



ANEXA L
METODE UTILIZATE PENTRU CULEGEREA INFORMAȚIILOR
PRIVIND SITUAȚIA MEDIULUI

CUPRINS

SECȚIUNEA I METODE UTILIZATE PENTRU CULEGEREA INFORMAȚIILOR PRIVIND SPECIILE ȘI/SAU HABITATELE DE INTERES COMUNITAR AFECTATE	3
1.1 MONITORIZAREA FITOPLANCTONULUI.....	4
1.1.1 Modalități de colectare	4
1.1.2 Fixarea probelor	5
1.1.3 Concentrarea probelor.....	5
1.1.4 Analiza calitativă.....	5
1.1.5 Analiza cantitativă	6
1.2. MONITORIZAREA ZOOPLANCTONULUI.....	8
1.3.MONITORIZAREA ZOOBENTOSULUI ȘI HABITATELOR MARINE	11
1.3.1 Metodologia utilizată	11
1.3.2 Colectarea eșantioanelor de probă din zonele bentale marine	12
1.4.MONITORIZAREA SPECIILOR DE PĂȘĂRI DIN ZONA PROIECTULUI.....	14
1.4.1 Metode de monitorizare a speciilor de păsări de interes comunitar	14
1.5. MAMIFERE MARINE	16
1.5.1 Metoda transectelor liniare	16
1.5.2 Monitorizarea din punct fix a cetaceelor marine	17
SECȚIUNEA II METODE PRELEVARE ȘI ANALIZĂ PROBE DE SEDIMENT	18
2.1 ETAPELE SPECIFICE PRELEVĂRII PROBELOR DE SEDIMENT.....	18
2.2 METODE DE ANALIZĂ.....	18
SECȚIUNEA III METODE PRELEVARE ȘI ANALIZĂ PROBE DE APĂ	19
3.1 ETAPELE SPECIFICE PRELEVĂRII PROBELOR DE APĂ.....	19
3.2 METODE DE ANALIZĂ PENTRU PROBELE DE APĂ	20
SECȚIUNEA IV MĂSURI PENTRU ASIGURAREA ȘI CONTROLUL CALITĂȚII (QA/QC).....	20

SECȚIUNEA I METODE UTILIZATE PENTRU CULEGEREA INFORMAȚIILOR PRIVIND SPECIILE ȘI/SAU HABITATELE DE INTERES COMUNITAR AFECTATE

Activitățile necesare pentru îndeplinirea obiectivelor propuse pentru culegerea informațiilor de teren au fost desfășurate în următoarele etape:

1) Etapa de documentare în cadrul căreia au fost analizate toate informațiile și datele disponibile, deținute de către titularul proiectului din procedurile anterioare de reglementare referitoare la caracteristicile tehnice ale proiectului, informații privind prezența sau absența unor specii și habitatele de interes comunitar din zona proiectului, distribuția speciilor și habitatelor la nivelul proiectului și la nivelul ANPIC, date privind natura și intensitatea factorilor de mediu, date privind acțiunea factorilor antropogeni – categoria de folosință a terenului din zona proiectului și tipul de proprietate. De asemenea au fost consultate datele și informațiile publice disponibile pe paginile oficiale ale autoritățile naționale și europene din domeniul protecției mediului (MMAP, ANPM, ANANP, EUNIS, EIONET).

2) Etapa de planificare și pregătire.

După identificarea informațiilor și datelor necesare pentru fundamentarea capitolelor de evaluare a impactului din cadrul studiului de evaluare adecvata, și verificarea disponibilității acestora, s-a stabilit nivelul de detaliu adecvat pentru desfășurarea programului de monitorizare și au fost selectate metodologiile potrivite pentru îndeplinirea obiectivelor. Astfel, s-a realizat o planificare a acțiunilor pentru, identificarea în teren a speciilor țintă și delimitarea habitatelor de interes. S-a stabilit zona de studiu și perioada optimă de colectare a datelor pe teren, s-a stabilit protocolului de lucru.

3) Etapa de teren (colectarea datelor) este una dintre cele mai importante etape deoarece de natura și corectitudinea datelor colectate pe teren depind rezultatele studiilor și implicit și atingerea obiectivelor propuse. În cadrul acestei etape, colectarea datelor s-a realizat prin metode utilizate și cu ocazia desfășurării altor proiecte și recunoscute din punct de vedere științific, din care au rezultat date calitative și cantitative suficiente pentru analiza impactului proiectului propus asupra obiectivelor ariilor naturale protejate.

4) Etapa de prelucrare și analiza a datelor

Aceasta etapa are ca scop extragerea din datele brute colectate pe teren a tuturor informațiilor existente prin metode de analiza statistica și multivariată. Pentru analiza datelor se pot utiliza, în funcție de natura datelor, o serie de metode specifice studiilor de ecologie dintre care indici populaționali și biocenotici sintetici etc. Analizele au ca rol identificarea principalilor factori de mediu care conditionează structura, dinamica și funcționarea biocenozelor precum și identificarea atributelor care definesc starea favorabilă pentru conservare și a valorilor acestora. Spre exemplu parametrii de bază în studiul comunităților benthice includ liste de specii, precum și abundența și biomasa fiecărei specii. Abundența poate fi transformată în frecvență, acoperire (mai ales în cazul organismelor vegetale) sau densitate, pentru comparații.

5) Etapa de sinteza si decizie

Rezultatele obținute vor face posibilă identificarea timpurie a unor tendințe dinamice având un rol important în predicția modificărilor structurale și funcționale, fapt ce permite luarea unor măsuri, în timp util, pentru conservarea acestora. Cunoașterea bazată pe informațiile obținute în cadrul acestor etape oferă argumentele științifice necesare luării deciziilor privind cuantificarea impacturilor și posibilitatea afectării stării de conservare a speciilor și habitatelor de interes comunitar.

