

MICROBENTHOS ONDERZOEK IN DE ZEESCHELDE

Studie in opdracht van het
Ministerie van de Vlaamse Gemeenschap
Administratie Milieu, Natuur, Land- en Waterbeheer
AMINAL/NAT/98/

23704

EINDRAPPORT



Muylaert Koenraad
Ilse Hamels
Koen Sabbe
Lies Van Nieuwerburgh
Wim Vyverman



Sectie Protistologie & Aquatische Ecologie,
Vakgroep Biologie, Universiteit Gent,
K.L. Ledeganckstraat 35, 9000 Gent

Dankwoord

Bij het afsluiten van dit onderzoek willen we in de eerste plaats Prof. Dr. Patrick Meire danken voor zijn inzet voor het onderzoek naar de Zeeschelde in het algemeen en het OMES-project in het bijzonder. Daarnaast willen we ook alle medewerkers aan het OMES-project bedanken voor de boeiende samenwerking rond de ecologie van de Zeeschelde.

Dirk Van Gansbeke willen we danken voor het uitvoeren van de chlorofyl-analyses en Prof. Dr. Magda Vincx voor het ter beschikking stellen van de Coulter counter analyser voor het uitvoeren van sediment-analyses.

Samenvatting

Het microbenthos van zoetwaterslikken in het algemeen en van het Schelde-estuarium in het bijzonder werd in het verleden nog nauwelijks onderzocht. Het doel van deze studie was dan ook het uitvoeren van een verkennende studie van de gemeenschapsstructuur en de ruimtelijke en temporele dynamiek van microbenthos gemeenschappen in de Zeeschelde met een bijzondere aandacht voor slikken in het zoetwatergetijdengebied.

In een eerste studie werd de seizoenale dynamiek van de microbenthos gemeenschap onderzocht in twee stations op het slik bij Appels. De verschillende componenten van het microbenthos (fytobenthos als chlorofyl *a*, bacteriën, heterotrofe flagellaten en ciliaten) werden gedurende 1 jaar 6 maal bemonsterd op 3 verschillende dieptes. De twee onderzochte stations verschilden sterk in sedimentsamenstelling en deze verschillen werden gereflecteerd in de samenstelling van de microbenthos gemeenschap.

Het station gelegen langs de hoogwaterlijn (station 1) werd gekenmerkt door een hoog gehalte aan klei en slib terwijl het station gelegen langs de laagwaterlijn (station 2) zandiger was. In station 1 werd steeds een hogere bacteriële biomassa en een hogere chlorofyl *a* concentratie waargenomen in vergelijking met station 2 terwijl de biomassa van de heterotrofe nanoflagellaten en ciliaten in beide stations vergelijkbaar was. In tegenstelling tot in station 2 werden heterotrofe nanoflagellaten en ciliaten in station 1 enkel in de oppervlaktelaag van het sediment waargenomen, wellicht omdat de interstitiële ruimtes in dit fijnkorrelige sediment te klein zijn om het foerageren van deze organismen toe te laten. Ciliaten waren echter ook in station 2 abundanter aan het oppervlak dan dieper in het sediment. Daarenboven bleek uit een vergelijking met het microzoöplankton van de Zeeschelde dat een belangrijke component van de benthische ciliatengemeenschap (o.a. *Vorticella* spp.) ook abundant voorkomt in het plankton. Aangezien sommige van deze soorten bekend staan voor hun geassocieerd voorkomen met gesuspendeerde partikels suggereren deze gegevens dat er een belangrijke uitwisseling zou kunnen bestaan tussen het plankton en het benthos. Mogelijk speelt associatie van ciliaten met estuariene vlokken hierbij een belangrijke rol.

Aangezien de biomassa van de bacteriën hoger is in station 1 in vergelijking met station 2 terwijl de biomassa van de heterotrofe protisten vergelijkbaar is in beide stations kan verwacht worden dat de impact van de protisten op de bacteriële biomassa hoger is in zandige sedimenten zoals in station 2 in vergelijking met slibrijke sedimenten zoals station 1.

Noch voor de heterotrofe als de autotrofe componenten van het microbenthos werd een duidelijk seizoenaal patroon waargenomen. Wellicht spelen processen die variëren op verschillende niet-seizoenale tijdschalen (springtij/doodtij cyclus, input van organisch materiaal van verschillende bronnen) een belangrijke rol. Verder onderzoek is echter nodig om deze processen te identificeren.

Een tweede studie behandelde de ruimtelijke verspreiding van microfytobenthos gemeenschappen in de Zeeschelde. In de late zomer werden op een 6-tal slikken in totaal 13 stations gelegen langs de hoog- of laagwaterlijn bemonsterd om de soortensamenstelling van het microfytobenthos na te gaan. Met behulp van microscopische analyse werden de microalgen in de stalen geïdentificeerd en gekwantificeerd. Elk taxon werd ondergebracht in een van de volgende ecologische groepen: groenwieren, cyanobacteria, autotrofe flagellaten, epipelische (vrijlevende benthische soorten), epipsammische (soorten die sterk geassocieerd voorkomen met sedimentpartikels) en planktonische diatomeeën.

Diatomeeën vormden in alles stations de dominante groep terwijl groenwieren, cyanobacteria en autotrofe flagellaten samen maximaal 0.5 % van het totale celaantal vormden. Cyanobacteria en autotrofe flagellaten komen normaal gezien vooral onder kalme omstandigheden voor. Wellicht resulteert de combinatie van relatief smalle slikken en de sterke getijstromingen in de Zeeschelde in de afwezigheid van deze groepen in het benthos.

Epipelische en epipsammische diatomeeën werden in hoge aantallen waargenomen in de brakwaterslikken maar verdwenen vrijwel volledig in de zoetwaterslikken. Nochtans komen dergelijke organismen ook in zoetwater benthische systemen voor, zodat het onwaarschijnlijk is dat saliniteit op zich de oorzaak is van het verdwijnen van deze organismen. De afwezigheid van geschikte substraten speelt wellicht ook geen rol, aangezien zandige evenals fijnkorrelige sedimenten zowel in de brakwaterzone als het zoetwatergetijdengebied werden waargenomen. In het zoetwatergetijdengebied bevindt zich echter een turbiditeitszone die in stand gehouden wordt door een cyclische resuspensie en sedimentatie van en naar de intergetijdengebieden. Dit impliceert een sterke herwerking van de sedimenten op de slikken en verhindert wellicht de kolonisatie van deze sedimenten door epipelische en epipsammische diatomeeën. De microfytobenthosgemeenschap op deze slikken werd gedomineerd door dezelfde planktonische algen (diatomeeën en groenwieren) die ook in het plankton van het zoetwatergetijdengebied domineren. Deze gegevens suggereren dat de microfytobenthos gemeenschap in het zoetwatergetijdengebied van het Schelde-estuarium voornamelijk gereguleerd wordt door influx vanuit het plankton.

Inhoudstafel

<i>Dankwoord</i>	3
<i>Samenvatting</i>	5
<i>Inhoudstafel</i>	7
Inleiding en doelstellingen	9
Deelstudie I: Seizoensale dynamiek van de microbenthos- gemeenschap in een zandig en slibrijk station op het schor van Appels	
Inleiding	11
Materiaal en Methoden	11
Resultaten	13
Discussie	19
Referenties	21
Deelstudie II: Microphytobenthos communities of the brackish to freshwater tidal reaches of the Schelde estuary (Belgium)	
Introduction	23
Materials and Methods	25
Results	28
Discussion	34
References	36

INLEIDING EN DOELSTELLINGEN

Slikken in estuaria worden gekenmerkt door een zeer intense biologische activiteit. Het zijn plaatsen waar dood organisch materiaal accumuleert en afgebroken wordt. Daarnaast worden ze ook vaak gekenmerkt door een hoge primaire produktie die in sommige gevallen zelfs de primaire produktie in het plankton kan evenaren. Zowel allochtoon organisch materiaal als *in situ* geproduceerde biomassa vormen een belangrijke voedingsbron voor het macrobenthos dat in estuariene slikken zeer hoge biomassa's kan bereiken. Dit macrobenthos vormt dan weer een belangrijke voedingsbron voor hogere trofische niveaus zoals vogels en vissen voor wie estuaria vaak een essentiële rol vervullen als overwinterings- of kraamkamergebieden.

In tegenstelling tot slikken in de brakwaterzones van estuaria werden slikken in zoetwatergetijdengebieden in het verleden nauwelijks bestudeerd. In een beperkt aantal studies van voornamelijk Noordamerikaanse estuaria werd het voorkomen van de autotrofe component van het microbenthos, het microfytobenthos, in slikken van zoetwatergetijdengebieden beschreven. Over het voorkomen van de heterotrofe component van het microbenthos, de flagellaten en ciliaten, zijn voor dit type van ecosystemen echter geen gegevens in de literatuur terug te vinden.

Dit gebrek aan informatie omtrent slikken in zoetwatergetijdengebieden geldt ook in sterke mate voor het Schelde-estuarium. In het kader van het AMIS-project OMES werden in het recente verleden reeds een aantal belangrijke ecologische processen in zoetwaterslikken van het Schelde-estuarium bestudeerd. Over het microbenthos in de zoetwaterslikken van het Schelde-estuarium waren echter nog geen gegevens beschikbaar.

Met als doel het gevaar voor overstromingen te reduceren werd door de constructie van sluizen het areaal van vele Europese zoetwatergetijdengebieden in het verleden sterk gereduceerd. Daardoor zijn zoetwatergetijdengebieden op Europese schaal vrij unieke ecosystemen. Het Schelde-estuarium is één van de weinige Europese estuaria met een uitgebreid en vrij intact zoetwatergetijdengebied. Het Schelde-estuarium vormt dan ook een ideaal modelsysteem om de ecologie van zoetwatergetijdengebieden te bestuderen.

Dit onderzoek beoogt een bijdrage te leveren tot de karakterisatie van de gemeenschapsstructuur en ruimtelijke en temporele dynamiek van de microbenthosgemeenschap in het zoetwatergetijdengebied van het Schelde-estuarium. Uitgaande van de bekomen resultaten wordt ook getracht hypothesen te formuleren omtrent biologische interacties in het microbieel voedselweb van dit ecosysteem. Voorafgaand onderzoek naar microplanktongemeenschappen in het kader van het OMES-project suggereerden mogelijk sterke interacties tussen het plankton en het benthos in het zoetwatergetijdengebied van het Schelde-estuarium. Ook deze koppeling tussen de dynamiek van het plankton en het benthos zal besproken worden.

DEELSTUDIE I:

SEIZOENALE DYNAMIEK VAN DE MICROBENTHOSGEMEENSCHAP IN EEN ZANDIG EN SLIBRIJK STATION OP HET SCHOR VAN APPELS

Inleiding

Over de structuur van het microbiële voedselweb in slikken van zoetwatergetijdengebieden is vrijwel geen informatie beschikbaar. Het doel van deze deelstudie was dan ook een verkennend, beschrijvend onderzoek uit te voeren naar de microbiële gemeenschap op een slik in het zoetwatergetijdengebied met het slik bij Appels in het Schelde-estuarium als modelsysteem.

De doelstellingen bij deze studie waren de volgende:

- een beschrijving en kwantificatie van de verschillende componenten van de microbiële gemeenschap op het slik bij Appels;
- een grondige vergelijking van de microbiële gemeenschap van een zandig en een slibrijk station op dit slik;
- een studie van de seizoenaliteit van deze microbiële gemeenschappen op het slik.

Materiaal en methoden

Bemonstering

Voor de seizoenale monitoring van het microbenthos werden twee stations geselecteerd op het slik ter hoogte van het schor van Appels nabij Dendermonde (Fig. I.1). De twee stations verschillen qua sedimentsamenstelling en overstromingsfrequentie. Station 1 is gelegen nabij de hoogwaterlijn en bestaat uit zeer slibrijk sediment. Station 2 is gelegen tegen de laagwaterlijn en bestaat uit een zandiger sediment. Beide stations zijn op dezelfde dwarslijn op de Schelde gelegen.

De stations werden gedurende een periode van 1 jaar zes maal bemonsterd om seizoenale veranderingen in de samenstelling van het microbenthos na te gaan. De bemonsteringen vonden plaats op 4 december 1997 en 27 januari, 24 maart, 26 mei, 23 juli en 22 september 1998. Op 27 januari 1998 was het sediment van station 1 bevroren tot op een diepte van ongeveer 10 cm waardoor bemonstering onmogelijk was.

