



Vlaanderen
is wetenschap



Onderzoek naar trofische relaties in de Zeeschelde

Eindrapport

Frank Van de Meutter, Olja Bezdenjesnji, Dimitri Buerms, Joram De Beukelaer, Nico De Regge, Jan Soors, Jeroen Speybroeck, Thomas Terrie, Joost Vanoverbeke, Alexander Van Braeckel, Bart Vandevoorde, Erika Van den Bergh, Gunther Van Ryckegem

INSTITUUT
NATUUR- EN BOSONDERZOEK

Auteurs:

Frank Van de Meutter, Olja Bezdenjesnji, Dimitri Buerms, Joram De Beukelaer, Nico De Regge, Jan Soors, Jeroen Speybroeck, Thomas Terrie, Joost Vanoverbeke, Alexander Van Braeckel, Bart Vandevoorde, Erika Van den Bergh, Gunther Van Ryckegem

Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek

Het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek (INBO) is het Vlaams onderzoeks- en kenniscentrum voor natuur en het duurzame beheer en gebruik ervan. Het INBO verricht onderzoek en levert kennis aan al wie het beleid voorbereidt, uitvoert of erin geïnteresseerd is.

Vestiging:

Herman Teirlinckgebouw
INBO Brussel
Havenlaan 88 bus 73, 1000 Brussel
www.inbo.be

e-mail:

frank.vandemeutter@inbo.be

Wijze van citeren:

Van de Meutter F., Bezdenjesnji O., Buerms D., De Beukelaer J., De Regge N., Speybroeck J., Terrie T., Vanoverbeke J., Van Braeckel A., Vandevoorde B., Van den Bergh E., Van Ryckegem G. (2019). Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek 2019 (1). Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel.

DOI: doi.org/10.21436/inbor.15785103

D/2019/3241/001

Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek 2019 (1)ISSN: 1782-9054

Verantwoordelijke uitgever:

Maurice Hoffmann

Foto cover:

Proefopstellig op het slik van de Notelaer (Bornem), juli 2017

Dit onderzoek werd uitgevoerd in opdracht van:

Agentschap Natuur en Bos



Vlaanderen
is wetenschap

ONDERZOEK NAAR TROFISCHE RELATIES IN DE ZEESCHELDE

Eindrapport

**Van de Meutter Frank, Bezdenjesnji Olja, Buerms Dimitri, De Beukelaer Joram,
De Regge Nico, Soors Jan, Speybroeck Jeroen, Terrie Thomas, Vanoverbeke
Joost, Van Braeckel Alexander, Vandevoorde Bart, Van den Bergh Erika, Van
Ryckegem Gunther**

Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek 2019 (1)
D/2019/3241/001

Dankwoord/Voorwoord

Verschillende mensen binnen INBO verleenden hulp bij het uitvoeren van deze studie. Mensen van het EVINBO bureau verzorgden mee het administratieve werk en maakten zo onze taak minder zwaar. Mensen van het inbo MHAF-team (monitoring herstel aquatische fauna) verdienen een bijzonder woord van dank voor hun hulp bij het verschaffen van historische visgegevens voor de Zeeschelde en voor hun hulp op het terrein bij het verzamelen van vissoorten voor de ecotopenstudie. Dank aan de ondersteunende diensten van het INBO-laboratorium bij het uitvoeren van de sedimentanalyses en de bepaling van de chlorofylconcentraties. Onderzoekers David Soto Arojo en professor Steven Bouillon willen we graag heel erg bedanken voor al hun hulp en advies bij het verwerken van de isotopenstalen. Afdeling Maritieme Toegang en in het bijzonder Frederik Roose willen we bedanken voor een prettige samenwerking en het vertrouwen in inbo bij de uitvoer van deze studie.

Samenvatting

Het onderzoeksproject *Trofische relaties in de Zeeschelde* zoekt antwoorden op enkele vragen rond hoe het ecosysteem van de Zeeschelde in zijn huidige toestand functioneert, met nadruk op de hogere trofische niveaus. Belangrijke vragen gaan over of er een link is tussen het benthos op slikken in het intergetijdengebied enerzijds en aquatische predatoren anderzijds (de benthopelagische link). Verder willen we weten hoe sterk deze link is, dus in hoeverre aquatische predatoren in staat zijn om de biomassa benthos te onderdrukken, en om welke soorten predatoren het gaat. Deze vragen proberen we te beantwoorden door middel van een grootschalig enclosure-experiment. Andere vragen gaan over de trofische links in het voedselweb: wie eet wie? Welke soorten zijn vooral op pelagische en welke soorten vooral op benthische voedselbronnen aangewezen? Ten slotte willen we kijken hoe deze kennis bijdraagt aan ons begrip van de recente ecosystemshift van de Zeeschelde: het ecosysteem veranderde door een afname van de vuilvracht plots van een grotendeels zuurstofloos en daardoor visloos systeem maar met hoge densiteiten benthos (wormen) en zeer veel overwinterende watervogels, naar een systeem met voldoende hoge zuurstofwaarden om vis en Crustacea te laten gedijen, maar met veel minder wormen en minder overwinterende watervogels. We gebruiken de nieuw verworven kennis om hypothesen te sturen die we proberen te testen aan de hand van langjarige monitoringgegevens. Deze gegevens zijn voor het grootste deel onder verschillende vormen (soms nog niet eerder ontsloten) aanwezig op INBO. Pertinente vragen zijn of we statistische relaties vinden die veranderingen in benthosbiomassa en de toename in visbiomassa kunnen linken, onafhankelijk van de vuilvracht in het systeem. Al deze kennis moet ons duidelijk maken wat het huidige belang is van slikken voor hogere trofische niveaus, hoe wij actuele monitoringgegevens van verschillende (trofisch) onderling verbonden groepen moeten interpreteren en in het bijzonder of en hoe hoge aantallen overwinterende watervogels nog haalbaar en combineerbaar zijn met een hoge biomassa vis omwille van onderlinge competitie.

Het veldonderzoek aan de hand van exclusures toont aan dat ter hoogte van de Rupelmonding, waar Oligochaeten veruit de voornaamste groep binnen het macrozoöbenthos zijn, er een duidelijke predatie gebeurt door aquatische predatoren op het benthos. Deze predatie is selectief: de grootste wormen worden weggegeten. De totale predatie-impact bedraagt na 15 weken ongeveer 30% van de biomassa, al is dit cijfer niet zo eenduidig vast te stellen (zie verder). Het experiment toont verder aan dat deze predatie exclusief gebeurde door kleine aquatische predatoren (grootste breedte <13mm). Op basis van gelijktijdige monitoring met benthische slee komen hiervoor drie soorten in aanmerking: grijze garnaal (*Crangon crangon*), steurgarnaal (*Palaemon longirostris*) en brakwatergrondel (*Pomatoschistus microps*). Een belangrijk bijeffect van de exclusures was dat ze lokaal de sedimentatie doen toenemen en de erosie doen afnemen. Het gesedimenteerde materiaal is relatief rijker aan organisch materiaal en heeft een iets fijnere korrelgroottesamenstelling dan het origineel sediment. Als gevolg van dit andersoortig sediment neemt de biomassa Oligochaeta toe met ca. 75%: de biomassa wormen is dus ook sterk gelimiteerd door voedsel en/of substraatsamenstelling. Parallele monitoring geeft aan dat de wormenbiomassa overheen het slik inderdaad sterk toeneemt in samenhang met organische stof en een afnemende korrelgrootte. Een andere opmerkelijk resultaat wat dat in predatorvrije exclusures weliswaar een veel hogere biomassa werd vastgesteld, maar dat de aantallen hier uiteindelijk (na een initieel sterke groei) erg laag waren. De reden hiervan is nog onduidelijk, maar mogelijk spelen interne regulatiemechanismen in de wormenpopulatie (competitie, dispersie, kannibalisme?,...) hierin een rol.

Tijdens deze studie werden een zeer groot aantal stalen van Schelde-organismen verzameld en geanalyseerd voor isotoopanalyse. De resultaten hebben verschillende toepassingen. In de eerste plaats kunnen we ze gebruiken om de lokale levensgemeenschap af te bakenen. Verschillende vissoorten die in lage aantallen nabij de Rupelmonding gezien worden (Dunlipharder, Dikkopje) maar ook gekende anadrome vissoorten (bv. volwassen fint) hebben een isotoopsignaal dat duidelijk maakt dat zij in het

mariene milieu of minstens het brakke deel van het estuarium verblijven, en hier slechts kortstondig te gast zijn zonder echt deel uit te maken van het voedselweb. Ten tweede geven de resultaten voor C en N isotopen aan dat grijze garnaal, steurgarnaal en brakwatergrondel alle drie inderdaad potentiële predatoren zijn van Oligochaeta. Verder bevestigen de resultaten in grote lijnen de verwachte hiërarchie in de visgemeenschap met snoekbaars en Europese meerval als piscivoren, en juveniele vissen als voornamelijk planktivoren. Aasgarnalen (Mysidae) foerageren en groeien in ons systeem waarschijnlijk vooral op SPM, en niet zozeer op zoöplankton als uit andere studies op basis van maaganalyses bleek. Binnen het tijdsbestek van deze studie waren uitgebreide dieetanalyses met *mixing models*, onder andere ook op basis van H^2 , niet haalbaar en sommige bevindingen verdienen nog verdere toetsing en validatie. Naar verwachting zal dit toelaten om nog beter de bentische en pelagische *pathways* in het voedselweb te onderscheiden.

De statistische analyse van historische data toonde een verband aan tussen densiteiten Oligochaeta en aantallen van overwinterende eenden (wintertaling), na correctie voor jaar- en plaatseffecten. De terugkeer van vis en garnalen in het oligohaliën houdt zoals verwacht sterk verband met de stijgende zuurstofwaarden. De afname in wormendensiteiten ten slotte, hield significant verband met afnemende vuilvrucht (als proxy gebruikten we *Biological Oxygen Demand*) maar was daarnaast ook significant gelinkt aan een toenemende visbiomassa. We vonden geen verband met de toename aan garnaalachtigen. Hoewel slechts correlatief en gebonden aan een aantal assumpties suggereert dit resultaat dat hoewel de predatie op Oligochaeta tegenwoordig onder andere (vooral?) door grote aantallen garnalen gebeurt, dit niet de voornaamste reden was voor de afname van Oligochaeta ten tijde van de ecosysteemshift.

Aanbevelingen voor beheer en/of beleid

Sinds de ecosysteemshift is het aantal overwinterende watervogels in de Zeeschelde drastisch gedaald waardoor doelstellingen voor deze soortengroep niet meer gehaald worden. Onze experimenten tonen aan dat watervogels in de zoete en oligohaliene zone van de Zeeschelde in competitie staan voor wormen (oligochaeten), waarschijnlijk een belangrijk voedselbron vooral voor eenden, en dit met voornamelijk kleine aquatische predatoren zoals grondels en garnalen. Deze laatste romen de densiteiten wormen af tijdens de zomer, waarna de watervogels tijdens de herfst en wintermaanden minder wormen ter beschikking hebben. Naar de trofische positie van watervogels kon binnen het tijdsbestek van deze studie geen onderzoek uitgevoerd worden. Hoewel verschillende van de belangrijkste overwinterende watervogels (wintertaling, wilde eend, krakeend,...) vooral bekend staan als herbivoor, wordt vermoed dat de hoge aantallen van deze soorten die tot voor kort genoteerd werden in de Zeeschelde, het gevolg waren van het zich opportunistisch voeden met wormen. Het is echter de vraag of dit in de huidige toestand, met lage densiteiten wormen, nog steeds het geval is. Zolang we hiervan niet zeker zijn, is het enigszins gissen naar de consequenties van onze bevindingen in verband met de competitie tussen aquatische predatoren en watervogels. Onderzoek naar het dieet van vogels lijkt dan ook een logische volgende stap om de werking van het huidige ecosysteem te doorgronden. Toch is het ook zeker dat er een belangrijke rol is weggelegd in het estuarium voor met name hoog slikhabitat, waar nog wel hoge wormendensiteiten gevonden worden, iets wat we ook vaak (tijdelijk?) vinden in ontpolderingen en GOG's (=gecontroleerde overstromingsgebieden). Het ontrafelen van wat de proximale factor(s) is (zijn) die hoge wormendensiteiten bepaalt (bepalen), is een andere onderzoeksuitdaging die ons begrip van het ecosysteem naar een hoger niveau kan tillen, omdat dit kan toelaten om beter de interessante voedselgebieden voor watervogels, vissen en garnaalachtigen te voorspellen én te begrijpen waardoor precies wormenaantallen zijn afgenomen bij de ecosysteemshift. Die kritische factor zit zeker ook vervat in recent gesedimenteerd materiaal zoals heel duidelijk bleek ook uit ons experiment.

Onze experimenten suggereren immers ook dat de wormendensiteiten sterk gelimiteerd zijn door hun omgeving: door extra sedimentatie (waargenomen in het experiment) nemen de aantallen sterk toe. De veranderde sedimentkwaliteit (fijner, meer organische stof) in de luwere omstandigheden van het experiment vertoont gelijkenissen met de hogere delen van het slik, en bijvoorbeeld ook met slik in GOG's. De bulk van het benthos in het zoetwater- en oligohaliene deel van de Zeeschelde bevindt zich in deze zones. Dit suggereert dat naast hoogteligging ook lagere dynamiek – met kans tot sedimentatie van voedselrijk slib – van groot belang is voor het ontwikkelen van ecologisch waardevol slikhabitat. Voor kleine aquatische predatoren die hiervan afhankelijk zijn en de vissoorten die van deze kleine soorten leven, en voor watervogels die van het benthos leven, is het dus van groot belang dat er voldoende sedimentatiezones (lagere dynamiek), hoog slik of geschikt GGG in de Schelde aanwezig is.

Een functioneel voedselweb zorgt voor een goede energiedoorstroming, waarbij prooien en predatoren elkaar in evenwicht houden. Indien deze verhoudingen verstoord zijn – zoals zich recent manifesteerde met de knijtenproblematiek in GGG gebieden of ontpolderingen, waarbij in recente zomers uitbraken waren van knijten (een groep kleine, fel stekende mugjes) die tot in de omliggende woonkernen overlast veroorzaakten, wijst dit op enerzijds een sterke link tussen de knijtenlarven en hun voedsel en anderzijds een zwakke link met de predator. In dit geval van de (zomer)predatoren op de knijtenlarven. Wat de voedselbron is en welke predatoren van belang kunnen zijn voor het onderdrukken van populaties knijtenlarven is niet onderzocht in deze studie, knijtenlarven komen immers bijna altijd slechts in zeer lage aantallen voor in het Scheldeslik. Uit onze experimenten valt wel af te leiden dat de toegankelijkheid van de slikken voor (in dit geval pelagische) predatoren een belangrijk aspect is voor de potentiële onderdrukking van benthos, waartoe ook knijtenlarven behoren,. Mogelijk zijn de zones gevoelig voor knijtenplagen onvoldoende geconnecteerd met het pelagiaal. Een snelle manier om een

indicatie te krijgen van predatordruk zou kunnen zijn om de grootteverdeling van wormen in het GGG te vergelijken met die op het nabije Scheldeslik: uit ons experiment bleek immers dat in afwezigheid van aquatische predatie de grootte van wormen sterk toenam. Anderzijds is het de verwachting dat deze zones (zonder hoge predatiedruk door aquatische predatoren in de zomer) net belangrijke foerageergebieden voor watervogels zullen zijn in de winter.

Onze studie toonde verder aan dat aasgarnalen wellicht vooral foerageren op SPM. Op die manier vormen zij samen met het kleine zoöplankton een belangrijke trofische link tussen SPM/fytoplankton en hogere trofische niveaus, maar tevens kunnen zij een rol spelen in de huidige toegenomen SPM waarden. Die rol kan enerzijds actief zijn als soort die SPM weg graast maar anderzijds ook passief wanneer het SPM-gehalte dusdanig hoog zou zijn dat deze de groei en overleving van aasgarnalen zou belemmeren. Over de interactie tussen aasgarnalen en SPM is echter nog weinig geweten.

De oppervlakte slikken in de Schelde is een belangrijke parameter die de natuurlijke werking van het estuarium moet garanderen, onder andere door talrijke chemische processen die de levensgemeenschap van de nodige bouwstenen voorzien. Daarenboven blijkt uit deze studie dat slikken via benthos waarschijnlijk een belangrijke voedselbron zijn voor garnaalachtigen en brakwatergrondels (en vroeger op het jaar wellicht ook andere soorten waaronder bot). Bijkomend onderzoek moet nog duiden in hoeverre deze soorten op hun beurt een bron zijn voor de visgemeenschap, en dus wat de actuele bijdrage is van slikken in het voedselweb.

English abstract

Current project, called *Trophic relationships in the Seascheldt*, is a multidisciplinary research project aimed at answering a set of questions related to food web functioning in the estuary. The principal question is on the so-called benthic-pelagic link, more specifically on the predatory impact of aquatic predators on the benthic community of mudflats. At the confluence of the tributary Rupel with the Seascheldt, the benthic community is almost fully composed of Oligochaeta. By installing enclosure cages we wanted to see if and how much worms are preyed upon by aquatic predators, and if by doing so they could exert competition on overwintering waterbirds that feed at the same mudflats on worms later in winter. Additional questions are on the structure of the local foodweb, more specifically on the trophic links that connect all species. Lastly, the Seascheldt estuary (mainly the area around the confluence of the Rupel) recently has undergone a major ecosystem shift following the reduction of unpurified waste water input. Before, the Seascheldt was very rich in Oligochaeta and hosted huge numbers of overwintering waterbirds (mostly ducks) but the water was anoxic and devoid of larger life forms for a large part of the year whereas after the shift the water became more oxygenized, which prompted the return of a rich fish and crustacean community, but densities of Oligochaeta and overwintering birds have drastically declined. By gathering different sources of monitoring data (benthos, fish, overwintering waterbirds, water quality) spanning the transition from one to the other state, we want to search for relationships that help to better understand this transition.

The large enclosure experiment on the mudflats taught us that over a period of 15 weeks, predation may decrease biomass with some 30%. At the onset of the winter season when overwintering birds arrive, less food is available to the birds because of worm predation by aquatic predators during summer. Predation by the latter is size-selective; in predator-free treatments not the abundance but the size of the worms increased. Regarding the identity of the aquatic predators, the experiment showed that predation was almost solely due to small (diameter <13mm) species. Monitoring with a benthic sled during the experiment points to three species: the shrimp species *Crangon crangon* and *Palaemon longirostris* and the goby *Pomatoschistus microps*. We further observed a remarkable increase (up to 75%) in worm biomass and abundance in open enclosures (with predation) as a result of increased sedimentation (and reduced erosion). The newly deposited material was richer in organic matter and had a finer grain size, leading us to think that worms were bottom-up constrained by food (most likely) or habitat structure. Lastly it is noteworthy that the strong increase in biomass in predator-free cages was decoupled from density: numbers at the end of the experiment were as low or lower as in the control (after a temporary increase at the beginning). It was not the purpose of the experiment to document in detail the internal dynamics of the worm population and therefore we lack precise data yet we believe that some population regulating mechanisms (competition, competition induced dispersal, cannibalism,...) may have caused this.

The study with isotopes revealed several important issues. First, it allowed us to distinguish strays from actual community members: several species with a more brackish or marine affinity show up regularly at the oligohaline study site, yet their isotopic signature clearly shows they do not actually live here. Second, the three above mentioned small aquatic predators do fit as potential benthic worm predators, but to discriminate which of them is more important, more analyses are needed (see further). Further we could confirm the typical hierarchy within the fish community with some piscivores (e.g. *Sander lucioperca*, *Silurus glanis*) and a large number of zooplanktivores including the majority of juvenile fishes. At the bottom of the food web, Mysidae (*Neomysis*) appeared to feed mainly on SPM (suspended particulate matter, including phytoplankton) which is partly in contrast with previous diet studies in the estuary. An important notice is that within the short duration of this project, we have gathered a huge amount of data, but could not arrive at more advanced analyses including mixing models and could not

fully integrate results for H². We are confident that this not only has the potential to further confirm our findings but also may provide better and other insights in the food web functioning.

The statistical modeling of the historical monitoring data revealed a positive relation between Oligochaeta abundance and numbers of overwintering Teal (*Anas crecca*, a duck) even after correcting for time and location. The return of shrimps and fish in the oligohaline part of the estuary as expected could be linked to the increase in oxygen levels. Finally, the decrease in Oligochaeta densities was strongly linked to a decrease in wastewater (we used Biological oxygen demand as a proxy) but additionally also to an increase in fish biomass, suggesting that top-down effects may have played an additional role in the decline of the Oligochaeta. Shrimps on the other hand did not have such an effect on Oligochaeta, signifying a probable difference in the nature of the current predation and predation during the ecosystem shift on Oligochaeta.

Inhoudstafel

Dankwoord/Voorwoord.....	4	
Samenvatting	5	
Aanbevelingen voor beheer en/of beleid	7	
English abstract.....	9	
Lijst van figuren	13	
Lijst van tabellen.....	16	
1	Inleiding	18
1.1	Het voedselweb: netwerk van trofische relaties	18
1.2	De benthisch-pelagische koppeling	19
1.3	Projectdoelstellingen	20
2	Onderzoek naar de benthisch-pelagische koppeling: veldexperiment.....	22
2.1	Studiegebied	22
2.2	Methode	23
2.2.1	Keuze van de maaswijdte	23
2.2.2	Constructie van de exclosures	26
2.2.3	Wetenschappelijk design: behandelingen, replicatie en plaatsing op locatie	27
2.2.4	Opstart en staalname	28
2.2.5	Verwerking stalen	30
2.2.6	Statistische analyse	32
2.3	Resultaten	32
2.3.1	omgevingsvariabelen	32
2.3.2	Oligochaeten	36
2.3.2.1	Densiteiten.....	36
2.3.2.2	Biomassa	38
2.3.2.3	Biomassa per capita	39
2.3.2.4	Grootteverdeling van oligochaeten	41
2.3.2.5	Reproductie: cocons	42
2.3.2.6	Soortensamenstelling	42
2.4	Discussie.....	43
2.4.1	Bottom-up effecten op oligochaeten: sedimentatie	43
2.4.2	Top-down effecten op oligochaeten: een kleine, grootte-selectieve predator.....	44
2.4.3	Interne populatie-regulatie bij <i>Limnodrilus</i> ?	45
3	Onderzoek naar de mogelijke rol van trofische relaties bij de ecosysteemshift: modellering historische data.....	46
3.1	Materiaal en methode	47
3.1.1	Dataselectiecriteria	47
3.1.2	Databronnen	47
3.1.3	Beschrijving data	48
3.1.4	Analysestrategie.....	49
3.2	Resultaten	50
3.2.1	Verkennde analyses	50
3.2.2	Lineaire regressie	52
3.2.2.1	Hypothese 1: wintertaling versus benthos	53
3.2.2.2	Hypothese 2: benthivore vis versus BOD+zuurstof.....	53

3.2.2.3	Hypothese 3: Hyperbenthos versus BOD+zuurstof	54
3.2.2.4	Hypothese 4: Benthos versus benthivore vis+hyperbenthos	54
3.3	Discussie.....	55
4	Isotopenonderzoek: in kaart brengen van trofische links tussen organismen in de Zeeschelde....	57
4.1	Inleiding: stabiele isotopen en ecologie.....	57
4.2	Materiaal en methode	59
4.2.1	Verzamelen van de stalen	59
4.3	Resultaten	65
4.3.1	Temporele patronen	65
4.3.1.1	Aquatische basisbronnen van het voedselweb.....	65
4.3.1.2	Benthische basisbronnen van het voedselweb.....	66
4.3.1.3	Terrestrische basisbronnen van het voedselweb: planten	68
4.3.1.4	Kleine aquatische predatoren: brakwatergrondel, steurgarnaal en grijze garnaal	68
4.3.2	<i>Snapshot</i> voedselwebanalyse	69
4.3.2.1	Meicampagne	69
4.3.2.2	Augustuscampagne	71
4.4	Discussie.....	73
4.4.1.1	Aquatische basisbronnen van het voedselweb.....	73
4.4.1.2	Benthische basisbronnen van het voedselweb.....	74
4.4.1.3	Terrestrische basisbronnen van het voedselweb	75
4.4.1.4	Kleine aquatische predatoren: brakwatergrondel, steurgarnaal en grijze garnaal	75
4.4.2	<i>Snapshot</i> voedselwebanalyse	76
5	Algemene discussie & conclusies	79
Referenties	83
Bijlage 1: Monitoring benthos en hyper-/epibenthos op de Notelaer 2017	86
Bijlage 2: Statistische resultaten experiment benthisch-pelagische koppeling.....	94
Bijlage 3: bijlagen bij de lineaire regressies van hoofdstuk 3: Onderzoek naar de mogelijke rol van trofische relaties bij de ecosysteemshift	100

Lijst van figuren

Figuur 1: Theoretisch gesimplificeerd voedselweb van de Schelde met aanduiding van potentiële sturende abiotische variabelen (rood). Zowel een autotrofe (fytoplankton, fyto­benthos) als een heterotrofe (detritus) “motor” zijn aanwezig.....	19
Figuur 2: Schema van de projectdoelstellingen, de voorgestelde onderzoeksmethodes en de vraagstellingen waar zij aan bijdragen.....	21
Figuur 3: De Zeeschelde tussen Gent en de Nederlandse grens, opgedeeld in watervogel­telgebieden die INBO hanteert. De Notelaer (rode stip) ligt net stroomop van de monding van de Rupel.....	22
Figuur 4: De Notelaer, juni 2017; groot, breed slik en aanpalend schor met genoeg ruimte voor een groot opgezet experiment (foto: Frank Van de Meutter).	23
Figuur 5: Schematische weergave van testconstructie en terreinimpressie van dezelfde opstelling om doorlaatbaarheid van netstof voor predatoren te testen.	24
Figuur 6: Histogrammen op basis van carapaxbreedte(CW in mm) voor grijze garnalen (<i>Crangon crangon</i>) in een testexperiment voor maaswijdte. Garnalen werden los gelaten aan kant 0 (beige). Individuen aan kant 1 (grijs) zijn door het gaas gezwommen. Linksboven: maaswijdte 2 mm; rechtsboven: maaswijdte 6 mm; linksonder: maaswijdte 12 mm.	25
Figuur 7: Exclosure type “2M” geïnstalleerd op de Notelaer, eind juli 2017.	26
Figuur 8: Detailluchtfoto van het slik nabij paviljoen de Notelaer van augustus 2018 met de exclosures zichtbaar als een rij punten. De vrij opvallende witte punten zijn exclosures met maaswijdte 2 mm.....	27
Figuur 9: Zicht op een deel van de experimentele opstelling op de Notelaer (3 augustus 2017). Alle experimentele plots staan op dezelfde hoogte ten opzichte van de waterlijn (hier bij opkomend tij net tot aan de kooien).	28
Figuur 10: Gemiddelde sedimenthoogte (\pm 1SE) voor de verschillende behandelingen van het experiment op de opeenvolgende staalnamemomenten.	33
Figuur 11: Links: gemiddelde mediane korrelgrootte D50 (\pm 1SE), Rechts: gemiddelde fractie organisch materiaal (\pm 1SE) voor de verschillende behandelingen van het experiment op de opeenvolgende staalnamemomenten.....	34
Figuur 12: Temporeel patroon van de gemiddelde dichtheid (\pm 1SD) van microfyto­benthos (als chlorophyll a) in de bovenste vier cm van de experimentele plots voor de vijf behandelingen. Links: voor pheophytine gecorrigeerde waarden (na aanzuren), rechts: niet voor pheophytine gecorrigeerde metingen.	35
Figuur 13: Correlatiematrix voor de omgevingsvariabelen in het veldexperiment. Omperc=percentage organische stof; D50=maat voor mediane korrelgrootteverdeling; gemiddelde_hoogte=sedimentatiehoogte; MFB=microfyto­benthos inclusief dood microfyto­benthos. Getallen in de bovenhoek van de matrix zijn Pearson correlatiecoëfficiënten, de asteriksen geven het significantieniveau (<0.01=***).	36
Figuur 14: Gemiddeld aantal oligochaeten (\pm 1SE) voor de verschillende behandelingen van het exclosure-experiment.	37
Figuur 15: Modelmatige weergave (“posterior distribution”) van oligochaetendensiteiten voor de verschillende behandelingen en voor de duur van het experiment (temporeel model). De weergegeven gemiddeldes zijn gecorrigeerd voor effecten van sedimentatie en de foutenvlaggen zijn op het model gebaseerde 95% betrouwbaarheidsintervallen.	37

Figuur 16: Gemiddelde biomassa oligochaeten (asvrij drooggewicht, $\pm 1SE$) per steekbuis voor de verschillende behandelingen van het enclosure-experiment.	38
Figuur 17: Modelmatige weergave (" <i>posterior distribution</i> ") van oligochaetenbiomassa voor de verschillende behandelingen op de verschillende tijdstippen van het experiment (temporele analyse). De weergegeven gemiddeldes zijn gecorrigeerd voor effecten van sedimentatie en de foutenvlaggen zijn op het model gebaseerde 95% betrouwbaarheidsintervallen.	39
Figuur 18: Gemiddelde biomassa per capita van oligochaeten ($\pm 1SE$) voor de verschillende behandelingen van het enclosure-experiment.	40
Figuur 19: Modelmatige weergave (" <i>posterior distribution</i> ") van oligochaetenbiomassa per capita voor de verschillende behandelingen op de verschillende tijdstippen van het experiment (temporele analyse). De weergegeven gemiddeldes zijn gecorrigeerd voor effecten van sedimentatie en de foutenvlaggen zijn op het model gebaseerde 95% betrouwbaarheidsintervallen.	40
Figuur 20: Densiteitsfiguur voor de grootte van wormen op T5 (na 10 weken). Het volume onder de curve is herschaald naar het gemiddeld aantal wormen dat aanwezig was op dit tijdstip voor de verschillende behandelingen.	42
Figuur 21: Tijds patroon van het gemiddeld aantal eicoons ($\pm 1SE$) van oligochaeten per plot voor de verschillende behandelingen van het enclosure experiment op de Notelaer.	42
Figuur 22: Procentueel voorkomen van de verschillende taxa en levensvormen oligochaeten voor de verschillende behandelingen van het experiment.	43
Figuur 23: Theoretische pathways (groen: indirect via vis en hyperbenthos; oranje: rechtstreeks naar het benthos) die via afname van organische belasting kunnen geleid hebben tot de afname van benthos (oligochaeten) en als gevolg daarvan de afname van overwinterende watervogels (hier weergegeven is de belangrijkste soort, wintertaling). In de roze rechthoeken worden de variabelen gegeven die beschikbaar zijn voor statistische analyse. ..	47
Figuur 24: Grafische weergave van het temporeel patroon voor de beschikbare data. Boven links: BOD en zuurstof, boven rechts: benthivore vis en hyperbenthos, onder links: benthos en wintertaling. Data voor de verschillende bestudeerde OMES segmenten worden apart getoond.	52
Figuur 25: Correlatiematrix voor de beschouwde variabelen uitgezet per OMES segment.	52
Figuur 26: Temporeel patroon voor $d^{13}C$ (links) en $d^{15}N$ (rechts) voor microfytobenthos (MFB), zwevende organische partikels (SPM), zoöplankton (Zoopl) en de aasgarnaal <i>Neomysis integer</i> (Nein) in de Zeeschelde bij Bornem voor 2017.	66
Figuur 27: Temporeel patroon voor $d^{13}C$ (links) en $d^{15}N$ (rechts) voor Oligochaeta (Oligo), microfytobenthos (MFB), zwevende organische partikels (SPM) en grof organisch materiaal op het slik (CPOM).	67
Figuur 28: Temporeel patroon voor $d^{13}C$ (links) en $d^{15}N$ (rechts) voor detritus (CPOM), zwevende organische partikels (SPM), riet (Riet), wilg (Wilg), Reuzenbalsemien (Reuba) en Grote brandnetel I(Urtic).	68
Figuur 29: Temporeel patroon voor $d^{13}C$ (links) en $d^{15}N$ (rechts) voor brakwatergrondel (Brwag), grijze garnaal (Cracr), de aasgarnaal <i>Neomysis integer</i> (Neoin), oligochaeten (Oligo), steurgarnaal (Pallo) en zoöplankton (Zoopl).	69
Figuur 30: $d^{13}C$ en $d^{15}N$ of voor alle bemonsterde organismen en bronnen voor de mei-campagne. Elk symbool geeft het gemiddelde $\pm 1SD$. Legende: Baars=baars; Blavo=Blankvoorn;	

Blbgr=Blauwbandgrondel; Bot=Bot; Brase=Brasem; Brwag=Brakwatergrondel; CPOM: grof particulier organisch materiaal; Cracr=grijze garnaal; Dikko= Dikkopje; Drist=Driedoornige stekelbaars; Erisi=Wolhandkrab; Fint=Fint; Gamza=*Gammarus zaddachi*; Giebe=Giebel; Harin=Haring; Karpe=Karper; Kolbl=Kolblei; Meerv=Europese meerval; MFB=microfytobenthos; Neoin=*Neomysis integer*; Oligo=oligochaeten; Palin=Paling; Pallo=Steurgarnaal; Reuba=Reuzenbalsemien; Riet=Riet; Rietv=Rietvoorn; Snoba=Snoekbaars; Spier=Spiering; SPM=gesuspendeerd particulier materiaal; Sprot=Sport; Urtic=Grote brandnetel; Vetje=Vetje; Wilg=Wilg *species*; Zoopl=Zoöplankton. De suffix (0, 1, 2) bij vissen geeft de grootteklasse aan: <10cm="0", <10 & 20<="1"; >20="2". De annotatie bovenlinks een naam (L, V, S) geeft het weefseltype aan: L=lever, S=Spier, V=volledig.....70

Figuur 31: Detail van Figuur 30; $d^{13}C$ en $d^{15}N$ voor organismen en bronnen voor de mei-campagne. Legende: zie Figuur 30.71

Figuur 32: $d^{13}C$ en $d^{15}N$ of voor alle bemonsterde organismen en bronnen voor de augustus-campagne. Elk symbool geeft het gemiddelde \pm 1SD. Legende: Baars=baars; Blavo=Blankvoorn; Blbgr=Blauwbandgrondel; Bot=Bot; Brase=Brasem; Brwag=Brakwatergrondel; CPOM: grof particulier organisch materiaal; Cracr=grijze garnaal; Dikko= Dikkopje; Drist=Driedoornige stekelbaars; Dunha= Dunlipharder; Erisi=Wolhandkrab; Fint=Fint; Gamza=*Gammarus zaddachi*; Giebe=Giebel; Harin=Haring; Karpe=Karper; Kolbl=Kolblei; Meerv=Europese meerval; MFB=microfytobenthos; Neoin=*Neomysis integer*; Oligo=oligochaeten; Palin=Paling; Pallo=Steurgarnaal; Reuba=Reuzenbalsemien; Riet=Riet; Rietv=Rietvoorn; Snoba=Snoekbaars; Spier=Spiering; SPM=gesuspendeerd particulier materiaal; Sprot=Sport; Urtic=Grote brandnetel; Vetje=Vetje; Wilg=Wilg *species*; Zoopl=Zoöplankton. De suffix 0,1,2 bij vissen geeft de grootteklasse aan: <10cm="0", <10 & 20<="1"; >20="2". De annotatie bovenlinks een naam (L, V, S) geeft het weefseltype aan: L=lever, S=Spier, V=volledig.....72

Figuur 33: Detail van Figuur 32; $d^{13}C$ en $d^{15}N$ voor organismen en bronnen voor de augustuscampagne. Legende: zie daar.73

Figuur 34: Hypothese voor trofische relaties op basis van resultaten van stabiele isotopen tussen de aquatische basiscomponenten van het voedselweb in de Zeeschelde bij Bornem. Trofische verbindingen met hoge waarschijnlijkheid zijn weergegeven door volle pijlen.74

Figuur 35: Hypothese voor trofische relaties op basis van resultaten van stabiele isotopen tussen de benthische basiscomponenten van het voedselweb in de Zeeschelde bij Bornem. Onzekere of eerder zwakke links zijn weergegeven door onderbroken pijlen.75

Figuur 36: Hypothese voor trofische relaties op basis van resultaten van stabiele isotopen tussen de primaire en secundaire consumenten van het voedselweb in de Zeeschelde bij Bornem. Links met hoge waarschijnlijkheid zijn weergegeven door volle pijlen minder waarschijnlijke of eerder zwakke links door onderbroken pijlen.76

Figuur 37: Hypothese van het voedselweb van de Zeeschelde ter hoogte van de Rupelmonding voor de zomerperiode. Verklaring kleuren en pijlen78

Figuur 38: Tijdsverloop van totale biomassa op het slik (als AUC van Figuur 40) en biomassa/m² voor hyperbenthische predatoren voor de Notelaer in de zomer van 2017. De aanduidingen van de maanden op de x-as geven de eerste dag van de maand weer.....81

Figuur 39: Luchtfoto met rechtsmidden op het beeld paviljoen de Notelaer en bovenaan de Zeeschelde met brede slikzone. Op het slik werden 7 punten aangeduid (A-G) voor maandelijkse monitoring van benthos. Het veldexperiment gebeurde ter hoogte van raaipunt D.86

Figuur 40: Densiteit van oligochaeten op de punten van de monitoringsraai voor januari-december 2017. De ligging van de punten is uitgedrukt in overspoelingsduur (%). Van links naar rechts vinden we de punten A-G (zie ook.....	89
Figuur 41: Biomassa als asvrij drooggewicht (AFDW) van oligochaeten op de punten van de monitoringsraai voor januari-december 2017. De ligging van de punten is uitgedrukt in overspoelingsduur (%). Van links naar rechts vinden we de punten A-G (zie ook	89
Figuur 42: AUC (area under the curve) voor benthosbiomassa in 2017 langs de raai op de Notelaer (Bornem).....	90
Figuur 43: Biomassa per capita van oligochaeten langsheen de monitoringsraai voor januari-december 2017. De ligging van de punten is uitgedrukt in overspoelingsduur (%). De weergegeven waarden zijn gemiddelden \pm 1SE. De hoogte waarop het veldexperiment gebeurde is grijs gekleurd.	91
Figuur 44: Biomassaverloop (g) voor drie epibenthische soorten: grijze garnaal (<i>Crangon crangon</i>), steurgarnaal (<i>Palaemon longirostris</i>) en brakwatergrondel (<i>Pomatoschistus microps</i>) en hun som (Totaal) gevangen met de benthische slee op de Notelaer.	92
Figuur 45: Korrelgrootteverdeling (D50, links) en fractie organisch materiaal (rechts) voor de verschillende raipunten op de Notelaer voor vijf datums in 2017.	93
Figuur 46: De densiteit van microfytobenthos voor de verschillende raipunten op de Notelaer op drie datums in 2017.	93
Figuur 47: Relatie en onzekerheid (95% betrouwbaarheidsinterval) tussen oligochaetendensiteit en gemiddelde sedimentatiehoogte gebaseerd op de <i>posterior</i> distributie.	95
Figuur 48: Relatie en onzekerheid (95% betrouwbaarheidsinterval) tussen oligochaetenbiomassa-per-capita en gemiddelde sedimentatiehoogte gebaseerd op de <i>posterior</i> distributie.	99
Figuur 49: Distributies van de in de lineaire regressies gebruikte variabelen na log-transformatie.....	100

Lijst van tabellen

Tabel 1: Overzicht van de staalnamedatums van het veldexperiment, de code gebruikt voor de staalnamedatums (staalname), en de informatie over of de stalen genomen of verwerkt zijn voor benthos en omgevingsvariabelen.	29
Tabel 2: Resultaten van een chi-squared test op grootteverdeling van wormen (volgens 0.05 mm intervallen).....	41
Tabel 3: Overzicht van de data en databronnen gebruikt in de analyses, met hun ruimtelijke en temporele resolutie.	47
Tabel 4: Overzicht van de deelhypothesen die getest werden met lineaire regressies.	50
Tabel 5: Analyseresultaten van de lineaire regressies voor de vier hypothesen.	53
Tabel 6: Overzicht van de Variance Inflation Factors (VIF) voor de multiële regressiemodellen (H2/H3, H4). Voor elk model worden ook de VIF's getoond voor de verklarende variabelen in het uiteindelijke model (met residuele effecten).	54
Tabel 7: Overzicht van het aantal bemonsterde exemplaren per soort en per datum.	61
Tabel 8: Resultaten van de Tukey test voor het model dat test voor soortverschillen in het $d^{13}C$ signaal voor aquatische basisbronnen (model $p < 0.001$). (legende met afkortingen: zie Figuur 26).	65

Tabel 9: Resultaten van de Tukey test voor het model dat test voor soortverschillen in het d ¹⁵ N signaal voor aquatische basisbronnen (model p<001). (legende met afkortingen: zie Figuur 26).	66
Tabel 10: Resultaten van de Tukey test voor het model dat test voor soortverschillen in het d ¹³ C signaal voor benthische basisbronnen (model p<001). (legende met afkortingen: zie Figuur 27).	67
Tabel 11: Resultaten van de Tukey test voor het model dat test voor soortverschillen in het d ¹⁵ N signaal voor benthische basisbronnen (model p<001). (legende met afkortingen: zie Figuur 27).	67
Tabel 12: Raaipunten van de vaste monitoringsraai op de Notelaer, hun hoogteligging in meter TAW en hun gemiddelde percentage overspoelingsduur en droogvalduur.....	86
Tabel 13: Overzicht van de staalnamedatums van de monitoringsraai voor (hyper)benthos en abiotiek. Weergegeven is of stalen genomen zijn en of ze verwerkt werden.	87
Tabel 14: Resultaten van modelvergelijking (loo) tussen modellen met verschillende covariabelen. Het Verschil in loo Information Criterion (looIC) en de standaardfout op dit verschil worden getoond. (OM% = % organisch materiaal, Sed = sedimentatiehoogte, MFB = microfytobenthos, D50 = mediane korrelgrootte).	94
Tabel 15: Resultaten van de temporele analyse voor oligochaetendensiteiten. Details over model: zie in tabel.	94
Tabel 16: Resultaten van modelvergelijking (loo) tussen modellen met verschillende covariabelen voor het temporeel model van biomassa. Het verschil in loo Information Criterion (looIC) en de standaardfout op dit verschil worden getoond. (OM% = % organisch materiaal, Sed = sedimentatiehoogte, MFB = microfytobenthos, D50 = mediane korrelgrootte).	96
Tabel 17: Resultaten van de temporele analyse voor oligochaetenbiomassa. Details over model: zie tabel.	96
Tabel 18: Resultaten van modelvergelijking (loo) tussen modellen met verschillende covariabelen voor het temporeel model van biomassa per capita. Het verschil in loo Information Criterion (looIC) en de standaardfout op dit verschil worden getoond. (OM% = % organisch materiaal, Sed = sedimentatiehoogte, MFB = microfytobenthos, D50 = mediane korrelgrootte).	97
Tabel 19: Resultaten van de temporele analyse voor oligochaetenbiomassa-per-capita. Details over model: zie tabel.....	98

1 Inleiding

De Zeeschelde is een voorbeeld bij uitstek van een multifunctioneel ecosysteem waar vanuit verschillende sectoren, verschillende overheden en vanuit de maatschappij verwachtingen en doelstellingen over bestaan. Deze lopen sterk uiteen: bevaarbaarheid, natuurlijkheid, biodiversiteit, recreatie, etc.. Het harmoniseren van de vragen en doelstellingen die voortkomen uit bovenstaande thema's is maar mogelijk wanneer er voldoende en gepaste kennis is over de toestand en de werking van het ecosysteem. Het onderzoek naar de Zeeschelde volgt tegenwoordig beide sporen: enerzijds wordt er ingezet op een doorgedreven monitoring van de toestand (biotische en abiotische aspecten) van de Zeeschelde, anderzijds gebeurt er onderzoek naar hoe de eenheden die gemonitord worden zich tot elkaar verhouden en elkaar beïnvloeden.

