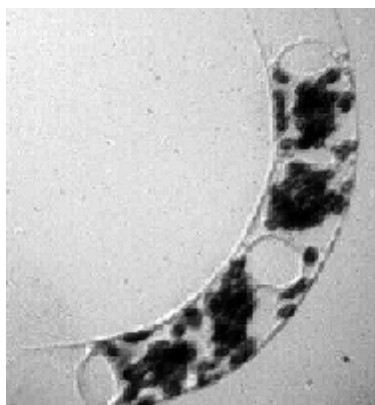


Flowcytometrie fytoplanktonmonitoring 2002b

Evaluatie van flowcytometrie fytoplanktonmonitoring
juli t/m december 2002



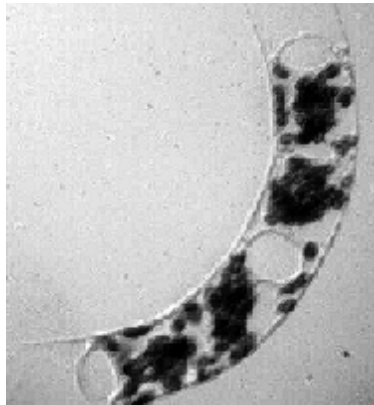
Rapport RIKZ/2003.15

Februari 2003

**A. Sandee
T.P.A. Rutten
A.R.T. Hofman**

Flowcytometrie fytoplanktonmonitoring 2002b

Evaluatie van flowcytometrie fytoplanktonmonitoring
juli t/m december 2002



Rapport RIKZ/2003.15

Februari 2003

**A. Sandee
T.P.A. Rutten
A.R.T. Hofman**

Inhoudsopgave

Inhoudsopgave	2
Samenvatting	4
1. Inleiding	6
1.1 Dit verslag	6
1.2 Wat is nieuw in dit rapport ?	7
2. Materialen en Methoden	8
2.1 Beschrijving gehanteerde materialen en methoden	8
2.2 Uitwerken gegevens	8
2.2.1 Globale trends	8
2.2.2 Vergelijking met microscopie	9
3. Resultaten	10
3.1 Noordwijk 10	10
3.1.1 Algemene trends	10
3.1.2 Flowcytometrische fytoplankton concentraties	12
3.1.3 Snelle microscopische analyse	16
3.1.4 Fytoplanktonconcentratie van deeltjes > 10 µm	17
3.2 Noordwijk 2	18
3.2.1 Algemene trends	18
3.2.2 Flowcytometrische fytoplankton concentraties	20
3.2.3 Snelle microscopische analyse	24
3.2.4 Fytoplanktonconcentratie van deeltjes > 10 µm	25
3.3 Terschelling 135	26
3.3.1 Algemene trends	26
3.3.2 Flowcytometrische fytoplankton concentraties	28
3.3.3 Snelle microscopische analyse	32
3.3.4 Fytoplanktonconcentratie van deeltjes > 10 µm	33
3.4 Schaar van ouden Doel	34
3.4.1 Algemene trends	34
3.4.2 Flowcytometrische fytoplankton concentraties	35
3.4.3 Fytoplanktonconcentratie van deeltjes > 10 µm	39
3.5 Vlissingen	40
3.5.1 Algemene trends	40
3.5.2 Flowcytometrische fytoplankton concentraties	41
3.5.3 Fytoplanktonconcentratie van deeltjes > 10 µm	45
3.6 Zijpe	46
3.6.1 Algemene trends	46
3.6.2 Flowcytometrische fytoplankton concentraties	47
3.6.3 Fytoplanktonconcentratie van deeltjes > 10 µm	51

4. Discussie	52
4.1 Lange termijn data	52
4.1.1 Lange termijn data Noordwijk10	52
4.1.2 Lange termijn data Noordwijk 2	56
4.1.3 Lange termijn data Terschelling 135	60
4.1.4 Lange termijn data Schaar van Ouden Doel	64
4.1.5 Lange termijn data Vlissingen	68
4.1.6 Lange termijn data Zijpe	72
4.2 Een kwantitatieve vergelijking tussen jaargangen en lokaties	76
4.2.1 Een vergelijking tussen jaargangen	76
4.2.2 Een vergelijking tussen lokaties	79
4.2.3 Een vergelijking tussen jaren en lokaties van de maximale waarden	79
4.2.4 Conclusie	81
4.3 Vergelijking microscoop- en flowcytometertellingen 2001	82
4.3.1 Resultaten Noordwijk 10	82
4.3.2 Resultaten Noordwijk 2	84
4.3.3 Resultaten Zijpe	84
4.3.3 Conclusie	86
4.4 Relatie flowcytometrische analyses van alle deeltjes en de zwevend stof analyses en het doorzicht	87
4.4.1 Zwevendstofgehalte versus lin PLS/ml	87
4.4.2 Doorzicht versus PLS-concentratie	89
4.4.3 Conclusie	89
4.5 Innovatieve ontwikkelingen	91
4.5.1 CYTOPSA	91
4.5.2 Inleiding	91
4.5.3 Opzet pulse shape analyses	91
4.5.4 Van signaalkarakteristieken naar algen	93
4.5.5 Resultaten	93
4.5.6 Conclusie	94
5. Conclusies	95
6. Referenties	97

Samenvatting

Als onderdeel van het programma Monitoring Waterstaatkundige Toestand des Lands (MWTL) worden in de projecten MON*BIOLOGIE en TNWMILLAB op een zestal lokaties fytoplanktonanalyses met behulp van flowcytometrie uitgevoerd.

De geanalyseerde lokaties zijn Noordwijk 2 en 10 en Terschelling 135 (allen Noordzee), Schaar van Ouden Doel en Vlissingen (beiden Westerschelde) en Zijpe (Oosterschelde).

Per lokatie zijn de fytoplankton concentraties, het biovolume, de biomassa en de concentratie deeltjes met oranje en rode fluorescentie gemeten en onderverdeeld in grootteklassen.

In dit rapport worden de resultaten van de periode juli tot en met december 2002 gerapporteerd en besproken als ook de evaluatie van 2002 gegevens ten opzichte van resultaten uit 2000 en 2001 waarbij geconstateerde trends nader belicht worden. Een belangrijk onderdeel is tevens de evaluatie van de flowcytometrische analyseresultaten van de periode 2000 – 2002 waarbij via lange termijn overzichten aanwezige trends duidelijk in beeld worden gebracht.

De totale autotrofe deeltjesconcentraties op de Noordzeelokaties Noordwijk 2 en 10 zijn in 2002 fors lager ten opzichte van 2001 en 2000. Een verklaring hiervoor volgt uit het lange termijn overzicht waaruit blijkt dat de bloei van kleine oranje fluorescerende deeltjes (*Synechococcus*) wel in 2000 en 2001 maar niet in 2002 optrad. Terschelling 135 en Schaar van Ouden Doel laten in 2002 een lichte daling zien t.o.v. 2000 en 2001. Hierbij valt op dat het verloop van de totaalconcentratie op Schaar van Ouden Doel zeer gelijkmatig is gedurende de periode 2000 t/m 2002. De totaalconcentraties op Vlissingen en Zijpe zijn in 2002 licht gestegen t.o.v. de twee voorgaande jaren. Het lange termijn overzicht voor Zijpe laat zien dat de stijging op deze lokatie toegeschreven kan worden aan een bloei van kleine deeltjes die eind augustus 2002 plaats vond en ontbrak in 2000 en 2001.

Voor Noordwijk 2 en 10 geldt dat de gecumuleerde totale biomassa-concentratie in 2002 een stuk lager (resp. –53% en –35%) is dan in 2001 maar duidelijk hoger (resp. +49% en +25%) dan in 2000. Op Terschelling 135 is de totale biomassa in 2002 iets lager dan in 2001 maar ruim 2 keer zo hoog dan in 2000. De lokaties Vlissingen en Schaar van Ouden Doel vertonen een stijgende lijn vanaf 2000 terwijl de totale biomassa op de lokatie Zijpe in 2002 ca. 30% lager is t.o.v. 2000 en 2001.

De lange termijn overzichten (2000 t/m 2002) van de biomassa laten voor alle lokaties bepaalde trends zien. Op Noordwijk 2 en 10 begint de biomassa toe te nemen vanaf maart en wordt vervolgens tot en met september voor een aanzienlijk deel bepaald door grote (100 – 1000 µm) deeltjes. Op Terschelling 135 worden elk jaar biomassapieken gemeten in april/mei en in oktober terwijl in de tussenliggende periode de biomassa laag is. In bijna alle gevallen wordt de biomassa bepaald door kleine (<100 µm) deeltjes. Bij de Ooster- en westerscheldelokaties valt op dat de grootte van de deeltjes die bepalend zijn voor de biomassa per lokatie verschilt: op Schaar van Ouden

Doel zijn dit vooral de deeltjes tussen 0 en 150 µm, op Zijpe de deeltjes tussen 0 en 300 µm en op Vlissingen de deeltjes tussen 0 en 1000 µm.

Uit een vergelijking tussen microscooptellingen en flowcytometrietellingen voor Noordwijk 10, Noordwijk 2 en zijpe in 2001 blijkt dat er zeer goede overeenkomsten zijn in het totaalconcentratieverloop met correlaties(R^2) van 0,73(Zijpe), 0,87(Noordwijk 10) en 0,96(Noordwijk2). De data dient dan wel op een juiste manier met elkaar vergeleken te worden nl. bij flowcytometrie moet de fractie kleiner dan 10 µm worden weggelaten terwijl de microscopische tellingen gecorrigeerd moeten worden voor ketenvormers en onbepaalde algen.

In de eerste 6 maanden van 2002 zijn, naast de standaard analyses, de monsters geconcentreerd door ze over 10 µm gaas te filtreren. Dit werd gedaan omdat er door de dominantie van kleine deeltjes relatief weinig grotere fytoplanktondeeltjes geteld werden. Aangezien filtratie tot een aanzienlijk celverlies(gemiddeld 65%) leidde is in het tweede deel van het jaar gekozen voor een andere strategie. Van de ongeconcentreerde monsters zijn meer tellingen uitgevoerd zodat er relatief ook meer grotere deeltjes opgeslagen zijn. De goede overeenkomsten met microscopische tellingen tonen aan dat de concentraties van deeltjes >10 µm die in de ongeconcentreerde monsters gemeten worden representatiever zijn voor de >10 µm fractie dan de concentraties zoals die gemeten werden na filtratie over 10 µm gaas.

De relatie tussen flowcytometrische analyses van alle deeltjes en de zwevend stof analyses is onderzocht. Er is een redelijk lineair verband($R^2=0,70$) tussen het lin PLS/ml en het zwevendstofgehalte. Bij de omrekening van linPLS/ml naar zwevendstofgehalte moet echter rekening worden gehouden met een vrij grote fout waardoor deze parameter slechts als indicatieve waarde bruikbaar is. Het verband tussen het doorzicht en de totaalconcentratie van alle deeltjes is matig. Het linPLS/ml gehalte in combinatie met de totaalconcentratie van alle deeltjes geeft wel een indicatie over het doordringen van zonlicht in het zeewater.

De plaagalg *Phaeocystis*, die in 2001 nog een duidelijke bloei veroorzaakte, speelde dit jaar geen rol van betekenis.

1. Inleiding

1.1 Dit verslag

De resultaten van de fytoplanktonanalyses uit de periode van juli tot en met december 2002, die met behulp van flowcytometrie zijn uitgevoerd, worden in dit rapport gerapporteerd en besproken. Binnen het MWTL programma is gedurende drie jaar gemonitord op een zestal lokaties in het kader van de projecten TNWMILLAB en MON*BIOLOGIE. De flowcytometer analyses zijn uitgevoerd met de European Optical Plankton Analyzer nieuwe stijl (EurOPA n.s.). Eerder verschenen al de rapportages van de jaargangen 2000, 2001 en de eerste helft van 2002 (Rapport RIKZ 2001.034 en de rapporten RIKZ/2003.012, 2003.013 en 2003.014). Deze evaluerende schriftelijke rapportage over de tweede helft van 2002 geeft een overzicht van de meest opvallende resultaten en is een korte evaluatie van de fytoplankton-monitoringresultaten, die al beschikbaar waren via een website voor de interne RIKZ-gebruiker (binnen 48 uur na monsternamen).

Het **doel** van de fytoplanktonmonitoring is hieronder samengevat:

- *de invloed van het menselijk handelen op het ecosysteem op de lange termijn kwalitatief (soortensamenstelling) dan wel kwantitatief (biomassa, (soorten)concentraties) vast te stellen.*
- *het verkrijgen van informatie over de in de Nederlandse wateren voorkomende giftige algensoorten of soorten die plagen of bloeien veroorzaken, zoals bijvoorbeeld de 'schuimvormer' Phaeocystis sp.*

De bevindingen van fytoplanktonmonitoring binnen het MWTL-programma vormen een **drietraps-rapportage**.

- Een zeer snelle rapportage van monitoringsgegevens binnen 48 uur, welke via een website bekeken kan worden (flowcytometrie en snelle tellijst microscopie)
- Een halfjaarlijkse uitgebreidere evaluerende rapportage van de eerste of tweede helft van een kalenderjaar (flowcytometrie, snelle microscopie welke binnen twee maanden verschijnt)
- Een uitgebreide éénjaarlijkse rapportage fytoplankton (microscopie).

1.2 Wat is nieuw in dit rapport?

In dit rapport wordt naast de gebruikelijke halfjaarlijkse rapportage en toelichting bij de gestapelde staafdiagrammen van totaalconcentraties en biomassa een aantal onderwerpen uitvoeriger toegelicht.

Er zijn voor elke lokatie lange termijn overzichten gemaakt van de totaalconcentratie autotrofe deeltjes, de totaalconcentratie autotrofe deeltjes > 10 µm en de biomassa. Er is gekeken naar trends binnen de datasets en opvallende verschillen tussen jaargangen en lokaties.

Vervolgens is een kwantitatieve vergelijking gemaakt van de flowcytometer-resultaten tussen de jaargangen 2000, 2001 en 2002 die tevens per lokatie geëvalueerd is.

Voor de lokaties Noordwijk 2, Noordwijk10 en Zijpe is een vergelijking tussen de microscopische tellijsten en de flowcytometer resultaten(fracties >10 µm) gemaakt . Nieuw is dat hierbij de invloed van een aantal correcties voor de microscopische tellijsten op de gemeten totaalconcentraties fytoplankton zijn onderzocht. De tellijsten zijn gecorrigeerd voor het aantal cellen in getelde ketens(terug gerekend naar aantal ketens) en voor de gemeten onbepaalde algen(niet meegeteld).

Tenslotte is de relatie onderzocht tussen flowcytometrische analyses van alle(autotrofe en heterotrofe) deeltjes en zwevend stof analyses en het doorzicht.

2. Materialen en Methoden

2.1 Beschrijving gehanteerde materialen en methoden

De gehanteerde methoden en gebruikte materialen ten behoeve van de analyses uit de periode juli tot en met december 2002 zijn beschreven in het rapport van de flowcytometrische halfjaarlijkse rapportage januari-juni 2001 (RIKZ/2003.012). Er zijn echter een aantal wijziging doorgevoerd.

Ter calibratie van de flowcytometer zijn de chlorofylbollen(FCSC) sinds juli 2002 vervangen door Molecular Probes bollen(AlignFlow, flow cytometry alignment beads 2.5 μm for 633 excitation). Deze bollen hebben een hogere FRR-fluorescentie waardoor een betere uitlijning van de rode(HeNe) laser mogelijk is.

Vanaf 1 juli 2002 zijn de monsters niet meer voorgeconcentreerd. Aangezien er nogal wat celverlies plaats vond t.g.v. het concentreren(zie rapport RIKZ/2003.014) zijn nu meer tellingen van het ongeconcentreerde monster gedaan om het numerieke dominantie effect te verkleinen. Afhankelijk van de concentratie zijn zo veel mogelijk deeltjes opgeslagen met een maximum van 40000.

2.2 Uitwerken gegevens

Van elke analyse wordt een geautomatiseerde standaardrapportage gemaakt en zijn de rapportages en grafieken van de resultaten via een webbrowser per lokatie te bekijken via W:\flowcyto\aktueel\monitoring.htm. Van alle lokaties zijn ook de fracties < 10 μm verwijderd uit de dataset en is verder gerekend met de overgebleven dataset voor de concentratiefractiegrootteverdeling. In dit rapport wordt voorafgaand aan de presentatie van de resultaten per lokatie een korte samenvattende beschrijving gegeven, waarin de algemene trends beschreven zijn.

2.2.1 Globale trends

De globale trends in 2003 worden uitgesplitst in een aantal grafieken:

- de concentraties van deeltjes met chlorofyl-a uitgesplitst in 17 groottefracties (n/ml.fractie)
- de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentraties van deeltjes met chlorofyl-a uitgesplitst in 17 groottefracties ($\% \frac{n.\text{fractie}}{n_{\text{totaal}}}$)
- de concentraties chlorofyl-a/ml (biomassa) uitgesplitst in 17 groottefracties (linFGR/ml.fractie)
- de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentratie chlorofyl-a/ml uitgesplitst in 17 groottefracties ($\% \frac{\text{linFGR/ml.fractie}}{\text{totaal-linFGR/ml}}$)
- de concentraties biovolume (van deeltjes met chlorofyl-a)/ml uitgesplitst in 17 groottefracties (linFLS/ml.fractie)

-
- de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentratie biovolume/ml uitgesplitst in 17 groottefracties ($\% \text{linFLS/ml.fractie/totaal-linFLS/ml}$)
 - de concentraties van deeltjes met chlorofyl-a ÈN fycobiliproteïnen uitgesplitst in 17 groottefracties ($n_{(\text{FGR}>0\&\text{FGO}>0)}/\text{ml.fractie}$)
 - de concentraties van deeltjes met chlorofyl-a, chlorofyl-b ÈN fycocyanine uitgesplitst in 17 groottefracties ($n_{(\text{FGR}>0\&\text{FGO}>0)}/\text{ml.fractie}$)
 - de concentraties van gefractioneerde/geconcentreerde deeltjes groter dan 10 μm met chlorofyl-a uitgesplitst in 15 groottefracties ($n/\text{ml.fractie}$)

2.2.2 Vergelijking met microscopie

Een globaal overzicht van de abundante numerieke deeltjes, die gevonden zijn met de snelle microscopische methode zijn in een tabel gepresenteerd.

Resultaten

3.1 Noordwijk 10

3.1.1 Algemene trends

De **totaalconcentratie autotrofe deeltjes** wordt hoofdzakelijk bepaald door de kleinere deeltjes ($<10\ \mu\text{m}$). Het totaalconcentratieverloop wordt in de weken 27 t/m 34, evenals in de eerste helft van 2002, gekenmerkt door relatief lage concentraties rond de 5000 d/ml. In week 35 en 36 worden hogere concentraties (ca. 20000 d/ml) gevonden veroorzaakt door een bloei van *Chaetoceros socialis*. In 2001 was er in dezelfde periode eveneens een bloei van deze alg. Ten opzichte van 2001 valt verder op dat de bloei van kleine deeltjes in juli nu uitblijft. De hoogste concentratie die nu gevonden wordt bedraagt 23000 d/ml (week 36) t.o.v. van 170000 (week 28) in 2001.

In de monsters waaruit de fracties <5 en $5-10\ \mu\text{m}$ verwijderd zijn wordt de hoogste concentratie ook in week 36 gevonden (7800 d/ml). In week 28 is de bijdrage van deeltjes $>10\ \mu\text{m}$ aan de totaalconcentratie het grootst nl. 72%. Ook in de weken 31 en 33 is de bijdrage duidelijk aanwezig met ca. 50%. In de overige weken varieert het percentage tussen 23% en 42% m.u.v. het laagste percentage, 12%, dat in december gemeten wordt.

De **biomassa** heeft in de tweede helft van het jaar zijn hoogste waarde ($2,7 \times 10^9$ au) in week 27. Het relatieve aandeel van grote deeltjes is zeer hoog in deze week en in de weken 29 en 38. De resultaten van de snelle microscopische analyses tonen aan dat m.n. de soorten *Rhizosolenia delicatula* en *Rhizosolenia shrubsolei* in deze monsters dominant aanwezig zijn. Uit de grafiek met het concentratieverloop van autotrofe deeltjes groter dan $10\ \mu\text{m}$ blijkt echter dat het absolute aandeel van deze grote deeltjes gering is. In de weken 28 t/m 38 is de biomassa een stuk lager en varieert tussen $0,4$ en $1,3 \times 10^9$ au. In het laatste kwartaal van het jaar worden zeer lage biomassa's gevonden. De biomassa heeft ten opzichte van 2001, m.u.v. van de hoge waarde in week 27, een vergelijkbaar verloop.

Het verloop van het **biovolume**, uitgedrukt in de linFLS/ml parameter, toont grote overeenkomst met het verloop van de totaalconcentratie. De bijdrage van de grotere deeltjes aan het biovolume is groter t.o.v. hun bijdrage aan het concentratieverloop maar kleiner dan hun aandeel in de biomassa.

De hoogste **concentratie deeltjes met fycobiliproteinen** (oranje fluorescerend vooral afkomstig van het pigment fycoerithrine) worden in week 35 en 36 gevonden (ca 8500 d/ml) en wordt vooral bepaald door deeltjes $<5\ \mu\text{m}$. Het verloop van deze deeltjes vertoont ook een sterke overeenkomst met het verloop van de totaalconcentratie autotrofe deeltjes. I.t.t. 2001 is er dit jaar geen bloei van kleine oranje fluorescerende deeltjes gemeten.

De **concentratie deeltjes met fycocyanine-chlorofyl-b** vertoont ook in week 35 en 36 de hoogste waarden. Het verloop van deze deeltjes vertoont evenals de oranje fluorescerende deeltjes een sterke overeenkomst met het verloop van de totaalconcentratie autotrofe deeltjes.

*Uit de resultaten van de **microscopische tellijsten** blijkt dat de volgende soorten op Noordwijk 10 in de periode juli t/m december dominant (>10%) voorkwamen:*

Chaetoceros soorten(wk 31-36)

Delphninea minutissima(wk38-51)

Detonula pumila(wk 28)

Dinophysis(wk38)

Guinardia flaccida(wk 30-31)

Gymnodinium chlorophorum(wk 36)

Leptocylindricus minimus(wk 33)

Paralia marina(wk 42-51)

Phaeocystis flagellata en kolonie(wk 28)

Pseudonitzschia fraudulenta(wk30)

Pseudonitzschia pungens cf (wk 31)

Rhizosolenia delicatula(wk 27, 29-30 en 38)

Rhizosolenia shrubsolei(wk 27 en 29)

Rhizosolenia stolterfothii(wk 38)

Thalassionema nitzschioides(wk42)

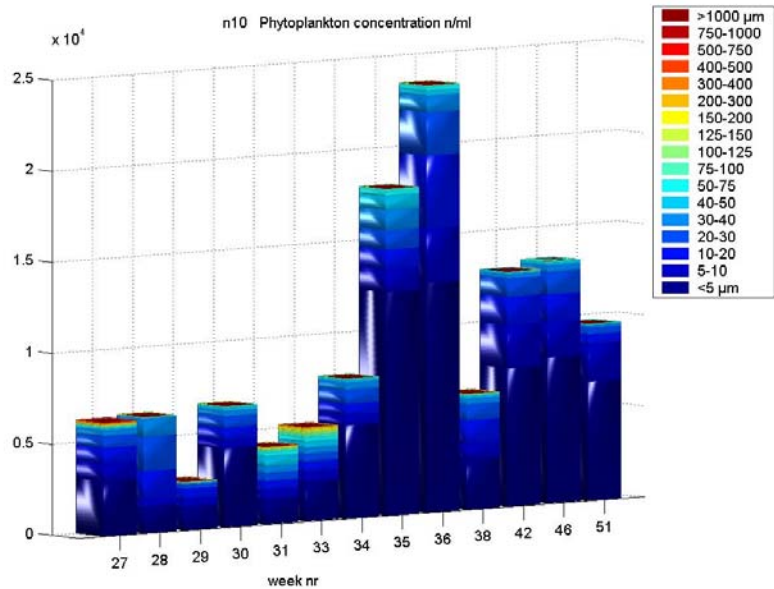
Thalassiosira <30 μ m (wk 30, 34, 24-51).

De concentratie van deeltjes >10 μ m, die bepaald zijn uit flowcytometrische gegevens, varieert in deze periode tussen 350/ml en 7800/ml.