De bovenste 4 cm van het sediment werd bemonsterd met behulp van 5 en 10 ml spuitjes waarvan het distale uiteinde was afgesneden. De boorkernen werden manueel onderverdeeld in 3 dieptelagen: 0-0.5 cm, 0.5-2 cm and 2-4 cm. Voor de bepaling van de densiteiten van bacteriën en protisten werden mengmonsters genomen terwijl voor de analyses van de sedimentsamenstelling en pigmentconcentraties replicate monsters werden genomen. Monsters voor de analyse van ciliaten en flagellaten werden gefixeerd met ijskoud glutaraldehyde 4% (eindconcentratie 2%). Monsters voor de analyse van bacteriën werden gefixeerd met 4% gefilterde formaldehyde (eindconcentratie 2.5%). Monsters voor nutriënten en pigmentanalyse werden onmiddellijk ingevroren met behulp van vast CO₂.

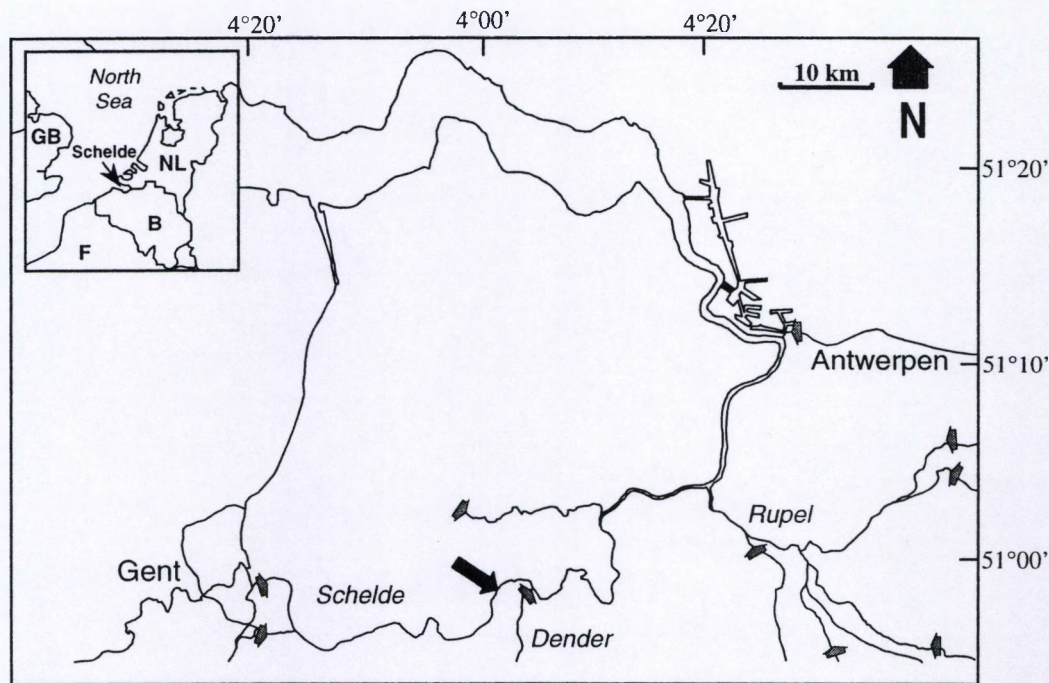


Fig. I.1. Kaart van het Schelde-estuarium. De zwarte pijl duidt de positie van het slik bij Appels aan. De bovengrens van de getijdenwerking is voor elke zijarm van het estuarium weergegeven met een grijze pijl.

Analyses

Onmiddellijk na het bemonsteren werden ciliaten en flagellaten gescheiden van sediment en detritus met behulp van dichtheitsgradiënt-centrifugatie in Percoll volgens de methode van Starink *et al.* (1994). Ciliaten werden gekwantificeerd en geïdentificeerd na kwantitatieve protargol kleuring volgens Montagnes & Lynn (1993). Flagellaten werden onderverdeeld in grootteklassen en geteld met behulp van epifluorescentiemicroscopie na kleuring met DAPI volgens Sherr *et al.* (1993). Biovolumes van flagellaten en ciliaten werden geschat uitgaande van eenvoudige morfologische vormen. De geschatte biovolumes werden omgezet naar koolstof biomassa op basis van een conversiefactor van $200 \text{ fg C } \mu\text{m}^{-3}$ voor met behulp van aldehydes gefixeerde protisten (Sherr & Sherr 1993, Fenchel 1982, Børsheim & Bratbak 1987). Aan de monsters voor de bepaling van bacteriële dichtheiten, werd eerst een $0,22 \mu\text{m}$ gefilterde tetrasodium pyrofosfaat oplossing ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, $0,005 \text{ M}$ eindconcentratie) toegevoegd om bacteriën van de sediment partikels los te maken (Velji & Albright 1993). Na 30 minuten schudden op een schudtafel, werden de stalen gesoniceerd met behulp van een probe sonicator met microtip aan 100 W gedurende 60 seconden (Tso & Taghon 1997). Vervolgens werden de stalen verdund met een $0,22 \mu\text{m}$ gefilterde trizma-HCl ($0,05 \text{ M}$) oplossing. Bacteriën werden afgefilterd op $0,22 \mu\text{m}$ membraanfilters, gekleurd met acridine oranje en geteld met behulp van epifluorescentiemicroscopie (Hobbie *et al.* 1977). Bacteriële koolstof biomassa werd geschat op basis van een gemiddeld biovolume van $0,14 \mu\text{m}^3$ per cel (Hondeveld *et al.* 1992, van Duyl & Kop 1990, Starink *et al.* 1996) en een conversiefactor van $220 \text{ fgC } \mu\text{m}^{-3}$ (Bratbak & Dundas 1984).

De korrelgrootte verdeling werd bepaald met een Coulter Counter analyser type Coulter LS 100 - fluid module (Coulter Electronics). Pigmenten werden uit het

sediment geëxtraheerd met 90% aceton. De totale concentratie van chlorofyl *a* werd bepaald aan de hand van HPLC volgens de methode van Mantoura & Llewellynn (1983). Om de totale biomassa van de autotrofe organismen te schatten werden chlorofyl *a* concentraties omgezet naar koolstof biomassa uitgaande van een koolstof : chlorofyl *a* verhouding van 40 (De Jonge 1980).

Resultaten

De biomassa van bacteriën, heterotrofe flagellaten en ciliaten en de concentraties aan chlorofyl *a* geïntegreerd over de bovenste 4 cm van het sediment evenals het klei en silt (= percentage sedimentpartikels < 64 µm) gehalte van het sediment aan de oppervlakte zijn weergegeven in Fig. I.2. De biomassa van de bacteriën, heterotrofe flagellaten en ciliaten en de concentratie aan chlorofyl *a* per volume-eenheid sediment voor elke bemonsterde diepte zijn weergegeven in Fig. I.3 en Fig. I.4.

Het sediment van station 1 bestond voornamelijk uit klei en silt (77-94 %) en had een mediane korrelgrootte tussen 10 en 27 µm. Station 2 bevatte meer zandige sedimenten en had een mediane korrelgrootte die schommelde tussen 140 en 195 µm. Seizoensale en verticale verschillen in sedimentkarakteristieken waren voor beide stations beperkt.

De concentraties aan bacteriën waren steeds ongeveer 5 keer hoger in station 1 ($7\text{--}19 \cdot 10^9$ bacteriën ml^{-1}) dan in het meer zandige station 2 ($1.4\text{--}3.9 \cdot 10^9$ bacteriën ml^{-1}). Een vergelijkbaar patroon werd gevonden voor de biomassa van de bacteriën geïntegreerd over de bovenste 4 cm. De bacteriële biomassa was in beide stations maximaal in december en minimaal in september. Er werd in geen van beide stations een duidelijke verticale stratificatie van de bacteriën waargenomen.

De biomassa van de heterotrofe flagellaten geïntegreerd over de bovenste 4 cm was vergelijkbaar in beide stations ($41\text{--}301 \text{ mg C m}^{-2}$). Terwijl in station 2 de biomassa van de heterotrofe flagellaten doorgaans vergelijkbaar was op de verschillende dieptes werden in station 1 de meeste flagellaten aan het sedimentoppervlak waargenomen. De densiteiten aan heterotrofe flagellaten bedroegen $15\text{--}440 \cdot 10^4$ flagellaten ml^{-1} in station 1 en $3.3\text{--}16 \cdot 10^4$ flagellaten ml^{-1} in station 2. De biomassa van de heterotrofe flagellaten was in station 1 maximaal in maart en in station 2 maximaal in juli.

In totaal werden tijdens de tellingen 53 ciliatentaxa onderscheiden (zie Tabel I.1) waarvan er 32 tot op familieniveau, 31 tot op genusniveau en 21 tot op soortsniveau werden geïdentificeerd. Van deze taxa werden er 17 in station 1 en 46 in station 2 waargenomen. In de slibrijke sedimenten van station 1 werden zeer lage concentraties (maximum 143 ml^{-1}) van voornamelijk vastgehechte peritriche ciliaten gevonden (*Vorticella* spp.). In station 2 werden iets hogere densiteiten (maximum 425 ml^{-1}) van voornamelijk kleinere ciliaten aangetroffen (o.a. een *Strobilidium* sp. en *Holophrya* spp.). Ciliaten bereikten in beide stations echter slechts een lage biomassa (steeds < 30 mg C m^{-2}). Ciliaten kwamen in beide stations voornamelijk aan het oppervlak van het sediment voor. De hoogste biomassa aan ciliaten werd in station 1 in mei waargenomen terwijl in station 2 de biomassa maximaal was in januari.

De heterotrofe protisten dragen slechts 0.5 tot 2.3 % bij tot de totale geïntegreerde heterotrofe biomassa in station 1 en 1.1-7.2% in station 2.

De chlorofyl *a* concentratie geïntegreerd over de bovenste 4 cm was steeds hoger in station 1 dan in station 2. Deze geïntegreerde chlorofyl *a* concentratie was in station 1 maximaal in december en in station 2 in juli. Behalve in januari en maart

was het sedimentoppervlak in station 1 groen gekleurd door de aanwezigheid van algen. De chlorofyl *a* concentratie nam in station 1 (behalve in maart) steeds af met de diepte. In station 2 werden 2 tot 10 maal lagere concentraties gevonden. De pigmenten waren er bovendien eerder homogeen verdeeld over de bemonsterde diepte. Uitgaande van een C tot chlorofyl *a* ratio van 40 werd de geïntegreerde autotrofe biomassa geschat op 21-46 g C m⁻² voor station 1 en 2.5-9.6 g C m⁻² voor station 2.

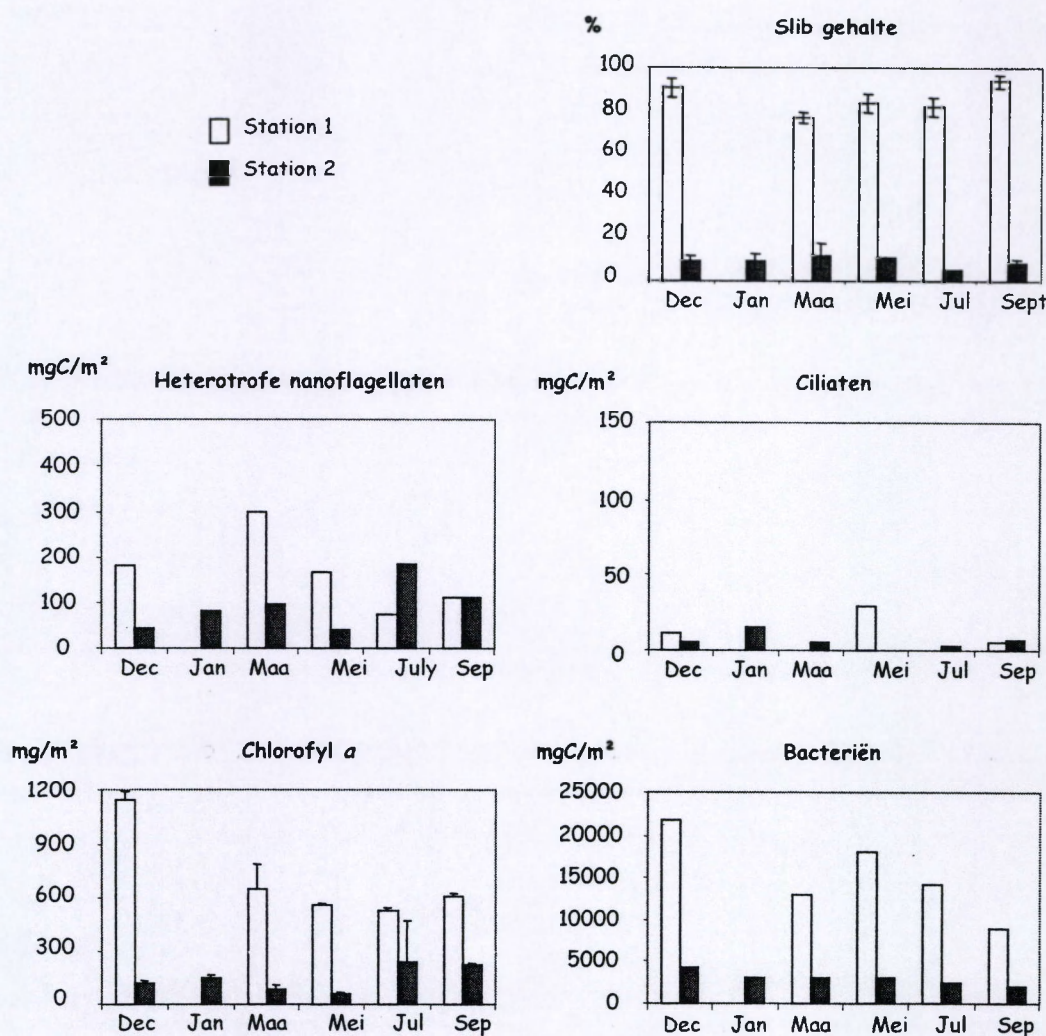


Fig. 1.2. Seizoenale variatie in de biomassa per oppervlakte geïntegreerd over de bovenste 4 cm van het sediment voor de voornaamste componenten van het microbenthos in station 1 en 2 op het slik bij Appels. Het slibgehalte is bepaald op de bovenste 0.5 cm van het sediment.