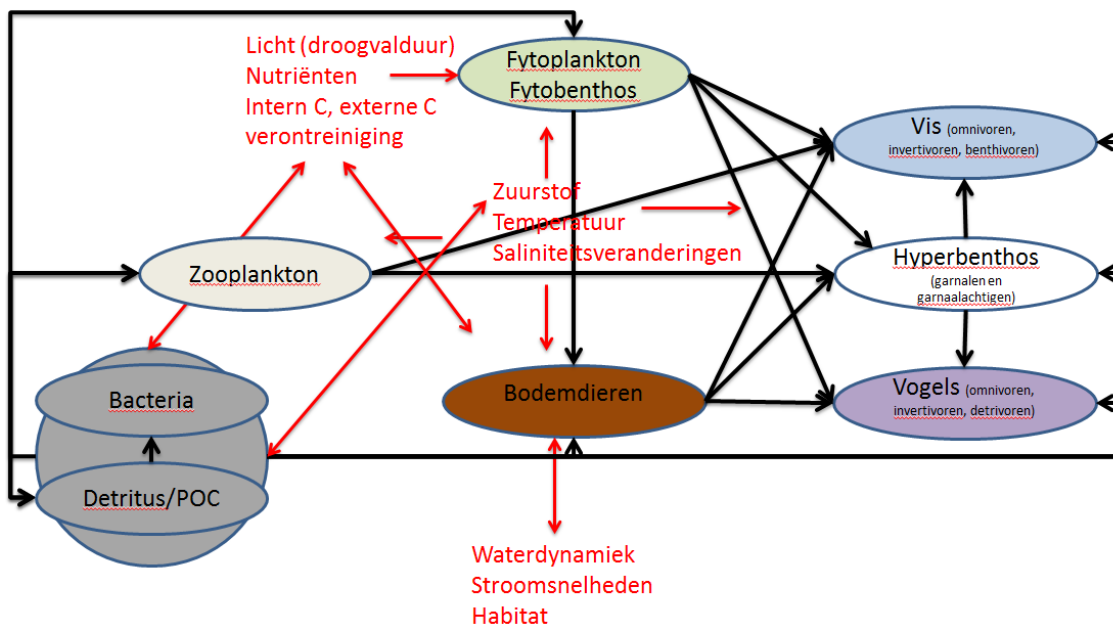
Voor wat betreft de **natuurlijkheid** en de **biodiversiteit** van het Zeeschelde-ecosysteem situeren de meeste onderzoeksvragen zich in 1/ het begrijpen van het verband tussen abiotische (hydromorfologische, chemische, fysische) parameters onderling en met organismen en 2/ de onderlinge relatie tussen organismen, waardoor veranderingen bij de ene soort(groep) zich vertalen in veranderingen bij een andere soort(groep). Het identificeren van beide types verbanden wordt bemoeilijkt doordat ze ook van elkaar afhangen en hierdoor variabel kunnen zijn in ruimte en tijd. Bijvoorbeeld, de relatie tussen soorten kan afhangen van watertroebelheid, eutrofie of saliniteit. Een bijzonder illustratief voorbeeld hiervan is de recente ecosystemeshift die een groot deel van de Zeeschelde ondergaan heeft en waardoor de relaties tussen organismen veranderd zijn (zie verder).

1.1 Het voedselweb: netwerk van trofische relaties

De levensgemeenschap van de Zeeschelde, de som van alle levende organismen in en rondom de rivier, hangt onderling aan elkaar door trofische relaties. Trofische relaties of ook wel voedselrelaties zijn verbanden tussen soorten die ontstaan doordat de ene soort zich voedt met een andere soort. Hierdoor ontstaat een voedselweb (Begon et al., 2005). Een sterk gesimplificeerde weergave van het theoretisch voedselweb van de Zeeschelde staat in Figuur 1. **Het voedselweb functioneert bij gratie van twee voedselbronnen: fytoplankton/fytobenthos en detritus.** Zij vormen continue aangevulde bronnen waaruit kleine organismen hun bouwstenen en energie halen. Zij vervullen op hun beurt die functie voor andere, meestal grotere organismen. Bij elke stap langsheen de ketting die zo ontstaat wordt de sprong gemaakt naar een zogenaamd hoger trofisch niveau, een hogere stap in de voedselpiramide. Het aantal trofische niveaus in een voedselweb is beperkt doordat de trofische stap van de ene naar de andere soort zeer inefficiënt is: gemiddeld gaat 90% (range 80-95%) van de energie en bouwstenen verloren (Begon et al., 2005).

Centraal in het schema staat het benthos: bodemdieren die op of in het sediment van de Schelde leven (wormen, vlokreeften, ...). Verondersteld wordt dat zij de basis vorm(d)en voor een belangrijk deel van het dierlijk leven in de Schelde: minstens voor de vogels, maar deels ook voor vis en hyperbenthos zoals garnalen. Bewijzen hiervoor zijn vooral indirect, zoals de hoge aantallen foeragerende tafeleenden op subtidale plaatsen met hoge densiteiten oligochaeten, de gezamenlijke achteruitgang van het benthos en overwinterende watervogels en de aanwezigheid van benthos in vismagen (ongepubliceerde data INBO; Stevens, 2006). **Het is echter de vraag of – na de recente ecosystemeshift – het benthos nog wel steeds die centrale rol vervult?** De belangrijkste veranderingen van de ecosystemeshift in de levensgemeenschap van de Zeeschelde zijn de sterke terugval in aantallen overwinterende watervogels, de sterke terugval in de densiteit van benthos met namen oligochaeten, de sterke opkomst van vis en de sterke opkomst van hyper- en epibenthos. De pelagische component aan de basis van het voedselweb, met name het zoöplankton dat zich voedt met het fytoplankton, is sterk in belang toegenomen sinds de shift. In hoeverre al het leven dat we nu in de Zeeschelde zien (vis, hyper- en epibenthos) leeft van het plankton in het water dan wel van benthos in slikken of van nog andere bronnen is niet geweten. Dit is

belangrijk – het gaat hier immers over de draagkracht van het systeem die bepaalt hoeveel vis, epibenthos, vogels,... er in de Zeeschelde aanwezig kunnen zijn. Het voedselweb steunt op twee pijlers, maar we weten niet of ze even sterk zijn, en welke organismen van welke pijler afhankelijk zijn.



Figuur 1: Theoretisch gesimplificeerd voedselweb van de Schelde met aanduiding van potentiële sturende abiotische variabelen (rood). Zowel een autotrofe (fytoplankton, fytobenthos) als een heterotrofe (detritus) "motor" zijn aanwezig.

1.2 De benthisch-pelagische koppeling

Eén van de voornaamste kennishiaten in het ecologisch functioneren van de Zeeschelde is hoe de benthische en pelagische ecosystemecompartimenten trofisch met elkaar interageren. In het kader van het MONEOS programma (Van Ryckegem et al., 2017) wordt momenteel monitoring uitgevoerd van de meeste trofische ecosystemegroepen (ellipsen in Figuur 1). Het is echter onduidelijk hoe deze getelde of gemeten ecosystemegroepen met elkaar interageren (concreet: welke pijlen het belangrijkst zijn in Figuur 1). Een inschatting van deze stofstromen is echter cruciaal voor het systeembegrip en voor de inschatting van ingreep - effect relaties. Dit begrip is onder andere nodig om waargenomen veranderingen te kunnen verklaren bij de 6-jaarlijkse systeemevaluatie van het Schelde-estuarium, voor de N2000 rapportering en voor de Kaderrichtlijn Water rapportering. Het kennen van de belangrijkste relaties in het voedselweb laat ook verder onderzoek toe: zo kan bijvoorbeeld voor elk van de relaties worden nagegaan of en hoe gevoelig ze zijn aan systeemveranderingen zoals (hyper)turbiditeit.

Ten slotte bestaat er nog steeds grote onzekerheid over de mechanismen die de ecosystemeshift gestuurd hebben. De concrete aanleiding - de systematische daling aan organische vuilvracht - is bekend, maar hoe het zich vertaalde naar de biodiversiteit die we nu zien is niet goed geweten. De verminderde organische vuilvracht en geassocieerde chemische veranderingen leidden tot een verminderde voedselbeschikbaarheid voor het detritivoor benthos (bottom-up controle). Maar evengoed kwam er plots een grote groep benthospredatoren bij doordat een pelagisch voedselweb ontstond (top-down controle) waar er voordien nauwelijks pelagische soorten voorkwamen. We voelen intuïtief en vanuit bestaande kennis aan dat beiden een rol spelen in de Schelde, maar we weten tot op heden nog altijd niet hoe belangrijk elk van deze mechanismen is, en dus hoe sterk het pelagisch en het benthisch voedselweb met elkaar verbonden zijn (bijvoorbeeld door top-down controle van benthos door pelagische predatoren).

1.3 Projectdoelstellingen

Vanuit bovenstaande kennis en kennisnoden werden drie onderzoekslijnen gedistilleerd. Deze worden hieronder in het kader toegelicht. Onder elk van deze onderzoekslijnen ressembleren een aantal onderzoeksvragen maar tegelijk dragen verschillende onderzoekslijnen bij aan het beantwoorden van verschillende onderzoeksvragen. Belangrijke vragen zijn in hoeverre de benthosbiomassa bepaald wordt

Onderzoekslijn 1:

Wat? De impact meten die de huidige pelagische gemeenschap (vis, garnalen,...) heeft op het benthos op slikken en hoofdrolspelers identificeren. Dit is de benthisch-pelagische link.

Hoe? Grootschalig experimenteel onderzoek op slikken in de Schelde.

Waarom? Het belang van slikken kennen voor opgroeiende vis en garnalen. De potentiële concurrentie tussen vis en vogels in kaart brengen en op die manier een beter begrip krijgen van de ecosysteemshift. Extra: de impact van sedimentatie op benthos onderzoeken.

Onderzoekslijn 2:

Wat? In kaart brengen van trofische links tussen alle organismen die samen voorkomen in de Zeeschelde. Het belang van benthos en zoöplankton schatten voor het opgroeien van vis en hyperbenthos.

Hoe? Door het meten van de ratio's van stabiele isotopen (koolstof, stikstof en waterstof) afleiden welke de voornaamste voedselbronnen van een soort zijn.

Waarom? Relaties tussen soorten vaststellen, de voornaamste voedselbronnen van soorten kennen, het relatieve belang van benthos en zoöplankton kennen als voedsel van opgroeiende vis en garnalen.

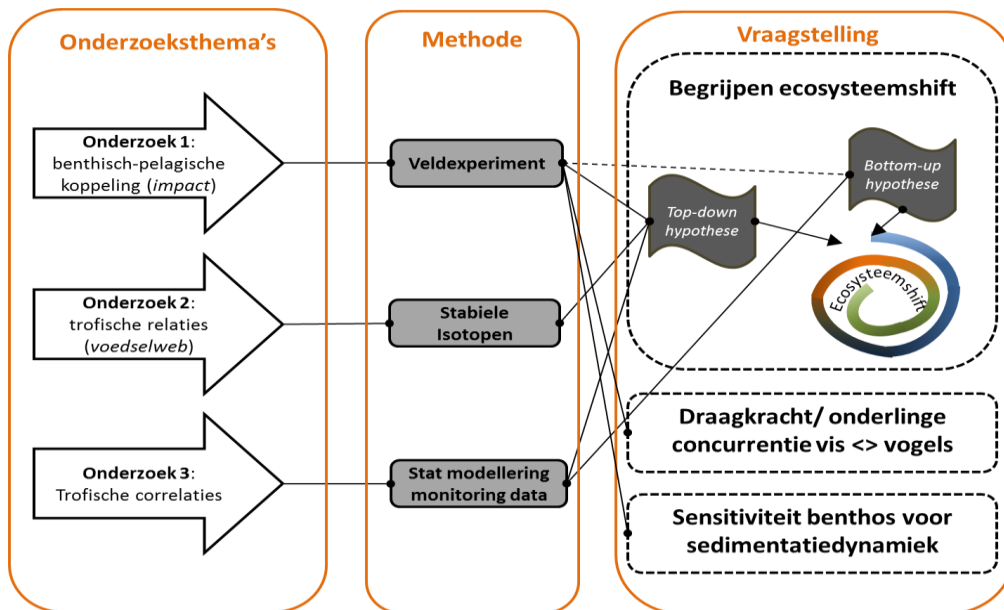
Onderzoekslijn 3:

Wat? Onderzoek naar de verbanden tussen organismen onderling en met hun abiotische sturende variabelen overheen de ecosysteemshift.

Hoe? Statistische analyses van de monitoringgegevens; bestaande gegevensreeksen opkuisen en aan elkaar koppelen.

Waarom? De veranderingen in aantallen én de relaties tussen soorten en sturende variabelen via statistische analyses helder maken.

door predatie door aquatische predatoren (en er dus competitie is met overwinterende watervogels) en welke soorten hiervoor verantwoordelijk zijn, wat de invloed is van sedimentatie op benthosbiomassa en wat de bijdrage is van aquatische predatoren aan de ecologische shift in de Zeeschelde. Om dit alles weer te geven is een schema opgesteld waarin de verbanden zijn weergegeven (Figuur 2).



Figuur 2: Schema van de projectdoelstellingen, de voorgestelde onderzoeksmethodes en de vragenstellingen waar zij aan bijdragen.

Het beantwoorden van bovenstaande vragenstellingen wordt in de Zeeschelde bemoeilijkt doordat de hoofdrolspelers, de organismen, veranderen langsheen de estuariene gradiënt. Om verschillende redenen (zie verder onder 2.1) is gekozen voor de benthosgemeenschap die vrijwel alleen bestaat uit oligochaeten. Deze vinden we in een groot deel van de Zeeschelde namelijk in de oligohaliene en zoetwater zone.

Naast de drie onderzoekslijnen in Figuur 2 is er nog een extra ondersteunende onderzoekslijn toegevoegd: monitoring. Om de interpretatie van de resultaten van het veldexperiment (onderzoekslijn 1) en het isotopenonderzoek (onderzoekslijn 2) te faciliteren zijn er actuele data nodig van de ruimtelijke en temporele variatie in benthos en epibenthos (predatoren), en hun relatie tot omgevingsvariabelen. Dit gebeurde aan de hand van een raai op de Notelaer waarlangs op 7 hoogtes maandelijks benthos en sedimentkarakteristieken bemonsterd werden. Op dezelfde dag werd bij laag water met een bongonet én met een benthische slee een staal genomen van het hyper- en epibenthos. De verwerking van de verzamelde monitoringstalen kreeg prioriteit volgens de noden bij de hoofdonderzoekslijnen en waren hier ondergeschikt aan. De resultaten van de monitoring worden aangehaald en besproken bij en in functie van de hoofdonderzoeksvragen. Een uitgebreide beschrijving van de monitoringmethode en de resultaten staan in Bijlage 1.

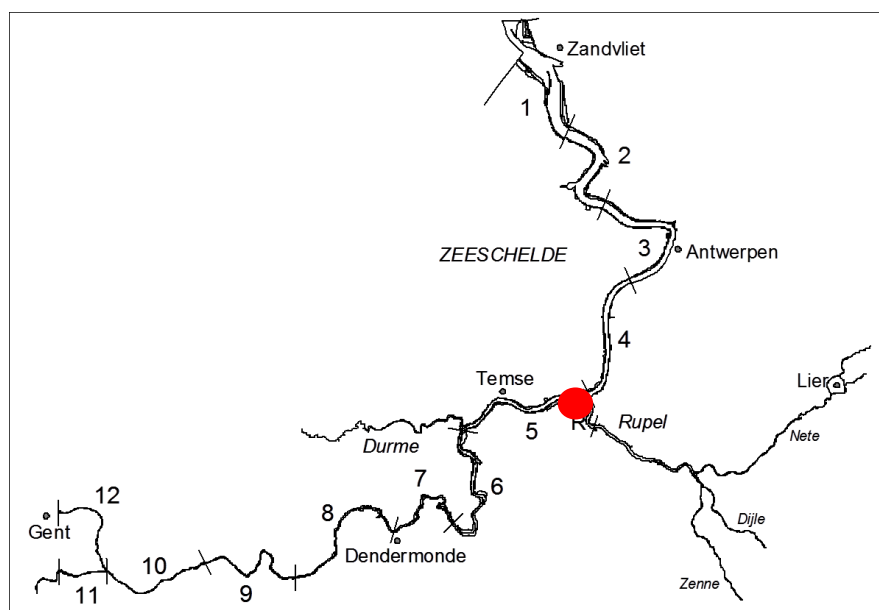
2 Onderzoek naar de benthisch-pelagische koppeling: veldexperiment

2.1 Studieggebied

Bij de keuze van het studiegebied is rekening gehouden met de volgende factoren:

- Het gebied is relevant met betrekking tot de historische ecosysteemshift: het ligt in de zone waar de grootste veranderingen gebeurden
- er zaten/zitten veel watervogels (ivm historische shift en eventuele competitie met aquatische predatoren)
- Het benthos is trofisch gesproken homogeen: geen predatorsoorten die ander benthos consumeren
- De benthosgemeenschap bestaat voornamelijk uit oligochaeten; dit is de standaard benthosgemeenschap in de oligohaliene en zoete zone en dus relevant voor het grootste deel van de Zeeschelde. De resultaten zijn dus meer algemeen toepasbaar. Een soortenarme benthosgemeenschap vereenvoudigt bovendien het onderzoek sterk.
- De densiteiten aan oligochaeten moeten voldoende hoog zijn; dit verhoogt de kans dat we effecten zullen zien van het veldexperiment.
- Er is 's zomers een diverse pelagische predatorgemeenschap aanwezig die bestaat uit vissen, garnalen, krabben, etc... die mogelijk op benthos foerageren.
- Er is een voldoende grote, homogene oppervlakte om het experiment uit te voeren.

Het gebied dat het best beantwoordde aan bovenstaande voorwaarden is het slik- en schorgebied de Notelaer bij Hingene, Bornem (Figuur 3). Dit gebied ligt net stroomopwaarts van de monding van de Rupel. Deze plek is het epicentrum van de zone waarin tot voor 10 jaar een zuurstofloze toestand heerste, en waar sindsdien, na 2007, de grootste ecosysteemveranderingen zijn opgetreden. Bovendien was de Notelaer tot voor kort één van de gebieden met de hoogste densiteiten watervogels. De telzones 4, 5 en 6, te zien op Figuur 3, waren in de jaren voor de ecosysteemshift goed voor tot 75% van de overwinterende populatie wintertaling (*Anas crecca*), toentertijd in aantal de belangrijkste overwinterende watervogel in de Zeeschelde.



Figuur 3: De Zeeschelde tussen Gent en de Nederlandse grens, opgedeeld in watervogeltelgebieden die INBO hanteert. De Notelaer (rode stip) ligt net stroomop van de monding van de Rupel.

De oligochaetengemeenschap van de Notelaer bestaat vrijwel uitsluitend uit een vijftal soorten oligochaeten (Van Ryckegem et al., 2015, ongepubliceerde data INBO). Bij de infauna vinden we geen predatorsoorten; bij de hyperbenthosvangsten vinden we soms bijvangsten van vlokreeften (*Gammarus* sp.) maar in verwaarloosbare aantallen. De pelagische predatorgemeenschap ter hoogte van de Notelaer bestaat zowel uit een diverse visgemeenschap als uit vrij hoge aantallen garnalen, met jaarlijks terugkerende hoge aantallen steurgarnalen en periodiek hoge aantallen grijze garnalen (Van Ryckegem et al., 2017). Daarmee voldoet het gebied aan de gestelde voorwaarden.



Figuur 4: De Notelaer, juni 2017; groot, breed slik en aanpalend schor met genoeg ruimte voor een groot opgezet experiment (foto: Frank Van de Meutter).

2.2 Methode

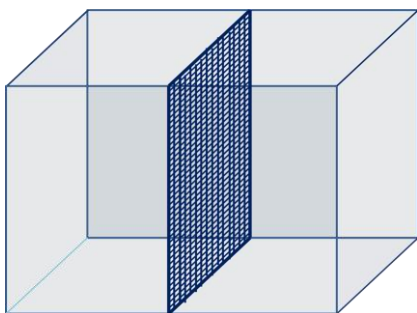
De gekozen methode om in de vrije natuur het effect van een predator aan te tonen is het **exclosure-experiment** (Holmes et al., 1979; Schneider & Harrington, 1981). De achterliggende logica is dat het effect van een predator pas zichtbaar wordt wanneer je de predator weg neemt. Exlosures zijn constructies die verhinderen dat de predator de prooi kan bereiken, zonder de prooi op een andere manier te beïnvloeden. Net daarin ligt een valkuil bij het gebruik van exclusures; er moet steeds voor gewaakt worden dat het exclusure-effect een (afwezigheid van) predatoreffect is, en geen artefact van de exclusure zelf. Een rivier zoals de Zeeschelde is niet een erg uitdagend milieu om met exclusures te werken. Hieronder wordt stapsgewijs weergegeven hoe we de keuze voor de bouw en plaatsing van de exclusures geoptimaliseerd hebben.

2.2.1 Keuze van de maaswijdte

De ideale exclusure is een volledige gesloten kooi met zeer fijne mazen waar geen enkele predator door kan. Maar hoe kleiner de maaswijdte, hoe meer de exclusure de stroming beïnvloedt, waardoor sedimentatie/erosie kan optreden en de leefomgeving in de kooien kan veranderen. We moeten dus op

zoek naar een optimaal compromis tussen predator-werende eigenschappen en zo weinig mogelijk effect op de leefomgeving.

Concreet betekent dat dat je een zo groot mogelijke maaswijdte wil, maar dat je wel alle mogelijk predatoren wil weren. De kleinste predatoren die zich mogelijk met benthos voeden zijn juveniele vis en garnaalachtigen. Beide hebben naast het lichaam extremiteiten (vinnen, poten,...) die mogelijk hun effectieve doorgangsgrootte, de maaswijdte waar ze vlot doorheen kunnen, beperken. Vooral bij garnalen is dit mogelijk erg relevant. Daarom werd een klein testexperiment uitgevoerd op 15 april 2017. Omdat garnalen zo vroeg op het seizoen nog nauwelijks aanwezig zijn aan de Notelaer werd het experiment uitgevoerd aan het Paardenschor, Doel. Met een bongonet werden garnalen verzameld. Deze werden in drie grootteklassen gescheiden. Vervolgens werden 100-150 exemplaren, bestaande uit gelijke delen van de verschillende grootteklassen, in de testconstructie gezet. Deze testconstructie bestond uit een plastic aquarium 75x40x30 cm (LxBxH) met centraal een dwars frame voorzien van nylon netstof met de gewenste maaswijdte, en gevuld voor 15 cm met Scheldewater. De dieren werden los gelaten aan een zijde van de scheiding. Na 10 minuten werden met een netje de dieren aan beide zijden weggevangen en gefixeerd op formaldehyde (4%) voor latere metingen. Deze procedure werd herhaald voor drie commercieel verkrijgbare maaswijdtes: 2mm, 6mm en 12mm.



Figuur 5: Schematische weergave van testconstructie en terreinimpressie van dezelfde opstelling om doorlaatbaarheid van netstof voor predatoren te testen.

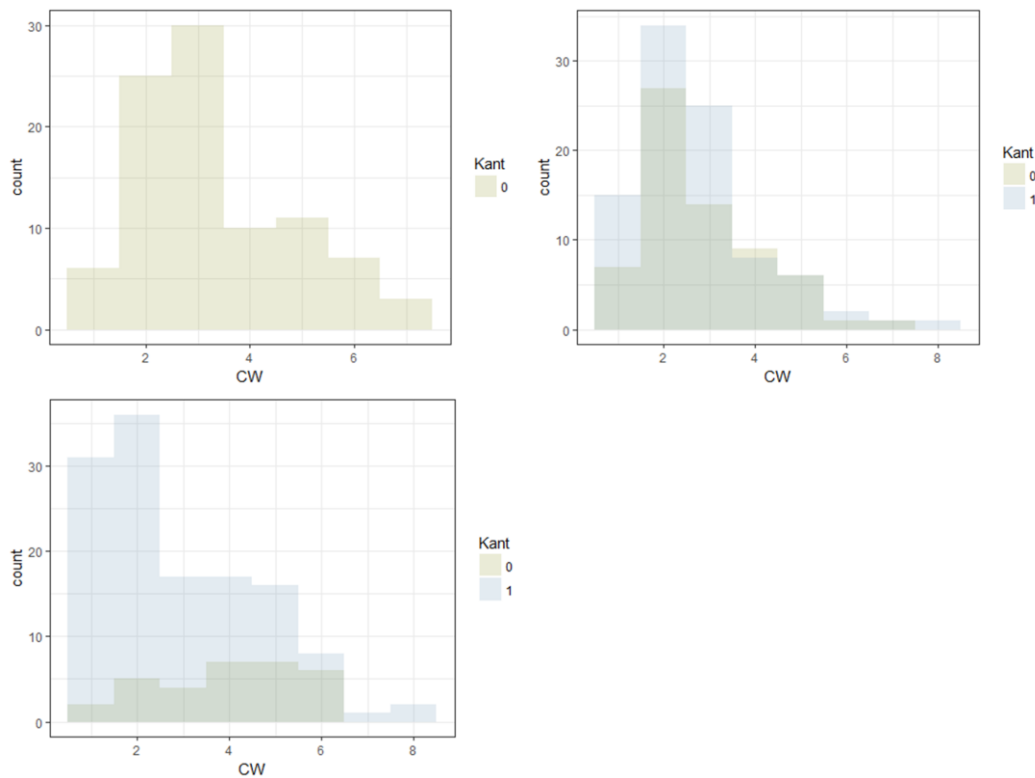
De test verliep goed voor garnalen (*Crangon crangon*), maar bij de tests met bot (*Platichthys flesus*) slaagden de dieren erin om door kleine uitsparingen onder het frame door te gaan. We beperkten ons daarom tot visuele waarnemingen. Voor brakwatergrondel werden te weinig dieren gevangen om een volwaardige test uit te voeren. Van de gefixeerde garnalen werden nadien in het labo de carapaxbreedte (CW) bepaald.

De resultaten van deze test voor garnalen zijn weergegeven in Figuur 6. Deze leiden tot de volgende resultaten:

1. Bij een maaswijdte van 2mm geraken geen predatoren door het net. Dat geldt zelfs voor zeer kleine juveniele garnalen (carapaxbreedte 1.5-2 mm). Aangezien ter hoogte van de Notelaer en tijdens de zomermaanden de garnalen groter zijn (onpubliceerde gegevens INBO) voldoet 2mm als maaswijdte voor een enclosure in het experiment.
2. Bij een maaswijdte van 6mm en 12mm geraken garnalen van alle aanwezige grootteklassen door de netstof. Bij carapaxbreedtes boven 4mm zijn er proportioneel minder dieren die aan de overkant geraken in de test bij 6mm. Dit kan wijzen op een gedragsverschil, maar kan ook

indiceren dat grotere dieren hinder ondervinden om de netstof door te steken. Dit verschil is er niet meer bij 12mm.

Anekdotische observaties bij bot toonden aan dat deze platvis in staat is om de netstof door te steken zolang zijn lichaamsbreedte *zonder de zijdelingse vinnen* (de gemodificeerde rugvin en anaalvin) kleiner is dan de maaswijdte. Toch betekent dit dat slechts de allerkleinste botjes door de geteste maaswijdtes geraken.



Figuur 6: Histogrammen op basis van carapaxbreedte(CW in mm) voor grijze garnalen (*Crangon crangon*) in een testexperiment voor maaswijdte. Garnalen werden los gelaten aan kant 0 (beige). Individuen aan kant 1 (grijs) zijn door het gaas gezwommen. Linksboven: maaswijdte 2 mm; rechtsboven: maaswijdte 6 mm; linksonder: maaswijdte 12 mm.

Op basis van bovenstaand voorafgaand onderzoek kozen we een **maaswijdte van 2 mm** voor de predatorexclosures: deze houdt de exclosures predatorvrij. Bij grotere maaswijdtes stijgt de kans snel dat er toch predatoren binnen geraken.

Om vanuit het experiment enig inzicht te krijgen in de identiteit van de belangrijkste benthospredatoren is gekozen voor nog **een tweede exclosure behandeling: maaswijdte 12 mm** (om van praktische redenen is dit uiteindelijk 13 mm geworden). De bedoeling hiervan is om het effect van grote predatoren (grotere vissen) versus het effect door kleinere juveniele vis en epibenthos (hoofdzakelijk garnaalachtigen) te kunnen onderscheiden. Dit vereist een extra inspanning maar betekent een grote meerwaarde voor het experiment. Uit de tests blijkt dat bij 12 mm garnalen van alle grootteklassen gemakkelijke vrije doorgang hebben door het gaas. Omdat uit de tests blijkt dat wellicht carapaxbreedte de limiterende factor is bij de doorgang door gaas, weten we dat bij deze maaswijdte alle garnalen aanwezig ter hoogte van de Notelaer (grijze garnaal en steurgarnaal) door het gaas geraken: de carapaxbreedte overschrijdt namelijk nooit de 12mm bij deze dieren (ongepubliceerde gegevens INBO).

2.2.2 Constructie van de exclusures

Uit gesprekken met wetenschappers die eerder al onderzoek met exclusures in de Schelde uitvoerden (Maarten Stevens (INBO), Carl Van Colen (UGent)) bleek dat exclusures vaak verloren gingen tijdens het onderzoek omwille van sterke stromingen of golven bij stormweer. Wij kozen daarom voor extra stevige exclusures opgebouwd uit een frame van versneden betonnet (maaswijdte 15x15cm) verankerd aan staven betonijzer (90 cm). De constructie is van bovenaf gezien vierkant met zijdes van 90 cm. Nylon netstof (maaswijdte 2 mm) of volièregaas (maaswijdte 13 mm) werd om het frame heen gevouwen en bevestigd met bandspanners en nylon draad (1 mm). Tijdens de maanden februari-april 2017 werden een aantal prototypes met 1 en 2 mm maaswijdte getest op de Notelaer naar stevigheid en sedimentatie/erosie-effecten. Er werden geen problemen vast gesteld met stevigheid; wel was het uittillen van een exclusure voor staalname te moeilijk. Verder ontstonden erosiegeulen rondom de kooien ("scour") waardoor het risico bestond dat er predatoren langs onderen in de kooien geraakten. Ten slotte was er sterk verhoogde sedimentatie wat tot een veranderde sedimentkwaliteit leidde. Daarom voerden we volgende aanpassingen door:

- Het "dak" van de exclusures werd voorzien van een vierkante uitsnede 50 x 50 cm waarop een velcro sluitsysteem werd geplaatst. Op deze manier kon er snel en efficiënt bemonsterd worden. Het afsluitdeksel werd, als extra veiligheid, door middel van dunne bandspanners vast gemaakt aan de kooi tussen elke staalname.
- De netstof op de zijanten van de exclusures werd naar onderen verlengd tot een hoogte (diepte) van 35 cm. Hiervan zit 20 cm in het sediment geduwd. Zodoende kunnen nooit openingen onderin ontstaan want uitspoeling gebeurt nooit zo diep.
- Om sedimentatie-effecten enigszins te milderen veranderden we de positie van de kooien ten opzichte van de getijstrooming (punt van de kooi naar beneden; op die manier glijdt de getijstroom beter om de kooi heen.

Een voorbeeld van de uiteindelijke constructie is te zien in Figuur 7. De constructie steekt 15 cm boven het slik uit.



Figuur 7: Exclusure type "2M" geïnstalleerd op de Notelaer, eind juli 2017.

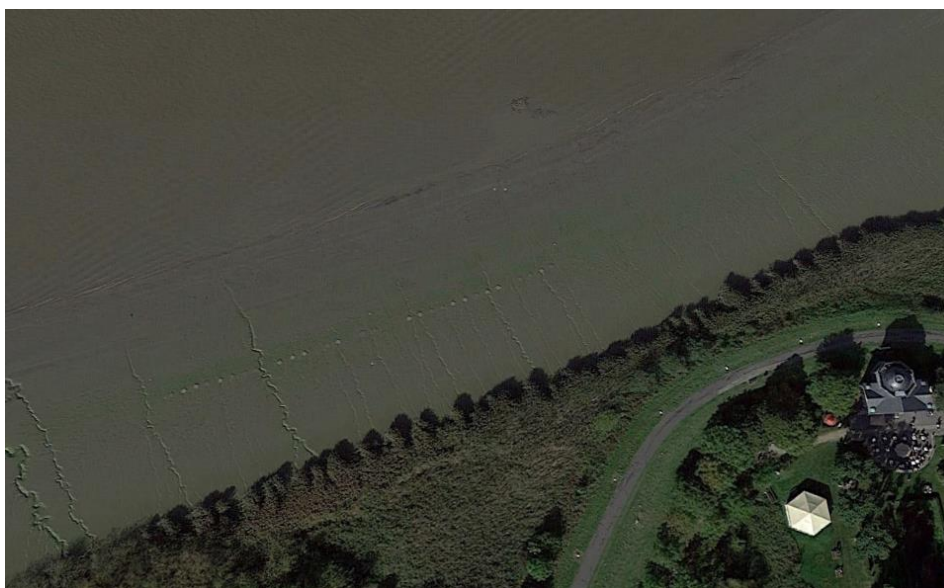
2.2.3 Wetenschappelijk design: behandelingen, replicatie en plaatsing op locatie

De behandelingen van het experiment bestaan uit een controle zonder kooi (op het slik afgebakend met vier betonijzers), een enclosure met maaswijdte 2mm (hierna: 2M), een enclosure met maaswijdte 13mm (hierna: 13M) en een technische controle voor de 2M enclosure (hierna: C2M) en voor de 13M enclosure (C13M). De rationale achter de technische controles is dat we op die manier het predator-effect en het artefact (veranderde sedimentatie) proberen te scheiden: in technische controles is immers wel predatie mogelijk (geen predatoreffect) maar ze veroorzaken wel sedimentatie (wel artefact). Technische controles bestonden uit een identieke enclosure als de behandeling waarvoor ze de controle zijn, maar met twee overstaande zijdes open (dus twee van de vier zijanten open). Op die manier hebben predatoren vrije toegang tot deze kooien, maar wordt de stroming wel belemmerd en verwachten we een toename in sedimentatie. Om te anticiperen op mogelijk verlies aan enclosures, en omdat gemeenschapsresponsen op experimentele behandelingen na verloop van tijd vaak een inherent enigszins variabele respons vertonen is gekozen om het replicatieniveau op zeven in te stellen.

Het experiment bestaat dus uit vijf experimentele behandelingen die elk zeven maal gerepliceerd werden, ofwel 35 experimentele plots.

Omdat we weten dat de benthogemeenschap grote variatie vertoont langsheen de slikhelling (zie Bijlage 1, Figuur 40), en omdat we alle plots van het experiment met een zo gelijkend mogelijke benthogemeenschap wilden laten starten, werden alle kooien op een rij op dezelfde hoogte van 2.16 meter TAW gezet (met een tussenruimte van 2 meter). Deze hoogte is ongeveer halverwege het slik bij laag water en komt overeen met hoogte "D" van de monitoringsraai (zie Bijlage 1). Vanuit monitoringsgegevens weten we dat op deze hoogte een redelijke hoeveelheid oligochaeten in het slik zitten (Figuur 40), maar toch het is eveneens laag genoeg waardoor de overspoelingstijd vrij lang is (gemiddeld ongeveer 60% op jaarbasis) zodat aquatische predatoren voldoende tijd hebben om te foerageren en een effect te hebben op de oligochaetengemeenschap.

De experimentele behandelingen werden random verdeeld overheen de rij experimentele plots (Figuur 8, Figuur 9).



Figuur 8: Detailluchtfoto van het slik nabij paviljoen de Notelaer van augustus 2018 met de enclosures zichtbaar als een rij punten. De vrij opvallende witte punten zijn enclosures met maaswijdte 2 mm.



Figuur 9: Zicht op een deel van de experimentele opstelling op de Notelaer (3 augustus 2017). Alle experimentele plots staan op dezelfde hoogte ten opzichte van de waterlijn (hier bij opkomend tij net tot aan de kooien).

2.2.4 Opstart en staalname

opstart

Het opzetten van de experimentele plots gebeurde op 27 en 28 juni 2017. Om geulvorming doorheen de plots te voorkomen werd enkel onderom langs de exclusures gelopen, ook voor de verdere duur van het experiment. Omdat de experimentele plots maar enkele uren per getijcyclus boven water zijn was het niet mogelijk alle plots te bemonsteren op één dag. Daarom werden 18 random gekozen plots opgestart op de eerste dag en de overige 17 plots op de tweede dag. Het bemonsteren nadien verliep ook steeds volgens dit systeem zodat de tijdsinterval tussen twee staalnames steeds gelijk was. De tijdsinterval tussen twee staalnames was steeds 14 ± 2 dagen en dit tot eind september 2017. Nadien volgde nog een staalname half oktober 2017. Omdat de kooien als een vangnet fungeren voor drijvend debris en afval en de mazen hierdoor verstopt konden geraken, werden de exclusures wekelijks met een afwasborstel schoon geschrobd.

Staalname benthos

De staalname voor benthos gebeurde door middel van een steekbuis met diameter 4.5 cm waarmee de bovenste zeven cm sediment verzameld werd. Per plot werden vier replicate stalen genomen in de binnenste 50x50 cm om randeffecten zo veel mogelijk te vermijden. De vangsten werden in het veld gefixeerd op formaldehyde 4%.

Staalname omgevingsvariabelen

Naast staalnames voor benthos gebeurde er ook een opvolging van omgevingsvariabelen: sedimentatiehoogte, korrelgrootteverdeling, de fractie organisch materiaal en de dichtheid microfytobenthos. Deze gebeurde met dezelfde frequentie als voor benthos. Omdat deze variabelen sterk afhankelijk kunnen zijn van de dag tot dag variatie in omstandigheden (bv. microfytobenthos in functie van de hoeveelheid zonschijn, neerslag,...) gebeurde de staalname van omgevingsvariabelen steeds op de eerste dag van een staalnameweekdagse, en dit van bij de start van het experiment. Het bepalen van de sedimenthoogte gebeurde door in de kooien vanop vijf vaste punten (kruising van

staven van het betonnet) de kortste afstand tot het sediment (tot op 1 mm precisie) te meten met een plooiometer. Bij de controles (geen kooi) werd de afstand van de vier hoekijzers tot het sediment gemeten en bijkomend de afstand tot het sediment vanaf het middelpunt waar twee stokken vanuit de hoeken elkaar kruisen.

Tabel 1: Overzicht van de staalnamedatums van het veldexperiment, de code gebruikt voor de staalnamedatums (staalname), en de informatie over of de stalen genomen of verwerkt zijn voor benthos en omgevingsvariabelen.

Datum	staalname	Benthos		Omgevingsvariabelen	
		genomen?	verwerkt?	genomen?	verwerkt?
27&28/06/2017	T0	Ja	Ja	Ja	Ja
13&14/07/2017	T1	Ja	Ja	Ja	Ja
25&26/07/2017	T2	Ja	Nee	Ja	Ja
7&8/08/2017	T3	Ja	Ja	Ja	Ja
21&22/08/2017	T4	Ja	Ja	Ja	Ja
6&7/09/2017	T5	Ja	Ja	Ja	Ja
19&20/09/2017	T6	Ja	Nee	Ja	Ja
18&19/10/2017	T7	Ja	Ja	Ja	Ja

De staalname voor organische stof, korrelgrootteverdeling en microfytobenthos gebeurde door op vier plaatsen in de binnenste 50x50 cm een 4 cm diep sedimentstaal te nemen met een smalle steekbuis van 1.2 mm. De vier stalen werden samengevoegd tot één mengstaal per plot. De stalen werden in een koelbox naar het labo getransporteerd en in een diepvriezer (-20°C) bewaard.

Staalname hyperbenthos/epibenthos

De exclusures hadden als doel om predatoren te weren. De dichtheid en samenstelling van de predatorgemeenschap kan echter sterk veranderen tijdens de duur van het experiment. Om te weten welke en hoeveel predatoren we werden, en om dus beter (afwezigheid van) het predatoreffect in de exclusure (2M en 13M) behandelingen te kunnen inschatten, werd de maandelijkse hyperbenthosmonitoring op de Notelaer tijdens de duur van het experiment uitgebreid met extra staalnames zodat we een verfijnd tweewekelijks in plaats van maandelijks beeld kregen van de hyperbenthosgemeenschap (zie bijlage 1, Figuur 44).

De staalnames van hyperbenthos gebeurden met twee methodes; het bongonet en de benthische slee. Het bongonet is een rond koepelnet met diameter 50 cm dat door twee personen die heupdiep in het water staan langs de waterlijn getrokken wordt, waarbij de bovenrand van het net aan de wateroppervlakte raakt. Een staalname bestond uit een traject van 100 m dat bij laag water in één beweging stroomop- en stroomafwaarts gelopen werd (totale lengte 200 m). Een benthische slee is een 1m brede vangstconstructie met platte bodem en een opduwrand vooraan waarboven twee netzakken hangen in twee op elkaar staande rechthoekige frames. Elk frame heeft de breedte van de slee en is 20 cm hoog. De slee wordt met twee personen getrokken bij laag water over dezelfde afstand als het bongonet. Het resultaat is een dubbele vangst; een in het onderste net en een in het bovenste net. De

maaswijdte van beide toestellen is 2 mm. De vangsten werden in het veld gefixeerd op formaldehyde 4%.

2.2.5 Verwerking stalen

Benthos: aantallen en biomassa

De benthosstalen werden na afgieten van de fixeervloeistof gezeefd op een zeef met maaswijdte 500 µm tot het sediment weg was. Het overblijvende materiaal werd in het labo onderzocht onder een microscoop om de wormen eruit te triëren. Alle fragmenten werden uit het staal gehaald en in een kroes bewaard. Omdat wormen vaak als fragmenten aanwezig zijn in het staal telden we enkel het aantal delen met kop. De kroes werd nadien minstens 12h in een droogoven bij 105°C gedroogd, gewogen, en nadien in een moffeloven bij 550°C verast en opnieuw gewogen, telkens tot op 0.0001 g. Het verschil tussen drooggewicht en asgewicht is het asvrij drooggewicht (AFDW). Om een indicatieve maat te hebben van de gemiddelde grootte van de wormen in het staal werd als extra variabele de biomassa per capita berekend, ofwel het asvrij drooggewicht van een staal gedeeld door het aantal wormen in het staal.