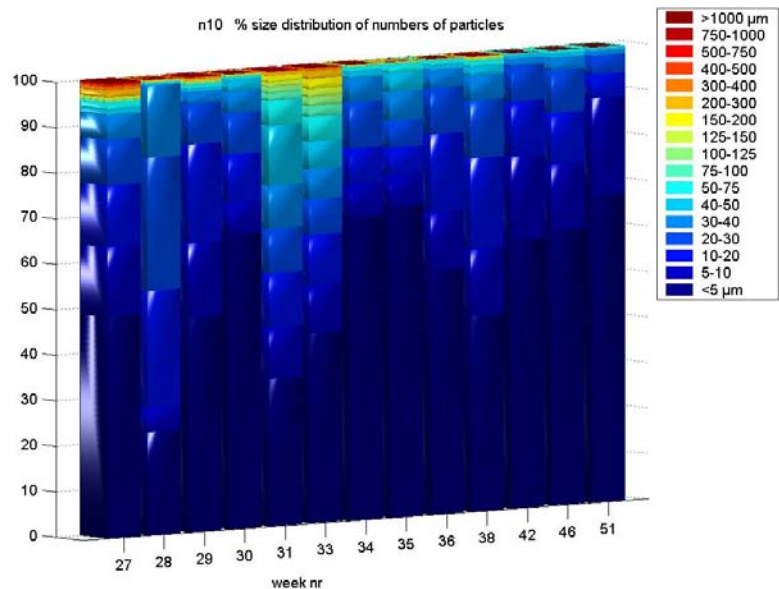
3.1.2 Flowcytometrische fytoplanktonconcentraties Noordwijk 10

Fytoplanktonconcentratie: de totaalconcentraties van deeltjes met chlorofyl-a zijn uitgesplitst in 17 groottefracties (deeltjes/ml.fractie) in FIGUUR 3.1.1 en de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentraties van deeltjes met chlorofyl-a uitgesplitst in 17 groottefracties ($\% \text{ n.fractie}/\text{n}_{\text{totaal}}$) in FIGUUR 3.1.2.

FIGUUR 3.1.1
Concentratie autotrofe
deeltjes (met chlorofyl-a)
per lengtefractie

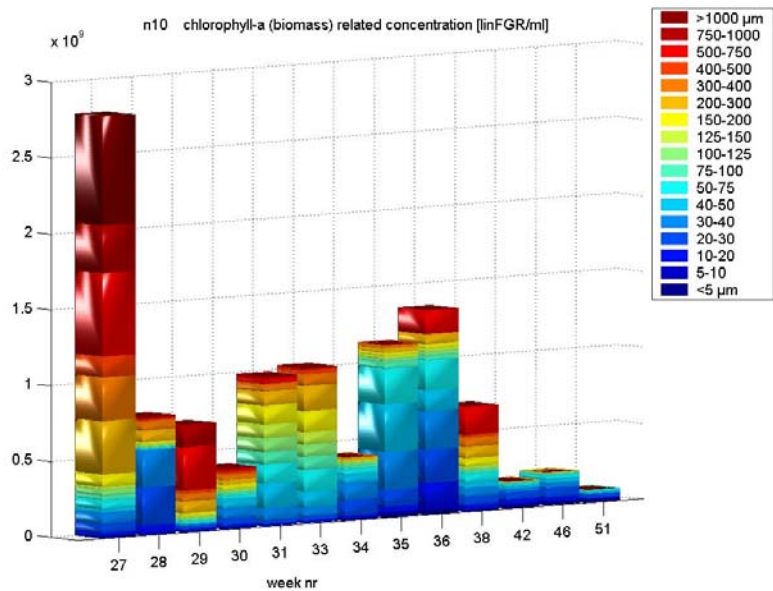


FIGUUR 3.1.2
Concentratie autotrofe
deeltjes (met chlorofyl-a)
per lengtefractie



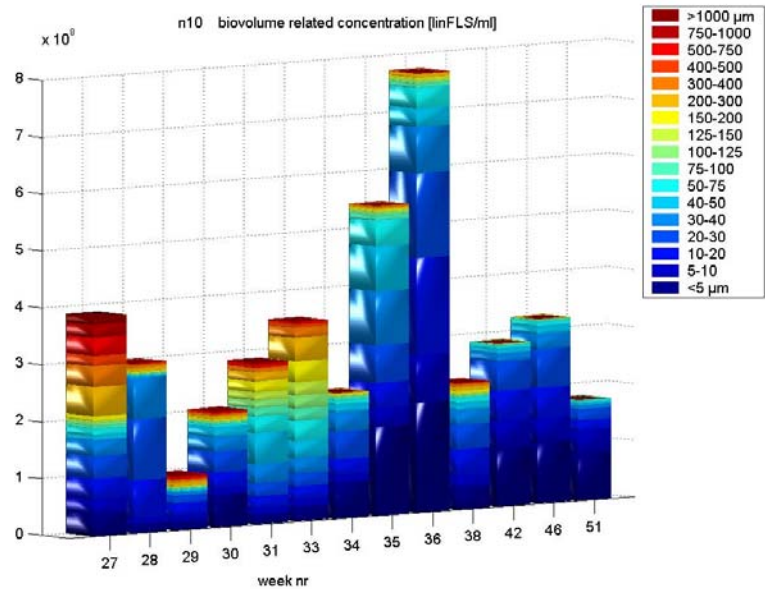
De **chlorofyl-a/ml concentraties** (biomassa) of flowcytometrische linFGR/ml variabele is uitgesplitst in 17 groottefracties (linFGR/ml.fractie) (FIGUUR 3.1.3) en de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentratie chlorofyl-a/ml uitgesplitst in 17 groottefracties (% linFGR/ml.fractie/totaal-linFGR/ml) in FIGUUR 3.1.4.

FIGUUR 3.1.3
Totale LinFGR/mL
(chlorofyl-a/m l) per
lengtefractie



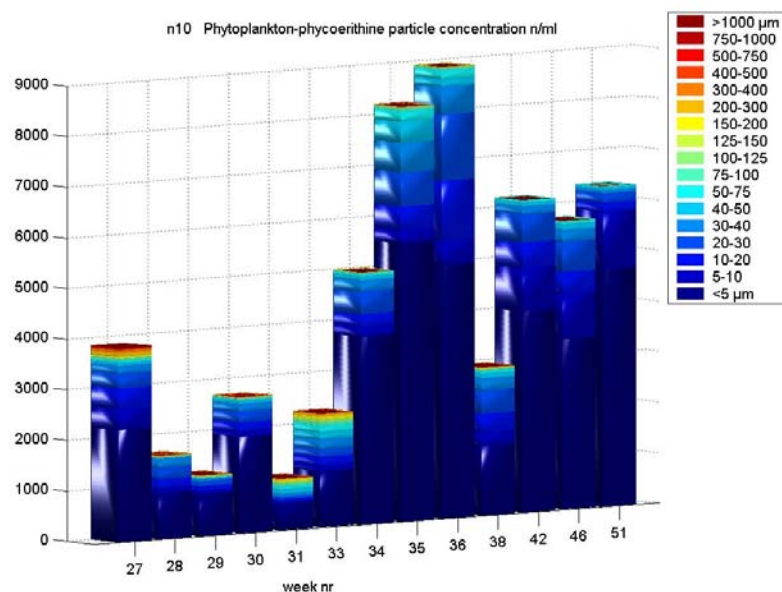
De **biovolumeconcentraties** (van deeltjes met chlorofyl-a)/ml uitgesplitst in 17 groottefracties (linFLS/ml.fractie) is weergegeven in FIGUUR 3.1.5 en de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentratie biovolume/ml uitgesplitst in 17 groottefracties (% linFLS/ml.fractie/totaal-linFLS/ml) in FIGUUR 3.1.6.

FIGUUR 3.1.5
Totale LinFLS/ml per
lengtefractie Noordwijk 10

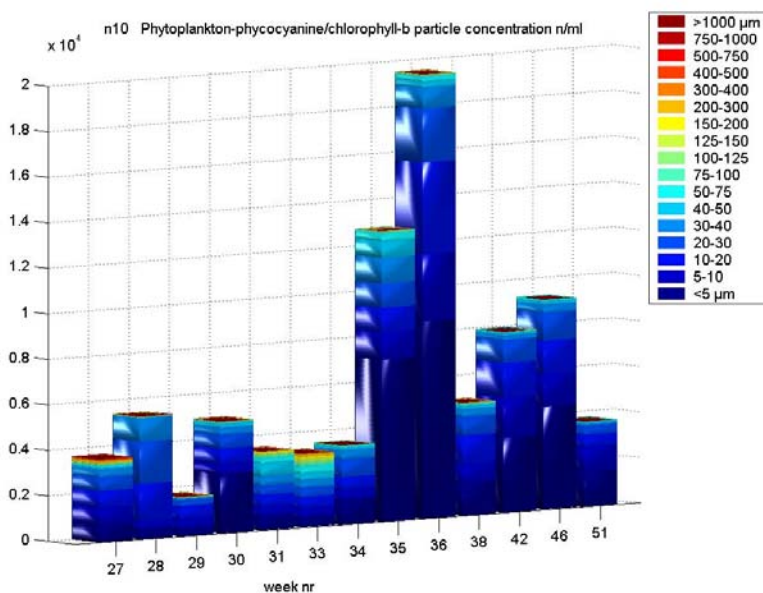


De concentraties van deeltjes met chlorofyl-a EN **fycobilliproteinen** uitgesplitst in 17 groottefracties ($n_{(FGR>0 \& FGO>0)}$ /ml.fractie) is gepresenteerd in FIGUUR 3.1.7 en de concentraties van deeltjes met chlorofyl-a EN **fycocyaninen-chlorofyl-b** in FIGUUR 3.1.8.

FIGUUR 3.1.7
Absolute
deeltjesconcentratie van
deeltjes met FGR & FGO



FIGUUR 3.1.8
Absolute
deeltjesconcentratie van
deeltjes met FGR & FRR



3.1.3 Snelle microscopische analyse

De resultaten van de snelle microscopische tellingen over de tweede helft van 2002 zijn samengevoegd in onderstaande tabel 3.1. De plussen in de tabel geven aan in welke mate deeltjes gevonden zijn waarbij drie klassen onderscheiden worden: '+++>10% (meer dan 10 van de 100), '++>5% en <10%, '+'>2% en <5%.

TABEL 3.1

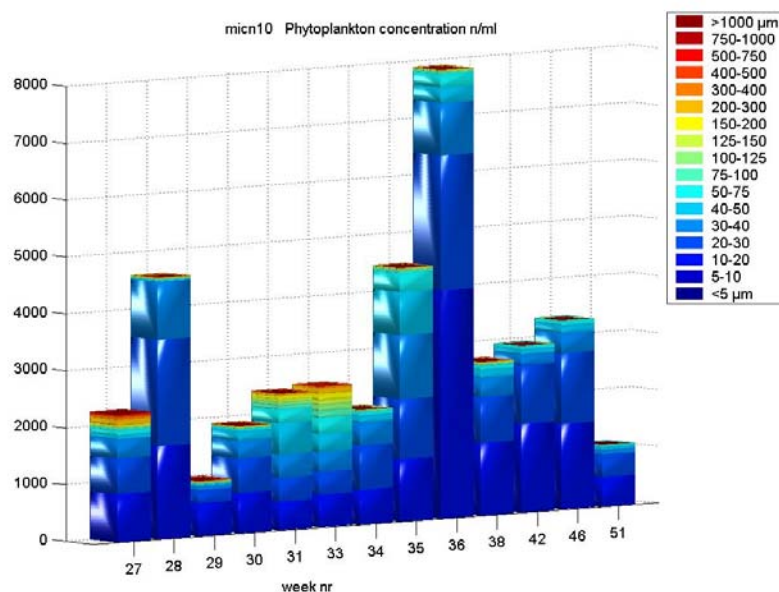
Resultaten van de
snelle microscopische
tellingen

NOORDWIJK 10 - 2002	Week no.												
Algensoort	27	28	29	30	31	33	34	35	36	38	42	46	51
Actionoptychus senarius											+		
Brockmanniella brockmannii											++	++	+
Ceratium fusus		+	+	+				+					
Chaetoceros	+					+			+				
Chaetoceros costatus					+	++				</			

3.1.4 Fytoplanktonconcentratie van deeltjes groter dan 10 µm

De flowcytometrische totaalconcentraties van deeltjes met chlorofyl-a > 10 µm zijn uitgesplitst in 15 groottefracties (deeltjes/ml.fractie) in FIGUUR 3.1.9, waarbij de fracties < 5 µm en 5-10 µm verwijderd zijn uit de dataset. De legenda laat nog wel de fracties <5 en 5-10 µm zien, maar de eerste balk in de figuur is de fractie deeltjes 10-20 µm. Dit is gedaan om de kleur per fractie niet te laten veranderen ten opzichte van andere grafieken.

FIGUUR 3.1.9
Absolute
deeltjesconcentratie van
deeltjes **groter dan 10 µm**
met FGR (chlorofyl-a)



3.2 Noordwijk 2

3.2.1 Algemene trends

De **concentratie autotrofe deeltjes** op Noordwijk 2 vertoont een ander verloop als op Noordwijk 10. In juli wordt de hoogste concentratie gevonden (ca. 20000 d/ml) terwijl in de daaropvolgende maanden de concentratie varieert tussen de 7000 en 17000 d/ml. Er worden vooral kleine deeltjes gemeten met als uitzondering week 33 waarin relatief meer grote deeltjes worden gemeten. In vergelijking met 2001 valt op dat, i.t.t. de situatie op Noordwijk 10, de hoogste concentratie in dezelfde periode (juli) gemeten wordt. In 2001 was er echter nog sprake van een bloei van kleine deeltjes (110000 d/ml) terwijl nu slechts een iets hogere concentratie gemeten wordt.

In de monsters waaruit de fracties $< 10 \mu\text{m}$ verwijderd zijn wordt de hoogste concentratie ook in juli gevonden (9000 d/ml) en is in de periode daarna een vergelijkbaar verloop te zien met de totaalconcentratie. Het percentage deeltjes $> 10 \mu\text{m}$ is gemiddeld 47% in de weken 30 t/m 33 en gemiddeld 27% in de periode daarna.

De **biomassa** (linFGR/ml) heeft in de tweede helft van 2002 de hoogste waarden in juli en augustus. In deze periode worden relatief veel grote deeltjes gevonden. In week 38 worden, gelijk aan de situatie op Noordwijk 10, ook relatief veel grote deeltjes gemeten veroorzaakt door dominantie van de soorten *Rhizosolenia delicatula* en *Rhizosolenia stolterfothii*. In het laatste kwartaal van het jaar (wk 42-51) worden maar weinig grote deeltjes gevonden en worden lage biomassa's gemeten.

Het **biovolume** (uit linFLS/ml) vertoont een zelfde verloop als de totaalconcentratie m.u.v. week 33 waarin een relatief hogere waarde voor het biovolume wordt gemeten. Opvallend is ook dat de grote deeltjes die in week 38 een relatief grote bijdrage aan de biomassa leveren nauwelijks bijdragen aan het biovolume.

De **concentratie deeltjes met fycobilliproteinen** (fycoerithrine) is het hoogst in november (ca 6700 d/ml). In overeenstemming met de situatie op Noordwijk 10 is er dit jaar geen bloei van kleine oranje fluorescerende deeltjes gemeten.

De **concentratie deeltjes met fycocyanine-chlorofyl-b** is het hoogst in juli (ca. 16500 d/ml). In de periode daaropvolgend fluctueert de concentratie tussen 4000 en 14000 d/ml.

*Uit de **microscopische snelle analyseresultaten** blijkt dat de volgende soorten op Noordwijk 2 in de periode juli t/m december dominant (>10%) voorkwamen:*

Brockmanniella brockmannii (wk 42)

Chaetoceros debilis (wk 31)

Chaetoceros socialis (wk 33-35)

Cylindrotheca closterium (wk 30)

Delphineis minutissima (wk 42-51)

Guinardia flaccida (wk 31)

Leptocylindricus minimus (wk 31-33)

Paralia marina (wk 46-51)

Pseudonitzschia pungens cf. (wk 31)

Rhizosolenia delicatula (wk 38)

Rhizosolenia stolterfothii (wk 38)

Thalassiosira <30 µm (wk 31, 42-26))

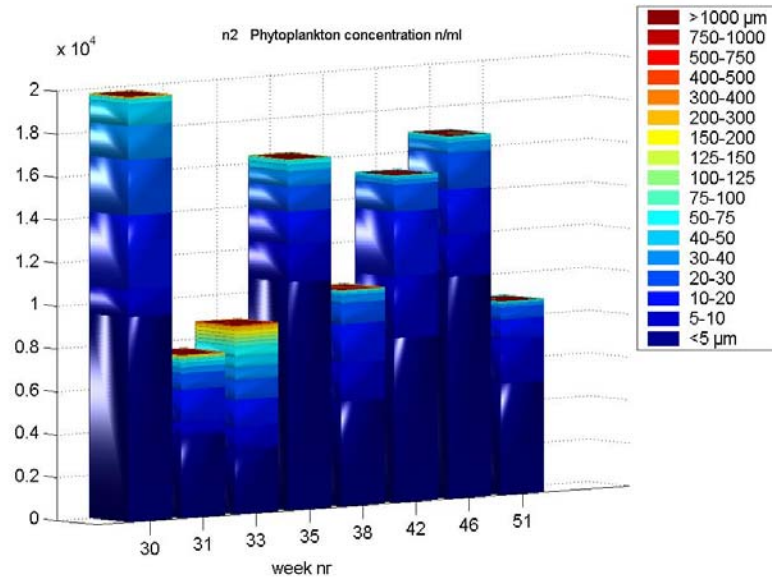
De concentratie van deeltjes >10 µm, die bepaald zijn uit flowcytometrische gegevens, varieert in deze periode tussen 1500/ml en 9000/ml.

3.2.2 Flowcytometrische fytoplanktonconcentraties Noordwijk 2

Fytoplanktonconcentratie: De totaalconcentraties van deeltjes met chlorofyl-a zijn uitgesplitst in 17 groottefracties (deeltjes/ml.fractie) in FIGUUR 3.2.1 en de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentraties van deeltjes met chlorofyl-a uitgesplitst in 17 groottefracties ($\% \text{ n.fractie}/\text{n}_{\text{totaal}}$) in FIGUUR 3.2.2.

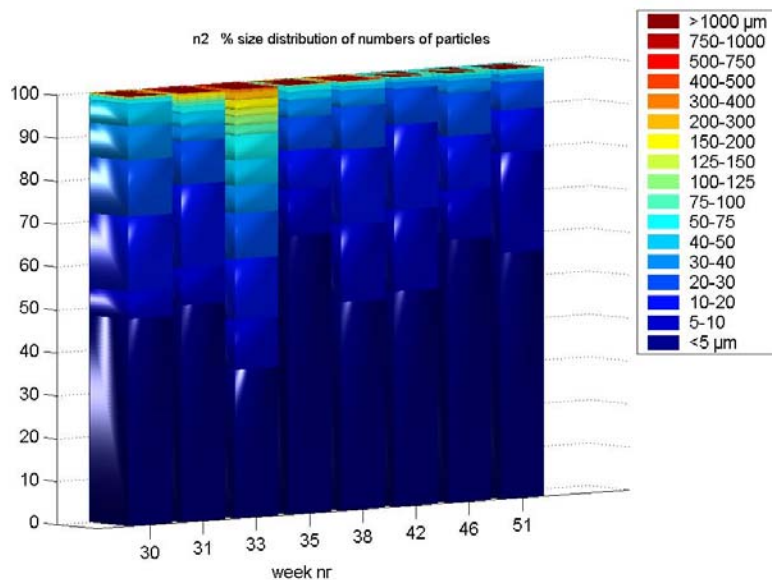
FIGUUR 3.2.1

Concentratie autotrofe deeltjes (met chlorofyl-a) per lengtefractie



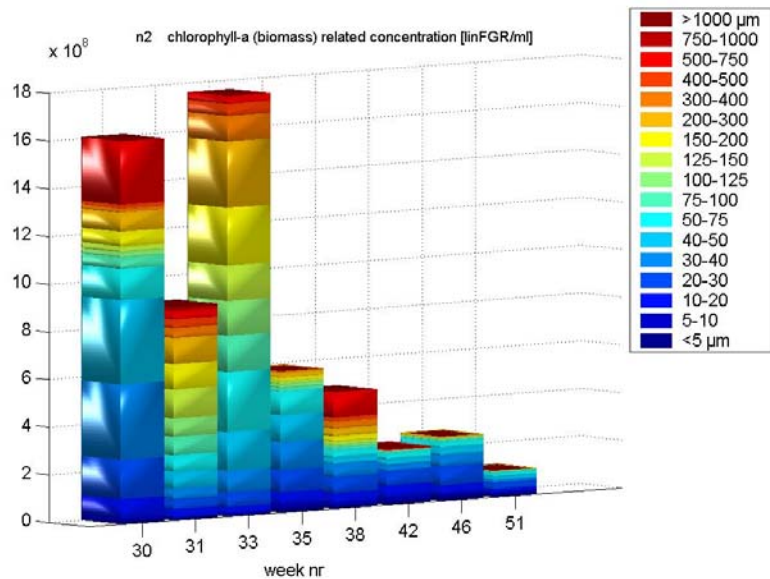
FIGUUR 3.2.2

% Aantal autotrofe deeltjes met chlorofyl-a per lengtefractie

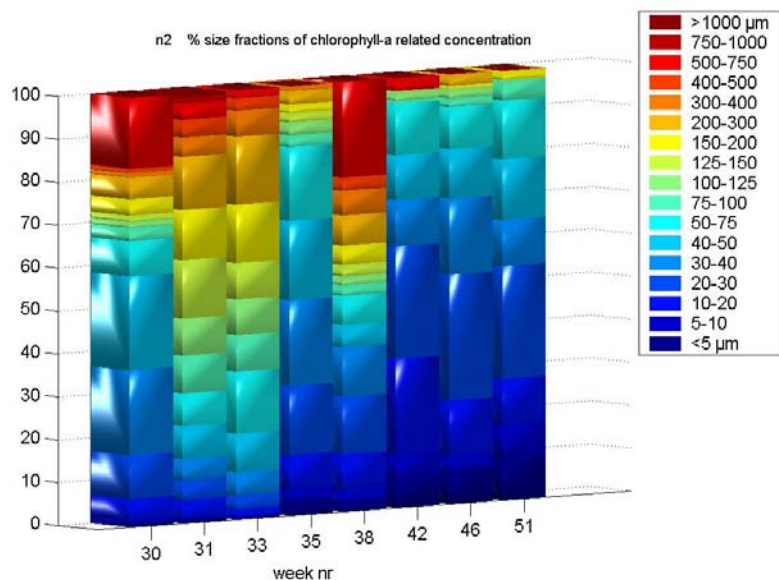


De **chlorofyl-a/ml concentraties** (biomassa) of flowcytometrische linFGR/ml variabele is uitgesplitst in 17 groottefracties (linFGR/ml.fractie) (FIGUUR 3.2.3) en de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentratie chlorofyl-a/ml uitgesplitst in 17 groottefracties in FIGUUR 3.2.4.

FIGUUR 3.2.3
Totale LinFGR/mL
(chlorofyl-a/m l) per
lengtefractie Noordwijk 2

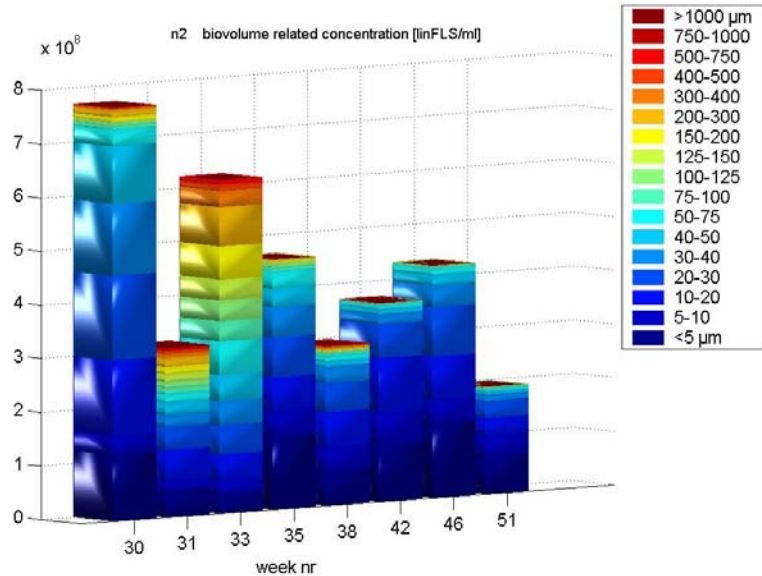


FIGUUR 3.2.4
% LinFGR/ml per
lengtefractie Noordwijk 2

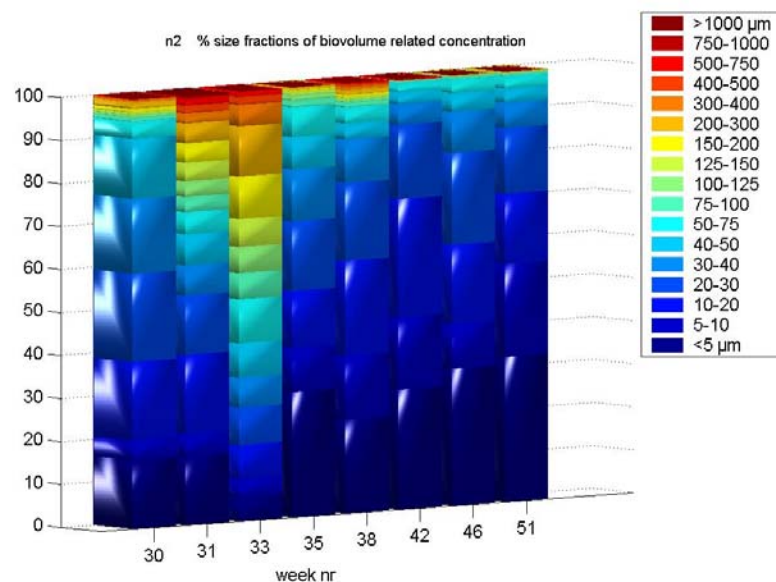


De **biovolumeconcentraties** (van deeltjes met chlorofyl-a)/ml uitgesplitst in 17 groottefracties (linFLS/ml.fractie) is weergegeven in FIGUUR 3.2.5 en de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentratie biovolume/ml uitgesplitst in 17 groottefracties (% linFLS/ml.fractie/totaal-linFLS/ml) in FIGUUR 3.2.6.