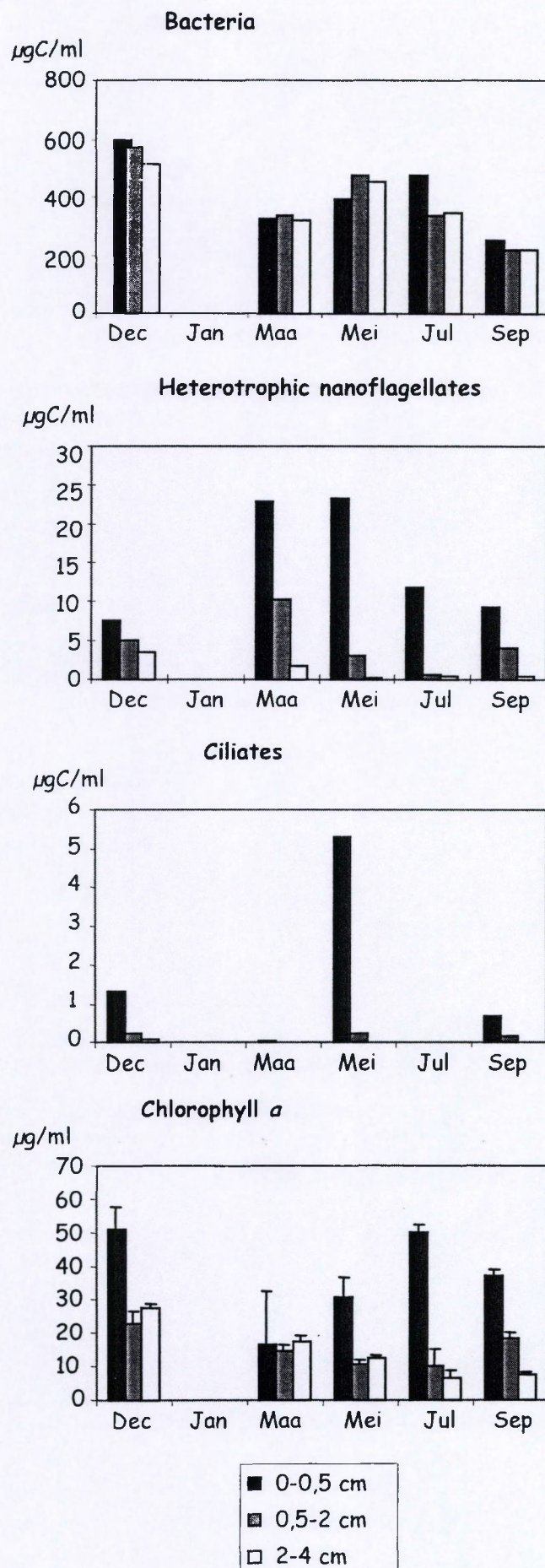


Fig. I.3. Seizoenaal verloop van de biomassa van bacteria, heterotrofe nanoflagellaten en ciliaten en de chlorofyl *a* concentratie in station 1 op de verschillende bemonsterde dieptes.

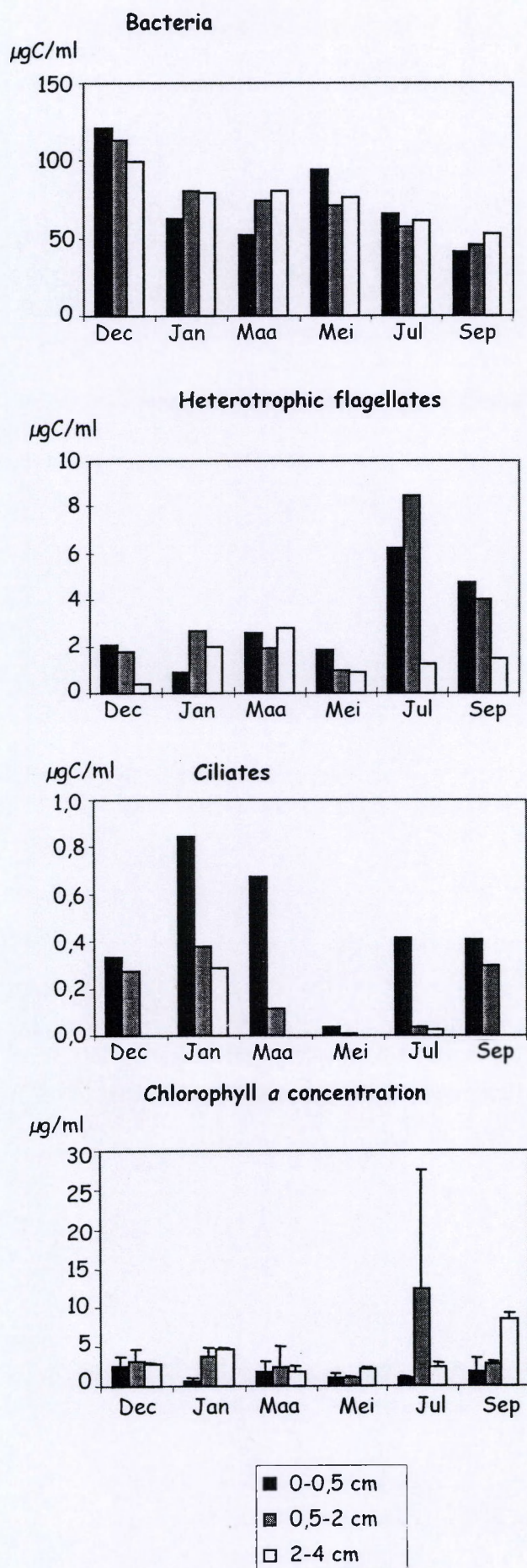


Fig. I.4. Seizoenaal verloop van de biomassa van bacteria, heterotrofe nanoflagellaten en ciliaten en de chlorofyl *a* concentratie in station 2 op de verschillende bemonsterde dieptes.

Tabel I.1. Overzicht van de ciliatentaxa waargenomen op het slik van Appels in station 1 en station 2. Het aantal stalen waarin de taxa werden waargenomen en de maximale densiteit (in aantal ciliaten ml⁻¹) die werd waargenomen zijn weergegeven evenals het volume en de gemiddelde lengte.

Taxon			Station 1		Station 2	
	volume (µm ³)	lengte (µm)	# stalen	max	# stalen	max
<i>Aspidisca cicada</i>	8000	29	1	3	7	41
<i>Chilodonella uncinata</i>	4600	25	0	0	1	3
<i>Chilodonellidae</i> sp.	1600	19	2	3	3	8
<i>Coleps hirtus</i>	1500	29	0	0	1	3
<i>Cryptopharynx setigerus</i>	2600	23	2	3	1	3
<i>Cyclidium</i> spp.	1100	13	0	0	4	5
<i>Diophrys</i> spp.	11000		2	3	0	0
<i>Discotricha papillifera</i>	4100	27	2	3	0	0
<i>Euplotes affinis</i>	9100	39	0	0	3	3
<i>Gastrostyla muscorum</i>	18000	75	0	0	3	29
<i>Histiobalantium</i> sp.	2100	22	0	0	2	5
<i>Holophrya</i> spp.	14000	36	0	0	7	78
<i>Holosticha monilata</i>	9700	63	0	0	3	16
<i>hypotrich ciliate</i> sp.	16000		1	3	0	0
<i>Kahlilembus attenuatus</i>	600		0	0	1	3
<i>Leptopharynx torpens</i>	7300	34	0	0	1	3
<i>Loxophyllum</i> sp.	16000	56	2	3	3	8
<i>Mesodinium pulex</i>	840	17	2	3	0	0
<i>Metacystis elongata</i>	2600	28	0	0	4	5
<i>Metopus</i> sp.	25000	49	0	0	2	3
<i>Orthotrochilia pilula</i>	2000	25	0	0	1	3
<i>Prorodon</i> sp.	15000	53	0	0	1	3
<i>Pseudochilodonopsis fluviatilis</i>	2600	28	0	0	4	36
<i>Pseudochilodonopsis similis</i>	10000	45	0	0	1	5
<i>Spathidium</i> sp.	13000	50	0	0	1	3
<i>Stentor coeruleus</i>	430000	106	2	57	1	3
<i>Strobilidium</i> sp.	3700	23	0	0	2	246
<i>Thigmogaster pardus</i>	3100	23	1	3	0	0
<i>Tracheloraphis longicollis</i>	18000	136	0	0	1	3
<i>Trithymostoma cucullulus</i>	100000	96	1	3	1	10
<i>Trochilia minuta</i>	850	19	0	0	1	3
<i>Tokophrya lemnae</i>	49000	48	2	3	3	10
<i>Vorticella</i> spp.	27000	35	9	122	13	34
niet geïdentificeerde ciliaat 2	2000	21	0	0	1	5
niet geïdentificeerde ciliaat D2	24000	50	0	0	1	3
niet geïdentificeerde ciliaat D3	85000	59	0	0	1	5
niet geïdentificeerde ciliaat D23	94000	95	1	3	2	3
niet geïdentificeerde ciliaat D38	1200	29	0	0	1	3
niet geïdentificeerde ciliaat D39	490000	98	0	0	1	3
niet geïdentificeerde ciliaat D40	15000000	697	1	3	0	0
niet geïdentificeerde ciliaat D41	270000	80	1	3	0	0
niet geïdentificeerde ciliaat D42	4600	22	0	0	1	3
niet geïdentificeerde ciliaat D43	21000	76	0	0	1	3
niet geïdentificeerde ciliaat D46	900	12	0	0	1	3

niet geïdentificeerde ciliaat D47	20000	38	0	0	2	3
niet geïdentificeerde ciliaat D55	33000	70	0	0	1	3
niet geïdentificeerde ciliaat D56	970	18	0	0	1	31
niet geïdentificeerde ciliaat D61	5000	27	1	41	1	3
niet geïdentificeerde ciliaat D68	8000	38	0	0	1	3
niet geïdentificeerde ciliaat D69	1300	25	0	0	1	5
niet geïdentificeerde ciliaat D73	9400	34	0	0	1	3
niet geïdentificeerde ciliaat D74	900	21	0	0	1	3
niet geïdentificeerde ciliaat D75	1400	20	0	0	1	3

Discussie

Station 1 en station 2 verschilden sterk in sedimentsamenstelling. Station 2 dat gelegen was langs de laagwaterlijn en daardoor meer werd blootgesteld aan sterke stromingen werd gekenmerkt door een duidelijk hogere mediane korrelgrootte en een lager slibgehalte in vergelijking met station 1. Deze verschillen in sedimentsamenstelling waren duidelijk sterk gerelateerd aan de samenstelling van de microbiële gemeenschap.

Fijne sedimenten zijn vaak rijker aan organisch materiaal dan grofkorrelige sedimenten (van Duyl et al. 1992). Dit organisch materiaal wordt afgebroken door bacteriën en een hogere concentratie aan organisch materiaal in station 1 in vergelijking met station 2 verklaart wellicht de hogere biomassa van de bacteriën in station 1.

In station 1 werden enkel heterotrofe nanoflagellaten en ciliaten waargenomen in de bovenste sedimentlagen terwijl in de diepere lagen de heterotrofe protisten vrijwel afwezig waren. Ciliaten en flagellaten leven voornamelijk in de interstitiële ruimtes tussen de sedimentkorrels. Bij zeer slibrijke sedimenten met een lage mediane korrelgrootte zoals in station 1 zijn deze interstitiële ruimtes te klein voor deze protisten om in te foerageren. In dat geval komen ze enkel voor in een dun laagje aan het oppervlak van het sediment. Dit verklaart waarom ciliaten en flagellaten in station 1 enkel in de bovenste 0.5 cm werden waargenomen.

