **17** (3): 333-347.
- BRANKOV J., D. MILJAŠEVIĆ, A. MILANOVIĆ 2012. The assessment of surface water quality using the water pollution index: a case study of Timok River (The Danube River basin), Serbia. – *Archive of Environmental Protection* **38**: 49-61.
- BRINKHURST R., B. JAMIESON 1971. Aquatic Oligochaeta of the World. First Edition. University of Toronto Press, Toronto.
- CHAPMAN D. 1996. Water Quality Assessments - A Guide to Use of Biota, Sediments and Water in Environmental Monitoring. Second Edition. Chapman and Hall, London.
- CROFT P.S. 1986. A Key to the Major Groups of British Freshwater Invertebrates. The Field Studies Council. Telford, Shropshire.
- CSÁNYI B., M. PAUNOVIĆ 2006. The Aquatic Macroinvertebrate Community of the River Danube between Klosterburg (1942 rkm) and Calafat – Vidin (795 rkm). – *Acta Biologica Debrecina, Supplementum Oecologica Hungarica*, **14**: 91-106.
- CSANYI B., M. IHTIMANSKA, M. PAUNOVIĆ, J. SYEKERES 2014. Proposed section typology of the Danube River based on macroinvertebrates collected by different sampling methods. The Danube and Black sea region: unique environment and human well-being under conditions of global changes, Book of abstracts, 40th IAD Conference, p. 21, Sofia.
- DIRECTIVE 2000/60/EC 2000. Directive of the European Parliament and of the Council. Establishing a framework for community action in the field of water policy. – *Official Journal of the European Communities*, L327/1.
- DORN L. 2007. Multi-habitat macroinvertebrate sampling in Wadeable freshwater streams, U.S. Environmental Protection Agency.
- EPLER J.H. 2001. Identification Manual for the larval Chironomidae (Diptera) of North and South Carolina. A guide to the taxonomy of the midges of the south-eastern United States, including Florida. Special Publication SJ2001-SP13. North Carolina Department of Environment and Natural Resources, Raleigh, NC, and St. Johns River Water Management District, Palatka, FL.
- FILATOV N., D. POZDNYAKOV, O. JOHANNESSEN, L. PETTERSSON, L. BODYLEV 2005. White Sea: Its Marine Environment and Ecosystem Dynamics Influenced by Global Change. Springer and Praxis Publishing, UK.
- HAMMOND C. O. 1997. The Dragonflies of Great Britain and Ireland. Harley Books, Colchester, Essex, England.
- HIRVENOJA M. 1973. Revision der Gattung *Cricotopus* van der Wulp und ihrer Verwandten (Diptera, Chironomidae). – *Annales Zoologici Fennici*, **10**: 1-363.
- KOLAREVIĆ S., J. KNEŽEVIĆ-VUKČEVIĆ, M. PAUNOVIĆ, J. TOMOVIĆ, Z. GAČIĆ, B. VUKOVIĆ-GAČIĆ 2011. The anthropogenic impact on water quality of the River Danube in Serbia: microbiological analysis and genotoxicity monitoring. – *Archive of Biological Science*, **63**: 1209-1217.
- KORNIUSHIN A. 2004. A revision of some Asian and African freshwater clams assigned to *Corbicula fluminalis* (Müller, 1774) (Mollusca: Bivalvia: Corbiculidae), with review of anatomical characters and reproductive features based on museum collections. – *Hydrobiologia*, **529**: 251-270.
- LELLAK J. 1980. Pakomárovití – Chironomidae. – In: ROZKOŠNÝ R. (Ed.): Klíč vodních larev hmyzu. (Identification key to aquatic larvae of insects), Academia Praha (In Czech).
- LYULKO I., T. AMBALOVA, T. VASILJEVA 2001. To Integrated Water Quality Assessment in Latvia. MTM (Monitoring Tailor-Made) III, Proceedings of International Workshop on information for Sustainable Water Management. Netherlands.
- MASCHWITZ E., E. COOK 2000. Revision of the Nearctic species of the genus *Polypedilum* Kieffer (Diptera: Chironomidae) in the subgenera *P. (Polypedilum)* Kieffer and *P. (Uresipedilum)* Oyewo and Saether. – *Bulletin of the Ohio Biological Survey*, **12**: 1-135.
- MILJAŠEVIĆ D., A. MILANOVIĆ, J. BRANKOV, M. RADOVANOVIĆ 2011. Water quality assessment of the Borska reka river using the WPI (Water Pollution Index) method. – *Archive of Biological Science*, **63**: 819-824.
- MOOG O. 2002. Fauna Aquatica Austriaca – a comprehensive species inventory of Austrian aquatic organisms with ecological data. Second Edition. Wasserwirtschaftskataster, Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Wien.
- MOLLER PILLOT H. 2009. Chironomidae larvae of the Netherlands and adjacent lowlands. Biology and Ecology of the Chironomina. KNNV Publishing.
- NIKOLAIDIS, C., P. MANDALOS, A. VANTARAKIS. 2008. Impact of intensive agricultural practices on drinking water quality in the EVROS Region (NE Greece) by GIS analysis. – *Environmental Monitoring and Assessment*, **143**: 43-50.
- OFFICIAL GAZETTE OF THE REPUBLIC OF SERBIA, No. 74 2011. Regulative on parameters of ecological and chemical status of surface waters and parameters of chemical and quantitative status of groundwater.
- OGRINC N., T. KANDUČ, D. KOČMAN 2015. Integrated Approach to the Evaluation of Chemical Dynamics and Anthropogenic Pollution Sources in the Sava River Basin. In: MILAČIĆ, R., ŠCANČAR, J., PAUNOVIĆ, M. (eds.): The Sava River. The Handbook of Environmental Chemistry 31. Springer Verlag, Berlin and Heidelberg, 75-94.
- PAUNOVIĆ M., J. TOMOVIĆ, S. KOVAČEVIĆ, K. ZORIĆ, K. ŽGANEC, V. SIMIĆ, A. ATANACKOVIĆ, V. MARKOVIĆ, M. KRAČUN, S. HUDINA, J. LAJTNER, S. GOTTSTEIN, A. LUCIĆ 2012. Macroinvertebrates of the Natural Substrate of the Sava River – Preliminary Results. – *Water Research and Management*, **2**: 33-39.
- PFLEGER V. 2000. Molluscs. The English edition, Blitz Editions, Leicester, UK.
- ROSENBERG D. M., V. H. RESH 1993. Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates. Chapman and Hall, New York.
- SHANNON C. E., W. WEAVER 1949. The Mathematical Theory of Communication. The University of Illinois, Press, Urbana, IL.
- SIMIĆ V., A. PETROVIĆ, B. ERG, D. DIMOVIĆ, J. MAKOVINSKA, B. KARADŽIĆ, M. PAUNOVIĆ 2015. Indicative Status Assessment, Biodiversity Conservation, and Protected Areas within the Sava River Basin. In: MILAČIĆ R., J. ŠCANČAR, M. PAUNOVIĆ (Eds): The Sava River. The Handbook of Environmental Chemistry 31. Springer Verlag, Berlin and Heidelberg, 453-500.
- SIMONOVIĆ P., M. PAUNOVIĆ, A. ATANACKOVIĆ, B. VASILJEVIĆ, S. SIMIĆ, A. PETROVIĆ, V. SIMIĆ 2007. Water Quality and Assessment of the chemical and ecological status of the Danube River and its tributaries after records from the JDS2 survey. – In: SIMONOVIĆ, P., SIMIĆ, V., SIMIĆ, S., PAUNOVIĆ, M. (Eds): The Danube in Serbia. Republic of Serbia Ministry of Agriculture, Forestry and Water Management, Republic Directorate of Water, 303-320.
- SMEWW – Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 2010. University of Michigan Library, Michigan, US.
- TIMM T. 1999. A Guide to the Estonian Annelida. Estonian Academy Publishing Tartu/Tallinn.
- UZUNOV Y., V. KOŠEL, V. SLAĐEČEK 1988. Indicator Value of Freshwater Oligochaeta. – *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, **16**: 173-186.
- WIEDERHOLM T. 1983. Chironomidae of the Holarctic region. Keys and diagnoses. Part I. Larvae. – *Entomologica scandinavica, Supplements*, **19**: 1-457.
- ZELINKA M., P. MARVAN 1961. Zur Präzisierung der biologischen Klassifikation der Reinheit fließender Gewässer. – *Archiv für Hydrobiologie*, **57**: 389-407.
- WALSH P., W. WHEELER. 2012. Water Quality Index Aggregation and Cost Benefit Analysis. US Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- ŽIVADINOVIĆ I., K. ILJEVIĆ, I. GRŽETIĆ, A. POPOVIĆ 2010. Long-term changes in the eco-chemical status of the Danube River in the region of Serbia. – *The Journal of the Serbian Chemical Society*, **75**: 1125-1148.

Received: 02.04.2015

Accepted: 29.05.2015

Macroinvertebrates along the Serbian section of the Danube River (stream km 1429–925)

Momir M. PAUNOVIC¹, Dunja G. JAKOVCEV-TODOROVIC¹, Vladica M. SIMIC²,
 Bojana D. STOJANOVIC¹ & Predrag D. CAKIC¹

¹*Institute for Biological Research “Sinisa Stankovic”, Despota Stefana 142 Blvd, 11000 Belgrade, Serbia; e-mail: mpapunovi@ibiss.bg.ac.yu*

²*Institute of Biology and Ecology, Faculty of Science, University of Kragujevac, 12 Radoja Domanovica str, 34000 Kragujevac, Serbia; e-mail: simic@kg.ac.yu*

Abstract: Results of the investigation of the aquatic macroinvertebrate fauna along a 504 km stretch of the Danube River in Serbia are presented. A total of 74 macroinvertebrate taxa were observed during a 2001 survey. Oligochaeta and Mollusca were the principal components of the community with regard to species richness and abundance. Based on data on the qualitative composition of the macroinvertebrate fauna, a correspondence analysis divided the investigated stretch in three sectors – upper (Pannonian), Iron Gate sector and entrance sector to the Iron Gate stretch. The distribution patterns of certain species supported the division of sectors defined by correspondence analysis.

Key words: aquatic macroinvertebrates; the Danube River; Iron Gate; Pannonian Danube; Serbia

Introduction

During the “Joint Danube Survey” (JDS) the Serbian part of the Danube River was also investigated. A survey was organized in summer 2001 by the International Commission for the Protection of the Danube River (ICPDR) aimed at producing comparable, accredited water quality information for the whole length of the Danube. For the Serbian national team, involved in JDS along the Serbian sector, it was a nice opportunity to collect good-quality data on aquatic macroinvertebrates along a considerable stretch of the Danube (504 km). The aim of this paper is to present those data. The community composition and diversity of macroinvertebrates were observed. The data were also used to underline the differences among distinct sectors of the Danube. The border between two Danube types, Pannonian Plain Danube and Iron Gate Danube (Robert et al. 2003; Paunovic et al. 2005), is situated within the investigated sector at stream km 1071 (Bazias, sampling site 64).

The effort of numerous institutions focused on the investigations of the Danube is understandable. The Danube is one of the largest European rivers and undoubtedly one of Europe’s most important waterways. It travels 2,857 km from the Black Forest to the Black Sea. Seventeen countries and about 165 million people border this powerful river. The Danube flows through numerous industrial and urban centres and receives significant amount of pollution. The steady degradation of the Danube’s environment destroyed much of the biodiversity. The river is a recipient of urban and

industrial wastes as well as of agricultural land runoffs.

The Danube river basin can be divided into three sub-regions: the upper, the middle and the lower basin with the Danube Delta. The Upper Basin extends from the source (Germany) to Bratislava (Slovakia). The Middle Basin is the largest and comprises the part from Bratislava to the Iron Gate dams (Serbia/Romania). The Lower Basin extends from the Iron Gate to Sulina (mouth of the Danube to the Black Sea) and it includes a huge river delta.

The Serbian reach of the Danube extends over a distance of 588 km that covers the middle and a part of the lower, 220 km long waterway, being a natural frontier between Serbia and Romania. The major part of this sector of the Danube (358 km) belongs to the Pannonian basin. In this section the Danube is a typical low-land river with a slope of 0.05–0.04 per thousand.

One of the most important problems that affect the nature of the Danube is river regulation and damming. In the Serbian part, due to the dam construction at Sip (943 km), a large artificial lake, Djerdap, was formed. This lake stretches 100 km in length, extending from the dam to Golubac (Iron Gate). After damming of the Danube, the flow rate is slowed down upstream to Slankamen (1215 km).

The Danube watershed in the territory of Serbia and Montenegro has 390 protected areas of national and international importance. This part of the Danube has particular importance for the preservation of biological diversity.

The Serbian reach of the Danube has been extensively examined since the early sixties (Liepolt 1967;

Table 1. Sampling sites along the Serbian part of the Danube River.