Bij de staalname van het experiment werd een tweewekelijks ritme aangehouden om zo voldoende resolutie te hebben om veranderingen in de tijd te detecteren en als een verzekering bij eventueel vroegtijdig verlies van exclusures of om welke reden dan ook onderbreken van het experiment. Omdat we niet geconfronteerd werden met het tweede geval bestond de vrijheid om stalen te verwerken tot op het niveau dat responsen duidelijk en consistent waren. Concreet betekende dit dat we begonnen met twee eindpunten (T5, T7) waarna het beginpunt gedaan werd (T0). Omdat de responsen op T5 en T7 zeer consistent waren, werd vervolgens beslist om het tussenpunt (T6) niet uit te tellen maar de voorafgaande veranderingen in beeld te krijgen, totdat voldoende informatie verkregen was om het experiment te interpreteren. Er gebeurde daartoe een continue evaluatie van de resultaten. Een overzicht van de getelde tijdpunten staat in Tabel 1.

Per plot werden vier stalen genomen. Dit aantal was gebaseerd op een poweranalyse die rekening hield met de variatie in wormenaantallen die aangetroffen werd in de monitoringsraai, maar was sterk conservatief aangezien het uitging van een voldoende resolutie om het werkelijke aantal wormen in een plot met 10% precisie te benaderen. De verwachte verschillen in respons tussen behandelingen zijn echter een stuk groter en bovendien hebben we een aanzienlijk replicatieniveau (7) zodat dit aantal gezien kan worden als een verzekering tegen onverwacht grote variabiliteit of verlies aan stalen. Daarom werd opnieuw voor een pragmatische verwerking gekozen. Er werden twee stalen per plot uitgeteld. Wanneer deze aantallen meer dan 50% verschilden werd een derde staal uitgeteld. Dit heeft geen consequenties naar statistische verwerking omdat we bij de analyses steeds werken met gemiddelden per plot (zie verder).

Benthos: soortensamenstelling

De eventuele veranderingen in aantal en biomassa van oligochaeten kunnen het gevolg zijn van verschuivingen in soortensamenstelling. Om hier een beeld van te hebben werden op één tijdstip in de eindfase van het experiment (T5, na 10 weken) een aantal wormenstalen per behandeling op soort gedetermineerd. De determinaties gebeurden door de *in-house* expert Jan Soors (mede-auteur van *Aquatic oligochaeta of the Netherlands and Belgium*) op drie stalen per behandeling. Voor elk staal werden 50 wormen op naam gebracht.

Benthos: grootteverdeling

De interpretatie van de afgeleide parameter biomassa per capita is niet eenduidig. De *ratio gemiddelde biomassa/gemiddeld aantal* kan gelijkaardig wijzigen zowel wanneer het aandeel kleine als het aandeel

grote wormen verandert. Een stijging van de ratio kan bijvoorbeeld betekenen dat er relatief minder kleine wormen zijn maar ook dat er relatief meer grote wormen zijn (of beide). De ratio toonde tijdens het experiment een opvallend patroon (zie verder). Om hier klaarheid in te brengen werd voor één tijdstip, na 10 weken (T5) een groottemeting uitgevoerd op de wormen voor de verschillende behandelingen. Deze groottemeting gebeurde volgens de methode die gangbaar is voor de Zeeschelde (Seys et al., 1999). Daarbij wordt voor elke worm het breedste punt van het vijfde lichaamssegment gemeten met een meetoculair tot op 0.0075 mm met een LEICA S9D stereomicroscoop. Voor elke behandeling maten we wormen in drie random gekozen stalen. We maten telkens 100 wormen per staal of het volledige staal indien dit aantal niet gehaald werd.

Benthos: eicocons

Veranderingen in aantallen of de grootteverdeling van wormen in de wormengemeenschap hangen nauw samen met de reproductie. De oligochaeten die gekend zijn van de Notelaer vertonen verschillende reproductiestrategieën zoals knopvorming (deling) of de productie van eieren. De in zowel aantallen als biomassa belangrijkste groep van Tubificide wormen (voornamelijk het genus *Limnodrilus*, zie verder) plant zich obligaat voort door middel van eieren, die met een aantal samen in een cocon gelegd worden. Nadat tijdens het experiment bleek dat voor bepaalde behandelingen biomassa en aantallen van wormen ontkoppeld waren (zie verder) werd beslist om een beter beeld van lokale reproductie te verkrijgen door het tellen van de eicocons. Deze eicocons zijn vrij groot en worden deels weerhouden door een zeef met maaswijdte 500 µm. Wel is dit geen volledige telling van het aantal eicocons: een deel zal zeker door de zeef gaan en wordt gemist. Toch geeft deze telling wellicht een relatieve indicatie van de intensiteit van reproductie in de experimentele plots.

Omgevingsvariabelen

Veranderingen in sedimenthoogte per plot werden bekomen door het gemiddelde te nemen van de vijf metingen per tijdstip en het verschil te maken met T0. Op die manier krijgen we een maat voor de sedimentaangroei.

Voor de verwerking van de stalen voor korrelgrootteverdeling en fractie organische stof volgden we de standaardprocedures van MONEOS (Van Ryckegem et al., 2017). Korrelgrootteverdeling werd geanalyseerd na afzeven van het grof materiaal over een zeef met maaswijdte 1 mm, met een Coultern LS13320 toestel volgens de procedure *inbo-nieuw* (zie Van Ryckegem et al., 2017). Van de bekomen output gebruiken we hierna de D50, de volumetrische mediane korrelgrootte. Deze vertoonde een zeer sterk verband met de slibfractie waardoor deze redundant was. De fractie organische stof werd bekomen door $\frac{\text{drooggewicht} - \text{asgewicht}}{\text{drooggewicht}}$ waarbij drooggewicht bepaald werd bij 105°C en het verassen gebeurde bij 550°C.

Bij het bepalen van de densiteit aan microfytobenthos volgden we de procedure van Magni, Abe, & Montani (2000). Per staal wogen we $1,00 \pm 0,20$ g nat sediment af in een falcon buis. Van de resterende staalfractie bepaalden we het nat- en drooggewicht op een microbalans ($\pm 0,0001$ g). Hieruit werd een omzetsfactor berekend die natgewicht in drooggewicht omzet. De algendensiteit wordt finaal immers uitgedrukt per gram drooggewicht. Het staal in de falcon buis werd aangelengd met 20 ml aceton, gehomogeniseerd en voor 24u in een vriezer bij 4°C geplaatst. Hierna werd het staal gedurende 5 min gesonificeerd en voor 10 min aan 3000 rpm gecentrifugeerd. De aceton met chlorofyll-a in oplossing werd gedecanteerd in een nieuwe falcon buis en voor spectrometrie gebruikt. Spectrometrie van de stalen gebeurde in twee stappen. Eerst werd het staal als dusdanig bij 665 nm en bij 750 nm gemeten. De meting bij 750 nm dient om te kunnen corrigeren voor absorptie/refractie die niet afkomstig is van chlorofyl-a. Echter, sommige afbraakproducten van chlorofyll-b absorberen ook bij 665nm. Daarom zuurden we de stalen in een tweede stap aan met 0,2 ml HCl (0,4 M) en maten we een tweede maal bij

665 nm. De berekening van de densiteit van microfytobenthos gebeurde volgens de vergelijking in Lorenzen (1967).

2.2.6 Statistische analyse

Voor de analyse van het effect van de experimentele behandelingen op het aantal, de biomassa en de biomassa per capita van de oligochaeten gebruikten we Bayesiaanse statistiek. De modellen zijn opgebouwd uit de “fixed” variabelen Staalname (T0-T7) en behandeling (de 5 experimentele behandelingen), de interactie tussen staalname en behandeling en Plotnummer als “random” variabele. Om te corrigeren voor veranderingen in omgevingsvariabelen werden om beurt omgevingsvariabelen (de mediane korrelgrootte [D50], sedimentatiehoogte, % organisch materiaal, densiteit microfytobenthos) aan het model toegevoegd. Deze verschillende modellen werden vergeleken aan de hand van het Bayesian Information Criterium (BIC) en het meest spaarzame model behouden. Voor de analyses van gemiddelde aantallen gebruikten we een Poisson distributie met log-link, voor de analyses van gemiddelde AFDW en gemiddelde biomassa per capita gebruikten we een gamma-distributie met log-link. Meer informatie over de gebruikte procedures zijn te vinden in bijlage 1. Alle analyses gebeurden met het pakket “brms” (Bürkner, 2017) in R (R Core Team, 2018).

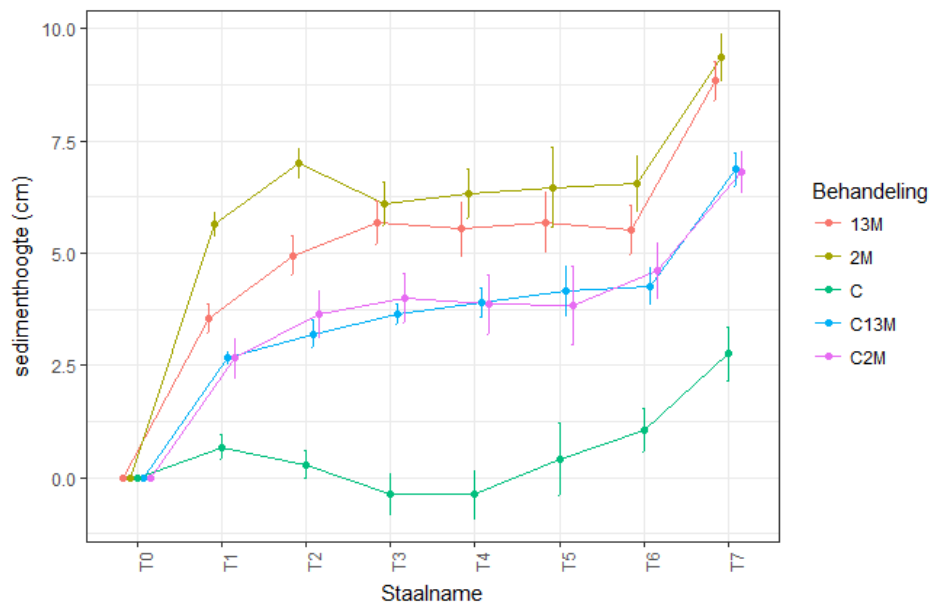
2.3 Resultaten

Omdat enige voorkennis van veranderingen in de omgevingsvariabelen van belang is voor de analyse van de resultaten voor benthos (oligochaeten) behandelen we deze hier in omgekeerde volgorde, dus eerst de omgevingsvariabelen. Omdat de focus van de studie de oligochaetengemeenschap is, en wij de hieronder besproken omgevingsvariabelen daar als covariabelen meenemen, is de onderstaande bespreking louter beschrijvend, en niet uitvoerig statistisch onderbouwd.

2.3.1 omgevingsvariabelen

Sedimenthoogte

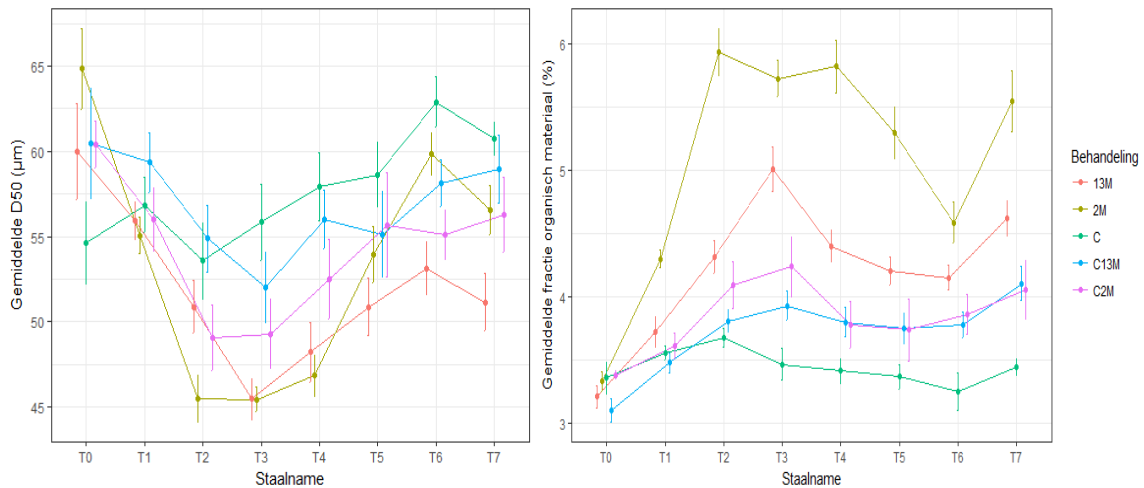
Het temporeel patroon van de sedimenthoogteveranderingen staat in Figuur 10. Het temporeel patroon bestaat uit twee componenten. Enerzijds is er het behandeling-afhankelijk effect. Daarbij zien we dat alle behandelingen in de eerste vier weken (T0-T2) een toename in sedimenthoogte kennen. Deze toename is het meest uitgesproken in 2M (ca. + 7 cm), vervolgens in 13M en ten slotte in de twee technische controles C2M en C13M (ca. + 3 cm). Na deze snelle initiële toename is er een nieuwe evenwichtsfase die ongeveer 2-2.5 maanden duurt tot eind september en waarbij er nauwelijks sedimenthoogteveranderingen optreden. Er zijn in die periode nauwelijks onderlinge verschillen tussen de gesloten kooien (2M en 13M) en de technische controles (C2M, 13CM), maar wel tussen beide groepen. De controle (C) vertoonde in dezelfde periode minimale veranderingen in sedimenthoogte. Anderzijds is er een algemene seizoenale component in sedimenthoogteverandering. Deze wordt duidelijk op het eind van de onderzoeksperiode: tussen T6 en T7 nemen alle vijf de behandelingen, inclusief de controle, ca. 2 cm toe in sedimenthoogte.



Figuur 10: Gemiddelde sedimenthoogte (\pm 1SE) voor de verschillende behandelingen van het experiment op de opeenvolgende staalnamemomenten.

Mediane korrelgrootte

Het temporeel patroon van mediane korrelgrootte is weergegeven in Figuur 11. De initiële mediane korrelgrootte ligt voor de verschillende behandelingen in het fijn zandige spectrum, tussen 55-65 μm . Uit eerdere interne validatiemetingen (ongepubliceerde gegevens INBO) bleek dat de meetmethode een gemiddelde afwijking van 6 μm heeft voor slibbig materiaal, wat de vrij grote foutenvlaggen kan verklaren. Wat daarbij zeker een rol speelt is dat de INBO-methode fijn organisch materiaal mee beschouwt. Omdat wij de korrelgrootteverdeling in functie zien van oligochaeten, als fysische matrix waarin deze verblijven, is deze aanpak verantwoord. Onder invloed van de experimentele behandelingen treedt een daling op in de D50 in alle behandelingen behalve de controle. Doordat de behandelingen die bij het begin een iets grotere mediane korrelgrootte hadden (alle behandelingen behalve C; 2M bij uitstek) de grootste dalingen ondergingen werden de verschillen doorheen de tijd nergens heel groot. Tijdens de stabiele periode voor wat betreft sedimentatie (zie eerder) stijgt de mediane korrelgrootte lichtjes, ditmaal voor alle behandelingen (ook C). De range aan mediane korrelgroottes in het experiment (45-65 μm) ligt ruim binnen de natuurlijke range (30-75 μm) die op het slik van de Notelaer aanwezig is (zie bijlage, Figuur 45) en betreft dus geen extreme toestand.



Figuur 11: Links: gemiddelde mediane korrelgrootte D50 ($\pm 1SE$), Rechts: gemiddelde fractie organisch materiaal ($\pm 1SE$) voor de verschillende behandelingen van het experiment op de opeenvolgende staalnamemomenten.

Fractie organisch materiaal

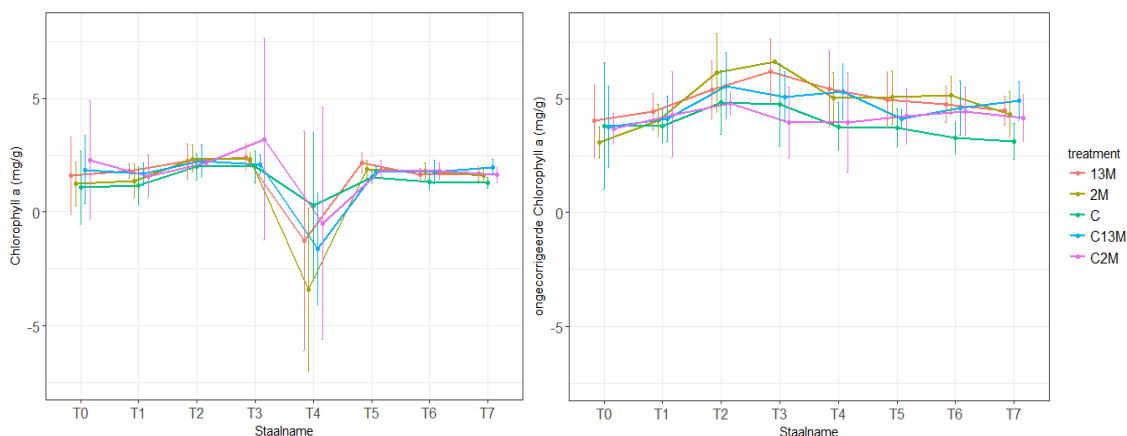
Het temporeel patroon van de fractie organisch materiaal is weergegeven in Figuur 11. In de controle (C) varieert de fractie organische stof rond de 3.5% voor de duur van het experiment. Bij de andere behandelingen zien we een toename die het sterkst is in 2M. De toename voltrekt zich in de eerste 4 tot 6 weken. De fractie organisch materiaal stijgt in 2M tot 5-6 %, terwijl deze in 13M stijgt tot 4-5 % en slechts tot 3.5-4 % in de technische controles. Na de sterke initiële toename volgt er een sterke daling, waarbij de onderlinge rangorde bewaard blijft. Als we de range in waarden voor fractie organisch materiaal (3-6%) toetsen aan de monitoringsraai, dan blijkt deze ruim binnen de natuurlijke range (2.5-11%) te liggen die op het slik van de Notelaer aanwezig is (zie bijlage, Figuur 45).

Microfytobenthos

Het temporeel patroon van de densiteit aan microfytobenthos is weergegeven in Figuur 12. Magni et al. (2000) toonden aan dat de spectrofotometrische methode die wij volgden een geschikte methode is om de densiteit van bentische algen te meten op estuariene slikken. Wij vonden echter een vrij grote variatie op de metingen, met name voor T4 en in mindere mate T0 en T3, met op die tijdstippen veel negatieve waarden. Deze negatieve waarden kunnen ontstaan door overcorrectie. Omdat de spectrofotometrische meting van Chlo a ook de afbraakproducten van Chlo a meet (voornaamste: pheophytine) maakt deze een overschatting. Hiervoor werd een correctie voorgesteld die nu standaard toegepast wordt: door het staal aan te zuren wordt alle chlo a omgezet in pheophytine en kan de specifieke absorptie en densiteit van Chlo a berekend worden. Wanneer in het staal ook veel Chlo b, Chlo c en carotenoiden aanwezig zijn kan dit tot problemen leiden. Zij worden door aanzuren ook omgezet in producten die absorptie vertonen in het spectrum van Chlo a. In deze gevallen kan het daarom beter zijn om niet te corrigeren (Stich & Brinker, 2005). Bovendien zijn we niet per sé geïnteresseerd in de hoeveelheid levende algen (Chlo a) maar mogelijk ook in de hoeveelheid van de afbraakproducten, omdat algendetritus ook een voedselbron voor de oligochaeten kan zijn. Om deze redenen beslisten we om verder te werken met de data rechts op Figuur 12. Let wel: dit is geen maat meer voor de densiteit aan Chlo a (levend microfytobenthos) alleen, maar voor de totale hoeveelheid

chl *a* en zijn afbraakproducten (levend en fractie van dood microphytobenthos). Op tijdstippen T0, (deels) T3 en T4 na zijn de patronen voor beide methodes overigens vrij gelijkend.

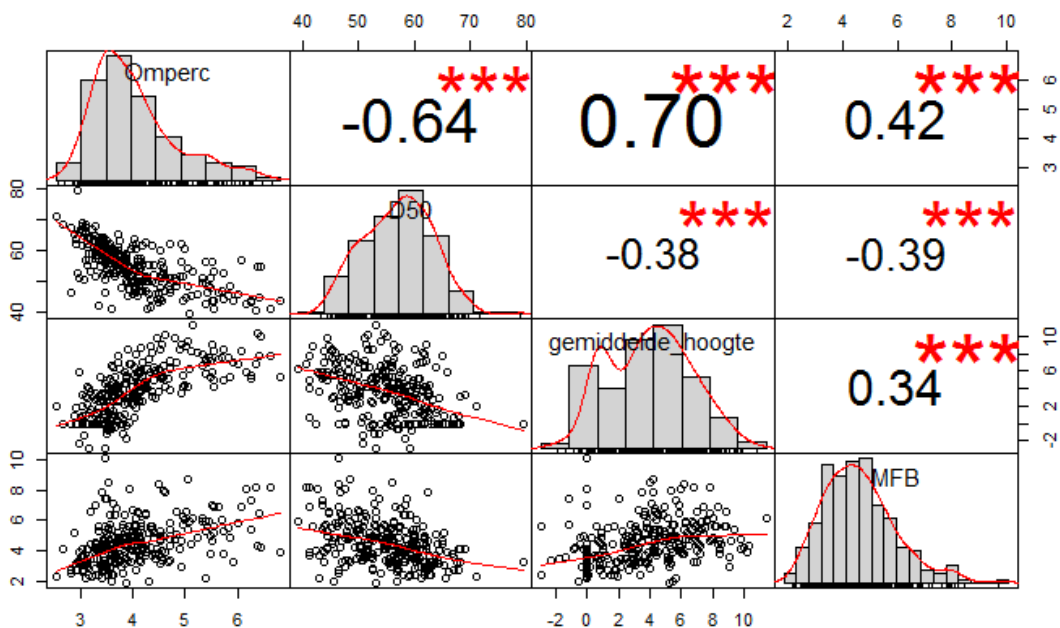
Er is een vrij grote variatie (en dus grote foutenvlaggen) in microfytobenthos densiteiten per behandeling, waardoor we nauwelijks over verschillen tussen de behandelingen kunnen spreken. De rangorde in hoeveelheid microfytobenthos tussen de behandelingen onderling is echter vrij constant doorheen de tijd zodat waardoor we hier toch verder op ingaan. Vanaf 4-6 weken en de hele periode daarna ontwikkelt zich in de gesloten kooien (2M en 13M) een hogere gemiddelde densiteit microfytobenthos dan in de controle (C). De microfytobenthos densiteit in de technische controles is grotendeels intermediair aan deze van de gesloten kooien en de controle, zonder uitgesproken patronen. Hoewel er veel variatie is en de patronen eerder zwak, wagen we ons toch aan een interpretatie. Het resultaat is anders dan we verwachtten. Doordat de kooien, vooral de kooien met maaswijdte 2 mm, een deel van het zonlicht afschermen, verwachtten we dat fotosynthese in de kooien minder sterk zou zijn en de groei van algen trager zou verlopen, waardoor de densiteiten in de kooien lager worden dan in de controle. Dit is niet in overeenstemming met wat we observeerden. Dit kan verschillende oorzaken hebben. Op zonnige dagen trad mogelijks fotoinhibitie op, in het bijzonder in de plots zonder kooien. Bij hoge lichtintensiteiten kan het fotosynthesesysteem van de algen beschadigd geraken en minder werken waardoor de groei afneemt (Macintyre & Cullen, 1996). Op warme en winderige dagen droogt het sediment bovendien oppervlakkig uit wat ongunstig is voor benthische algen, terwijl dit in de kooien mogelijk minder het geval is. Het verschil tussen de behandelingen, maar ook het tijdsverloop, vertoont verder verassend veel gelijkenissen met sedimentatie. Pelagische algen (fytoplankton) worden waarschijnlijk mee afgezet als deel van het nieuw afgezette sediment. Maar er is mogelijk ook een meer indirect mechanisme: het nieuw afgezette materiaal is anders van korrelgrootte en van samenstelling, wat de groei van algen kan stimuleren (Zhang & Mei, 2015).



Figuur 12: Temporeel patroon van de gemiddelde densiteit (\pm 1SD) van microfytobenthos (als chlorophyll *a*) in de bovenste vier cm van de experimentele plots voor de vijf behandelingen. Links: voor pheophytine gecorrigeerde waarden (na aanzuren), rechts: niet voor pheophytine gecorrigeerde metingen.

Onderlinge correlaties

De grote range aan waarden voor de omgevingsvariabelen in het experiment is voor een groot deel het resultaat van veranderende sedimentatie in de exclusures. Al deze variabelen zijn daardoor onderling in mindere of meerdere mate gecorreleerd met elkaar; dit staat geïllustreerd in Figuur 13. Deze correlatie met sedimentatiehoogte is vooral sterk voor het percentage organisch materiaal (positief) en de maat voor korrelgrootteverdeling D50 (negatief). De densiteit aan microfytobenthos (inclusief dood microfytobenthos, zie eerder) volgt het patroon van organische stof, maar geeft een zwakker signaal.



Figuur 13: Correlatiematrix voor de omgevingsvariabelen in het veldexperiment. Omperc=percentage organische stof; D50=maat voor mediane korrelgrootteverdeling; gemiddelde_hoogte=sedimentatiehoogte; MFB=microfytobenthos inclusief dood microfytobenthos. Getallen in de bovenhoek van de matrix zijn Pearson correlatiecoëfficiënten, de asterisken geven het significantieniveau (<0.01=***).

2.3.2 Oligochaeten

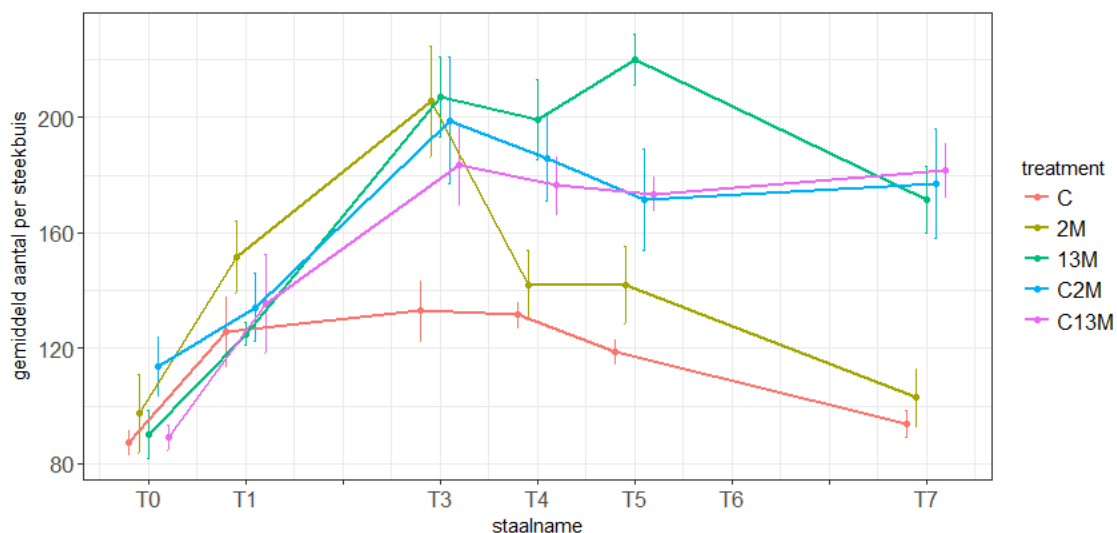
De analysestrategie was als volgt: voor elke parameter (densiteit, biomassa, biomassa per capita) werd een temporele analyse met alle tijdstippen gedaan waaruit we het verloop in de tijd en het uiteindelijk cumulatief effect na de hele periode bespreken. Bij die eindpunteevaluatie bespreken we zowel tijdstip T5 (begin september 2017, 10 weken na de opstart van het experiment) als T7 (half oktober, 15 weken). T5 volgt na een lange vrij stabiele periode voor wat betreft sedimentatie waardoor er meer kans is dat oligochaeten in evenwicht zijn met hun omgeving. In de eerste 4 weken van het experiment veroorzaakten de enclosureconstructies immers sterke behandeling-afhankelijke sedimentatie. Nadien volgde een relatief stabiele periode van ongeveer 6 weken (Figuur 10). Tussen tijdstip T5 en tijdstip T7 (half oktober) was er opnieuw een sterke toename van sedimentatie wat de oligochaetengemeenschap opnieuw in een verandertraject brengt. Bovendien zijn half oktober al een deel van de overwinterende watervogels aanwezig die mogelijk interfereren met het experiment. Vanuit die optiek is het zinvol om zowel naar T5 als T7 te kijken.

Om de leesbaarheid van de tekst te verhogen zijn de uitgebreide statistische resultaten in bijlage gezet (Bijlage 2).

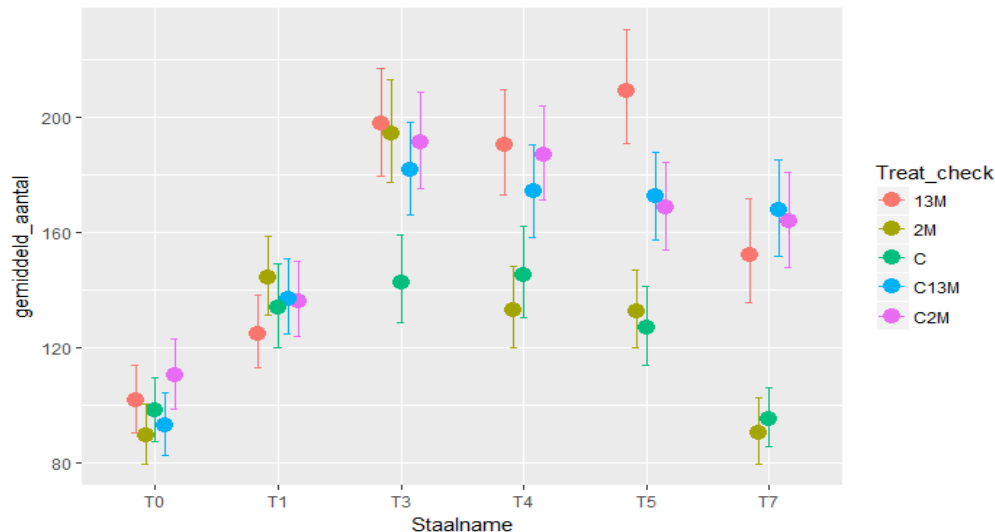
2.3.2.1 Densiteiten

Het densiteitsverloop van oligochaeten in de experimentele plots staat weergegeven in Figuur 14. Het statistisch model dat best bij de densiteitsdata past heeft sedimentatiehoogte als covariaat. Een modelmatige weergave met correcties voor de covariaat staat in Figuur 15. Op de figuur valt meteen op dat er sterke effecten zijn van zowel tijdstip (Staalname), behandeling (treatment) als de interactie tussen beiden. Deze worden ook statistisch bevestigd (zie bijlage, Tabel 15). Tussen eind juni en half oktober 2017 neemt de densiteit aan oligochaeten eerst toe en nadien in de meeste behandelingen weer af. De toename is echter veel groter in de behandelingen met kooien dan in de controle (C). Op T1

heeft de 2M-behandeling al grotere densiteiten dan de controle; voor de overige behandelingen is dat vanaf T3. Na de sterke toename tijdens de eerste 6 weken blijven de densiteiten schommelen rond hun nieuwe niveau, of dalen lichtjes naar het einde van de periode. Er is echter een uitzondering: exclusures met maaswijdte 2M. In deze behandeling volgt er na een sterke stijging in de eerste 6 weken een abrupte daling naar week 8 (T4). Vanaf T4 verschilt de densiteit niet meer van die van de controle terwijl dat voor de andere behandelingen wel het geval is (Tabel 15).



Figuur 14: Gemiddeld aantal oligochaeten (\pm 1 SE) voor de verschillende behandelingen van het exclusure-experiment.



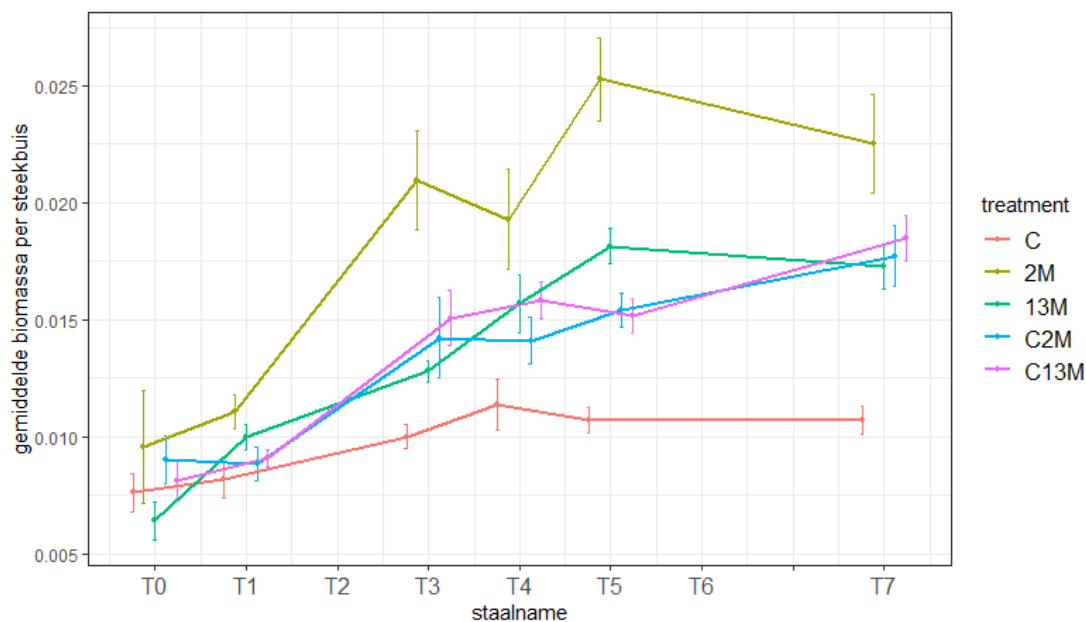
Figuur 15: Modelmatige weergave ("*posterior distribution*") van oligochaetendensiteiten voor de verschillende behandelingen en voor de duur van het experiment (temporeel model). De weergegeven gemiddeldes zijn gecorrigeerd voor effecten van sedimentatie en de foutenvlaggen zijn op het model gebaseerde 95% betrouwbaarheidsintervallen.

Als we het eindresultaat van de behandelingen evalueren dan zien we op T5 een hogere densiteit voor 13M dan in de technische controles C2M en C13M, maar dit verschil is niet significant. De densiteiten in 2M en de controle (C) verschillen niet significant van elkaar op T5 en T7, maar zij verschillen wel beiden significant van de andere drie behandelingen.

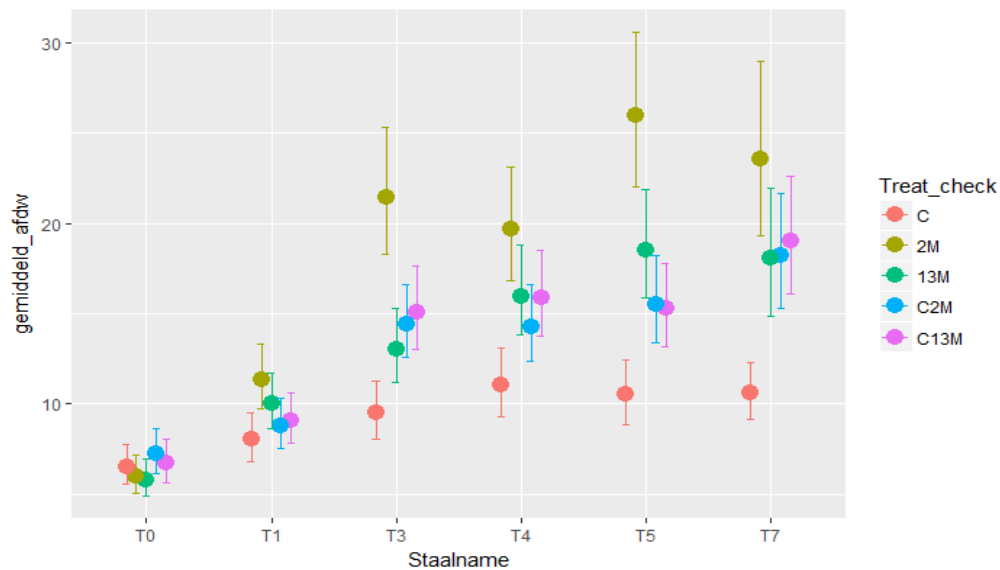
De covariaat in het model, de sedimenthoogte, had een significant positief effect op de densiteit oligochaeten (Figuur 47).

2.3.2.2 Biomassa

De biomassa van de oligochaeten wordt uitgedrukt als asvrij drooggewicht. Het temporeel patroon wordt weergegeven in Figuur 16. Het statistisch model dat best bij de biomassadata past heeft microfytobenthos als covariaat. Een modelmatige weergave met correcties voor de covariaat staat in Figuur 17. De resultaten van het model staan in Tabel 17. Het temporeel patroon van oligochaetenbiomassa verschilt sterk van dat voor densiteiten. Alle behandelingen nemen min of meer monotoon toe naar het einde van de onderzoeksperiode, al is bij de voor de covariaat gecorrigeerde waarden de biomassa na T5 eerder stabiel. Voor de vier exclusiebehandelingen verloopt de toename sneller dan voor de controle waardoor ze in de tweede helft van het experiment een grotere biomassa hebben dan de controle (C). Voor één behandeling, 2M, verloopt de toename nog sneller dan voor de andere waardoor ze op T3 en T5 een hogere biomassa heeft dan alle andere behandelingen en op T4 en T7 hoger dan de technische controles maar niet hoger dan 13M.



Figuur 16: Gemiddelde biomassa oligochaeten (asvrij drooggewicht, \pm 1SE) per steekbuis voor de verschillende behandelingen van het exclusie-experiment.



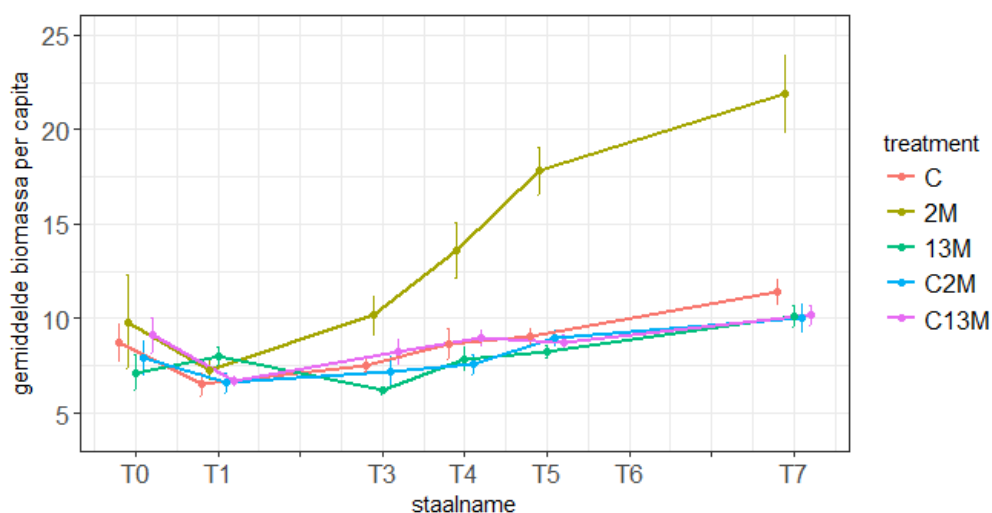
Figuur 17: Modelmatige weergave ("posterior distribution") van oligochaetenbiomassa voor de verschillende behandelingen op de verschillende tijdstippen van het experiment (temporele analyse). De weergegeven gemiddeldes zijn gecorrigeerd voor effecten van sedimentatie en de foutenvlaggen zijn op het model gebaseerde 95% betrouwbaarheidsintervallen.

Wanneer we de cumulatieve effecten (eindpuntanalyse) expliciet bekijken (Tabel 17) dan blijkt dat alle enclosurebehandelingen na 10 weken een grotere toename in biomassa kenden dan de controle, ook na correctie voor de covariaat. De voor de covariaat gecorrigeerde toename in de gesloten kooien 13M en 2M is op T5 significant hoger dan voor de technische controles, en voor 2M groter dan 13M. Op T7 verschilt de biomassa in 13M niet meer van deze in de technische controles, maar die van 2M wel. Onderling zijn de biomassa's van 2M en 13M dan niet langer significant verschillend.

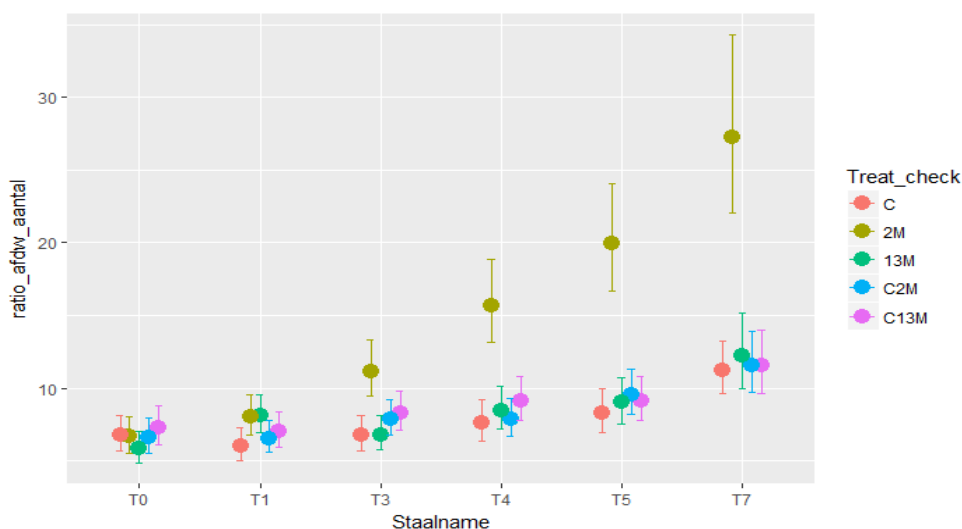
2.3.2.3 Biomassa per capita

Een derde parameter die we bespreken is een afgeleide parameter: de biomassa per capita. Deze wordt verkregen door voor elk staal de gemiddelde biomassa te delen door het gemiddeld aantal wormen per plot. Het temporeel patroon van de biomassa per capita staat in Figuur 18. Het statistisch model dat best bij de biomassadata per capita past heeft sedimentatiehoogte als covariaat. Een modelmatige weergave met correcties voor de covariaat staat in Figuur 19. De statistische resultaten staan in Tabel 19.

Het patroon van deze parameter is opmerkelijk omdat het in veel opzichten verschilt van dat van de vorige parameters. In de eerste plaats is het patroon vrij constant in de tijd: de voor sedimentatiehoogte gecorrigeerde ratio's veranderen statistisch gezien niet overheen de tijd. Ten tweede zijn er slechts minimale en helemaal niet-significante verschillen tussen de behandelingen; de biomassa per capita lijkt wel een stabiele eigenschap voor de oligochaetengemeenschap, zowel doorheen de tijd als voor de verschillende behandelingen. Er is hierop echter één grote uitzondering: de gesloten kooien met maaswijdte 2 mm (2M). In deze behandeling neemt de biomassa per capita monotoon toe en verschilt vanaf T3 (6 weken) significant van alle andere behandelingen.