Ondanks het feit dat flagellaten in station 1 enkel aan de oppervlakte voorkomen was de biomassa van heterotrofe flagellaten geïntegreerd over de bovenste 4 cm van het sediment vergelijkbaar in beide stations. Heterotrofe flagellaten voeden zich voornamelijk met bacteriën. De hoge bacteriële biomassa in station 1 verklaart wellicht waarom in dit station evenveel flagellaten voorkomen aan de oppervlakte van het sediment als over de volledige bemonsterde diepte van het sediment in station 2.

In beide stations werden meer ciliaten waargenomen aan het oppervlak van het sediment dan in de diepere sedimentlagen. Alhoewel de meeste soorten ciliaten eerder typisch zijn voor intertidale sedimenten komen een aantal belangrijke taxa (*Vorticella*, *Strobilidium*) ook algemeen in het plankton van de Zeeschelde voor (Muylaert et al. in druk). Dit zou erop kunnen wijzen dat er een sterke interactie bestaat tussen het plankton en het benthos. *Vorticella* is een genus dat gekenmerkt wordt door een vastgehechte levenswijze (Kerr 1983). Mogelijk resulteert vasthechting van ciliaten aan estuariene vlokken en een sterke flux van deze vlokken tussen de slikken en het pelagiaal in het turbiditeitsmaximum in een sterke uitwisseling van ciliaten tussen het benthos en plankton.

De biomassa van de bacteriën is veel hoger in station 1 in vergelijking met station 2 terwijl de biomassa van de heterotrofe protisten vergelijkbaar is in beide stations. Daardoor is de ratio van de biomassa van de heterotrofe protisten over de bacteriën lager in station 1 dan in station 2. Bijgevolg kan verwacht worden dat de relatieve impact van de protisten op de bacteriële biomassa hoger is in zandige sedimenten zoals in station 2 in vergelijking tot slibrijke sedimenten zoals station 1.

De chlorofyl *a* concentraties in station 1 waren steeds hoger dan de chlorofyl *a* concentraties in station 2. Dit kan te wijten zijn aan 2 factoren. Enerzijds kan de produktie van het microfytobenthos in station 1 hoger zijn dan in station 2. De lage hydrodynamiek in station 1 zorgt ervoor dat dit station een stabielere omgeving vormt voor het microfytobenthos waardoor de produktie er hoger kan zijn. Daarenboven is de overstromingsfrequentie in station 1 lager waardoor de periode dat het microfytobenthos aan licht blootgesteld is, en bijgevolg aan primaire produktie kan doen, veel langer is. Anderzijds kan de hogere chlorofyl *a* concentratie in station 1 verklaard worden door een hogere sedimentatie van chlorofyl *a* vanuit de waterkolom. De fijnere sedimenten in station 1 wijzen op een sterke sedimentatie van fijne partikels uit de waterkolom door lagere stroomsnelheden langs de hoogwaterlijn. Deze fijne partikels omvatten niet alleen slib maar ook fytoplankton, wat de hoge chlorofyl *a* concentraties in station 1 kan verklaren. In Deelstudie II wordt de soortensamenstelling van het microfytobenthos vergeleken met die van het fytoplankton in de Zeeschelde. De resultaten van deze studie wijzen erop dat veeleer een verhoogde sedimentatie van fytoplankton dan een hogere produktie verantwoordelijk zou zijn voor de hogere chlorofyl *a* concentraties in station 1.

Opvallend aan de ingezamelde data is dat er noch voor de biomassa's van de bacteriën, de heterotrofe flagellaten en de ciliaten als voor de chlorofyl *a* concentraties een duidelijke seizoenaal patroon werd waargenomen. Het microfytobenthos van intergetijdengebieden reageert vaak sterk op wijzigingen in de expositieduur van het sediment en is daardoor meer afhankelijk van springtij/doodtij cycli dan van seizoenale verschillen in zonnestraling en temperatuur. Daardoor vertoont de microfytobenthosgemeenschap vaak een veel minder uitgesproken seizoenaliteit dan fytoplanktongemeenschappen (Underwood & Kromkamp 1999) en de variatie binnen een tijdschaal van enkele weken is dan ook vaak vergelijkbaar met de variatie op jaarbasis (Serodio & Catarino 2000). Het microbieel voedselweb (bacteriën, flagellaten, ciliaten) is in de eerste plaats afhankelijk van de produktie van organisch materiaal *in situ* of de aanvoer van allochtoon organisch materiaal. Eerdere studies wezen er reeds op dat het microbieel voedselweb in mariene (van Duyl et al. 1992, Sündback et al. 1996) of zoetwater (Starink et al. 1996) benthische systemen veeleer bepaald wordt door de aanvoer van organisch materiaal dan door andere factoren zoals de temperatuur of de aanwezigheid van grazers. Wellicht is dit ook het geval op het slik van Appels, aangezien het waargenomen seizoenaal patroon zeer onregelmatig is. Onze gegevens laten echter niet toe de bronnen van organisch materiaal te identificeren die aan de basis van het microbieel voedselweb liggen. Zowel input van fytoplankton of detritus uit de waterkolom, primaire produktie *in situ* of aanvoer van macrofytendetritus vanuit de aanpalende schorren kunnen op het slik van Appels van belang zijn en deze processen vertonen wellicht sterk verschillende en complexe temporele patronen.

Referenties

- Børsheim, K.Y., Bratbak, G., 1987. Cell volume to carbon conversion factors for a bacterivorous *Monas* sp. enriched from seawater. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 36, 171-175.
- Bratbak, G., Dundas, I., 1984. Bacterial dry matter content and biomass estimation. *Appl. Environm. Microbiol.* 48, 755-757.
- De Jonge, V.N., 1980. Fluctuations in the organic carbon to chlorophyll a ratio of marine benthic diatoms. *Marine Ecology* 2, 345-353.
- Fenchel, T., 1982. Ecology of heterotrophic microflagellates. II. Bioenergetics and growth. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 8, 225-231.
- Hondeveld, B.J.M., Bak, R.P.M., van Duyl F.C., 1992. Bacterivory by heterotrophic nanoflagellates in marine sediments measured by the uptake of fluorescently labeled bacteria. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 89, 63-71.
- Kerr, S. J., 1983. Colonization of blue-green algae by *Vorticella* (Ciliata, Peritrichida). *Transactions of the American Microscopical Society* 102, 38-47.
- Mantoura, R.F.C., Llewellynn, C.A., 1983. The rapid determination of algal chlorophyll and carotenoid pigments and their breakdown products in natural waters by Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography. *Analytica Chymica Acta* 151, 297-314.
- Montagnes, D.J.S., Lynn, D.H., 1993. A Quantitative Protargol Stain (QPS) for Ciliates and Other Protists. In : Kemp, P.F., Sherr, B.F., Sherr, E.B., Cole J.J. (eds) : *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*. Lewis publishers, Boca Raton, 777pp.
- K. Muylaert, R. Van Mieghem, K. Sabbe, M. Tackx & W. Vyverman (2000). Dynamics and trophic roles of heterotrophic protists in the plankton of a freshwater tidal estuary. *Hydrobiologia* (in druk)
- Serodio, J., Catarino, F., 2000. Modelling the primary productivity of intertidal microphytobenthos: time scales of variability and effects of migratory rhythms. *Marine Ecology Progress Series* 192, 13-30.
- Sherr, E.B., Caron D.A., Sherr B.F., 1993. Staining of Heterotrophic Protists for Visualization via Epifluorescence Microscopy. In : Kemp, P.F., Sherr, B.F., Sherr, E.B., Cole J.J. (eds) : *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*. Lewis publishers, Boca Raton, 777pp.
- Sherr, E.B., Sherr B.F., 1993. Preservation and Storage of Samples for Enumeration of Heterotrophic Protists. In : Kemp, P.F., Sherr, B.F., Sherr, E.B., Cole J.J. (eds) : *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*. Lewis publishers, Boca Raton, 777pp.
- Starink, M., Bär-Gilissen, M-J., Bak, R.P.M., Cappenberg, T.E., 1994. Quantitative centrifugation to extract benthic protozoa from freshwater sediments. *Appl. Environm. Microbiol.* 60, 167-173.
- Starink, M., Bar-Gilissen, M. J., Bak, R. P. M., Cappenberg, T. E., 1994. Quantitative centrifugation to extract benthic protozoa from freshwater sediments. *Applied and Environmental Microbiology* 60, 167-173.

- Starink, M., Bär-Gilissen, M.-J., Bak, R.P.M., Cappenberg, T.E., 1996. Seasonal and spatial variations in heterotrophic nanoflagellate and bacteria abundances in sediments of a freshwater littoral zone. *Limnol. Oceanogr.* 41, 234-242.
- Sundbäck, K., Nilsson, P., Nilsson, C., Jönsson, B., 1996. Balance between autotrophic and heterotrophic components and processes in microbenthic communities of sandy sediments: a field study. *Est. Coastal Shelf Sci.* 43, 689-706.
- Tso, S.F., Taghon, G.L., 1997. Enumeration of Protozoa and Bacteria in Muddy Sediment. *Microb. Ecol.* 33, 144-148.
- van Duyl, F.C., Kop, A.J., 1990. Seasonal patterns of bacterial production and biomass in intertidal sediments of the western dutch wadden sea. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 59, 249-261.
- van Duyl, F.C., Bak, R.P.M., Kop, A.J., Nieuwland, G., Berghuis, E.M., Kok, A., 1992. Mesocosm experiments: mimicking seasonal developments of microbial variables in North Sea sediments. *Hydrobiologia* 235/236, 276-281.
- Underwood, G. J. C., Kromkamp, J., 1999. Primary production by phytoplankton and microphytobenthos in estuaries. *Advances in Ecological Research* 29, 93-153.
- Velji, M.I., Albright, L.J., 1993. Improved sample preparation for enumeration of aggregated aquatic substrate bacteria. In : Kemp, P.F., Sherr, B.F., Sherr, E.B., Cole J.J. (eds) : *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*. Lewis publishers, Boca Raton, 777pp.

DEELSTUDIE II: MICROPHYTOBENTHOS COMMUNITIES OF THE BRACKISH TO FRESHWATER TIDAL REACHES OF THE SCHELDE ESTUARY (BELGIUM)

(Submitted for publication in Aquatic Botany)

Introduction

Intertidal mudflats in estuaries often sustain very dense populations of micro-algae. Diatoms are usually a very important component of these estuarine microphytobenthos communities and can form dense biofilms on the sediment surface (MacIntyre *et al.*, 1996). Locally and/or seasonally, cyanobacteria or euglenophytes can also be of importance (Klein and Riaux-Gobin, 1991; Barranguet *et al.*, 1997; Brotas and Plante-Cuny, 1998). Areal biomass of microphytobenthos on estuarine mudflats often exceeds 100 mg chl *a* m⁻² and primary productivity can exceed primary productivity in the water column (Underwood and Kromkamp, 1999). Moreover, resuspension of microphytobenthos by wind- or tide-induced turbulence can give rise to a significant contribution of benthic algae to planktonic biomass (De Jonge and Van Beusekom, 1992). As a result, in estuaries with extensive intertidal areas, benthic micro-algae often contribute significantly to total ecosystem primary production (Cadée and Hegeman, 1974; De Jong *et al.*, 1994; Schreiber and Pennock, 1995). Through production of extracellular polysaccharides, microphytobenthos also plays an important role in stabilising intertidal sediments (Sutherland *et al.*, 1998; De Winder *et al.*, 1999).

In the past decades, several techniques have been developed to study the microphytobenthos. Chlorophyll *a* analysis using fluorometry or spectrophotometry yields reproducible results and allows a large number of samples to be processed in a relatively short time but provides no information on community composition (e.g. Guarini *et al.*, 1998). Using high performance liquid chromatography one can identify the major taxonomical groups (e.g. Barranguet *et al.*, 1997; Brotas and Plante-Cuny, 1998) but the distinction between some important functional groups like planktonic, epipellic and benthic diatoms remains difficult. While being relatively time-consuming and providing no direct information on total biomass, methods involving microscopical cell counts can provide detailed information on microphytobenthic community composition (e.g. Sabbe, 1993; Lauria *et al.*, 1999). Benthic micro-algae, however, are notoriously difficult to extract from the sediment. The lens-tissue technique (e.g. Colijn and Dijkema, 1981; Kingston, 1999) makes use of the phototactic behaviour of micro-algae to extract them from the sediment but excludes non-motile organisms and introduces a bias towards the most motile taxa. Density gradient centrifugation (e.g. De Jonge, 1979) allows the separation of micro-algae from detritus and sediment particles but whether epipsammic diatoms are quantitatively separated from the sand grains to which they are attached remains to be tested. Treatment with strong acids separates epipsammon from sediment particles but does not allow to distinguish between living and dead cells (e.g. Juggins, 1992; Sabbe, 1993). In this study we used a technique described by Sündback and Snoeijs (1991) in which free-living benthic microalgae (epipelon) are separated from the sediment and sediment-associated microalgae (epipsammon) by resuspension and decantation. In the sediment that is left after decantation of the supernatant containing the epipelon, the epipsammon is separated from the sand-

grains by oxidation with strong acids. Afterwards, epipsammic cell numbers are corrected for the amount of dead cells by determining the ratio of living to dead cells in a separate count of Bengal Rose stained samples. This method has the advantage that all organisms are included and yields detailed information on microphytobenthic community composition. This allowed us to study the relative importance of different functional groups and make a comparison between the plankton and the benthos.