Site Code	Sampling site	River km	Sampled bottom habitats
45	Batina/Bezdan	1429	St
46	Upstream of Drava confluence	1384	St
49	Dalj	1355	M, Sd
50	Ilok/Backa Palanka	1300	M, Sd, St
52	Downstream Novi Sad	1252	M, Sd, St
58	Downstream Pancevo	1151	M Sd, MF
63	Stara Palanka/Ram	1077	Sd, St, M, MF
64	Bazias	1071	M, G, St, MF
65	Golubac/Peskari	1040	M, Sd
66	Tekija/Orsava	955	M
67	Mala Vrbica/Simijan	925	M, Sd, FA

Key: St – stones (boulders >256 mm); G – gravel and pebble (2–256 mm); Sd – sand (0.125–0.5 mm); M – silt-clay (<0.125 mm); MF – macrophytes; FA – filamentous algae.

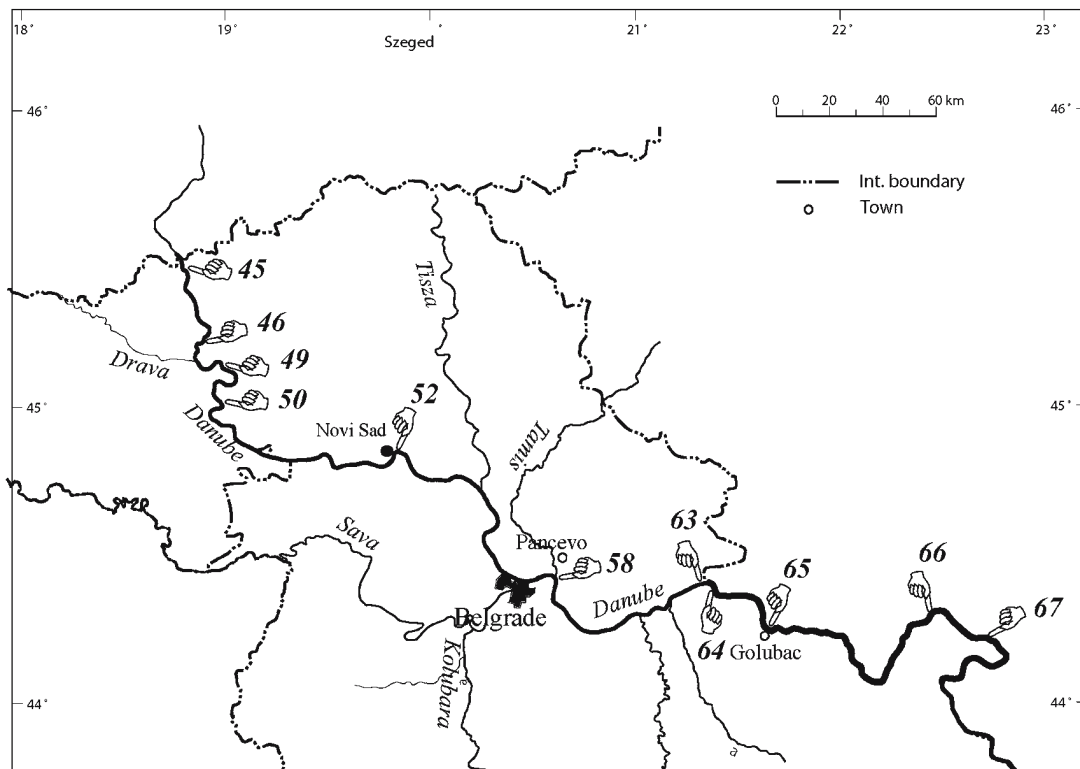


Fig. 1. Map showing the sampling sites along the investigated part of the Danube River.

Petrovic 1971, 1973, 1975, 1978; Jakovcev 1987, 1988; Jankovic & Jovicic 1994; Martinovic-Vitanovic et al. 1999; Simic et al. 1997; Simic & Simic 2004; Paunovic et al. 2005; Jakovcev-Todorovic et al. 2005). The results of a 1986 study referring primarily to water pollution problems (Jankovic & Jovicic 1994) showed that water quality in the Serbian reach of the Danube deteriorated compared to the 1960–1970 period. The long-term damaging impacts resulted mostly from the increase in untreated industrial and communal effluents originating from rapidly growing cities along the river banks, from leaching and erosion of extensively fertilized agricultural soils, as well as from the changes in the hydrological regime induced by damming of the Danube and the creation of the hydropower reservoirs Djerdap (Iron Gate) I and II.

Study area, material and methods

The investigation of the Serbian section of the river was performed in August and September 2001 at 11 stations (Table 1, Fig. 1) along 504 km of the watercourse (stream km 1429–925). The examined stretch could be divided into three sub-sectors – upper sub-sector (1429–1151 km) with sampling sites 45 to 58 (sites belong to Pannonian Plain Danube), Iron Gate sub-sector (sites 66 and 67; 1039–925 km) and transitional sub-sector (1071–1039 km) between upper (Pannonian) and Iron Gate sub-sector (sites 63–65).

Material was collected by a Hydraulic Polyp Grab, FBA hand net (mesh size 950 μm), benthological dredge (mesh size 250 μm) and a Van Veen grab (270 cm²) in the shore region. In the case of samples collected with Polyp and Van Veen grabs animals were separated from sediment with a 200 μm sieve. The fauna attached to stone surfaces

Table 2. Composition of the benthic fauna of the Serbian part of the Danube at the sites selected by the national JDS Program.

Sampling site	45	46	49	50	52	58	63	64	65	66	67
Hydrozoa											
<i>Hydra</i> sp.				+			+				
Nematoda			+		+	+	+		+		+
Turbellaria											
<i>Polycelis tenuis</i> Ijima, 1884		+					+				
<i>Dugesia lugubris</i> (O. Schmidt, 1861)					+						
Polychaeta											
<i>Hypania invalida</i> (Grube, 1860)	+	+		+			+		+		
Oligochaeta											
Naididae											
<i>Aulophorus furcatus</i> (Müller, 1773)							+				
<i>Nais communis</i> Piguët, 1906	+			+			+			+	+
<i>N. pseudobtusa</i> Piguët, 1906				+			+				
<i>N. elinguis</i> Müller, 1773				+							
<i>Ophidonais serpentina</i> (Müller, 1773)								+	+		
<i>Stylaria lacustris</i> (L., 1767)				+			+	+	+	+	+
<i>Dero obtusa</i> D' Udekem, 1855				+					+		
<i>D. nivea</i> Aiyer, 1929									+		
<i>Specaria josinae</i> (Vejdovsky, 1883)			+	+			+				
Tubificidae											
<i>Aulodrilus limnobius</i> Bretschler, 1899							+				
<i>Branchiura sowerbyi</i> Beddard, 1892							+	+	+	+	+
<i>Limnodrilus claparedeianus</i> Ratzel, 1868	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>L. hoffmeisteri</i> Claparede, 1862	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>L. udekemianus</i> Claparede, 1862	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>L. profundicola</i> (Verill, 1871)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Psammoryctides albicola</i> (Michaelsen, 1901)		+	+	+	+		+				+
<i>Potamothrix hammoniensis</i> (Michaelsen, 1901)										+	
<i>Tubifex tubifex</i> (Müller, 1774)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lumbricidae											
Lumbricidae sp.	+	+		+	+						
Hirudinea											
<i>Glossiphonia complanata</i> (L., 1758)	+			+			+	+			+
<i>G. heteroclita</i> (L., 1761)	+										
<i>Helobdella stagnalis</i> (L., 1758)				+			+	+			
<i>Piscicola geometra</i> (L., 1761)				+				+			
<i>Erpobdella testacea</i> (Savigny, 1822)	+	+									+
<i>E. octoculata</i> (L., 1758)	+	+		+			+				
Mollusca											
Gastropoda											
<i>Viviparus viviparus</i> (L., 1758)	+			+						+	
<i>V. fasciatus</i> (O.F. Müller, 1774)				+							
<i>Valvata naticina</i> (Menke, 1845)				+		+		+		+	
<i>V. piscinalis</i> (O.F. Müller, 1774)							+	+			
<i>V. cristata</i> (O.F. Müller, 1774)							+	+	+		
<i>Bithynia tentaculata</i> (L., 1758)		+					+	+	+	+	
<i>Acroloxus lacustris</i> (L., 1758)							+	+	+		+
<i>Lymnaea peregra</i> (Müller, 1774)				+			+	+			
<i>Physa acuta</i> (Draparnaud, 1805)									+	+	
<i>P. fontinalis</i> (L., 1758)				+				+			
<i>Lithoglyphus naticoides</i> (C. Pfeiffer, 1828)	+		+	+	+	+		+	+	+	
<i>Esperiana acicularis</i> (Ferussac, 1823)							+				
<i>Esperiana esperi</i> (Ferussac, 1823)								+	+		
<i>Theodoxus danubialis</i> (C. Pfeiffer, 1828)							+	+	+		+
<i>T. fluviatilis</i> (L., 1758)	+			+	+	+	+	+		+	+
Bivalvia											
<i>Unio tumidus</i> Philipsson, 1788							+	+		+	
<i>U. pictorum</i> (L., 1759)				+			+	+	+	+	
<i>Anodonta anatina</i> (L., 1758)			+	+	+		+	+	+		
<i>Sinanodonta woodiana</i> Lea, 1834				+	+		+	+	+		
<i>Sphaerium rivicola</i> (Lamarck, 1818)				+		+	+		+		
<i>S. corneum</i> (L., 1758)	+			+							
<i>Sphaerium</i> sp. (juveniles)	+			+							
<i>Corbicula fluminalis</i> (Müller, 1774)	+			+		+	+			+	+
<i>C. fluminea</i> (Müller, 1774)							+				
<i>Corbicula</i> sp. (juveniles)		+		+	+	+					+
<i>Dreissena polymorpha</i> (Pallas, 1771)	+	+	+	+	+	+	+	+		+	
Crustacea											
Isopoda											
<i>Jaera sarsi</i> Valkanov, 1936	+	+		+	+		+				
<i>Asellus aquaticus</i> (L., 1758)	+	+	+	+	+		+	+	+		

Table 2. (continued)

Sampling site	45	46	49	50	52	58	63	64	65	66	67
Amphipoda											
<i>Dikerogammarus villosus</i> (Sovinsky, 1894)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>D. haemobaphes</i> (Eichwald, 1841)	+										
<i>D. bispinosus</i> Martynov, 1925				+			+				
<i>Obesogammarus obesus</i> (Sars, 1894)	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+
<i>Corophium curvispinum</i> Sars, 1895	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+
Mysidacea											
<i>Paramysis lacustris</i> (Czerniavsky, 1882)				+			+	+	+	+	
Talitridae											
											+
Hydracarina											
										+	
Odonata											
<i>Gomphus vulgatissimus</i> (L., 1758)				+							
<i>Pyrrosoma nymphula</i> (Sulzer, 1776)				+		+		+		+	
Ephemeroptera											
<i>Heptagenia</i> sp.						+					
<i>Cloen dipterum</i> (L., 1761)							+				
<i>Caenis</i> gr. <i>horaria</i>							+	+	+		
Hemiptera											
										+	
Trichoptera											
<i>Hydropsyche bulgaromanorum</i> Malicky, 1977				+							
Diptera											
Diptera (unidentified larvae)								+			
Ceratopogonidae								+		+	+
Chironomidae	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
No. of taxa	26	20	15	46	21	27	42	35	30	24	22

was collected with tweezers and, if necessary, scraped with a brush. The sampling with the FBA hand net is performed using the kick and sweep technique for multihabitat sampling.

The samples were preserved with 4% formaldehyde. Sorting and identification were carried out using binocular magnifiers (5–50 ×) and stereomicroscopes (10 × 10 and 10 × 40). The study included the qualitative and quantitative analysis of the benthic community. The number of observed taxa, Shannon diversity index H' (Shannon & Weaver 1949), Evenness index E (Pielou 1984) and community abundance (number of individuals per square meter – ind. m⁻²) were analyzed in order to illustrate the distribution of the invertebrates along the sector. The frequency of taxa was calculated as percentage of taxa in all samples collected ($F = \text{No. of findings}/\text{total No. of samples}$). In addition, quantitative composition has been discussed according to the mean percentage of groups at sampling site level and mean percentage of groups in samples with the aim to describe the sector investigated.

A Correspondence (Reciprocal Averaging) Analysis (Pielou 1984), performed on a matrix of 71 (taxa) × 11 (presence/absence of taxa on sampling sites) revealed the main faunistic features that characterised the sampling sites. Chironomidae, Nematoda and Hydracarina are excluded from statistical analyses due to the fact that they were not identified to the species level. "Statistica for Windows 5.1 (Edition '97)" was used for statistical processing of the data.

Results

A total of 74 macroinvertebrate taxa were found during the investigation (Table 2). The highest taxa richness was observed among molluscs (Mollusca) – 15 species of snails (Gastropoda) and 9 species of mussels (Bi-

valvia). Aquatic worms (Oligochaeta), with 19 species, were also one of the principal components of the community. Other invertebrate groups were less diverse.