FIGUUR 3.2.5
Totale LinFLS/ml per
lengtefractie Noordwijk 2

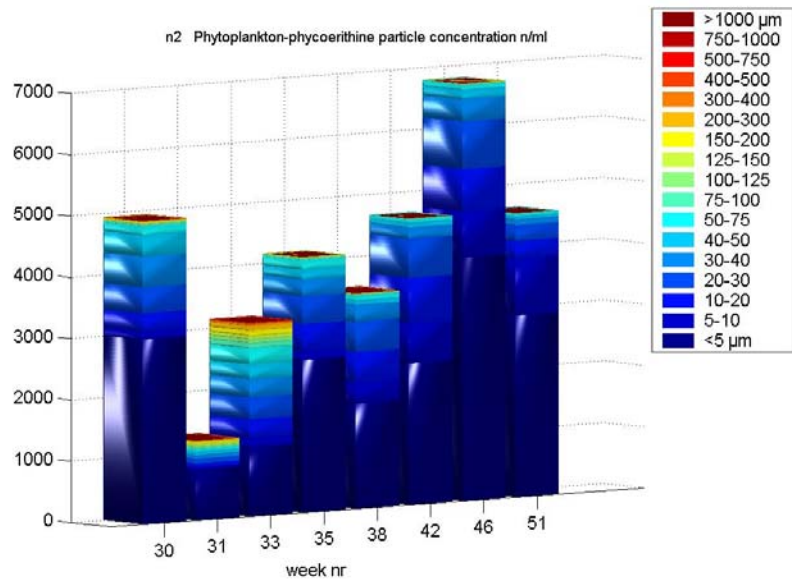


FIGUUR 3.2.6
% LinFLS/ml per
lengtefractie Noordwijk 2

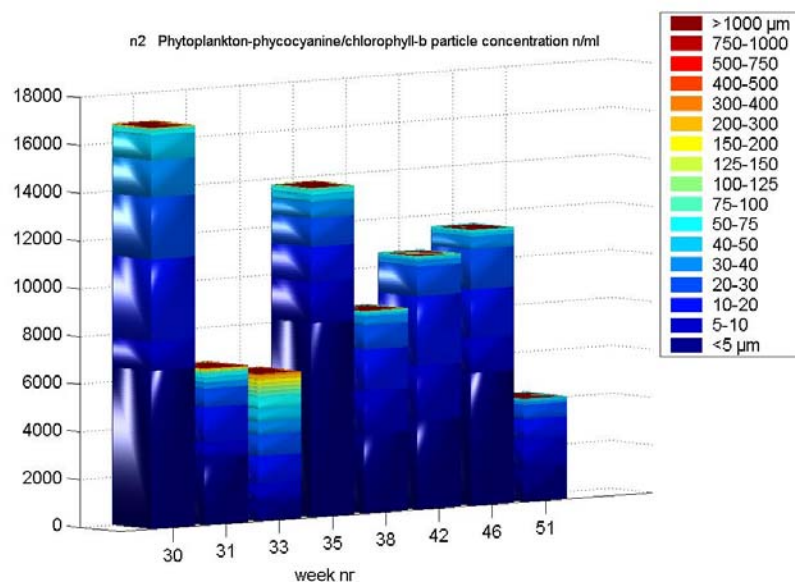


De concentraties van deeltjes met chlorofyl-a EN **fycobilliproteinen** uitgesplitst in 17 groottefracties ($n_{(FGR>0 \& FGO>0)}$ /ml.fractie) is gepresenteerd in FIGUUR 3.2.7 en de concentraties van deeltjes met chlorofyl-a EN **fycocyaninen en chlrofyl-b** in FIGUUR 3.2.8.

FIGUUR 3.2.7
Absolute
deeltjesconcentratie van
deeltjes met FGR & FGO



FIGUUR 3.2.8
Absolute
deeltjesconcentratie van
deeltjes met FGR & FRR



3.2.3 Resultaten snelle microscopische analyse

In onderstaande tabel 3.2 zijn de resultaten gepresenteerd van de snelle microscopische tellingen. De plussen in de tabel geven de mate van talrijkheid van de aangetroffen deeltjes weer, waarbij '+++>10%', '++>5% en < 10%', '+>2% en <5%.

TABEL 3.2

Resultaten van de snelle microscopische tellingen

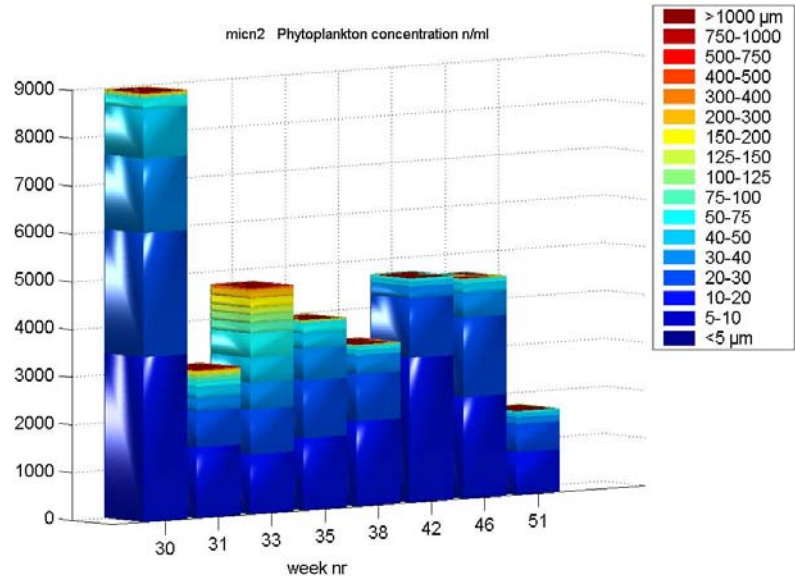
NOORDWIJK 2 - 2002	Week no.							
Algensoort	30	31	33	35	38	42	46	51
Actionoptychus senarius						++	+	+
Brockmanniella brockmannii	+			+		+++	+	++
Cerataulina pelagica				+				
Ceratium fusus	+	+						
Ceratium horridum				+				
Chaetoceros	+		+					
Chaetoceros costatus			++					
Chaetoceros danicus		+						
Chaetoceros debilis		+++	++					
Chaetoceros didymus			+					
Chaetoceros socialis			+++	+++				
Chlorophyceae								
Chrysochromulina				+	++			
Coscinodiscus granii	+	++						
Cylindrotheca closterium	+++							
Delphineis minutissima				+	+	+++	+++	+++
Dinophysis acuminata					+	+		
Eucampia zoodiacus				+				
Eunotogramma dubium				+		+		
Guinardia flaccida		+++						
Leptocylindricus danicus			++		++			
Leptocylindricus minimus		+++	+++					
Odontella aurita var. minima				+				
Odontella aurita							+	
Paralia marina							+++	+++
Phaeocystis cel				+				+
Plagiogrammopsis vanheurckii							+	
Prorocentrum triestinum					+			
Pseudonitzschia fraudulenta	+	+	+	+				
Pseudonitzschia pungens cf.		+++	+				+	
Pyramimonas	+							
Rhaphoneis amphiceros							+	+
Rhizosolenia delicatula	++	++	+		+++			
Rhizosolenia stouterfothii					+++			
Thalassionema nitzschioides						++	++	
Thalassiosira <30 µm	+++	++	+	++	++	+++	+++	++
Thalassiosira 30-80 µm							+	
Thalassiosira anguste-lineata		+						
Thalassiosira punctigera					+			
Thalassiosira rotula				+				
Triceratium alternans				+				
Tropidoneis	+	+						

3.2.4 Fytoplanktonconcentratie van deeltjes groter dan 10 µm

De flowcytometrische totaalconcentraties van deeltjes met chlorofyl-a > 10 µm zijn uitgesplitst in 15 groottefracties (deeltjes/ml.fractie) in FIGUUR 3.2.9. De fracties < 5 µm en 5-10 µm zijn verwijderd uit de dataset.

FIGUUR 3.2.9

Absolute
deeltjesconcentratie van
deeltjes **groter dan 10 µm**
met FGR (chlorofyl-a)



3.3 Terschelling 135

3.3.1 Algemene trends

De **totaalconcentratie deeltjes** met chlorofyl-*a* fluctueert het tweede deel van het jaar tussen 2000 en 6000 d/ml. De enige uitzondering hierop is week 38 waarin de concentratie ca. 12000 d/ml bedraagt. Er worden vooral kleine deeltjes (<20 µm) gemeten. Ten opzichte van dezelfde periode in 2001 zijn de gemeten concentraties laag.

Voor de monsters waaruit de fracties <10 µm verwijderd zijn worden concentraties gevonden tussen 400 en 2600 d/ml. In week 46 is het aandeel van de **deeltjes >10 µm** relatief het grootst nl. 45% terwijl in de overige weken het percentage gemiddeld 20% is.

De **biomassa-concentratie** (LinFGR/ml) neemt in week 38 en 46 toe en bereikt evenals in 2001 zijn hoogste waarde in november. Het relatieve percentage grote deeltjes neemt iets toe aan het eind van het jaar.

Het **biovolume** (linFLS/ml) toont een vergelijkbare trend als de totaalconcentratie. De hoogste waarden worden ook bereikt in week 38 en 46. De bijdrage van grote deeltjes neemt iets toe aan het eind van het jaar.

De concentratie **deeltjes met fycoerithrine** is tot en met week 35 zeer laag (<1000 d/ml). Vervolgens stijgt de concentratie tot ca. 6000 d/ml in week 38 en neemt vervolgens weer af tot ca. 1000 d/ml in week 51. De verdeling van de groottefracties wordt vooral gedomineerd door de deeltjes < 5 µm.

De concentratie van **autotrofe deeltjes met fycocyanine** volgt exact het verloop van de totaalconcentratie, alleen liggen de concentraties lager.

*Uit de **microscopische snelle tellijsten** blijkt dat de volgende soorten op Terschelling 135 in de periode juli t/m december dominant (>10%) voorkwamen:*

Calyptrolithina wettsteinii(wk38-46)

Ceratium fusus(wk31)

Ceratium horridum(wk38)

Chrysochromulina(wk29 en 34)

Delphineis minutissima (wk 51)

Gymnodinium(wk29 en 35)

Heterocapsa minima(wk34 en 38)

Meringosphaera(wk35)

Mesoporus perforatus(wk 46)

Rhizosolenia alata (wk 29-35)

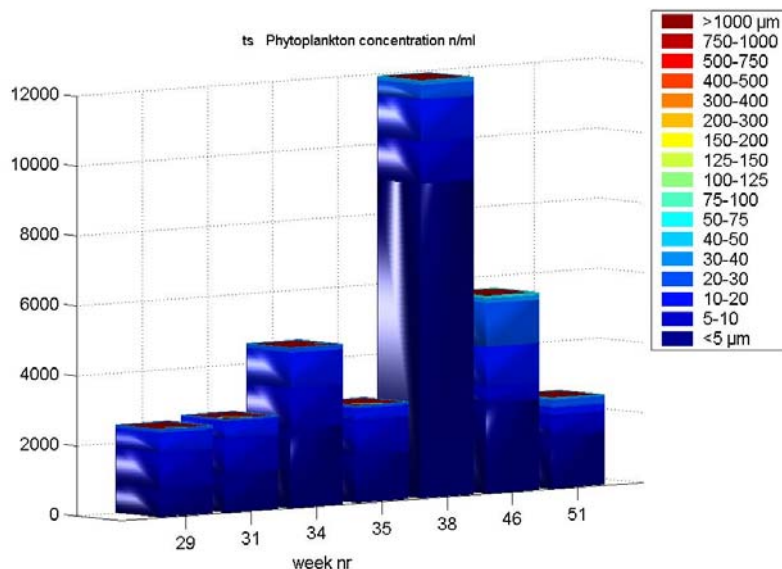
Thalassiosira <30 µm (wk 51)

De gevonden flowcytometrische concentraties geselecteerd op fytoplankton > 10 µm, schommelt tussen ca. 400 en 2500 d/ml .

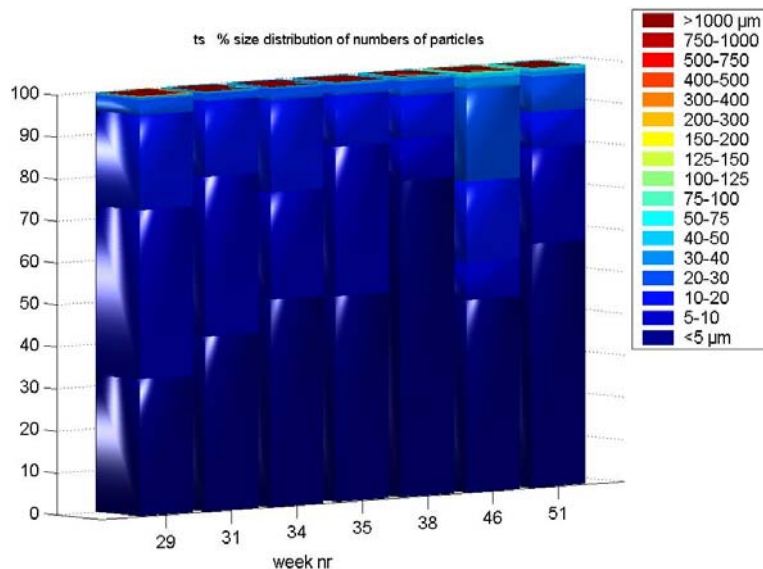
3.3.2 Flowcytometrische fytoplanktonconcentraties Terschelling 135

Fytoplanktonconcentratie: De totaalconcentraties van deeltjes met chlorofyl-a zijn uitgesplitst in 17 groottefracties (deeltjes/ml.fractie) in FIGUUR 3.3.1 en de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentraties van deeltjes met chlorofyl-a uitgesplitst in 17 groottefracties ($\% \text{ n.fractie/n}_{\text{totaal}}$) in FIGUUR 3.3.2.

FIGUUR 3.3.1
Concentratie autotrofe
deeltjes (met chlorofyl-a)
per lengtefractie

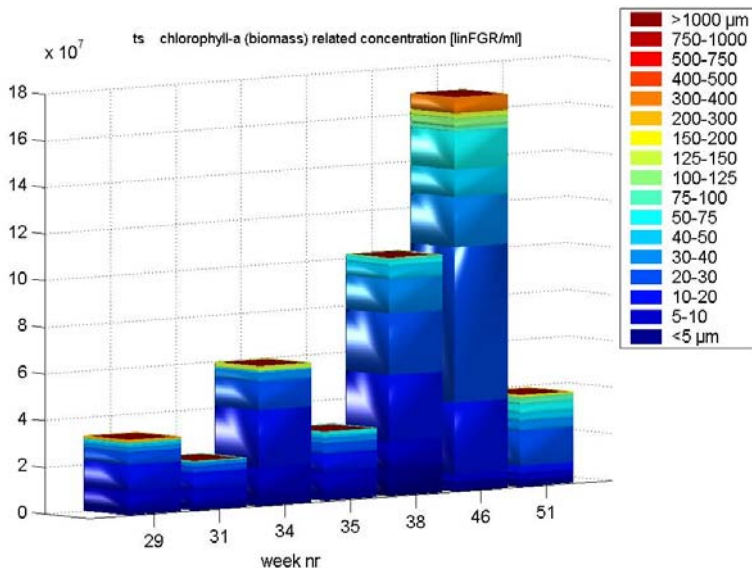


FIGUUR 3.3.2
% Aantal autotrofe deeltjes
met chlorofyl-a per
lengtefractie

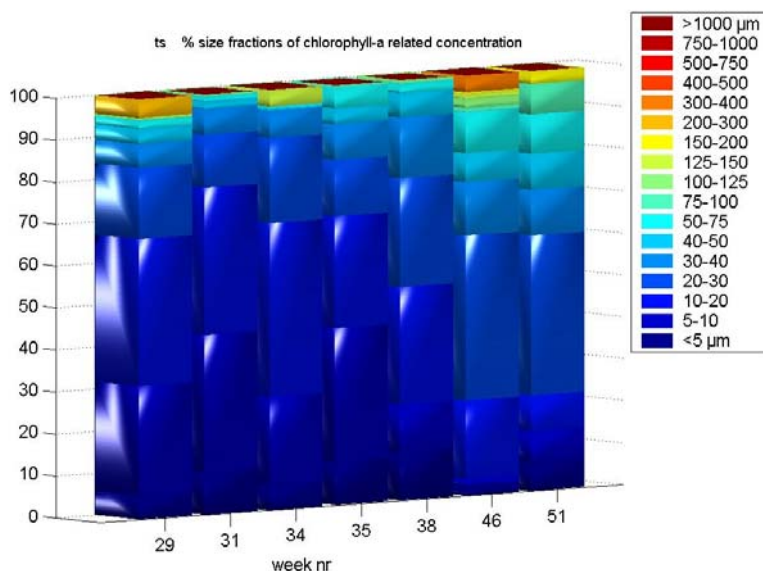


De **chlorofyl-a/ml concentraties** (biomassa) of flowcytometrische linFGR/ml variabele is uitgesplitst in 17 groottefracties (linFGR/ml.fractie) (FIGUUR 3.3.3) en de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentratie chlorofyl-a/ml uitgesplitst in 17 groottefracties (% linFGR/ml.fractie/totaal-linFGR/ml) in FIGUUR 3.3.4.

FIGUUR 3.3.3
Totale LinFGR/mL
(chlorofyl-a/m l) per
lengtefractie

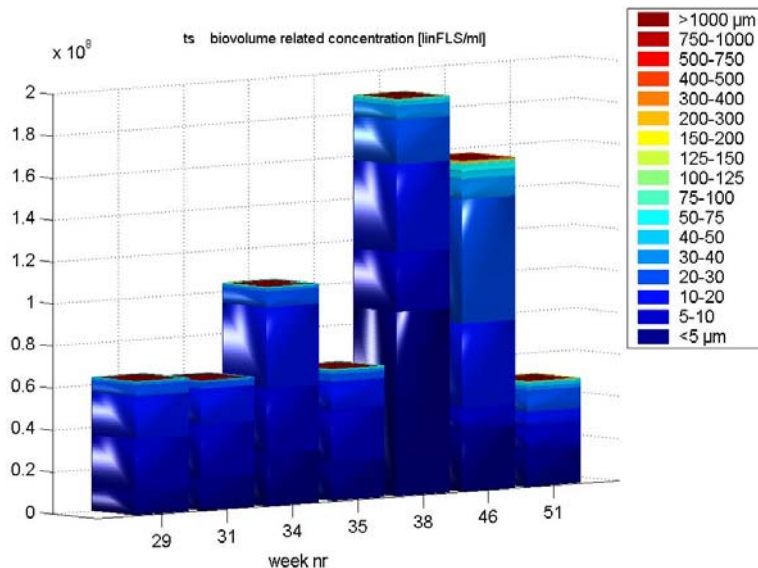


FIGUUR 3.3.4
% LinFGR/ml per
lengtefractie

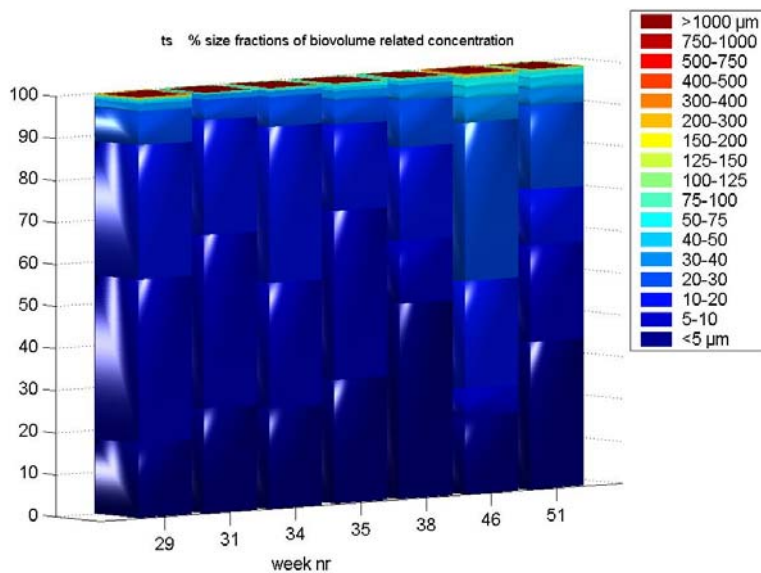


De **biovolumeconcentraties** (van deeltjes met chlorofyl-a)/ml uitgesplitst in 17 groottefracties (linFSL/ml.fracties) is weergegeven in FIGUUR 3.3.5 en de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentratie biovolume/ml uitgesplitst in 17 groottefracties (% linFSL/ml.fractie/totaal-linFSL/ml) in FIGUUR 3.3.6.

FIGUUR 3.3.5
totale LinFSL/ml per
lengtefractie

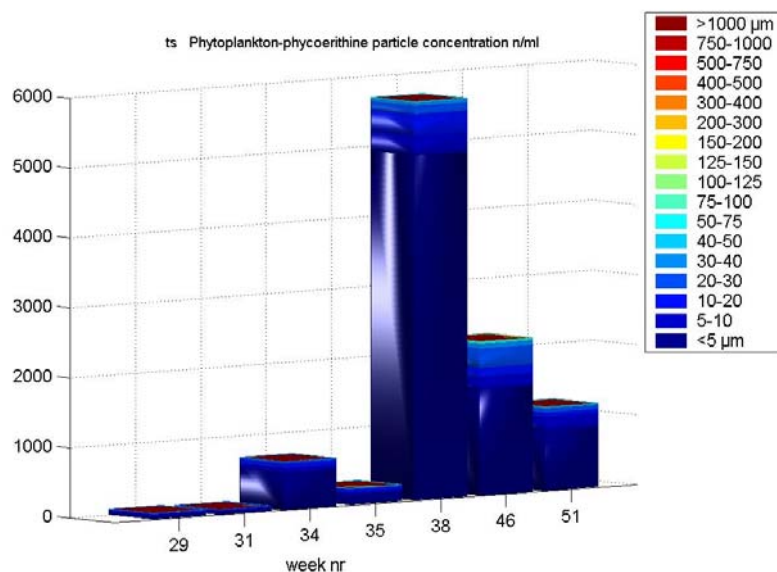


FIGUUR 3.3.6
% LinFSL/ml per
lengtefractie

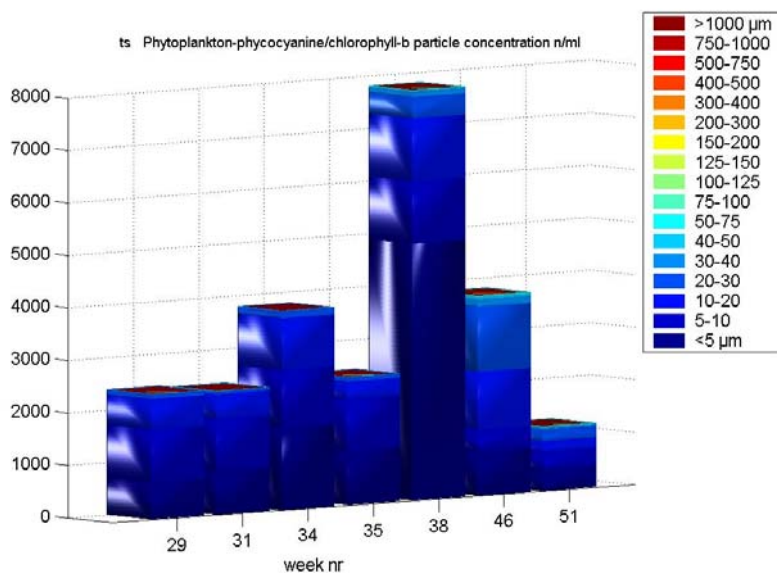


De concentraties van deeltjes met chlorofyl-a EN **fycobilliproteinen** uitgesplitst in 17 groottefracties ($n_{(FGR>0 \& FGO>0)}$ /ml.fractie) is gepresenteerd in FIGUUR 3.3.7 en de concentraties van deeltjes met chlorofyl-a EN **fycocyaninen en chlorofyl-b** in FIGUUR 3.3.8.