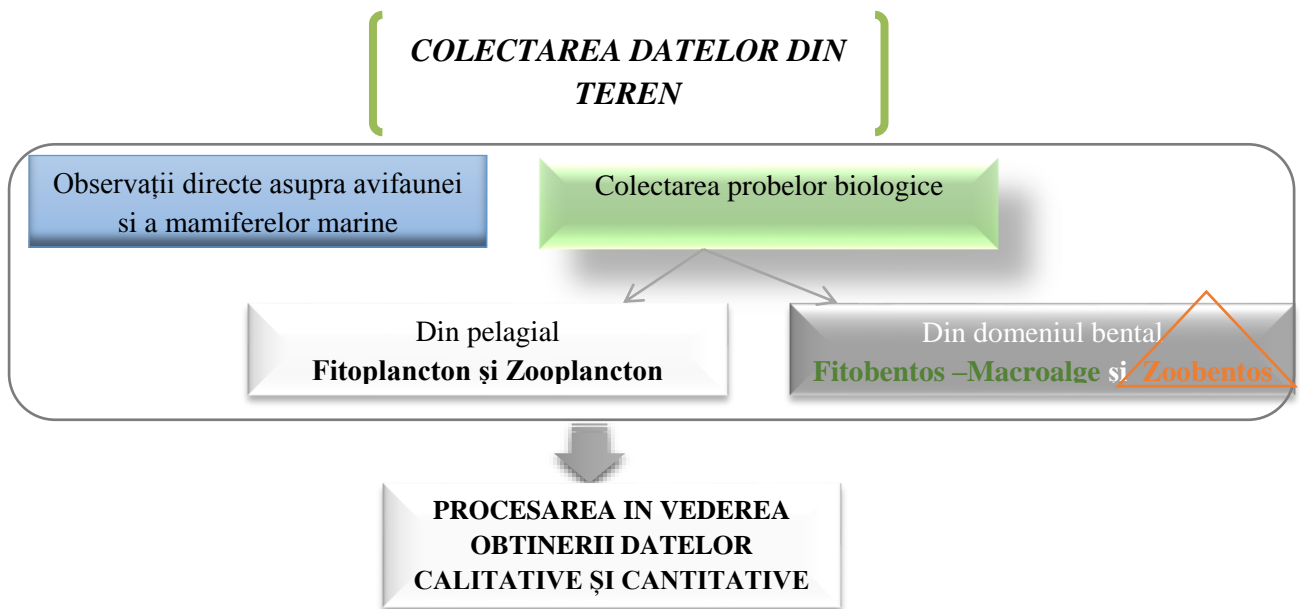


Figura 1 Principalele etape ale activității de teren (Paraschiv, 2023)

1.1 MONITORIZAREA FITOPLANCTONULUI

Modul de colectare a probelor de fitoplancton iar ulterior de prelucrare și păstrare a acestora, sunt relativ dificile, datorită caracteristicilor foarte variate ale organismelor ce îl formează, pe de o parte din punct de vedere a dimensiunii (începând de la sub 1 μm) iar pe de alta parte datorită compoziției lor biochimice diferite.

1.1.1 Modalități de colectare

Datele care se obțin în urma prelevărilor sunt calitative și cantitative, ca urmare și modul de colectare diferă.

Probele **calitative** de fitoplancton se colectează cu ajutorul filelor fitoplanctonice, care sunt de diferite tipuri la care poate varia: dimensiunea (diametrul, lungimea), materialul din care sunt confecționate, dimensiunea ochiurilor, etc.

Probele **cantitative** de fitoplancton se colectează prin prelevarea unui volum precis de apă din stațiile și adâncimile stabilite.

Fiecare probă trebuie însoțită de o fișă în care se vor consemna datele de identificare a probelor: modalitatea de recoltare, data și ora recoltării, coordonatele geografice, adâncimea de la care s-a recoltat proba, starea vremii, starea mării, temperatura apei.

1.1.2 Fixarea probelor

În funcție de obiectivele studiului, probele se pot analiza după recoltare și în acest caz, pentru analiza imediată, în laborator, probele pot fi în menținute în stare vie 10-12 ore, dacă sunt ținute la rece (dar nu congelate) și la întuneric

Cel mai adesea însă, probele trebuie fixate imediat după colectare, pe teren, pentru a evita degradarea celulelor sau coloniilor de alge din probă, și în acest caz, pentru fixare se pot folosi o serie de soluții, fiecare cu avantajele și dezavantajele lor (soluție Lugol, soluție de formaldehidă, alcool etilic absolut).

Metodele și soluțiile folosite trebuiesc alese în așa fel încât organismele vii să fie omorâte cât mai rapid, pentru a se păstra toate caracteristicile lor (asemănător cu aspectul și particularitățile lor în stare vie).

1.1.3 Concentrarea probelor

Deoarece de cele mai multe ori, numărul de celule algale dintr-un volum de apă este foarte mic, pentru ușurarea examinării acestora se recomandă concentrarea probelor de fitoplancton, care se poate face prin: sedimentare, filtrare sau centrifugare.

În cazul studiului de față s-a folosit metoda prin sedimentare.

Concentrarea prin sedimentare- probele de fitoplancton se introduc într-un vas cilindric cu fundul plat și se lasă timp de două -trei zile într-un loc ferit de lumină și la temperatură constantă. După acest interval de timp, celulele algale se depun, astfel încât se poate trece la sifonarea probei, adică la eliminarea supernatantului cu ajutorul unei pipete Pasteur sau unui tub de sticlă ce se continuă cu un tub flexibil de cauciuc. Sifonarea începe de la suprafața probei spre fundul sticlei și se face cu atenție și lent, fără a mișca sticla cu proba; operațiunea se oprește când nivelul lichidului din probă a ajuns la aproximativ 2 cm. deasupra fundului vasului de sticlă. Înainte și după sifonare, se măsoară și se notează cu precizie volumul probei.

1.1.4 Analiza calitativă

Proba astfel pregătită se omogenizează și din ea se ia cu ajutorul unei pipete o picătură care se pune pe lama port-obiect. Se aplică cu atenție o lamelă, și se analizează la microscop. Se notează fiecare taxon (gen, specie) observat.

OBS. Lamele și lamelele folosite se vor spăla și degresa după fiecare utilizare, după care se șterg cu tifon sau cu o bucată de pânză moale.

1.1.5 Analiza cantitativă

1.1.5.1 Calcularea parametrilor populaționali: densitate medie și biomasa medie

a) **determinarea abundenței numerice** – constă în aprecierea numărului de indivizi din fiecare specie și raportarea lor la unitatea de volum. Pentru aceasta se folosește o cameră de numărare, constituită dintr-o lamă groasă, cu o adâncitură pe fundul căreia este gravată o rețea de linii drepte, care conturează o serie de pătrate cu suprafețe cunoscute. Cunoscându-se suprafața și înălțimea camerei, se determină cu exactitate volumul de apă examinat. Orice cameră de numărare are inscripționate tipul, înălțimea camerei, suprafața pătratului mic și cea a pătratului mare.