The number of taxa observed at each sampling site varied between 15 (sampling site 49) and 46 (sampling site 50).

The most frequent species along the examined part of the Danube were *Limnodrilus hoffmeisteri*, *L. claparedeianus*, ($F = 85.29\%$), *Tubifex tubifex* ($F = 70.59\%$), *Limnodrilus udekemianus*, *L. profundicola* (55.88%) (Oligochaeta, Tubificidae), *Dikerogammarus villosus* (Amphipoda) and *Dreissena polymorpha* (Bivalvia) ($F = 52.94\%$). *Lithoglyphus naticoides* was found in half of the samples ($F = 50\%$), while the frequency of occurrence (F) of *Corophium curvispinum* was 36.24%. The frequency of occurrence of *Limnea (Radix) peregra* was 8.82%.

The abundance of macroinvertebrates varied between 703 (site 49) and 42,661 specimens m⁻² (site 52) (Fig. 2).

Oligochaeta (mean percentage per site ranged between 7.73% at site 46 and 83.82% at site 51; mean percentage in pooled samples 51.73%), Mollusca (mean percentage per site: 0.24% at site 49; 50.04% at site 52; mean percentage in pooled samples 21.80%), Amphipoda (mean percentage per site: 0.21% at site 67; 41.94% at site 63; mean percentage in pooled samples 18.33%) and Chironomidae (mean percentage per site up to 26.96% at site 67; mean percentage in pooled samples 7.11%) were the principal components of the community with regard to relative abundance.

Within Oligochaeta, the following species belonging to family Tubificidae and adapted to high organic load (Moog 1995) dominated: *T. tubifex*, *L. hoffmeisteri*

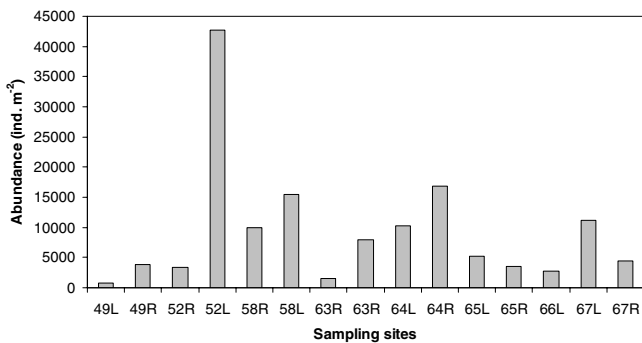


Fig. 2. The abundance of macroinvertebrates per sampling sites in the Danube River. Abbreviations: R – Right Bank; L – Left Bank; numbers on the x axis correspond to sampling site codes.

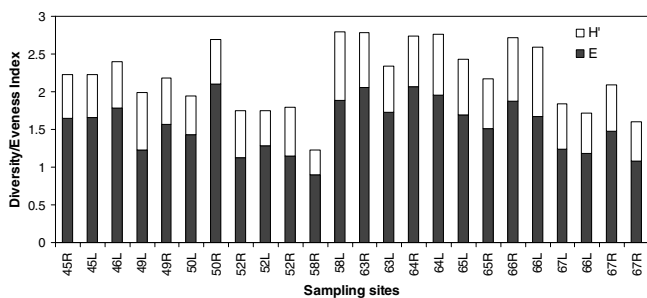


Fig. 3. Diversity (H') and Evenness index (E) along the examined stretch of the Danube River. Abbreviations: R – Right Bank; L – Left Bank; numbers on the x axis correspond to sampling site codes.

L. claparedeianus, *L. udekemianus* and *L. profundicola*. Dense populations of these species were observed at all sampling sites.

Among molluscs, *D. polymorpha* (Bivalvia), *L. naticoides*, *Theodoxus danubialis*, *Esperiana esperi*, *Valvata naticina* and *Bithynia tentaculata* were the most abundant. High densities of *D. polymorpha* were recorded along the entire sector (up to 56.37% of total individuals at site 52, left side; mean percentage in pooled samples 5.42%). *L. naticoides* was the most abundant in samples belonging to the upper stretch (up to 78.75%, site 58, right side; mean percentage in pooled samples 6.46%). A high abundance of other snail species was recorded in samples belonging to sites 66 and 67 – Iron Gate stretch.

D. villosus was the most abundant species of Amphipoda. Dense populations of this species were especially observed at sites belonging to the upper (Pannonian) stretch 45, 46, 49 and 50 (up to 47.21% of total individuals in sample at site 50, left side; mean percentage in pooled samples 4.44%).

Diversity index (H') and Evenness indices (E) are presented in Fig. 3. The diversity index (H') ranged from 0.78 (site 58) to 2.1 (site 50), while the Evenness (E) varied between 0.36 (site 58) and 0.93 (sample from site 66, left side). The lowest H' and E values were observed at sites 52 and 58. At those sites low numbers of taxa were observed (21 and 27 respectively); in addition, a few species dominated – there was a high

abundance of Tubificidae: *T. tubifex*, *L. hoffmeisteri*, *L. claparedeianus*, *L. udekemianus*. Site 58 was also characterised by dense populations of *L. naticoides* (Gastropoda) and *D. polymorpha* (Bivalvia).

It is interesting to underline that some alien, invasive species were also found along the stretch examined. For example, *Branchiura sowerbyi* was found with frequencies up to 35.29% and a relative abundance of up to 33.77% in the sample from site 66, left side. *Synanodonta woodiana*, *Corbicula fluminea*, *C. fluminalis* and *Hypania invalida* were also found along the investigated sector.

The position of sampling sites (squares) and taxa (circles), obtained by correspondence analyses, is shown in Fig. 4. The position of sampling sites is mostly determined by taxa that are common for the majority of sites (full circles in Fig. 4): *T. tubifex*, *L. claparedeianus*, *L. hoffmeisteri*, *L. udekemianus*, *L. profundicola* (Tubificidae, Oligochaeta), *D. villosus*, *Obesogammarus obesus*, *C. curvispinum* (Amphipoda), as well as by taxa that are found only at some site or group of sites. Sampling site 45 is separated from other sites primarily due to the presence of *Glossiphonia heteroclita* (Hirudinea) and *Dikerogammarus hemobaphes* (Gammaridae) that were not observed at other sites. Sampling sites 65, 64 and 63 are separated from others in relation to dimension 1 primarily due to the presence of species belonging to genus *Valvata* and *Esperiana* (Gastropoda). *Ophiodonais serpentina* (Oligochaeta) was observed only at sites 63 and 65, *Dero nivea* (Oligochaeta) only at site 65, *C. fluminea* and *Cloen dipterum* only at site 63. Further, the position of sites 65, 64 and 63 is determined by the presence of *T. danubialis* (Gastropoda). Sampling site 58 is separated from others, in relation to dimension 2, due to the presence of *Aulophorus furcatus*, *Aulodrilus limnobius* (Oligochaeta) and *Heptagenia* sp. (Ephemeroptera), species that were not found at other sites. *Potamotheix hammoniensis* (Oligochaeta) was observed only at site 66, illustrating this particular site with regard to dimension 2.

Discussion

During the sampling program 74 macroinvertebrate taxa were observed. Bearing in mind that some taxa (Nematoda, Chironomidae, Ceratopogonidae and Simuliidae) were not identified to species level, the total number of taxa is certainly higher.

Oligochaetes and molluscs were the principal components of the community with regard to number of identified species, frequency of occurrence (F), as well as with regard to relative abundance. Amphipoda and Chironomidae were found to be important members of the community with regard to relative abundance. The community structure observed was expected at this watercourse type. In potamon-type rivers in Serbia molluscs and oligochaetes are typically the most diverse and abundant groups. A similar community structure was observed by previous investigations of the Danube River in Serbia (Nedeljkovic 1979; Jakovcev 1987, 1988; Dju-

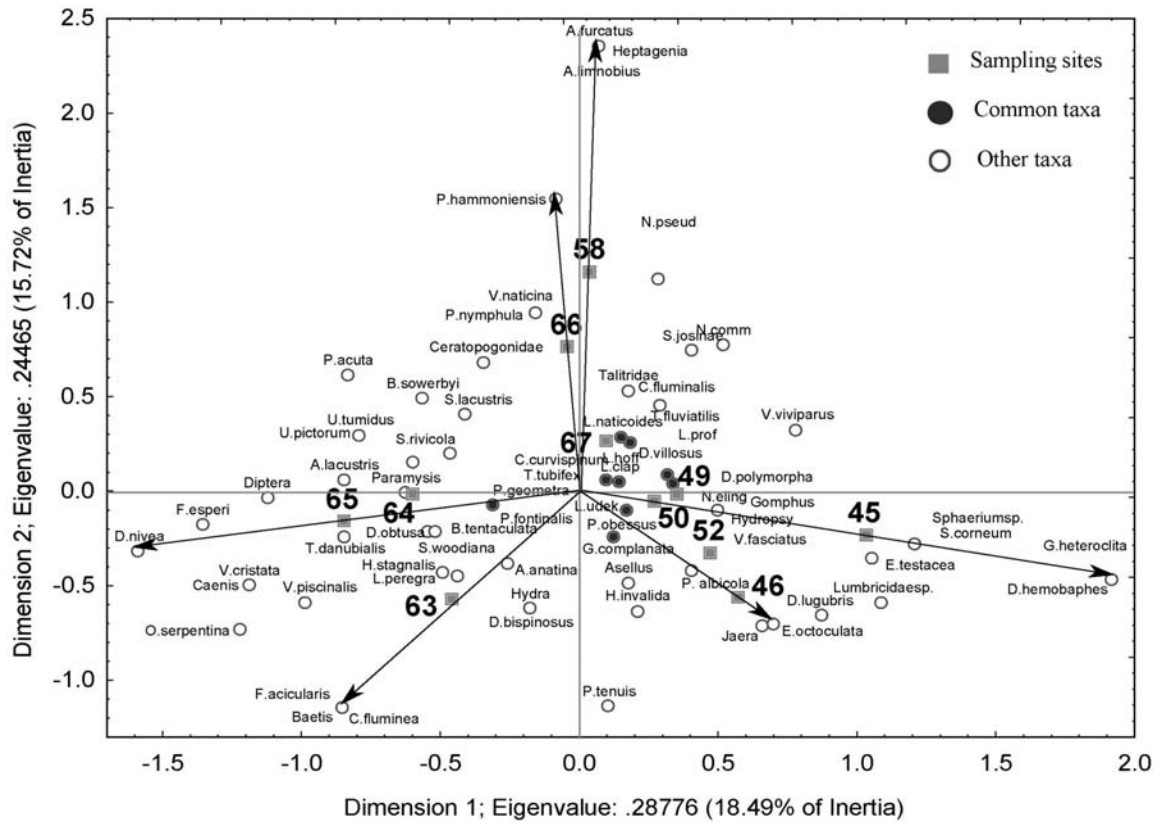


Fig. 4. Correspondence analysis performed on the matrix of 71 rows (taxa) × 11 columns (presence/absence of taxa at sampling sites).

kić & Karaman 1994; Arambasić 1994; Simić et al. 1997; Martinović-Vitanović et al. 1999; Simić & Simić 2004), as well as during the investigation of the Sava River (Paunović 2004) and the Tisza River (Csanyi 2002).

A similar community structure with respect to dominant macroinvertebrate groups, but with a larger proportion of some groups in samples, was observed within the Slovakian stretch of the Danube (Elexová 1998; Šporka & Nagy 1998). In both studies, Oligochaeta and Chironomidae (Diptera) dominated. Considering the differences between the Slovakian and Serbian stretch of the Danube, the higher taxa richness within Ephemeroptera and Trichoptera that was reported by Elexová (1998) was expected. Differences in the dominant sediment type between the Slovakian and Serbian stretch could be the main reason for the differences observed. The Slovakian sector is characterised by a higher proportion of habitats with gravel, boulders and stones (Elexová 1998) when compared with the Serbian part.

A similarity of the macroinvertebrate community was also found when compared with the Hungarian stretch. Nosek (2000) and Oertel (2000) reported that *D. villosus*, *C. curvispinum*, *Limnaea (Radix) peregrina* and *L. naticoides* were among the most frequent taxa at the examined sites along the Hungarian part of the Danube. Those species were also found to be frequent in samples collected along the Serbian part of the Danube. The dissimilarity in principal species composition with regard to frequency between the Hungarian (Nosek 2000; Oertel 2000) and the Serbian stretch

could be explained by distinct environmental conditions in the two sectors of the Danube. The upper (Pannonian) sector (from 1071 km up to the Hungarian border) is similar to the Hungarian stretch (Robert et al. 2003; Paunović et al. 2005), therefore those sectors are classified as the same Danube type – Pannonian Plain Danube (Robert et al. 2003). The Iron Gate Sector is different with regard to hydro-morphological conditions. The intensity of natural differences between sectors that are situated upstream and downstream 1071 km of the watercourse are illustrated by the fact that this point has been identified as border between the Danube types (Pannonian Plain Danube and Iron Gate Danube), as well as the boundary between Middle and Lower Danube (Robert et al. 2003). The difference in macroinvertebrate community observed in the Hungarian and in the Serbian stretch could be the result of different sampling approaches and taxonomic resolution applied. Thus, Nosek (2000) and Oertel (2000) did not analyse the Oligochaeta community in detail, while Oligochaeta were observed to be a principal component of the community in our study.