FIGUUR 3.3.7
Absolute
deeltjesconcentratie van
deeltjes met FGR & FGO



FIGUUR 3.3.8
Absolute
deeltjesconcentratie van
deeltjes met FGR & FRR



3.2.4 Resultaten snelle microscopische analyse

In onderstaande tabel zijn de resultaten gepresenteerd van de snelle microscopische tellingen. De plussen in de tabel geven de mate van talrijkheid van de aangetroffen deeltjes weer, waarbij '+++' >10%, '++' >5% en < 10%, '+' >2% en <5%.

TABEL 3.3

Resultaten van de snelle microscopische tellingen

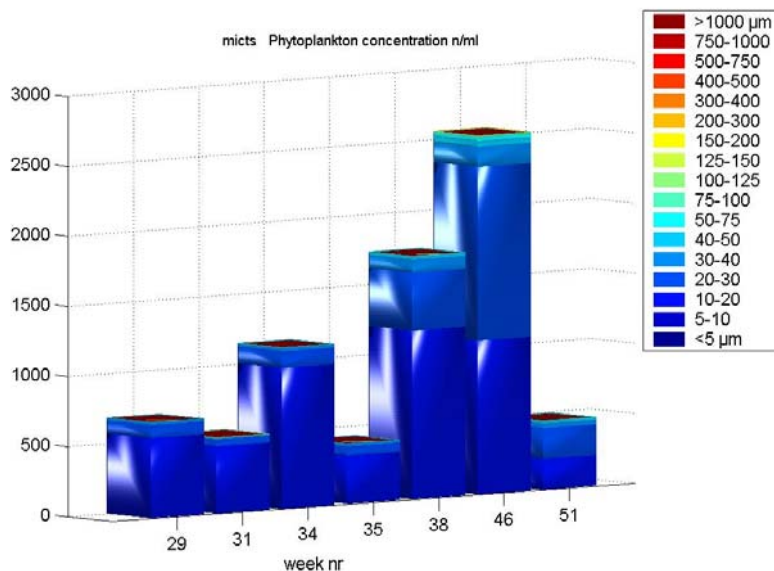
TSLG135 - 2002	Week no.						
Algensoort	29	31	34	35	38	46	51
Actiniscus pentasterias	+						
Calyptrolithina wettsteinii					+++	+++	+
Ceratium furca	+	+					
Ceratium fusus	+	+++	++	+	+	+	
Ceratium horridum					+++		
Ceratium macroceros			+				
Ceratium tripos	++						
Chaetoceros socialis	+						
Chrysochromulina	+++	++	+++	++			
Coccolithus pelagicus						+	
Delphineis minutissima						++	+++
Dictyocha fibula							+
Dictyocha speculum						+	+
Dinophysis rotundata	++	++		+			
Diplopsalis gr						+	
Emiliana huxleyi	+		++				
Fragilidium subglobosum		+	+				
Glenodinium danicum	+						
Gonyaulax digitale		+					
Gymnodinium	+++	++	+	+++	+		
Gymnodiniaceae 10 - 30 µm						+	
Haslea							+
Heterocapsa minima			+++		+++		
Leptocylindricus danicus	+	++					
Meringosphaera				+++			+
Mesoporos perforatus		++	+			+++	
Paralia marina						++	++
Plagiogrammopsis vanheurckii							+
Pleurosigma							+
Pleurosigma angulatum						+	
Prorocentrum micans				++	+		
Prorocentrum minimum						+	
Protoceratium reticulatum		+	+				
Protoperidinium 30 - 50 µm						+	
Protoperidinium steinii	+	+					
Rhaphoneis ampiceros						+	+
Rhizosolenia alata	+++	+++	+++	+++		+	
Rhizosolenia delicatula		+					
Rhizosolenia indica						+	
Rhizosolenia shrubsolei		++					
Rhizosolenia stouterfothii			+				
Rhizosolenia styliformis				+		++	
Roperia tessellata							+
Scrippsiella		+					
Thalassiosira <30 µm					++	++	+++
Thalassiosira 30-80 µm						+	+
Thalassiosira angstii							+

3.3.4 Fytoplanktonconcentratie van deeltjes groter dan 10 µm

De flowcytometrische totaalconcentraties van deeltjes met chlorofyl-a > 10 µm zijn uitgesplitst in 15 groottefracties (deeltjes/ml.fractie) in FIGUUR 3.3.9. De fracties < 5 µm en 5-10 µm zijn verwijderd uit de dataset.

FIGUUR 3.3.9

Absolute
deeltjesconcentratie van
deeltjes **groter dan 10 µm**
met FGR (chlorofyl-a)



3.4 Schaar van Ouden Doel

3.4.1 Algemene trends

De **totaalconcentratie** van autotrofe deeltjes (met chlorofyl-a) neemt in de tweede helft van 2002 geleidelijk af en heeft één opvallende piek in week 45 wanneer de concentratie t.o.v. het voorgaande meetpunt verdubbelt. De verdeling van de groottefracties vertoont nauwelijks variatie in deze periode. Ondanks een lichte toename van de relatieve bijdrage van grote deeltjes in de loop van het jaar wordt de verdeling hoofdzakelijk gedomineerd door de deeltjes $< 20 \mu\text{m}$.

Het verloop van **de deeltjes $> 10 \mu\text{m}$** is vergelijkbaar met verloop van de totaalconcentratie. Gemiddeld is ca. 30% van deeltjes groter dan $10 \mu\text{m}$.

De **biomassa** of chlorofyl-a concentratie (linFGR/ml) neemt gestaag af vanaf juli ($9,4 \times 10^8 \text{ au/ml}$) tot en met december ($2 \times 10^8 \text{ au/ml}$) met één opvallende biomassapiek in week 45 ten gevolge van een verdubbeling van de totaalconcentratie. De verdeling van de grootte- fracties die bijdragen aan de totale biomassa is redelijk constant over de gehele periode. Toch neemt de relatieve bijdrage van grotere deeltjes ($> 100 \mu\text{m}$) iets toe richting het einde van het jaar.

Het **biovolume-concentratieverloop** (LinFLS/ml) vertoont een zelfde trend als het totaalconcentratie- en het biomassaverloop. Ten opzichte van de biomassa is het aandeel van de grote deeltjes kleiner. De verdeling van de groottefracties die bijdragen aan het biovolume is zeer constant over de gehele periode.

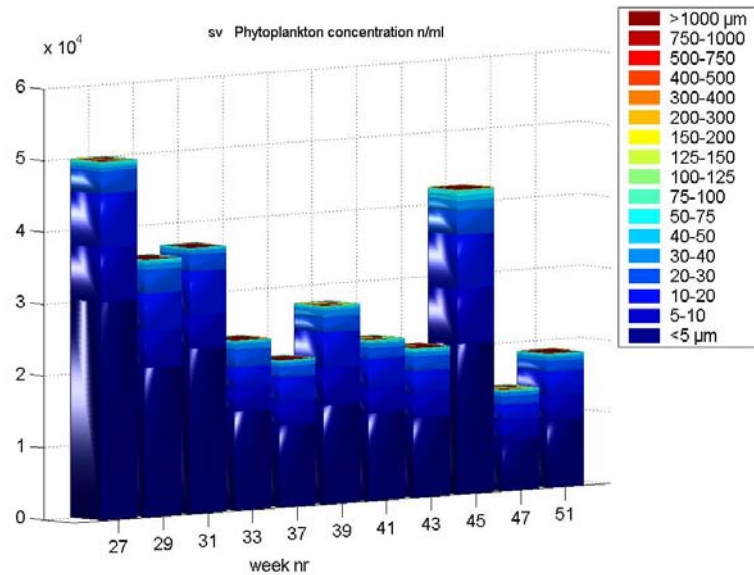
De **concentratie van deeltjes met fycobiliproteïnen** varieert tussen 3000 en 7000 d/ml en neemt éénmaal (week 45) sterk toe tot 16000 d/ml.

De concentratie van **autotrofe deeltjes met fycocyanine/chlorofyl-b** heeft hetzelfde verloop als de totaalconcentratie. In vergelijking met de concentratie van oranje fluorescerende deeltjes valt op dat er verhoudingsgewijs een veel hoger percentage deeltjes met fycocyanine gemeten wordt.

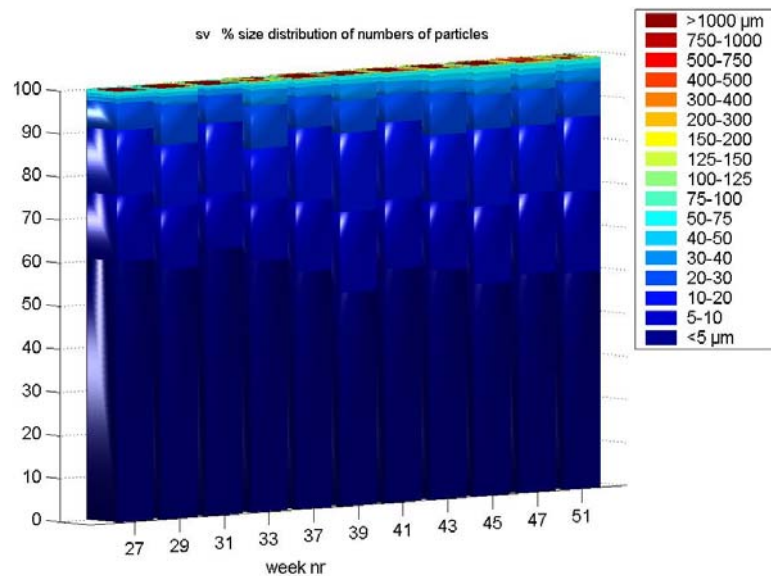
3.4.2 Flowcytometrische fytoplanktonconcentraties Schaar van ouden Doel

Fytoplanktonconcentratie: De totaalconcentraties van deeltjes met chlorofyl-a zijn uitgesplitst in 17 groottefracties (deeltjes/ml.fractie) in FIGUUR 3.4.1 en de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentraties van deeltjes met chlorofyl-a uitgesplitst in 17 groottefracties ($\% \text{ n.fractie/n}_{\text{totaal}}$) in FIGUUR 3.4.2.

FIGUUR 3.4.1
Concentratie autotrofe
deeltjes (met chlorofyl-a)
per lengtefractie

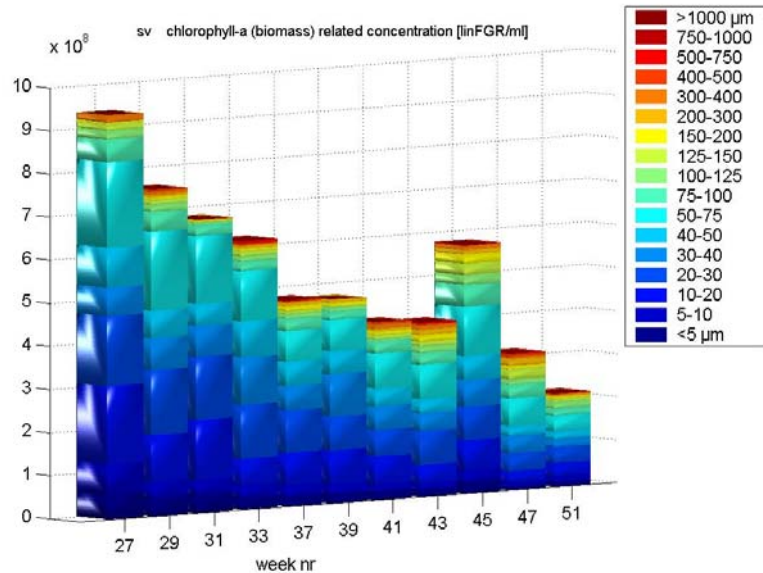


FIGUUR 3.4.2
% Aantal autotrofe deeltjes
met chlorofyl-a per
lengtefractie

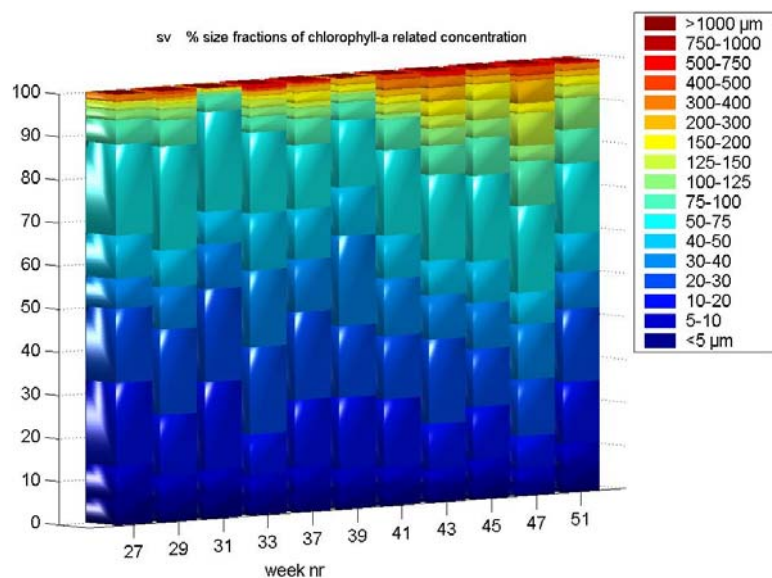


De chlorofyl-a/ml concentraties (biomassa) of flowcytometrische linFGR/ml variabele is uitgesplitst in 17 groottefracties (linFGR/ml.fractie) (FIGUUR 3.4.3) en de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentratie chlorofyl-a/ml uitgesplitst in 17 groottefracties (% linFGR/ml.fractie/totaal-linFGR/ml) in FIGUUR 3.4.4.

FIGUUR 3.4.3
Totale LinFGR/mL
(chlorofyl-a/m l) per
lengtefractie

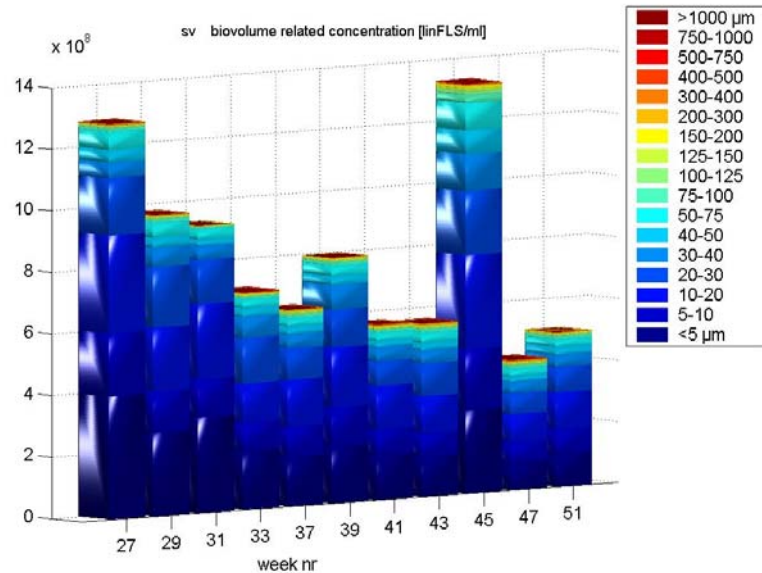


FIGUUR 3.4.4
% LinFGR/ml per
lengtefractie Schaar van
Oude Doel

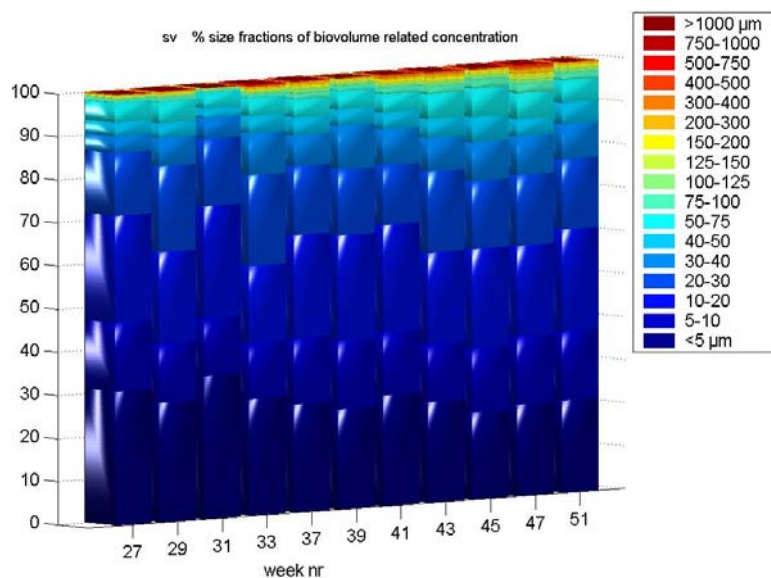


De biovolumeconcentraties (van deeltjes met chlorofyl-a)/ml uitgesplitst in 17 groottefracties (linFLS/ml.fractie) is weergegeven in FIGUUR 3.4.5 en de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentratie biovolume/ml uitgesplitst in 17 groottefracties (% linFLS/ml.fractie/totaal-linFLS/ml) in FIGUUR 3.4.6.

FIGUUR 3.4.5
Totale LinFLS/ml per
lengtefractie Schaar van
Oude Doel

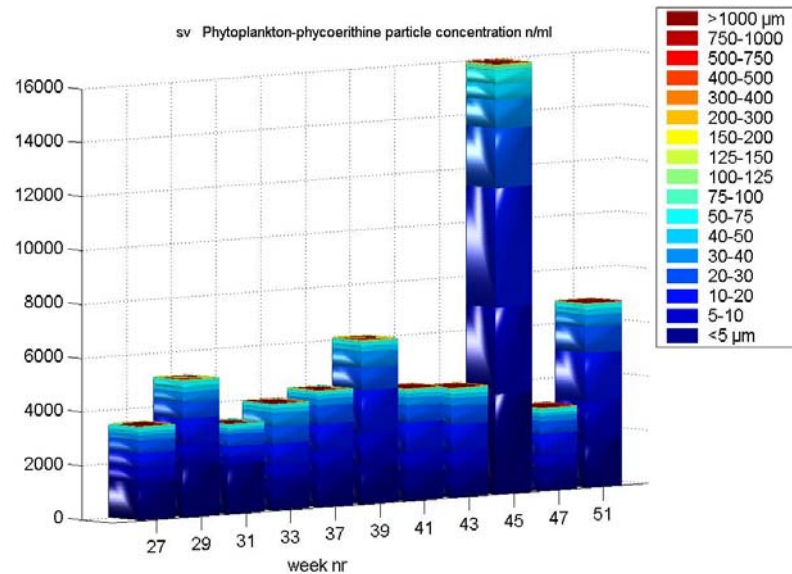


FIGUUR 3.4.6
% LinFLS/ml per
lengtefractie Schaar van
Oude Doel

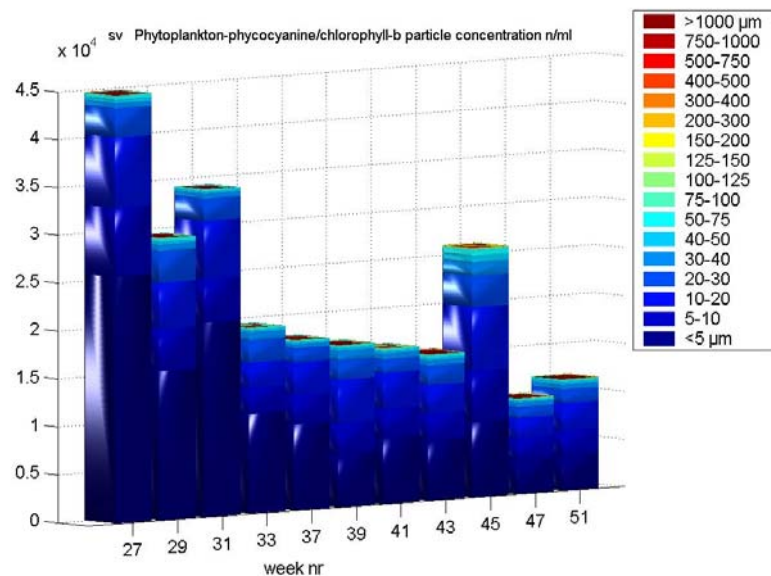


De concentraties van deeltjes met chlorofyl-a EN **fycobilliproteinen** uitgesplitst in 17 groottefracties ($n_{(FGR>0 \& FGO>0)}$ /ml.fractie) is gepresenteerd in FIGUUR 3.4.7 en de absolute concentratie deeltjes met met chlorofyl-a EN **fycocyanine en chlorofyl-b** uitgesplitst in FIGUUR 3.4.8.

FIGUUR 3.4.7
Absolute
deeltjesconcentratie van
deeltjes met FGR & FGO



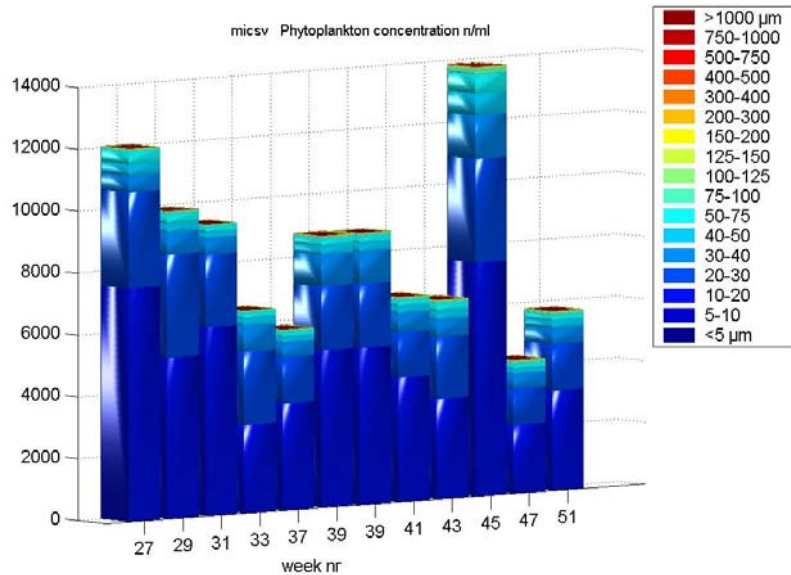
FIGUUR 3.4.8
Absolute
deeltjesconcentratie van
deeltjes met FGR & FRR



3.4.3 Fytoplanktonconcentratie van deeltjes groter dan 10 µm

De flowcytometrische totaalconcentraties van deeltjes met chlorofyl-a > 10 µm zijn uitgesplitst in 15 groottefracties (deeltjes/ml.fractie) in FIGUUR 3.4.9. De fracties < 5 µm en 5-10 µm zijn verwijderd uit de dataset.

FIGUUR 3.4.9
Absolute
deeltjesconcentratie van
deeltjes **groter dan 10 µm**
met FGR (chlorofyl-a)



3.5 Vlissingen

3.5.1 Algemene trends

De **concentratie autotrofe deeltjes** is het laagst in week 27(10000 d/ml). Hierna volgt een grillig verloop met pieken in week 29(48000 d/ml) en 35(50000 d/ml). Van oktober tot december blijft de concentratie constant rond 24000 d/ml. De verdeling van de groottefracties wordt gedomineerd door deeltjes kleiner dan 30 μm die gedurende de gehele periode voor minimaal 90% de totaalconcentratie bepalen.

Voor de **deeltjes groter dan > 10 μm** geldt dat ze in juli relatief de grootste bijdrage aan de totaalconcentratie leveren nl. 55%. Hun aandeel daalt vervolgens naar gemiddeld 30% in de maanden augustus t/m oktober en neemt weer toe tot ca. 40% in november en december.

De **biomassa** (chlorofyl-a/ml of linFGR/ml) neemt van juli tot oktober geleidelijk af en blijft vervolgens t/m december constant. In 2001 werd er een vergelijkbare trend waargenomen. In de weken 27, 31 en 37 is de bijdrage van grote deeltjes duidelijk aanwezig.