Cel mai frecvent este folosită camera de tip Burker-Turk. Aceasta prezintă două câmpuri carioate despărțite între ele printr-un șanț. Fiecare câmp este compus dintr-o rețea de pătrățele care însumează o suprafață totală de 9 mm², ceea ce înseamnă că ea conține 9 pătrate de câte 1 mm², fiecare delimitate prin linii triple. Pătratul central cu suprafața de 1 mm², este împărțit prin linii triple în 16 pătrățele mari cu suprafața de 1/25 mm². Fiecare pătrățel mare este împărțit la rândul lui, prin linii simple în 16 pătrățele mici, cu suprafața de 1/400 mm². Cele patru pătrate cu suprafața de câte 1 mm², situate în colțurile rețelei, sunt împărțite și ele în câte 16 pătrățele cu suprafața de 1/25 mm², separate între ele prin linii duble. Adâncimea camerei de numărare este de 0,1 mm, prin urmare volumul lichidului la nivelul fiecărui pătrățel este de 1/400 x 1/10 = 1/4000 mm³.

Modul de lucru: cu ajutorul unei pipete se pune o picătură din proba de analizat pe rețeaua camerei de numărare; lama se acoperă cu o lamelă, și se examinează la microscop, la început cu obiectivul mic (10x), iar apoi treptat se trece la cele mari (20x, 40x). Se plimbă lama în câmpul microscopului într-o anumită ordine și se numără toate organismele observate. Apoi se face un calcul conform formulei:

$$A = \frac{a \times n}{N \times v}$$

În care:

A – densitatea numerică a fitoplanctonului exprimată ca număr de celule/l;

a – numărul de organisme numărate cu ajutorul camerei de numărare;

n – volumul de apă după concentrare;

N – volumul probei prelevate, în litri;

V – volumul de apă din care s-au numărat organismele fitoplanctonice, în ml.

b) **determinarea biomasei fitoplanctonului** – adică estimarea cantitativă a masei totale a microfitelor pelagice dintr-un anumit volum de apă. Biomasa totală se poate determina plecând de la valorile abundenței numerice a acestuia și luând în calcul volumul celular mediu, specific fiecărei populații componente. Se consideră că densitatea globală a protoplasmei celulei algale este aproximativ egală cu 1. Deci, determinând volumul total al fiecărei populații algale, și pe această bază, volumul însumat al fitoplanctonului, se poate calcula biomasa acestuia.

Modul de lucru: pentru determinarea volumului celular realizat de fiecare populație, se determină volumul celular mediu, iar valoarea respectivă se înmulțește cu abundența numerică a populației respective. Volumul celular mediu se determină prin măsurători la microscop asupra celulelor, asemuind forma acestora cu diverse forme geometrice (cilindru, sferă, con, etc) sau **folosind**

anumite liste, deja întocmite care cuprind greutatea medii ale celor mai întâlnite alge din fitoplancton.

Volumul celular total al fiecărei specii în parte se calculează prin înmulțirea volumului celular mediu (exprimat în μm^3) cu valoarea abundenței numerice a populației respective (nr. de exemplare/l).

1.1.5.2 Echipamente și dispozitive utilizate

Pentru colectare: filee planctonice de diferite tipuri, recipiente din sticlă sau de plastic de diferite mărimi, carnet de teren, instrument de scris (creion, pix) etichete, geantă frigorifică;

Pentru fixare și concentrare: vase cilindrice de sedimentare, flacoane de sticlă, pipete Pasteur, tuburi de sticlă, tuburi flexibile de cauciuc, membrane de filtrare, dispozitive pentru fixarea membranelor filtratoare, centrifugă, diferite substanțe necesare fixării.

Pentru studiul calitativ și cantitativ: lame port-obiect, lamele, tifon, detergent, apă distilată, cameră de numărare, pipete volumetrice, microscop cu putere de mărire de cel puțin 100x. Probele de fitoplancton au fost recoltate urmând procedura prezentată; s-a utilizat concentrarea prin sedimentare, conservarea s-a efectuat în soluție de formaldehidă 20% ; probele au fost sifonate în laborator și concentrate ulterior până la 10 ml.

Estimarile și raportarea rezultatelor, în ceea ce privește analiza cantitativă, s-au făcut la litru (1000ml).

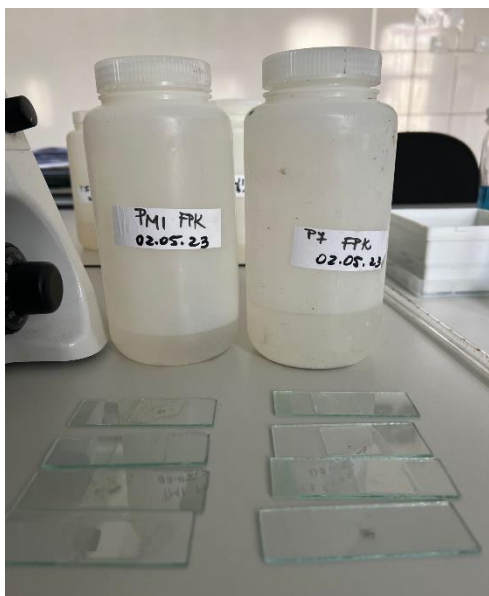
Pentru unele grupe taxonomice identificarea s-a realizat până la specie; în alte cazuri, doar până la gen (figura 2- a,b,c,d,e,f).



a



b



c



d



e



f

Figura 2 Pregătirea și identificarea la microscop a speciilor din probe de fitoplancton

1.2. MONITORIZAREA ZOOPLANCTONULUI

Prelevarea s-a realizat conform procedurilor tipice, pentru colectarea probelor de zooplancton, expuse și cu alte ocazii în rapoartele anterioare. Prelevările au fost efectuate de echipa societății Blumenfield, de la bordul navei de cercetare cu care s-a ieșit pe mare.

A fost folosit un fileu zooplanctonic, cu tracțiune pe verticală, compus din:

- Con de filtrare, prevazut cu plasă/sită și recipient colector.
- Plasa are urmatoarele dimensiuni:

- Gura deschiderii conului filtrator are $\varnothing = 50$ cm; $r = 25$ cm.
- Diametrul ochiului plasei filtratoare este de 500 μ m.
- Lungimea fileului = 140 cm.
- Colector de plancton CP3-75:
 - deschidere $\varnothing = 75$ mm ;
 - capacitate: 290 ml

Pentru a umple recipientul de probă finală de 1litru, s-a imersat fileul de 3 ori și, prin tractarea sa pe verticală, s-a obținut filtratul concentrat, corespunzător; pentru mentinerea in pozitia verticală a fileului s-a folosit lest de 2 kg (fig. 3).