A high population density of *T. tubifex*, *L. hoffmeisteri*, *L. claparedeianus*, *L. udekianus* and *L. profundicola* (Oligochaeta, Tubificidae), all of them adapted to high organic load (Moog 1995), indicate organic pollution at the stretch investigated. Further, an increase of those species in the period after the damming of the Danube (Nedeljković 1979) indicate higher sedimentation rates in the zone of back-water effects (up to 1215 km) favouring *T. tubifex*, *L. hoffmeisteri*

teri, *L. claparedeianus*, *L. udekemianus* and *L. profundicola* which can be characterised as pelophilous species (Timm 1980, 1987).

The distribution patterns of *L. naticoides*, *D. villosus* (higher density in upper stretch), *T. danubialis*, *E. esperi*, *V. naticina* and *B. tentaculata* (higher density in downstream stretch) demonstrate the differences between the upper (Pannonian) sector and the Iron Gate sector. Species that are relatively equally represented along examined sector (*T. tubifex*, *L. hoffmeisteri*, *L. claparedeianus*, *L. udekemianus*, *L. profundicola* and *D. polymorpha*) are ubiquitous (Timm 1980, 1987), and their distribution is less dependent on a modification of their environmental conditions.

The lowest values of Diversity (H') and Evenness (E) (Fig. 3) were observed at sites 52 and 58. This low diversity index and the small number of observed taxa, combined with a domination of only a few species (low values of E), indicate environmental stress within the stretch (Allan 1995). Sampling sites 52 and 58 are located in the area of influence of the urban centres (Novi Sad, Belgrade and Pancevo) and industrial zones of Novi Sad (Oil Refinery) and Pancevo (Oil Refinery and Petro-chemical Plant). In addition, sampling site 58 is influenced by polluted tributaries (the Sava and Tamiš rivers).

According to the results of a correspondence analysis (Fig. 4) three groups of sites were distinguished – upper sector (Pannonian), Iron Gate sector and sector upstream of the Iron Gate stretch (sector on entrance to Iron Gate, or transitional sector). Sampling sites 63, 64 and 65 are separated from the other sites. Those sites are situated upstream of the Iron Gate sector. Due to the changes of overall characteristics of the river in the area, the sector links up two Danube types, the Pannonian Plain Danube and the Iron Gate Danube (Robert et al. 2003). According to our results, this sector is characterised by a specific macroinvertebrate fauna, too.

It should be underlined that introduced, invasive species such as *S. woodiana*, *C. fluminea*, *C. fluminalis*, *H. invalida* and *B. sowerbyi* were found within the investigated area. These species were also found within previous investigations of the Danube in Serbia and its upper sectors (Djukic & Karaman 1994; Simic et al. 1997; Csanyi 1999; Berneth et al. 2002), as well as in the main tributaries of the Danube in the area – in the Tisza River (Csanyi 2002) and the Sava River (Paunovic 2004). Due to the significant threat to the aquatic ecosystem health that was documented (Mack et al. 2000), the populations of invasive alien species should be intensively observed with the aim to design protective measures.

Conclusion

A total of 74 macroinvertebrate taxa were found during the study. A fauna typical of potamon-type rivers in Serbia was observed. Oligochaetes and molluscs were found to be the principal components of the community

with regard to number of species observed, frequency of occurrence and relative abundance.

Based on data of qualitative composition (presence/absence of taxa) of the macroinvertebrate fauna, a correspondence analysis (Fig. 4) divided the investigated stretch in three sectors – upper (Pannonian), Iron Gate sector and a sector represented by sites located at the entrance to the Iron Gate sector (sites 63, 64 and 65). The distribution patterns of certain species supported this division of sectors provided by the correspondence analysis. Thus, the distribution of *L. naticoides*, *D. villosus* (higher density in upper stretch) and *T. danubialis*, *E. esperi*, *V. naticina* and *B. tentaculata* (higher density in downstream stretch) point up the differences between the upper (Pannonian) sector and the Iron Gate sector.

Our investigations also pointed out the threat to the Danube ecosystem induced by the presence of alien invasive species – *S. woodiana*, *C. fluminea*, *C. fluminalis*, *H. invalida* and *B. sowerbyi*.

Acknowledgements

The work is supported by the Ministry of Science and Environmental Protection of the Republic of Serbia, Project No. 143023. The Serbian national team participated in the Joint Danube Survey (JDS) mission due to the support of the European Commission, International Commission for the Protection of the Danube River (ICPDR) and Ministry of Science and Environmental Protection of the Republic of Serbia – Directorate for Environmental Protection of the Republic of Serbia. We would like to express our thanks for help provided by Core Team members of the JDS expedition and crew members of ships “Szechenyi” and “Argus”. J. Slobodnik (Logistic Officer of JDS), D. Tripkovic, M. Zivkovic, M. Gavric and M. Mitrovic (Federal Hydrometeorological Institute, Belgrade) provided special help to the team by support from the shore.

References

- Allan D.J. 1995. Stream Ecology – Structure and Function of Running Waters. Chapman & Hall, London, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras, 388 pp.
- Arambasic M. 1994. Composition and structure of mollusk fauna of the Yugoslav part of the Danube and saprobity estimation, pp. 124–130. In: Jankovic D. & Jovicic, M. (eds), The Danube in Yugoslavia – Contamination, Protection and Exploitation, Publ. Institute for Biological Research “S. Stankovic”, Institute for Development of Water Resources “J. Cerni”, Commission of the European Communities, Brussels, Belgium, Belgrade.
- Berneth H., Tobias W., Stein S. & Turowski S. 2002. Ecological status characterisation – macrozoobenthos, pp. 33–64. In: Literathy P., Koller-Kreimel V. & Liska I. (eds), Joint Danube Survey, Final Report, International Commission for the Protection of the Danube River.
- Csanyi B. 1999. Spreading invaders along the Danubian highway: first record of *Corbicula fluminea* (O.F. Müller 1774) and *C. fluminalis* (O.F. Müller 1774) in Hungary (Mollusca, Bivalvia). Folia Hist. Nat. Mus. Matraensis **23**: 343–345.
- Csanyi B. 2002. Joint Danube Survey: Investigation of the Tisza River. Institute for Water Pollution Control, VITUKI Plc., in cooperation with Secretariat of International Commission for the Protection of the Danube River, Budapest, 135 pp.

- Djukic N. & Karaman S. 1994. Qualitative and quantitative structure of the bottom fauna with a special reference to the oligochaeta community, pp. 124–130. In: Jankovic D. & Jovicic M. (eds), *The Danube in Yugoslavia – Contamination, Protection and Exploitation*, Publ. Institute for Biological Research “S. Stankovic”, Institute for Development of Water Resources “J. Cerni”, Commission of the European Communities, Brussels, Belgium, Belgrade.
- Elexová E. 1998. Interaction of the Danube river and its left side tributaries in Slovak stretch from benthic fauna point of view. *Biologia, Bratislava* **53**: 621–632.
- Jakovcev D. 1987. Die saprobiologische Analyse der Donau im Belgrader Gebiet anhand der Bodenfauna, pp. 529–532. In: 26. Arbeitstagung der IAD, SIL, Passau, Deutschland, Wissenschaftliche Referate.
- Jakovcev D. 1988. Die saprobiologische Wasseranalyse der Donau in der Belgrad Region aufgrund der Benthosfauna, pp. 265–269. In: 27. Arbeitstagung der IAD, SIL, Mamaia, Rumänien, Limnologische Berichte Donau.
- Jakovcev-Todorovic D., Paunovic M., Stojanovic B., Simic V., Djikanovic V. & Veljkovic A. 2005. Observation of the quality of the Danube water in the Belgrade Region based on benthic animals during periods of high and low water condition in 2002. *Arch. Biol. Sci.* **57**: 237–241.
- Jankovic D. & Jovicic M. (eds) 1994. *The Danube in Yugoslavia – Contamination, Protection and Exploitation*. Publ. Institute for Biological Research “S. Stankovic”, Institute for Development of Water Resources “J. Cerni”, Commission of the European Communities, Brussels, Belgium, Belgrade, 220 pp.
- Liepolt R. (ed.) 1967. *Limnologie der Donau*. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, 591 pp.
- Mack R.N., Simberloff C.D., Lonsdale M.W., Evans H., Clout M. & Bazzaz F. 2000. Biotic Invasions: Causes, Epidemiology, Global Consequences and Control. *Issues in Ecology* 5, Ecological Society of America, Washington, 20 pp.
- Martinovic-Vitanovic V., Kalafatic V, Martinovic J.M., Paunovic M. & Jakovcev D. 1999. Saprobiological analysis of benthic communities in the Danube in Belgrade region, pp. 504–516. In: 1st Congress of Ecologists of the Republic of Macedonia with International Participation, Special issues of the Macedonian Ecological Society 5, Skopje.
- Moog O. 1995. Fauna Aquatica Austriaca. Katalog zur autökologischen Einstufung. Aquatischer Organismen Österreichs. Teil III B, Metazoa, Saprobienle Valenzen. Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Wien, 200 pp.
- Nedeljkovic R. 1979. Zoobentos Dunava u godinama posle izgradnje brane u Djevdapu [Zoobenthos of the Danube in period after the construction the dam in Iron Gate sector], pp. 1881–1888. In: II Kongres ekologa Jugoslavije, Zbornik radova, Zagreb.
- Nosek J.N. 2000. Macroinvertebrate Studies at the Hungarian Danube Section 2. Spatial Pattern of Macroinvertebrate Community. *Int. Assoc. Danube. Res.* **33**: 263–270.
- Oertel N. 2000. Macroinvertebrate Studies at the Hungarian Danube Section 1. Fundamental and Methodological Questions of Biomonitoring. *Int. Assoc. Danube. Res.* **33**: 271–278.
- Paunovic M. 2004. Qualitative composition of the macroinvertebrate communities in the Serbian sector of the Sava River. *Int. Assoc. Danube Res.* **35**: 349–354.
- Paunovic M., Simic V., Jakovcev-Todorovic D. & Stojanovic B. 2005. Results on macroinvertebrate community investigation in the Danube River in the sector upstream the Iron Gate (1083–1071 km). *Arch. Biol. Sci.* **57**: 57–63.
- Petrovic G. 1971. Übersicht der wasserchemischen und physikalischen Untersuchungen der jugoslawischen Donaustrecke. *Arch. Biol. Nauka* **23**: 65–71.
- Petrovic G. 1973. Der wasserchemische Zustand der jugoslawischen Donaustrecke bei Beograd. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* **44**, *Donauforsch.* 5: 258–262
- Petrovic G. 1975. Auswirkung der Stauanlage auf den Wasserhaushalt des Stauraumes Djevdap. *Arch. Hydrobiol. – Int. Ver. Theor. Angew. Limnol.* **44**, *Donauforsch.* 5: 381–391.
- Petrovic G. 1978. Hydrochemische Untersuchungen im Stauraum Djevdap. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* **52**, *Donauforsch.* 6: 312–322.
- Pielou E.C. 1984. *The Interpretation of Ecological Data – A Primer on Classification and Ordination*. Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, 265 pp.
- Robert S., Birk S. & Somenhäuser M. 2003. Typology of the Danube River – part 1: Top-down approach, pp. 51–59. In: UNDP/GEF Danube Regional Project, Activity 1.1.6, Typology of Surface Waters and Definition of Reference Conditions for the Danube River – Final report.
- Shannon C.E. & Weaver W. 1949. *The Mathematical Theory of Communication*. The Univ. of Illinois Press, Urbana, IL, 125 pp.
- Šporka F. & Nagy Š. 1998. The macrozoobenthos of parapotamon-type side arms of the Danube river and its response to flowing conditions. *Biologia, Bratislava* **53**: 633–643.
- Simic S., Ostojic A., Simic V. & Jankovic D. 1997. Changes in structure of plankton and benthos in the part of the Danube from Veliko Gradiste to Prahovo (Serbia, Yugoslavia) during the summer period. *Ekologija* **32** (2): 65–80.
- Simic V. & Simic S. 2004. Macroinvertebrates and fishes in the part of the Danube river flowing through the Iron Gate National Park and possibilities of their protection under *in situ* and *ex situ* conditions. *Arch. Biol. Sci.* **56**: 53–57.
- Timm T. 1980. Distribution of aquatic oligochaetes, pp. 55–77. In: Brinkhurst R.O. & Cook D.G. (eds), *Aquatic Oligochaete Biology*, Plenum Press, New York and London.
- Timm T. 1987. Maloshchetinkovye chervi (Oligochaeta) vodoev Sevro-Zapada SSSR. [Aquatic oligochaeta of the water bodies of northwestern part of the USSR]. *Akademiya nauk Ehstonskoj SSR, “Valgus” Tallin*, 299 pp.