Most studies dealing with microscopical analysis of estuarine microphytobenthos include only the brackish and marine reaches of the estuary while the freshwater tidal estuary is seldom investigated (e.g. Admiraal *et al.*, 1982; Asmus and Bauerfeind, 1994). Several of the studies that deal with the entire estuarine gradient focus only on diatoms (e.g. Wilderman, 1987; Amspoker and McIntire, 1986; Juggins, 1992). John *et al.* (1990) and Claps (1996) included all algal groups in their study but focused only on the transition between the river and the estuary. In this paper we describe the microphytobenthic community of a series of mudflats situated in upper reaches of the Schelde estuary. The processes regulating the distribution of the dominant functional groups are discussed.

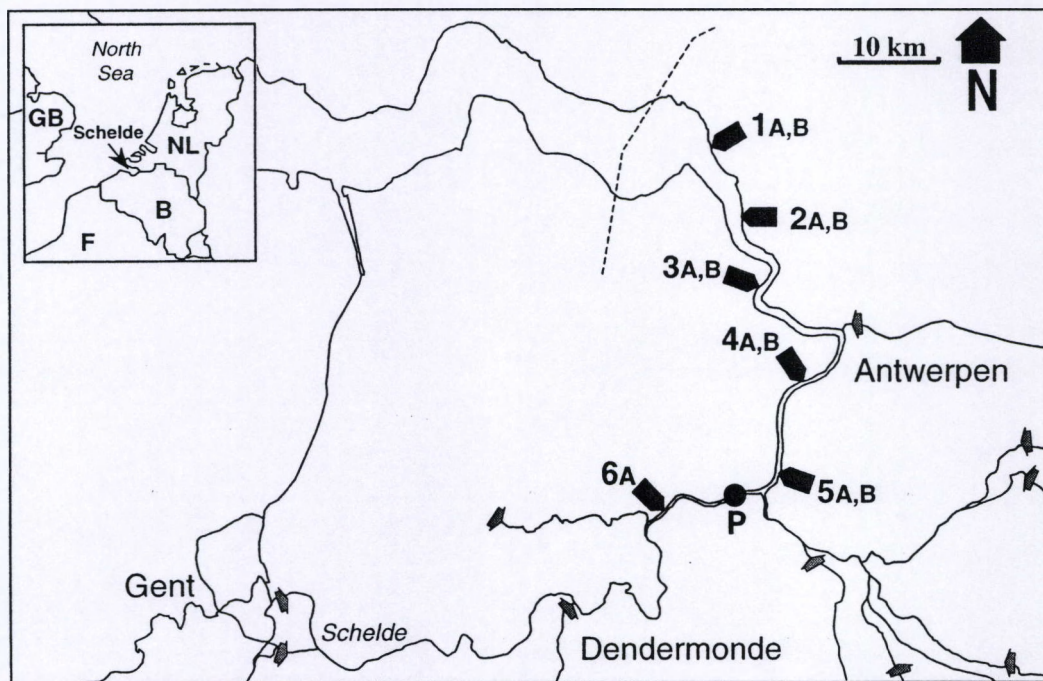


Fig. II.1. Map of the Schelde estuary showing the position of the sampling sites. At each site (except for site 6) a station near the mean high water line (A) and a station near the mean low water line (B) was sampled. The upper limit of tidal influence in the estuary and its side-basins is indicated with grey arrows.

Materials and methods

Study area

The Schelde estuary is a coastal plain estuary situated between Belgium and The Netherlands (Fig. II.1). Discharge of the estuary is relatively low compared to its total volume, which results in gradual salinity gradient that is stable in time and space (Soetaert and Herman, 1995). The estuary is heavily antropogenically influenced and inputs of nutrients and organic matter are very high (Heip, 1988). In contrast to many other European estuaries, the Schelde estuary is characterised by the presence of an extensive freshwater tidal area (Meire et al., 1995).

This study focuses on mud flats situated in the mesohaline to freshwater tidal reaches of the Schelde estuary. In this part of the estuary, intertidal areas comprise approximately 28 % of the total estuarine surface; of these intertidal areas, 56 % of the surface is occupied by intertidal mud flats, the remaining part being vegetated by dense *Phragmites* and *Salix* stands (Meire et al., 1995). Sediments on the intertidal flats are generally muddy and rich in organic matter. Inorganic matter and mud content tend to increase in upstream direction and are usually lower near the mean low water line where tidal currents are stronger (Ysebaert et al., 1993). Tidal range increases from 4.6 m near the Dutch-Belgian border to a maximum of 5.3 m near Dendermonde after which it decreases again to 2 m near Gent, where the tidal wave is arrested by locks. In the plankton of the freshwater tidal reaches, dense phytoplankton blooms dominated by centric diatoms (mainly *Cyclotella* spp. and *Actinocyclus normannii*) and coccoid green algae (*Scenedesmus* spp.) occur in spring and summer. While diatoms are dominant in terms of biomass, numerical abundances of diatoms and coccoid green algae are in the same order of magnitude (Muylaert et al., 1997; Muylaert et al., in press).

In the freshwater tidal reaches, silt particles resuspended by the tides coagulate with organic matter of terrestrial and riverine origin to form macro-aggregates called estuarine flocs (Eisma, 1993; Herman and Heip, 1999). Due to their high sedimentation rates (10-100 m day⁻¹, Largier, 1993; Pejrup and Edelvang, 1996) and the specific hydrodynamics of estuaries, these flocs accumulate in a maximum turbidity zone situated in the freshwater to mesohaline reaches of most estuaries. Two processes are important in the formation of turbidity maxima and in the Schelde estuary these give rise to two separate peaks in turbidity along the estuarine gradient (Fig. II.2). The first process involves the entrapment of fast-sinking aggregates in the baroclinic circulation associated with the salt wedge (Postma and Kalle, 1955; Largier, 1993). This 'hydrodynamic trapping' is responsible for the turbidity peak situated in the mesohaline stations of the Schelde estuary, where a slight salinity stratification is usually present (Baeyens et al., 1997). The second process is referred to as 'tidal pumping' and is caused by an asymmetry of the tidal cycle (Salomons et al., 1988; Wolanski, 1995; Guézennec et al., 1999). In the freshwater tidal reaches of the Schelde estuary, flood currents are stronger than ebb currents (Claessens, 1988) and more sediment is resuspended during flood than during ebb tide. This results in a net upstream transport of large particulates and the formation of a second, more pronounced turbidity peak in the freshwater tidal zone.

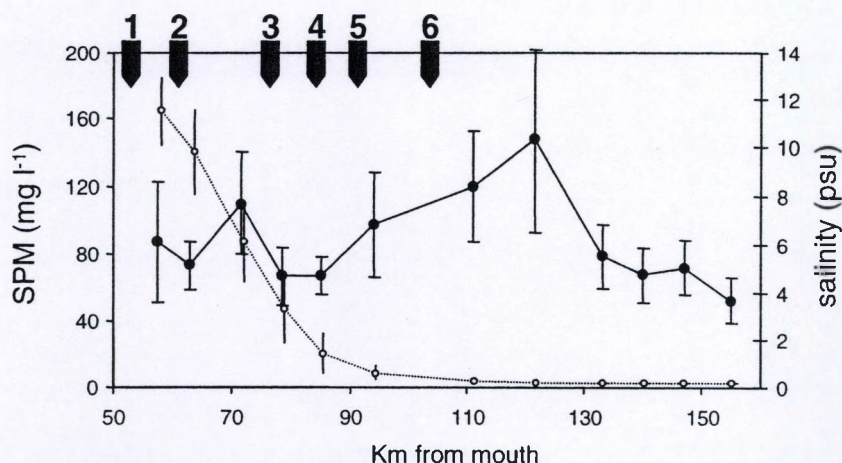


Fig. II. 2. Annually averaged spatial variation in suspended particulate matter concentrations and salinity in the upper reaches of the Schelde estuary in 1996 (data from Billiones, 1998). Error bars indicate ± 0.5 standard deviation. The positions of the intertidal flats sampled for this study are indicated.

Sampling

Six intertidal mud flats situated along a gradient from the mesohaline to the freshwater reaches of the Schelde estuary were sampled at the end of August 1995 (Fig. II.1). At each site (except for site 6) two stations were sampled: one near the mean high water line (H) and one near the mean low water line (L). The upper 10 mm of the sediment were collected using a Perspex corer (22 mm diameter). To average out small-scale patchiness, 5 replicate cores collected within 1 m² were pooled into one composite sample. Samples were fixed with 40 ml of 33 % formalin (final concentration 4 %). Salinity of interstitial water was measured *in situ* using a refractometer. Non-quantitative samples of the upper 10 mm of the sediment were collected and were analysed for sediment grain size distribution (using a Coulter Counter LS100) and sediment water content (by determining the difference in weight before and after drying in an oven at 60°C for 24 hours).

Microscopical analyses

To quantify the microphytobenthos, we used a technique described by Sundbäck and Snoeijs (1991) which aims at separating the epipelton from the epipsammon by means of resuspension and decantation. In this paper, we define the epipsammon as those organisms living in close association with individual sand grains. According to this definition the epipsammon contains only small, motile and non-motile, attached diatoms. The epipelton is defined as organisms moving freely in and on the sediments and contains diatoms as well as all other algal groups with a truly benthic or planktonic lifestyle (Round et al., 1990).

For enumeration of the microphytobenthos, the fixed samples were gently homogenised after which the largest sediment particles were allowed to settle for 30 seconds and the supernatant was decanted. The supernatant was assumed to contain the epipelton only and will be referred to as the 'resuspended fraction'. Subsamples of the resuspended fraction were transferred to a Bürker counting chamber. The microphytobenthos cells were identified up to genus level and 300 cells were

enumerated using a Leitz Diaplan microscope equipped with Nomarski interference contrast optics. Bengal rose B was added to the samples to aid in distinguishing between cells and detrital particles. Only cells containing intact chloroplasts (which were assumed to be living cells) were included in the counts. The sediment remaining after decantation of the supernatant was assumed to contain only epipsammic diatoms (Sundbäck and Snoeijs, 1991) and will be referred to as the sediment fraction. For enumerating diatoms in this fraction, a subsample of the sediment was oxidised with equal parts sulphuric acid and nitric acid to separate diatoms from the sediment and to clean diatom frustules (Krammer and Lange-Bertalot, 1986). Samples were heated for two hours after which sediment and frustules were rinsed twice with water and twice with ethanol by means of centrifugation. After the final rinse, the pellet containing diatom valves was resuspended in a known volume of ethanol. 50 μ l of this suspension was transferred to a coverslip and air-dried. Coverslips were mounted in Naphrax and inspected using Nomarski interference contrast microscopy. At least 200 diatom frustules were identified and enumerated within a known surface area. This surface area was extrapolated to the total surface of the dried drop in order to estimate the number of frustules per volume of sediment. Afterwards, subsamples of sediment of the sediment fraction were resuspended in 4 % formalin and stained with Bengal rose B. In this suspension, the fraction of living cells was determined in order to correct the counts of the Naphrax slides for dead diatoms. The total number of living microphytobenthos cells per volume of sediment was then calculated from the sum of the counts in the resuspended and sediment fractions.

All taxa were assigned to one of the following functional groups: epipellic, epipsammic and planktonic diatoms, coccoid green algae, flagellates and cyanobacteria. For diatoms, the assignment to a specific group was based on personal observations on fixed material (for distinguishing epipellic from epipsammic forms) as well as information published by Ricard (1987), Denys (1991) and Sabbe (1997) on the auto-ecology of diatoms.

Mathematical analysis of the data

Redundancy analysis (RDA) was used to determine the influence of environmental variables on the distribution of the dominant functional groups in the microphytobenthos. Abundance data were $\log(x+1)$ transformed prior to analysis to obtain normal distribution. The environmental variables included were salinity, sediment median grain size, clay and silt fraction in the sediment, sediment water content and position near high or low water line. For the position near high or low water line, dummy variables were used, while all other environmental variables were quantitative. For all multivariate analyses, the CANOCO software package, version 3.1 was used (ter Braak, 1987; ter Braak, 1990). First the significance of each environmental variable in explaining variation in the abundance data was tested by means of a Monte Carlo permutation test (999 unrestricted permutations) and only environmental variables significantly explaining variation in the data were included. Of all environmental variables, only salinity and median grain size significantly explained variation in microphytobenthos abundance data. By determining the variation explained by salinity and median grain size separately and of each variable with the other variable as a covariable, we were able to partition the variation in the data among salinity and median grain size (cfr. Borcard *et al.*, 1992; Økland and Eilertsen, 1994; Pinel-Alloul *et al.*, 1995).