Volumul de apă filtrat, pe o înălțime a coloanei de 1,4 m, corespunzător fiecărei imersiuni a fost de 274, 750 l; în total, 824,25 l de apă de mare filtrați/per probă de zooplancton.



Figura 3– Aspecte ale modului de prelevare a probelor de zooplancton, de către un membru al echipei Blumenfield (foto Blumenfield)

După condiționarea, pe teren, cu soluție de formaldehidă, recipientele (cu un volum de 1 litru) cu probe au fost aduse în laborator, unde au fost lăsate la sedimentat, conform procedurilor.



Figura 4 Recipientele cu probele de zooplancton sedimentate, ce urmează a fi sifonate

Apoi, pe măsura prelucrării acestora fiecare probă a fost sifonată, concentrată și analizată.

Trierea, fiecăreia dintre cele 10 probe, s-a realizat la stereomicroscopul (lupa binocular) și la microscopul Nikon – pentru anumte detalii ale indivizilor unor specii.

Datele obținute au fost introduse în fise de triaj, calculate și raportate la m³ (anexate).

Pentru fiecare dintre cele 10 puncte, s-au calculat densitățile și biomasele, raportate la metru cub.

1.3.MONITORIZAREA ZOOBENTOSULUI ȘI HABITATELOR MARINE

1.3.1 Metodologia utilizată

Structura comunităților bentale este strict dependentă de natura și caracteristicile substratului; modul în care se dispun aceste sedimente, sub influența curenților litorali, determină apariția unor biotopuri caracteristice (cu particularități specifice) în cadrul habitatelor sedimentare; adâncimea coloanei de apă, transparența, gradul de acoperire al platformelor de calcar cu macroalge, selectează organismele și structurează comunitățile bentale. Dintre cele mai semnificative variabile naturale de mediu, care influențează semnificativ compoziția specifică a asociațiilor bentale putem menționa: localizarea în raport cu adâncimea, configurarea reliefului submarin, tipul și natura substratului.

În funcție de cele prezentate, pentru evaluarea inițială a stării mediului în zona de interes a fost selectată modalitatea de abordare a temei de cercetare, metodologia de prelevare a probelor și a dispozitivelor utilizate în scopul prelevării, prelucrării și analizei probelor.

Pentru a surprinde complexitatea sistemelor ecologice, ocuparea habitatelor sedimentare sau calcaroase de către populațiile organismelor bentale, se impune pe lângă o planificare a programului de colectare a probelor/datelor în funcție de condițiile meteorologice, și o adaptare a metodologiei de colectare din perspectiva ipotezelor de lucru formulate, instrumentelor și echipamentelor folosite în acest sens, și nu în ultimul rând a rezultatelor așteptate; un astfel de proces poate fi prezentat sumar prin următorii pași :

- ❖ definirea scopului și obiectivelor studiului;
- ❖ alegerea/combinarea celor mai adecvate metode pentru atingerea scopului și a obiectivelor, precum și identificarea unor variante alternative de completare a seriilor de date;
- ❖ metodologia de examinare a probelor, prelucrare și obținerea datelor primare; realizarea bazei de date în format electronic;
- ❖ valorificarea datelor prin studiul statistic al datelor și formularea informațiilor prin analiza rezultatelor.

Pentru validarea rezultatelor se impune respectarea unor cerințe metodologice statistice care fac referire în primul rând la mărimea unității de probă.

Prin unitate de probă se înțelege o unitate de suprafață/volum prelevată din mediu printr-o singură acționare a unui dispozitiv de prelevare, iar noțiunea de mărime a probei va fi folosită pentru a desemna numărul de unități de probă care sunt prelevate la un moment dat.

Unitățile de probă trebuie:

- ❖ să fie alese astfel încât toate punctele habitatului investigat să aibă șanse egale de a fi selectate (colectare randomizată);
- ❖ să fie în concordanță cu dimensiunile indivizilor populațiilor analizate;
- ❖ să țină seama de efortul de lucru al probelor (se va evita supradimensionarea);
- ❖ să aibă stabilitate, astfel că pe parcursul prelevărilor să rămână de valoare constantă;

- ❖ să poată fi ușor de convertit în unități de suprafață sau de volum;
- ❖ să fie ușor de delimitat în teren

Beneficiul cel mai important al prelevării randomizate este acela de a oferi posibilitatea estimării erorii de prelevare pe baza teoriei probabilității; de gradul de precizie depinde posibilitatea de a compara populațiile studiate, precum și de aplicare a unui număr mare de teste statistice (Gomoiu și Skolka, 2001). Prelevarea simplu randomizată, asigură șanse egale tuturor elementelor sistemului de a se regăsi în unitățile de probă și se aplică în cazul în care structura biotopului este relativ omogenă, nefiind evidente heterogenități între organismele/populațiile aflate în diferite puncte ale ecosistemului.

1.3.2 Colectarea eșantioanelor de probă din zonele bentale marine

Probele sunt reprezentate de eșantioane a căror mărime este convenabil aleasă în funcție de o serie de criterii și care sunt analizate, iar pe baza rezultatelor obținute se fac aprecieri privind structura calitativă și cantitativă a populațiilor de organisme. Pentru colectările propriu-zise cel mai frecvent se utilizează metoda pătratului de probă (sau a carotei, oricum cu arie cunoscută) la distanțe egale de-a lungul unui transect (Gomoiu și Skolka, 2001). În cazul de față, eșantionul a fost obținut mai multe metode care s-au completat și diferite dispozitive care au permis studiul zoocenozelor asociate fiecărui tip de substrat și a diferitelor grupuri faunistice (macro- și meiobentale, epi- și infaunei sedimentofile, Tab. 1)

Tabel 1 Metode și dispozitive de colectare a probelor/datelor de zoobentos aplicate (Paraschiv, 2023)