Received March 18, 2005

Accepted February 7, 2007

AQUATIC MACROINVERTEBRATES OF THE JABLANICA RIVER, SERBIA

KATARINA S. STEFANOVIĆ¹, VERA P. NIKOLIĆ², BOJANA P. TUBIĆ¹,
JELENA M. TOMOVIĆ¹, ANA D. ATANACKOVIĆ¹, V. M. SIMIĆ³, and M. M. PAUNOVIĆ¹

¹*Siniša Stanković Institute for Biological Research, 11060 Belgrade, Serbia*

²*Institute of Zoology, Faculty of Biology, University of Belgrade, 11000 Belgrade, Serbia*

³*Institute of Biology and Ecology, Faculty of Science, University of Kragujevac, 34000 Kragujevac, Serbia*

Abstract — Research on the community of aquatic macroinvertebrates was carried out during 2005 and 2006 at four sampling sites along the Jablanica River, a right-hand tributary of the Kolubara River. Fifty-seven taxa were recorded in the course of the investigation. The most diverse group was Ephemeroptera, followed by Trichoptera and Plecoptera. Members of the *Rhitrogena semicolorata* group were the most abundant. Our results could be the basis for evaluation of the influence of damming of the Jablanica River on the status of its water and can serve as a model for studying the influence of hydromorphological degradation of aquatic ecosystems.

Key words: Aquatic macroinvertebrates, community composition, Jablanica River, Kolubara River, Serbia

UDC 592.574.5(497.11)(282)

INTRODUCTION

The aim of this work is to present the community of aquatic macroinvertebrates at investigated localities on the Jablanica River and to estimate the status of the river. The results are of special interest because of construction of a dam on the Jablanica River, near the settlement of Rovni. Creation of the reservoir will alter the aquatic biota and the water status. Together with previous investigations (summarized in Miljanović, 2001), the data presented constitute the basis for evaluation of the type and level of these changes.

The Jablanica is a right-hand tributary of the Kolubara River. The river is formed by numerous mountain brooks flowing from the north slope of Mt. Jablanik (1,274 m) and from the east side of Mt. Medvednik (1,244 m). The river is 20 km long, with a drainage area of 157.7 km².

The investigated drainage area of the Kolubara River (3,638.6 km², according to Studija WFD, 2005) lies between Mts. Povlen, Maljen, and Suvobor (in the south); Rudnik (in the southeast); Kosmaj and

Bukulja (in the east); and Vlašić, Cer, and Medvednik (in the west). As one of the largest right-hand tributaries of the Sava, the Kolubara River is formed near Valjevo by the confluence of the rivulets Obnica and Jablanica (at an elevation of 190 m above sea level) (Miljanović, 2001). The Kolubara empties into the Sava (the latter into the Danube at Belgrade) and belongs to the watershed of the Black Sea.

MATERIAL AND METHODS

Material was collected during 2005 and 2006 at four sampling sites (Fig. 1), as follows:

Site No. 1 - the Jablanica, upstream from Bebića Luka, elevation of 490 m above sea level, coordinates of 44° 12' 42.3" N latitude and 19° 43.04' 4" E longitude. The substrate is mainly composed of stones, predominantly large. Small stones are found to participate with not more than 10% of the stretch area. A small amount of gravel and fine sediment is also present.

Site No. 2 - the Jablanica, hamlet of Mijači, elevation of 390 m above sea level, coordinates of 44° 11'

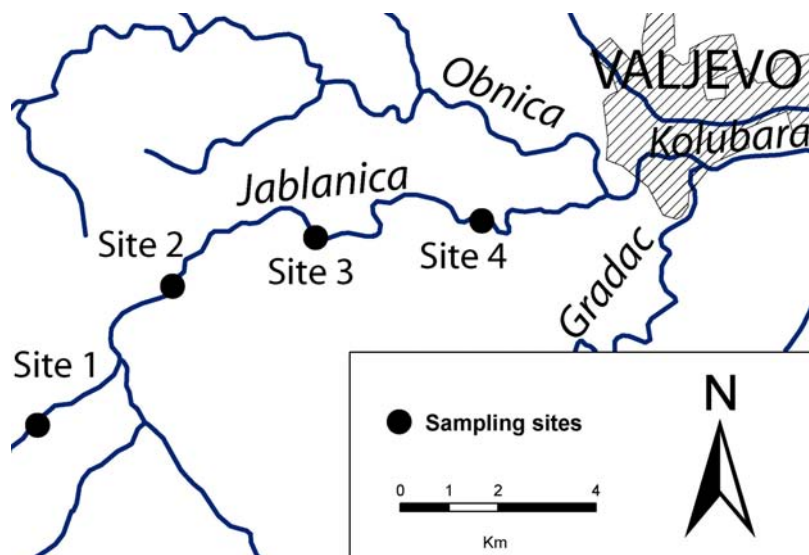


Fig. 1. Sampling sites.

25" N latitude and 19° 41' 43.5" E longitude. The substrate is composed of small and large stones, gravel, and fine sediment.

Site No. 3 - the Jablanica, near Rovni Dam, elevation of 340 m above sea level, coordinates of 44° 14' 22.9" N latitude and 19° 41' 43.5" E longitude. The substrate is composed of large stones. Small stones, gravel, and fine sediment are present on a limited surface area (up to 15%).

Site No. 4 - the Jablanica, 10 km upstream from Valjevo (Malinovići), elevation of 310 m above sea level, coordinates of 44° 15' 35.0" N latitude and 19° 48.51' 5" E longitude. The substrate is composed of small and large stones, the rest consisting of gravel and fine sediment.

Aquatic macroinvertebrate samples were taken with a benthological hand net (mesh size 500 µm; kick and sweep technique) and a Sürber net (mesh size 250 µm). Samples were taken from all available habitats represented with more than 5% of total habitat area on the sampling stretch (multi-habitat sampling procedure).

The community was analyzed using Shannon-Weaver diversity index (Shannon and Weaver, 1949).

Estimation of the saprobic level was based on the Pantle-Buck method (Pantle and Buck, 1955).

In order to determine the relation between sampling sites in regard to the observed macroinvertebrate fauna, cluster analysis was carried out. The analysis was performed on the correlation coefficient obtained by Pearson product-moment correlation analyses (Rodgers and Nicewander, 1988). In addition, correspondence (reciprocal averaging) analyses (Pielou, 1984), based on data on the relative abundance of taxa at the sampling sites, was used in order to define the relation of sampling sites and faunistic assemblages. Statistica for Windows 5.1 (Edition '97) was used for statistical processing of the data.

RESULTS

A total of 57 taxa belonging to eight groups were recorded (Table 1). The most diverse group was Ephemeroptera, with a total of 19 species, followed by Trichoptera (14 species) and Plecoptera (eight species). In the sense of species richness, Oligochaeta, Diptera, Coleoptera, and Crustacea were less significant. The number of recorded taxa per sampling site fluctuated between 105 (sampling site 4) and 270 (sampling site 2).

Table 1. Macroinvertebrate community of the Jablanica River – 2005-2006 investigation.

Taxa/Sampling site	1	2	3	4
OLIGOCHAETA				
<i>Eiseniella tetraedra</i> (Savigny, 1826)	+		+	
<i>Nais pseudobtusa</i> Piguët, 1906		+		
Enchytraeidae		+		+
Lumbriculidae		+		+
<i>Haplotaxis gordioides</i> Hartmann, 1821				+
CRUSTACEA				
<i>Gammarus balcanicus</i> Schäferna, 1922	+		+	
ODONATA				
<i>Gomphus vulgatissimus</i> (Linnaeus, 1758)		+	+	+
EPHEMEROPTERA				
<i>Acentrella</i> sp.	+		+	
<i>Baetis rhodani</i> (Pictet, 1843)		+	+	+
<i>Baetis lutheri</i> (Müller-Liebenau, 1967)	+			
<i>Baetis pavidus</i> (Grandi, 1949)	+	+	+	
<i>Baetis vardarensis</i> (Ikononov, 1962)	+	+	+	
<i>Baetis muticus</i> (Linnaeus, 1758)	+			
<i>Caenis horaria</i> (Linnaeus, 1758)		+		+
<i>Ecdyonurus</i> sp.		+		
<i>Ecdyonurus venosus</i> Fabricius, 1775	+	+	+	+
<i>Epeorus sylvicola</i> (Pictet, 1865)	+	+		
<i>Ephemera danica</i> (Müller, 1764)	+	+	+	
<i>Ephemera vulgata</i> Linnaeus, 1758		+		
<i>Ephemerella ignita</i> (Poda, 1761)	+	+		+
<i>Heptagenia flavipes</i> (Charpentier, 1825)		+		
<i>Heptagenia sulphurea</i> (Müller, 1776)				+
<i>Oligoneuriella poecile</i> (Ikononov, 1962)		+		
<i>Paraleptophlebia submarginata</i> (Stephens, 1835)	+	+	+	
<i>Rhitrogena fiorii</i> Grandi, 1953	+		+	
<i>Rhitrogena semicolorata</i> Gr.	+	+	+	
TRICHOPTERA				
<i>Athripsodes</i> sp.	+			
<i>Glossosoma</i> sp.	+	+	+	
<i>Goera</i> sp.		+		
<i>Hydropsyche angustipennis</i> (Kurtis, 1834)	+	+	+	
<i>Hydropsyche instabilis</i> (Kurtis, 1834)		+		+
<i>Hydroptila sparsa</i> (Kurtis, 1834)				+
<i>Limnephilus</i> sp.	+	+	+	
<i>Glyphotaenius pellucidus</i> (Retzius, 1783)	+			
<i>Philopotamus montanus</i> (Donovan, 1813)				+
<i>Polycentropus flavomaculatus</i> (Pictet, 1834)		+		
<i>Rhyacophila dorsalis</i> (Kurtis, 1834)		+		+
<i>Rhyacophila phylopotamoides</i> McLachlan, 1879	+		+	
<i>Sericostoma personatum</i> (Kirby & Spence, 1826)			+	
<i>Silo nigricornis</i> (Pictet, 1834)	+	+		
PLECOPTERA				
<i>Amphinemura sulcicollis</i> (Stephens, 1835)	+	+		
<i>Brachyptera risi</i> (Morton, 1896)	+	+	+	
<i>Capnia bifrons</i> (Newman, 1839)	+			
<i>Siphonoperla torrentium</i> (Pictet, 1834)	+			
<i>Isoperla grammatica</i> (Poda, 1761)	+	+	+	+
<i>Leuctra hippopus</i> Kempny, 1899	+	+		+
<i>Perla bipunctata</i> (Pictet, 1833)	+	+	+	
<i>Protonemura meyer</i> (Pictet, 1841)	+	+	+	
DIPTERA				
Chironomidae	+	+	+	+
Limoniidae	+		+	
<i>Antocha</i> sp.		+	+	
Tipulidae		+		
<i>Ibisia marginata</i> (Fabricius, 1781)		+	+	
Simuliidae	+		+	+
COLEOPTERA				
<i>Elmis</i> sp.		+	+	+
<i>Limnius volckmari</i> (Panzer, 1793)	+	+	+	
<i>Riolus</i> sp.		+		+
Number of taxa/Sampling site	209	270	242	105

Table 2. Percentage participation of macroinvertebrate groups at the sampling sites.

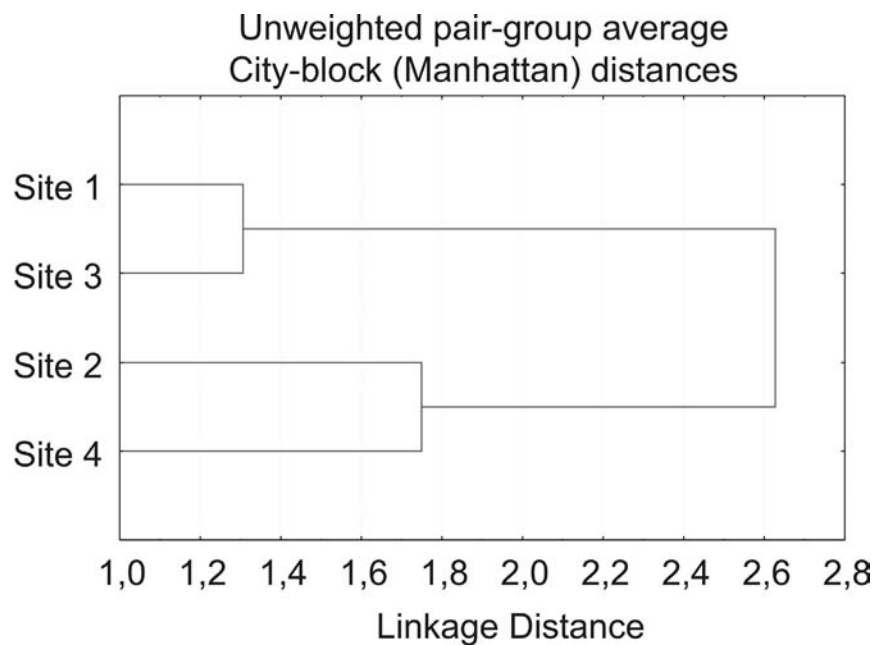
Taxa group/Sampling site	1	2	3	4
Oligochaeta	0.92%	2.10%	25.70%	10.28%
Crustacea	14.68%	0%	2.17%	0%
Odonata	0%	1.05%	0.31%	6.54%
Ephemeroptera	48.62%	49.30%	58.20%	28.97%
Trichoptera	19.72%	17.13%	4.02%	5.61%
Plecoptera	12.84%	10.49%	4.95%	9.35%
Diptera	2.29%	15.38%	4.02%	35.51%
Coleoptera	0.92%	4.55%	0.62%	3.74%

The percentage participation of macroinvertebrate groups at the sampling sites is presented in Table 2. Insects were the most important component of the community, participating with from 72.14% (sampling site 3) to 97.90% (sampling site 4). Ephemeroptera were found to be dominant component within the insects, followed by Diptera and Trichoptera (Table 2). The mean percentage participation of Ephemeroptera in the total macroinvertebrate community was found to be 46.28%. Taxa of the *Rhitrogena semicolorata* group were the most abundant, with 171 specimens.