Het **biovolume**verloop, uitgedrukt in LinFLS/ml, vertoont een zelfde trend als de totale autotrofe deeltjesconcentratie. De maximumwaarde wordt in juli(week 29) gevonden. De verdeling van de groottefracties die bijdragen aan het biovolume is, gelijk aan de situatie op Schaar van Ouden Doel, zeer constant over de gehele periode. In vergelijking met de biomassa is de bijdrage van grote deeltjes(> 100 μm) aan het biovolume zeer beperkt.

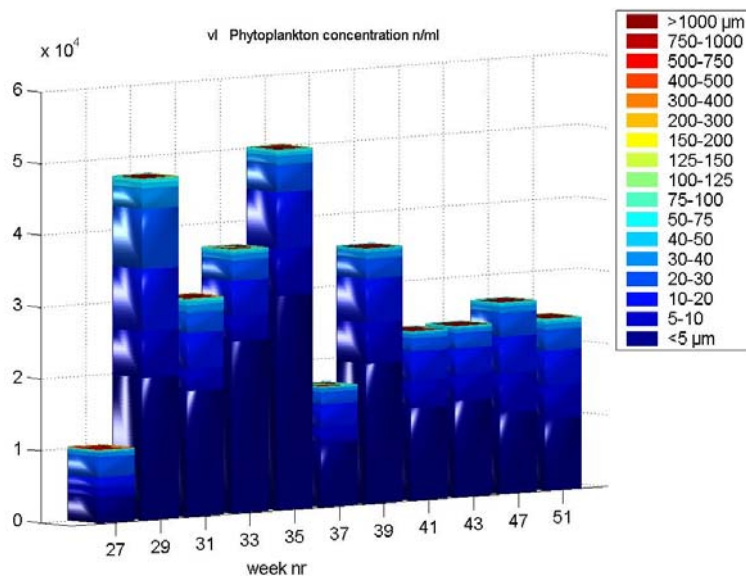
De concentratie van autotrofe **deeltjes met fycoerithrine** neemt vanaf juli toe een maximum van ca. 21000 d/ml eind september. Hierna is de concentratie t/m december constant(ca. 7000 d/ml) m.u.v. een iets hogere waarde in week 39(ca. 12000 d/ml). In 2001 werd de hoogste concentratie(32000 d/ml) in week 29 gemeten.

De concentratie autotrofe **deeltjes met fycocyanine-chlorofyl-b** heeft zijn laagste waarde(ca. 8000 d/ml) in week 27 en bereikt evenals de totaalconcentratie zijn hoogste waarden in de weken 29 en 35. In de overige weken fluctueert de concentratie tussen 12000 en 23000 d/ml.

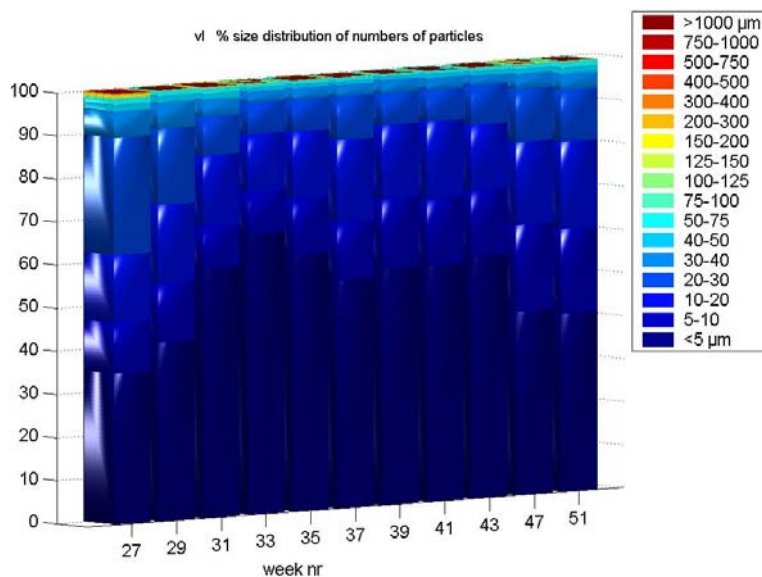
3.5.2 Flowcytometrische fytoplanktonconcentraties Vlissingen

Fytoplanktonconcentratie: De totaalconcentraties van deeltjes met chlorofyl-a zijn uitgesplitst in 17 groottefracties (deeltjes/ml.fractie) in FIGUUR 3.5.1 en de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentraties van deeltjes met chlorofyl-a uitgesplitst in 17 groottefracties ($\% \text{ n.fractie}/\text{n}_{\text{totaal}}$) in FIGUUR 3.5.2.

FIGUUR 3.5.1
Concentratie autotrofe
deeltjes (met chlorofyl-a)

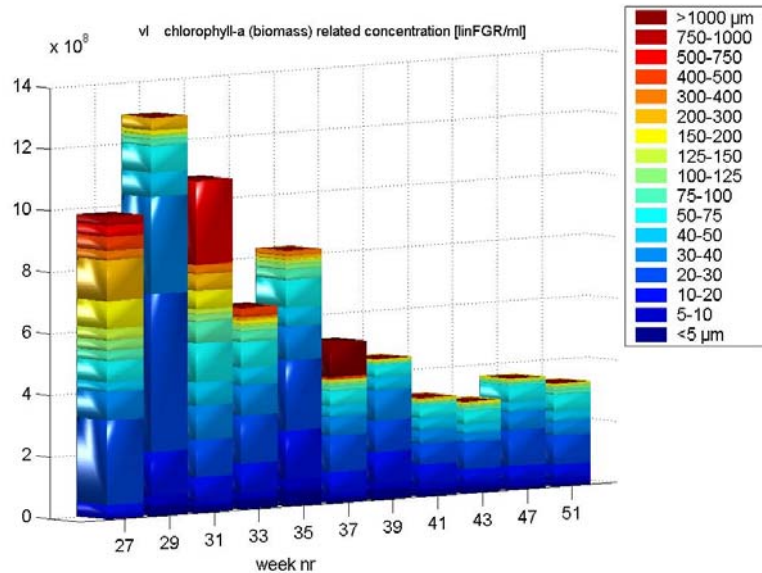


FIGUUR 3.5.2
% Aantal autotrofe
deeltjes met chlorofyl-a

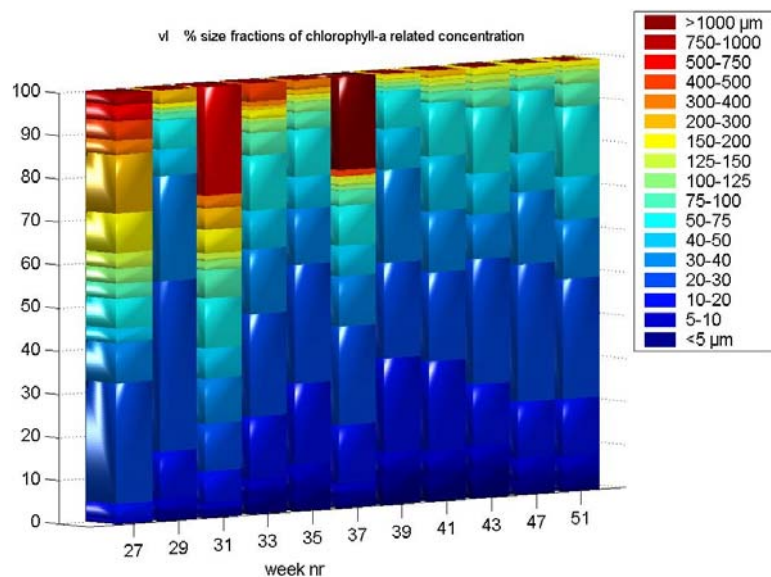


De **chlorofyl-a/ml concentraties** (biomassa) of flowcytometrische linFGR/ml variabele is uitgesplitst in 17 groottefracties (linFGR/ml.fractie) (FIGUUR 3.5.3) en de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentratie chlorofyl-a/ml uitgesplitst in 17 groottefracties (% linFGR/ml.fractie/totaal-linFGR/ml) in FIGUUR 3.5.4.

FIGUUR 3.5.3
Totale LinFGR/mL
(chlorofyl-a/m l) per
lengtefractie



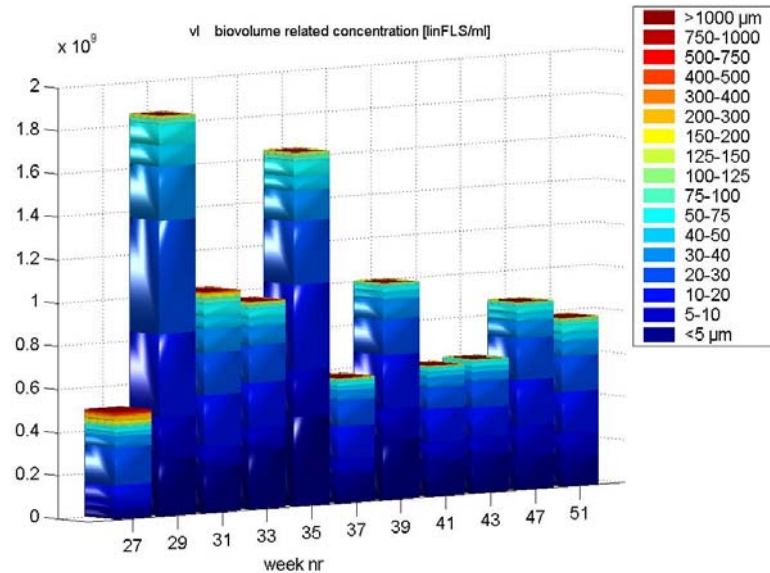
FIGUUR 3.5.4
% LinFGR/ml per lengte-
fractie



De **biovolumeconcentraties** (van deeltjes met chlorofyl-a)/ml uitgesplitst in 17 groottefracties (linFLS/ml.fractie) is weergegeven in FIGUUR 3.5.5 en de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentratie biovolume/ml uitgesplitst in 17 groottefracties (% linFLS/ml.fractie/totaal-linFLS/ml) in FIGUUR 3.5.6.

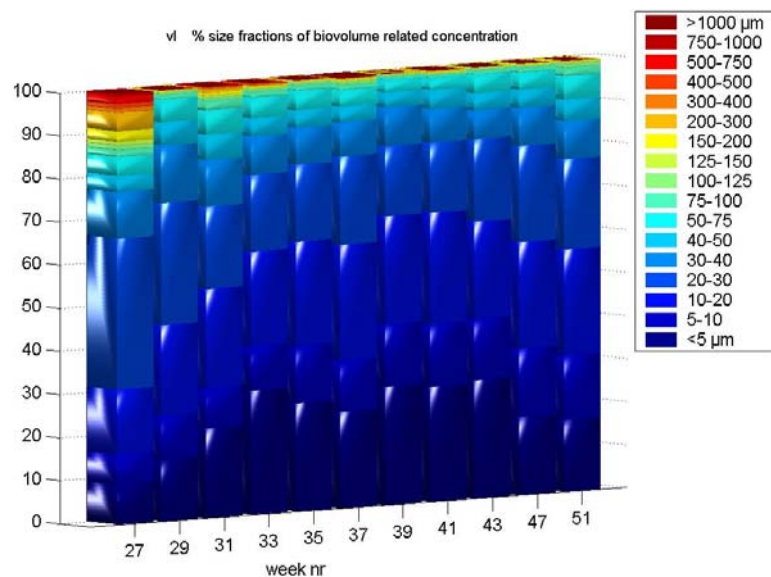
FIGUUR 3.5.5

Totale LinFLS/ml per lengtefractie



FIGUUR 3.5.6

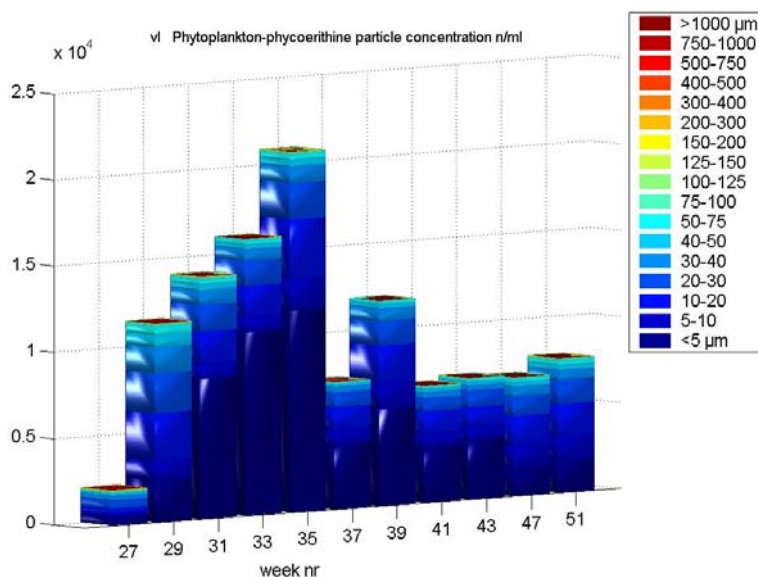
% LinFLS/ml per lengtefractie



De concentraties van deeltjes met chlorofyl-a EN **fycobilliproteinen** uitgesplitst in 17 groottefracties ($n_{(FGR>0 \& FGO>0)}$ /ml.fractie) is gepresenteerd in FIGUUR 3.5.7 en concentraties van deeltjes met chlorofyl-a EN **fycocyaninen en chlorofyl-b** in FIGUUR 3.5.8.

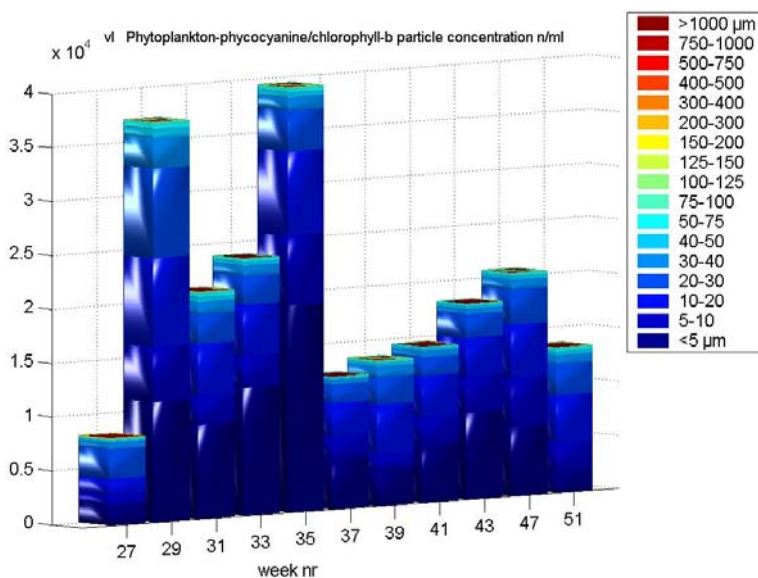
FIGUUR 3.5.7

Absolute deeltjesconcentratie
van deeltjes met FGR & FGO



FIGUUR 3.5.8

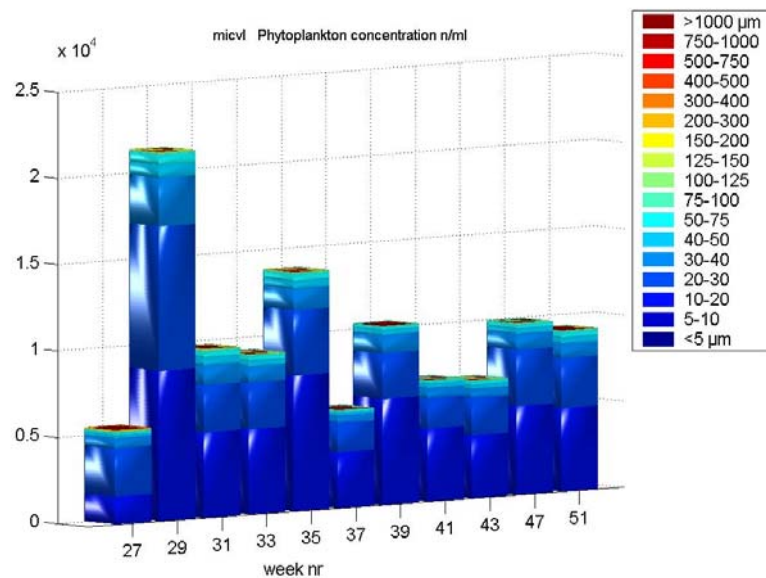
Absolute deeltjesconcentratie
van deeltjes met FGR & FRR



3.5.3 Fytoplanktonconcentratie van deeltjes groter dan 10 µm

De flowcytometrische totaalconcentraties van deeltjes met chlorofyl-a > 10 µm zijn uitgesplitst in 15 groottefracties (deeltjes/ml.fractie) in FIGUUR 3.5.9. De fracties < 5 µm en 5-10 µm zijn verwijderd uit de dataset.

FIGUUR 3.5.9
Absolute
deeltjesconcentratie van
deeltjes **groter dan 10 µm**
met FGR (chlorofyl-a)



3.6 Zijpe

3.6.1 Algemene trends

*De **totaalconcentratie** deeltjes met chlorofyl-a is zeer laag in week 27 (3200 d/ml) en stijgt hierna aanzienlijk naar de hoogste waarde in week 35 (136000 d/ml), voornamelijk veroorzaakt door deeltjes kleiner dan 10 µm. In september daalt de totaalconcentratie weer sterk naar ca 20000 d/ml en neemt daarna geleidelijk af tot eind december (4000 d/ml). In 2001 werd er in dezelfde periode eveneens een bloei van kleine deeltjes gemeten maar met een concentratie die ruim 2 keer zo laag was (60000 d/ml). Het verschil wordt veroorzaakt door een bloei van kleine oranje fluorescerende deeltjes die in 2001 niet plaats vond (zie onder). Ondanks dit verschil vertoont de concentratie een gelijk verloop in het tweede deel van 2001 en 2002.*

*Het percentage **deeltjes > 10 µm** is het hoogst in de maand juli (40% en week 31 (50%). Tijdens de bloei van kleine deeltjes (week 35) wordt slechts 7% van de totaalconcentratie bepaald door deeltjes > 10 µm. Na de bloei, in week 38 t/m 51, varieert dit percentage tussen 13 en 24%.*

*De **biomassa of chlorofyl-a concentratie** is begin juli zeer laag en stijgt vervolgens in twee weken naar zijn hoogste waarde. Vanaf week 21 volgt een geleidelijke afname t/m december met een éénmalige uitschieter naar boven in week 40. De relatieve bijdrage van deeltjes > 100 µm is groot in de weken 29 en 38 t/m 42.*

*Het verloop van het **biovolume** (linFLS/ml) is vergelijkbaar met de totaalconcentratie, hoewel de bijdrage van grotere deeltjes nadrukkelijker aanwezig is.*

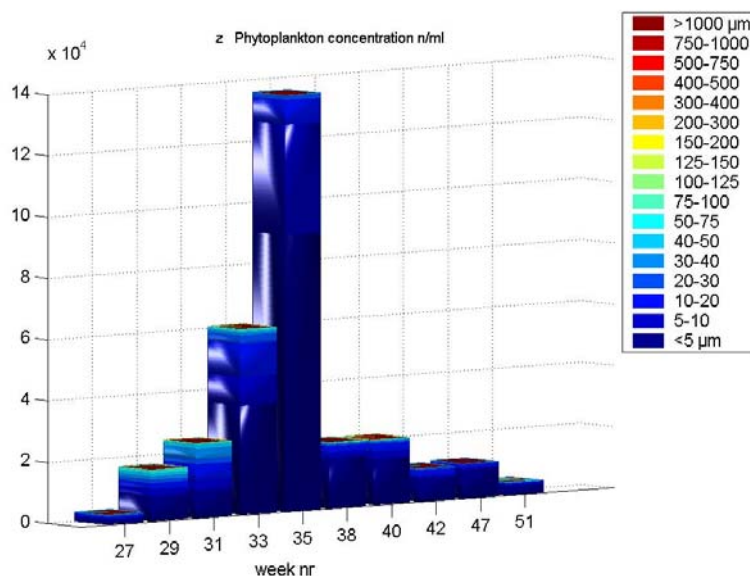
*Het verloop van de concentratie van **deeltjes met fycoerithrine** vertoont dezelfde trend als de totaalconcentratie en heeft ook een duidelijke bloeipiek in week 35 nl. 68000 d/ml. Dit is 50% van de totaalconcentratie. In 2001 viel juist op dat de concentratie deeltjes met fycoerythrine laag was ten opzichte van de totaalconcentratie autotrofe deeltjes nl. < 10%.*

*Het verloop van de concentratie van autotrofe deeltjes met **fyocyanine/chlorofyl-b** is identiek aan het verloop van de totaal-concentratie autotrofe deeltjes. De hoogste concentratie wordt in week 35 gevonden (ca. 86000 d/ml). Evenals de concentratie van deeltjes met fycoerythrine neemt de concentratie van deeltjes met fyocyanine/ chlorofyl-b sterk af na de bloeipiek in week 35 en daalt in de maanden september t/m december geleidelijk tot < 500 d/ml. Het percentage deeltjes ten opzichte van de totaalconcentratie dat in de bloeipiek gevonden wordt bedraagt ca. 65% en is vergelijkbaar met de situatie in 2001.*

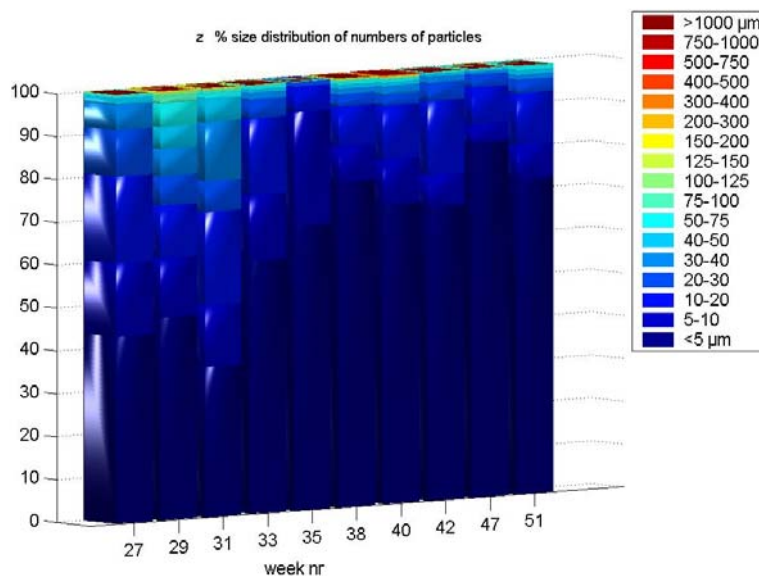
3.6.2 Flowcytometrische fytoplanktonconcentraties Zijpe

Fytoplanktonconcentratie: De totaalconcentraties van deeltjes met chlorofyl-a zijn uitgesplitst in 17 groottefracties (deeltjes/ml.fractie) in FIGUUR 3.6.1 en de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentraties van deeltjes met chlorofyl-a uitgesplitst in 17 groottefracties ($\% \text{ n.fractie/n}_{\text{totaal}}$) in FIGUUR 3.6.2.