Figuur 18: Gemiddelde biomassa per capita van oligochaeten (\pm 1SE) voor de verschillende behandelingen van het enclosure-experiment.



Figuur 19: Modelmatige weergave ("posterior distribution") van oligochaetenbiomassa per capita voor de verschillende behandelingen op de verschillende tijdstippen van het experiment (temporele analyse). De weergegeven gemiddeldes zijn gecorrigeerd voor effecten van sedimentatie en de foutenvlaggen zijn op het model gebaseerde 95% betrouwbaarheidsintervallen.

Het eindresultaat is vrij gelijkend voor tijdstip T5 en T7: de biomassa per capita is veel hoger in 2M dan de rest, en de andere behandelingen verschillen noch onderling noch van de controle (C). Op beide tijdstippen is de gemiddelde biomassa per capita voor 2M ongeveer driemaal groter dan deze voor de andere behandelingen.

De interpretatie van deze afgeleide parameter biomassa per capita is niet eenduidig. De *ratio gemiddelde biomassa/gemiddeld aantal* kan zowel wijzigen wanneer het aandeel kleine als grote wormen verandert. Een stijging van de ratio kan bijvoorbeeld betekenen dat er relatief minder kleine wormen zijn maar ook dat er relatief meer grote wormen zijn (of beide). Om hier meer duidelijkheid in de te brengen werd voor één tijdstip, na 10 weken (T5) een grootmeting uitgevoerd op de wormen voor de verschillende behandelingen.

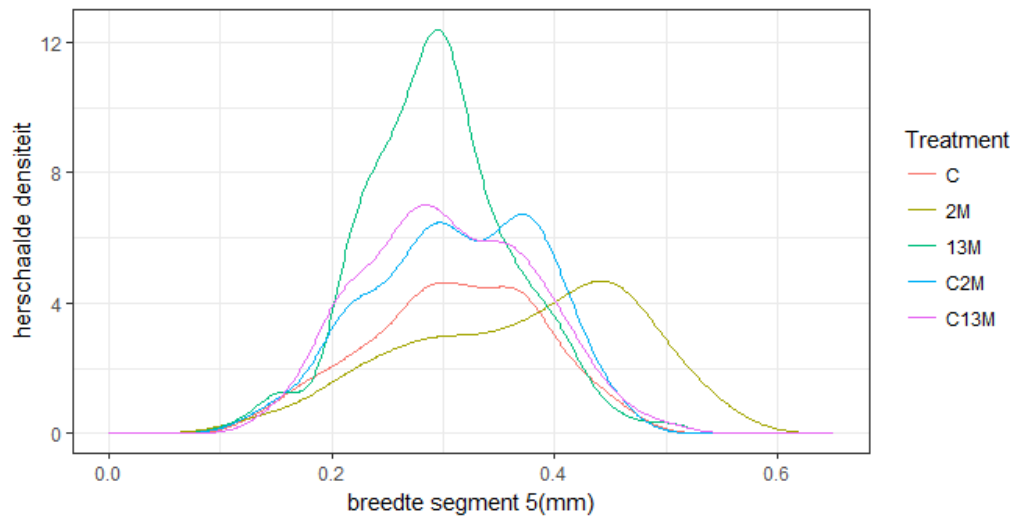
2.3.2.4 Grootteverdeling van oligochaeten

Een formele test die de grootteverdeling van wormen in de verschillende behandelingen vergelijkt toont aan dat deze zeer significant verschillen (Tabel 2, alle behandelingen). Deze test laat geen post-hoc vergelijkingen toe. Door één voor één behandelingen uit de test weg te laten, en de verandering in de teststatistiek (*X-squared*) te registreren, kunnen we inschatten hoe sterk deze bijdraagt aan het gevonden verschil (Tabel 2). We zien dat voor de controle en de technische controles er weinig verandering optreedt, maar wel voor 13M en vooral bij 2M: deze laatste hebben bijgevolg een grootteverdeling die meest afwijkt van die van de andere behandelingen.

Tabel 2: Resultaten van een chi-squared test op grootteverdeling van wormen (volgens 0.05 mm intervallen).

Model	X-squared	df	p-value
alle behandelingen	135,07	12	2.2e-16
zonder C2M	129,77	9	2.2e-16
zonder C13M	123,92	9	2.2e-16
zonder C	120,21	9	2.2e-16
zonder 13M	79,67	9	1,88E-10
zonder 2M	43,74	9	1,58E-03

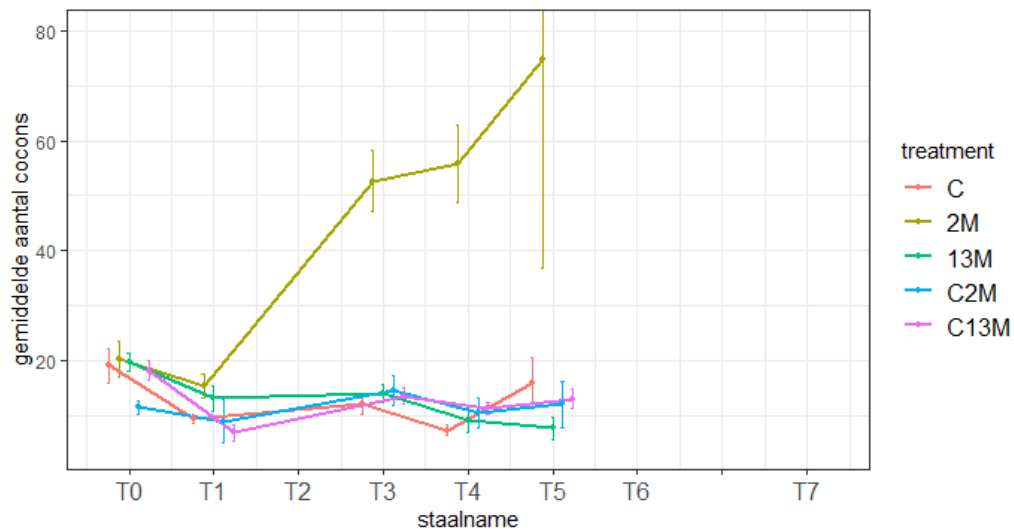
Het resultaat van de groottemetingen wordt weergegeven in Figuur 20. Belangrijk om weten is dat in deze figuur de curves herschaald zijn volgens het gemiddeld aantal wormen per behandeling. De curves kunnen op die manier rechtstreeks met elkaar vergeleken worden. Wat we zien is dat in de technische controles, maar vooral in behandeling 13M, er een opvallend hoger aantal wormen is van gemiddelde grootte in vergelijking met de controle. Het volume onder de curve voor 13M is veruit het grootste (=grootste aantallen). De vorm van de curve is bij benadering Gaussiaans, met kleine aantallen kleine en grote wormen, en de grootste aantallen voor middelgrote wormen. De piek is wel smaller en ligt lager dan bij de andere behandelingen; dit is dus een behandeling met op dit tijdstip een grote cohorte vrij kleine wormen. Voor de technische controles en voor de controle is de piek breder met wormen over een breder spectrum van middelgrote afmetingen. Een sterk afwijkende dichtheitscurve vinden we bij exclusies van 2M: de curve is vergelijkbaar met de controle, maar heeft lagere aantallen wormen tot een segmentbreedte van iets meer dan 0.35 mm. Deze breedte vormt het knippunt waarbij de dichtheitscurve voor alle behandelingen sterk daalt. Bij 2M stijgt ze dan net, en geeft zo de aanzet voor een ongeziene piek aan erg grote wormen die tot boven de 0.6 mm segmentbreedte doorloopt.



Figuur 20: Densiteitsfiguur voor de grootte van wormen op T5 (na 10 weken). Het volume onder de curve is herschaald naar het gemiddeld aantal wormen dat aanwezig was op dit tijdstip voor de verschillende behandelingen.

2.3.2.5 Reproductie: cocons

De aantallen cocons zijn geteld voor alle stalen voor alle tijdstippen behalve voor T7 en slechts voor 3 stalen per behandeling op T5. Omdat dit slechts indicatieve aantallen zijn wegens een niet volledig afgestemde telmethode voerden we geen verdere analyses uit. Er is wel een sterk patroon in de data aanwezig (Figuur 21). De densiteit aan eicocons vertoont geen grote wijzigingen doorheen de tijd noch verschilt deze tussen de behandelingen behalve voor behandeling 2M. In deze behandeling is er een monotone stijging in de densiteit aanwezig tot en met het laatste meetpunt na 10 weken (T5).



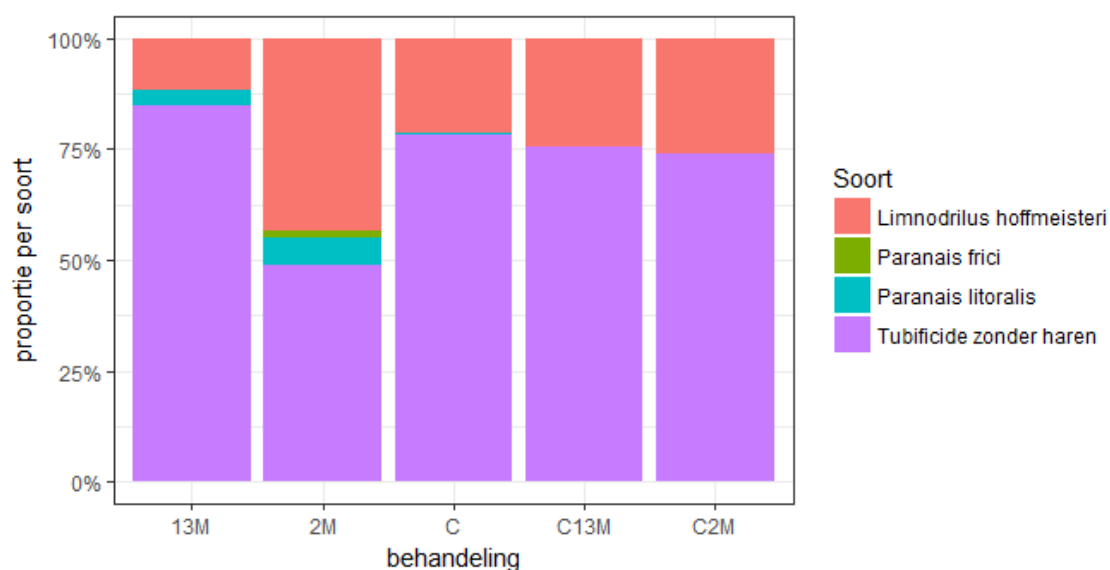
Figuur 21: Tijds patroon van het gemiddeld aantal eicocons ($\pm 1SE$) van oligochaeten per plot voor de verschillende behandelingen van het enclosure experiment op de Notelaer.

2.3.2.6 Soortensamenstelling

De soortensamenstelling van de oligochaetengemeenschap na 10 weken in de experimentele plots van de Notelaer was bijzonder arm. Er werden maar drie soorten wormen vastgesteld: *Limnodrilus*

hoffmeisteri, *Paranais litoralis* en *Paranais frici*. Daarnaast was er nog een grote groep juveniele tubificiden die niet op naam gebracht kon worden (Figuur 22). Omdat *Limnodrilus hoffmeisteri* de enige aanwezige tubificide worm is, is het waarschijnlijk dat de juveniele wormen ook tot deze soort behoren.

Wanneer we de verschillende behandelingen bekijken, valt op dat de proportie volwassen *Limnodrilus hoffmeisteri* zeer vergelijkbaar is in C, C13M en C2M, iets lager in 13M en een stuk hoger in 2M. Wanneer we naar de juveniele tubificide wormen kijken (= "Tubificide zonder haren") dan zien we ongeveer het omgekeerde patroon. Samen vormen deze twee groepen 95-100% van de wormengemeenschap. Aangezien juveniele tubificiden waarschijnlijk ook *L. hoffmeisteri* zijn, weerspiegelt dit de verhouding jonge versus oude *L. hoffmeisteri* binnen deze behandelingen. In drie behandelingen, de controle C, 13M en 2M was er nog een kleine fractie *Paranais* wormen aanwezig.



Figuur 22: Procentueel voorkomen van de verschillende taxa en levensvormen oligochaeten voor de verschillende behandelingen van het experiment.

2.4 Discussie

2.4.1 Bottom-up effecten op oligochaeten: sedimentatie

Hoewel niet in de eerste plaats de bedoeling van het experiment, vonden we aanwijzingen voor bottom-up effecten op de oligochaetengemeenschap. In alle experimentele behandelingen waarin er extra sedimentatie gebeurde, stelden we een toename van het aantal en de biomassa van oligochaeten vast. De abundantie en biomassa van oligochaeten op estuariene zoetwaterslikken wordt in de eerste plaats bepaald door de hoogte op het slik of de overstromingsduur (zie Bijlage 1; Van Braeckel et al., (n.d.)): de aantallen zijn daarbij hoger op het middelhoog en hoog slik. Overstromingsduur is daarbij geenszins aanwijsbaar als de causale factor, aangezien parallel hiermee talloze andere factoren veranderen, waaronder stroomsnelheid, de korrelgrootteverdeling van het sediment, de fractie organisch materiaal in het sediment, enz... Het interessante aan ons experiment is dat we deze laatste variabelen loskoppelden van overstromingsduur: we creëerden in sommige experimentele plots omstandigheden (een fijnere mediane korrelgrootte, een hoger aandeel organisch materiaal) die doorgaans hoger op het slik te vinden zijn. Dit wijst er dus op dat niet overstromingsduur *an sich* de sturende variabele is bij het huidige gezonde voorkomen van oligochaeten. Welke factor(en) dan wel de hoofdrol(len) speelt (spelen) is onduidelijk. Zowel de densiteit aan benthische algen, de fractie organisch materiaal als de korrelgrootte veranderden bij sedimentatie. Bovendien kunnen ook niet-gemeten variabelen een rol spelen. We hoopten meer te weten te komen vanuit de statistische modellen, waarbij we deze

variabelen als covariaten gebruikten, maar de covariaten waren zelden zeer sterk met benthosparameters gerelateerd en de verschillende variabelen verschilden onderling weinig in hun verklarende bijdrage aan de modellen. Het lijkt er dus op dat de door ons gebruikte variabelen niet de directe oorzaak waren van de toename in benthos, al is het mogelijk dat het effect door interne processen (denk aan eventueel kannibalisme) of door time-lag effecten verdoezeld wordt. Bovendien wordt in de literatuur nogal eens gewag gemaakt van een belangrijke rol die zou zijn weggelegd voor sedimentkwaliteit, die blijkbaar sterk seizoenaal maar ook ruimtelijk kan variëren (Junkins et al., 2006). Jammer genoeg bestaat er nog te weinig kennis over wat precies de goede kwaliteit van sediment bepaalt om deze te kunnen meenemen in dit soort studies. Er zijn verschillende beloftevolle onderzoekspistes om hier mee aan de slag te gaan; zo is er tegenwoordig vrij veel aandacht in verschillende takken van de ecologie voor labiele koolstof (Canuel & Hardison, 2016). Organische koolstof bestaat uit verschillende fracties die verschillen van nauwelijks als voedsel bruikbaar (het refractair gedeelte) tot onmiddellijk consumeerbaar (de labiele fractie). Detrituseters zoals *Limnodrilus* zijn waarschijnlijk vooral gebaat bij de laatste fractie.

2.4.2 Top-down effecten op oligochaeten: een kleine, grootte-selectieve predator

De hoofdvraag van het experiment is of en hoe organismen van het pelagisch-aquatische voedselweb interageren met het benthos van de slikken. Enclosures zijn een uitgelezen manier om deze relatie bloot te leggen, maar een moeilijkheid is om de predatoreffecten te scheiden van de sedimentatie-effecten. Door enkele met sedimentatie gelinkte variabelen die de ecologie van oligochaeten kunnen beïnvloeden mee op te volgen tijdens het experiment, en deze in het statistisch model als covariabelen te gebruiken, hebben we proberen te corrigeren voor deze effecten.

De gecorrigeerde resultaten tonen aan dat de gesloten enclosure met maaswijdte 13 mm een gelijkaardig effect had op de oligochaeten als de technische controles C2M en C13M; dit zijn de open enclosures met maaswijdte 2 mm en 13 mm. Na 10 weken was de totale biomassa en de densiteit aan wormen vergelijkbaar tussen deze drie behandelingen. Anders gezegd: de gesloten 13 mm kooi had geen effect op de wormengemeenschap anders dan het sedimentatie-effect dat ook in de technische controles speelde. Dit staat in sterk contrast met de gesloten kooien met 2 mm maaswijdte. In deze behandeling was er na 10 weken een grotere biomassa aan wormen dan in alle andere behandelingen. Spectaculair is bovendien het verschil in biomassa per capita: wormen in 2M hebben gemiddeld maar liefst 2 tot tweeënhalve maal meer biomassa dan wormen in de andere behandelingen. De groottemetingen na 10 weken geven aan hoe dit komt: de 2M behandeling heeft als enige een cohorte zeer grote wormen. In alle andere behandelingen zien we dat vanaf eenzelfde grootte de wormen uit de gemeenschap verdwijnen. Dit verschil heeft verder niets te maken met een verschuiving in soortensamenstelling: de gemeenschap bestaat in alle behandelingen uit slechts één soort, *Limnodrilus hoffmeisteri*, soms aangevuld met zeer kleine aantallen van twee kleine Naide wormen. Wel treffen we een groter aandeel volwassen *L. hoffmeisteri* aan in de 2M behandeling, wat overeen stemt met het feit dat deze wormen gemiddeld ook groter zijn: de wormen blijven waarschijnlijk langer leven, worden steeds groter en bereiken ook vaker het reproductieve stadium. Ook in lijn daarmee is het groter aantal eicocons dat we in deze behandeling vonden. Bovenstaand patroon, waarbij grote wormen verdwijnen uit de gemeenschap behalve wanneer predatoren geweerd worden door een enclosure, past best op dat van een grootte-selectieve predator die overal de grootste wormen weggraast, maar daar niet in slaagt in de kooien met 2 mm maaswijdte. Daar kunnen de wormen doorgroeien en een grootte bereiken die verder nergens op het slik van de Notelaer voorkomt (zie ook raairesultaten in Bijlage 1).

Doordat we in het experiment twee verschillende maaswijdtes gebruikt hebben, komen we bovendien meer te weten over de identiteit van deze predator. In de 13 mm enclosures was er namelijk geen enclosure-effect: de predator (of predatoren) moet(en) dus zonder moeite in de 13 mm kooien geraken,

maar niet in de 2 mm kooien. Daardoor vallen alle grote vissen en krabben weg als mogelijkheid en blijven kleinere hyperbenthossoorten over. Om te weten welke en hoeveel van deze potentiële predatoren aanwezig waren aan de Notelaer werden tweewekelijks hyperbenthosvangsten uitgevoerd (Figuur 44). Hieruit blijkt dat slechts drie soorten in grote aantallen en biomassa aanwezig waren: de brakwatergrondel, de grijze garnaal en de steurgarnaal. De totale biomassa van deze drie predatoren neemt toe tijdens het experiment. Verschillende soorten volgen elkaar in de tijd op in belang. Uit voorafgaande testen (zie 2.2.1) weten we dat alle drie deze soorten zich gemakkelijk doorheen de maaswijdte 13 mm bewegen maar niet door 2 mm maas geraken.

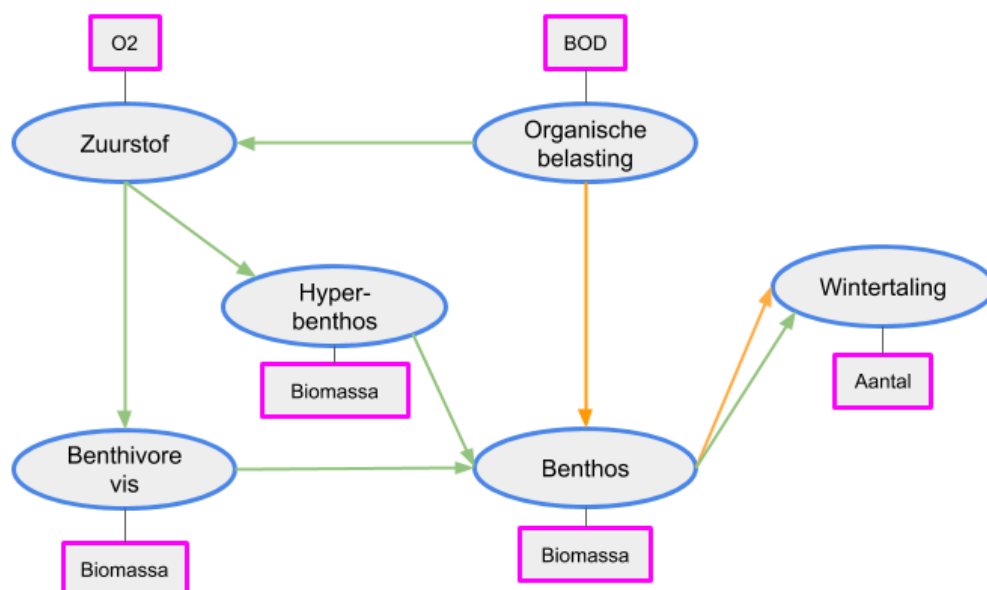
2.4.3 Interne populatie-regulatie bij *Limnodrilus*?

Een opmerkelijk resultaat ten slotte is het densiteitsverloop aan wormen in behandeling 2M. Deze stijgt aanvankelijk sterk, minstens zo snel als in de andere behandelingen met een exclusiekooi, maar daalt plotseling vanaf T4 tot op het niveau van de controle (C). Uit de grootteverdeling blijkt dat er relatief weinig kleine en middelgrote wormen aanwezig zijn. Dergelijk patroon zou te wijten kunnen zijn aan een verstoorde reproductie, maar tellingen van eicocons tonen aan dat er net meer cocons geproduceerd worden in de 2M behandeling. Een tweede mogelijke verklaring is voedselcompetitie. Mogelijk is competitie tussen grote en kleine wormen asymmetrisch, waardoor de laatsten er meer door getroffen worden, maar het lijkt onwaarschijnlijk dat dit kan verklaren wat er gebeurt met de grote aantallen (waarschijnlijk honderden per staal per week) jonge wormen die uit de cocons komen en dan verdwijnen. Wij zien nog twee opties die overblijven. Ofwel migreren de jonge wormen massaal weg; dergelijk gedrag is bekend en treedt op bij hoge populatiedensiteiten (Junkins et al., 2006; Valanko et al., 2010). Ofwel worden volwassen *L. hoffmeisteri* vanaf een bepaalde grootte kannibalistisch. Dit gedrag is echter voor deze nochtans bijzonder goed bestudeerde soort nooit beschreven. Toch lijkt dit ons een mogelijkheid: in de literatuur wordt beschreven dat deze soort partikels tot minstens een grootte van 40 µm kan eten (Millward et al., 2001). De kleinste wormbreedte (segment V) die wij maten was ca. 100 µm, maar door onze verwerkingsmethode met 500 µm zeef van de stalen worden de zeer kleine pas geboren wormen niet gevonden. Mogelijk liggen deze kleine wormen binnen het groottebereik van deze zeer grote *L. hoffmeisteri*; bovendien verwerken deze laatste tot 12 mg sediment per dag (Millward et al., 2001) zodat de kans groot is dat kleine wormen in de tijdspanne dat ze zeer klein zijn mee “verwerkt” worden door de volwassen soortgenoten voor ze doorgroeien naar een veiligere grootte.

3 Onderzoek naar de mogelijke rol van trofische relaties bij de ecosysteemshift: modellering historische data.

De ecosysteemshift die zich rond het jaar 2007 voltrok in de Zeeschelde, na jarenlange cumulatieve verminderingen van de vuilvracht in de zijrivieren door waterzuivering, gooide de hele levensgemeenschap overhoop. Het opnieuw zuurstofrijkere water was de aanleiding voor de terugkeer van grote aantallen vis met in hun kielzog een diverse onderwatergemeenschap van hyperbenthos en epibenthos. Maar er was ook een grote terugval van overwinterende watervogels. Dat laatste was vermoedelijk een gevolg van de sterke afname van het benthos, met name de oligochaeten. De shift had gevolgen voor de hele Zeeschelde, maar nergens zo drastisch als in de oligohaliene zone. Net daar, rondom de monding van de Rupel, was de waterkwaliteit lange tijd het meest ongunstig met jaarlijkse langdurige zuurstofloze periodes (Cox et al., 2009), terwijl meer stroomopwaarts en meer stroomafwaarts de condities al langer beter waren en er (soms tijdelijk, vooral in de winterperiode) al visgemeenschappen aanwezig waren. De slechte waterkwaliteit net op deze plaats had te maken met het water afkomstig van de Zenne, waarin lange tijd ongezuiverd huishoudelijk afvalwater van de stad Brussel geloosd werd, dat via de Rupel in de Zeeschelde kwam.

Terugkijkend op die periode met snelle gemeenschapsturnover blijven nog steeds een aantal vragen bestaan over hoe de verandering zich precies voltrokken heeft. Een belangrijk vraagstuk is hoe het (vermoede) grote belang van oligochaeten voor overwinterende watervogels zo sterk afgenomen is, met andere woorden wat de precieze oorzaak is voor het verdwijnen van het grootste deel van de populatie overwinterende watervogels. Er wordt daarbij doorgaans verwezen naar twee verschillende hypothesen; deze worden afgebeeld in Figuur 23. Volgens de eerste hypothese (oranje op de figuur) heeft een sterke afname van vuilvracht, via een verminderde bottom-up relatie, geleid tot een daling van oligochaeten en daaruit volgend ook van overwinterende watervogels. De tweede hypothese legt de nadruk op de opkomst van vis die via top-down controle (predatie) het benthos doet afnemen, waardoor op hun beurt de watervogels afnemen. Volgend uit de resultaten van het veldexperiment werd ook hyperbenthos expliciet opgenomen als kandidaat om de rol van vis (mee) te vervullen. Het beter begrijpen van welk mechanisme (hoofdzakelijk) verantwoordelijk was voor de shift kan helpen om te begrijpen waarom er tegenwoordig lage aantallen watervogels overwinteren en om beter in te schatten wat de draagkracht van de Zeeschelde is of kan zijn.



Figuur 23: Theoretische pathways (groen: indirect via vis en hyperbenthos; oranje: rechtstreeks naar het benthos) die via afname van organische belasting kunnen geleid hebben tot de afname van benthos (oligochaeten) en als gevolg daarvan de afname van overwinterende watervogels (hier weergegeven is de belangrijkste soort, wintertaling). In de roze rechthoeken worden de variabelen gegeven die beschikbaar zijn voor statistische analyse.

Het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek beschikt over langjarige meetreeksen voor de meeste van de bovenstaande variabelen (watervogels, vis, hyperbenthos, benthos) meestal met precieze plaatsinformatie. De overblijvende abiotische parameters (zuurstof en *Biological Oxygen Demand*, BOD) worden opgevolgd in het OMES programma.

Deze datareeksen zijn nooit eerder formeel aan elkaar gelinkt volgens een gestandaardiseerd protocol.

3.1 Materiaal en methode

3.1.1 Dataselectiecriteria

De gevolgen van de ecosystemeshift op de biota waren het sterkst in de Zeeschelde tussen Antwerpen en de Durmemonding. In dit deel van de Schelde vinden we bovendien grote oppervlaktes slik, wat belangrijk is voor het benthos en de vogels. Historisch lag hier het zwaartepunt voor aantallen overwinterende watervogels, met name de overwinterende eenden met als belangrijkste soort de wintertaling (*Anas crecca*) (Ysebaert et al., 1998). We hebben daarom voor deze analyse alleen data weerhouden die behoren tot dit deel van de Zeeschelde dat bestaat uit de **OMES zones 13, 14 en 15**, ofwel het oligohalien en het meest benedenstroomse deel van het zoet deel met lange verblijftijd.

Veranderingen in de Zeeschelde die hebben geleid tot de ecosystemeshift hebben vooral plaatsgevonden tussen 2000 en 2010, met als scharniermoment het jaar 2007. Er wordt verder dan ook op deze periode gefocust bij de analyses. Binnen deze periode is er een verdere beperking tot de jaren waarvoor voldoende gegevens beschikbaar zijn (zie verder).

3.1.2 Databronnen

Een overzicht van de bronnen die gebruikt werden om de beoogde data te bekomen staat in Tabel 3.

Voor waterkwaliteitsvariabelen, vis, hyperbenthos en vogels zijn er minstens jaarlijkse monitoringsdata beschikbaar. Jaarlijkse monitoring van het benthos is echter maar gestart vanaf 2008, voordien was deze driejaarlijks. Vóór 2008 en binnen de relevante periode beschikken we over gegevens voor 2002 en 2005. Om een gebalanceerde dataset te bekomen, en er rekening mee houdende dat dit een dynamische periode was waarin jaar-tot-jaar veranderingen groot kunnen zijn, wordt daarom finaal gewerkt met gegevens die van hetzelfde jaar afkomstig zijn voor **de jaren 2002, 2005, 2008 en 2011**. Dit geeft twee tijdstippen vóór de belangrijkste veranderingen en twee tijdstippen ná de belangrijkste veranderingen.

Tabel 3: Overzicht van de data en databronnen gebruikt in de analyses, met hun ruimtelijke en temporele resolutie.

Variabele/groep	Bron	Ruimtelijke resolutie	Temporele resolutie
zuurstof	OMES	OMES segmenten	maandelijks
BOD	OMES	OMES segmenten	maandelijks
benthivore vis	MONEOS	Vaste punten (1 punt per OMES zone in interessegebied)	± 3-maandelijks
hyperbenthos	(MONEOS)	Vaste punten	± 3-maandelijks

(1 punt per OMES zone in interessegebied)			
benthos	MONEOS	Random punten (>10 punten per OMES zone)	3 jaarlijks vóór 2008 Jaarlijks vanaf 2008
wintertaling	MONEOS	Telgebieden ± 2km lengte	maandelijks

3.1.3 Beschrijving data

Waterkwaliteit: BOD en zuurstof

Sinds december 1995 wordt de Zeeschelde maandelijks bemonsterd met betrekking tot waterkwaliteit, organische belasting en primaire productie, het OMES programma (Onderzoek MilieuEffecten Sigmaplan) (Maris & Meire, 2017). Hiervoor wordt de Zeeschelde opgedeeld in een aantal zones. Voor elk van deze zones zijn maandelijks metingen voorhanden. Hieruit werden de gegevens voor zuurstof en organische belasting genomen voor de betrokken jaren. De gebruikte waarden zijn een gemiddelde over de zomermaanden (juli-september) voor elk jaar en elke OMES zone. Wellicht omwille van de biologische activiteit die temperatuurafhankelijk is en een gemiddeld lager debiet tijdens de zomermaanden is BOD in de zomermaanden het hoogst, en zuurstof dus het meest limiterend voor aquatisch leven. Dit vormt een rem op de aanwezigheid van reproductieve vissen en grote aantallen Crustacea in de zomermaanden. Omdat de standing stock van wormen bij het begin van de winter opgebouwd wordt tijdens de zomermaanden, is de aanwezigheid of afwezigheid van aquatische benthospredatoren tijdens de zomermaanden wellicht cruciaal. Vandaar de keuze voor deze periode.

Benthivore vis

Sinds 2002 wordt, in het kader van het Vlaamse meetnet Zoetwatervis, een jaarlijkse analyse gemaakt van het visbestand van de Zeeschelde (Cuveliers et al., 2007). Een vangst bestaat minstens uit een paar dubbele schietfuisen die op de laagwaterlijn gezet worden en de dag erop gelegegd. Vis wordt gedetermineerd, geteld en gewogen. De vangsteenheid die we gebruikten was de biomassa per fuikdag. Vissoorten werden volgens hun habitatgebruik en foerageergewoonten ingedeeld (benthivore, zooplanktivore, piscivore, andere). Omdat we hier specifiek de relatie met benthos (oligochaeten) onderzoeken werkten we verder met alleen de biomassagegevens voor benthivore vis. De gebruikte biomassawaarden voor benthivore vis zijn een gemiddelde over de zomermaanden (juni-oktober).

Hyperbenthos

Hyperbenthos, inclusief epibenthos, wordt door INBO pas gericht jaarlijks bemonsterd vanaf 2008. Deze gegevens zijn in deze context niet bruikbaar omdat er geen vergelijkbare gegevens bestaan voor de periode vóór 2007. Wel beschikken we over de hyper(epi)benthos gegevens als bijvangst bij het vismeetnet. De gebruikte schietfuisen heb in de topzak een maaswijdte van 0.5 cm waardoor grotere garnaalachtigen mee gevangen worden (Cuveliers et al., 2007). Verkennende analyses toonden aan dat het biomassaverloop een goede overeenkomst vertoont tussen de bijvangsten van het vismeetnet en de specifieke vangstcampagnes voor de periode sinds 2008 (ongepubliceerde gegevens, inbo). De fuikgegevens bevatten zowel aantallen als biomassa en worden uitgedrukt per fuikdag. We werkten verder met de gegevens voor biomassa. De gebruikte biomassawaarden voor hyperbenthos zijn een gemiddelde over de zomermaanden (juni-oktober).

Benthos

Sinds 1999 wordt het macrobenthos van de Zeeschelde gestructureerd ruimtelijk bemonsterd. Aanvankelijk gebeurde dat driejaarlijks, vanaf 2008 jaarlijks. De methodiek wijzigde ook vanaf 2008, maar er werden conversiefactoren bepaald om de datareeksen te kunnen vergelijken. De staalname gebeurt steeds in de maand september wat ongeveer de piek in biomassa voor oligochaeten is. De verwerking van de stalen bestaat uit een telling en een biomassa bepaling (asvrij drooggewicht). Meer informatie hierover is te vinden in Speybroek et al. (2014). Afhankelijk van de analyse werden de verschillende punten gelegen binnen de bestudeerde OMES segmenten of vogeltelgebieden apart meegenomen of werden ze samen genomen en een gemiddelde biomassa per staal berekend.

Overwinterende watervogels: Wintertaling

De telgegevens van wintertaling zijn gehaald uit de INBO-watervogeldatabank <http://watervogels.inbo.be/>. Sinds oktober 1991 tellen medewerkers van het INBO maandelijks het aantal watervogels langs de Zeeschelde vanaf de Belgisch-Nederlandse grens tot Gent. Deze monitoring is ondertussen ook onderdeel van MONEOS. De tellingen gebeuren vanaf een boot en rond laag tij, wanneer de slikken maximaal vrij liggen. De Zeeschelde is opgedeeld in een aantal vogelgebieden met een aslengte van 1 tot 3.6 km (~2km gemiddelde lengte), waarbinnen de vogels per soort geteld worden. De resultaten van deze tellingen worden jaarlijks gerapporteerd (bv. Van Ryckegem et al., 2015). In de voorliggende analyse focussen we op overwinterende wintertalingen. Deze eend was veruit de talrijkste overwinterende watervogelsoort in de bestudeerde zone en kende een zeer sterke terugval sinds de ecosysteemshift. We gebruiken gemiddelde aantallen voor de tellingen uit de wintermaanden (december - februari), wanneer de densiteiten op de slikken het hoogst zijn. Merk op dat in tegenstelling tot de andere gegevens, die betrekking hebben op de zomer (of lente en zomer), de data voor wintertaling dus uit de wintermaanden komen. Dit is echter logisch aangezien de processen die zich afspelen in de waterkolom en in de slikken tijdens de periode van hoogste productiviteit (zomer) zullen bepalen hoeveel voedsel er aanwezig is voor overwinterende wintertaling tijdens de daaropvolgende winter.

3.1.4 Analysestrategie

Structuring Equation Modelling

Een zeer krachtige analysemethode om in complexe effectketens rechtstreekse en onrechtstreekse effecten te herkennen is *Structuring Equation Modelling* (SEM). SEM wordt gemeenzaam gebruikt voor het bestuderen van relatienetwerken met een gekende of veronderstelde architectuur, zoals in Figuur 23. De analyse geeft een waarschijnlijkheid dat een bepaalde relatie belangrijk is in de effectketen. We pasten deze techniek toe op de twee modellen (groen, oranje) van de ecologische shift in Figuur 23, maar jammer genoeg gaf geen van deze modellen een bevredigende fit met de data. Een mogelijke oorzaak is de beperkte hoeveelheid uiteindelijke data, na bovenstaande noodzakelijke selectieprocedures, of een te grote hoeveelheid ruis in de geaggregeerde data voor een dergelijke sensitieve analysetechniek. We beslisten daarom om verder te gaan met lineaire regressie.

Verkennde analyses

Verbanden tussen variabelen werden geanalyseerd aan de hand van lineaire regressie of hiervan afgeleide technieken. Een belangrijke assumptie hierbij is dat de relaties tussen de variabelen lineair zijn. Een tweede vereiste is dat de verdeling van gegevens voor de (afhankelijke) variabelen niet te sterk afwijkt van de normaalverdeling. Aan de hand van verkennende figuren en correlaties werd nagegaan of variabelen dienden getransformeerd te worden om de normaliteit en de lineariteit van de relaties te optimaliseren.

Indien er sterke correlaties bestaan tussen de verklarende variabelen onderling (multicollineariteit), kan dit problemen geven voor een analyse aan de hand van lineaire regressie, aangezien er geen onderscheid kan gemaakt worden tussen het belang van de variabelen die sterk zijn gecorreleerd (noch door de analysemethode noch voor de interpretatie) en er dus geen onderscheid kan gemaakt worden tussen rechtstreekse en onrechtstreekse effecten. Voorafgaand aan elke lineaire regressieanalyse werd daarom eerst de correlatiestructuur tussen de verklarende variabelen bekeken, en werd er een verdere selectie gemaakt van variabelen die maximaal relevant en minimaal gecorreleerd zijn. Dit gebeurde aan de hand van paarsgewijze correlaties en aan de hand van Variance Inflation Factors (VIF). Er werd een bovengrens voor de VIF waarde, van 2-2.5 gehanteerd.

Lineaire regressie

Omdat lineaire regressie niet toelaat om, zoals SEM, complexe effectketens in zijn geheel in rekening te brengen werden een aantal deelhypothese vooropgesteld (Tabel 4; let wel, dit zijn formele beschrijvingen van de werkhypothese, de uiteindelijke geoptimaliseerde modellen worden later toegelicht).

Deze hypothesen werden getoetst aan de hand van General Linear Mixed Models (GLM). De relatie tussen verklarende variabelen en afhankelijke variabelen wordt hierbij beschreven aan de hand van een lineaire vergelijking. Hierbij wordt rekening gehouden met het feit dat de verschillende OMES segmenten (of vogelgebieden) bemonsterd werden in dezelfde jaren en dat in verschillende jaren dezelfde OMES segmenten werden bemonsterd. We willen dus eigenlijk jaar (of maand) en gebiedseffecten die niet gerelateerd zijn tot de variabelen waarin we geïnteresseerd zijn wefilteren. Deze tijds- en plaatsafhankelijke variatie wordt in rekening gebracht aan de hand van random variabelen in de analyses. Alle analyses zijn uitgevoerd in R (R Core Team, 2018).

Tabel 4: Overzicht van de deelhypothese die getest werden met lineaire regressies.

Hypothese	Vooropgesteld Model	Vraagstelling
H1	Wintertaling ~ benthos + (1 Jaar) + (1 OMES)	Worden aantallen wintertaling bepaald door densiteit benthos (oligochaeten)?
H2	Benthivore vis ~ BOD + zuurstof + (1 Jaar) + (1 OMES)	Wordt de biomassa van benthivore vis verklaard door BOD en/of zuurstof?
H3	Hyperbenthos ~ BOS + zuurstof + (1 Jaar) + (1 OMES)	Wordt de biomassa van Hyperbenthos verklaard door BOD en/of zuurstof?
H4	Benthos ~ BOD + Hyperbenthos + Benthivore Vis + (1 Jaar) + (1 OMES)	Wordt de densiteit van Benthos (oligochaeten) verklaard door BOD en/of Benthivore vis en/of Hyperbenthos?

3.2 Resultaten

3.2.1 Verkennende analyses

In Figuur 24 zien we het tijdsverloop van de verschillende gebruikte datareeksen. BOD en zuurstof vertonen een quasi invers patroon en illustreren zeer goed de trofische shift die is gebeurd tussen 2005 en 2008, met vrij stabiele waarden in de periode voor en na de shift, en een plotse verandering daartussen. Benthivore vis en hyperbenthos worden beiden algemener in de bestudeerde periode maar volgen een ander temporeel patroon. Benthos en wintertaling ten slotte, vertonen een duidelijke daling in de bestudeerde periode, ook elk met een specifiek verloop. Deze figuren op basis van strikt geselecteerde en niet eerder samen gebrachte data bevestigen grotendeels de bestaande ideeën over de ecosysteemshift.