At sampling site 4, in contrast to the other sites, the group Diptera was found to be the most important component of the community (35.51% of the total community). Within the group, the principal component in regard to relative abundance was the family Chironomidae.

The mean percentage participation of Diptera at all investigated sites was 14.30%.

Representatives of Trichoptera also made up a significant part of the macroinvertebrate community at sites 1 and 2 (19.72 and 17.13%, respectively).

**Fig. 2.** Cluster analyses based on correlation matrices - Pearson product-moment correlation coefficients (Rodgers and Nicewander, 1988).

Oligochaeta were represented with 25.70% at site 3, while at the other sites this group was found to be less abundant. The order Plecoptera was evenly distributed at sites 1 (12.84%), 2 (10.49%), and 4 (9.35%), while Crustacea were one of the principal components only at site 1, with 14.68%.

Sites 2 and 4 on the one hand and sites 1 and 3 on the other are characterized by faunistic similarity, which is shown in Fig. 2. According to the results of Pearson product-moment correlation analyses (Rodgers and Nicewander, 1988), there is significant correlation between data on relative abundance of taxa at sites 1 and 3, as well as 2 and 4.

According to our results, 13 taxa are common to sites 2 and 4 and among them seven were found only at those sites. Sites 1 and 3 are characterized by 20 common taxa, five of which were found only at those sites. Only three taxa (*Ecdyonurus venosus*, *Isoperla grammatica*, and Chironomidae) out of 57 were present along the entire course of the river, at all four localities. The recorded distribution of the macroinvertebrate community could be connected with substrate type. A predominance of large stones was observed at sites 1 and 3, while sites 2 and 4 are characterized by a higher participation of small stones, gravel, and fine sediment.

In order to present the main faunistic features that characterize the sampling sites, correspondence

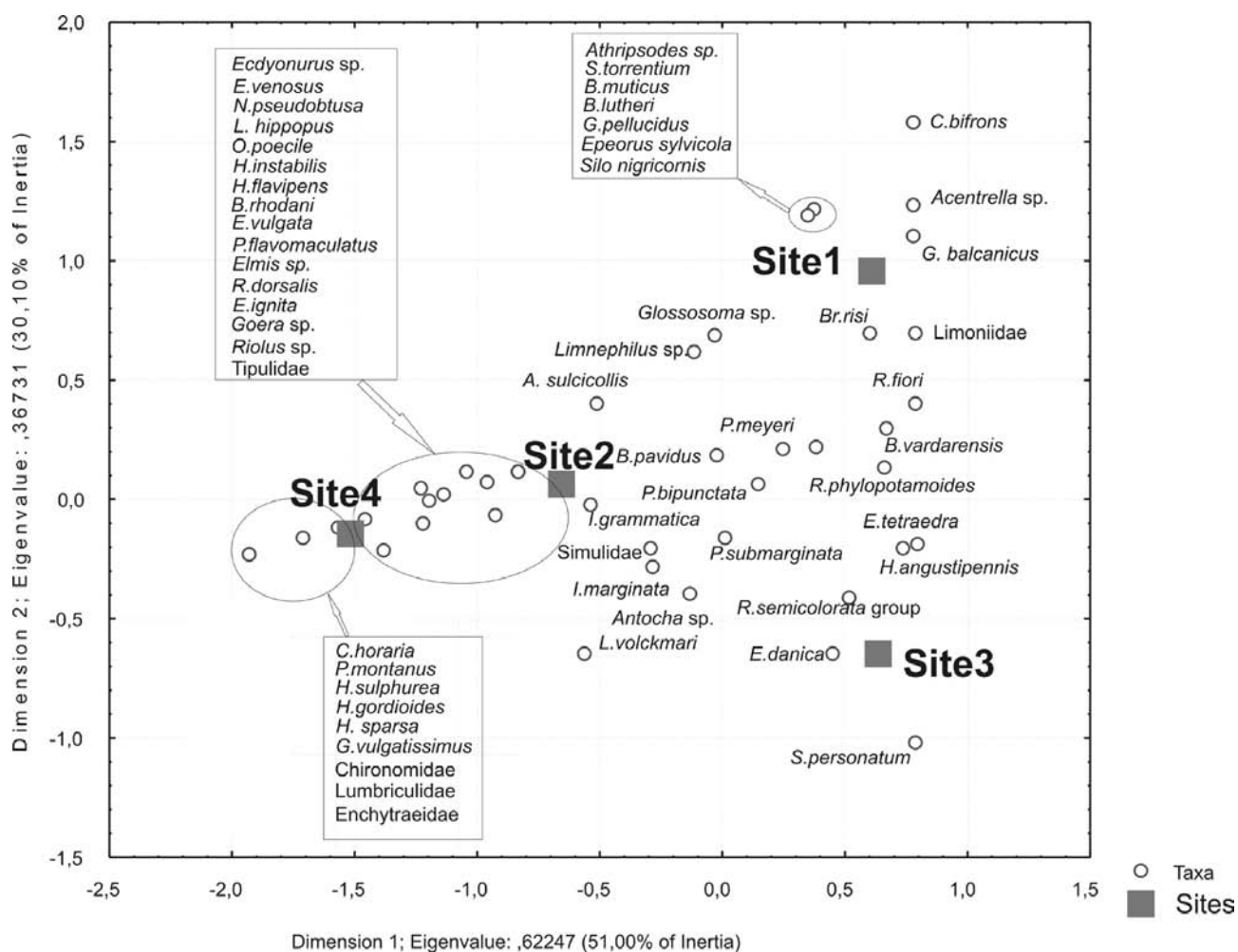


Fig. 3. Results of correspondence analyses - relative abundance of taxa at the sampling sites.

analysis was carried out. The sampling site's position on the resultant graph and the faunistic assemblage that most influences such a position are shown on Fig. 3.

The saprobic index (SI) (Pantle and Buck, 1955) ranged between 1.46 (site 2) to 1.80 (site 4). This result indicates that water quality varies between categories I and II, according to national standards (YUFROW, 1985).

The Shannon-Weaver (H') diversity index (Shannon and Weaver, 1949) ranged from $H' = 3.1766$ (site 2) to $H' = 2.2288$ (site 3).

DISCUSSION

Fifty-seven taxa of aquatic macroinvertebrates were recorded in the course of the investigation. The community structure was found to be typical for highland rivers in the region (Filipović, 1954, 1957, 1967, 1969, 1975, 1976; Jakovčev, 1983; Simić, 1996; Konta, 1997; Marković et al., 1997a, 1997b; Miljanović, 2001).

According to the results presented, the number of species and Shannon-Weaver (H') index decrease along the longitudinal profile, from upper locations toward the confluence. This situation is connected with decline of habitat diversity and increase of anthropogenic influence in the same direction.

The Jablanica River was studied in detail by Miljanović (2001), with special emphasis on the Oligochaeta fauna. Along the entire course between 1991 and 1994, Miljanović detected 109 macroinvertebrate taxa at three localities. The dominant group was found to be Chironomidae, followed by Ephemeroptera. Oligochaeta was present with 22 taxa belonging to five families. In comparison with the results presented by Miljanović (2001), our investigation revealed a less diverse macroinvertebrate community. Mollusca, Collembola, Turbellaria, Nematoda, Hydracarina, Aranea, and Hymenoptera – which were detected by Miljanović (2001) – were not found during our study. This could be a result of deterioration of the environmental status.

The building of a dam on the Jablanica near the

settlement of Rovni is now in the final phase, so the results presented by Miljanović (2001), together with our results, could be the basis for evaluation of the influence of damming of the river on the status of its water during filling of the reservoir, as well as in the following years. The results can also be used as a model for studying the influence of hydromorphological degradation on aquatic ecosystems. In addition, the region of the Kolubara catchment area is under the high influence of gravel extraction, so the relation of different types of hydromorphological pressures and aquatic biota could be analyzed in order to define a sound system for evaluation of degradation of freshwater ecosystems. Hydromorphological degradation has been recognized as one of four water management issues of basin-wide significance for the Danube Basin (Schwarz and Kraier, 2008). The lack of standard, harmonized methodology for hydromorphological survey and assessment has been underlined before (Schwarz and Kraier, 2008), and this is an additional challenge for anyone organizing multidisciplinary investigations in the region of the Kolubara Basin.

In the present paper, the crucial influence of substrate composition on macroinvertebrate fauna is underlined. Thus, the obtained data could be used for identification of the main typological parameters and for compilation of a type-specific index of ecological status for running waters in Serbia.

CONCLUSIONS

Fifty-seven taxa were recorded in the course of the investigation. The most diverse group was Ephemeroptera, followed by Trichoptera and Plecoptera. In the sense of species richness, Oligochaeta, Diptera, Coleoptera, and Crustacea were less significant. The group Chironomidae (Diptera) was not identified to the species level, which means that species richness is probably higher than represented.

Composition of the community is typical for highland rivers such as the Jablanica.

Along the river, in the downstream direction, the number of recorded species and Shannon-Weaver

index (H') decrease, while the saprobity index (SI) increases, indicating rising antropogenic influence, especially organic pollution, as well as decline of habitat diversity.

The presented results indicate that water quality varied between categories I and II (national standards), which testifies to a good water status along the investigated stretch.

The presented data can serve the basis for further evaluation of the status of the Jablanica River in light of the building of a dam along its course, near the settlement of Rovni. The planned reservoir is sure to influence the status of the river and its aquatic macroinvertebrate community. Evaluation of the level of this influence will be possible on the basis of information from this and previous investigations.

Acknowledgments — The work was supported by the Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia (Project No. 143023).

REFERENCES

- Filipović, D. (1954). Ispitivanja živog sveta tekućih voda Srbije. I. Prilog poznavanju naselja planinskog potoka Katušnice (zapadna Srbija). *Zborn. rad. Inst. ekol. biogeogr. SANU* **5** (8), 1-18.
- Filipović, D. (1957). Limnološka i biogeografska problematika malih tekućica u Jugoslaviji. *Zborn. rad. Biol. inst. NR Srbije* **1**, 2.
- Filipović, D. (1967). Struktura i populacija dveju vrsta Amphipoda u Lisinskom potoku na Kopaoniku. *Arh. Biol. Nauka (Beograd)* **19** (1-2), 67-74.
- Filipović, D. (1969). Recherches biocénologiques d'un cours d'eau salmonicole de montagne Balkanique (Serbie). *Ekologija* **4** (1), 61-90.
- Filipović, D. (1975). Fauna Ephemeroptera SR Srbije. *Zborn. rad. entomofaun. SR Srbije SANU* **1**, 211-219.
- Filipović, D. (1976). Istorijat proučavanja Ephemeroptera (Insecta) u našoj zemlji i rezultati dosadašnjih ispitivanja u Srbiji. *Arh. Biol. Nauka (Beograd)* **28** (1-2), 95-101.
- Jakovčev, D. (1983). Prilog poznavanju oligohetne faune triju pritoka Južne Morave. *Zbornik radova Drugog simpozijuma o fauni SR Srbije*, 47-50.
- Konta, P. S. (1997). *Analiza uticaja ekoloških faktora na makrozoobentos Lomničke reke*. Master's Thesis, Faculty of Biology, University of Belgrade, 99 pp.
- Marković, Z., and V. Mitrović-Tutunđić (1997a). Fauna Ephemeroptera izvorišta Dubašnice. *Zbornik radova Naučno-stručnog skupa o prirodnim vrednostima i zaštiti životne sredine "Naša ekološka istina"*, 294-298.
- Marković, Z., Mitrović-Tutunđić, V., and B. Miljanović (1997b). Effect of pollution on the macrozoobenthos diversity and structure in the river Obnica (Serbia, Yugoslavia). *Ekologija* **32** (2), 37-46.
- Miljanović, B. (2001). Makrozoobentos reka Kolubare, Obnice, i Jablanice, 80 pp. Zadužbina Andrejević, Belgrade.
- Pantle, R., and H. Buck (1955). *Die biologische Überwachung der Gewässer und die Darstellung der Ergebnisse*, 604 pp. Gas. und Wasserfach.
- Pielou, E. C. (1984). *The Interpretation of Ecological Data - A Primer on Classification and Ordination*, 265 pp. Wiley-Interscience Publication, New York-Chichester-Brisbane-Toronto-Singapore.
- Rodgers, L. R., and W. A. Nicewander (1988). Thirteen ways to look at the correlation coefficient. *Am. Statistician* **42** (1), 59-66.
- Shannon, C. E., and W. Weaver (1949). *The Mathematical Theory of Communication*. Univ. of Illinois Press, Urbana, IL.
- Simić, V. (1996). *Mogućnosti ekološkog monitoringa rečnih ekosistema Srbije na osnovu makrozoobentosa*. Doctoral Dissertation, University of Belgrade, Belgrade.
- Studija WFD (2005). *Studija identifikacije vodnih tela i preliminarne identifikacije značajno izmenjenih i veštačkih vodnih tela na SCG delu sliva Dunava (prema zahtevima Člana 5 i Aneksa II ODV), Aneks 3 - Sliv Save*, 63 pp. Serbian Ministry of Agriculture, Forestry, and Water Management; and Jaroslav Černi Institute of Water Management, Belgrade.
- Schwartz, U., and W. Kraier (2008). Hydromorphology, In: *Joint Danube Survey 2, Final Scientific Report* (Eds. I. Liška, F. Wagner, and J. Slobodnok), 32-40. ICPDR, Vienna.
- YUFROW (1985). *Yugoslav Federal Regulations on Waters* (Eds. A. Code and S. Komarčević), 61 pp. Association for Water Technology, Belgrade.