Nr. crt.	Probe calitative		Probe cantitative (de pe suprafața cunoscută)		Observații
	Metoda de colectare	Echipamentul	Metoda de colectare	Echipamentul	
1	Dragare fără măsurarea lungimii transectului dragat*	Dragă (Fig. 2.b)	Pe transect măsurat și adâncime în sediment constanta*	Dragă	*Pentru macro- și meiobentosul din zona de mica adâncime
2.	Prelevare direct prin scufundare/ scafandru autonom**	Dispozitive de colectare directă: raclor, ciornac de colectare	Prelevare direct prin scufundare/ scafandru autonom**	Dispozitive de colectare directă: cadru de delimitare a "patratului de probă", raclor, ciornac de colectare	Mai ales pentru probele de zoobentos asociate substratului dur (macro- și meio)
3.	/	/	Captura de eșantion sedimentar	Bodengreifer sau corer de suprafață cunoscută Van Veen (Fig. 2.c, 6, 7)	Pentru probe de pe substrat sedimentar (macro- și meio)
4.	Inventar macrofauna bentală	Camera de luat vederi (Fig.3)	/	/	În special, moluște și crustacee dintre nevertebrate,

Nr. crt.	Probe calitative		Probe cantitative (de pe suprafața cunoscută)		Observații
	Metoda de colectare	Echipamentul	Metoda de colectare	Echipamentul	
					pești dintre vertebrate
5.	Scanarea substratului bental într-o zonă de interes	ROV (Fig. 4)	Scanarea substratului bental dintr-o arie de interes/transect de suprafață/lungime cunoscută	ROV	În special pentru macro-epizoofaună

Pentru determinările cantitative a zoobentosului (macro-, meio-) raportarea se realizează la unitatea de suprafață (m²); în cazul in-faunei (segment faunistic care își desfășoară ciclul vital în coloana de sediment, se raportează la volumul de sediment (în general anelidele macrobentale, unele moluște și crustacee).

În prelevarea probelor de sediment este suficient să obținem o probă cât de mică, dar cu structura sedimentului nederanjată; și în cazul prelevării unei probe biologice de bentos mai mari va fi necesară obținerea, de asemenea, a unei probe "nedeteriorate".

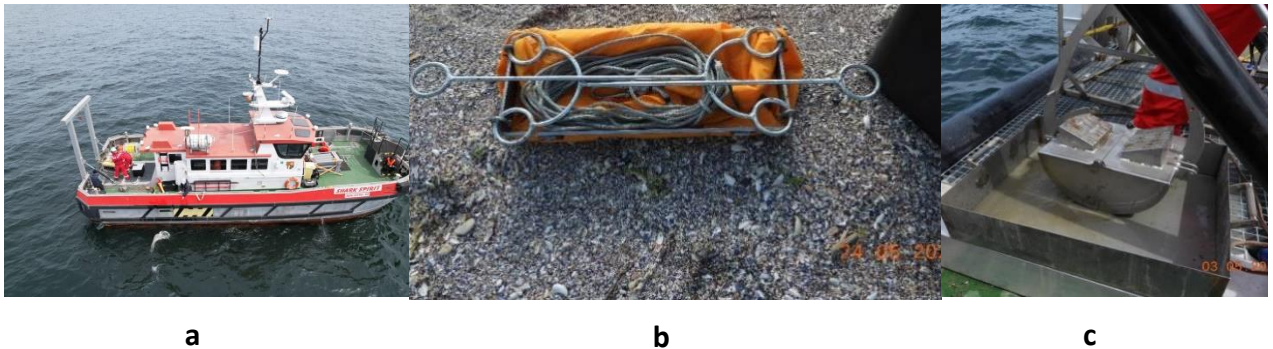


Figura 5 Ambarcațiune pentru deplasarea în punctele de colectare a probelor; b. Dragă, c. Van Veen (Sursa: Blumenfield 2023)



Figura 6 Remotely operated underwater vehicle - ROV Falcon Survey (Sursa: Blumenfield 2023)

Investigațiile asupra habitatelor marine au fost efectuate și prin utilizarea ROV-urilor (Remote Operated Vehicle). ROV-urile au fost introduse pe scară largă ca alternativă la metodele tradiționale care presupuneau utilizarea scafandrilor profesioniști. Cu ajutorul ROV-urilor se obțin imagini clare, cu mare fidelitate adesea folosite pentru cartarea distribuției habitatelor. Avantajul utilizării ROV-urilor la realizarea unui census vizual subacvatic este eliminarea elementelor de risc asociate scufundărilor științifice cu utilizarea scafandrilor.

Echipamentele ROV, dotate cu camere foto - video au avantajul de a putea opera în locații care ar putea fi periculoase pentru scafandri și pot rămâne sub apă un timp îndelungat spre deosebire de scafandri a căror autonomie și rază de acțiune este strict condiționată de rezervele de oxigen din butelie. Filmările video subacvatice pot fi folosite pentru semnalarea prezentei speciilor cheie și pot oferi informații valoroase referitor la habitate.

1.4.MONITORIZAREA SPECIILOR DE PĂSĂRI DIN ZONA PROIECTULUI

1.4.1 Metode de monitorizare a speciilor de păsări de interes comunitar

Amplasamentul proiectului propus se intersectează cu situl Natura 2000 ROSPA0076 Marea Neagră, desemnat pentru protecția a 37 de specii acvatice.

În cadrul celor două programe de monitorizare a păsărilor derulate în 2018-2019 și mai-iunie 2023 au fost folosite trei metode pentru a îndeplini obiectivele studiului: metoda transectelor pentru obținerea datelor despre speciile care folosesc zona terestră a proiectului, metoda punctelor fixe, în special pentru speciile migratoare și metoda transectelor cu utilizarea ambarcațiunilor aplicată pentru speciile de păsări aflate în pasaj la nivelul sitului ROSPA0076 Marea Neagră.

1.4.1.1 Metoda transectelor

Metoda a fost folosită în cazul speciilor rezidente, speciilor cuibăritoare și a celor care ierneză în zona proiectului, în principal în perioadele decembrie - februarie și mai - iulie (2018-2019).