Results

Abiotic measurements

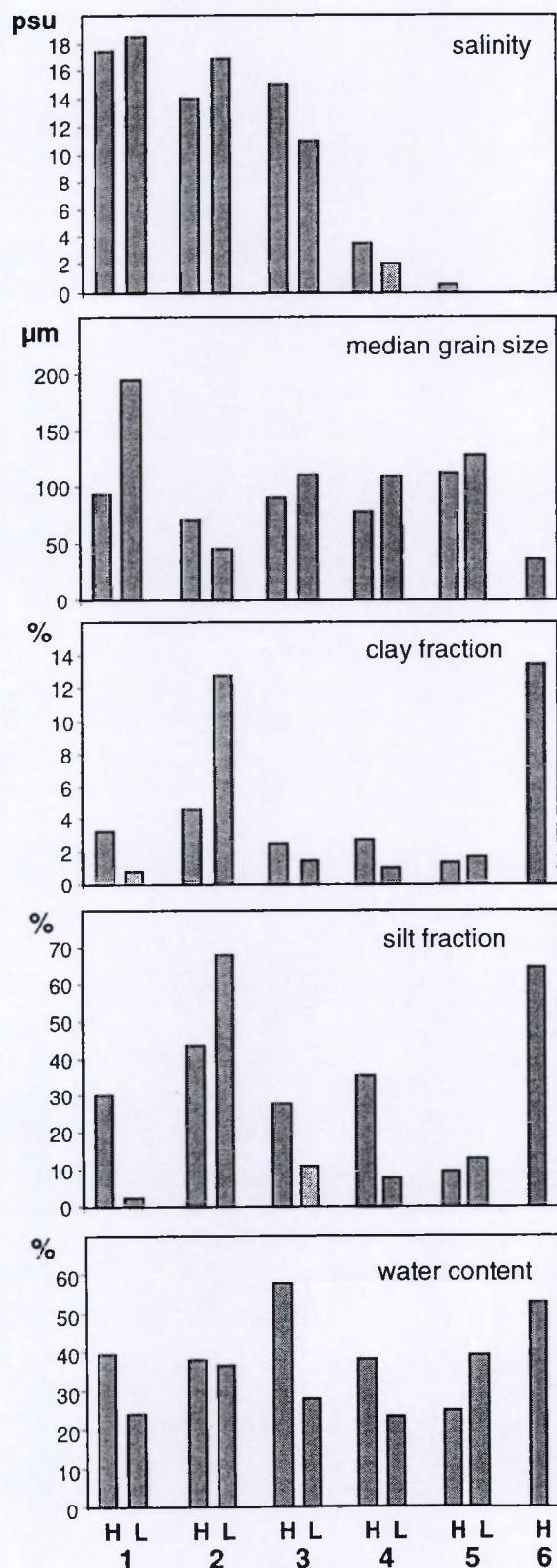


Fig. II. 3. Salinity, median grain size and clay, silt and organic matter content of the sediment at all stations sampled.

The results of the abiotic measurements are summarised in Fig. II.3. Salinity of interstitial water decreased from 18.5 psu at site 1 to less than 0.5 psu at sites 5 and 6 and was generally comparable for the stations near the high and low water line. Median grain size of the sediment varied between 16 and 196 μm . Clay ($< 4 \mu\text{m}$) and silt ($4-63 \mu\text{m}$) content varied respectively between 0.8 and 20 % and 2.6 and 89 %. Sediments at sites 2 and 6 were characterised by the lowest median grain size and highest clay and silt content. With the exception of site 2, the stations near mean low water were always characterised by a higher median grain size and a lower clay and silt content. Water content of the sediment varied between 23 and 71 % and decreased with increasing median grain size.

Species composition and cell abundance

A list with all the taxa which contributed to more than 5 % of total cell abundance of a particular functional group in at least one sample is given in Table II.1. The dominant epipsammic diatoms in our samples were *Planothidium delicatulum*, *Opephora guenter-grassii*, *Fragilaria schulzii*, *Catenula adhaerens* and a small unidentified *Navicula* species. The dominant epipellic diatoms were *Cocconeis placentula*, *Navicula phyllepta*, *Parlibellus* sp., *Nitzschia dissipata*, *Nitzschia sigma*, *Navicula flantica* and *Staurophora salina*. Planktonic diatoms were mainly represented by centric taxa like *Thalassiosira proschkiniae* and *Cyclotella* species. Coccoid green algae were dominated by *Scenedesmus* and *Crucigenia* species. The most important flagellates were *Euglena* and *Phacus* species while cyanobacteria were dominated by *Oscillatoria* and *Merismopedia* species.

Abundance of the different functional groups in all samples is presented in Fig. II.4. Epipsammic diatoms were the most abundant organisms in our samples, attaining on average $4.4 \cdot 10^6$ cells ml^{-1} sediment. The second most abundant group were planktonic diatoms (on average $1.1 \cdot 10^6$ cells ml^{-1} sediment) followed by epipellic diatoms (on average $0.4 \cdot 10^6$ cells ml^{-1} sediment). Autotrophic flagellates, coccoid green algae and cyanobacteria attained comparable cell numbers and abundance of these groups was on average about 1 to 2 orders of magnitude lower than those of diatoms.

Epipsammic and (to a lesser extent) epipellic diatoms decreased strongly in abundance in the most upstream sites sampled. Abundance of planktonic diatoms was comparable at all stations except for the sandy stations situated near the mean low water line at sites 1 and 3. Coccoid green algae were found mainly in the oligohaline to freshwater part of the estuary (sites 4,5 and 6). Cyanobacterial and flagellate abundance did not vary systematically among the stations but was especially high at the station near the low water line at site 4.

Diatoms were enumerated in the resuspended as well as in the sediment fraction of the samples. On average 88.1 % of the epipsammic diatoms were found in the sediment fraction; this percentage decreased from more than 99 % at site 1 to 42 % in the freshwater part of the estuary at site 6, where epipsammic diatom abundance was much lower. Of the epipellic and planktonic diatoms, on average only 19.6 % and 23.1 % respectively were found in the resuspended fraction; especially for the planktonic diatoms, this percentage increased towards the most upstream sites.

Table II. 1. List of the taxa contributing to more than 5% of the total cell numbers of a functional group in at least one sample.

Epipsammic diatoms

Planothidium delicatulum (Kützing) Round & Bukthiyarova
Amphora spp.
Biremis lucens (Hustedt) Sabbe, Witkowski & Vyverman
Catenula adhaerens Mereschkowsky
Cymatosira belgica Grunow
Delphineis minutissima (Hustedt) Simonsen
Fragilaria schulzii Brockmann
Navicula sp. 1
Navicula sp. 4
Navicula perminuta Grunow
Opephora guenter-grassii (Witkowski & Lange-Bertalot) Sabbe & Vyverman
Opephora mutabilis (Grunow) Sabbe & Vyverman
Pseudostaurosira perminuta (Grunow) Sabbe & Vyverman
Rhaphoneis amphicerus (Ehrenberg) Ehrenberg

Epipellic diatoms

Biddulphia alternans (Bailey) van Heurck
Cocconeis placentula Ehrenberg
Diploneis spp.
Frustulia sp.
Gomphonema parvulum (Kützing) Kützing
Luticola cohnii (Hilse) Mann
Luticola mutica var. *ventricosa* (Kützing) Mann
Placoneis clementis (Grunow) Cox
Navicula flantica Grunow
Nitzschia fonticola Grunow
Navicula gregaria Donkin
Navicula phyllepta Kützing
Navicula recens (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot
Navicula sp2
Navicula sp3
Navicula trivialis Lange-Bertalot
Nitzschia debilis
Nitzschia dissipata (Kützing) Grunow
Nitzschia palea (Kützing) Smith
Nitzschia perspicua Chlcnoky
Nitzschia sigma (Kützing) Smith
Parlibellus sp.
Psammodictyon constrictum (Gregory) Mann
Staurophora salina Smith
Surirella brébissonii Krammer & Lange-Bertalot

Planktonic diatoms

Actinocyclus normanii (Gregory) Hustedt
Asterionella formosa Hassall
Cyclotella atomus Hustedt
Cyclotella meneghiniana Kützing
Cyclotella scaldensis Muylaert & Sabbe
Thalassionema nitzschioides Grunow
Thalassiosira angulata (Gregory) Hasle
Thalassiosira decipiens (Grunow) Jörgensen
Thalassiosira proschkiniae Makarova

Cocoid green algae

Scenedesmus spp.
Tetrastrum spp.
Pediastrum spp.
Staurastrum sp.
Crucigenia spp.
Chlorococcus-like cells

Cyanobacteria

Oscillatoria spp.
Pseudanabaena spp.
Merismopedia spp.

Flagellates

Euglena spp.
Phacus spp.

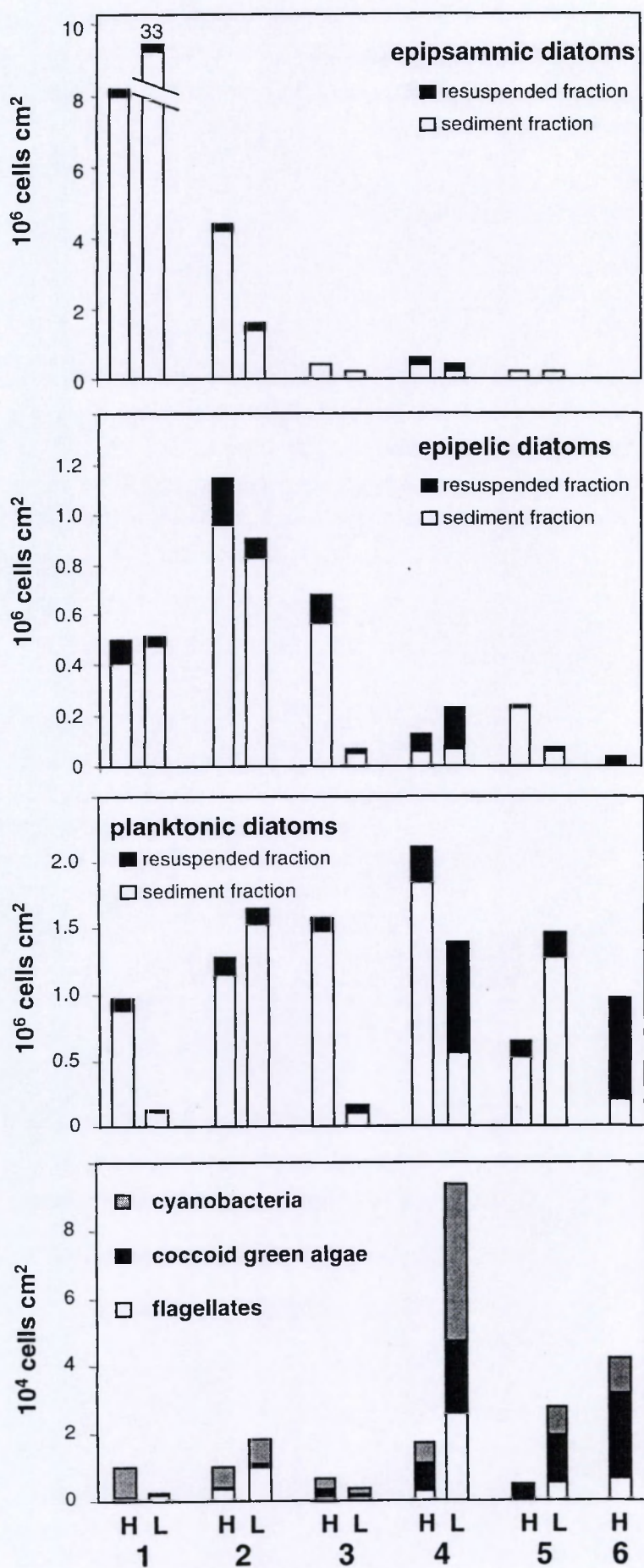


Fig. II. 4. Cell abundance of the dominant functional groups at all stations sampled. For the diatoms, which were enumerated in the resuspended as well as the sediment fraction, the contribution of total cell abundance to both fractions is indicated.

Multivariate analysis

Salinity and median grain size explained 53.4 % ($p < 0.01$) and 21.2 % ($p < 0.05$) respectively of the variation in the abundance data. Together, salinity and median grain size explained 66.2 % of the variation in the data set. When the effect of salinity was removed (by introducing salinity as a covariable in the analysis), median grain size still explained 12.8 % of the variation ($p < 0.05$). When the effect of median grain size was removed, salinity still explained 44.9 % of the variation in the abundance data ($p < 0.01$). From these analyses we could conclude that there was an 8.4 % overlap in variation explained by salinity and median grain size (Fig. II.5B).