АКВАТИЧНИ МАКРОБЕСКИЧМЕЊАЦИ РЕКЕ ЈАБЛАНИЦЕ У СРБИЈИ

КАТАРИНА С. СТЕФАНОВИЋ¹, ВЕРА П. НИКОЛИЋ², БОЈАНА П. ТУБИЋ¹,
ЈЕЛЕНА М. ТОМОВИЋ¹, АНА Д. АТАНАЦКОВИЋ¹, В. М. СИМИЋ³ и М. М. ПАУНОВИЋ¹

¹Институт за биолошка истраживања “Синиша Станковић”, 11000 Београд, Србија

²Институт за зоологију, Биолошки факултет, Универзитет у Београду, 11000 Београд, Србија

³Институт за биологију и екологију, Природно-математички факултет,
Универзитет у Крагујевцу, 34000 Крагујевац, Србија

Истраживања заједнице акватичних макробескичмењака вршена су током 2005. и 2006. године на четири локалитета реке Јабланице, десног саставка Колубаре. Укупно је забележено 57 таксона. Најразноврсније групе су биле *Ephemeroptera*, *Trichoptera* и *Plecoptera*. **Најбројнији таксон**

је *Rhitrogena semicolorata* Gr. Добијени резултати представљају основу за процену утицаја изградње бране на статус воде реке Јабланице и могу бити коришћени као модел за испитивање утицаја хидроморфолошких промена на водене екосистеме уопште.

Indicative status assessment of the Danube River (Iron Gate sector 849 - 1,077 rkm) based on the aquatic macroinvertebrates

Vanja Marković¹, Ana Atanacković¹, Bojana Tubić¹, Božica Vasiljević¹,
Margareta Kračun¹, Jelena Tomović¹, Vera Nikolić² and Momir Paunović¹

¹ University of Belgrade, Institute for Biological Research "Siniša Stanković", Despota Stefana 142, 11000 Belgrade, Serbia; e-mail: vanjam@ibiss.bg.ac.rs

² University of Belgrade, Faculty of Biology, Department of Zoology, Studentski trg 16, 11000 Belgrade, Serbia

Abstract

The aim of this paper is to present the results of the ecological status assessment of the Danube River in the Iron Gate Region (rkm 849 to 1077), based on the analysis of the macrozoobenthos community. The investigation was performed in September 2011. The following metrics were used: Saprobic Index (Zelinka & Marvan), BMWP (Biological Monitoring Working Party) and ASPT (Average Score Per Taxon) indices, participation of Tubificidae (% Tubificidae), total number of taxa, number of gastropods and bivalves taxa and Shannon's Diversity Index. Based on the value of the selected metrics, the status of the Danube in the Iron Gate stretch was assessed as moderate (class III). A total of 61 macroinvertebrate taxa were recorded. With regard to the taxa richness, the dominant components of the community were found to be Insecta, Oligochaeta and Mollusca. With respect to the percentage participation/relative abundance, Mollusca and Crustacea were found to be the principal components.

Keywords: Danube River, Iron Gate, macrozoobenthos community, water quality

Introduction

The Serbian part of the Danube is 588 km long and covers the middle stretch and a part of the lower stretch. The major part of the Serbian sector of the Danube (358 km) belongs to the Pannonian plain. In this section the Danube is a typical lowland river with a slope of 0.05–0.04 ‰ (Paunović et al., 2005). The Iron Gate sector is transitional (between the middle (Pannonian) and the lower part of the Danube), and in many aspects (geomorphology, hydromorphology, etc.) is specific. Due to the dam construction at 943 rkm (Djerdap I; 1970), a large, 100 km long, reservoir was formed. After the damming of the Danube, the flow rate was slowed down upstream to Slankamen (1,215 rkm). In 1984, another dam (Iron Gate II, 863 rkm) was built.

Besides hydromorphological pressures, the Iron Gate sector is influenced by the urban waste waters from numerous settlements within the stretch, as well as by the Kostolac Power Plant. The Iron Gate Reservoir therefore acts as a depository of sediment and adsorbed pollutants. Through water-sediment interaction, water quality may also be affected, although its extent is yet to be studied (Paunović et al., 2005).

The Serbian reach of the Danube has been extensively examined since the early sixties (for details see Paunović et al., 2007). The results of studies referring primarily to water pollution problems (Janković & Jovićic, 1994) showed that water quality in the Serbian reach of the Danube had deteriorated in comparison to the 1960–1970 period. The long-term damaging impacts resulted mostly from the increase of untreated industrial and communal effluents, originating from rapidly growing cities along the river banks, from leaching and erosion of extensively fertilized agricultural soils, as well as from changes in the hydrological regime induced by the damming of the Danube and the creation of the hydropower reservoirs Djerdap (Iron Gate) I and II.

The aim of this work is to provide results on the ecological status assessment of the Iron Gate (Djerdap) stretch of the Danube, based on the national legislation (Službeni Glasnik RS, 74/2011). According to the national water body delineation, the Serbian stretch of the Danube River covers nine water bodies (Službeni Glasnik RS, 96/2010) and four of them are situated within the investigated stretch - D_1, D_2, D_3 and D_4.

Material and Methods

Samples were collected in September 2011 at seven sampling sites (Figure 1, Table 1). The semi-quantitative sampling was performed using a hand net (25x25 cm, 500 µm mesh size). The multi-habitat sampling procedure (Hering, 2004) was applied. The samples were preserved using 4% formaldehyde solution and further processed in the laboratory. The identification was carried out in accordance with the recommendation on the required taxonomic level (Schmidt-Kloiber & Nijboer, 2004).

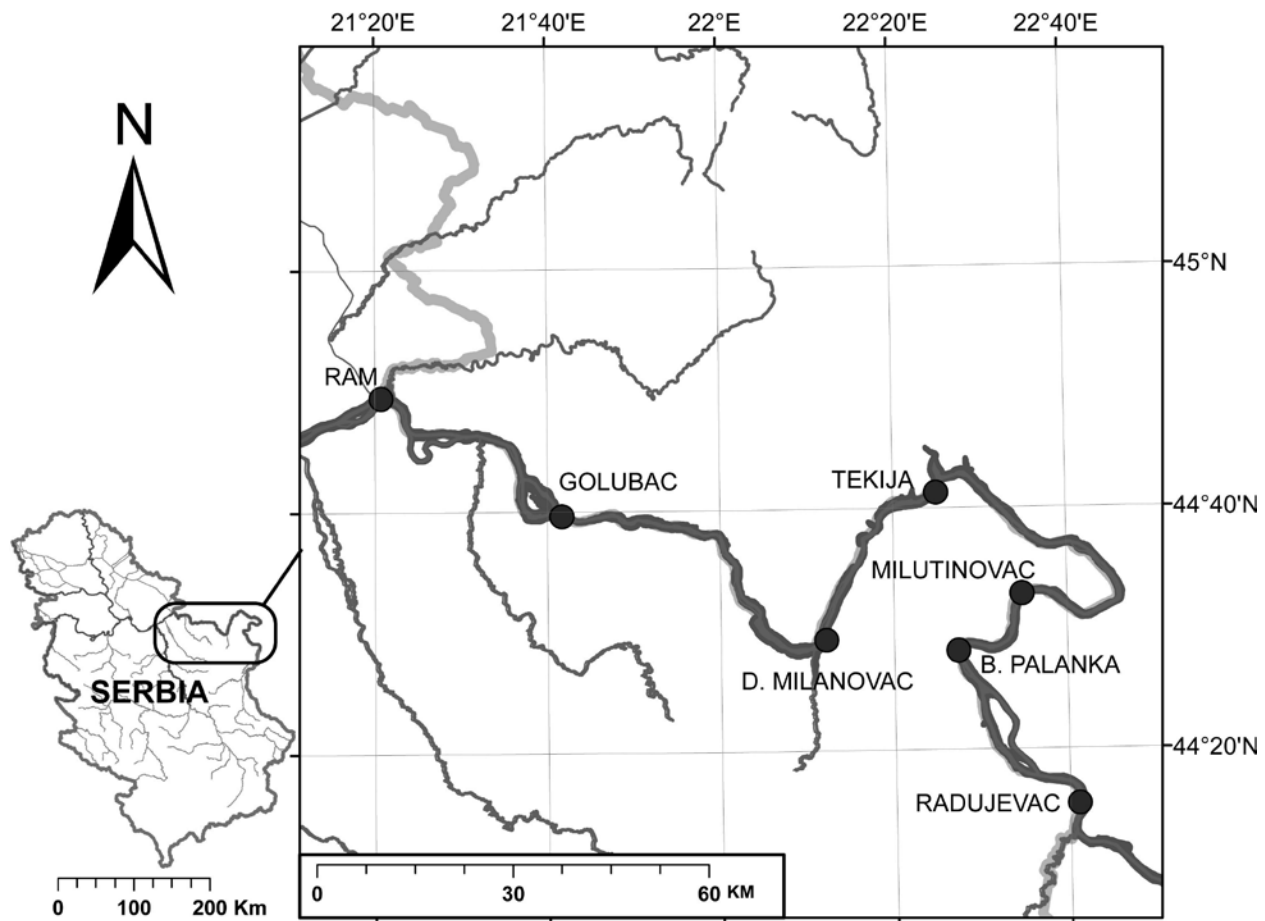


Figure 1: Map of the sampling sites

Table 1: Sampling sites

	Ram	Golubac	D. Milanovac	Tekija	B. Palanka	Milutinovac	Radujevac
Latitude	44° 48.905'	44° 39.634'	44° 28.518'	44° 41.167'	44° 27.908'	44° 33.066'	44° 14.813'
Longitude	21° 19.858'	21° 40.331'	22° 11.277'	22° 24.600'	22° 27.097'	22° 34.368'	22° 40.733'
Altitude	68	66	63	56	/	/	32
River Km	1077	1040	991	954	/	/	849
Sector	6	7	7	7	7	7	8
Water Body	D_4	D_3	D_3	D_3	D_2	D_2	D_1

The following metrics were used to evaluate the ecological status: Zelinka and Marvan Saprobic Index (SI, Zelinka & Marvan, 1961), BMWP and ASPT scores (Armitage, 1983), Shannon's Diversity Index (Shannon, 1948) and percentage participation of Tubificidae in the total macroinvertebrate community (% Tubificidae). The taxa richness parameters (total number of species, number of species of bivalves and number of species of gastropods) were also considered as the metrics for the ecological status

assessment. The saprobiological analysis was performed using a list of bioindicator organisms according to Moog (Moog, 1995). The metrics calculation was done using AQEM software (AQEM, 2002).

The indicative status assessment was performed according to relevant national regulations (Službeni Glasnik RS, 74/2011).

Results and Discussion

A total of 61 macroinvertebrate taxa were recorded (Table 2). The overall recorded taxa richness is slightly lower than in some of the previous (more recent) investigations of the Danube River in Serbia (84 - Paunović et al., 2005; 74 - Paunović et al., 2007), as well as in some other similar watercourses in Serbia (e.g. V. Morava River – 84 taxa; Marković et al., 2011). On the other hand, it is significantly higher than in some other investigations (26 - Jakovčev et al., 2005). Having in mind that only the Iron Gate sector was taken into consideration during our investigation, as well as having in mind that the investigated sector is under considerable pressure caused by nutrient and organic pollution, as well as hydromorphological modification, the recorded taxa richness could be characterized as high. Similar community composition was recorded in the Serbian stretch of the Sava River, with a total of 62 macroinvertebrate taxa (Paunović et al., 2008).