Această metodă conține cele mai utilizate tehnici de studiu de teren pentru determinarea compoziției, diversității și densității avifaunei într-o zonă de interes. În cadrul acestei metode, observatorul/expert ornitolog a parcurs transecte prin zona terestră a proiectului și a înregistrat fiecare pasăre sau grup de păsări. Suma transectelor a fost denumită traseu de monitorizare. Lungimea medie a transectelor a fost de aproximativ 6,5 km/zi de monitorizare, în timp ce întreaga rută de monitorizare avea aproximativ 32 km. Transectele de-a lungul zonei proiectului și de-a lungul liniei țărmului au fost parcurse în mare parte (cu mici variații în funcție de condițiile meteorologice/umiditatea solului), în timp ce rutele în jurul amplasamentului din zona terestră a proiectului au fost parcurse/străbătute în funcție de sezon și de condițiile specifice la momentul fiecărei cercetări (de exemplu, condițiile meteorologice și activitățile desfășurate pe terenurile învecinate). Observațiile în teren au fost efectuate în principal pe timpul zilei (între orele 7:00 - 9:00 dimineața și 5:00 - 7:00 seara, în funcție de sezon). În iunie și iulie 2019, studiile de teren s-au prelungit pentru a acoperi și păsările cu activitate nocturnă, până în jurul orei 23:00 într-o zi și în mai multe zile până în jurul orei 21:00. În timpul activităților de cercetare pe timp de noapte pentru lilieci și amfibieni, au fost înregistrate și observații ocazionale ale speciilor de păsări nocturne.

Monitorizarea a fost realizată atât vizual, cât și auditiv, iar observatorul a colectat următoarele informații folosind o aplicație dedicată observațiilor de teren: numele speciei, numărul de indivizi observați, direcția și înălțimea zborului, distanța și direcția față de locația observatorului, precum și activitatea păsării în momentul observației. De asemenea, acolo unde a fost posibil, s-au colectat informații despre vârstă și genul indivizilor sau orice altă informație considerată relevantă de către observator.

Metoda punctelor fixe are o largă aplicabilitate pentru speciile de păsări, și utilizarea sa permite observații asupra unui număr mare de specii. Această metodă a fost aplicată în principal pentru păsările migratoare, dar și pentru păsările răpitoare. Având în vedere programul activităților de teren ale proiectului, metoda punctelor fixe a fost aplicată pentru migrația de toamnă (până la 5 noiembrie) și migrația de primăvară (15 februarie - 5 aprilie), precum și pentru speciile de răpitoare în timpul verii și iernii. Această metodă a fost aplicată și în cazul monitorizării derulate în anul 2023 prin care s-a urmărit completarea datelor obținute în programul anterior de monitorizare.

1.4.1.2 Metoda punctelor fixe

Punctele fixe din care au fost efectuate observațiile conform metodologiei au fost selectate la o distanță maximă de 2 km unul de celălalt. Având în vedere dimensiunile zonei proiectului și forma sa predominant liniară, au fost utilizate trei locații de monitorizare, așa cum sunt prezentate în tabelul de mai jos, distribuite în mod egal pentru a acoperi întreaga zonă a proiectului și împrejurimile. În general, observațiile din puncte fixe erau efectuate timp de trei ore în fiecare locație, între orele 9:00 dimineața și 6:00 seara. Observațiile au fost introduse în fișele de teren, iar locația în care păsările au fost observate pentru prima dată a fost marcată pe o hartă. S-a acordat o atenție deosebită evitării numărătorii duble a indivizilor.

Tabel 2. Puncte de monitorizare folosite în metoda punctelor fixe de observație (Vantage points):

N2.	Punct favorabil de observație	Coordonate GPS	
		Nord	Est
1	VP-est	43.9733	28.6550
2	VP-centru	43.9776	28.6339
3	VP-vest	43.9808	28.6221

Echipamentul de teren a inclus: binocluri, lunete, cronometre, hărți și detalii despre fiecare punct de observație, GPS, fișe de teren și echipament de protecție personală.

1.4.1.3 Metoda transectelor cu utilizarea ambarcațiunilor

Principalele tehnici de inventariere a păsărilor de pe ambarcațiuni, presupun efectuarea unor transecte liniare (în perimetrul sitului Natura 2000 ROSPA0076 Marea Neagră), în care vor fi obținute date privind efectivele speciilor identificate, comportamentul acestora și distribuția în cadrul zonelor studiate.

Monitorizarea presupune efectuarea observațiilor directe, cu ajutorul aparatelor optice (binocluri) cu notarea datelor obținute în fișele de teren, iar pentru confirmarea identificării speciilor observate se realizează și fotografiile ale acestora.

În general, numărătoarea este efectuată din provă și din lateralul navei, într-un unghi de 90 de grade. În unele cazuri se folosește un unghi de 180 de grade, care corespunde întregului câmp vizual de la prova ambarcațiunii.

1.5. MAMIFERE MARINE

1.5.1 Metoda transectelor liniare

Metoda (Buckland, 1993; 2001) prevede înregistrarea mamiferelor acvatice, de-a lungul unor transecte prestabilite, folosind o ambarcațiune cu motor drept platformă de observație, incluzând specia, distanța și unghiul către fiecare animal sau grup detectat, precum și mărimea grupului. Ambarcațiunea/nava se va deplasa cu o viteză constantă, cuprinsă între 6-10 noduri/h.

La bordul ambarcațiunii experții/observatorii vor monitoriza suprafața mării într-un unghi de 180° în direcția de deplasare a ambarcațiunii. Pentru observațiile colectate de observator/-ri un membru al echipei de monitorizare va nota în fișele de observație informațiile transmise de observatori.

Monitorizarea pe mare este o activitate efectuată din ambarcațiuni/nave pentru a detecta prezența delfinilor în habitatul lor natural, atât în zona litorală, în cazul lui *Tursiops truncatus* și *Phocoena phocoena*, cât și în largul mării, când vine vorba de *Delphinus delphis*.

Realizarea de observații de pe o ambarcațiune/navă este cea mai potrivită pentru studiul individual sau în grup al delfinilor. Cu ajutorul bărcii, delfinii pot fi observați, urmăriți și, în cele din urmă, pot fi ajunși în imediata lor vecinătate, respectiv într-o poziție favorabilă pentru a face fotografii de calitate în vederea analizei ulterioare.

În timpul observațiilor, se va încerca să se aleagă o poziție cât mai favorabilă ambarcațiunii, după care se va aștepta ca delfinii să apară la suprafața apei. Pe parcursul observațiilor, numărătoarea delfinilor va fi repetată pentru a vedea dacă au avut loc schimbări în dimensiunea și componența grupului în acest timp. De asemenea, se vor face observații asupra tuturor grupurilor de delfini întâlnite în sectoarele cercetate, în scopul determinării cu precizie a sosirilor și plecărilor indivizilor din aceste grupuri.

Dimensiunea și componența unui grup de delfini se pot schimba în timpul observării, astfel că un grup de delfini ar trebui considerat un grup dinamic.