Na controle van de distributie van de data bleek dat een log-transformatie aangewezen was voor alle variabelen. We gebruikten de log-transformatie zoals voorgesteld door (MCCune & Grace, 2002). Daarbij geldt:

$$x_{tr} = \log(x + d) - c$$

waarbij

x_{tr} = de getransformeerde waarde van x

$c = \text{Int}(\log(\text{Min}(x)))$

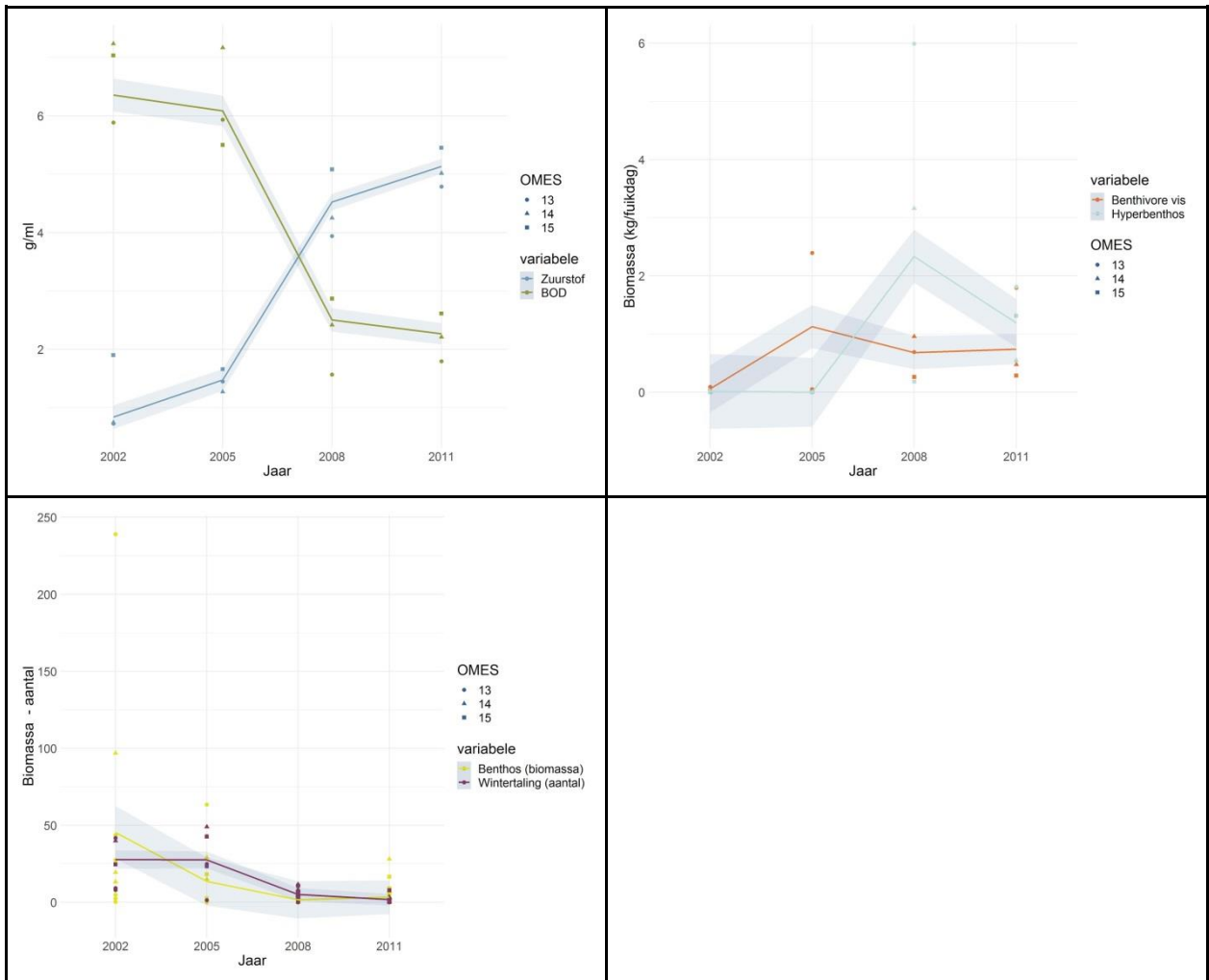
met $\text{Int}()$ het integer (geheel) deel van een getal

$\text{Min}()$ het minimum van alle waarden groter dan 0

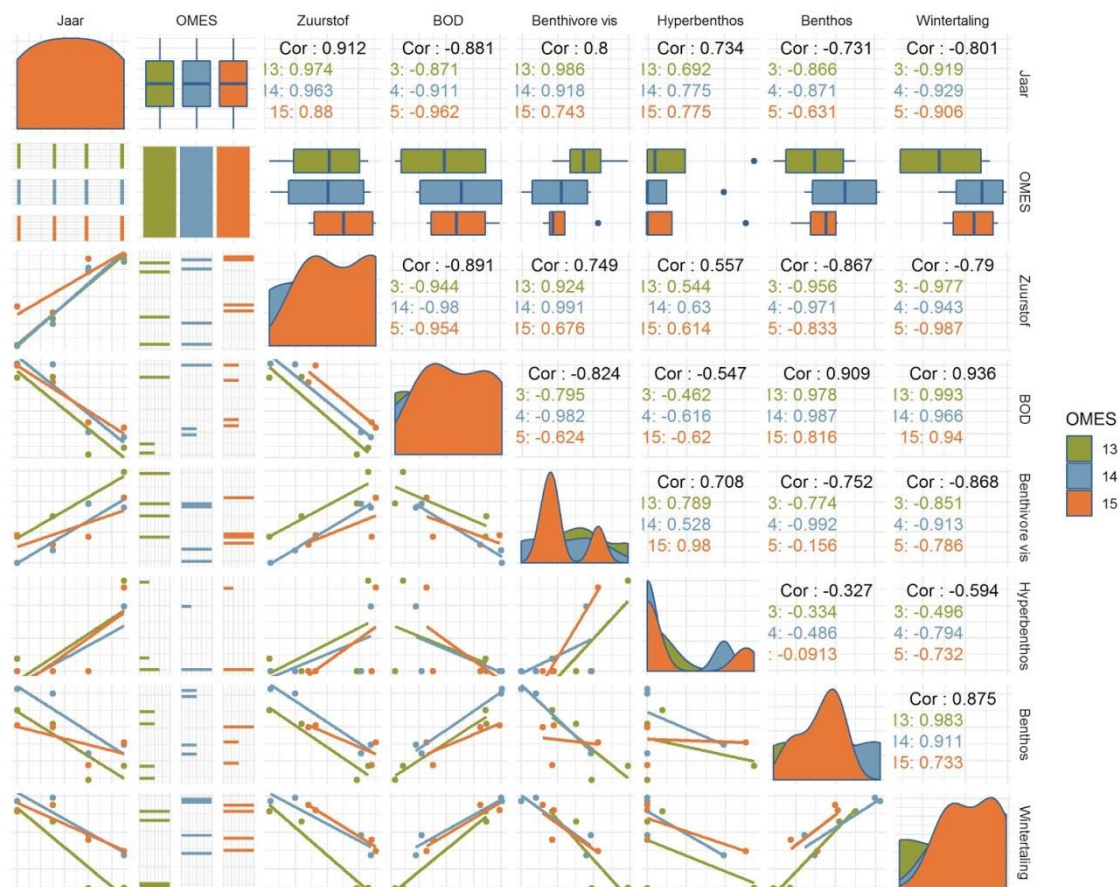
$d = \exp(c)$.

De distributies van de getransformeerde variabelen staan weergegeven in bijlage 3, Figuur 49.

Vooraleer de verdere analyses aangevat kunnen worden willen we weten in hoeverre de tijdspatronen gelijklopend zijn voor de drie geselecteerde OMES segmenten, met andere woorden, hoe verantwoord is het deze drie segmenten als één zone te beschouwen en als "ruimtelijke replica's"? In de linker kolom van Figuur 25 zien we dat de jaarpatronen voor alle variabelen heel gelijklopend zijn voor de verschillende OMES segmenten. De drie OMES segmenten zijn dus op een gelijkaardige manier veranderd doorheen het bestudeerde tijdsvenster wat het samen nemen ervan in de analyses rechtvaardigt.



Figuur 24: Grafische weergave van het temporeel patroon voor de beschikbare data. Boven links: BOD en zuurstof, boven rechts: benthivore vis en hyperbenthos, onder links: benthos en wintertaling. Data voor de verschillende bestudeerde OMES segmenten worden apart getoond.



Figuur 25: Correlatiematrix voor de beschouwde variabelen uitgezet per OMES segment.

Uit Figuur 25 blijkt dat voor verschillende van de hypothesen in Tabel 4 de verklarende variabelen sterk gecorreleerd zijn. Dit blijkt ook uit de VIF's in Tabel 6. Vooral de sterke correlaties van zuurstof, benthivore vis en hyperbenthos met BOD zijn een probleem. Om deze variabelen toch zinvol in één model te gebruiken werden de residuele waarden van zuurstof, benthivore vis en hyperbenthos ten opzichte van BOD bepaald en in de respectievelijke modellen gebruikt (modellen voor H2, H3 en H4). De residuen zijn per definitie niet gecorreleerd met BOD.

3.2.2 Lineaire regressie

De resultaten van de lineaire regressies staan in Tabel 5. We bespreken hieronder de modeleigenschappen en analyse resultaten per deelhypothese cf. Tabel 4.

3.2.2.1 Hypothese 1: wintertaling versus benthos

Het model voor deze analyse was:

$$lmer(Wintertaling_log \sim benthos_log + (1|Jaar) + (1|Gebied)).$$

De ruimtelijke resolutie die hier gebruikt werd was niet OMES zone maar vogeltelgebied (Gebied). Voor de benthos biomassa werd het gemiddelde genomen van de bemonsterde punten binnen elk vogeltelgebied. De analyse toont aan dat er een significant verband is tussen de aantallen wintertaling en de biomassa aan benthos (Tabel 5, $p=0.011$).

Tabel 5: Analyseresultaten van de lineaire regressies voor de vier hypothesen.

Model en onafhankelijke variabelen	coefficient	Std. Error	Sum of Squares	F waarde	p waarde
H1: Wintertaling ~ Benthos					
Intercept	4.66	0.79			
Benthos	0.24	0.09	3.86	7.23	0.011
H2: Benthivore vis ~ BOD + Resid(Zuurstof)					
Intercept	5.52	1.33			
BOD	-1.85	0.56	5.71	10.72	0.069
Resid(Zuurstof)	3.35	1.22	4.04	7.59	0.026
H3: Hyperbenthos ~ BOD + Resid(Zuurstof)					
Intercept	9.94	0.79			
BOD	-4.87	0.48	54.23	103.29	<0.001
Resid(Zuurstof)	-0.54	0.75	0.28	0.53	0.49
H4: Benthos ~ BOD + Resid(Benthivore vis) + Resid(Hyperbenthos)					
Intercept	-2.62	1.00			
BOD	3.81	0.62	112.16	37.68	0.009
Resid(Benthivore vis)	-0.53	0.24	15.29	5.14	0.036
Resid(Hyperbenthos)	0.54	0.28	10.97	3.68	0.060

3.2.2.2 Hypothese 2: benthivore vis versus BOD+zuurstof

Het uiteindelijke model was:

$$lmer(benthivIS_log \sim BOD_log + zuurstof_log_resid + (1|Jaar) + (1|OMES))$$

Zoals aangegeven in paragraaf 3.2.1 werd er gewerkt met residuele waarden van zuurstof ten opzichte van BOD om rekening te houden met de sterke correlatie tussen deze twee variabelen. De analyse toont aan dat er een marginaal significant negatief effect was van BOD op het voorkomen van benthivore vis ($p=0.069$). De residuele variatie van zuurstof was significant positief gerelateerd aan het voorkomen van benthivore vis ($p=0.026$).

Tabel 6: Overzicht van de Variance Inflation Factors (VIF) voor de multiële regressiemodellen (H2/H3, H4). Voor elk model worden ook de VIF's getoond voor de verklarende variabelen in het uiteindelijke model (met residuele effecten).

Model en onafhankelijke variabelen	VIF
<i>Benthivore vis (of Hyperbenthos) ~ BOD + Zuurstof</i>	
Organische belasting (BOD)	4.85
Zuurstof	4.85
<i>Benthivore vis (of Hyperbenthos) ~ BOD + Resid(Zuurstof)</i>	
Organische belasting (BOD)	1
Residuelen Zuurstof	1
<i>Benthos ~ BOD + Benthivore vis + Hyperbenthos</i>	
Organische belasting (BOD)	14.87
Benthivore vis	5.26
Hyperbenthos	13.45
<i>Benthos ~ BOD + Resid(Benthivore vis) + Resid(Hyperbenthos)</i>	
Organische belasting (BOD)	1.00
Residuelen Benthivore vis	1.02
Residuelen Hyperbenthos	1.02

3.2.2.3 Hypothese 3: Hyperbenthos versus BOD+zuurstof

Het model voor Hyperbenthos is opgebouwd uit dezelfde verklarende variabelen als het model voor benthivore vis. Er gelden dus dezelfde beperkingen (vanwege sterke correlaties tussen verklarende variabelen) en er werd opnieuw gekozen om voor zuurstof de residuele waarden in het model te gebruiken. Het uiteindelijke model was dus:

$$lmer(Hyperbenthos_log \sim BOD_log + zuurstof_log_resid + (1|Jaar) + (1|OMES))$$

Het resultaat van de analyse is verschillend van dat voor benthivore vis. De biomassa van hyperbenthos wordt sterk negatief bepaald door BOD ($p < 0.001$). Er is geen additioneel effect meer van zuurstof.

3.2.2.4 Hypothese 4: Benthos versus benthivore vis+hyperbenthos

Dit laatste model test alle verklarende variabelen uit Figuur 23 die een rol kunnen hebben gespeeld bij de sterke daling in de benthosdensiteiten in de Zeeschelde (BOD, benthivore vis, hyperbenthos). Net als bij de eerdere multiële regressiemodellen zijn de verklarende variabelen onderling sterk gerelateerd (Figuur 25, Tabel 6). We gebruikten daarom de residuelen van benthivore vis en hyperbenthos ten opzichte van BOD in het finale model, dat er als volgt uit ziet:

$$lmer(Benthos_log \sim BOD_log + benthivIS_resid + Hyperbenthos_resid + (1|Jaar) + (1|OMES))$$

Uit de analyse blijkt dat er een vrij sterk positief effect is van de BOD op biomassa van benthos ($p = 0.009$). Daarnaast is er ook een significant negatief effect van de biomassa benthivore vis ($p = 0.036$). Ten slotte is er van hyperbenthos een marginaal positief significant effect op benthos ($p = 0.06$).

3.3 Discussie

De ecosysteemshift heeft niet over het ganse traject van de Zeeschelde dezelfde effecten en patronen tweegebracht. Ten eerste is de levensgemeenschap van de Zeeschelde niet homogeen over haar verloop; ze verandert van samenstelling van het binnenland naar de kust, onder andere als gevolg van de zoutgradiënt. De effecten van de ecosysteemshift zijn dus per definitie anders naar gelang de plaats in het estuarium. Ten tweede past de beschrijving van een omslag van een zuurstofloos, visloos, garnaalloos en wormenrijk systeem naar net het omgekeerde, veruit het best op het deel van de Zeeschelde rond de monding van de Rupel. In de andere zones was eerder al iets meer (semi-) aquatische fauna aanwezig (bv. Cuveliers et al., 2007). Het sterk vervuilde water van de Rupel was jarenlang verantwoordelijk voor een “zuurstofloze prop” in de Zeeschelde rond de Rupelmonding, terwijl meer stroomop- of stroomafwaarts de condities al net iets beter waren. Deze studie integreert voor het eerst data specifiek voor deze zone rond de Rupelmonding, waarin de ecosysteemshift het meest extreem was. Bovendien werden daarbij nooit eerder gebruikte historische databronnen van het INBO aangesproken (bv. hyperbenthos, aanvullende visdata, etc...).

Deze studie heeft niet als doel de trends voor de verschillende aangehaalde soortgroepen te beschrijven. Dit is het onderwerp van bestaand en toekomstig werk (bv. Van Ryckegem et al., 2015). Deze studie wil ook verder gaan dan louter de temporele trends voor de verschillende groepen en omgevingsvariabelen naast elkaar te leggen. De ecosysteemshift was een dermate drastische gebeurtenis dat een dergelijke vergelijking zonder twijfel zeer veel significante correlaties zou opleveren omdat nu eenmaal alles gelijktijdig veranderde. Dit draagt echter weinig nieuwe kennis bij net doordat alles tegelijk gebeurde en er geen onderscheid kan gemaakt worden tussen het belang van deze of gene correlatie. Het is met andere woorden onduidelijk welke componenten van het ecosysteem elkaar rechtstreeks beïnvloeden, onrechtstreeks beïnvloeden of een gelijkaardige trend vertonen doordat ze afhankelijk zijn van dezelfde causale factoren. Wij gingen daarom tussen de wirwar aan patronen op zoek naar sporen van unieke effecten en relaties tussen belangrijke actoren in de ecosysteemshift.

Een eerste resultaat dat we vonden is dat de overwinterende aantallen van wintertaling gelinkt kunnen worden aan de biomassa van benthos. Dit is bijzonder want onze analyse maakt abstractie van de verschillen tussen jaren of locaties. Wintertaling is eerder aangepast aan het foerageren op zaden maar in de Zeeschelde bleek in het verleden dat de zaadvoorraad op het slik bijzonder laag is (Hendrickx, 1997). Eerdere studies legden daarom al de link met oligochaeten, onder andere door het verband tussen de plaats waar wintertaling op het slik foerageert en de spreiding van oligochaeten op het slik (Van Ryckegem et al., 2006 en referenties hierin). Deze studie bevestigt dit verband voor de periode tijdens de ecosysteemshift wat nog meer krediet geeft aan de idee dat de afname in benthosbiomassa en de afname in overwinterende wintertalingen met elkaar verband houden.

Over de reden waarom vis en hyperbenthos dit deel van de Zeeschelde weer gekoloniseerd hebben na de ecosysteemshift bestaat er minder discussie. Beide organismegroepen kunnen niet voorkomen als de concentratie zuurstof onder een bepaalde grens gaat. De positieve correlatie tussen zuurstof en vis is dus evident. Voor hyperbenthos is er een sterk negatief verband met de BOD of de biologische zuurstofvraag, een maat voor de organische vuilvracht in het water. Deze is zeer sterk gecorreleerd met zuurstof, en dus is het geen verrassing dat deze ook als sterke verklarende variabele uit de analyse komt. Toch is er een verschil tussen beiden: de BOD is een variabele met een continue range in de Zeeschelde. Zuurstof daarentegen is afwezig (waarde 0) voor het deel van de range van BOD waarin BOD zeer hoog is, en begint pas te stijgen wanneer BOD voldoende laag is. Hoewel zuurstof dus een iets andere en vanuit ecologisch standpunt ook juistere voorspellende kracht zou moeten hebben, blijkt dat in de onderzochte jaren beide variabelen vergelijkbaar, weliswaar geïnverteerd dus met een ander teken, veranderen doorheen de tijd en dus grotendeels inwisselbaar zijn als verklarende variabele.

Ten slotte vonden we bevestiging voor de idee dat zowel een daling van de vuilvracht (met als proxy: BOD) als een toename van benthivore vis verantwoordelijk zijn voor de sterke afname van benthosbiomassa in de Zeeschelde rondom de Rupelmonding. Omdat de aanwezige soorten oligochaeten (vnl. *Limnodrilus hoffmeisteri*) weinig gevoelig zijn aan lage zuurstofconcentraties (Reynoldson, 1987; Speybroeck et al., 2014) is de primaire invloed van de variabele BOD in dit geval waarschijnlijk vooral de voedselvoorziening (*bottom-up*). Grote vrachten organisch afval komen uiteindelijk op de slikken terecht en zijn het voornaamste voedsel voor de wormen. Toch vinden we ook een effect van vis op benthosbiomassa, waarbij het effect van BOD op vis werd weggefilterd, wat suggereert dat er ook een versterkend *top-down*-effect was dat de wormen verder deed afnemen. We vonden geen aanwijzingen voor een *top-down*-effect van hyperbenthos op wormen, zoals eerder uit deze studie wel voor de huidige toestand blijkt. Het marginaal positief verband tussen garnalen en benthos suggereert dat beide groepen eerder door dezelfde achterliggende factoren worden beïnvloed, of dat garnalen net positief selecteren voor gebieden waar veel benthos aanwezig is. Garnaalachtigen hebben dus waarschijnlijk niet bijgedragen aan de ecosystemeshift, maar zijn nadien mogelijk wel, samen met een aantal kleine vissoorten, de belangrijkste groep geworden die foerageert op de oligochaeten en zo de zomergroei van de wormenpopulatie onderdrukt.

4 Isotopenonderzoek: in kaart brengen van trofische links tussen organismen in de Zeeschelde.

4.1 Inleiding: stabiele isotopen en ecologie

Isotopen zijn atomen van hetzelfde element met een verschillend aantal neutronen. De identiteit van een element, en dus zijn plaats in de tabel van Mendeljev, wordt bepaald door het aantal protonen (wat gelijk staat aan het atoomnummer) en is hetzelfde voor verschillende isotopen van hetzelfde element. Doordat het aantal protonen (en daarmee ook het aantal elektronen) in elk isotoop hetzelfde is, hebben ze dezelfde chemische eigenschappen. De extra neutronen in het atoom veranderen wel de atoommassa (dit is de som van protonen en neutronen) en daardoor de fysische eigenschappen van het atoom. Een goed voorbeeld hiervan is het voorkomen van deuterium (^2H), de zwaardere isotoop van waterstof (^1H). Beide isotopen kunnen op dezelfde manier chemisch binden met zuurstof en zo water vormen. Bij evaporatie van water zal echter vooral water met het lichte isotoop van waterstof verdampen en blijft er relatief meer “zwaar water” met deuterium achter. Bij condensatie gebeurt net het omgekeerde en zal eerst water met het zwaardere deuterium weer vloeibaar worden, bij neerslag dus. Als gevolg hiervan zien we op het continent een afnemende gradiënt in het voorkomen van deuterium van de oceaan naar het binnenland, en volgens de overheersende windrichting.

Isotopen bestaan uit stabiele isotopen en radio-isotopen; deze laatste kunnen door het uitzenden van straling veranderen in andere elementen en zijn dus niet stabiel. Voor koolstof vinden we in de natuur drie isotopen: ^{12}C maakt ongeveer 99% uit van alle koolstof op aarde, ongeveer 1% komt voor als het stabiele isotoop ^{13}C , en ten slotte is er het niet-stabiele radio-isotoop ^{14}C (ongeveer 1 C atoom op 10^{12} is een ^{14}C). Radio-isotopen kunnen gebruikt worden in ecologisch onderzoek bij specifieke vragen naar koolstofstromen (trofische relaties) omdat we ze vrij gemakkelijk kunnen aanmaken en toedienen aan een ecosysteem. Er zijn echter ook risico's aan verbonden omdat ze schadelijke straling uitzenden en de analyse ervan is nog duur. Stabiele isotopen zijn een veilig en goedkoper alternatief en veruit de meest gebruikte methode in huidig trofisch onderzoek.

Stabiele isotopen worden tegenwoordig heel vaak gebruikt in ecologisch onderzoek naar trofische relaties (Vander Zanden et al., 2015). Niet alleen is het een snelle en minder intensieve manier om aan deze gegevens te geraken dan door dieetanalyses (maaganalyses, observaties,...); het geeft ook veel preciezer weer wat het belang van een voedselbron voor een soort is, omdat je echt kijkt hoe de voedselbron bijdraagt aan het metabolisme en de groei van een soort. Het gebruik ervan berust op de fysische eigenschappen van isotopen. Laten we als voorbeeld stikstof (^{14}N) nemen. Dit element is algemeen aanwezig in levende wezens omdat het onderdeel is van aminozuren, de bouwstenen van proteïnen. Wanneer organismen elkaar opeten treedt er zogenaamde fractionering op: het herschikken van de verhoudingen tussen isotopen (hier de verhouding tussen het “zware” ^{15}N en ^{14}N). Fractionering van stikstof gebeurt tijdens het deamineren en transamineren van aminozuren waarbij ^{14}N aminogroepen preferentieel afgestoten worden om metabolieten te vormen, terwijl een in ^{15}N aangerijkte stikstofvoorraad achter blijft en gebruikt wordt als bouwstenen in het lichaam. Als gevolg hiervan neemt de verhouding $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ vrij snel toe in de voedselketen en kan gebruikt worden als “trofometer”, een manier om trofische niveaus in een voedselweb te onderscheiden.

Om op een eenvoudige en handige manier de hoeveelheid van een isotoop uit te drukken wordt de delta notatie gebruikt. Daarbij wordt de verhouding van de zware isotoop ten opzichte van de nominaatvorm van het isotoop uitgedrukt relatief ten opzichte van dezelfde verhouding in een standaard. Voor stikstof ziet dit er bijvoorbeeld als volgt uit:

$$\delta^{15}N(\text{‰}) = \frac{(R_{\text{staal}}/R_{\text{standaard}})}{R_{\text{standaard}}} \times 1000$$

met $R = {}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}$.

Omdat de fractie van het zware ${}^{15}\text{N}$ in luchtstikstof zeer constant is (0.366%) wordt lucht gebruikt als referentie ($R_{\text{standaard}}$). Voor koolstof wordt een versteend fossiel gebruikt als de referentie (Pee dee belemnite, of tegenwoordig ook andere vergelijkbare belemnieten). Omdat de $\delta^{15}\text{N}$ ratio kleine getallen oplevert wordt deze vermenigvuldigd met 1000 en de corresponderende waarde uitgedrukt in promille (‰).

Bij onderzoek naar trofische relaties wordt doorgaans gebruik gemaakt van twee stabiele isotopen; ${}^{13}\text{C}$ en ${}^{14}\text{N}$. De eerste verandert niet veel bij overgang van het ene trofische niveau naar het andere (beperkte fractionering, gemiddeld ca. +1 ‰) en reflecteert dus vrij precies de voedselbron. De tweede neemt vrij snel toe doorheen een trofische keten en kan daardoor discrimineren tussen verschillende trofische niveaus (zie eerder). De $\delta^{15}\text{N}$ neemt gemiddeld met ca. 3.4 ‰ toe bij elke trofische stap, al is er nogal wat variatie mogelijk (Vander Zanden et al., 2015). Om bij een studie naar het dieet van een predator tussen twee voedselbronnen te kunnen discrimineren moeten deze bronnen zelf onderling voldoende verschillen; anders kan deze methode geen onderscheid maken. Als extra vrijheidsgraad voegden wij daarom ook nog ${}^2\text{H}$ toe aan de lijst gemeten stabiele isotopen. De $\delta^2\text{H}$ in een organisme wordt bepaald door zijn dieet (en dus niet door het water dat hij drinkt of opneemt uit zijn omgeving) en verschilt doorgaans sterk tussen terrestrische en aquatische bronnen (Estep & Dabrowski, 1980; Finlay et al., 2010).

De logica en principes achter het gebruik van stabiele isotopen in trofisch onderzoek mogen dan helder zijn, toch zijn er een aantal complicerende factoren. Om te beginnen is er een tijdsverschil tussen het moment waarop een organisme start met een bepaald dieet en het ogenblik waarop de isotopensamenstelling van de lichaamsweefsels in evenwicht zijn daarmee. De snelheid waarmee de verandering in het lichaam gebeuren, vertoont een sterke relatie met biomassa en is sneller voor kleine dan voor grote organismen (Trudel et al., 2011). Verder verloopt dit proces sneller bij dieren die groei ondergaan. Wanneer dieren volwassen zijn is het metabolisme verantwoordelijk voor de isotopenveranderingen in lichaamsweefsels, maar deze verlopen veel trager dan bij groeiende organismen (bv. Guelinckx et al., 2007). Ten slotte verschilt de snelheid waarmee de isotopenverhoudingen in evenwicht komen met het dieet voor verschillende lichaamsweefsels. Een dieetverandering leidt bijvoorbeeld meestal veel sneller tot een veranderd isotoopsignaal in lever dan in spierweefsel.

In een complex ecosysteem zoals de Zeeschelde spelen ook nog andere factoren een rol. Zo vertoont ${}^{13}\text{C}$ een sterke estuariene gradiënt: het DIC (dissolved organic carbon) in zeewater is rijker aan de zware isotoop dan zoet water en de verhouding wijzigt geleidelijk doorheen het estuarium (Fry, 2013). We vinden dit meestal terug in alle bovenliggende trofische niveaus. Voor soorten die migreren of een lang traject van het estuarium exploiteren kan deze gradiënt de interpretatie van $\delta^{13}\text{C}$ bemoeilijken, al biedt het ook kansen bv. bij het bepalen van de afkomst van een vis. Verder hebben ecosystemen op onze breedtegraad een uitgesproken seizoenaliteit, met een hoge productie in de zomer en lage productie in de winter. Daarmee samenhangend verschilt de nood en de beschikbaarheid van voedsel (lees: elementaire bouwstenen, chemische elementen dus) doorheen het jaar. De jaarlijkse algenbloei in de Zeeschelde in het voorjaar en de zomer gebruikt op korte tijd een grote hoeveelheid van het biobeschikbare stikstof onder de vorm van ammonium (NH_4). Deze stikstofpoule is zeer groot en wordt doorlopend aangevuld. Daardoor is er voor een groot deel van het jaar geen effect van algengroei op de

$d^{14}N$ van ammonium in de rivier. Dit verandert ten tijde van een algenbloei: door selectieve opname van de lichte isotoop kan de $d^{14}N$ van ammonium op enkele weken soms stijgen met 40 ‰! (De Brabandere, 2005). Wanneer het signaal van de bouwstenen zo sterk verandert, zal dit ook in de primaire producenten (bv. fytoplankton in dit geval) gebeuren, nadien ook in de primaire consumenten zoals het zoöplankton, en zo weer verder. Overigens is niet enkel fytoplankton een grote gebruiker van ammonium; in een estuarium gebeuren op grote schaal chemische omzettingen in de stikstofcyclus waarbij ammonium verdwijnt door nitrificatie. Vroeger, toen de Schelde nog een groot deel van het jaar anoxisch was, gebeurde ook op grote schaal denitrificatie (Brion et al., 2008).

4.2 Materiaal en methode

Het doel van deze studie is een hypothese maken van de trofische structuur van de levensgemeenschap in de Zeeschelde. Onder meer omwille van ruimtelijke variatie in het voedselweb wordt in dit project consequent de focus gelegd op één traject, namelijk de zone rondom de monding van de Rupel, zo ook voor dit onderzoeksluik. Omdat er daarnaast ook belangrijke temporele variatie in de levensgemeenschap is (grote migraties doorheen het jaar), beslisten we om niet één maar twee grote staalnamecampagnes te doen, een eerste eind mei en een tweede in augustus. Het voedselweb verschilt enigszins tussen beide periodes en er worden andere trofische links verwacht. Omdat we weten dat sommige belangrijke soorten op en af het estuarium migreren hopen we zo ook een extra kans te hebben om deze soorten beter in (isotopen)evenwicht met hun omgeving aan te treffen. Zoals eerder beschreven is er inherent grote variatie doorheen de tijd mogelijk in het isotopsignaal van de primaire producenten en primaire consumenten. Deze veranderingen worden met een aanzienlijk en wisselend tijdsverschil opgepikt – of eerder, uitgemiddeld – op hogere trofische niveaus. Dit is vaak een probleem bij de interpretatie van de resultaten bij *snapshot*-gemeenschapsanalyses met stabiele isotopen: deze gaat immers uit van de premisse dat de isotopensamenstelling van alle componenten in evenwicht is. Dit kan leiden tot onoplosbare of niet eenduidige patronen of in het slechtste geval tot verkeerde conclusies over de onderlinge trofische relaties. Om ons zo goed mogelijk te wapenen tegen dergelijk scenario werd er voor de laagste en dus meest variabele componenten van het voedselweb frequent doorheen het jaar een staal verzameld, op dezelfde dag als de monitoring van de raai, voor de periode april – december 2018. Op die manier hopen we een beeld te krijgen van de temporele variatie van deze componenten en kunnen we deze mee in rekening brengen bij het opstellen van trofische hypothesen. Een overzicht van welke soorten er op welke data bemonsterd werden staat in Tabel 7.

4.2.1 Verzamelen van de stalen

Alle stalen zijn afkomstig van het slik, schor of de waterkolom van de Zeeschelde ter hoogte van de Notelaer, Bornem. Er werd telkens een aangepaste techniek of methode gebruikt die best geschikt was om een bepaalde soort of materiaal te verzamelen. Bladeren vrij van slibafzettingen en stof, en afkomstig van minstens drie verschillende exemplaren van dezelfde soort, werden gecombineerd tot één staal. SPM (*suspended particulate matter*) werd verkregen door een waterstaal te nemen ca. 10 cm onder de wateroppervlakte en ca. 5 m van de oever (water “heupdiep”), en dit te filteren over een vooraf gebakken en gewogen (450°C) Whatman GF/C filter. Indien zoöplankton op de filter aanwezig was werd dit onder een stereomicroscoop verwijderd. Microfytobenthos (MFB) werd verzameld door bij afgaand tij een dubbel gelaagd fijnmazig (63 μm) Nitex doek op het slik te leggen en nadien met een GF/C filter de bovenlaag af te schrapen. Deze methode gaat uit van het principe dat de algen in het slik verticaal migreren om aan hun lichtbehoefte te voldoen. Door ze te bedekken willen ze door het doek heen migreren en zullen aan de bovenzijde verschijnen. Op die manier scheiden we de algen van het slik en detritus. Filters met SPM en MFB werden op het terrein zongedroogd. CPOM (*coarse particulate organic matter*) werd verzameld door een hoeveelheid slik (toplaag: bovenste 5 cm) te zeven over een zeef met maaswijdte 250 μm . Uit de restfractie werden met een pincet kleine partikels (0,5 - 5 mm) organisch materiaal uitgepikt. Oligochaeten werden op dezelfde manier verzameld. Het uitpikken van

Oligochaeten gebeurde pas na 12-24 h zodat het spijsverteringskanaal leeg was. Bovendien werd bij het uitpikken van de wormen gecontroleerd of het spijsverteringskanaal effectief leeg was.

Tabel 7: Overzicht van het aantal bemonsterde exemplaren per soort en per datum.

Soort	Groep	16/01/2017	15/02/2017	13/03/2017	11/04/2017	15/05/2017	22/05/2017	24/05/2017	15/06/2017	18/07/2017	4/08/2017	11/08/2017	6/09/2017	4/10/2017	7/11/2017	7/12/2017	4/01/2018	Totaal
		<i>Chaoborus</i>	Invertebraten			1												
<i>Corophium lacustre</i>	Invertebraten				1					3			1					5
<i>Corophium volutator</i>	Invertebraten		1	1														2
<i>Crangon crangon</i>	Invertebraten					8	5		16	7	13	14	25	36	4			128
<i>Cyathura carinata</i>	Invertebraten	1																1
<i>Eriocheir sinensis</i>	Invertebraten				4	2	27			2	31	2		4	2		1	75
<i>Gammarus tigrinus</i>	Invertebraten			5	2				2									9
<i>Gammarus zaddachi</i>	Invertebraten	6	5	3	3	8	20		4	21		10	1				2	81
<i>Marenzelleria neglecta</i>	Invertebraten														1			1
<i>Neomysis integer</i>	Invertebraten			1	1	14	10		6	6				1			7	46
Oligochaeta	Invertebraten			1	1		2		1	1		1	1	1	1		1	11
<i>Palaemon longirostris</i>	Invertebraten				9	37					16	6	16	37	2			123
<i>Piscicola geometra</i>	Invertebraten			1														1
<i>Rhithropanopeus harrisi</i>	Invertebraten														3			3
detritus	Overige						4		2				2	2			2	12
MFB	Overige				1	2		1	2	2		2	5	2		2		22
SPM	Overige				1			2	1	1		2	1	1		1	1	11
Zooplankton	Overige			1	1	1	1		1	1		1	1	1	1		1	11
Grote brandnetel	Planten						1											1

Reuzenbalsemien	Planten															1	1	2		
Riet	Planten															1	1	2		
Wilg	Planten															3	3	6		
Baars	Vis																1	1		
Baars sp	Vis															1		1		
Blankvoorn	Vis															1	2	3	2	8
Blauwbandgrondel	Vis															1	1	1		3
Bot	Vis	1				1	10	18		6	1	1						1	39	
Brakwatergrondel	Vis	10		7		7	1	7	4	4	2	3	8	8	20			3	84	
Brasem	Vis	5	8	1				4	6		1	19	1	1	1			2	49	
Dikkop	Vis																2	5	7	
Driedoornige stekelbaars	Vis					1											1		2	
Dunlipharder	Vis																	1	1	
Fint	Vis									3	1							6	10	
Giebel	Vis									1		1						2	4	
Haring	Vis																2	2	4	
Haring sp	Vis																3		3	
Karper	Vis									1	3							2	6	
Kolblei	Vis																8	9	17	
Meerval	Vis										1							2	3	
Paling	Vis									2	14							13	29	
Rietvoorn	Vis																1		1	
Snoekbaars	Vis										4							3	11	18
Spiering	Vis											4	6					8	18	

Sprot	Vis	1	1
Tong	Vis	2	2
Vetje	Vis	1	1
Zeebaars	Vis	5	5
Wilde eend	Vogels	1	1

Zoöplankton werd verzameld door, volgens een met SPOM vergelijkbaar protocol, met een planktonnet water te zeven tot een voldoende hoeveelheid zoöplankton gevangen was. Dit staal werd eerst in 1 l Scheldewater opgelost, waarna na ongeveer vijf minuten de toplaag (met het meeste zoöplankton, SPOM is ondertussen grotendeels bezonken) werd afgeschept, vervolgens aan 1 l gefilterd (Whatman GF/F) toegevoegd en 12 h koel bewaard zodat de darminhoud van het zoöplankton leeg was. Daarna werd het zoöplankton afgezeefd en met een pincet uitgepikt tot een zuiver zoöplankton staal werd bekomen. Ongewervelden (aasgarnalen, garnalen, krabben, overige Crustacea, etc...) werden verzameld met een steeknet (maaswijdte 0.5 cm) bij laag water. De dieren werden gedurende 12 h bewaard in potten gevuld met gefilterd Scheldewater (zie hoger) en nadien in het labo uitgepikt. Juvenile vis werd verzameld met een steeknet en in een koelbox naar het labo vervoerd. Grotere vissen werden verzameld met dubbele schietfuiken en kooifuiken geplaatst langs de laagwaterlijn op de Notelaer. Indien beschikbaar werd van elke soort en voor elke verschillende grootteklasse (rekening houdende met ontogenetische dieetveranderingen) binnen een soort 5 exemplaren verzameld en in een koelbox naar het labo vervoerd. Ook een jonge wilde eend die accidenteel in de fuik belandde en verdronk werd bewaard voor analyse. Alle verzamelde stalen werden meteen bij aankomst in het labo of na een hierboven beschreven voorbereidende tussenstap diepgevroren bij -20°C en bewaard voor latere verwerking.

Voor kleine ongewervelden inclusief aasgarnalen, zoöplankton en Oligochaeta werd voor de analyse een (mengstaal van) volledig(e) dier(en) gebruikt. Wanneer mogelijk werd er echter voor gekozen om weefsels met verschillende metabolische snelheden te gebruiken (zie eerder). Voor garnalen (*Crangon*, *Palaemon*) werd spierweefsel uit de staart verzameld en hepatopancreasweefsel uit de thorax. Voor krabben werd spierweefsel uit de poot gebruikt en hepatopancreasweefsel uit het carapax. Voor alle vissen verzamelden we spierweefsel onder de dorsale vin, en leverweefsel. Voor de eend verzamelden we spierweefsel uit de borst, leverweefsel en enkele vleugel- en staartveren. Na deze stap werden alle stalen gedroogd in een droogoven bij 105°C voor 12h. Droge stalen werden handmatig vermalen met een vijzel tot een homogeen poeder bekomen werd. Gedroogde filters met te analyseren substraat en plantenmateriaal werden gehomogeniseerd met een kogelmaalmolen. Na deze stap bestond elk staal uit een droog, homogeen poeder.

De bepaling van de isotoopratio's gebeurde met een EA-IRMS massa spectrometer in het laboratorium van het *Department of Earth and Environmental Sciences* van de KULeuven. De resultaten worden weergegeven volgens de delta-schrijfwijze in promille (formule onder 4.1). Indien nodig geacht werden stalen vooraf aangezuurd (40µl 5% HCl) of werden de resultaten nadien gecorrigeerd voor vetgehalte. Afwijkende stalen werden opnieuw geanalyseerd (N=20) maar gaven onveranderlijk resultaten die sterk vergelijkbaar waren met de oorspronkelijke meting (SD ± 0.3% voor d¹³C en ± 0.2% voor d¹⁵N).

Om te testen voor verschillen in isotoopsignaal (d¹⁵N, d¹³C) tussen soort(groepen) gebruikten we *linear mixed effects modelling* van het package "nlme" in R (R Core Team, 2018). De isotoopwaarden werden gebruikt als afhankelijke variabele, de soort(groep) als *fixed effect*, en de datum als *random effect*. Eventuele correlaties in tijdspatronen tussen verschillende soorten(soortgroepen) werden getest met *Spearman rank* correlaties.

4.3 Resultaten

4.3.1 Temporele patronen

Hieronder volgt een bespreking van de temporele patronen voor een aantal basissoorten of basiscomponenten van het voedselweb, waarvoor temporele data beschikbaar zijn. We kiezen ervoor om deze thematisch gegroepeerd te bespreken omdat op die manier onderlinge relaties of net verschillen meteen duidelijk worden, en omdat dit de interpretatie van latere resultaten vereenvoudigt.

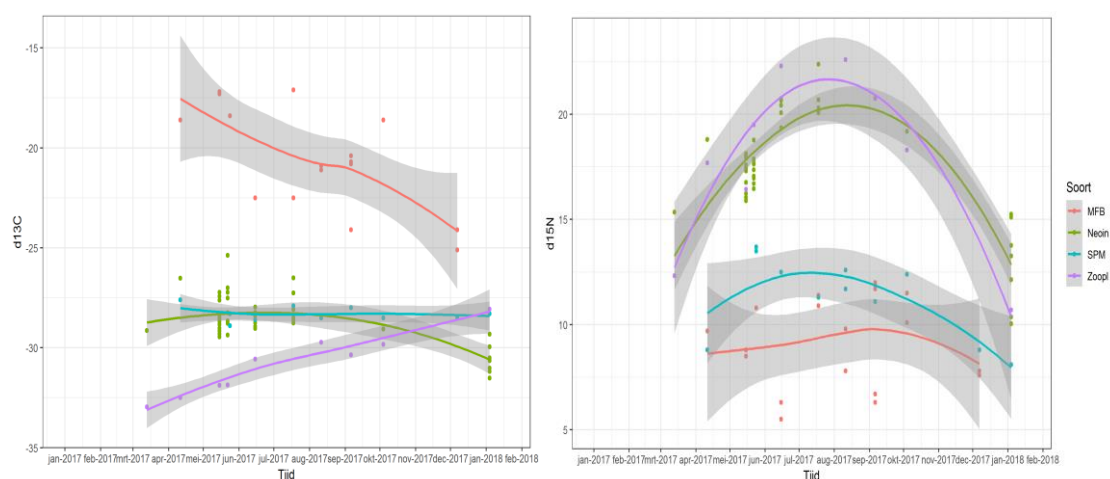
4.3.1.1 Aquatische basisbronnen van het voedselweb

Figuur 26 toont de resultaten voor $d^{13}C$ en $d^{15}N$ voor drie basiscomponenten van het aquatisch-pelagisch voedselweb en het benthische microfytobenthos (MFB). Het SPM, een mengeling van fytoplankton, zwevende organische stof en micro-organismen (maar zonder zoöplankton) vertoonde een vrij stabiel $d^{13}C$ signaal doorheen de tijd rond de -27,5 ‰. Dit materiaal in de waterkolom verschilt sterk van het meer aangerijkte microfytobenthos op het slik (Tabel 8). MFB vertoonde bovendien een continue daling van april tot december, met overigens veel tussentijdse variatie. Twee groepen grazende organismen voeden zich potentieel met MFB en/of SPM en worden beschouwd als belangrijke tussenliggende schakels naar hogere trofische niveaus in estuariene voedselwebben: zoöplankton en aasgarnalen (in dit geval *Neomysis integer*). Het $d^{13}C$ signaal ligt voor beide groepen dicht bij dat van SPM: voor *Neomysis* valt het er vrijwel mee samen en verschilt er statistisch niet van (Tabel 8), dat van zoöplankton was in het voorjaar ongeveer 5 ‰ verarmd ten opzichte van SPM en verschilt er globaal significant van, maar steeg doorheen het jaar wel geleidelijk tot vergelijkbare waarden.

Tabel 8: Resultaten van de Tukey test voor het model dat test voor soortverschillen in het $d^{13}C$ signaal voor aquatische basisbronnen (model $p < 0.001$). (legende met afkortingen: zie Figuur 26).

Contrast	estimate	sd	z-waarde	p-waarde
Neoin - MFB == 0	-83.461	0.4548	-18.353	<0.001
SPM - MFB == 0	-77.382	0.5500	-14.069	<0.001
Zoopl - MFB == 0	-103.543	0.5914	-17.507	<0.001
SPM - Neoin == 0	0.6079	0.5188	1.172	0.64
Zoopl - Neoin == 0	-20.082	0.5275	-3.807	<0.001
Zoopl - SPM == 0	-26.161	0.6401	-4.087	<0.001

Een ander beeld dient zich aan voor $d^{15}N$: beide grazers hebben een duidelijk aangerijkt signaal ten opzichte van MFB en SPM, tenminste in de zomer en herfst, maar veel minder of niet in voorjaar en winter. Het verschil tussen beide groepen seizoenen bedraagt ongeveer 10 ‰. De waarden voor zoöplankton en de aasgarnaal *Neomysis* zijn nagenoeg gelijk (Tabel 9). De waarden voor MFB en SPM zijn vrij variabel in de tijd; voor SPM zijn de waarden gemiddeld iets hoger.