Table 2: Taxa recorded within the investigated stretch

TAXON NAME
Nematoda
Oligochaeta
<i>Aulophorus furcatus</i> (Oken, 1815)
<i>Nais</i> sp.
<i>Nais bretscheri</i> (Michaelsen, 1899)
<i>Nais elinguis</i> (Müller, 1773)
<i>Ophidonais serpentina</i> (Müller, 1773)
<i>Stylaria lacustris</i> (Linnaeus, 1767)
<i>Branchiura sowerbyi</i> (Beddard, 1892)
<i>Limnodrilus claparedeanus</i> (Ratzel, 1868)
<i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> (Claparede, 1862)
<i>Limnodrilus udekemianus</i> (Claparede, 1862)
<i>Tubifex tubifex</i> (Müller, 1774)
<i>Potamothrix hammoniensis</i> (Michaelsen, 1901)
<i>Psammoryctides barbatus</i> (Grube, 1861)
Enchytraeidae
Lumbricidae
<i>Stylodrilus heringianus</i> (Claparede, 1862)
Hirudinea
<i>Glossiphonia</i> sp.
<i>Piscicola geometra</i> (Linnaeus, 1761)
Mollusca
Gastropoda
<i>Bythinia tentaculata</i> (Linnaeus, 1758)
<i>Holandriana holandrii</i> (Pfeiffer, 1828)
<i>Lithoglyphus naticoides</i> (Pfeiffer, 1828)
<i>Lymnea auricularia</i> (Linnaeus, 1758)
<i>Lymnaea stagnalis</i> (Linnaeus, 1758)
<i>Lymnaea</i> sp.
<i>Viviparus acerosus</i> (Bourguignat, 1862)
<i>Viviparus</i> sp.

<i>Theodoxus danubialis</i> (C. Pfeiffer, 1828)	
<i>Theodoxus</i> sp.	
<i>Theodoxus fluviatilis</i> (Linnaeus, 1758)	
<i>Esperiana acicularis</i> (Ferussac, 1823)	
<i>Esperiana esperi</i> (Ferussac, 1823)	
<i>Physa acuta</i> (Draparnaud, 1805)	
Bivalvia	
<i>Corbicula fluminea</i> (Müller, 1774)	
<i>Dreissena polymorpha</i> (Pallas, 1771)	
Crustacea	
Mysida	
<i>Paramysis lacustris</i> (Czerniavsky, 1882)	
Amphipoda	
<i>Corophium curvispinum</i> (Sars, 1895)	
<i>Dikerogammarus villosus</i> (Sowinsky, 1894)	
<i>Dikerogammarus haemobaphes</i> (Eichwald, 1841)	
<i>Dikerogammarus</i> sp.	
<i>Gammarus</i> sp.	
<i>Chaetogammarus ischnus</i> (Stebbing, 1899)	
<i>Obesogammarus obesus</i> (Sars, 1894)	
Insecta	
Odonata	
<i>Aeschna mixta</i> (Latreille, 1805)	
<i>Ischnura elegans</i> (Vander Linden, 1820)	
<i>Ischnura pumilio</i> (Charpentier, 1825)	
<i>Ischnura</i> sp.	
<i>Pyrrhosoma nymphula</i> (Sulzer, 1776)	
<i>Sympetrum fonscolombei</i> (Selys, 1840)	
Ephemeroptera	
<i>Baetis lutheri</i> (Müller-Liebenau, 1967)	
<i>Baetis</i> sp.	
<i>Caenis horaria</i> (Linnaeus, 1758)	
<i>Caenis luctuosa</i> (Burmeister, 1838)	
Trichoptera	
<i>Hydropsyche</i> sp.	
Diptera	
Ceratopogonidae	
<i>Pericoma</i> sp.	
Chironomidae	
Chaoboridae	
Limoniidae	
Heteroptera	
Mesoveliidae	
Bryozoa	
Plumatellidae	
No. of Taxa	61

The dominant components of the community (with respect to taxa richness) were found to be Insecta (with 17 taxa), Oligochaeta and Mollusca (16 species). The diversity of other taxa groups was significantly lower: Crustacea 8, Hirudinea 2, while groups Nematoda and Bryozoa were represented with only one species each. Among Insecta, the

dominant groups were found to be Odonata (6 species), Diptera (5 species), and Ephemeroptera (4 species). Among aquatic worms (Oligochaeta), Tubificidae and Naididae were found to be the most diverse families (with 12 taxa). Bearing in mind that one of the most abundant taxa Chironomidae (Insecta: Diptera) were not identified at the species level, due to the complex identification process and a possibility to identify only fourth instars larvae with a high level of confidence, the taxa richness of the investigated stretch is certainly higher.

With regard to the percentage participation/relative abundance, Mollusca and Crustacea were found to be the principal component of the community with

34.6 and 32.9 %, respectively. The most abundant taxa were found to be *Dikerogammarus villosus* (17.6%), Chironomidae (14.2%), *Theodoxus fluviatilis* (12.3%) and *Paramyysis lacustris* (11.3%). The Killer Shrimp (*D.villosus*) was found to be present in all samples and was particularly abundant at the Donji Milanovac sampling site (67.8%). The second most abundant taxa (Chironomidae) were the most abundant at the Ram site (32.2%).

The values of used parameters and estimated ecological status classes are given in tables 3 (for sampling sites) and 4 (for water bodies, as well as assessment for the investigated stretch, based on each selected parameter).

Table 3: The values of examined parameters at sampling sites

SAMPLING SITE	Ram	Golubac	Donji Milanovac	Tekija	Bačka Palanka	Milutinovac	Radujevac
Parameter values							
No. of TAXA	30	18	16	7	14	24	23
No. of Gastropoda Taxa	5	3	0	0	5	5	9
No. of Bivalvia Taxa	2	1	1	1	1	0	1
Shannon's Diversity Index	2.36	1.61	1.32	1.33	2.28	1.88	1.91
SI (Zelinka & Marvan)	2.38	1.99	2.10	1.98	1.97	2.67	2.01
BMWP Score	47	24	19	20	48	67	26
ASPT Score	4.7	4	3.8	5	4.8	4.79	3.71
% Tubificidae	0.36	0.25	0.08	0.02	0	0	0.08
Status assessment							
No. of TAXA	1	1	2	4	2	1	1
No. of Gastropoda Taxa	S	S	F	F	S	S	S
No. of Bivalvia Taxa	F	F	F	F	F	F	F
Shannon's Diversity Index	1	2	3	3	1	2	2
SI (Zelinka & Marvan)	2	1	1	1	1	3	1
BMWP Score	2	4	4	4	2	1	4
ASPT Score	2	3	3	2	2	2	3
% Tubificidae	3	3	1	1	1	1	1
Overall status	3	3	3	3	3	3	3

Legend: 1 - very good ecological status; 2 - good ecological status; 3 - moderate ecological status; 4 - poor ecological status; S - satisfy to meet criteria for good ecological status; F - fail to meet criteria for good ecological status.

Table 4: The values of examined parameters with regard to water bodies covered by the investigation

Water Body	D4	D3	D2	D1	Mean value for stretch
Parameter values					
No. of TAXA	30	14	19	23	21.6
No. of Gastropoda Taxa	5	1	5	9	5
No. of Bivalvia Taxa	2	1	0.5	1	1.12
Shannon's Diversity Index	2.36	1.42	2.08	1.91	1.94
SI (Zelinka & Marvan)	2.38	2.02	2.32	2.01	2.18
BMWP Score	47	21	57.5	26	37.9
ASPT Score	4.7	4.27	4.79	3.71	4.37
% Tubificidae	0.36	0.12	0	0.08	0.14
Status assessment					
Water Body	D1	D2	D3	D4	Overall stretch assessment
No. of TAXA	1	2	1	1	1
No. of Gastropoda Taxa	S	F	S	S	S
No. of Bivalvia Taxa	F	F	F	F	F
Shannon's Diversity Index	1	3	2	2	2
SI (Zelinka & Marvan)	2	1	2	1	2
BMWP Score	2	4	1	4	3
ASPT Score	2	2	2	3	2
% Tubificidae	3	2	1	1	2

Legend: 1 - very good ecological status; 2 - good ecological status; 3 - moderate ecological status; 4 - poor ecological status; S - satisfy to meet criteria for good ecological status; F - fail to meet criteria for good ecological status.

Based on the analyses of all parameters, the ecological status of the selected part of the Danube River could be assessed as moderate (class III).

Although some of the tested parameters indicated good ecological status and above in the majority of cases (e.g. number of taxa, except for Tekija, and Saprobic index, except for Milutinovac), other parameters indicated the presence of stress (Tables 3 and 4), which influenced the overall status assessment for the investigated stretch. This illustrates the necessity for using several parameters to effectively evaluate the ecological status of water bodies (Marković et al., 2011).

There is a need for further improvement of the national status assessment system (Službeni Glasnik RS, 74/2011), in particular finding a way to combine the metrics in one value, which would involve the pondering of each parameter, based on its significance for the specific water type assessment as well as its indicator value for a particular group of pressures.

References

AQEM Consortium, (2002). Manual for the application of the AQEM system. A comprehensive method to assess European streams using benthic macroinvertebrates developed for the purpose of the Water Framework Directive. Version 1.0 (www.aqem.de), February 2002, 202 pp.

Armitage, P.D., Moss, D., Wright, J.F. and M.T. Furse, (1983). The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running-water sites. *Water Research.*, 17, 333-347.

European Commission, (2000). Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council. Establishing a frame-work for Community action in the field of water policy.

Hering, D., Verdonschot, P.F.M., Moog, O. and L. Sandin (eds), (2004). Overview and application of the AQEM assessment system. *Hydrobiologia* 516: 1–20.

Jakovčev-Todorović, D., Paunović, M., Stojanović, B., Simić, V., Djikanović, V., and A. Veljković, (2005). Observation of the quality of Danube water in the Belgrade region based on benthic animals during periods of high and low water conditions in 2002. *Archives of Biological Sciences, Belgrade*, 57 (3), 237-242.

Janković, D. and M. Jovčić (eds), (1994). The Danube in Yugoslavia – Contamination, Protection and Exploitation. Publ. Institute for Biological Research "S. Stankovic", Institute for the Development of Water Resources "J. Cerni", Commission of the European Communities, Brussels, Belgium, Belgrade, 220 pp.

- Marković, V., Atanacković, A., Tubić, B., Vasiljević, B., Simić, V., Tomović, J., Nikolić, V. and M. Paunović, (2011). Indicative status assessment of the Velika Morava River based on the aquatic macroinvertebrates. *Water Research and Management*, Vol. 1, No. 3, 47-53.
- Moog, O. (ed.), (1995). *Fauna Aquatica Austriaca – A Comprehensive Species Inventory of Austrian Aquatic Organisms with Ecological Notes*. Federal Ministry for Agriculture and Forestry, Wasserwirtschaftskataster Vienna: loose-leaf binder.
- Paunović, M., Simić, V., Jakovčev-Todorović, D. and B. Stojanović, (2005). Results of investigating the macroinvertebrate community of the Danube River on the sector upstream from the Iron Gate (km 1083-1071). *Archives of Biological Sciences, Belgrade*, 57 (1), 57-63.
- Paunović, M., Jakovčev-Todorović, D., Simić, V., Stojanović, B. and P. Cakić, (2007). Macroinvertebrates along the Serbian section of the Danube River (stream km 1,429–925). *Biologia, Bratislava*, 62/2: 214–221
- Paunović, M., Borković, S., Pavlović, S., Saičić, Z., and P. Cakić, (2008). Results of the 2006 Sava survey – Aquatic macroinvertebrates. *Archives of Biological Sciences, Belgrade*, 60 (2), 265-271.
- Robert, S., Birk, S. and M. Somenhauser, (2003) Typology of the Danube River – part 1: Top-down approach. In: UNDP/GEF Danube Regional Project, Activity 1.1.6, Typology of Surface Waters and Definition of Reference Conditions for the Danube River –Final report, pp. 51–59.
- Schmidt-Kloiber, A. and R.C. Nijboer, (2004). The effect of taxonomic resolution on the assessment of ecological water quality classes. *Hydrobiologia* 516: 269–283.
- Shannon, C. E. (1948). A mathematical theory of communication. *The Bell System Technical Journal*, 27, 379–423
- Službeni Glasnik RS, 96/2010. Regulation on establishment of surface and groundwater bodies.
- Službeni Glasnik RS, 74/2011. The parameters of ecological and chemical status of surface waters and parameters of the chemical and quantitative status of groundwater.
- Zelinka, M. and P. Marvan (1961). Zur Präzisierung der biologischen Klassifikation der Reinheit fließender Gewässer. *Arch.Hydrobiol.* 57: 389–407