FIGUUR 3.6.1
Concentratie autotrofe
deeltjes (met chlorofyl-a)
per lengtefractie

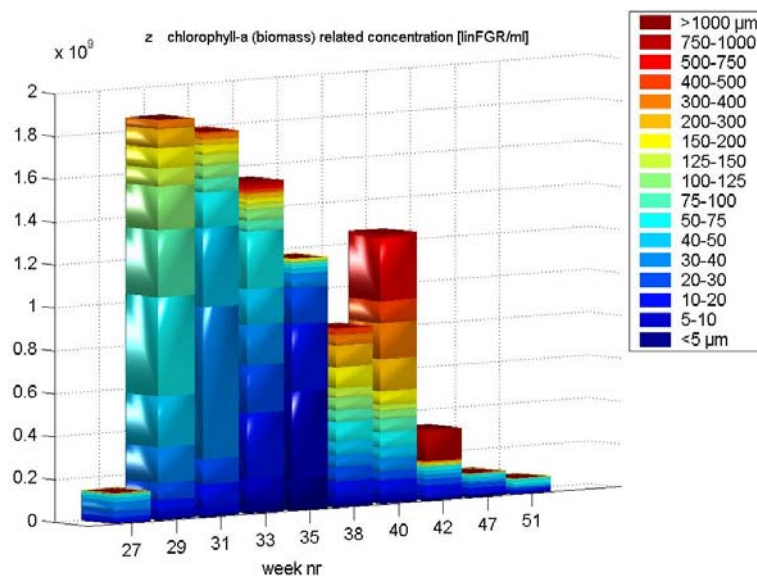


FIGUUR 3.6.2
% Aantal autotrofe deeltjes
met chlorofyl-a per
lengtefractie

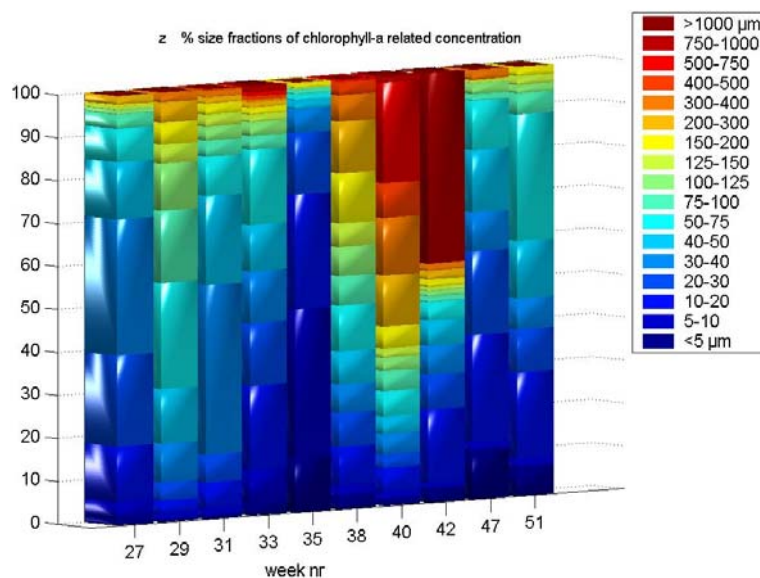


De **chlorofyl-a/ml concentraties** (biomassa) of flowcytometrische linFGR/ml variabele is uitgesplitst in 17 groottefracties (linFGR/ml.fractie) (FIGUUR 3.6.3) en de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentratie chlorofyl-a/ml uitgesplitst in 17 groottefracties (% linFGR/ml.fractie/totaal-linFGR/ml) in FIGUUR 3.6.4.

FIGUUR 3.6.3
Totale LinFGR/mL
(chlorofyl-a/m l) per
lengtefractie

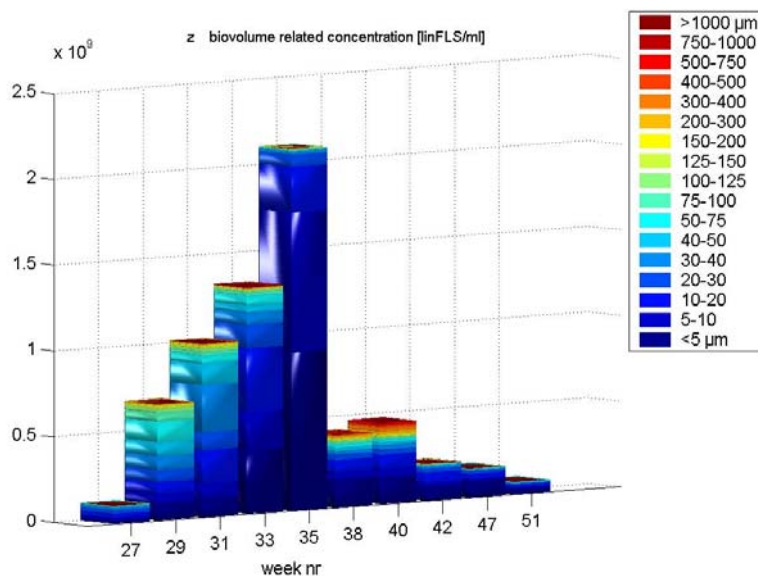


FIGUUR 3.6.4
% LinFGR/ml per
lengtefractie

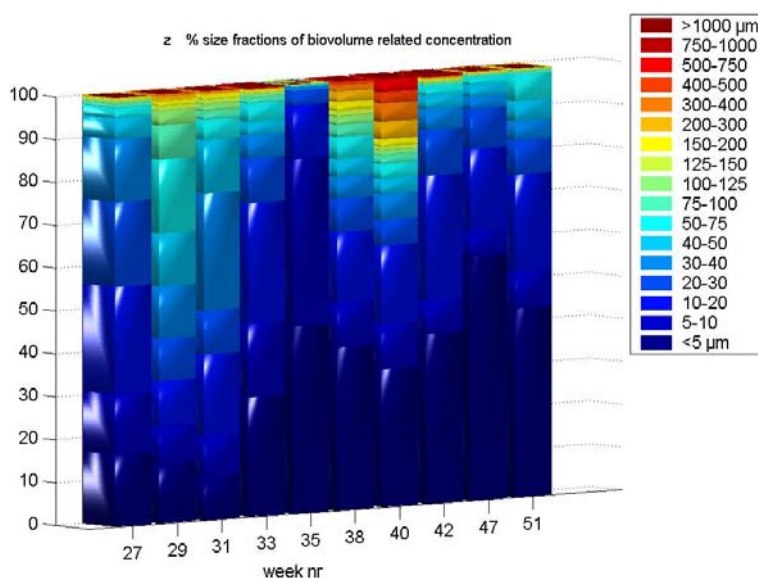


De **biovolumeconcentraties** (van deeltjes met chlorofyl-a)/ml uitgesplitst in 17 groottefracties (linFLS/ml.fractie) is weergegeven in FIGUUR 3.6.5 en de percentuele bijdrage per fractie aan de totaalconcentratie biovolume/ml uitgesplitst in 17 groottefracties (% linFLS/ml.fractie/totaal-linFLS/ml) in FIGUUR 3.6.6.

FIGUUR 3.6.5
Totale LinFLS/ml per
lengtefractie



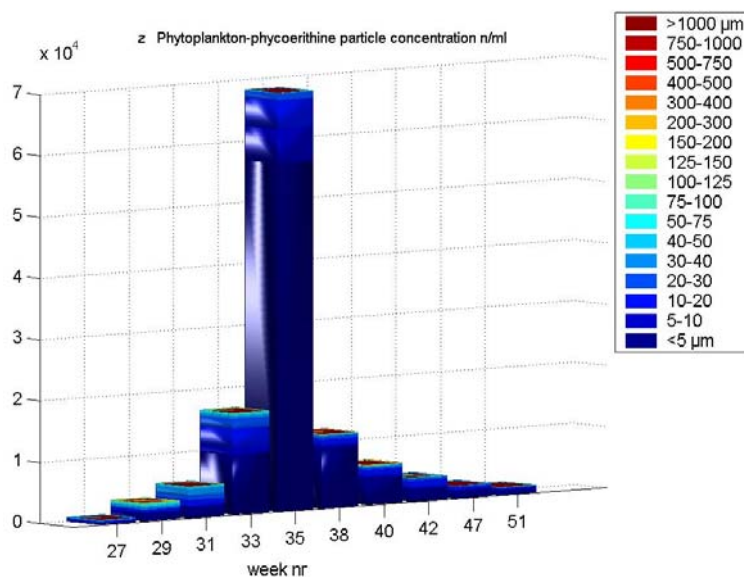
FIGUUR 3.6.6
% LinFLS/ml per
lengtefractie



De concentraties van deeltjes met chlorofyl-a EN **fycobilliproteinen** uitgesplitst in 17 groottefracties ($n_{(FGR>0\&FGO>0)}$ ml.fractie) is gepresenteerd in FIGUUR 3.6.7 en concentraties van deeltjes met chlorofyl-a EN **fycocyaninen en chlorofyl-b** in FIGUUR 3.6.8.

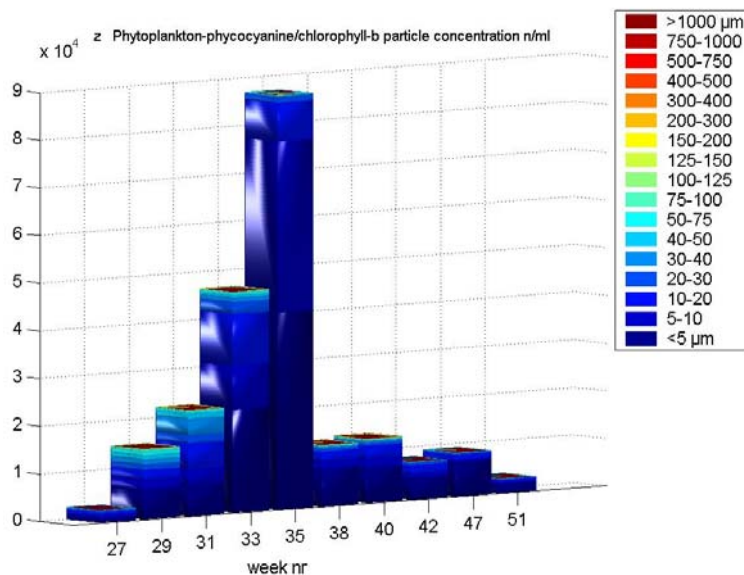
FIGUUR 3.6.7

Absolute
deeltjesconcentratie van
deeltjes met FGR & FGO



FIGUUR 3.6.8

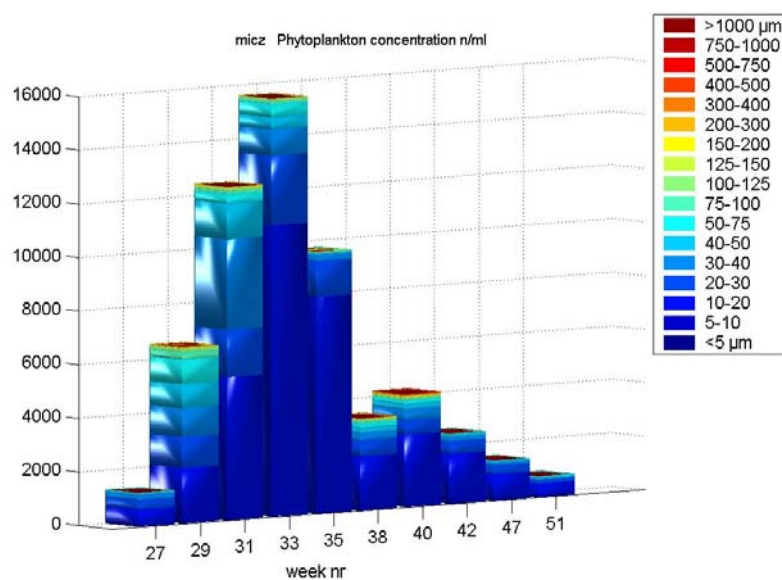
Absolute
deeltjesconcentratie van
deeltjes met FGR & FRR



3.6.3 Fytoplanktonconcentratie van deeltjes groter dan 10 µm

De flowcytometrische totaalconcentraties van deeltjes met chlorofyl-a > 10 µm zijn uitgesplitst in 15 groottefracties (deeltjes/ml.fractie) in FIGUUR 3.6.9, waarbij de fracties < 5 µm en 5-10 µm verwijderd zijn uit de dataset. De legenda laat nog wel de fracties <5 en 5-10 µm zien, maar de eerste balk in de figuur is de fractie deeltjes 10-20 µm. Dit is gedaan om de kleur per fractie niet te laten veranderen ten opzichte van andere grafieken.

FIGUUR 3.6.9
Absolute
deeltjesconcentratie van
deeltjes **groter dan 10 µm**
met FGR (chlorofyl-a)



4. Discussie

4.1 Lange termijn data

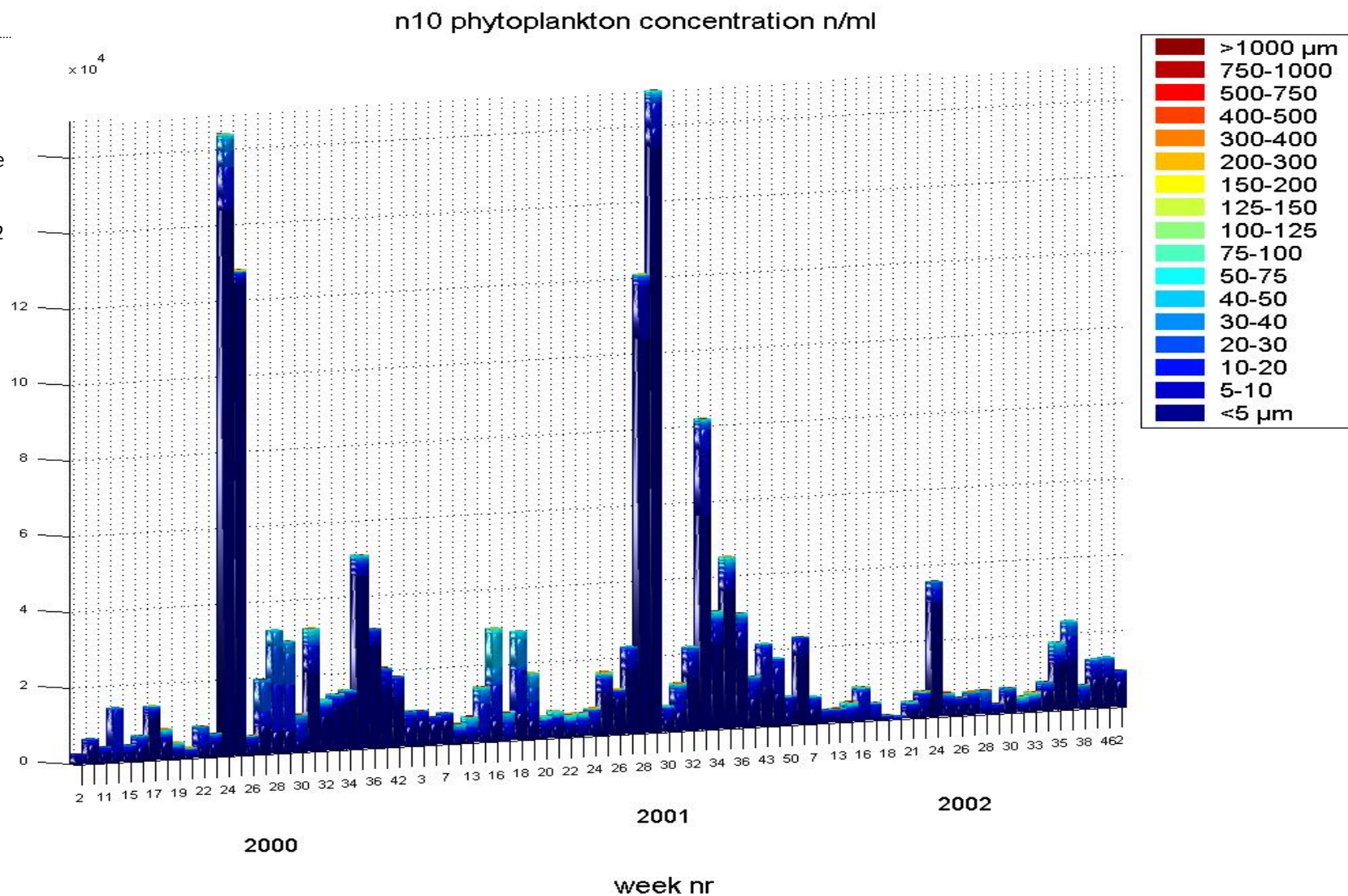
Voor alle lokaties is een vergelijking tussen de jaargangen 2000, 2001 en 2002 gemaakt. Door middel van lange termijn overzichten kunnen trends snel en duidelijk in beeld worden gebracht. Op grond van de controlekaarten(niet gepresenteerd) waarin de gegevens van calibratiebollen elke analysedag geregistreerd worden mag geconcludeerd worden dat een vergelijking tussen de jaargangen mogelijk is.

4.1.1 Lange termijn data Noordwijk 10

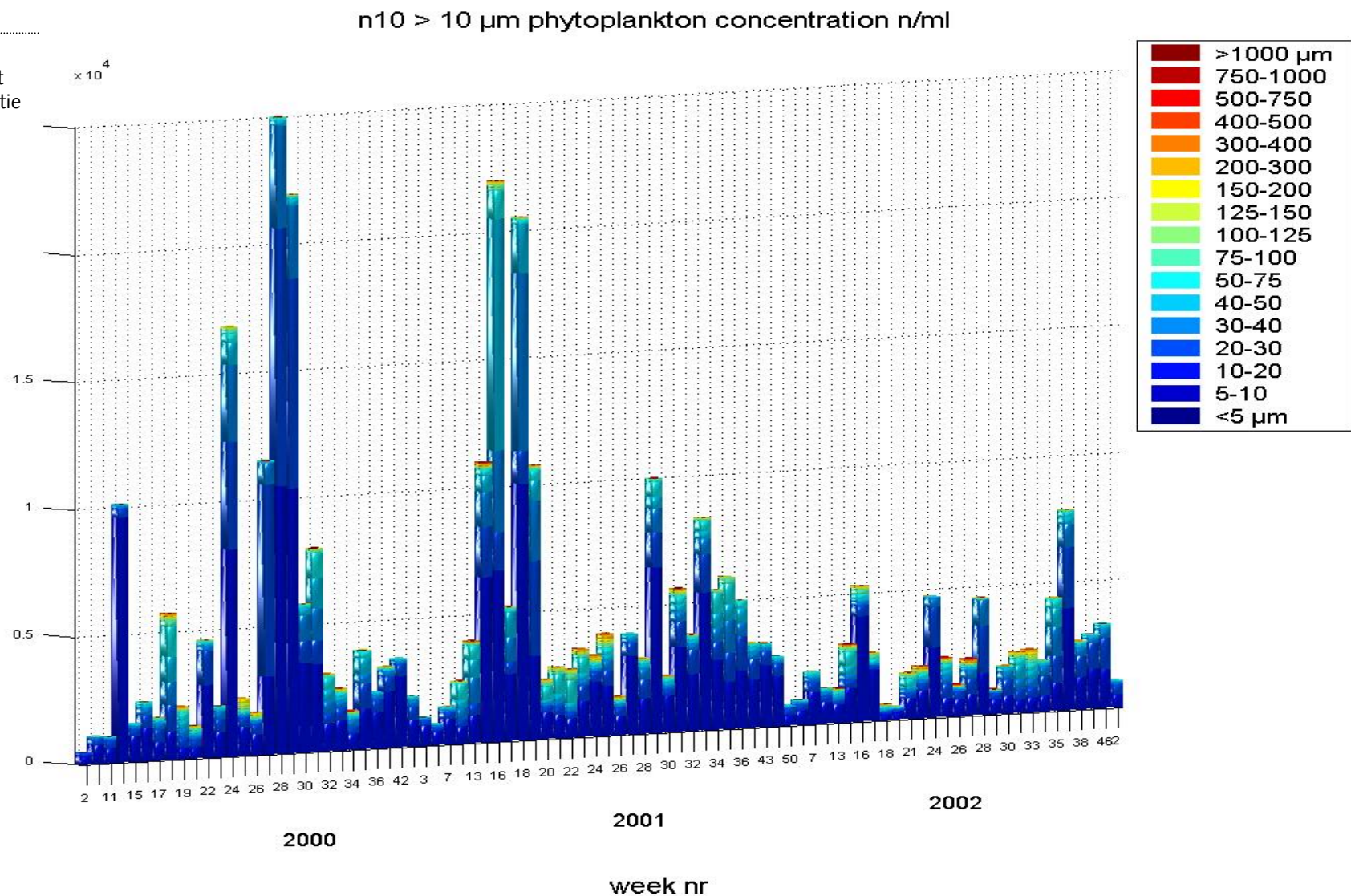
In 2000 en 2001 worden in juni(Figuur 4.1.1.1) zeer hoge concentraties gevonden die hoofdzakelijk bepaald worden door kleine(< 10 µm) oranje fluorescerende deeltjes (Synechococcus). In augustus 2001 heeft er nog een bloei plaats gevonden van kleine deeltjes met fycocyanine/chlorofyl-b. In 2002 heeft er geen bloei van oranje fluorescerende deeltjes plaats gevonden en wordt de kleine piek in week 24 veroorzaakt door deeltjes met fycocyanine/chlorofyl-b. Tevens is duidelijk dat de gemeten concentraties in 2002 lager zijn dan in 2000 en 2001.

Het lange termijn overzicht van de biomassa(Figuur 4.1.1.3) vertoont een duidelijke trend nl. lage biomassa's in de periode september t/m februari en de hoogste biomassa's in het voorjaar en in de zomer. De hoogste biomassa's zijn gemeten in 2001 en de laagste in 2000. In 2000 worden bovendien minder grote deeltjes gemeten dan in de andere jaargangen.

FIGUUR 4.1.1.1
Lange termijn overzicht
van de totaalconcentratie
autotrofe deeltjes
uitgesplitst in verschillende
groottefracties van de
lokatie Noordwijk 10 over
de periode 2000 t/m 2002

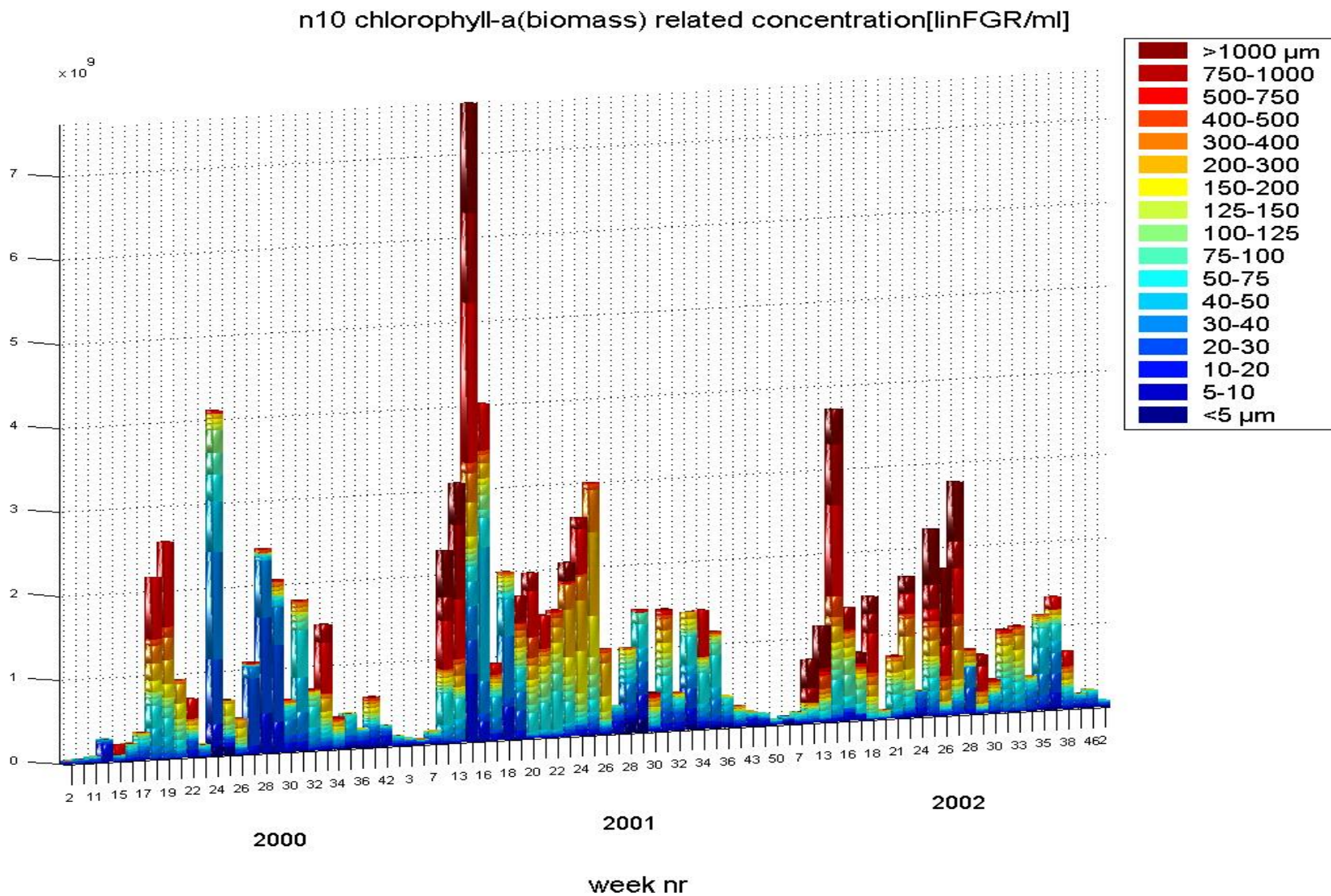


FIGUUR 4.1.1.2
 Lange termijn overzicht
 van de totaalconcentratie
 autotrofe deeltjes > 10
 µm uitgesplitst in
 verschillende
 groottefracties van de
 lokatie Noordwijk 10
 over de periode 2000
 t/m 2002



FIGUUR 4.1.1.3

Lange termijn overzicht
van de totale biomassa
concentratie autotrofe
deeltjes (LinFGR/ml)
uitgesplitst in
verschillende
groottefracties van de
lokatie Noordwijk 10
over de periode 2000
t/m 2002



4.1.2 Lange termijn data Noordwijk 2

Het verloop van de totaalconcentratie autotrofe deeltjes op Noordwijk2 is grotendeels vergelijkbaar met de situatie op Noordwijk 10. In 2000 en 2001 worden ook in juni (Figuur 4.1.2.1) zeer hoge concentraties gevonden, die voornamelijk toegeschreven kunnen worden aan kleine (< 10 µm) oranje fluorescerende deeltjes (*Synechococcus*). Een opvallend verschil is dat de piek van deeltjes die in 2001 in week 18 op Noordwijk 2 gemeten wordt, ontbreekt op Noordwijk 10. Deze piek wordt i.t.t. de pieken in juni 2000 en juli 2001 niet veroorzaakt door kleine oranje fluorescerende deeltjes maar door grotere deeltjes met fycocyanine/chlorofyl-b. In deze periode werden deeltjes nog gefotografeerd met behulp van Imaging in Flow (IIF). IIF-resultaten en de microscopische tellijsten tonen aan dat de piek veroorzaakt wordt door een bloei van *Phaeocystis*.