Au fost realizate 6 deplasări în zona de studiu (în zilele de 2,3,10,11 Mai și 8, 22 Iunie 2023), înglobând sectoare din conducta de gaze care este propusă spre amplasare în zona Costinești-Tuzla către zona de exploatare a perimetrului Neptun Deep. Au fost intersectate arii naturale protejate precum ROSAC0273 Zona marină de la Capul Tuzla, ROSCI0197 Plaja Submeară Eforie Nord-Eforie Sud, ROSCI0293 Costinești - 23 August (la o distanță de 1.5 km), și ROSPA0076 Marea Neagră. Concomitent cu observațiile ornitologice, pe ambarcațiune s-au desfășurat și observații asupra mamiferelor marine.

1.5.2 Monitorizarea din punct fix a cetaceelor marine

Acest tip de monitorizare implică activități regulate de-a lungul coastei pe jos sau cu mijloace de locomoție (mașină, scuter, bicicletă, etc.) și este subdivizată, în funcție de obiectul observațiilor, în:

- Monitorizarea delfinilor în imediata vecinătate a țărmului;
- Monitorizarea delfinilor eșuați.

În cadrul proiectului analizat a fost aplicată doar monitorizarea delfinilor în imediata vecinătate a țărmului.

Un avantaj pentru studiul delfinilor de pe țărm îl oferă construcțiile costiere de protecție (de ex. diguri). Delfinii se apropie adesea de aceste zone în căutare de hrană, care în aceste locuri este reprezentată de peștii bentici (gobiidae), sau de peștii pelagici, care uneori formează grupuri în imediata vecinătate a țărmului.

Un mare avantaj al monitorizării de pe țărm este că delfinii nu sunt deranjați. În general, studiile de pe țărm nu necesită cheltuieli mari și pot fi efectuate atunci când se dispune de o cameră foto cu teleobiectiv cu focala mare. Doar ocazional pot fi identificați câțiva delfini cu semne foarte evidente de la astfel de puncte înalte. În principiu, s-a demonstrat că cele mai bune fotografii se fac de la o înălțime de până la 15 m deasupra nivelului mării și de la o distanță de maximum 500 m (aproximativ distanța maximă de la care pot fi realizate imagini de calitate cu un teleobiectiv).

Pașii metodei de foto-identificare în cazul monitorizării delfinilor observați în imediata vecinătate a țărmului sunt aceiași ca în cazul monitorizării acvatice.

Cantitatea de informații obținută din cercetările de pe țărm este mai mică decât cea obținută dintr-o barcă în larg, deoarece în primul caz avem de-a face cu o supraveghere statică, care depinde de mișcarea delfinilor către punctele optime pentru efectuarea observațiilor.



Figura 7 *Tursiops truncatus ponticus* în ROSCI0273

SECȚIUNEA II METODE DE PRELEVARE ȘI ANALIZĂ PROBE DE SEDIMENT

2.1 ETAPELE SPECIFICE PRELEVĂRII PROBELOR DE SEDIMENT

Planul de prelevare a probelor de sediment a fost proiectat în concordanță cu realizarea țintelor studiului și a obiectivelor de calitate ale datelor specifice. Elementele strategiei de prelevare au inclus definirea zonei de studiu, localizarea punctelor de prelevare și numărul punctelor de prelevare stabilite. În realizarea planului au fost luate în considerare fidelitatea rezultatelor, variabilitatea substratului sedimentelor locale, condițiile topografice și hidrografice informațiile referitoare la sursele de contaminare locale și cunoștințele din studiile anterioare.

Pentru prelevarea probelor de sediment s-a utilizat prelevatorul de tip Bodengreifer Van Veen. Pentru fiecare punct de prelevare au fost înregistrate coordonatele GPS în vederea realizării hărții zonei studiate dar și pentru o identificare fără ambiguități a punctelor în cazul unei vizite sau chiar esantionari ulterioare.

Cantitatea de probă de sediment necesară pentru analiză depinde de parametrul care urmează să fie analizat. În general, pentru analiză este necesară o probă de minimum 1000 g, dar o cantitate mai mare permite obținerea unui eșantion mai reprezentativ pentru analiză. Pentru stocarea eșantioanelor s-a avut în vedere ca recipientul de probă să nu transfere contaminarea în eșantion și nici containerul de eșantion să nu poată absorbi componentele eșantionului. Containerul a fost sigilat în siguranță, astfel încât să nu existe componente cu pierderi volatile, cum ar fi umiditatea sau solvenții, între colectarea probei și livrarea la laboratorul de examinare și nici o separare a componentelor. Containerele de probă au fost umplute și sigilate astfel încât să existe un spațiu minim de aer liber. Pe fiecare recipient care conține proba se aplică o Etichetă de identificare a eșantionului. Este completat procesul verbal de prelevare/preluare cu toate datele necesare pentru identificarea probelor, locul de prelevare, condițiile meteorologice și alte observații de la locul de prelevare.

După esantionare probele au fost stocate într-un dispozitiv de răcire capabil să mențină temperatura între 2°C și 8°C și să nu permită răsturnarea și impurificarea lor. Aceste condiții au fost respectate și pentru transportul de la locul de prelevare la laborator.

În alegerea metodei de prelevare, transport și păstrare a probelor pentru examinarea fizică și chimică s-au respectat cerințele indicate în standardele specifice, astfel încât eșantioanele obținute să fie reprezentative și conforme pentru analiză. În Anexa 1 sunt prezentate normele specifice pentru prelevare, transport depozitare pentru parametrii ce au fost luați în considerare pentru analiză.

2.2 METODE DE ANALIZĂ

Pentru efectuarea încercărilor fizico-chimice au fost utilizate metode standardizate în vigoare, acestea sunt prezentate în tabelul 3.