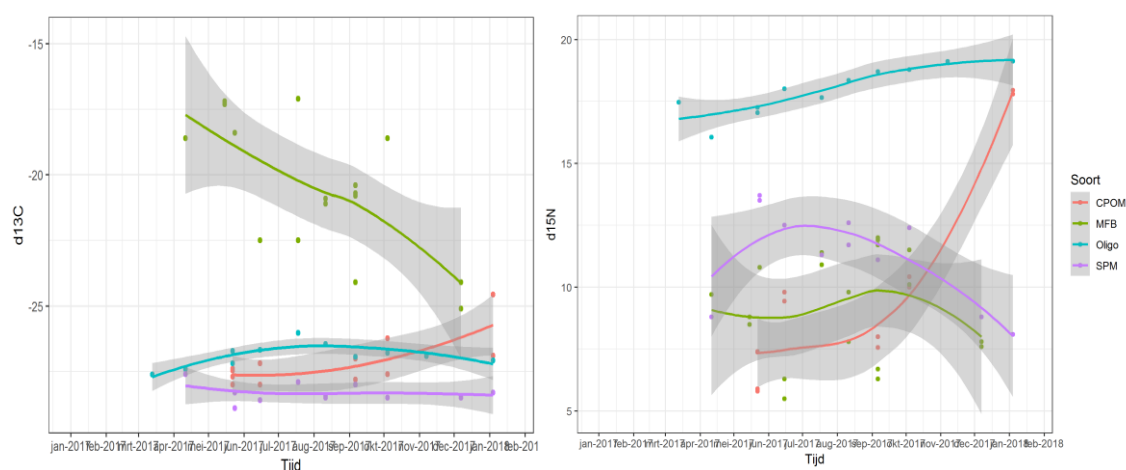
Figuur 26: Temporeel patroon voor $d^{13}\text{C}$ (links) en $d^{15}\text{N}$ (rechts) voor microfytobenthos (MFB), zwevende organische partikels (SPM), zoöplankton (Zoopl) en de aasgarnaal *Neomysis integer* (Neoin) in de Zeeschelde bij Bornem voor 2017.

Tabel 9: Resultaten van de Tukey test voor het model dat test voor soortverschillen in het $d^{15}\text{N}$ signaal voor aquatische basisbronnen (model $p < 0.001$). (legende met afkortingen: zie Figuur 26).

Contrast	estimate	sd	z-waarde	p-waarde
Neoin - MFB == 0	1.009.805	0.53796	18.771	<0.001
SPM - MFB == 0	233.816	0.60902	3.839	<0.001
Zoopl - MFB == 0	1.016.742	0.66325	15.330	<0.001
SPM - Neoin == 0	-775.989	0.63272	-12.264	<0.001
Zoopl - Neoin == 0	0.06937	0.60706	0.114	0.999
Zoopl - SPM == 0	782.926	0.73808	10.608	<0.001

4.3.1.2 Benthische basisbronnen van het voedselweb

De resultaten van de stabiele-isotopenanalyse voor benthische basiscomponenten staat in Figuur 27. SPM wordt als referentie mee opgenomen. De figuur voor $d^{13}\text{C}$ toont sterk aangerijkte waarden voor het microfytobenthos in vergelijking met de CPOM, SPM en oligochaeten. Het signaal voor oligochaeten is jaarrond vrij stabiel rond de -26.5‰ . Het is iets hoger dan dat voor CPOM en hiervan slechts marginaal verschillend (Tabel 10). Opnieuw een heel ander beeld voor $d^{15}\text{N}$: de drie basisvoedselbronnen SPM, MFB en CPOM hebben duidelijk lagere $d^{15}\text{N}$ waarden dan de oligochaeten (Tabel 11). Dit verschil bedraagt 5-10 ‰. Het signaal voor oligochaeten kent een lichte (ca. 2 ‰) maar consistente stijging overheen de onderzoeksperiode. De enige voedselbron met een gelijkaardige stijging is CPOM, maar het temporeel verloop verschilt duidelijk.



Figuur 27: Temporeel patroon voor $d^{13}C$ (links) en $d^{15}N$ (rechts) voor Oligochaeta (Oligo), microfytobenthos (MFB), zwevende organische partikels (SPM) en grof organisch materiaal op het slik (CPOM).

Tabel 10: Resultaten van de Tukey test voor het model dat test voor soortverschillen in het $d^{13}C$ signaal voor benthische basisbronnen (model $p < 0.001$). (legende met afkortingen: zie Figuur 27).

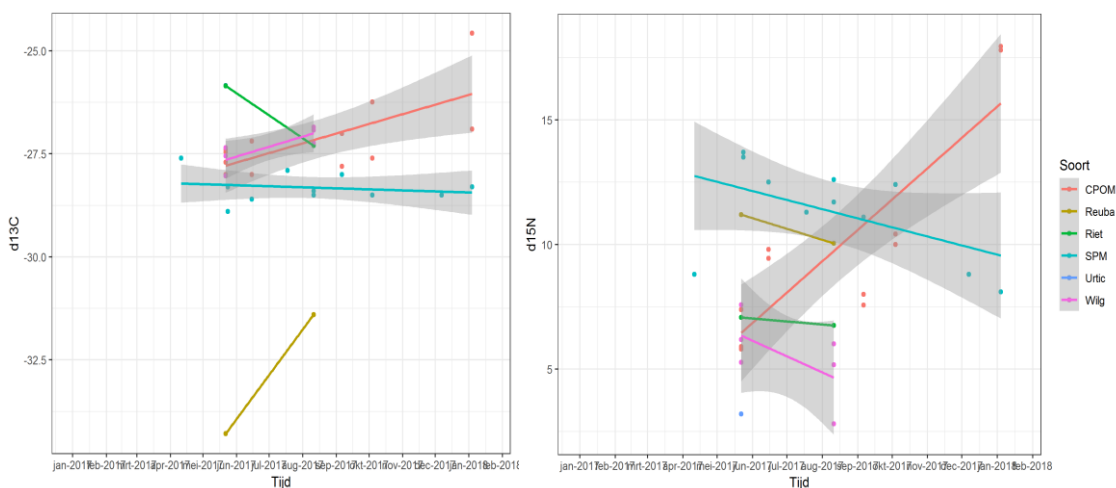
Contrast	estimate	sd	z-waarde	p-waarde
MFB - CPOM == 0	64.745	0.5463	11.851	<0.001
Oligo - CPOM == 0	0.1505	0.5461	0.276	0.9927
SPM - CPOM == 0	-12.484	0.5827	-2.143	0.1392
Oligo - MFB == 0	-63.240	0.5270	-12.000	<0.001
SPM - MFB == 0	-77.229	0.5027	-15.364	<0.001
SPM - Oligo == 0	-13.989	0.5637	-2.482	0.0625

Tabel 11: Resultaten van de Tukey test voor het model dat test voor soortverschillen in het $d^{15}N$ signaal voor benthische basisbronnen (model $p < 0.001$). (legende met afkortingen: zie Figuur 27).

Contrast	estimate	sd	z-waarde	p-waarde
MFB - CPOM == 0	-0.8084	0.8631	-0.937	0.784
Oligo - CPOM == 0	80.138	0.9102	8.804	<0.001
SPM - CPOM == 0	0.9049	0.9613	0.941	0.781
Oligo - MFB == 0	88.221	0.8463	10.425	<0.001
SPM - MFB == 0	17.133	0.8205	2.088	0.156
SPM - Oligo == 0	-71.089	0.9370	-7.587	<0.001

4.3.1.3 Terrestrische basisbronnen van het voedselweb: hogere planten

Het temporeel patroon voor $d^{13}\text{C}$ en $D^{15}\text{N}$ van planten, SPM en CPOM staat weergegeven in Figuur 28. Analyse van plantenmateriaal gebeurde alleen tijdens de grote campagnes in mei en augustus. Omdat het aantal waarnemingen beperkt is, beperken we ons tot een bondige beschrijving van onderlinge verschillen tussen soorten en met SPM en CPOM. Grote brandnetel, wilg en riet hebben zeer gelijkaardige waarden voor beide isotopen. De waarden voor $d^{13}\text{C}$ leunen dicht aan bij die voor SPM en voor $d^{15}\text{N}$ zijn ze relatief ca. 5 ‰ armer. Reuzenbalsemien wijkt opvallend af: het signaal voor $d^{13}\text{C}$ is ca. 5 ‰ verarmd in vergelijking met de andere drie soorten. Voor $d^{15}\text{N}$ zijn de waarden net rijker (ca. 3 ‰).



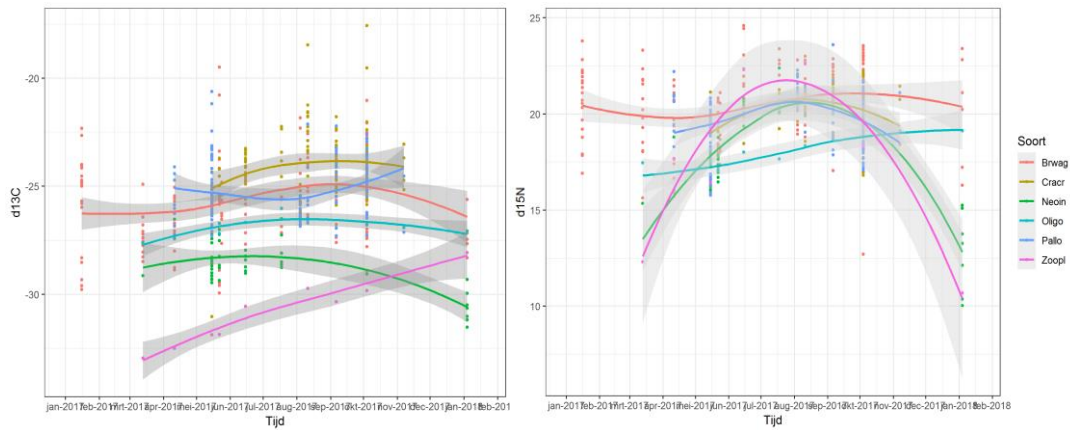
Figuur 28: Temporeel patroon voor $d^{13}\text{C}$ (links) en $d^{15}\text{N}$ (rechts) voor detritus (CPOM), zwevende organische partikels (SPM), riet (Riet), wilg (Wilg), Reuzenbalsemien (Reuba) en Grote brandnetel (Urtic).

4.3.1.4 Kleine aquatische predatoren: brakwatergrondel, steurgarnaal en grijze garnaal

Enkele kleinere soorten gewervelden of macrocrustacea voeden zich wellicht voornamelijk met een of meerdere van de hierboven besproken bronnen. Voor enkele soorten die langere tijd en in belangrijke biomassa aanwezig zijn in het door ons bestudeerde deel van het estuarium bespreken we hier de temporele patronen: brakwatergrondel (*Pomatoschistus microps*), de steurgarnaal (*Palaemon longirostris*) en de grijze garnaal (*Crangon crangon*) (Figuur 29).

Het $d^{13}\text{C}$ patroon voor dit trio soorten zit zeer dicht op elkaar rond de -25 ‰. Grijze garnaal heeft doorheen het seizoen een hogere $d^{13}\text{C}$ dan de andere twee soorten (Tukey HSD, $p < 0.001$). Voor alle drie de soorten is er aanzienlijke variatie en waarden binnen één soort en voor hetzelfde tijdstip overspannen regelmatig 5 ‰. De waarden liggen gemiddeld ca. 1-2 ‰ hoger dan voor oligochaeten; het verschil met *Neomysis* loopt op tot 3-4 ‰ en voor zoöplankton is dit nog meer.

Ook voor $d^{15}\text{N}$ liggen de drie soorten zeer dicht bij elkaar, rond de 20 ‰. Grijze garnaal en steurgarnaal zijn voor een minder lange periode aanwezig zodat de curvatuur van de regressielijnen niet goed vergelijkbaar is. Alle drie de soorten vertonen een lichte (ca. 1 ‰) maar synchrone aanrijking tussen juni-juli.

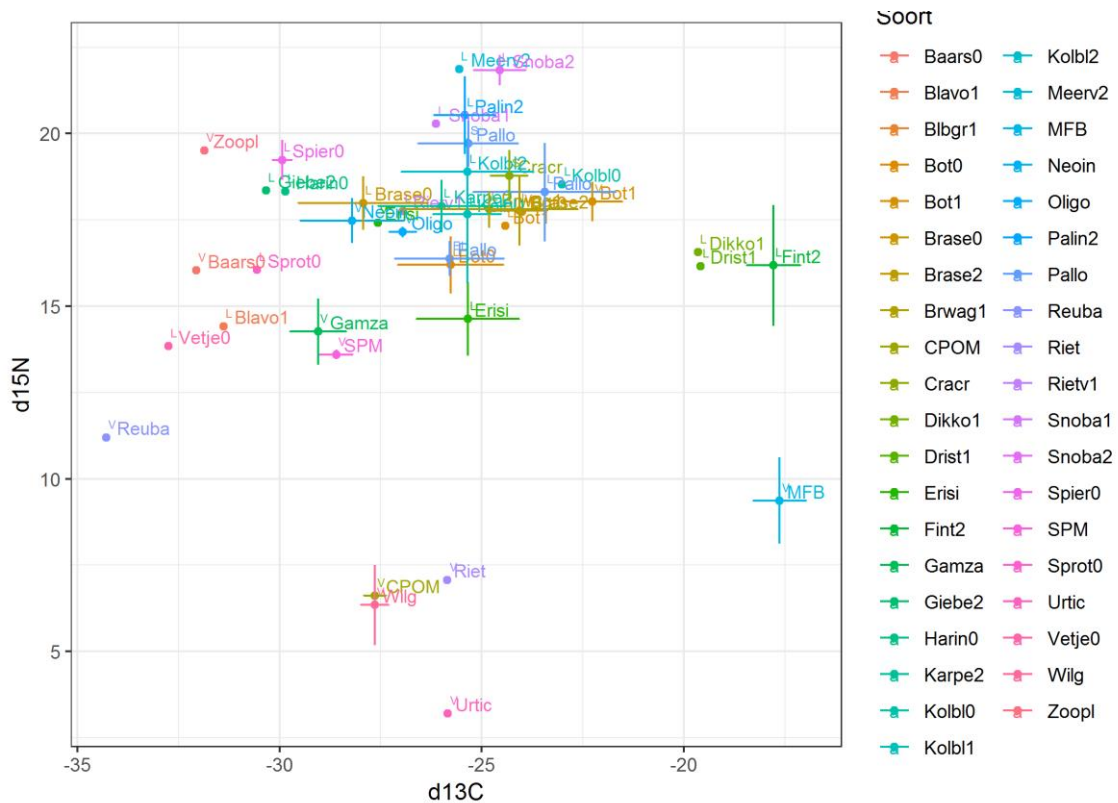


Figuur 29: Temporeel patroon voor $d^{13}C$ (links) en $d^{15}N$ (rechts) voor brakwatergrondel (Brwag), grijze garnaal (Cracr), de aasgarnaal *Neomysis integer* (Neoin), oligochaeten (Oligo), steurgarnaal (Pallo) en zoöplankton (Zoopl).

4.3.2 Snapshot voedselwebanalyse

Voor twee tijdstippen werd geprobeerd om zoveel mogelijk soorten van het voedselweb te verzamelen. Omdat het voedselweb van de Zeeschelde in de tijd andere deelnemende soorten heeft en waarschijnlijk ook (deels) andere links worden deze resultaten apart besproken.

4.3.2.1 Meicampagne

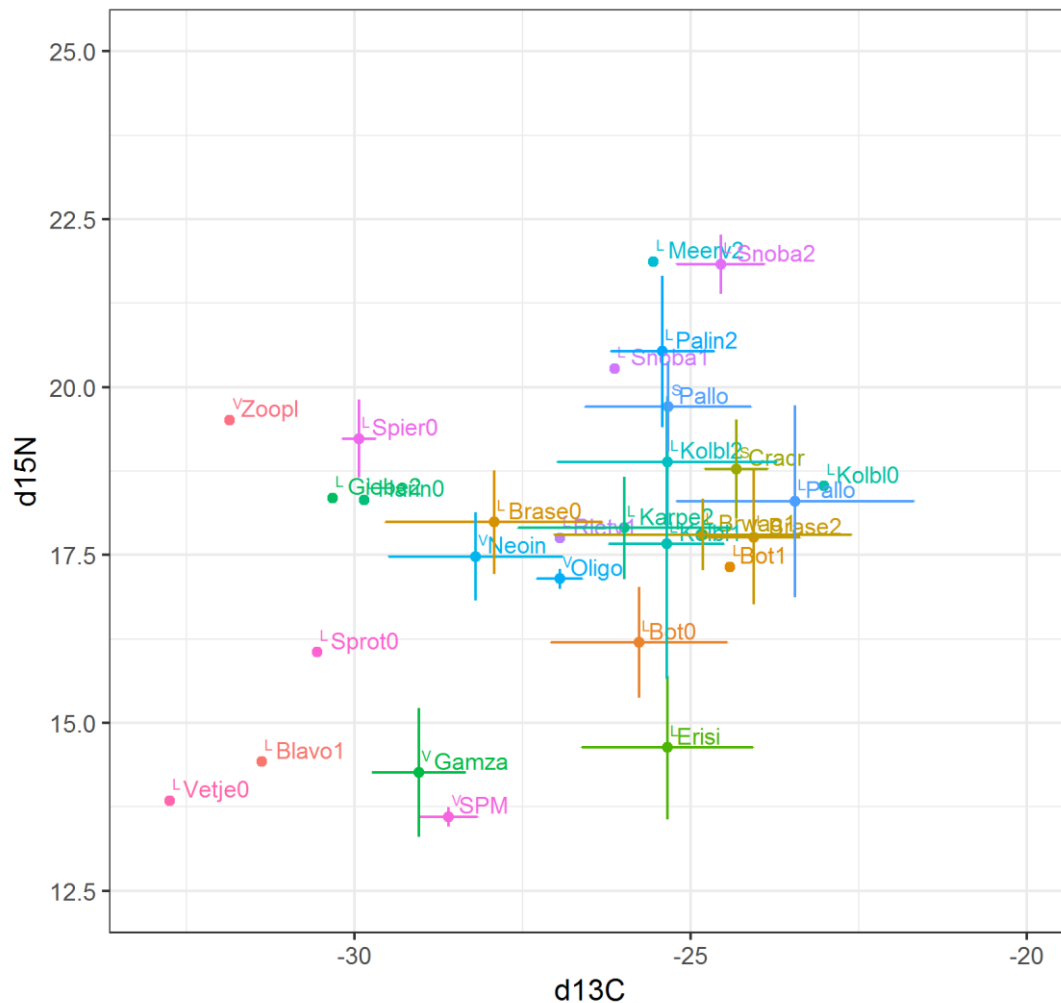


Figuur 30: $d^{13}C$ en $d^{15}N$ of voor alle bemonsterde organismen en bronnen voor de mei-campagne. Elk symbool geeft het gemiddelde \pm 1SD. Legende: Baars=baars; Blavo=Blankvoorn; Blbgr=Blauwbandgrondel; Bot=Bot; Brase=Brasem; Brwag=Brakwatergrondel; CPOM: grof particulier organisch materiaal; Cracr=grijze garnaal; Dikko= Dikkopje; Drist=Driedoornige stekelbaars; Erisi=Wolhandkrab; Fint=Fint; Gamza=*Gammarus zaddachi*; Giebe=Giebel; Harin=Haring; Karpe=Karper; Kolbl=Kolblei; Meerv=Europese meerval; MFB=microfytobenthos; Neoin=*Neomysis integer*; Oligo=oligochaeten; Palin=Paling; Pallo=Steurgarnaal; Reuba=Reuzenbalsemien; Riet=Riet; Rietv=Rietvoorn; Snoba=Snoekbaars; Spier=Spiering; SPM=gesuspendeerd particulier materiaal; Sprot=Sport; Urtic=Grote brandnetel; Vetje=Vetje; Wilg=Wilg *species*; Zoopl=Zoöplankton. De suffix (0, 1, 2) bij vissen geeft de grootteklasse aan: <10cm="0", <10 & 20<="1"; >20= "2". De annotatie bovenlinks een naam (L, V, S) geeft het weefseltype aan: L=lever, S=Spier, V=volledig.

In Figuur 30 wordt een overzicht gegeven van $d^{13}C$ en $d^{15}N$ signalen voor de bemonsterde soorten op de Zeeschelde bij Bornem. De meeste consumenten (predatoren, grazers) zitten geconcentreerd links- en middenboven in de figuur. Rechts vinden we drie vissoorten met een relatief aangerijkt $d^{13}C$ isotoopsignaal: Driedoornige stekelbaars, Fint, en Dikkopje. Om een beter zicht te krijgen op de cluster soorten in het midden, en omdat we de patronen bij producenten eerder al besproken hebben, zoomen we verder in op de consumenten, met name de visgemeenschap en zijn directe bronnen (Figuur 31).

De visgemeenschap valt langsheen de x-as uiteen in een cluster soorten met $d^{13}C$ tussen -33 ‰ en -30 ‰ en een (grotere) cluster soorten rond de -25 ‰. De linkse cluster met meest verarmde $d^{13}C$ bestaat vooral uit kleine Y-0 vis, zoals spiering, baars, sprot, haring, bars, vetje en blankvoorn, maar bevat ook grote giebel (vissen groter dan 20 cm). Opvallend is dat deze groep een grote spreiding kent voor $d^{15}N$ (6 ‰). De rechtse cluster bestaat uit alle grotere vissen (klassen 1 en 2), enkele benthische vissoorten (bot, karper, kolblei), de piscivore vissoorten (snoekbaars, Europese meerval, grote paling) en de garnaalachtigen. Zoals verwacht hebben de piscivoren het meest aangerijkte $d^{15}N$ signaal. Daaronder is er echter weinig differentiatie; een diverse set vissen heeft een vergelijkbaar $d^{15}N$. Opvallend nog is dat de steurgarnaal een vrij hoge $d^{15}N$ heeft ca. 2 ‰ rijker dan de benthische vissoorten; de grijze garnaal zit daar ergens tussenin.

Zoöplankton heeft een vrij arm $d^{13}C$ signaal (sterk links op de figuur) maar een relatief aangerijkt $d^{15}N$ signaal (ver bovenaan). Oligochaeten zitten voor $d^{15}N$ centraal in de figuur rond -27 ‰ zeer dicht bij *Neomysis*. Deze laatste heeft wel een wat armer $d^{13}C$.

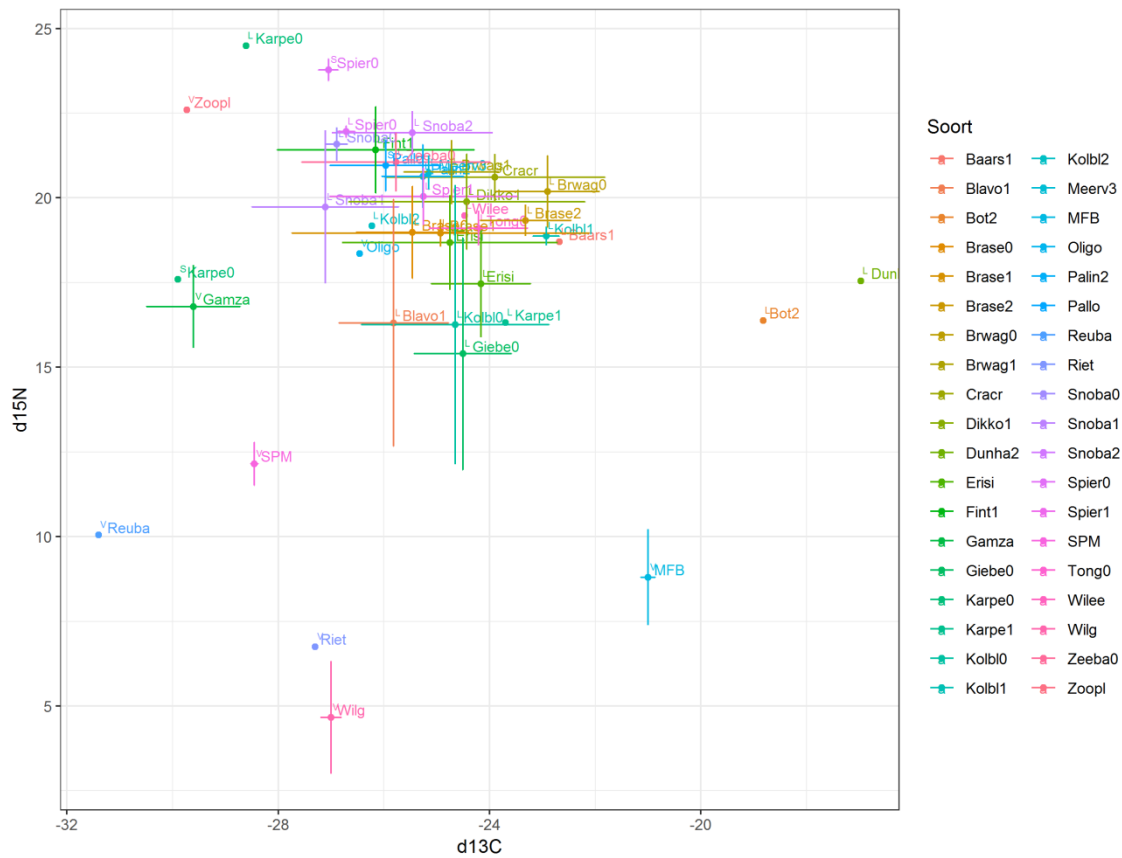


Figuur 31: Detail van Figuur 30; $d^{13}C$ en $d^{15}N$ voor organismen en bronnen voor de mei-campagne. Legende: zie Figuur 30.

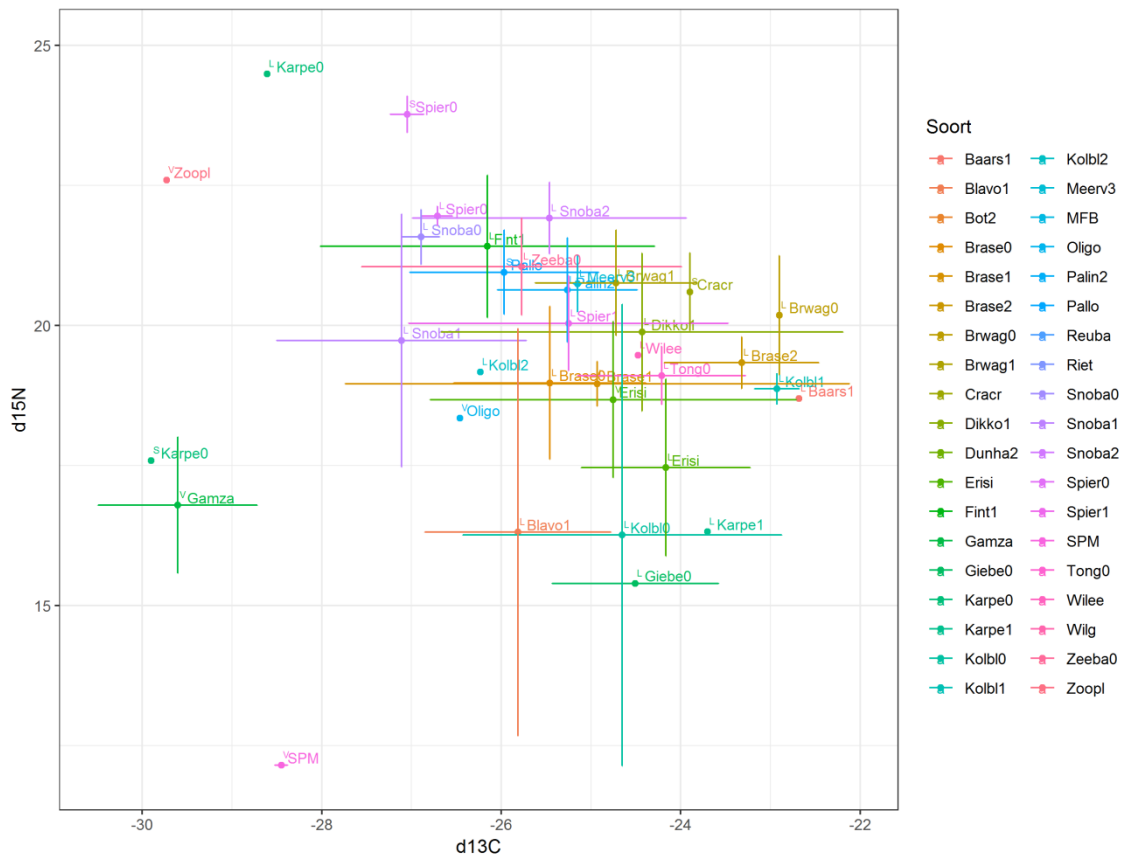
4.3.2.2 Augustuscampagne

De resultaten van de augustuscampagne staan afgebeeld in Figuur 32. Een detail dat inzoomt op de centrale cluster aan soorten staat in Figuur 33. In de eerste figuur zien we twee soorten met een sterk aangerijkt $d^{13}C$ signaal, namelijk Bot en Dunlipharder. Dit zijn beide soorten die in deze periode van het jaar (en voor deze grootteklasse; het zijn vrij grote vissen) doorgaans meer stroomafwaarts voorkomen in het Schelde-estuarium (Breine et al., 2017). We weten dat voedselbronnen stroomafwaarts kin het estuarium een meer aangerijkt $d^{13}C$ hebben, dus alles wijst erop dat deze vissen accidenteel tot in het zoete deel verzeilden en hier bovendien nog maar pas waren (gezien hun isotopsignaal). Verder vinden we aan de onderzijde van de plot opnieuw microfytobenthos (MFB) en de oeverplanten met een laag $d^{15}N$ signaal, waaronder Reuzenbalsemien met bovendien een sterk verarmd $d^{13}C$ signaal terwijl MFB net een erg aangerijkte $d^{13}C$ heeft. Net als in mei heeft zoöplankton een relatief hoog $d^{15}N$ signaal, hoger dan de meeste potentiële predatoren. De meeste vissoorten en garnaalachtigen zitten vrij geclusterd bij elkaar, waarbij de gekende grote piscivore soorten opmerkelijk niet of nauwelijks hoger geplaatst zijn langs de $d^{15}N$ as dan de zoöplanktivore soorten. Enkele juveniele vissoorten (grootteklasse

0) hebben zelfs het hoogste $d^{15}\text{N}$ signaal van alle vissen. Wolhandkrab heeft net als in mei een lager $d^{13}\text{C}$ dan de meeste vis- en garnaaalsoorten.



Figuur 32: $d^{13}\text{C}$ en $d^{15}\text{N}$ of voor alle bemonsterde organismen en bronnen voor de augustus-campagne. Elk symbool geeft het gemiddelde $\pm 1\text{SD}$. Legende: Baars=baars; Blavo=Blankvoorn; Blbgr=Blauwbandgrondel; Bot=Bot; Brase=Brasem; Brwag=Brakwatergrondel; CPOM: grof particulier organisch materiaal; Cracr=grijze garnaal; Dikko= Dikkopje; Drist=Driedoornige stekelbaars; Dunha= Dunlipharder; Erisi=Wolhandkrab; Fint=Fint; Gamza=*Gammarus zaddachi*; Giebe=Giebel; Harin=Haring; Karpe=Karper; Kolbl=Kolblei; Meerv=Europese meerval; MFB=microfytobenthos; Neoin=*Neomysis integer*; Oligo=oligochaeten; Palin=Paling; Pallo=Steurgarnaal; Reuba=Reuzenbalsemien; Riet=Riet; Rietv=Rietvoorn; Snoba=Snoekbaars; Spier=Spiering; SPM=gesuspendeerd particulier materiaal; Sprot=Sport; Urtic=Grote brandnetel; Vetje=Vetje; Wilg=Wilg *species*; Zoopl=Zoöplankton. De suffix 0,1,2 bij vissen geeft de grootteklasse aan: <10cm="0", <10 & 20<="1"; >20="2". De annotatie bovenlinks een naam (L, V, S) geeft het weefseltype aan: L=lever, S=Spier, V=volledig.



Figuur 33: Detail van Figuur 32; $\delta^{13}\text{C}$ en $\delta^{15}\text{N}$ voor organismen en bronnen voor de augustuscampagne. Legende: zie daar.

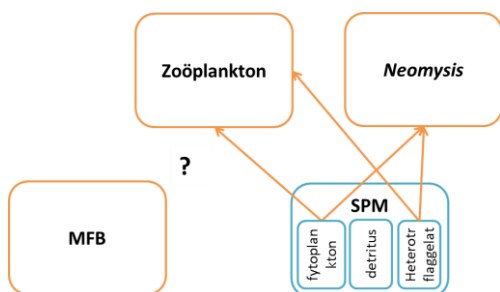
4.4 Discussie

4.4.1.1 Aquatische basisbronnen van het voedselweb

De “brandstof” waarop het aquatisch-pelagisch voedselweb draait is enerzijds dode organische zwevende stof en anderzijds fytoplankton. Beide zijn moeilijk te scheiden en zitten vervat in het SPM, samen met bacteriën en andere micro-organismen die hierop teren. De belangrijkste schakelsoorten in de Zeeschelde die de energie van deze basisbronnen kunnen doorgeven naar het hogere voedselweb zijn zoöplankton en aasgarnalen (in de door ons bestudeerde zone vrijwel uitsluitend *Neomysis integer*). Het $\delta^{13}\text{C}$ patroon van deze soortgroepen past goed bij SPM als belangrijkste voedselbron, maar uit $\delta^{15}\text{N}$ blijkt een heel sterk seizoensaal veranderend patroon, wat we slechts beperkt zien in het SPM. Zodoende lopen de verschillen voor $\delta^{15}\text{N}$ sterk op tussen de primaire consumenten en SPM als basisvoedsel tijdens het groeiseizoen. Een mogelijke verklaring voor deze discrepantie is dat beide grazende soortgroepen selectief foerageren op een onderdeel van het SPM, het fytoplankton. Van fytoplankton is bekend dat het doorheen het groeiseizoen vaak tijdelijk sterk aanrijkt in ^{15}N (zie 4.1 voor het mechanisme). Dit is ook eerder al voor de Zeeschelde aangetoond (De Brabandere, 2005). Het grote verschil in $\delta^{15}\text{N}$ kan te wijten zijn aan een afwijkende fractionering bij opname van fytoplankton door zoöplankton, ofwel doordat heterotrofe micro-organismen een belangrijke tussenstap vormen tussen deze groepen (waardoor het $\delta^{15}\text{N}$ signaal sterk toeneemt), of ook doordat het signaal van fytoplankton gemaskeerd wordt door (talrijkere) andere componenten van SPM.

De aasgarnaal *Neomysis integer* is een van de algemeenste Mysidae in West-Europese estuaria en vermoed wordt dat deze een belangrijke schakel vormt in estuariene voedselwebben (Fockedeij, 2005,

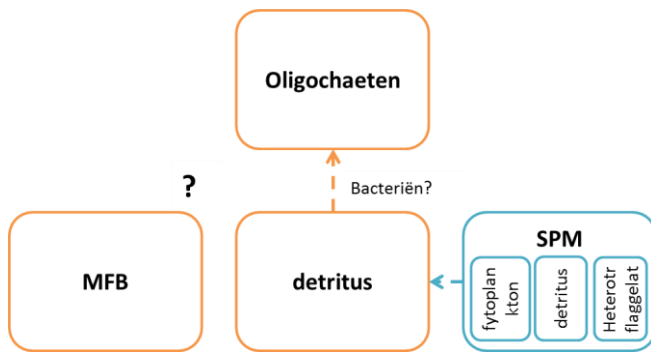
en referenties hierin). Om die reden gebeurde nogal wat onderzoek naar de voedsel­ecologie van deze soort (Fockede­y, 2005; bv. David et al., 2016). Hoewel de soort gecatalogeerd staat als een omnivoor, bleek uit maag­analyses in de Westerschelde dat ze preferentieel zoöplankton opnam, vooral copepoden. Onze studie kan dit niet bevestigen: het $d^{15}N$ signaal van *Neomysis* is niet hoger dan dat van zoöplankton. Uitgaande van een TEF (*trofic enrichment factor*) van 3,4 kan zoöplankton bijgevolg geen belangrijke voedselbron zijn van *Neomysis* in de onderzochte oligohaliene zone van de Zeeschelde. Overigens komt dit zeer sterk overeen met de resultaten van David et al. (2016) voor de Gironde waar de plaatselijke aasgarnaalsoort (*Mesopodopsis slabberi*) ook vergelijkbare tot zelfs iets lagere $d^{15}N$ waarden vertoonde dan zoöplankton. Vermoed werd dat beide soort­groepen vooral op fytoplankton en fyto­benthos foerageerden. Dat onze resultaten en deze van de Gironde afwijken van deze in eerdere studies onder andere in de Westerschelde heeft misschien te maken met de hogere SPM waarden op onze locatie en in de Gironde in vergelijking met de eerdere studielocaties. Ons studiegebied situeert zich in de maximum turbiditeitszone en kent mogelijk andere verhoudingen in de aanwezigheid van CPOM, fytoplankton, zoöplankton en andere planktonische componenten van het SPM. Een hypothese van de trofische links in dit deelsysteem wordt schematisch weergegeven in Figuur 34.



Figuur 34: Hypothese voor trofische relaties op basis van resultaten van stabiele isotopen tussen de aquatische basis­componenten van het voedselweb in de Zeeschelde bij Bornem. Trofische verbindingen met hoge waarschijnlijkheid zijn weergegeven door volle pijlen.

4.4.1.2 Benthische basisbronnen van het voedselweb

De “brandstof” van het benthisch voedselweb bestaat vooral uit microfyto­benthos en aangevoerd gesedimenteerd of lokaal geproduceerd (schorren) detritus. De transfer van deze energie naar hogere trofische niveaus verloopt wellicht vooral via benthische copepoden en macro­benthos, wat voor deze laatste groep in de door ons bestudeerde zone vrijwel beperkt is tot één soort oligochaet: *Limnodrilus hoffmeisteri*. Deze studie heeft niet de ambitie of de opzet om alle met elkaar verweven voedselbronnen in het sediment en de muceuze biofilm op de top van het sediment te scheiden; dit vraagt een andere aanpak en was niet haalbaar binnen dit project. De enige fractie die we apart konden analyseren zijn de positief fototactische (vnl. groen)algen (MFB). Deze kunnen we alleszins uitsluiten als belangrijke voedselbron voor *Limnodrilus*; het signaal heeft een te verschillend $d^{13}C$ - en $d^{15}N$ -profiel en een ander tijdsverloop. Doorgaans wordt gesedimenteerd SPM geopperd als de voornaamste voedselbron voor *Limnodrilus*. Uitgaande van een TEF voor $d^{15}N$ van 3,4 is een rechtstreekse link niet waarschijnlijk, daarvoor is het verschil te groot (tenzij een zeer sterk afwijkende fractionering). Mogelijk verloopt de link via de microbiële gemeenschap of ander microleven waardoor het signaal aanrijkt, ofwel voedt *Limnodrilus* zich selectief met een rijker onderdeel van het SPM, bijvoorbeeld dode algen. Doordat we echter geen seizoens­curve zien in het signaal voor *Limnodrilus* (zoals we dat wel zien bij zoöplankton, en een beetje bij SPM) lijkt de eerste optie waarschijnlijker dan de laatste.



Figuur 35: Hypothese voor trofische relaties op basis van resultaten van stabiele isotopen tussen de benthische basiscomponenten van het voedselweb in de Zeeschelde bij Bornem. Onzekere of eerder zwakke links zijn weergegeven door onderbroken pijlen.

4.4.1.3 Terrestrische basisbronnen van het voedselweb

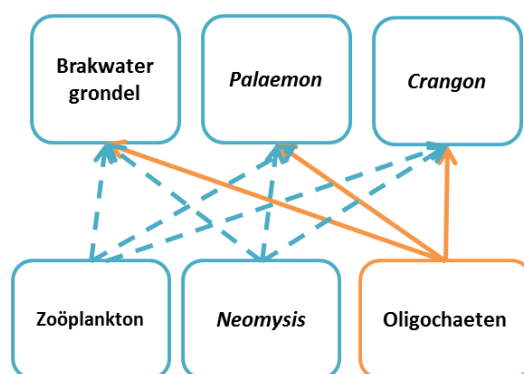
Afgestorven oeverbegroeiing is één van de voornaamste bronnen van het TOC (totale organische koolstof) in rivieren en komt in estuaria door een snelle afbraak tijdens transport voornamelijk voor onder de vorm van DOC (en via vlokvorming in het SPM). Muylaert et al. (2005) vonden dat het grootste deel van het DOC in het zoetwaterdeel van de Zeeschelde een natuurlijke, terrestrische oorsprong heeft en aangevoerd wordt vanuit het Scheldebekken. Bij afbraak en mineralisatie van organisch materiaal verandert het $d^{13}C$ doorgaans beperkt (Fernandez et al., 2003). Dat in onze studie $d^{13}C$ van SPM weinig verschilt van dat van in het estuarium en langs de bovenlopen dominante plantensoorten wilg (*Salix sp.*) en riet (*Phragmites australis*) wijst dus mogelijk op een belangrijke bijdrage van oeverplanten tot het koolstofsignaal van SPM.

Een opvallende vaststelling is dat Reuzenbalsemien een sterk verarmde $d^{13}C$ vertoont in vergelijking met de andere drie plantensoorten. Het $d^{13}C$ signaal bij planten wordt in grote mate bepaald door het type fotosynthese. C3-planten hebben gemiddeld een $d^{13}C$ van rond de -27 ‰ (Marshall et al., 2007) wat overeen stemt met de meeste soorten in deze studie. Reuzenbalsemien is echter ook een C3-plant. Dat Reuzenbalsemien afwijkt kan verschillende oorzaken hebben. Vergelijkende studies toonden aan dat eenjarige vaak een meer verarmde $d^{13}C$ hebben in vergelijking met meerjarige gewassen. Reuzenbalsemien is inderdaad een eenjarige die elk jaar opnieuw vanuit zaad opschiet terwijl de andere soorten meerjarig zijn. Een andere belangrijke plant-specifieke factor die $d^{13}C$ kan beïnvloeden is de *fotosynthetic water-use efficiency* (WUE): de verhouding van de gerealiseerde fotosynthese of transpiratie. Wanneer er veel water verloren gaat bij transpiratie (bv. door niet regelen van de huidmondjes) kan de $d^{13}C$ lager zijn dan wanneer dit wel efficiënt geregeld wordt.