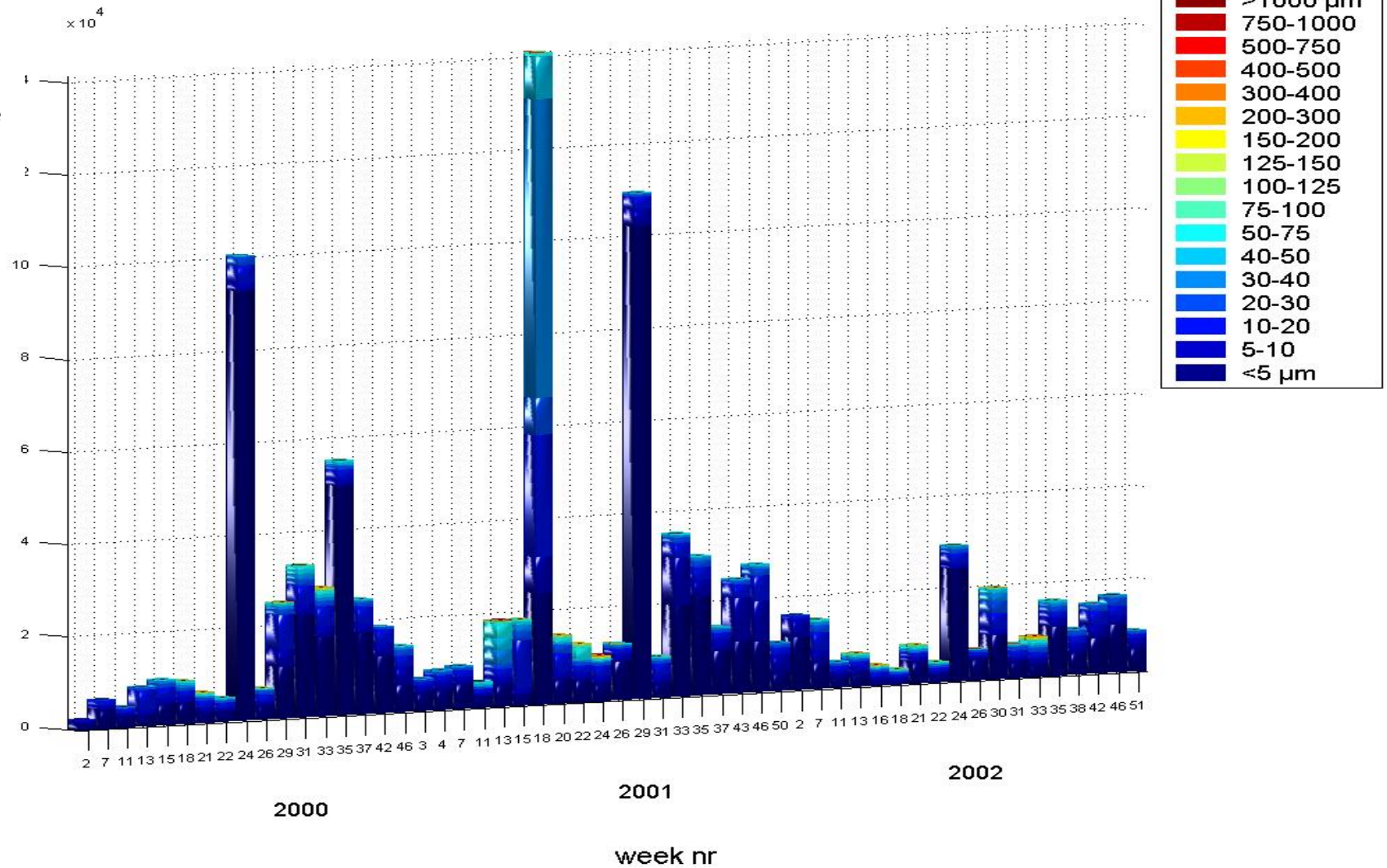
Uit het lange termijn overzicht van deeltjes groter dan 10 µm blijkt dat dit de enige bloei van dit type deeltjes in 3 jaargangen geweest is. Met uitzondering van deze bloei geldt dat de totaalconcentratie autotrofe deeltjes > 10 µm bijna altijd lager is dan 10000 d/ml.

Voor de biomassa (Figuur 4.1.2.3) geldt dat, evenals op Noordwijk 10, de laagste waarden in de periode september t/m februari gemeten worden. De hoogste biomassa's worden in 2001 gemeten. De bloei van grotere deeltjes met fycocyanine-chlorofyl-b in week 18 is duidelijk zichtbaar in de grafiek. De biomassa's 2002 zijn lager dan in 2001 maar hoger dan in 2000.

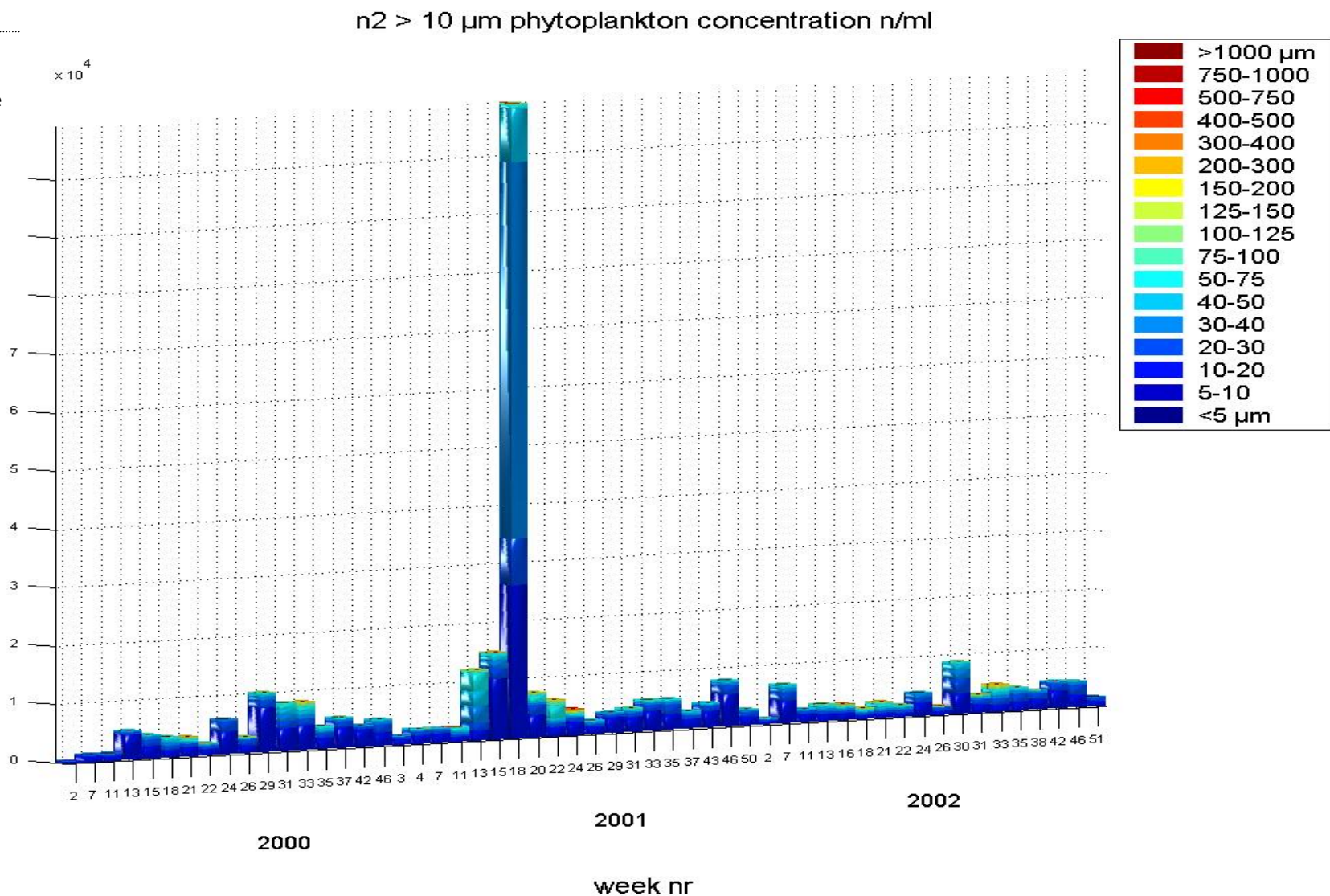
n2 phytoplankton concentration n/ml

FIGUUR 4.1.2.1

Lange termijn overzicht
van de totaalconcentratie
autotrofe deeltjes
uitgesplitst in verschillende
groottefracties van de
lokatie Noordwijk 2 over
de periode 2000 t/m 2002

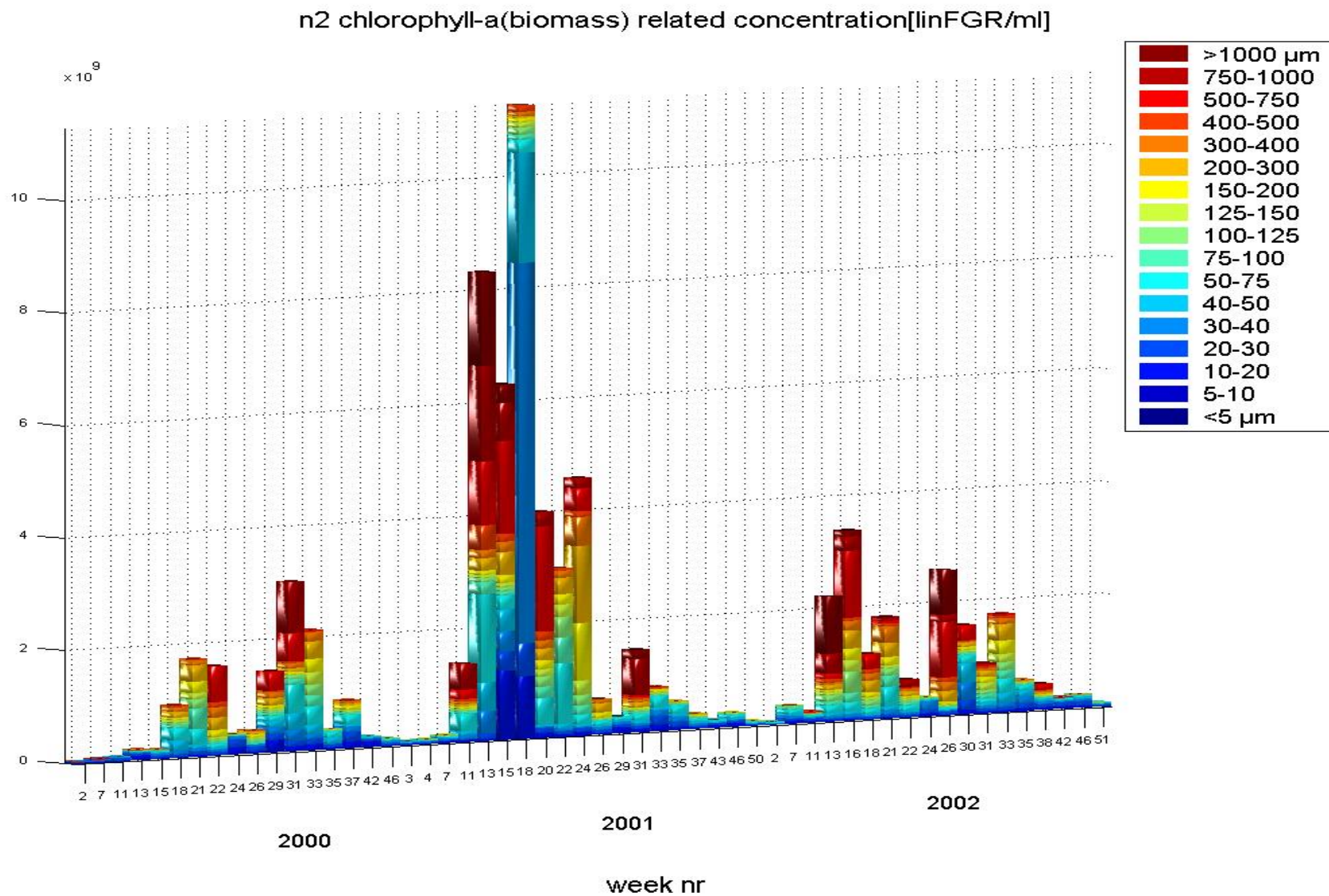


FIGUUR 4.1.2.2
 Lange termijn overzicht
 van de totaalconcentratie
 autotrofe deeltjes > 10
 µm uitgesplitst in
 verschillende
 groottefracties van de
 lokatie Noordwijk 2 over
 de periode 2000 t/m
 2002



FIGUUR 4.1.3.3

Lange termijn overzicht
van de totale biomassa
concentratie autotrofe
deeltjes (LinFGR/ml)
uitgesplitst in
verschillende
groottefracties van de
lokatie Noordwijk 2 over
de periode 2000 t/m
2002



4.1.3 Lange termijn data Terschelling 135

De totaalconcentratie autotrofe deeltjes op Terschelling 135 vertoont een grillig verloop en geen duidelijke trends. De concentraties zijn over het algemeen vrij laag en er worden weinig bloeien gemeten. In 2000 is er in week 42 een kleine bloei gemeten die hoofdzakelijk door kleine oranje fluorescerende deeltjes veroorzaakt wordt. In 2002 valt op dat in de periode april t/m augustus zeer lage concentraties gevonden worden.

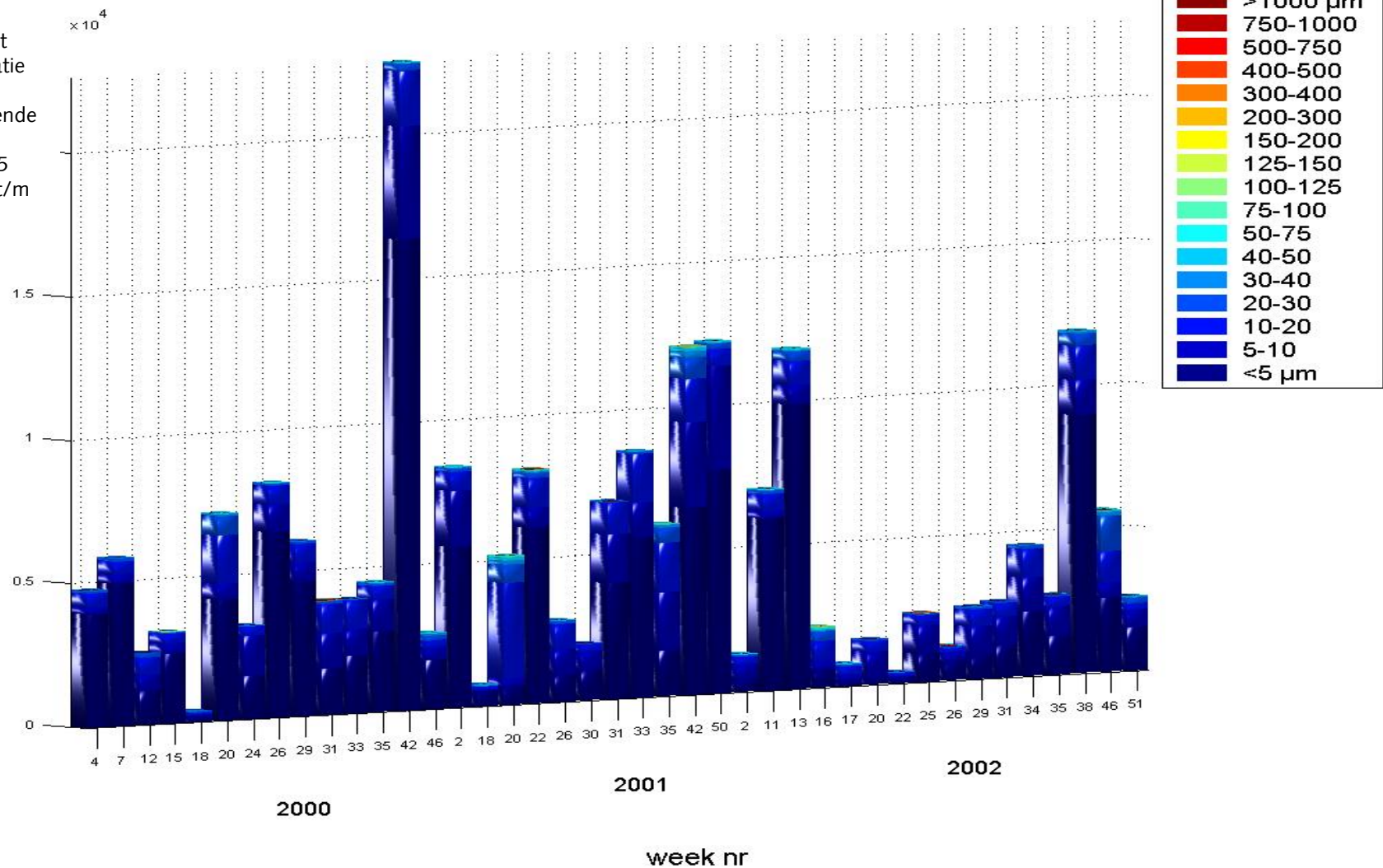
De totaalconcentratie autotrofe deeltjes $> 10 \mu\text{m}$ (Figuur 4.1.3.2) is, op een enkele uitzondering na, lager dan 2500 d/ml.

Het lange termijn overzicht van de biomassa (Figuur 4.1.3.3) vertoont een trend van biomassapieken in april/mei en in oktober. In de tussenliggende periodes worden lage biomassa's gemeten. De bijdrage van grote lange deeltjes is opvallend hoog in oktober 2001 en mei 2002.

ts135 phytoplankton concentration n/ml

FIGUUR 4.1.3.1

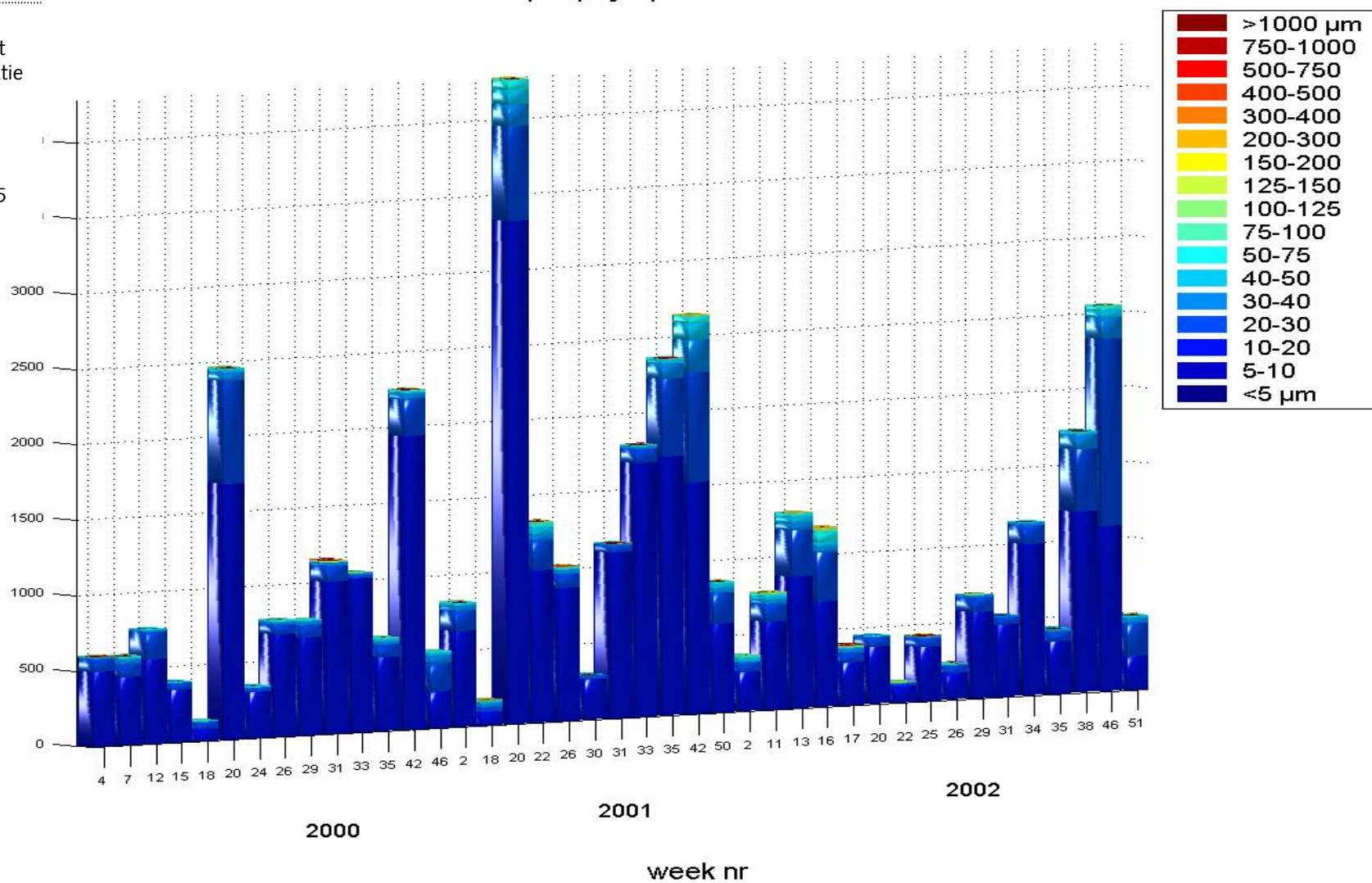
Lange termijn overzicht
van de totaalconcentratie
autotrofe deeltjes
uitgesplitst in verschillende
groottefracties van de
lokatie Terschelling 135
over de periode 2000 t/m
2002



ts135 > 10 µm phytoplankton concentration n/ml

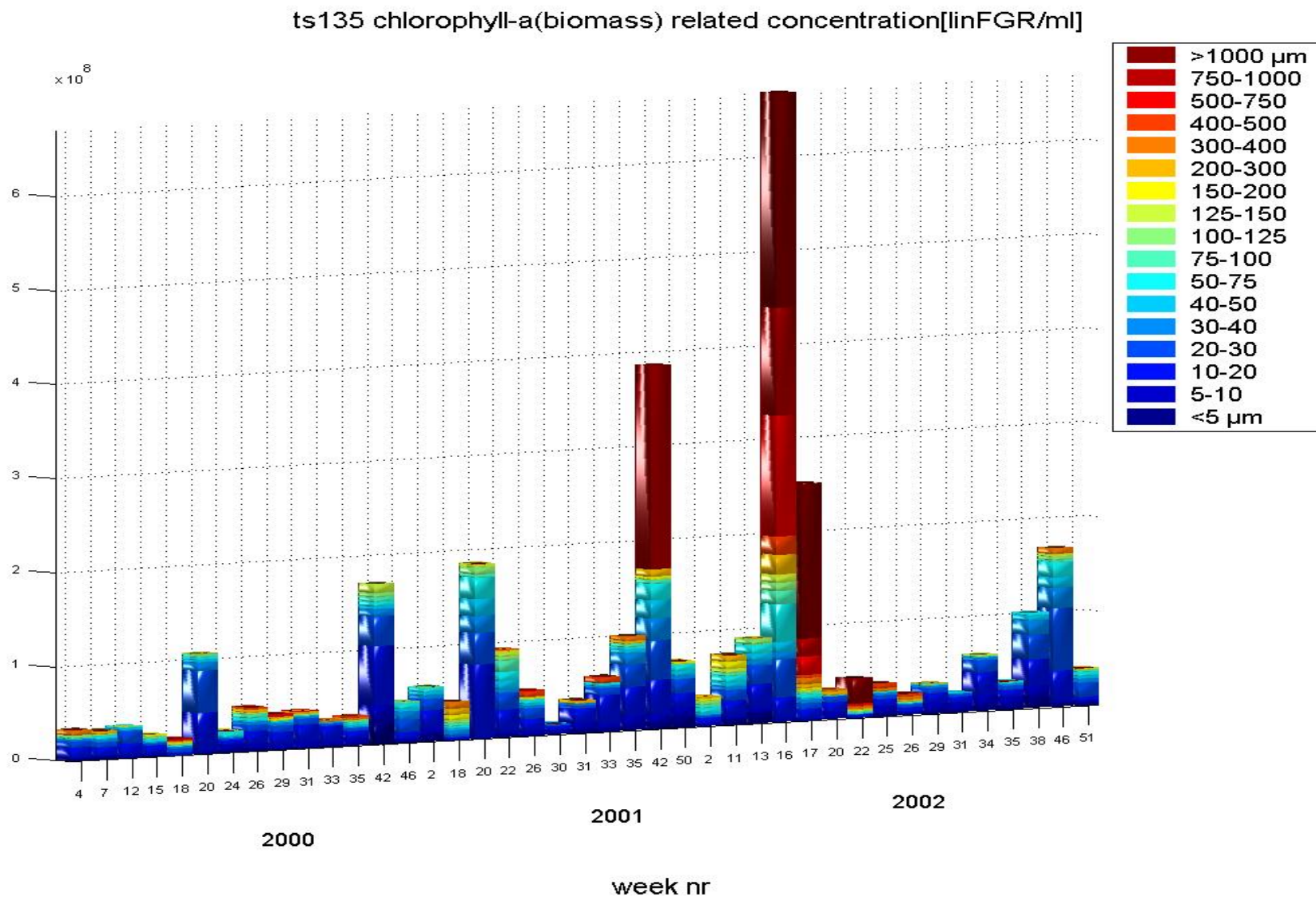
FIGUUR 4.1.3.2

Lange termijn overzicht van de totaalconcentratie autotrofe deeltjes > 10 µm uitgesplitst in verschillende groottefracties van de lokatie Terschelling 135 over de periode 2000 t/m 2002



FIGUUR 4.1.3.3

Lange termijn overzicht
van de totale biomassa
concentratie autotrofe
deeltjes (LinFGR/ml)
uitgesplitst in
verschillende
groottefracties van de
lokatie Terschelling 135
over de periode 2000
t/m 2002



4.1.4 Lange termijn data Schaar van Ouden Doel

Het verloop van de totaalconcentratie autotrofe deeltjes, autotrofe deeltjes > 10 μm en de biomassa is op Schaar van Ouden Doel zeer gelijkmatig gedurende de jaren 2000 t/m 2002.