Tabel 3 Metode de încercare pentru analiza probelor de sediment

Nr. crt.	Parametru analizat	Metoda standard de analiză
1	Cadmiu (Cd)	SR EN ISO 54321:2021; SR EN 16171:2017
2	Mercur (Hg)	SR EN ISO 54321:2021;

Nr. crt.	Parametru analizat	Metoda standard de analiză
		SR EN 16171:2017
3	Nichel (Ni)	SR EN ISO 54321:2021; SR EN 16171:2017
4	Plumb (Pb)	SR EN ISO 54321:2021; SR EN 16171:2017
5	Zinc (Zn)	SR EN ISO 54321:2021; SR EN 16171:2017
6	Benzen	SR EN ISO 22155:2016
7	Etilbenzen	SR EN ISO 22155:2016
8	Toluen	SR EN ISO 22155:2016
9	Xileni (o,m,p xilen)	SR EN ISO 22155:2016
10	Hidrocarburi-Produs petrolier	SR 13511:2007

SECȚIUNEA III METODELE PRELEVARE ȘI ANALIZĂ PROBE DE APĂ

3.1 ETAPELE SPECIFICE PRELEVĂRII PROBELOR DE APĂ

Punctele de eșantionare sunt stabilite astfel încât proba eșantionată să fie reprezentativă pentru scopul urmărit, urmărindu-se următoarele criterii:

- accesibilitatea la punctul de prelevare și alegerea unui număr de puncte reprezentative;
- ținând cont de condițiile care pot determina variații ale concentrației parametrilor;
- se recomandă evitarea prelevării la extremități sau în apropierea extremităților, cu excepția situațiilor în care condițiile care le generează sunt de interes;
- selectarea echipamentului de prelevare a probelor și a metodei de prelevare a probelor în conformitate cu obiectivul propus;
- mărimea eșantionului trebuie să fie suficient de mare pentru a permite efectuarea tuturor încercărilor și analizelor;
- pentru a reprezenta caracteristicile de interes ale eșantionului și pentru a permite efectuarea tuturor încercărilor și analizelor;
- pentru a evita contaminarea încrucișată;
- să respecte măsurile de asigurare a calității atât pe teren, cât și în laborator.

Coordonatele punctelor de prelevare pentru colectarea probelor de apă s-au păstrat fiind corespunzătoare probelor de sediment eșantionate. Pentru colectarea probelor de apă a fost utilizat un echipament de prelevare de adâncime discret și anume echipament de tip Niskin Bottle. Probele au fost colectate și transferate în sticle de laborator. Imediat după eșantionare, recipientul cu eșantion este unic etichetat și depozitat în dispozitivul de răcire. De asemenea, este completat procesul verbal de prelevare/ preluare cu toate datele necesare pentru identificarea probelor, locul de prelevare, condițiile meteorologice și alte observații de la locul de prelevare.

Ca și în cazul probelor de sediment sunt respectate cerințele standardelor de prelevare și ale metodelor de încercare specifice utilizate pentru analiza parametrilor fizico- chimici. In Anexa 2 sunt prezentate normele specifice de prelevare pentru eșantioanele de apă.

3.2 METODE DE ANALIZĂ PENTRU PROBELE DE APĂ

În tabelul 4 sunt prezentate metodele de încercare specifice pentru probele de apă.

Tabel 4 Metode de încercare pentru analiza probelor de apă costieră și apă marină

Nr. crt.	Parametru analizat	Metoda standard de analiză
1	Produse petroliere	SR 7877-2:1995
2	Azot din azotit (N-NO ₂)	SR EN 26777:2002/C91:2006
3	Azot din azotati (N-NO ₃)	SR ISO 7890-3:2000
4	Benzen	SR ISO 11423-1:2000
5	Etilbenzen	SR ISO 11423-1:2000
6	Toluen	SR ISO 11423-1:2000
7	Xileni (o,m,p xilen)	SR ISO 11423-1:2000
8	Cadmiu (Cd)	SR EN ISO 17294-2:2017
9	Mercur (Hg)	SR EN ISO 17294-2:2017
10	Nichel (Ni)	SR EN ISO 17294-2:2017
11	Plumb (Pb)	SR EN ISO 17294-2:2017
12	Zinc (Zn)	SR EN ISO 17294-2:2017
13	Fosfor total(TP)	SR EN ISO 6878:2005
14	Conductivitate	SR EN 27888:1997
15	pH	SR EN ISO 10523:2012
16	Turbiditate	SR EN ISO 7027-1:2016
17	Salinitate	SR EN 27888:1997 APHA METHOD
18	Total solide dizolvate	SR EN 27888:1997 APHA METHOD
19	Oxigen dizolvat (O ₂)	SR EN ISO 5814:2013
20	Materii totale in suspensie	SR EN 872:2005

SECȚIUNEA IV MĂSURI PENTRU ASIGURAREA ȘI CONTROLUL CALITĂȚII (QA/QC)

Laboratorul Blumenfield Science a implementat și respectă cerințele standardului SR EN ISO/IEC 17025:2018 privind măsurile de asigurare a calității, și toate datele de asigurare a calității sunt înregistrate în formulare specifice. Măsurile de asigurare a calității/controlul calității pot fi differentiate în :

➤ *măsurile de control la prelevarea probelor*

- probe replicate din teren: un eșantion din teren (duplicat) este colectat dintr-una dintre locații și tratat ca probă separată, urmând toți pașii de la prelevare pentru a analiza proba, pentru a evalua erorile asociate cu concentrația de contaminanți în apropierea locației de prelevare;
- probe oarbe: sunt folosite pentru a identifica variația concentrației de analit între probele din același punct de prelevare;

- pentru a evalua potențiala contaminare din cauza procedurii de decontaminare necorespunzătoare, sau la transportul eșantioanelor, depozitarea lor poate fi utilizat un recipient corespunzător cu apă distilată (martor) care va fi testată în laborator pentru contaminare reziduală .
- *măsuri de control la efectuarea încercărilor*
- echipamentele utilizate pentru analiza diferitelor parametri au o calibrare/etalonare inițială, fie sunt etalonate pentru asigurarea trasabilității măsurărilor;
 - echipamentele sunt verificate intermediar utilizând instrumente calibrate și materiale de referință certificate;
 - toți reactivii utilizați în analiza chimică sunt de calitate analitică cunoscută;
 - în tehnicile de analiza spectrometrică, ICP-MS, cromatografice, curbele de calibrare sunt verificate la fiecare set de analize;
 - probele martor: la fiecare serie de analize se realizează probe martor utilizând toți reactivii în cantități identice și care urmează aceleași etape ca probele de analizat, dar fără probă; rezultatele pentru probele martor trebuie să fie „nedetectabil”;
 - diagramele de control: în concordanță cu metodele standard de analiză și parametrii de performanță ai laboratorului sunt construite diagrame de control pentru parametrii de interes și la fiecare serie de probe analizate este analizată și o probă de control;
 - probele duble: una dintre probe este analizată în aceleași condiții fie de același analist fie de un analist diferit, această tehnică furnizează date despre precizia analitică și reproductibilitatea rezultatelor analitice;
 - Materiale de Referință Certificate (CRM)/Materiale de Referință (RM): utilizând aceste material laboratorul poate evalua dacă rezultatele sunt comparabile, adevărate și trasabile.