In the RDA ordination diagram (Fig. II.5A) epipsammic and epipellic diatoms clustered on the right side of the diagram separate from the other functional groups. Both groups were strongly positively related to salinity. Coccoid green algae showed a strong negative relation to salinity. Planktonic diatoms, cyanobacteria and flagellates take a position near the origin and these functional groups were only weakly negatively related to median grain size.

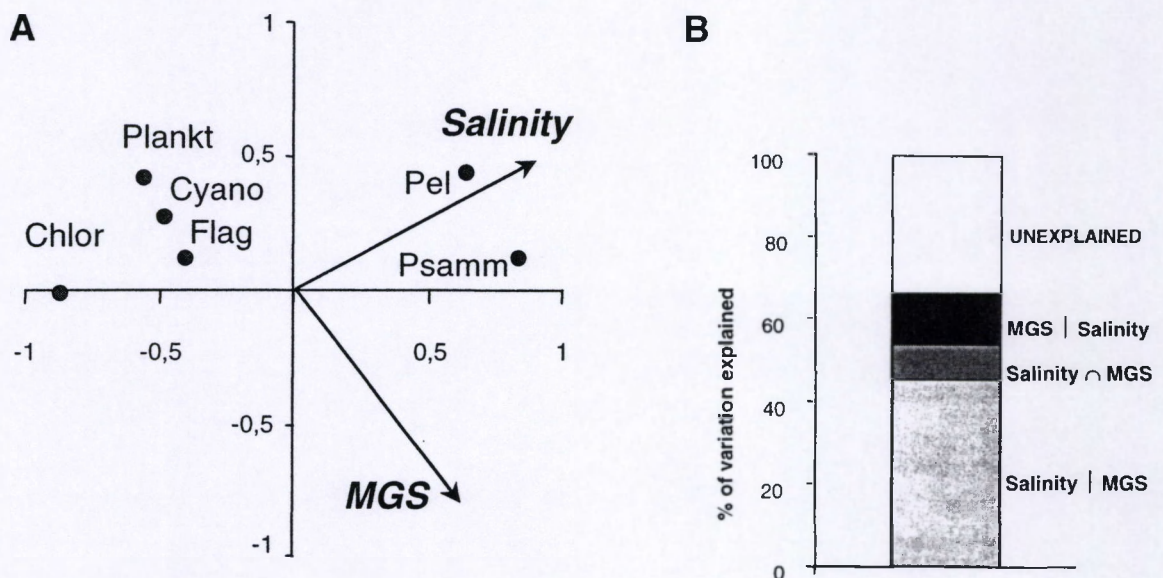


Fig. II. 5. Results of the multivariate analysis.

(a) Biplot based on the redundancy analysis of the functional groups in the microphytobenthos [coccoid green algae (Chlor), flagellates (Flag), cyanobacteria (Cyano), planktonic (Plankt), epipellic (Pel) and epipsammic (Psamm) diatoms] and the abiotic variables salinity and median grain size (MGS)

(b) Partitioning of the variation in the abundance of the functional groups among median grain size and salinity:

MGS | Salinity: variation explained by MGS but not by salinity;

Salinity | MGS: variation explained by salinity but not by MGS;

Salinity ∩ MGS: variation explained by salinity as well as MGS;

UNEXPLAINED: unexplained variation in the data.

Discussion

In this study, the microphytobenthos was quantified using a technique described by Sundback and Snoeijs (1991) in which the epipelon is separated from the epipsammon by means of resuspension and decantation. A similar technique was used by Asmus and Bauerfeind (1994). In our samples, this method proved to be unsuccessful in separating epipsammic from epipellic organisms. While in most samples, the majority of the epipsammic diatoms were found in the sediment fraction, the bulk of the epipellic and planktonic diatoms were still found in the sediment instead of the resuspended fraction. This may be explained by the fact that in the sediments these algae sometimes occur in association with large and fast-sinking aggregates of detritus and silt particles (Admiraal and Peletier, 1980). Sedimentation rates of these aggregates are likely to be similar to those of large sand grains and, therefore, these aggregates and the associated epipelon would probably become included in the sediment fraction.

Diatoms numerically dominated the microphytobenthos community at all stations. However, it should be noted that coccoid green algae, flagellates and cyanobacteria were only enumerated in the resuspended fraction and cell numbers of these algal groups may therefore be seriously underestimated. As these algae belong to the epipelon one could assume that the extraction efficiency of these algae is comparable to that of epipellic and planktonic diatoms. Consequently, the abundance of these groups should probably be increased about five-fold. Even then, they only contributed to at most 2 % of total cell numbers. The observed patterns in cell abundance data cannot be directly translated into biomass but even assuming that the dominant phytoflagellates and cyanobacteria are one order of magnitude larger in size than the dominant diatoms, diatoms would still dominate microphytobenthos biomass at all stations. Cyanobacteria and flagellates tend to be more abundant under calm conditions (MacIntyre *et al.*, 1996). In the part of the estuary studied, the intertidal flats are relatively narrow and tidal currents are very strong which probably prevents cyanobacteria and flagellates from dominating microphytobenthic biomass. Cyanobacteria and flagellate abundance displayed little variability among the sites. In the ordination, these groups were positioned near the centre of the biplot and showed only a weak negative correlation with median grain size (Fig. II.5), suggesting that growth conditions for these organisms are unfavourable over the entire range of environmental conditions sampled.

Epipellic and epipsammic diatoms decreased strongly in abundance in the oligohaline and freshwater sites and, in the ordination diagram, epipsammic and epipellic diatoms were separated from the other algal groups mainly based on their positive correlation with salinity (Fig. II.5). As there was only a minor overlap in variation explained by salinity and variation explained by median grain size, the decrease in abundance of these organisms in the more upstream-situated sampling sites cannot only be ascribed to the absence of suitable substrates in this part of the estuary. Indeed, sediments with high median grain size occurred along the entire gradient sampled (Fig. II.3). This does not necessarily imply that salinity is directly responsible for the observed decline in epipellic and epipsammic diatom abundance. Salinity stress is often found to have a negative influence on estuarine biota, giving rise to a minimum in biomass and diversity at around 5 psu (Remane and Schlieper, 1958). However, although many microphytobenthos studies report a change in community composition of epipellic and epipsammic diatoms near the 5 psu

isohaline, this change is in many cases not accompanied by a decrease in biomass or total cell abundance (McIntire, 1978; Wilderman, 1987; Snoeijs, 1994). In our study, we found only typical brackish water to marine epipsammic diatoms while freshwater taxa commonly found in other freshwater tidal estuaries (Juggins, 1992), rivers (Van Dam et al., 1994) or even tributaries to the Schelde estuary (Van de Vijver, 1996) were either absent or only present in very low numbers (e.g. *Frustulia* spp., *Navicula trivialis*, *Nitzschia palea* and *N. fonticola*). Several diatom taxa that we observed only in the mesohaline stations occurred at much lower salinities in the Thames estuary (e.g. *Navicula phyllepta* and *N. gregaria*, Juggins, 1992). This illustrates that low salinity alone cannot explain the absence of epipsammic and epipellic diatoms on mudflats in the oligohaline and freshwater tidal reaches of the Schelde estuary.

Most estuaries are characterised by the presence of a maximum turbidity zone. While in most estuaries the maximum turbidity zone is restricted to the region of salt-wedge stratification (e.g. the Elbe, Herman and Heip, 1999), in the Schelde estuary, a second turbidity maximum is present in the oligohaline and freshwater tidal reaches (Fig. II.2). In this part of the estuary, the asymmetry of the tidal cycle is maximal and the turbidity maximum is maintained by the process of tidal pumping. In this type of turbidity maxima, high current velocities are combined with high sedimentation rates. As a result, on the intertidal flats, suspended sediments constantly settle and are resuspended again (Salomons et al., 1988; Wolanski, 1995; Guézennec et al., 1999). This constant reworking of the sediments probably prevents epipellic and epipsammic diatoms from colonising mudflats in the oligohaline and freshwater tidal reaches of the estuary. High sedimentation rates were also considered to be responsible for the lower numbers of microphytobenthos in the freshwater tidal reaches of the Thames estuary when compared to the non-tidal Thames River (John et al., 1990). In an experimental study, Wulff et al. (1997) also found a strong effect of fine sediment deposition on the microphytobenthos dynamics. Cahoon et al. (1999) observed a negative relationship between total microphytobenthic biomass and the fraction of fine particles (< 125 µm) and suggested that high sedimentation of fine particles may negatively influence microphytobenthos in intertidal areas. The turbidity maximum found in the mesohaline reaches is situated in a region of salt wedge stratification and is mainly maintained by hydrodynamic trapping, a process that takes place within the water column and does not involve a cycle of sedimentation and resuspension. Therefore, its influence on the microphytobenthos is probably less important and does not inhibit growth of epipellic and epipsammic diatoms.

Coccoloid green algae were found predominantly in the oligohaline and freshwater sites and were in the ordination related to low salinities (Fig. II.5). Planktonic diatoms displayed a relatively weak negative relation with median grain size. In the Schelde estuary, species of the genera *Cyclotella* and *Scenedesmus* dominate the phytoplankton community in the freshwater tidal estuary while the genus *Thalassiosira* is the dominant phytoplankton genus in the oligo- to mesohaline reaches (Muylaert et al., 1997; Muylaert et al., in press). The same species are also the most important contributors to the functional groups of planktonic diatoms and coccoloid green algae in the microphytobenthos of the same estuarine reaches. The presence of planktonic diatoms and coccoloid green algae in the benthos can therefore probably mainly be ascribed to influx from the plankton. This is confirmed by the negative relation of planktonic diatoms with sediment grain size, as low median grain sizes are indicative of higher sedimentation rates. Amspoker and McIntyre

(1986) and Claps (1996) also found a large contribution of planktonic algae in the microphytobenthos of other estuaries.

While abundance of coccoid green algae and diatoms in the plankton of the freshwater tidal reaches is comparable (Muylaert *et al.*, 1997; Muylaert *et al.*, in press), planktonic diatoms are relatively much more abundant in the benthos of the freshwater tidal estuary than coccoid green algae. This suggests a larger flux from the plankton to the benthos for diatoms when compared to green algae. This may be explained by the presence of a siliceous exoskeleton in diatoms, which results in high sedimentation rates of diatoms (Smetacek, 1985). Moreover, in estuaries, many planktonic diatoms are known to occur in association with sediment and detritus particles (Ernissee and Abbot, 1975; Muylaert and Sabbe, 1996). It has been suggested by some authors that diatoms may exploit sedimentation onto intertidal flats to prevent them from being washed out of the estuary (Smetacek, 1986; Schuchardt and Schirmer, 1991; Muylaert and Sabbe, 1996). Thanks to their high sedimentation rates, diatoms may behave like estuarine flocs and as such accumulate in estuarine turbidity maxima by hydrodynamic trapping and/or tidal pumping (Cloern *et al.*, 1983). Recent observations confirm this hypothesis by demonstrating sedimentation and resuspension cycles of planktonic diatoms in estuaries (Verity *et al.*, 1998; Lauria *et al.*, 1999). Periodic sedimentation onto intertidal mudflats may also provide diatoms with periods of high light availability, allowing them to photosynthesise and grow at maximal capacity whereas primary production is strongly light-limited in the water column.

Our data as well as previous studies on microphytobenthic species composition in the Schelde estuary (Sabbe and Vyverman, 1991; Sabbe, 1993) showed that in the meso- to polyhaline reaches of the Schelde estuary, diatoms with a truly benthic lifestyle like epipsammic and epipellic species tend to dominate microphytobenthos communities. In the oligohaline to freshwater tidal reaches, however, planktonic diatoms are the major contributors to the microphytobenthos and microphytobenthic biomass is probably mainly controlled by influx from the plankton. Whether the benthos in this part of the estuary is a sink for planktonic diatoms or whether they use the benthos to increase their residence time in the estuary and/or increase their growth rates remains to be evaluated.

References

- Admiraal, W., Peletier, H., 1980. Influence of seasonal variations of temperature and light on the growth rate of cultures and natural populations of intertidal diatoms. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 2, 35-43.
- Admiraal, W., Peletier, H. Zomer, H., 1982. Observations and experiments on the population dynamics of epipellic diatoms from an estuarine mudflat. *Estuarine Coastal Shelf Sci.* 14, 471-487.
- Amspoker, M.C., McIntire, C. D. 1986. Effects of sedimentary processes and salinity on the diatom flora of the Columbia River estuary. *Bot. Mar.* 29, 391-399.
- Asmus, R.M., Bauerfeind, E., 1994. The microphytobenthos of Königshafen - spatial and seasonal distribution on a sandy tidal flat. *Helgoländer Meeresunt.* 48, 257-76.