4.4.1.4 Kleine aquatische predatoren: brakwatergrondel, steurgarnaal en grijze garnaal

Uitgaande van een TEF van 3,4 ‰ voor $d^{15}N$, en ons baserend op oligochaeten, zoöplankton en aasgarnalen als potentiële voedselbronnen in het bestudeerde gebied, passen de oligochaeten het best als potentiële hoofdprooi voor de minstens brakwatergrondel en de steurgarnaal (*Palaemon*) en mogelijk ook voor de grijze garnaal (*Crangon*). De aasgarnaal *Neomysis* en zoöplankton vertonen een unimodale curve met een zomerse tijdelijke aanrijking in ^{15}N waardoor ze eerst eerder laag, en in de zomer eerder (te) hoog scoren om als prooi in beeld te komen. In tegenspraak daarmee observeerden we een kortstondige, vrij lichte toename voor $d^{15}N$ in de zomermaanden bij alle predatoren, wat mogelijk indiceert dat ook *Neomysis* of zoöplankton hebben bijgedragen aan het dieet. Bovendien kunnen de temporele veranderingen in het isotopsignaal van een prooi meer uitgemiddeld worden in

zijn predator. Meer geavanceerde analysetechnieken en vooral bijkomende gegevens voor H^2 kunnen hier misschien meer duidelijkheid in brengen. De densiteit van *Neomysis* in het studiegebied kende een piek in de maanden mei-juni, maar daarna verdween de soort plots ter hoogte van de Notelaer (elders was ze wel abundant aanwezig in het estuarium) en was afwezig tot oktober. In de periode waarin ze afwezig was zullen de predatoren, zelf talrijk aanwezig op dat moment (Figuur 44), dus in elk geval op een andere prooi geteerd hebben, meest waarschijnlijk de oligochaeten. Een hypothese voor het temporeel $d^{15}N$ patroon bij de predatoren zou kunnen zijn dat deze tijdelijk opportunistisch hebben gefoerageerd op *Neomysis* toen deze zeer talrijk was maar nadien weer zijn overgeschakeld op oligochaeten. Overigens is er ook binnen één tijdstip aanzienlijke variatie voor $d^{15}N$, wat er op zou kunnen wijzen dat een deel van de predatorpopulatie eerder op benthos specialiseerde en een ander deel op een andere voedselbron, bv. *Neomysis* aasgarnalen. Voor grijze garnaal Wanneer later meer data beschikbaar komen onder andere voor H^2 kan ook hier misschien meer duidelijkheid in komen. Een hypothetisch schema op basis van de huidige kennis staat in Figuur 36.



Figuur 36: Hypothese voor trofische relaties op basis van resultaten van stabiele isotopen tussen de primaire en secundaire consumenten van het voedselweb in de Zeeschelde bij Bornem. Links met hoge waarschijnlijkheid zijn weergegeven door volle pijlen minder waarschijnlijke of eerder zwakke links door onderbroken pijlen.

4.4.2 Snapshot voedselwebanalyse

Mei

Een aantal vissoorten in de figuur voor de meicampagne vertoonden een voor $d^{13}C$ sterk aangerijkt signaal. Dit duidt vrijwel zeker op een origine meer stroomafwaarts in de brakke tot zoute zone van het estuarium of de zee. Een soort als Fint is in de maand mei nog maar net aangekomen op de paaigronden en is nog niet in evenwicht met zijn nieuw dieet, en bovendien is geweten dat volwassen finten op de paaigronden niet of nauwelijks foerageren. Dit geldt ook voor driedoornige stekelbaars terwijl dikkopje vooral de brakkere zone van het estuarium verkiest en mogelijk sporadisch in het oligohalien verzeilt. Om deze reden bekijken we deze soorten nu niet verder. Patronen van producenten (planten, MFB, SPM) bespreken we eerder al, dus zoomen we hier vooral in op de consumenten: garnalen, de visgemeenschap en hun directe bronnen (Figuur 31).

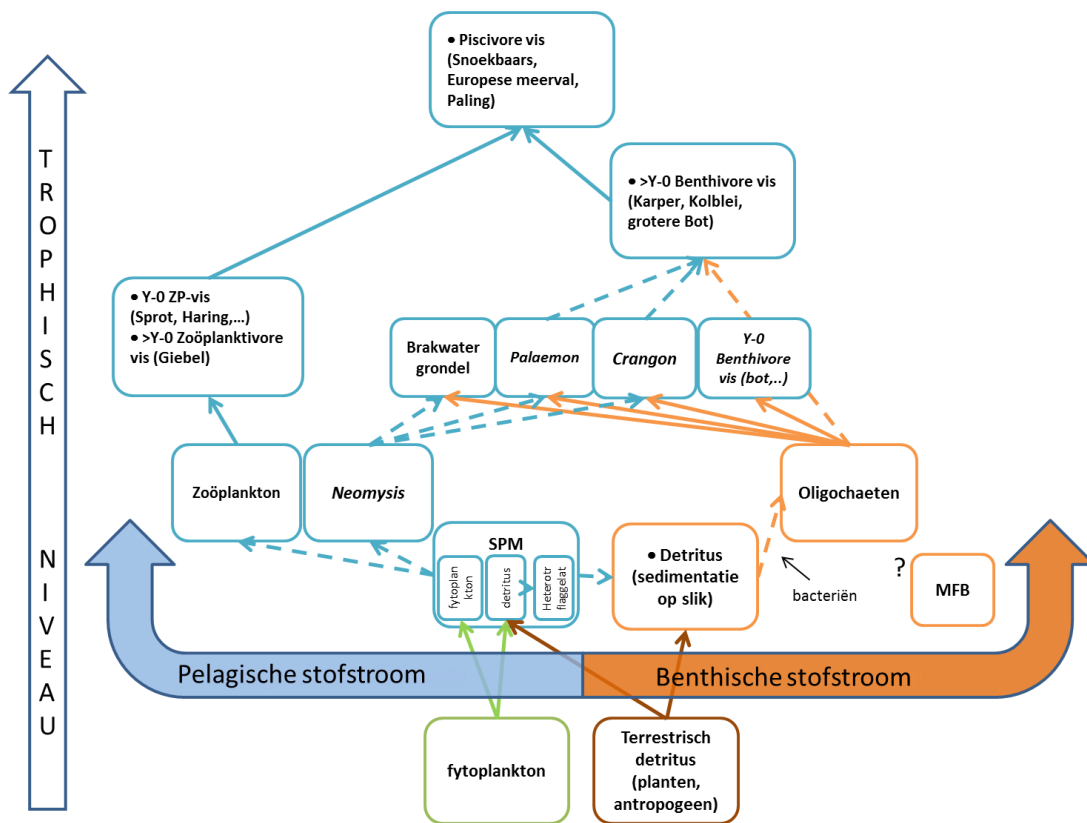
De visgemeenschap valt langsheen de x-as uiteen in een cluster soorten met $d^{13}C$ tussen -30 ‰ en -33 ‰ en een (grotere) cluster soorten rond de -25 ‰. De linkse groep is te associëren met zoöplankton als primaire voedselbron: het $d^{15}N$ voor zoöplankton is weliswaar veel te hoog (hoger dan alle veronderstelde consumenten; bij een TEF 3,4 zou ze een vergelijkbare grootteorde lager moeten zijn). Eerder zagen we echter dat in het voorjaar, tijdens de lente/voorzomerbloei van fytoplankton het $d^{15}N$ signaal van zoöplankton op zeer korte tijd snel aanrijkt (Figuur 29). Een time-lag in het afstemmen van weefsel $d^{15}N$ op dieet $d^{15}N$ kan dit patroon verklaren. Dat er nog veel variatie is tussen de vissoorten in de $d^{15}N$ is mogelijk een gevolg van onderlinge verschillen in groeisnelheid of grootte. De tweede groep

vissoorten bevat verschillende ecologische profielen. Grote snoekbaars en Europese meerval zijn uitgesproken viseters (piscivoren). Ze staan aan de top van de aquatische voedselpiramide, en hebben bijgevolg het meest aangerijkte $d^{15}N$ signaal. Paling en middelgrote snoekbaarzen (10-20 cm) hebben een iets lager $d^{15}N$ signaal; in het geval van de eerste wellicht omdat het dieet ook een aantal bentische invertebraten bevat (bv. garnalen); in het geval van de tweede mogelijk doordat deze nog in transitie is van een meer planktivoor dieet (bv. *Neomysis*) naar een volledig piscivoor dieet. Een ander profiel met het laagste $d^{15}N$ signaal is wellicht de bentivore vis. Karper, Bot en Kolblei zijn hiervan de voornaamste vertegenwoordigers. Ook de Chinese wolhandkrab heeft een vergelijkbaar isotopenprofiel. Hun signaal sluit aan bij een dieet van oligochaeten, maar er zijn soortspecifieke anomalieën waarvan de oorzaak in oorsprong en migratie kan liggen of in meer gevarieerde diëten. Verdere analyses kunnen hier duidelijkheid in brengen.

Augustus

Twee vissoorten hebben een sterk afwijkend $d^{13}C$ signaal (een grote bot en een dunlipharder). Beide soorten kunnen op basis van isotopen als verdwaalde exemplaren afkomstig uit de Westerschelde bestempeld worden; ze maken daardoor geen deel uit van het voedselweb en worden niet verder besproken. Wanneer we de detailfiguur bekijken valt op dat er geen logische orde zit in de visgemeenschap volgens hun vermeende voedselniche. Een aantal planktivore vissen zit voor $d^{15}N$ boven de piscivore soorten. Dit is een gevolg van de snelle aanrijking van het zoöplankton in de voorafgaande periode. Kleine vis is relatief snel in evenwicht met dit dieet; voor piscivore vis duurt het echter veel langer vooraleer het veranderd $d^{15}N$ signaal in zijn prooi ook in de eigen weefsels zichtbaar wordt. Deze staalname situeert zich dus in een periode in en of net volgend op drastische veranderingen in isotoopsamenstellingen. Zonder verdere data (bv. d^2H) en verdere detailanalyse kunnen we hier nu geen gefundeerde uitspraken over doen.

Rekening houdend met de onzekerheden die hierboven besproken worden kunnen we een hypothese opstellen voor het voedselweb van de Zeeschelde ter hoogte van de Rupelmonding voor de voorjaarsperiode (Figuur 37).



Figuur 37: Hypothese van het voedselweb van de Zeeschelde ter hoogte van de Rupelmonding voor de zomerperiode. De oranjebruine kleur geeft de benthische component van het voedselweb weer; de blauwe kleur de pelagische component. Voor zover mogelijk worden beide stofstromen gescheiden weergegeven; de pelagische stofstroom aan de linkerkant en de benthische stofstroom aan de rechterkant (visueel benadrukt door de grote pijlen). De basisbronnen worden apart weergegeven (respectievelijk autotrofe planktonische soorten ofwel fytoplankton en alle vormen van terrestrisch detritus).

5 Algemene discussie & conclusies

De (Zee)schelde behoort ongetwijfeld tot de best bestudeerde estuaria wereldwijd. We vinden er zeldzame Europees bedreigde natuur én een van de drukste zeehavens wereldwijd zodat voortdurend up-to-date kennis en beredeneerde keuzes nodig zijn om deze sterktes samen te vrijwaren. Toch kennen we aan de natuurzijde nog altijd niet goed de essentie van het systeem: de samenhang van alle soorten ofwel het voedselweb. Dit hoeft op zich echter niet te verwonderen aangezien het voedselweb in grote delen van het estuarium recent volledig veranderde: de zogenaamde ecosysteemshift.

Een van de sterktes van de Zeescheldenatuur vóór de ecosysteemshift was een (vermoede) sterke stofstroom van het bentisch leven op slikken en schorren naar overwinterende watervogels. Na de ecosysteemshift is deze link veel minder belangrijk geworden. Over de precieze oorzaak van deze shift zijn verschillende hypothesen. Het is zeer waarschijnlijk dat de watervogels verminderden doordat ook het benthos, met name de oligochaeten, sterk verminderd zijn. Waarom het benthos precies verminderde is nog onduidelijk; zowel een verminderde aanvoer van voedselrijk organisch materiaal als een bijkomende, nieuwe stofstroom, ditmaal onder water, is voorgesteld om deze afname te verklaren (Cox et al., 2009). De nieuwe koppeling onder water zou verlopen met de visgemeenschap. Inderdaad is sinds de ecosysteemshift de visgemeenschap in de Zeeschelde geëxplodeerd. Maar naast vis zijn ook een resem macrocrustaceën gevolgd die even goed deze rol kunnen opnemen. Deze studie heeft als doel aan te tonen of er een sterke koppeling is tussen het benthos en aquatische predatoren, zo ja om welke soort(en) het gaat, en om na te gaan of deze eventueel ook verantwoordelijk konden zijn voor de ecosysteemshift.

De bentisch-pelagische koppeling: competitie met overwinterende watervogels?

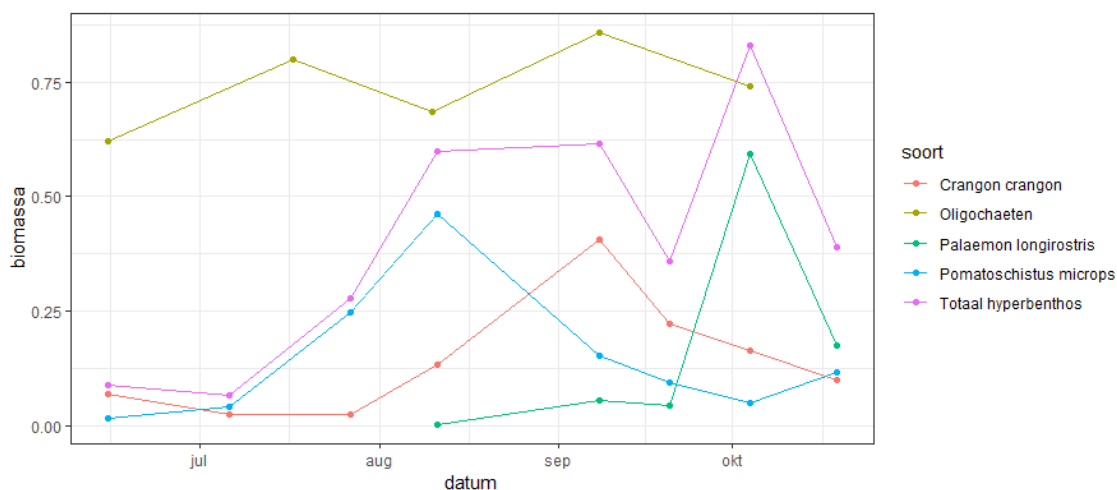
Door middel van experimenteel onderzoek waarbij we predatie op benthos verhinderden, konden we aantonen dat – over een periode van 10 weken – predatie door aquatische predatoren de benthosbiomassa met minstens 1/3 verminderde. Dat gebeurde selectief: de grootste wormen werden weggegraasd. De grootteverdeling van de wormgemeenschap was daardoor overheen het seizoen opvallend constant. Watervogels die in de herfst terugkeren om te overwinteren worden dus niet alleen geconfronteerd met minder voedsel onder de vorm van benthos dan in een situatie zonder aquatische benthospredatoren maar de wormen zijn gemiddeld ook kleiner. De grootte van organismen die door overwinterende grondeleenden (de bulk van de overwinterende watervogels in de Zeeschelde) kunnen worden opgenomen wordt bepaald door de afstand tussen de snavellamellen. Voor de kleinste eend met kleinste lamelafstand, de wintertaling, bedraagt deze afstand $290 \pm 30 \mu\text{m}$ (Thomas, 1982). Op Figuur 20 zien we dat er voor wintertaling dus zeker nog een fractie opneembaar wormenvoedsel overblijft, maar de foerageerefficiëntie neemt wellicht wel af. Voor grotere grondeleenden zoals wilde eend, bergeend en krakeend, gekenmerkt door grotere lamelafstanden, neemt deze foerageerefficiëntie waarschijnlijk relatief nog meer af. Er bestaat dus competitie tussen overwinterende watervogels die van benthos leven en kleine aquatische predatoren in de Zeeschelde. Opvallend is dat deze competitie gescheiden is in de tijd en daardoor asymmetrisch wordt: doordat de biomassa benthos opbouwt tijdens het voorjaar en de zomer is de competitie unidirectioneel van de soorten die eerder op het jaar foerageren (aquatische predatoren) op de soorten die later komen (de watervogels). Benthos vertoont een sterke toenemende dichtheitsgradiënt langsheen een hoogtegradiënt van laag naar hoog dwars op de oever. Ongepubliceerde gegevens van INBO suggereren dat de kleine predatoren – omwille van de kortere overstromingsduur op het hogere slik - in kleinere aantallen bovenaan kunnen foerageren als onderaan het slik. Dit is een interessante piste om verder uit te werken, en om te linken aan ruimtelijk foerageergedrag van watervogels, en zo de ruimtelijk competitie tussen beide groepen in kaart te brengen. Onmisbaar daarbij is ook een beter beeld van de actuele voedselkeuze van overwinterende watervogels in de Zeeschelde.

De benthisch-pelagische koppeling: welke soorten?

De hoofdverantwoordelijken voor predatie op het benthos tijdens de zomermaanden zijn met grote waarschijnlijkheid brakwatergrondel, grijze garnaal en steurgarnaal, wellicht in wisselend belang. Het experiment toonde aan dat enkel kleine predatoren verantwoordelijk konden zijn voor benthospredatie, en onze isotopenstudie toonde aan dat alle drie deze soorten inderdaad een potentiële link met oligochaeten vertonen. Bovendien waren enkel deze drie soorten talrijk aanwezig tijdens onze studie. Wanneer we de totale biomassa oligochaeten overheen de slikraai integreren (zie Figuur 42) en we zetten dit uit tegen het voorkomen van deze drie hyperbenthische predatoren dan krijgen we Figuur 38. De biomassa's in deze figuur zijn onderling niet geschaald tussen benthos en hyperbenthos, maar de figuur laat wel toe de trends te vergelijken. Wanneer we de hele tijdsperiode beschouwen dan heeft de forse toename van hyperbenthos (totaal) vanaf eind juli geen grote impact op de *standing stock* van het benthos. In augustus zien we wel een tijdelijke terugval die samenvalt met de opkomst van brakwatergrondel; hoewel we een grote slag om de arm houden suggereert dit mogelijk dat brakwatergrondel de primaire benthospredator is van het trio. Dat de benthosbiomassa vrij hoog blijft zou kunnen betekenen dat een belangrijk deel van de oligochaeten niet bereikbaar is voor de predatoren – ze zitten bijvoorbeeld te diep in het sediment, of dat de populatie zeer snel regeneraert. Het veldexperiment leert ons echter dat bij afwezigheid van alle predatoren de *standing stock* van oligochaeten aanzienlijk groter is.

Bottom-up regulatie van benthos?

Ons experiment toonde ook aan dat de wormen op de slikken van de Notelaer (voedsel?)gelimiteerd zijn. Door extra sedimentatie als gevolg van onze experimentele structuren namen de densiteit en de biomassa van oligochaeten toe, ook bij onveranderde predatie. Het gesedimenteerd materiaal was rijker aan organisch materiaal, maar toch verklaarde dit maar weinig van de biomassaveranderingen. Een groot deel van het organische materiaal in het sediment is waarschijnlijk *refractory*, of anders gezegd een weinig voedzaam en chemisch moeilijk afbreekbaar substraat. Mogelijk is het gesedimenteerd materiaal in eerste instantie nog wel vrij voedzaam, maar wordt de eetbare fractie snel opgebruikt. Op plaatsen met veel sedimentatie is er dan een grotere voedselvoorraad. Het blijft een intrigerende vaststelling dat dit soort tijdelijke additionele sedimentatie het benthos in die mate kan doen toenemen. Er zijn zeker parallellen te trekken met de initiële bloei aan oligochaeten en ander benthos die wordt waargenomen bij openstelling van nieuwe GGG of ontpoldering op hoog slik niveau. In hoeverre kenmerken van het substraat (vochtgehalte, korrelgrootte,...), voedingswaarde van het substraat dan wel lagere predatie (minder predatoren in de GGG?) hier een rol spelen blijft een interessante vraag. Ook hoger op het slik vinden we immers hoge densiteiten van oligochaeten, bij fijner slik én hogere organische fractie (en anders verlopende sedimentatie). De predatiedruk door kleine predatoren is hier echter niet altijd lager (inbo, niet gepubliceerde gegevens). Bijkomend onderzoek zou kunnen focussen op verschillen in de kwantiteit en kwaliteit van het sedimentend materiaal langs een hoogtegradiënt op het slik of in nieuwe estuariene gebieden. Deze onderzoeksvragen hebben overigens aan extra relevantie gewonnen sinds de toegenomen aandacht voor de knijtenproblematiek: knijtenlarven behoren zelf tot het benthos en kunnen zich voeden met microfytobenthos, detritus (of micro-organismengemeenschappen geassocieerd met detritus) of zijn predator van kleine wormachtigen of insectenlarven. Ze vertonen dus mogelijk zowel directe als indirecte links met het voorkomen van wormen waardoor het kan lonen de kennis opgebouwd rond Oligochaeta ook in te zetten voor knijten.



Figuur 38: Tijdsverloop van totale biomassa op het slik (als AUC¹ van Figuur 41) en biomassa/m² voor hyperbenthische predatoren voor de Notelaer in de zomer van 2017. De aanduidingen van de maanden op de x-as geven de eerste dag van de maand weer.

Hyperbenthos en de ecosysteemshift?

Door de resultaten van het experiment, de monitoring en de isotopenstudie komt hyperbenthos duidelijk in beeld als groep die benthos kan onderdrukken tijdens de zomer en zo een – weliswaar in de tijd gescheiden – competitie met vogels uitoefenen. Ze zouden dus ook mee aan de basis van de ecosysteemshift kunnen liggen. Dit werd expliciet onderzocht aan de hand van trofische modellering met historische data. In deze modellen werd voorrang gegeven aan de organische vracht in de rivier, best weergegeven door de variabele BOD (*biological oxygen demand*). We vonden inderdaad een sterke correlatie tussen de afname in benthos en de afname in BOD. Het afnemen van (de kwaliteit van) de voedselbron (organisch materiaal) voor het benthos was waarschijnlijk een belangrijke oorzaak van de achteruitgang ervan. In overeenstemming hiermee zagen we in ons experiment hoe de biomassa benthos snel toenam bij toenemende sedimentatie, wat op voedsellimitatie wijst in de huidige situatie (*bottom-up* limitatie).

Naast het primordiale effect van BOD (organische vuilvracht) vonden we ook een additieve relatie tussen de opkomst van vis en de afname van de benthosbiomassa. De opkomst van vis werd op zijn beurt niet zozeer door BOD maar wel door zuurstof verklaard. Samengevat betekent dit dat de afname aan BOD op een gegeven ogenblik leidde tot een toename van zuurstof waardoor vis toenam en de rol als benthospredator kon opnemen, waardoor benthos (verder) afnam. In tegenstelling tot vis vertoonde hyperbenthos ten tijde van de ecosysteemshift geen aantoonbaar additief negatief verband met de afname van benthos. We vonden zelfs een tendens tot een positief verband met benthosdensiteiten wat er zou op kunnen wijzen dat hyperbenthos bij voorkeur verbleef op plaatsen met veel oligochaeten, zonder dat ze de biomassa ervan sterk deed afnemen.

Deze laatste resultaten verschillen van onze bevindingen over het huidige voedselweb. De meest waarschijnlijke hypothese over hoe de ecosysteemshift tot de huidige toestand leidde is dat door een afname van BOD de oligochaeten sterk zijn beginnen afnemen, maar dat bijkomend het verschijnen van vis het benthos verder (en versneld?) onderdrukte. Benthos was initieel talrijk en bovendien goed bereikbaar voor veel predatoren en wellicht hebben in het begin vrijwel alle aquatische predatoren opportunistisch op deze bron geteerd. Ondertussen, zoveel jaren later, zijn de densiteiten van

¹ AUC = Area Under the Curve

oligochaeten laag en foerageren vooral enkele gespecialiseerde benthivore soorten, brakwatergrondel, steurgarnaal en grijze garnaal, nog sterk op het benthos, wellicht periodisch aangevuld met andere soorten. Samen met juveniele bot (zie resultaten isotooponderzoek) grazen deze kleine predatoren op oligochaeten, maar blijktbaar zijn ze slechts in staat de grootste wormen te vangen waardoor een significant deel van de wormenpopulatie overblijft.

Het voedselweb

Ons voedselwebonderzoek met stabiele isotopen had als doel de grote lijnen van het voedselweb in de tijd in beeld te brengen. We konden op die manier de hierboven besproken trofische link tussen hyperbenthische predatoren en oligochaeten bevestigen. Daarnaast bleek dat de aasgarnaal *Neomysis integer*, een mogelijk belangrijke voedselbron voor vis in de besproken zone, wellicht niet zozeer op zoöplankton foerageert zoals eerder onderzoek heeft aangetoond, maar rechtstreeks op het fytoplankton (en wellicht overige POC). Hoger in het voedselweb kunnen we piscivore vissen onderscheiden van benthivore en zoöplanktivore soorten. Hoewel voor een aantal soorten (sprot, haring,...) de relatie tot hun voedselbron vrij duidelijk is, blijft er nog onzekerheid over een aantal andere vissoorten, en de al dan niet intermediaire rol die garnaalachtigen spelen in de transfer van benthische energie naar het pelagisch voedselweb. De grote variatie die we zien binnen soorten en de grote overlap tussen soorten kan zowel betekenen dat deze dieren mobiel zijn binnen het estuarium (en de zijrivieren), dat ze een mengeling van (of in de tijd verschillende) voedselbronnen gebruiken, of dat er trofisch gezien grote overlap zit in voedselgebruik van de verschillende vissoorten. Een mogelijk hypothese van een voedselweb voor het voorjaar ziet er dan uit als Figuur 37. Het oplossen van onzekere links kan gebeuren door bijkomende analyses van bestaande data, van bijkomende data van d^2H en gericht maagonderzoek van een aantal sleutelsoorten te toetsen aan de isotoopegegevens.

Deze studie richtte zich op de benthisch-pelagische link die zich tijdens de lente- en zomerperiode afspeelt. Daarin spelen watervogels geen rol van betekenis. Het blijft daarom gissen wat de rol van watervogels is in het (winterse) voedselweb van de Zeeschelde. De aanname is voorlopig nog dat zij foerageren op het benthos, maar dit is niet geheel zeker. Van oktober tot december is er een duidelijke afname in de biomassastock van oligochaeten, maar van december tot februari blijft deze op het slik van de Notelaer vrijwel constant (Figuur 42) hoewel er in de winterperiode waarschijnlijk nauwelijks aangroei van het benthos is. We weten ook niet of de huidige benthosdensiteiten boven de energetische ondergrens liggen voor rendabele predatie door watervogels, en welk deel van het benthos voor hen bereikbaar is. Mogelijk zijn de watervogels voor hun overwintering ook afhankelijk van bronnen buiten de rivier. Zo zijn de binnendijkse wetlands (oa. gerealiseerde en toekomstige Sigmagebieden) mogelijk belangrijke foerageergronden in de huidige toestand in combinatie met de slikken van de Zeeschelde. Anderzijds is het mogelijk dat watervogels met een opportunistische voedselkeuze (veel eendensoorten) in de huidige toestand andere voedselbronnen dan benthos in het estuarium gebruiken en bijvoorbeeld een meer herbivore voedselkeuze hebben.

Referenties

- Begon, M., C. R. Townsend, & J. L. Harper, 2005. *Ecology: from individuals to ecosystems*. Blackwell Pub, Malden.
- Breine, J., A. De Bruyn, L. Galle, I. Lambeens, Y. Maes, & G. Van Thuyne, 2017. Opgvolging van het visbestand in het Zeeschelde-estuarium: Viscampagnes 2016. Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek 2017 (20). .
- Brion, N., M. G. I. Andersson, M. Elskens, C. Diaconu, W. Baeyens, F. Dehairs, & J. J. Middelburg, 2008. Nitrogen cycling, retention and export in a eutrophic temperate macrotidal estuary. *Marine Ecology Progress Series* 357: 87–99.
- Bürckner, P.-C., 2017. Brms: An R Package for Bayesian Multilevel Models Using Stan. *Journal of Statistical Software* 80: 1–28.
- Canuel, E. A., & A. K. Hardison, 2016. Sources, Ages, and Alteration of Organic Matter in Estuaries. *Annual Review of Marine Science* 8: annurev – marine – 122414–034058, <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-marine-122414-034058>.
- Cox, T. J. S., T. Maris, K. Soetaert, D. J. Conley, S. Van Damme, P. Meire, J. J. Middelburg, M. Vos, & E. Struyf, 2009. A macro-tidal freshwater ecosystem recovering from hypereutrophication: the Schelde case study. *Biogeosciences* 6: 2935–2948.
- Cuveliers, E., M. Stevens, J. Guelinckx, F. Ollevier, J. Breine, & C. Belpaire, 2007. Opgvolging van het visbestand van de Zeeschelde: resultaten voor 2006. Studierapport in opdracht van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek. INBO.R.2007.48. .
- David, V., J. Selleslagh, A. Nowaczyk, S. Dubois, G. Bachelet, H. Blanchet, B. Gouillieux, N. Lavesque, M. Leconte, N. Savoye, B. Sautour, & J. Lobry, 2016. Estuarine habitats structure zooplankton communities: Implications for the pelagic trophic pathways. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 179: 99–111.
- De Brabandere, L., 2005. Autotrophic and heterotrophic food sources of copepods in the Scheldt estuary as traced by stable N and C isotopes. KULeuven.
- Estep, M. F., & H. Dabrowski, 1980. Tracing Food Webs with Stable Hydrogen Isotopes. *Science* 209: 1537–1538.
- Fernandez, I., N. Mahieu, & G. Cadisch, 2003. Carbon isotopic fractionation during decomposition of plant materials of different quality. *Global Biogeochemical Cycles* 17: n/a – n/a, <http://doi.wiley.com/10.1029/2001GB001834>.
- Finlay, J. C., R. R. Doucett, & C. Mcneely, 2010. Tracing energy flow in stream food webs using stable isotopes of hydrogen. *Freshwater Biology* 55: 941–951.
- Fockedeij, N., 2005. Diet and growth of *Neomysis integer* (Leach, 1814) (Crustacea, Mysidacea). UGent.
- Fry, B., 2013. Alternative approaches for solving underdetermined isotope mixing problems. *Marine Ecology Progress Series* 472: 1–13.
- Granberg, M. E., J. S. Gunnarsson, J. E. Hedman, R. Rosenberg, & P. Jonsson, 2008. Bioturbation-driven release of organic contaminants from Baltic Sea sediments mediated by the invading polychaete *Marenzelleria neglecta*. *Environmental Science and Technology* 42: 1058–1065.
- Guelinckx, J., J. Maes, P. Van Den Driessche, B. Geysen, F. Dehairs, & F. Ollevier, 2007. Changes in $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in different tissues of juvenile sand goby *Pomatoschistus minutus*: A laboratory diet-switch experiment. *Marine Ecology Progress Series* 341: 205–215.

- Hendrickx, P., 1997. Zaden in de Zeeschelde: eerste analyse van zaden onder verschillende schorvegetaties in slik en pelagiaal van het zoetwatergetijdengebied. Universiteit Gent.
- Holmes, R. T., J. C. Schultz, & P. Nothnagle, 1979. Bird Predation on Forest Insects: An Enclosure Experiment. *Science* 206: 462–463.
- Junkins, R., B. Kelaher, & J. Levinton, 2006. Contributions of adult oligochaete emigration and immigration in a dynamic soft-sediment community. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 330: 208–220.
- Lorenzen, C. J., 1967. Determination of chlorophyll and phaeo-pigments: spectrophotometric equations. *Limnology and Oceanography* 12: 343–346.
- Macintyre, H. L., & J. J. Cullen, 1996. Primary production by suspended and benthic microalgae in a turbid estuary : time-scales of variability in San Antonio Bay , Texas. *Marine Ecology Progress Series* 145: 245–268.
- Magni, P., N. Abe, & S. Montani, 2000. Quantification of microphytobenthos biomass in intertidal sediments: Layer-dependent variation of chlorophyll a content determined by spectrophotometric and HPLC methods. *Mer* 38: 57–63.
- Maris, T., & P. Meire, 2017. Onderzoek naar de gevolgen van het Sigmaplan, baggeractiviteiten en havenuitbreiding in de Zeeschelde op het milieu. Geïntegreerd eindverslag van het onderzoek verricht in 2016. Antwerpen.
- Marshall, J., J. Brooks, & K. Lajtha, 2007. Sources of variation in the stable isotopic composition of plants. *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science*. Blackwell Pub, Mande: 22–60, <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470691854.ch2/summary>.
- MCCune, B., & B. J. Grace, 2002. *Analysis of Ecological Communities*. MjM Software Design, Gleneden, OR.
- Millward, R. N., J. W. Fleeger, D. D. Reible, K. A. Keteles, B. P. Cunningham, & L. Zhang, 2001. Pyrene bioaccumulation, effects of pyrene exposure on particle-size selection, and fecal pyrene content in the oligochaete *Limnodrilus hoffmeisteri* (Tubificidae, Oligochaeta). *Environmental Toxicology and Chemistry* 20: 1359–1366.
- Muylaert, K., R. Dasseville, L. De Brabandere, F. Dehairs, & W. Vyverman, 2005. Dissolved organic carbon in the freshwater tidal reaches of the Schelde estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 64: 591–600.
- R Core Team, 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, <https://www.r-project.org/>.
- Reynoldson, T. B., 1987. The Role of Environmental Factors in the Ecology of Tubificid Oligochaetes : An Experimental Study. *Holarctic Ecology* 10: 241–248.
- Schneider, D. C., & B. A. Harrington, 1981. Timing of shorebird migration in relation to prey depletion. *The Auk* 98: 801–811.
- Seys, J., M. Vincx, & P. Meire, 1999. Macrobenthos van de Zeeschelde, met bijzonder aandacht voor het voorkomen en de rol van Oligochaeta. .
- Speybroeck, J., N. De Regge, J. Soors, T. Terrie, G. Van Ryckegem, A. Van Braeckel, & E. Van den Bergh, 2014. Monitoring van het macrobenthos van de Zeeschelde en haar getij-onderhevige zijrivieren (1999-2010). Beschrijvend overzicht van historische gegevens (1999, 2002, 2005) en eerste cyclus van nieuwe strategie (2008, 2009, 2010). Rapporten van het Instituut v. Brussel.
- Stevens, M., 2006. Intertidal and basin-wide habitat use of fishes in the Scheldt estuary. KULeuven, <https://lirias.kuleuven.be/handle/1979/475>.

- Stich, H. B., & A. Brinker, 2005. Less is better : Uncorrected versus pheopigment- corrected photometric chlorophyll-a estimation. *Archiv für Hydrobiologie* 162: 111–120.
- Thomas, G. J., 1982. Autumn and winterfeeding ecology of waterfowl at the Ouse Washes, England. *Journal of Zoology* 197: 131–172.
- Trudel, M., B. C. Weidel, S. R. Carpenter, J. F. Kitchell, & M. J. Vander Zanden, 2011. Rates and components of carbon turnover in fish muscle: insights from bioenergetics models and a whole lake ¹³C addition. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 68: 387–399.
- Valanko, S., A. Norkko, & J. Norkko, 2010. Strategies of post-larval dispersal in non-tidal soft-sediment communities. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology Elsevier B.V.* 384: 51–60, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jembe.2009.12.012>.
- Van Braeckel, A., L. De Neve, J. Speybroeck, E. Van den Bergh, J. Vanoverbeke, G. Van Ryckegem, et al., & (in prep.), (n.d.). Habitatmapping Zeeschelde slik. *Ecologie en ecotopen van de slikken*. .
- Van Ryckegem, G., N. De Regge, & E. Van den Bergh, 2006. Voedseleecologie en gedrag van overwinterende watervogels langs de Zeeschelde. Eenmethodologische studie. INBO.R.2006.28. Brussel.
- Van Ryckegem, G., A. Van Braeckel, R. Elsen, J. Speybroeck, B. Vandevoorde, W. Mertens, J. Breine, N. De Regge, J. Soors, P. Dhaluin, T. Terrie, F. Van Lierop, K. Hessel, M. Froidmont, & E. Van den Bergh, 2015. MONEOS – Geïntegreerd datarapport INBO : Toestand Zeeschelde 2014. Monitoringsoverzicht en 1ste lijnsrapportage geomorfologie, diversiteit habitats en diversiteit soorten. Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek. INBO.R.2015.8990774. Inst. Brussel.
- Van Ryckegem, G., A. Van Braeckel, R. Elsen, J. Speybroeck, B. Vandevoorde, W. Mertens, J. Breine, G. Spanoghe, D. Buerms, J. De Beukelaer, N. De Regge, K. Hessel, J. Soors, T. Terrie, F. Van Lierop, & E. Van Den Bergh, 2017. MONEOS – Geïntegreerd datarapport INBO : Toestand Zeeschelde 2016 Monitoringsoverzicht en 1ste lijnsrapportage Geomorfologie , diversiteit Habitats en diversiteit Soorten. Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek 2017 (37). Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel.
- Vander Zanden, M. J., M. K. Clayton, E. K. Moody, C. T. Solomon, & B. C. Weidel, 2015. Stable isotope turnover and half-life in animal tissues: A literature synthesis. *PLoS ONE* 10: 1–16.
- Ysebaert, T., K. Devos, A. Anselin, P. Meire, & E. Kuijken, 1998. Watervogels langs de Zeeschelde 1995/1996. Rapport Instituut voor Natuurbehoud 98/16. Brussel.
- Zhang, X., & X. Mei, 2015. Effects of benthic algae on release of soluble reactive phosphorus from sediments : a radioisotope tracing study. *Water Science and Engineering Elsevier Ltd* 8: 127–131, <http://dx.doi.org/10.1016/j.wse.2015.04.008>.

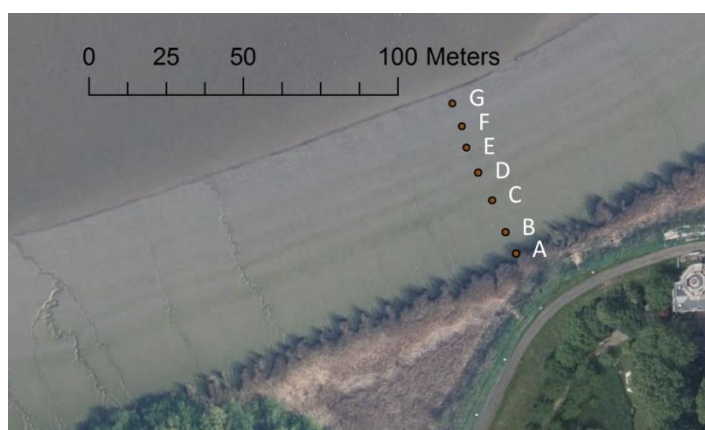
Bijlage 1: Monitoring benthos en hyper-/epibenthos op de Notelaer 2017

Ter ondersteuning van de onderzoeksluiken betreffende experimenteel onderzoek naar de benthisch-pelagische link en isotopenonderzoek naar trofische links in het voedselweb werd een monitoringsstudie opgezet op de studielocatie van de Notelaer. De rationale is dat doordat het voedselweb dynamisch is, er nood is aan inzicht in de temporele variatie in het benthos en zijn predatoren. Bovendien verwachtten wij in de experimentele studie een mogelijke invloed van wijzigende slikkwaliteit op het benthos. Door onderzoek te doen langsheen de raai en ook de slikparameters mee te nemen (zie verder) hopen we de hoedanigheid van deze relatie te leren kennen en zo de grootte van het effect in het experiment in te schatten. Ten slotte geeft de raai een algemener beeld van de aanwezigheid van benthos op het slik, wat ons helpt om de experimentele resultaten te veralgemenen. Hieronder volgt een beschrijving van de gevolgde methodes en de resultaten.

Methode

benthos

Een monitoringsraai werd opgezet op het slik van de Notelaer ter hoogte van paviljoen de Notelaer (Figuur 39). De zeven punten zijn maximaal over een dwarsraai op het slik verspreid volgens constante droogvalduurverschillen van iets minder dan 10% (Tabel 12). Deze 7 punten zijn maandelijks bemonsterd op dezelfde manier als de plots in het exclusie-experiment: 4 steekbuisstalen van 7 cm diepte. De datums van de staalnames staan in Tabel 3.



Figuur 39: Luchtfoto met rechtsmidden op het beeld paviljoen de Notelaer en bovenaan de Zeeschelde met brede slikzone. Op het slik werden 7 punten aangeduid (A-G) voor maandelijks monitoring van benthos. Het veldexperiment gebeurde ter hoogte van raai punt D.

Tabel 12: Raaipunten van de vaste monitoringsraai op de Notelaer, hun hoogteligging in meter TAW en hun gemiddelde percentage overspoelingsduur en droogvalduur.

raaipunt	mTAW 16/01/2017	OD%	DD%
G	0,427	11,79	88,21
F	1,013	21,47	78,53
E	1,565	30,60	69,4
D	2,166	40,53	59,47

C	2,735	49,93	50,07
B	3,308	59,40	40,6
A	3,775	67,12	32,88

De verwerking van de stalen in het labo verliep op identieke wijze als voor het experiment met één verschil: altijd zijn alle vier de steekbuisstalen per locatie uitgeteld. De stalen zijn verwerkt tot en met oktober 2017.

Tabel 13: Overzicht van de staalnamedatums van de monitoringsraai voor (hyper)benthos en abiotiek. Weergegeven is of stalen genomen zijn en of ze verwerkt werden.

Datum	Benthos & hyperbenthos staalname	Verwerkt hyperbenthos	Verwerkt benthos	Abiotiek staalname	Verwerkt?
16/01/2017	Ja	Ja	Ja	Nee	Nee
15/02/2017	Ja	Ja	Ja	Nee	Nee
13/03/2017	Ja	Ja	Nee	Nee	Nee
10/04/2017	Ja	Ja	Nee	Ja	Ja
22/05/2017	Ja	Ja	Nee	Nee	Nee
15/06/2017	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja
17/07/2017	Ja	Ja	Ja	Nee	Nee
10/08/2017	Ja	Ja	Ja	Nee	Nee
8/09/2017	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja
4/10/2017	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja
7/11/2017	Ja	Nee	Nee	Nee	Nee
5/12/2017	Ja	Nee	Nee	Ja	Ja

Hyperbenthos

Hyperbenthos werd verzameld op dezelfde wijze als tijdens het experiment naar de benthisch - pelagische koppeling. Twee verschillende methodes werden gebruikt; het bongonet en de benthische slee. Voor verdere uitleg: zie rapportonderdeel 2.2. Niet alle stalen werden verwerkt: voor staalnamedatums en informatie over staalverwerking, zie Tabel 13. De verwerking gebeurde volledig voor de stalen van januari en februari 2017, en onvolledig met focus op biomassa van de mogelijke benthospredatoren voor de overige stalen.

Omgevingsvariabelen

Tijdens de monitoringsperiode werd op vijf tijdstippen een bemonstering gedaan van omgevingsvariabelen (Tabel 13). Deze bemonstering hield dezelfde parameters in als bij het experiment naar de benthisch-pelagische koppeling: korrelgrootteverdeling, fractie organisch materiaal en densiteit van microfytobenthos. Deze laatste werd niet geanalyseerd voor de maanden april en december. De procedure voor staalname en verwerking waren gelijklopend met die voor het experiment, zie rapportonderdeel 2.2.

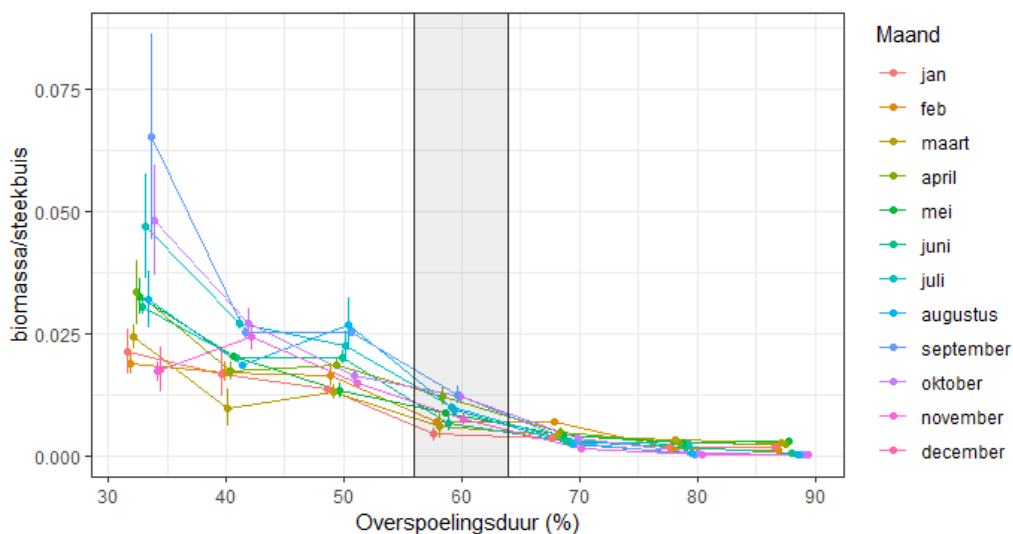
Resultaten

De onderstaande resultaten zijn monitoringsgegevens zijn bedoeld als ondersteunende variabelen bij het oligochaetenonderzoek en worden hier daarom niet apart geanalyseerd maar slechts beschrijvend weergegeven.

Benthos

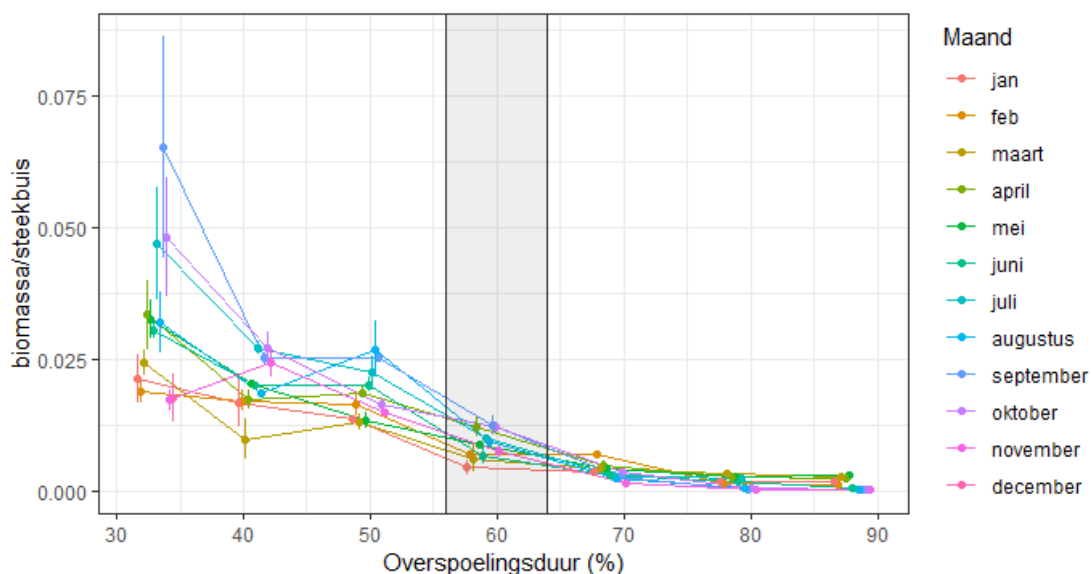
Het bemonsterde benthos op de Notelaer bestond vrijwel exclusief uit oligochaeten. Daarnaast waren er zeer lage aantallen nematoden, en enkele exemplaren van de polychaete worm *Marenzelleria neglecta*. Deze worm voedt zich met gesedimenteerd organisch materiaal (Granberg et al., 2008) en zou zo in competitie kunnen staan met lokale oligochaeten. De densiteit ervan was echter zeer laag en bovendien is ze uitsluitend zeer laag op het slik gevonden (raaipunten F en G), waar er zeer weinig oligochaeten zijn (zie verder). Omdat onze voornaamste aandacht uitgaat naar oligochaeten en omdat andere soorten weinig belangrijk lijken in het lokale voedselweb bespreken we verder alleen de oligochaeten.

De **densiteit aan oligochaeten** (Figuur 40) kende een sterk seizoenaal verloop met vrij lage aantallen in de periode januari tot en met april, vanaf mei stelselmatig toenemende densiteiten tot en met augustus, vervolgens blijven de aantallen nog vrij hoog in september en oktober maar dalen dan heel snel tot lage waarden vanaf november. Het patroon overheen de raai was echter vrijwel constant: hoge densiteiten bovenaan vooral in de bovenste drie locaties, dan een sterke daling (vooral tussen 50-60% overspoelingsduur) halverwege, waaronder de densiteiten tot enkelingen reduceren onderaan de raai. De toename in aantallen gebeurt in de bovenste vijf locaties; onderaan is er vrijwel geen seizoenaal patroon.



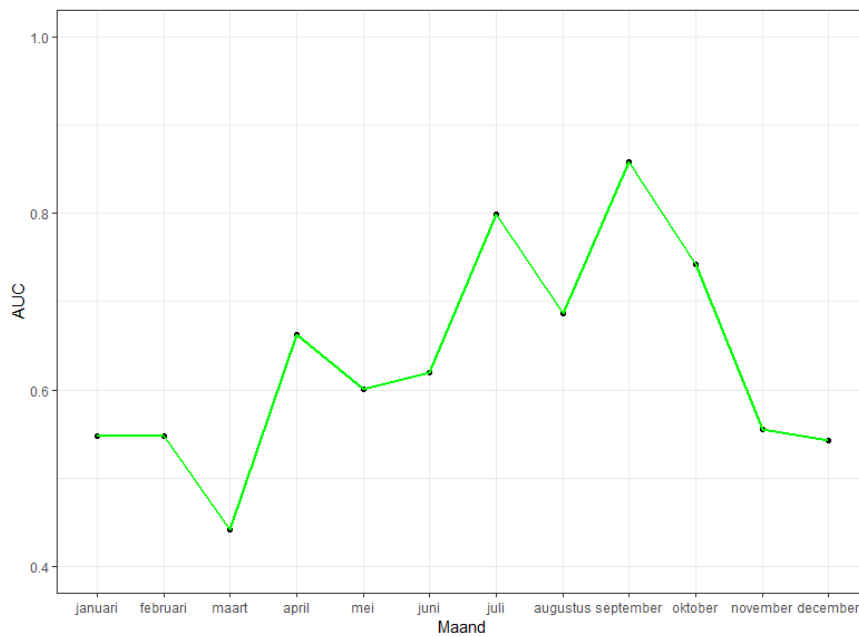
Figuur 40: Densiteit van oligochaeten op de punten van de monitoringsraai voor januari-december 2017. De ligging van de punten is uitgedrukt in overspoelingsduur (%). Van links naar rechts vinden we de punten A-G (zie ook Tabel 12). De weergegeven waarden zijn gemiddelden \pm 1SE. De hoogte waarop het veldexperiment gebeurde is grijs gekleurd.

Voor **biomassa** (asvrij drooggewicht, Figuur 41) is het patroon enigszins gelijklopend, maar de stijging overheen het seizoen is geleidelijker tot juli, waarna in augustus-oktober de biomassa nog opvallend toeneemt op de hoogste locaties A-C maar dan plots afneemt vanaf november. De bulk van de biomassa van oligochaeten bevindt zich bovenaan het slik boven de grens van 60% overspoelingsduur.



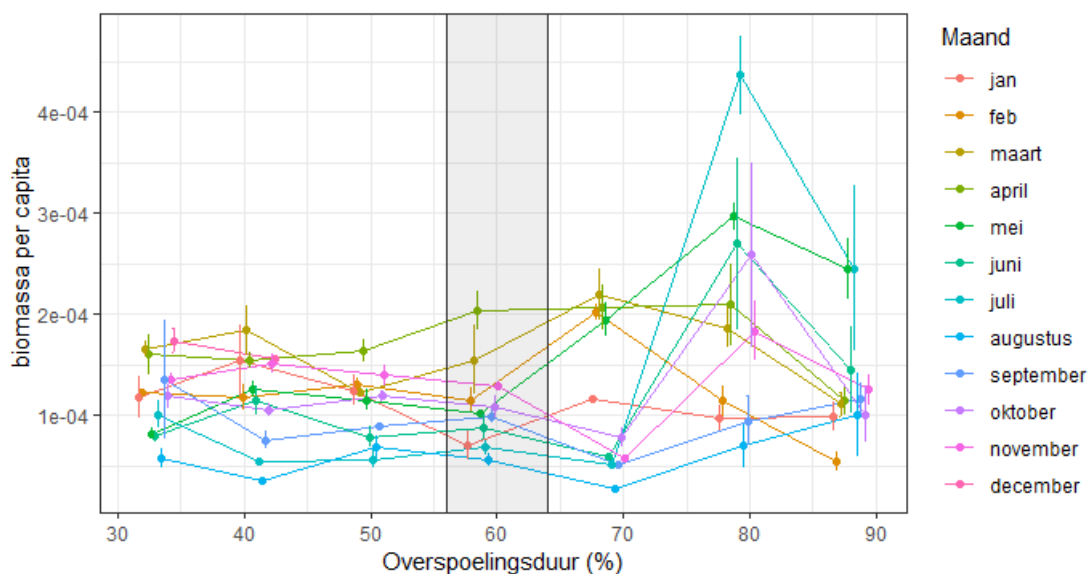
Figuur 41: Biomassa als asvrij drooggewicht (AFDW) van oligochaeten op de punten van de monitoringsraai voor januari-december 2017. De ligging van de punten is uitgedrukt in overspoelingsduur (%). Van links naar rechts vinden we de punten A-G (zie ook Tabel 12). De weergegeven waarden zijn gemiddelden \pm 1SE. De hoogte waarop het veldexperiment gebeurde is grijs gekleurd.

Om een zicht te krijgen op de totale aanwezige benthosbiomassa op het slik voor elk tijdstip berekenden we de *area under the curve* voor Figuur 41 rekening houdende met de afstand tussen de staalnamepunten (integratie over afstand). Het groeiseizoen van de oligochaeten loopt van april tot oktober. Van november tot maart is de biomassa vrij stabiel rond een vaste waarde, met uitzondering van een opvallende tijdelijke terugval in maart.



Figuur 42: AUC (*area under the curve*) voor benthosbiomassa in 2017 langs de raai op de Notelaer (Bornem).

De **biomassa per capita** is de gemiddelde biomassa per worm die verkregen wordt door de totale biomassa van een staal te delen door het aantal wormen in het staal (Figuur 43). Deze verhouding lijkt af te nemen naar de zomermaanden toe en weer af te nemen naar de winter. Het patroon overheen de raai is afwezig of eerder omgekeerd aan dat voor densiteiten en biomassa: bovenaan de raai tegen de schorrand aan is de biomassa per worm gelijk of lager dan onderaan het slik. Dit suggereert dat reproductie bovenaan het slik gebeurt. Dit zou dan ook verklaren waarom vooral op die hoogste locaties de biomassa per capita tijdelijk afneemt tijdens de zomermaanden; er komen dan grote aantallen kleine wormen bij waardoor de gemiddelde biomassa per capita daalt.



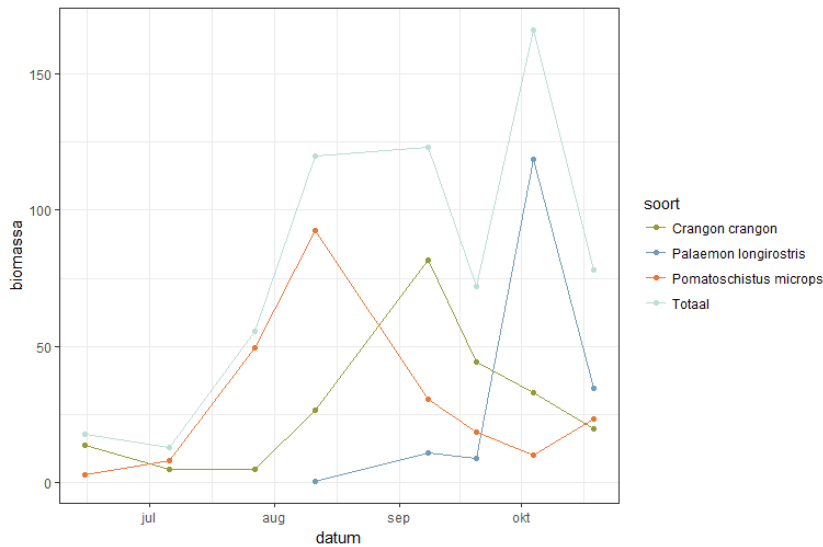
Figuur 43: Biomassa per capita van oligochaeten langsheen de monitoringsraai voor januari-december 2017. De ligging van de punten is uitgedrukt in overspoelingsduur (%). De weergegeven waarden zijn gemiddelden \pm 1SE. De hoogte waarop het veldexperiment gebeurde is grijs gekleurd.

Hyperbenthos

De hyperbenthosvangsten bestonden uit een breed scala aan ongewervelde en gewervelde soorten. We beperken de verdere bespreking tot drie soorten, grijze garnaal, steurgarnaal en brakwatergrondel, omdat vermoedelijk deze drie soorten in het bijzonder van belang zijn voor de overige projectonderdelen. Verder beperken we ons tot de periode juni-oktober – de periode waarin het grote veldexperiment naar de benthisch-pelagisch link liep. Omdat alle drie de soorten een grotendeels epibenthische levenswijze hebben is ervoor gekozen om enkel de gegevens van de benthische sleet te gebruiken: deze geeft een goed beeld van densiteiten van op het slik levende soorten.

In Figuur 44 zien we het verloop van de drie soorten. De densiteiten zijn uitgedrukt in biomassa (g) per sleepbeurt omdat dit een betere maat is om mogelijke predatiedruk van epibenthos weer te geven. Bij de aanvang van de periode, dit is bij de start van het grote experiment, was de biomassadensiteit aan epibenthische predatoren laag. Tijdens de experimentele periode vanaf half juli neemt de totale biomassa snel toe en blijft hoog tot op het einde van de periode. Deze verhoogde totale biomassa is het gevolg van drie opeenvolgende soortspecifieke piekdensiteiten: eerst voor brakwatergrondel, vervolgens voor grijze garnaal, en op het einde van de periode voor steurgarnaal.

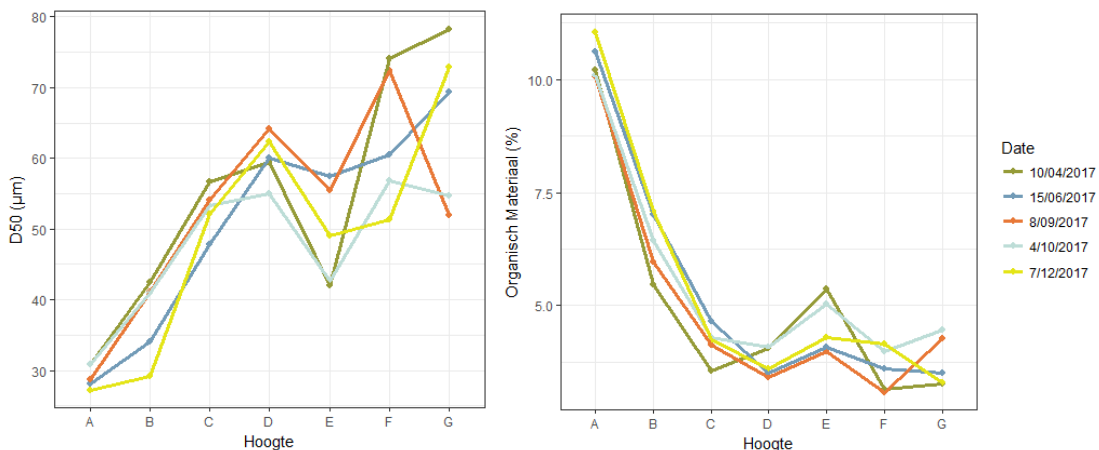
Op basis van deze gegevens lijken de belangrijkste potentiële predatoren voor oligochaeten tijdens het veldexperiment brakwatergrondel en grijze garnaal. Steurgarnaal was pas op het einde in grote biomassa aanwezig. Een belangrijke bedenking is echter dat deze vangsten gebeurden aan de laagwaterlijn, en dat we dus niet weten of al deze soorten het slik op bewegen om te foerageren. In een extra onderzoekje (resultaten niet getoond) gingen we dit na door fuiken op verschillende hoogtes op het slik te zetten. Daaruit bleek dat alle soorten tot boven aan de schorrand gevangen werden, maar ook dat het aandeel steurgarnalen dat tot boven migreerde veel groter was dan andere soorten, zelfs in die mate dat ze - uitgedrukt in biomassa – vaak de belangrijkste soort was op het slik.



Figuur 44: Biomassaverloop (g) voor drie epibenthische soorten: grijze garnaal (*Crangon crangon*), steurgarnaal (*Palaemon longirostris*) en brakwatergrondel (*Pomatoschistus microps*) en hun som (Totaal) gevangen met de benthische slee op de Notelaer.

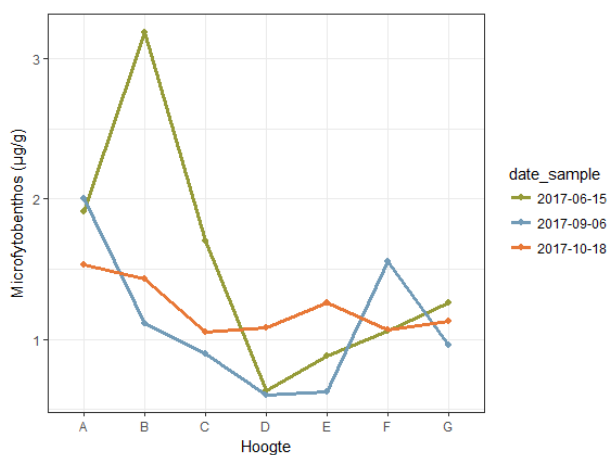
Abiotiek

De analyses voor korrelgrootteverdeling (we gebruiken als maat D50) en voor de fractie organisch materiaal tonen een sterk, vrijwel omgekeerd, patroon langsheen de raai (Figuur 45). De D50, de volumetrische mediane korrelgrootte, stijgt van ca. 30 μm (fijn slib, silt) naar 55-70 μm (zeer fijn zand) van bovenaan de schorrand tot onderaan bij de laagwaterlijn. Voor de fractie organisch materiaal vinden we net het omgekeerde patroon: de fractie daalt van ca. 10-12% bovenaan de schorrand tot 2-4% onderaan de laagwaterlijn. Dit zijn typische patronen die samenhangen met de verdeling van (maximale) stroomsnelheden overheen de bedding van de Zeeschelde en de ermee samengaande sedimentatie-erosie processen. Hoewel er enige temporele variatie is, blijven beide patronen grotendeels bewaard doorheen het jaar. Seizoensale variatie lijkt het grootst onderaan. Opmerkelijk is dat we voor beide patronen een “knik” vinden iets onder halverwege het slik. Dit wordt hier niet verder onderzocht, maar kan bijvoorbeeld te maken hebben met een topografische oneffenheid in de slikhelling.



Figuur 45: Korrelgrootteverdeling (D50, links) en fractie organisch materiaal (rechts) voor de verschillende raaipunten op de Notelaer voor vijf datums in 2017.

Ook de verdeling van de densiteit aan microfytobenthos overheen de raai kende een hoogteafhankelijk patroon. De densiteit was op alle tijdstippen bovenaan het hoogste. Onderaan zien we telkens weer een lichte of duidelijke toename in de densiteit van microfytobenthos. Dit kan een reëel patroon zijn waarbij in het zandigere substraat meer microfytobenthos afwezig is, maar kan ook omwille van een ophoping van afvloeiend microfytobenthos: op het steile en waterige deel van de slikhelling vloeit de toplaag langzaam naar onderen, en accumuleert onderaan waar de helling afvlakt. De interpretatie van het seizoenale patroon is niet opportuun met slechts 3 opnames, maar densiteiten lijken lager in het najaar.



Figuur 46: De densiteit van microfytobenthos voor de verschillende raaipunten op de Notelaer op drie datums in 2017.

Bijlage 2: Statistische resultaten experiment benthisch-pelagische koppeling

Densiteiten

Temporeel patroon

Bij het samenstellen van een geschikt model werden in de eerste plaats de experimentele behandelingen, de tijdsfactor en de plotID (als random) gebruikt, maar proberen we ook te corrigeren voor de ongewenste bij-effecten van de exclusures door de gemeten omgevingsvariabelen als covariaat in het model te steken. Alle omgevingsvariabelen zijn onderling zeer sterk gecorreleerd; ze volgen immers allemaal onrechtstreeks of rechtstreeks uit de veranderde sedimentatie-erosie. We kozen er daarom voor om één variabele aan het model toe te voegen. De keuze van deze variabele gebeurde door modelselectie uit te voeren op een set modellen met telkens een andere covariaat. De *leave-one-out* (loo) vergelijking van de modellen met verschillende covariabelen gaf onderstaand resultaat (Tabel 14). Alle paarsgewijze modelvergelijkingen met het model met de covariabele sedimentatiehoogte zijn negatief, wat erop wijst dat deze de laagste IC heeft en dus het optimale model is. Het verschil is echter nooit heel groot en bovendien binnen de marge van de onzekerheid, maar wel consistent voor verschillende model runs. Een model zonder covariaat heeft een (niet significant verschillende) nog iets betere LOOIC score, maar we verkiezen toch een model met covariaat omdat deze best de ecologische realiteit van het experiment vat en omdat dit een meer conservatieve benadering is (correctie voor artefacten). We werken daarom verder met het model met als covariaat sedimenthoogte. De resultaten van het model staan in Tabel 15, Figuur 47 en Figuur 15.

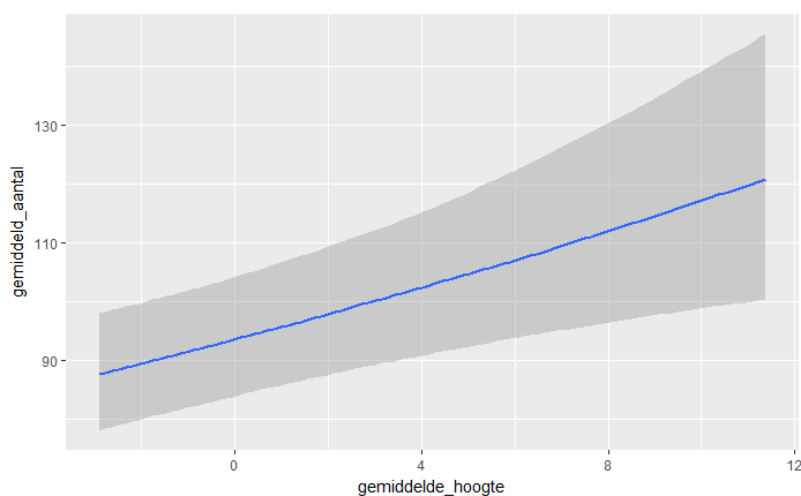
Tabel 14: Resultaten van modelvergelijking (loo) tussen modellen met verschillende covariabelen. Het Verschil in loo Information Criterion (looIC) en de standaardfout op dit verschil worden getoond. (OM% = % organisch materiaal, Sed = sedimentatiehoogte, MFB = microfytobenthos, D50 = mediane korrelgrootte).

Vergeleken modellen (op basis van covariabele)	Δ LOOIC	SE
Sed - D50	-22.95	15.22
Sed - OM%	-11.34	16.37
Sed - MFB	-14.63	16.48
OM% - MFB	-3.29	8.27
OM% - D50	-11.61	8.13
D50 - MFB	8.32	8.15

Tabel 15: Resultaten van de temporele analyse voor oligochaetendensiteiten. Details over model: zie in tabel.

Family: poisson
Links: mu = log
Formula: gemiddeld_aantal ~ gemiddelde_hoogte + Staalname * Treat_check + (1 Plot_Nr)
Data: analyse_data (Number of observations: 215)
Samples: 4 chains, each with iter = 2000; warmup = 1000; thin = 1;
total post-warmup samples = 4000
Group-Level Effects:
~Plot_Nr (Number of levels: 35)
Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Eff.Sample Rhat

sd(Intercept)	0.10	0.01	0.07	0.13	1433	1.00
Population-Level Effects:						
	Estimat	Est.Erro	l-95% CI	u-95%	Eff.Sampl	Rhat
Intercept	4.50	0.05	4.40	4.61	1409	1.00
gemiddelde_hoogte	0.02	0.01	0.01	0.04	1670	1.00
StaalnameT1	0.31	0.05	0.21	0.41	1641	1.00
StaalnameT3	0.37	0.05	0.28	0.48	1377	1.00
StaalnameT4	0.39	0.05	0.30	0.49	1363	1.00
StaalnameT5	0.26	0.05	0.16	0.36	1484	1.00
StaalnameT7	-0.03	0.06	-0.14	0.08	2254	1.00
Treat_check2M	-0.09	0.08	-0.24	0.06	1541	1.00
Treat_check13M	0.03	0.08	-0.11	0.18	1576	1.00
Treat_checkC2M	0.12	0.07	-0.03	0.26	1451	1.00
Treat_checkC13M	-0.05	0.08	-0.20	0.10	1631	1.01
StaalnameT1:Treat_check2M	0.17	0.08	0.02	0.33	1309	1.00
StaalnameT3:Treat_check2M	0.40	0.08	0.24	0.57	1168	1.01
StaalnameT4:Treat_check2M	0.01	0.09	-0.16	0.18	1205	1.00
StaalnameT5:Treat_check2M	0.14	0.09	-0.02	0.31	1249	1.01
StaalnameT7:Treat_check2M	0.04	0.09	-0.13	0.22	1310	1.00
StaalnameT1:Treat_check13M	-0.10	0.08	-0.25	0.05	1481	1.00
StaalnameT3:Treat_check13M	0.29	0.08	0.13	0.45	1208	1.00
StaalnameT4:Treat_check13M	0.24	0.08	0.08	0.40	1188	1.00
StaalnameT5:Treat_check13M	0.47	0.08	0.32	0.62	1194	1.00
StaalnameT7:Treat_check13M	0.44	0.09	0.27	0.61	1257	1.00
StaalnameT1:Treat_checkC2M	-0.10	0.07	-0.24	0.04	1628	1.00
StaalnameT3:Treat_checkC2M	0.18	0.07	0.03	0.32	1250	1.00
StaalnameT4:Treat_checkC2M	0.14	0.07	-0.01	0.28	1294	1.01
StaalnameT5:Treat_checkC2M	0.17	0.07	0.03	0.32	1323	1.01
StaalnameT7:Treat_checkC2M	0.43	0.08	0.28	0.58	1334	1.00
StaalnameT1:Treat_checkC13M	0.08	0.08	-0.07	0.23	1602	1.00
StaalnameT3:Treat_checkC13M	0.30	0.08	0.15	0.44	1366	1.00
StaalnameT4:Treat_checkC13M	0.24	0.08	0.09	0.38	1336	1.01
StaalnameT5:Treat_checkC13M	0.36	0.08	0.22	0.51	1387	1.01
StaalnameT7:Treat_checkC13M	0.63	0.08	0.47	0.78	1377	1.00



Figuur 47: Relatie en onzekerheid (95% betrouwbaarheidsinterval) tussen oligochaetendensiteit en gemiddelde sedimentatiehoogte gebaseerd op de *posterior* distributie.

Biomassa (asvrij drooggewicht)

Temporele analyse

De gevolgde procedure is analoog aan deze bij densiteiten. De modelvergelijkingen staan in Tabel 16.

Tabel 16: Resultaten van modelvergelijking (loo) tussen modellen met verschillende covariabelen voor het temporeel model van biomassa. Het verschil in loo Information Criterion (looIC) en de standaardfout op dit verschil worden getoond. (OM% = % organisch materiaal, Sed = sedimentatiehoogte, MFB = microfytobenthos, D50 = mediane korrelgrootte).

Vergeleken modellen (op basis van covariabele)	Δ LOOIC	SE
sed – MFB	3.47	3.74
sed – om	0.26	1.98
sed - D50	0.86	2.27
MFB – om	-3.21	3.70
MFB - D50	-2.62	4.10
om - D50	0.59	3.09

In dit geval geeft het model met als covariaat microfytobenthos het beste resultaat, al is het verschil met andere modellen niet significant. Het model heeft ook een betere score dan het model zonder covariaat (resultaat niet getoond). De keuze voor microfytobenthos als covariaat is vreemd omdat ze niet ecologisch te verantwoorden valt bij oligochaeten die geen levend microfytobenthos eten, al is het wel zo dat onze microfytobenthosmaat ook algendetritus meeneemt. Maar de gevonden correlatie is net negatief: er is een lagere oligochaetendensiteit bij hogere microfytobenthos concentraties. Hiervoor bestaat geen valabele ecologische uitleg. De reden is waarschijnlijk dat microfytobenthos vooral talrijk was bij de start van het experiment en later wat afnam terwijl oligochaetenbiomassa net toenam. Dit verband lijkt ons dan ook eerder ontstaan uit een seizoenaal patroon en een toevalligheid. Bij de overige modellen liggen het model met organisch materiaal en sedimenthoogte dicht bij elkaar; omwille van consistentie kiezen we opnieuw voor sedimentatiehoogte als covariaat.

De modelresultaten zijn weergegeven in Tabel 17 en Figuur 17.

De correlatie tussen sedimentatiehoogte en oligochaetenbiomassa is negatief, zij het niet significant.

Tabel 17: Resultaten van de temporele analyse voor oligochaetenbiomassa. Details over model: zie tabel.

Family: gamma						
Links: $\mu = \log$; shape =						
Formula: $\text{gemiddeld_afd} \sim \text{Staalname} * \text{Treat_check} + \text{gemiddelde_hoogte} + (1 \text{Plot_Nr})$						
Data: analyse_data (Number of observations: 214)						
Samples: 4 chains, each with iter = 2000; warmup = 1000; thin = 1; total post-warmup samples = 4000						
Group-Level Effects:						
~Plot_Nr (Number of levels: 35)						
	Estimate	Est.Error	l-95% CI	u-95% CI	Eff.Sample	Rhat
sd(Intercept)	0.03	0.02	0.00	0.07	1789	1.00
Population-Level Effects:						
	Estimate	Est.Error	l-95% CI	u-95% CI	Eff.Sample	Rhat

Intercept	1.91	0.07	1.78	2.05	1384	1.00
StaalnameT1	0.21	0.10	0.01	0.41	2131	1.00
StaalnameT3	0.37	0.10	0.18	0.56	1733	1.00
StaalnameT4	0.53	0.10	0.33	0.72	1740	1.00
StaalnameT5	0.47	0.10	0.28	0.67	1890	1.00
StaalnameT7	0.49	0.10	0.28	0.69	2418	1.00
Treat_check2M	-0.08	0.10	-0.29	0.11	1963	1.00
Treat_check13M	-0.12	0.10	-0.31	0.08	1804	1.00
Treat_checkC2M	0.10	0.10	-0.09	0.30	1739	1.00
Treat_checkC13M	0.03	0.10	-0.17	0.23	1705	1.00
gemiddelde_hoogte	-0.01	0.01	-0.03	0.02	2672	1.00
StaalnameT1:Treat_check2M	0.43	0.16	0.13	0.74	2021	1.00
StaalnameT3:Treat_check2M	0.89	0.16	0.57	1.21	1819	1.00
StaalnameT4:Treat_check2M	0.66	0.16	0.35	0.99	1779	1.00
StaalnameT5:Treat_check2M	0.99	0.16	0.67	1.31	1896	1.00
StaalnameT7:Treat_check2M	0.88	0.16	0.56	1.20	1790	1.00
StaalnameT1:Treat_check13M	0.34	0.15	0.04	0.64	1891	1.00
StaalnameT3:Treat_check13M	0.43	0.16	0.13	0.74	1691	1.00
StaalnameT4:Treat_check13M	0.49	0.16	0.18	0.80	1589	1.00
StaalnameT5:Treat_check13M	0.69	0.16	0.37	0.99	1754	1.00
StaalnameT7:Treat_check13M	0.65	0.16	0.33	0.96	1777	1.00
StaalnameT1:Treat_checkC2M	-0.01	0.15	-0.31	0.27	2195	1.00
StaalnameT3:Treat_checkC2M	0.31	0.15	0.03	0.60	1920	1.00
StaalnameT4:Treat_checkC2M	0.15	0.15	-0.14	0.45	1778	1.00
StaalnameT5:Treat_checkC2M	0.29	0.15	0.00	0.58	1772	1.00
StaalnameT7:Treat_checkC2M	0.43	0.15	0.13	0.74	1888	1.00
StaalnameT1:Treat_checkC13M	0.09	0.15	-0.20	0.39	2211	1.00
StaalnameT3:Treat_checkC13M	0.43	0.15	0.15	0.73	1670	1.00
StaalnameT4:Treat_checkC13M	0.33	0.15	0.04	0.63	1891	1.00
StaalnameT5:Treat_checkC13M	0.35	0.15	0.05	0.64	1754	1.00
StaalnameT7:Treat_checkC13M	0.55	0.15	0.25	0.84	1705	1.00

Biomassa per capita (asvrij drooggewicht)

Uit de modelvergelijkingen komt het model met sedimentatiehoogte er als beste uit (Tabel 18), een stuk beter ook dan het model zonder covariaat (niet getoond).

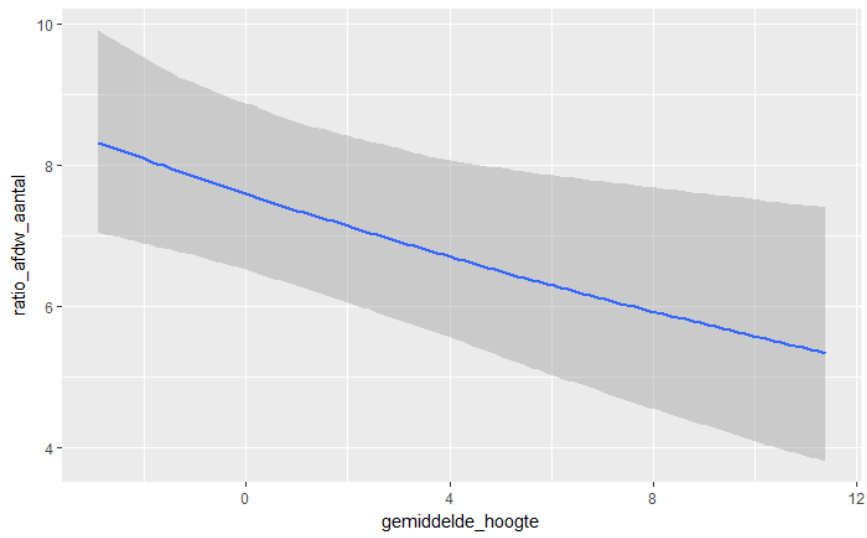
Tabel 18: Resultaten van modelvergelijking (loo) tussen modellen met verschillende covariabelen voor het temporeel model van biomassa per capita. Het verschil in loo Information Criterion (looIC) en de standaardfout op dit verschil worden getoond. (OM% = % organisch materiaal, Sed = sedimentatiehoogte, MFB = microfytobenthos, D50 = mediane korrelgrootte).

Vergeleken modellen (op basis van covariabele)	Δ LOOIC	SE
sed – MFB	-4.40	4.98
sed – om	-6.16	4.92
sed - D50	-6.37	4.54
MFB – om	-1.77	3.57
MFB - D50	-1.97	3.44
om - D50	-0.20	3.20

De resultaten van het model staan in Tabel 19 en Figuur 19 en Figuur 48.

Tabel 19: Resultaten van de temporele analyse voor oligochaetenbiomassa-per-capita. Details over model: zie tabel.

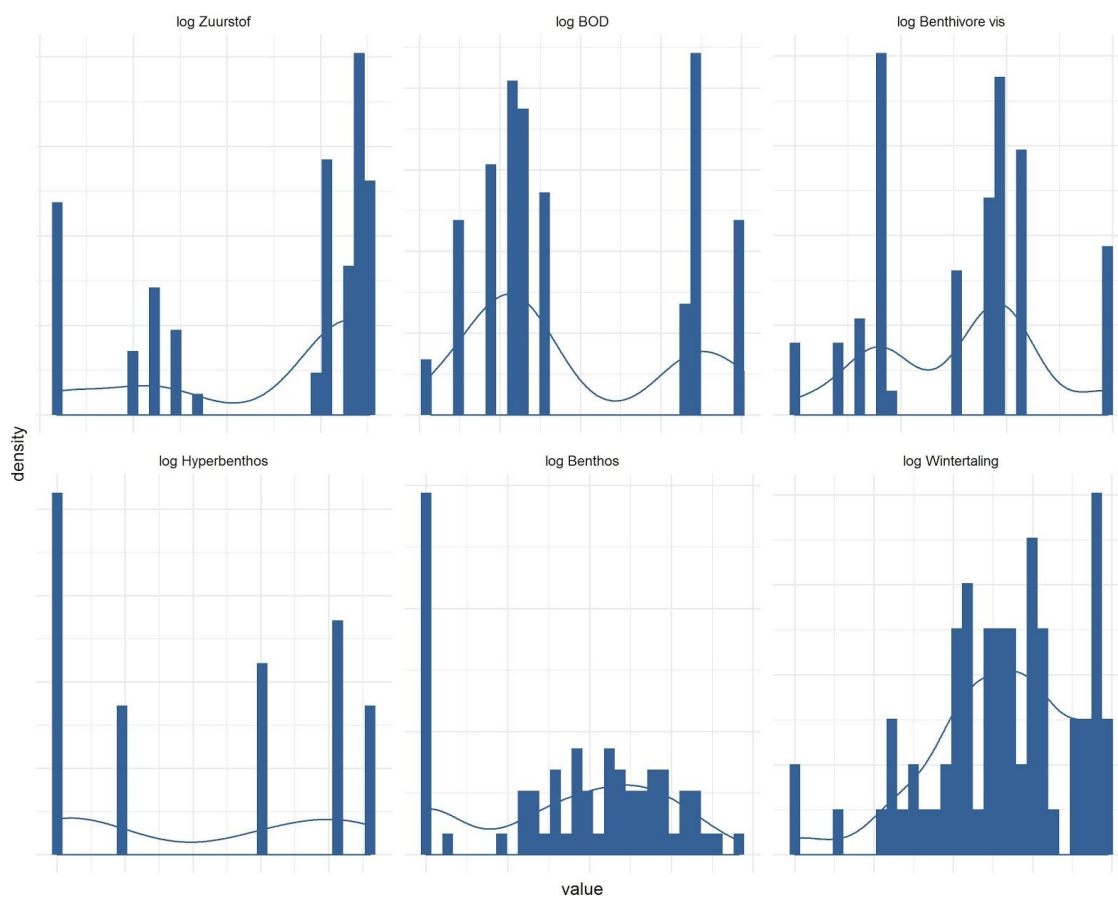
Family: gamma						
Links: mu = log; shape = identity						
Formula: ratio_afdw_aantal ~ Staalname * Treat_check + gemiddelde_hoogte + (1 Plot_Nr)						
Data: analyse_data (Number of observations: 214)						
Samples: 4 chains, each with iter = 2000; warmup = 1000; thin = 1;						
total post-warmup samples = 4000						
Group-Level Effects:						
~Plot_Nr (Number of levels: 35)						
	Estimate	Est.Error	l-95% CI	u-95% CI	Eff.Sample	Rhat
sd(Intercept)	0.04	0.03	0.00	0.10	1150	1.01
Population-Level Effects:						
	Estimate	Est.Error	l-95% CI	u-95% CI	Eff.Sample	Rhat
Intercept	2.03	0.08	1.88	2.18	741	1.00
StaalnameT1	-0.13	0.11	-0.35	0.10	1160	1.00
StaalnameT3	-0.00	0.11	-0.21	0.21	978	1.00
StaalnameT4	0.11	0.11	-0.10	0.31	915	1.00
StaalnameT5	0.20	0.11	-0.01	0.42	1098	1.00
StaalnameT7	0.50	0.12	0.27	0.73	1480	1.00
Treat_check2M	-0.02	0.11	-0.25	0.21	979	1.00
Treat_check13M	-0.15	0.12	-0.38	0.07	1118	1.00
Treat_checkC2M	-0.03	0.12	-0.25	0.19	988	1.00
Treat_checkC13M	0.07	0.11	-0.15	0.30	1055	1.00
gemiddelde_hoogte	-0.03	0.01	-0.06	-0.01	2596	1.00
StaalnameT1:Treat_check2M	0.31	0.17	-0.03	0.65	1182	1.00
StaalnameT3:Treat_check2M	0.52	0.17	0.18	0.86	981	1.00
StaalnameT4:Treat_check2M	0.75	0.18	0.40	1.11	1119	1.00
StaalnameT5:Treat_check2M	0.90	0.18	0.55	1.26	1125	1.00
StaalnameT7:Treat_check2M	0.91	0.18	0.57	1.25	986	1.00
StaalnameT1:Treat_check13M	0.46	0.16	0.14	0.77	1305	1.00
StaalnameT3:Treat_check13M	0.16	0.18	-0.18	0.50	1125	1.00
StaalnameT4:Treat_check13M	0.26	0.18	-0.07	0.62	1127	1.00
StaalnameT5:Treat_check13M	0.23	0.17	-0.10	0.56	1234	1.00
StaalnameT7:Treat_check13M	0.24	0.18	-0.10	0.58	1177	1.00
StaalnameT1:Treat_checkC2M	0.12	0.16	-0.20	0.44	1207	1.00
StaalnameT3:Treat_checkC2M	0.17	0.16	-0.14	0.48	1063	1.00
StaalnameT4:Treat_checkC2M	0.06	0.16	-0.25	0.39	1030	1.00
StaalnameT5:Treat_checkC2M	0.17	0.16	-0.14	0.49	1080	1.00
StaalnameT7:Treat_checkC2M	0.06	0.17	-0.27	0.38	1019	1.00
StaalnameT1:Treat_checkC13M	0.09	0.16	-0.23	0.41	1315	1.00
StaalnameT3:Treat_checkC13M	0.13	0.17	-0.19	0.46	1144	1.00
StaalnameT4:Treat_checkC13M	0.12	0.16	-0.21	0.45	1065	1.00
StaalnameT5:Treat_checkC13M	0.03	0.16	-0.30	0.35	1231	1.00
StaalnameT7:Treat_checkC13M	-0.04	0.17	-0.36	0.28	1061	1.00



Figuur 48: Relatie en onzekerheid (95% betrouwbaarheidsinterval) tussen oligochaetenbiomassa-per-capita en gemiddelde sedimentatiehoogte gebaseerd op de *posterior* distributie.

Bijlage 3: bijlagen bij de lineaire regressies van hoofdstuk 3: Onderzoek naar de mogelijke rol van trofische relaties bij de ecosysteemshift

Distributies van getransformeerde variabelen



Figuur 49: Distributies van de in de lineaire regressies gebruikte variabelen na log-transformatie.