- Baeyens, W., Van Eck, B., Lambert, C., Wollast, R., Goeyens, L., 1997. General description of the Scheldt estuary. *Hydrobiologia* 366, 1-14.
- Barranguet, C., Herman, P.M.J., Sinke, J.J., 1997. Microphytobenthos biomass and community composition studied by pigment biomarkers: importance and fate in the carbon cycle of a tidal flat. *J. Sea Res.* 38, 59-70.
- Billiones, R.G., 1998. Spatio-temporal distribution of suspended particulate matter in the Scheldt estuary (Belgium) and interactions with mesozooplankton. PhD Thesis, Free University Brussels, Belgium, 170 pp.
- Borcard, D., Legendre, P., Drapeau, P., 1992. Partialling out the spatial component of ecological variation. *Ecology* 73, 1045-1055.
- Brotas, V., Plante-Cuny, M.R., 1998. Spatial and temporal patterns of microphytobenthic taxa of estuarine tidal flats in the tagus estuary (Portugal) using Pigment analysis by HPLC. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 171, 43-57.
- Cadée, G.C., Hegeman, J., 1974. Primary production of phytoplankton in the Dutch Wadden Sea. *Netherlands J. Sea Res.* 8, 240-259.
- Cahoon, L.B., Nearhoof, J. E., Tilton, C.L., 1999. Sediment grain size effect on benthic microalgal biomass in shallow aquatic ecosystems. *Estuaries* 22, 735-741.
- Claessens, J., 1988. Het hydraulisch regime van de Schelde. *Water* 43, 163-69.
- Claps, M.C., 1996. Structure and dynamics of epipellic algae from a plain river (Samborombon River, Buenos Aires, Argentina). *Arch. Hydrobiol.* 137, 251-263.
- Cloern, J.E., Andrea, E.A., Cole, E.C., Wong, R.L.E., Arthur, J.F., Ball, M.D., 1983. River discharge controls phytoplankton dynamics in the Northern San Francisco Bay estuary. *Estuarine Coastal Shelf Sci.* 16, 415-429.
- Colijn, F., Dijkema, K.S., 1981. Species composition of benthic diatoms and distribution of chlorophyll a on an intertidal flat in the Dutch Wadden Sea. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 4, 9-21.
- De Jong, D.J., Nienhuis, P.H., Kater, B.J., 1994. Microphytobenthos in the Oosterschelde Estuary (the Netherlands), 1981-1990 - Consequences of a changed tidal regime. *Hydrobiologia* 283, 183-195.
- De Jonge, V.N., 1979. Quantitative separation of benthic diatoms from sediments using density gradient centrifugation in colloidal silica Ludox. *Mar. Biol.* 51, 267-278.
- De Jonge, V.N., Van Beusekom, J.E.E., 1992. Contribution of resuspended microphytobenthos to total phytoplankton in the Ems estuary and its possible role for grazers. *Neth. J. Sea Res.* 30, 91-105.
- Denys, L., 1991. A checklist of the diatoms of the Holocene deposits of the western Belgian coastal plain with a survey of their apparent ecological requirements. I. Introduction, ecological code and complete list. *Belgische geologische dienst, Professional Paper Nr.* 246, 1-41.
- De Winder, B., Staats, N., Stal, L.J., Paterson, D.M., 1999. Carbohydrate secretion by phototrophic communities in tidal sediments. *J. Sea Res.* 42, 131-146.
- Eisma, D., 1993. Flocculation and de-flocculation of suspended matter in estuaries. *Arch.*

Hydrobiol./Suppl. 75, 311-324.

Ernissee, C., Abbott, A.L., 1975. Binding of mineral grains by a species of *Thalassiosira*. Beih. Nova Hedwigia 53: 241-252.

Guarini, J.M., Blanchard, G.F., Bacher, C., Gros, P., Riera, P., Richard, P., Gouleau, D., Galois, R., Prou, J., Sauriau, P.G., 1998. Dynamics of spatial patterns of microphytobenthic biomass: inferences from a geostatistical analysis of two comprehensive surveys in Marennes-Oleron Bay (France). Mar. Ecol. Progr. Ser. 166, 131-141.

Guézennec, L., Lafite, R., Dupont, J.P., Meyer, R., Boust, D., 1999. Hydrodynamics of suspended particulate matter in the tidal freshwater zone of a macrotidal estuary (the Seine Estuary, France). Estuaries 22, 717-727.

Heip, C., 1988. Biota and abiotic environments in the Westerschelde estuary. Hydrobiol. Bull. 22, 31-34.

Herman, P.M.J., Heip, C.H.R., 1999. Biogeochemistry of the maximum turbidity zone of estuaries (MATURE): some conclusions. J. Mar. Syst. 22, 89-104.

John, D.M., Johnson, L.R., Moore, J.A., 1990. Observations on the phytobenthos of the fresh-water Thames .3. The floristic composition and seasonality of algae in the tidal and non-tidal river. Arch. Hydrobiol. 120, 143-168.

Juggins, S., 1992. Diatoms in the Thames estuary, England: ecology, palaeo-ecology and salinity transfer function. J. Cramer, Stuttgart.

Kingston, M.B., 1999. Effect of light on vertical migration and photosynthesis of *Euglena proxima* (Euglenophyta). J. Phycol. 35, 245-253.

Klein, B., Riaux-Gobin, C., 1991. Algal pigment diversity in coastal sediments from Kerguelen (sub-antarctic islands) reflecting local dominance of green algae, euglenoids, and diatoms. Polar Biol. 11, 439-448.

Krammer, K., Lange-Bertalot, H., 1986. Bacillariophyceae. Teil 1. Naviculaceae. In: Ettl, H., Gerloff, J., Heynig, H., Mollenhauer, D. (Eds.), Süßwasserflora von Mitteleuropa, Band 2/1, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Largier, J.L., 1993. Estuarine fronts - how important are they? Estuaries 16, 1-11.

Lauria, M.L., Purdie, D.A., Sharples, J., 1999. Contrasting phytoplankton distributions controlled by tidal turbulence in an estuary. J. Mar. Syst. 21, 189-197.

Macintyre, H.L., Geider, R.J., Miller, D.C., 1996. Microphytobenthos: the ecological role of the "secret garden" of unvegetated, shallow-water marine habitats .1. Distribution, abundance and primary production. Estuaries 19, 186-201.

McIntire, C.D., 1978. The distribution of estuarine diatoms along environmental gradients: a canonical correlation. Estuarine Coastal Mar. Sci. 6, 447-457.

Meire, P., Ysebaert, T., Hoffmann, M., Van Den Balck, E., Devos, K., Samanya, R., Deregge, N., Van Waeyenberge, J., Anselin, A., Rossaert, G., Kuijken, E., 1995. Ecologisch onderzoek in de Zeeschelde door het Instituut voor Natuurbehoud: onderbouwing van natuurherstel en natuurontwikkeling. Biol. Jb. Dodonaea 62, 27-47.

Muylaert, K., Sabbe, K., 1996. The diatom genus *Thalassiosira* (Bacillariophyta) in the

estuaries of the Schelde (Belgium/The Netherlands) and the Elbe (Germany). *Bot. Mar.* 39, 103-115.

Muylaert, K., Sabbe, K., Vyverman, W. Spatial and temporal dynamics of phytoplankton communities in a freshwater tidal estuary (Schelde, Belgium). *Estuarine Coastal Shelf Sci.*, in press.

Muylaert, K., Van Kerckvoorde, A., Vyverman, W., Sabbe, K., 1997. Structural characteristics of phytoplankton assemblages in tidal and non-tidal freshwater systems: a case study from the Schelde basin, Belgium. *Freshw. Biol.* 38, 263-276.

Okland, R.H., Eilertsen, O., 1994. Canonical correspondence analysis with variation partitioning: Some comments and an application. *J. Veg. Sci.* 5, 117-126.

Pejrup, M., Edelvang, K., 1996. Measurements of in situ settling velocities in the Elbe estuary. *J. Sea Res.* 36, 109-113.

Pinel-Alloul, B., Niyonsenga, T., Legendre, P., 1995. Spatial and environmental components of freshwater zooplankton structure. *Ecoscience* 2, 1-19.

Postma, H. Von, Kalle, K., 1955. Die Entstehung von Trübingszonen im Unterlauf de Flüsse, speziell im Hinblick auf die Verhältnisse in der Unterelbe. *Deutsche Hydrogr. Zeitschr.* 8, 137-144.

Remane, A., Schlieper, C., 1958. Die Biologie des Brackwassers. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.

Ricard, M., 1987. Atlas du phytoplankton marin: volume 2, Diatomophycées. Centre National de la Reserche Scientifique, Paris.

Sabbe, K., 1993. Short-term fluctuations in benthic diatom numbers on an intertidal sandflat in the Westerschelde estuary (Zeeland, The Netherlands). *Hydrobiologia* 269/270, 275-284.

Sabbe, K., Vyverman, W., 1991. Distribution of benthic diatom assemblages in the Westerschelde (Zeeland, the Netherlands). *Belg. J. Bot.* 124, 91-101.

Sabbe, K., 1997. Systematics and ecology of intertidal benthic diatoms of the Westerschelde estuary (The Netherlands). PhD Thesis, University Gent, Belgium, 347 pp.

Salomons, W., Schwedhelm, E., Schoer, J., Knauth, H.-D., 1988. Natural tracers to determine the origin of sediments and suspended matter from the Elbe estuary. *Water Sci. Technol.* 20, 89-102.

Schreiber, R.A., Pennock, J.R., 1995. The relative contribution of benthic microalgae to total microalgal production in a shallow subtidal estuarine environment. *Ophelia* 42, 335-352.

Schuchardt, B., Schirmer, M., 1991. Phytoplankton minima in the tidal fresh-water reaches of 2 coastal-plain estuaries. *Estuarine Coastal Shelf Sci.* 32, 187-206.

Smetacek, V.S., 1985. Role of sinking in diatom life-history cycles: ecological, evolutionary and geological significance. *Mar. Biol.* 84, 239-251.

Smetacek, V.S., 1986. Impact of freshwater discharge on production and transfer of materials in the marine environment. In: Skreslet, S. (Ed.) *The role of freshwater outflow in coastal marine ecosystems*. NATO ASI Series 67, Springer Verlag, Berlin, pp. 85-106.

- Snoeijs, P., 1994. Distribution of epiphytic diatom species composition, diversity and biomass on different macroalgal hosts along seasonal and salinity gradients in the Baltic Sea. *Diatom Res.* 9, 189-211.
- Soetaert, K., Herman, P.M.J., 1995. Estimating estuarine residence times in the Westerschelde (The Netherlands) using a box model with fixed dispersion coefficients. *Hydrobiologia* 311, 215-224.
- Sundback, K., Snoeijs, P., 1991. Effects of nutrient enrichment on microalgal community composition in a coastal shallow-water sediment system - an experimental study. *Bot. Mar.* 34, 341-358.
- Sutherland, T.F., Grant, J., Amos, C.L., 1998. The effect of carbohydrate production by the diatom *Nitzschia curvilineata* on the erodibility of sediment. *Limnol. Oceanogr.* 43, 65-72.
- ter Braak, C.J.F., 1987. CANOCO - a FORTRAN program for canonical community ordination by (partial) (detrended) (canonical) correspondence analysis, principal component analysis and redundancy analysis (version 2.1). Agriculture Mathematics Group, Wageningen.
- ter Braak, C.J.F., 1990. Update notes: CANOCO version 3.10. Agriculture Mathematics Group, Wageningen.
- Underwood, G.J.C., Kromkamp, J., 1999. Primary production by phytoplankton and microphytobenthos in estuaries. *Adv. Ecol. Res.* 29, 93-153.
- Van Dam, H., Mertens, A., Sinkeldam, J., 1994. A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from The Netherlands. *Neth. J. Aquat. Ecol.* 28, 117-133.
- Van de Vijver, B., Beyens, L., 1996. Diatomeeën en waterkwaliteit in het bekken van de Kleine Nete. *Diatomededelingen* 20, 30-37.
- Verity, P.G., Blanton, J.O., Amft, J., Barans, C., Knott, D., Stender, B., Wenner, E., 1998. Influences of physical oceanographic processes on chlorophyll distributions in coastal and estuarine waters of the South Atlantic Bight. *J. Mar. Res.* 56, 681-711.
- Wilderman, C.C., 1987. Patterns of distribution of diatom assemblages along environmental gradients in the Severn River estuary, Chesapeake bay, Maryland. *J. Phycol.* 23, 209-217.
- Wolanski, E., 1995. Transport of sediment in mangrove swamps. *Hydrobiologia* 295, 31-42.
- Wulff, A., Sundback, K., Nilsson, C., Carlson, L., Jonsson, B., 1997. Effect of sediment load on the microbenthic community of a shallow-water sandy sediment. *Estuaries* 20, 547-558.
- Ysebaert, T., Meire, P., Maes, D., Buijs, J., 1993. The benthic macrofauna along the estuarine gradient of the Schelde estuary. *Neth. J. Aquat. Ecol.* 27, 327-341.