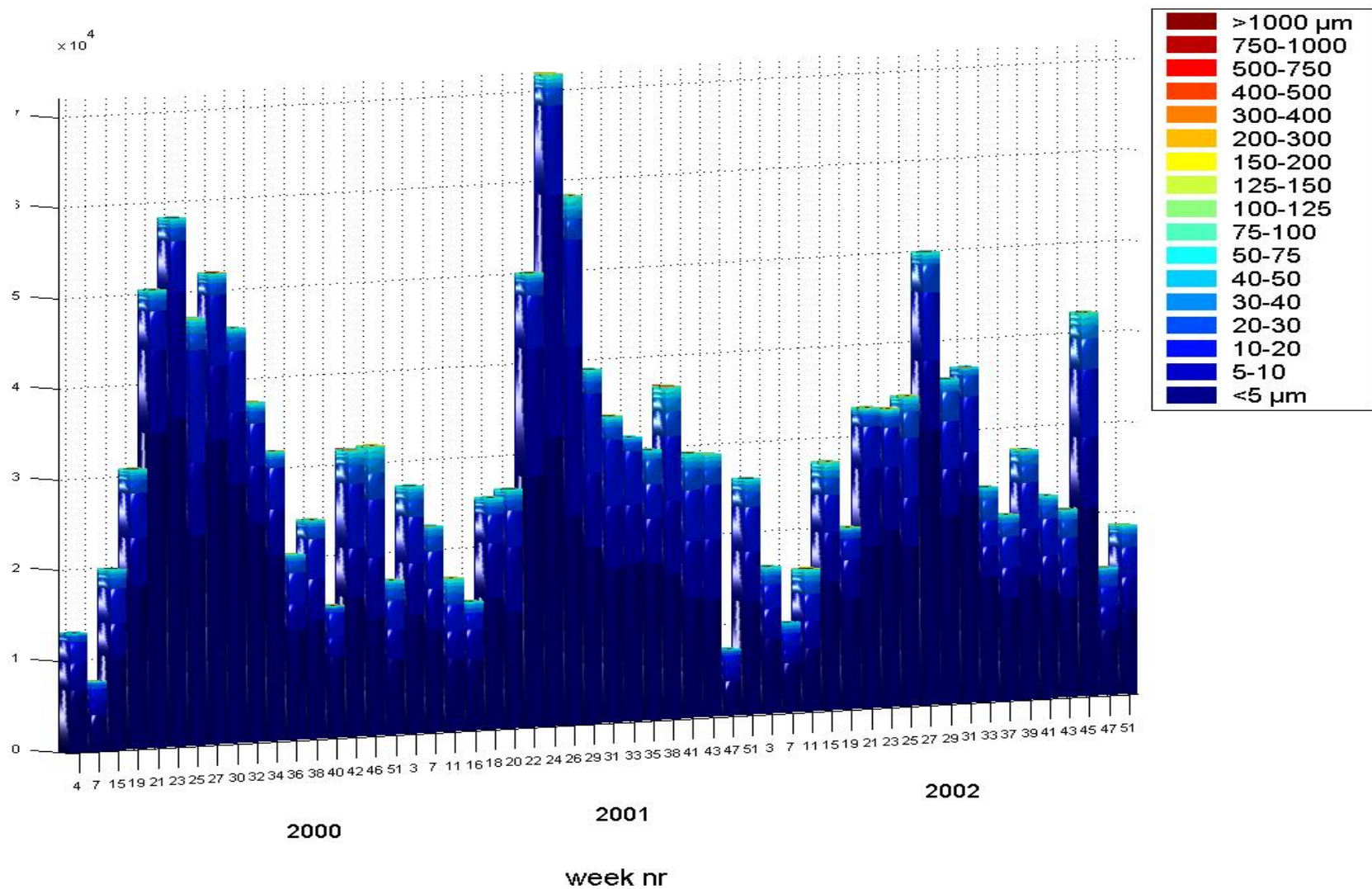
De totaalconcentratie autotrofe deeltjes(Figuur 4.1.4.1) bereikt steeds zijn hoogste waarden in juni/juli. Uit het lange termijn overzicht van de deeltjes > 10 μm (Figuur 4.1.4.2) valt tevens op dat er in de periode oktober/november elk jaar een kleine bloei gemeten wordt van deeltjes die groter dan 10 μm . Dit zijn voornamelijk oranje fluorescerende deeltjes.

Het totaalbeeld van de biomassa(Figuur 4.1.3.4) laat zien dat er geen grote verschillen zijn tussen de jaargangen. Er worden, m.u.v. week 11 in 2002 geen heel grote deeltjes gemeten. Er is gedurende alle jaren wel een duidelijke bijdrage van deeltjes tussen 50 en 150 μm .

sv phytoplankton concentration n/ml

FIGUUR 4.1.4.1

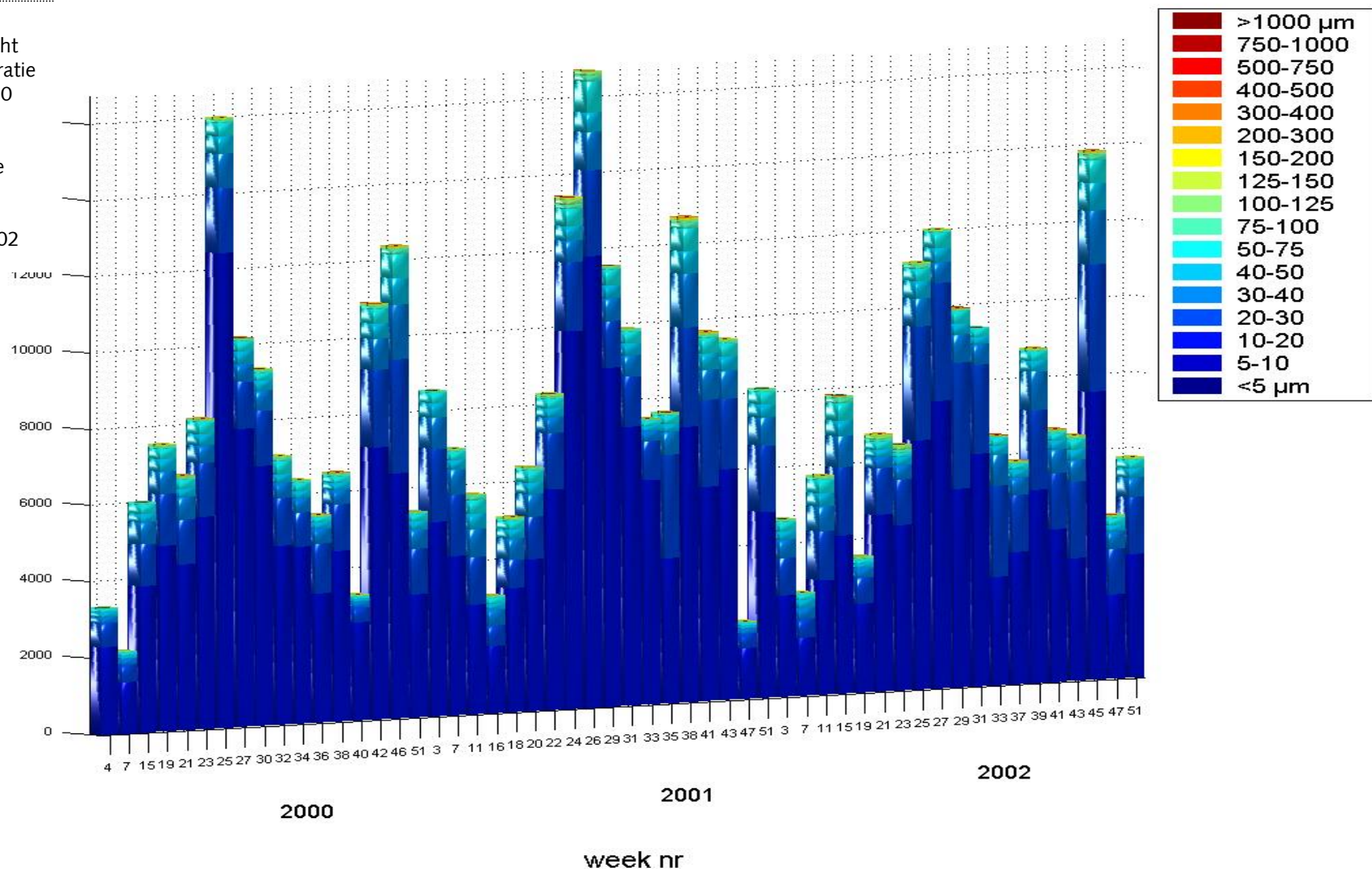
Lange termijn overzicht
van de totaalconcentratie
autotrofe deeltjes
uitgesplitst in verschillende
groottefracties van de
lokatie Schaar van Ouden
Doel over de periode 2000
t/m 2002



sv > 10 µm phytoplankton concentration n/ml

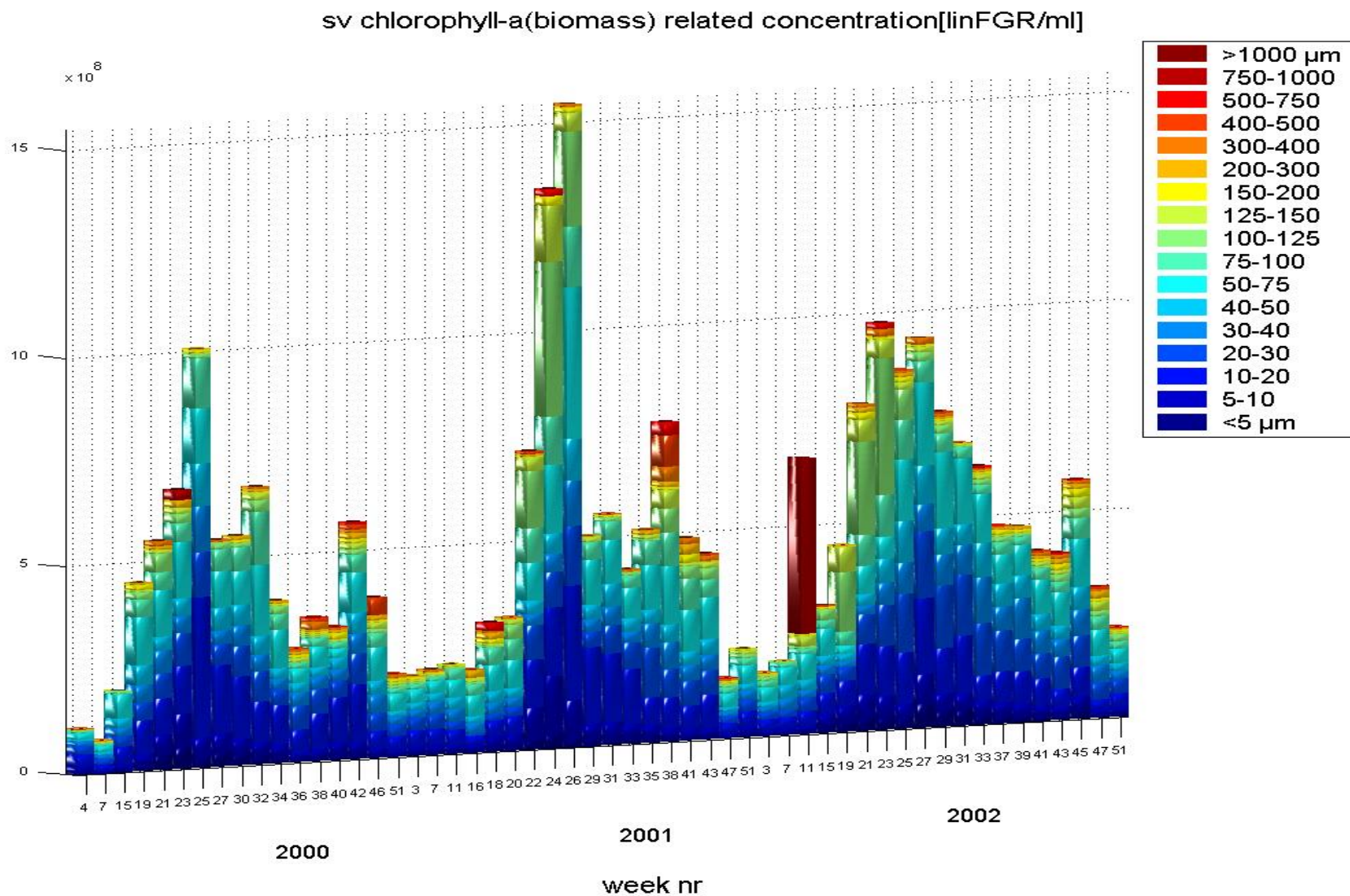
FIGUUR 4.1.4.2

Lange termijn overzicht van de totaalconcentratie autotrofe deeltjes > 10 µm uitgesplitst in verschillende groottefracties van de lokatie Schaar van Ouden Doel over de periode 2000 t/m 2002



FIGUUR 4.1.4.3

Lange termijn overzicht
van de totale biomassa
concentratie autotrofe
deeltjes (LinFGR/ml)
uitgesplitst in
verschillende
groottefracties van de
lokatie Schaar van
Ouden Doel over de
periode 2000 t/m 2002



4.1.5 Lange termijn data Vlissingen

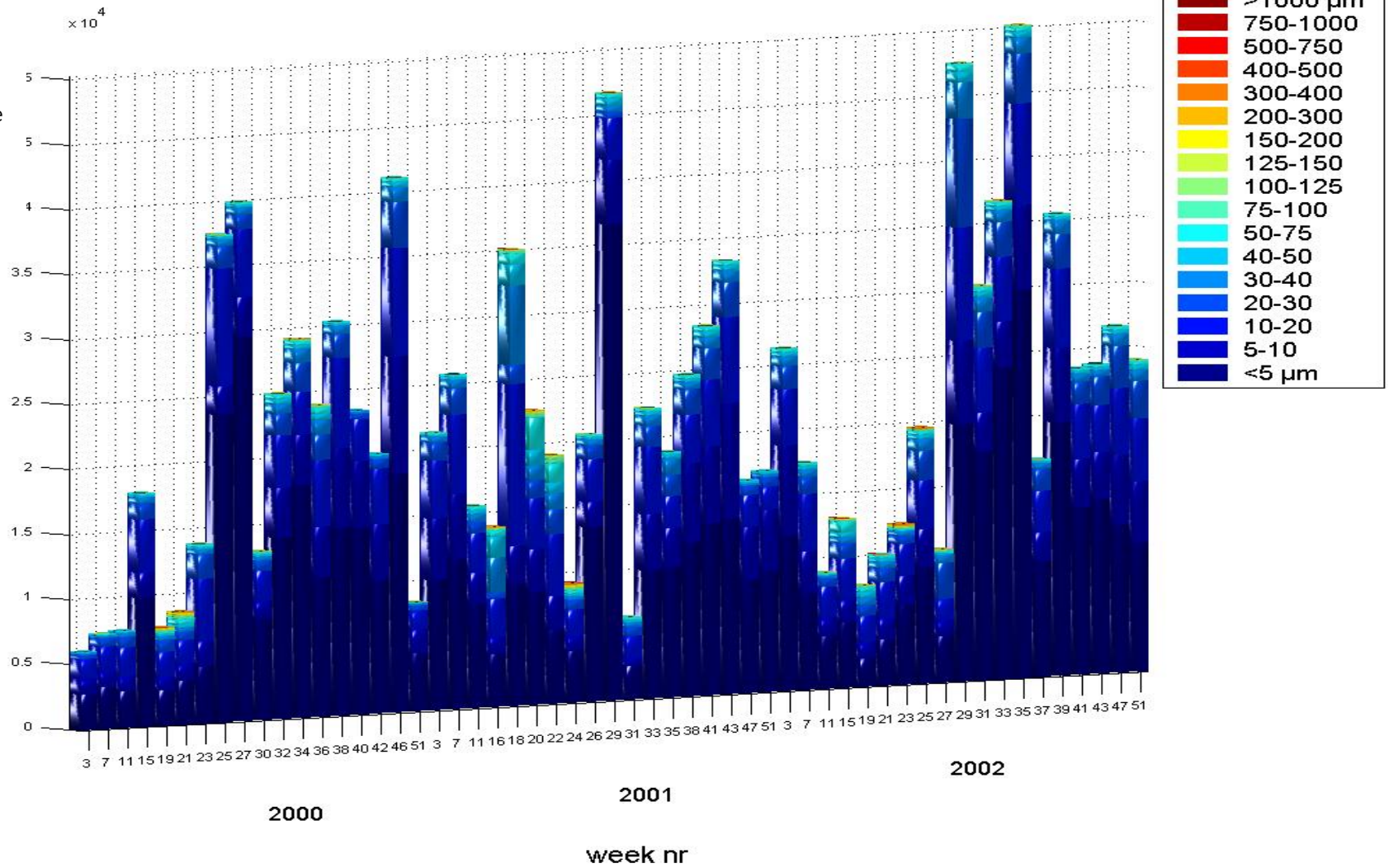
Het verloop van de totaalconcentratie autotrofe deeltjes en autotrofe deeltjes > 10 μm is op de lokatie Vlissingen veel grilliger dan op Schaar van Ouden doel. De duidelijke trend die op Schaar van Ouden Doel te zien was ontbreekt nu aangezien er veel meer pieken in de concentratie gemeten worden.

Het lange termijn overzicht van de biomassa(Figuur 4.1.5.3) vertoont wel een duidelijke trend. Er worden biomassapieken gemeten in april, mei en juni en lage biomassa's in de overige maanden. Er zijn een aantal opvallende verschillen met Schaar van Ouden Doel. De hoogste biomassa's worden op Vlissingen al in april gemeten terwijl dit op Schaar van Ouden Doel pas in juni gebeurt. Op Vlissingen is de bijdrage van deeltjes van 150 tot 1000 μm aan de hoogste biomassa's aanzienlijk terwijl deeltjes van deze grootte op Schaar van Ouden Doel nauwelijks voorkomen. Een vergelijking van de absolute waarden van de hoogst gemeten biomassa per jaargang laat zien dat op Vlissingen een ca. 3 keer zo hoge waarde als op Schaar van Ouden Doel gevonden wordt.

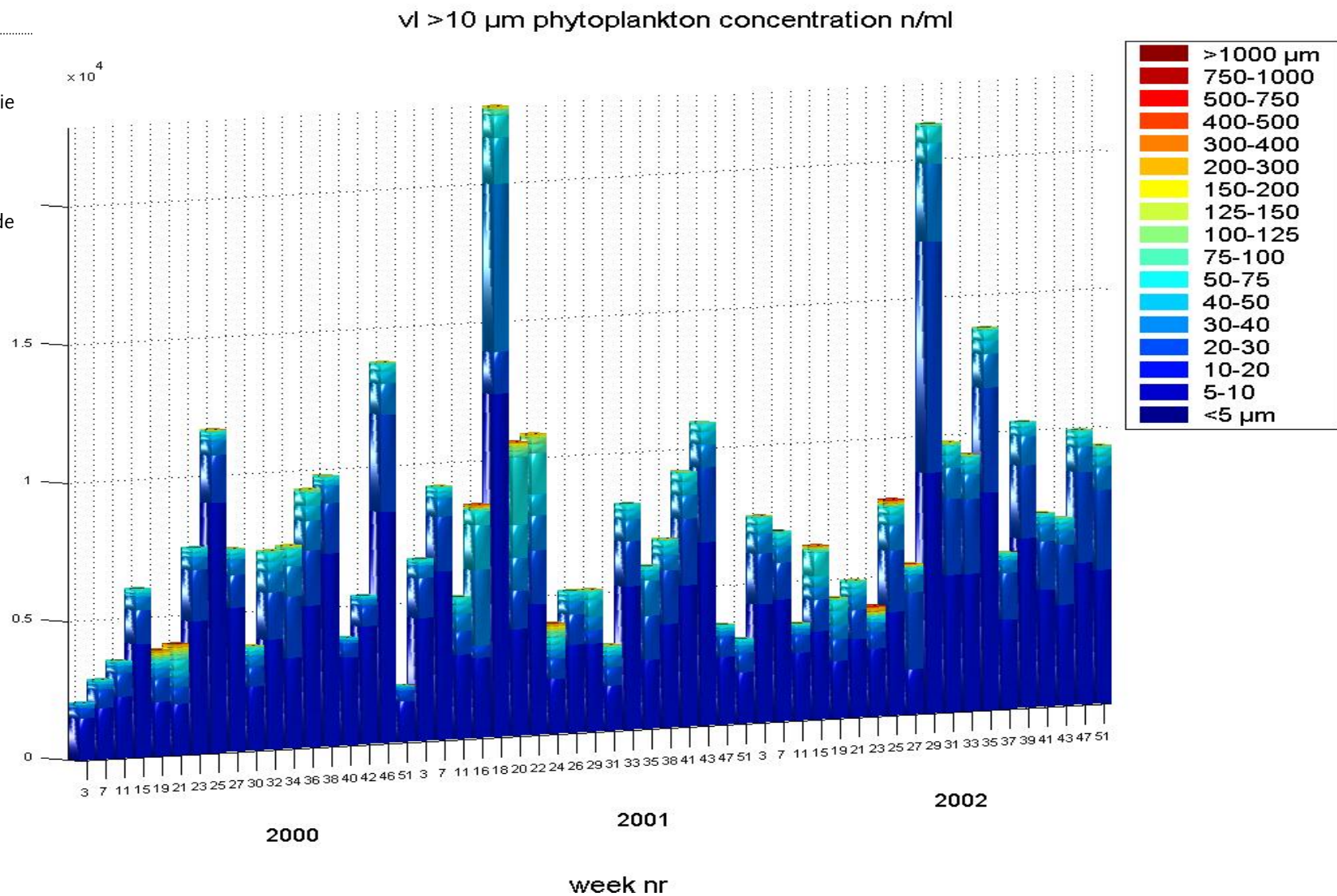
vl phytoplankton concentration n/ml

FIGUUR 4.1.5.1

Lange termijn overzicht van de totaalconcentratie autotrofe deeltjes uitgesplitst in verschillende groottefracties van de lokatie Vlissingen over de periode 2000 t/m 2002



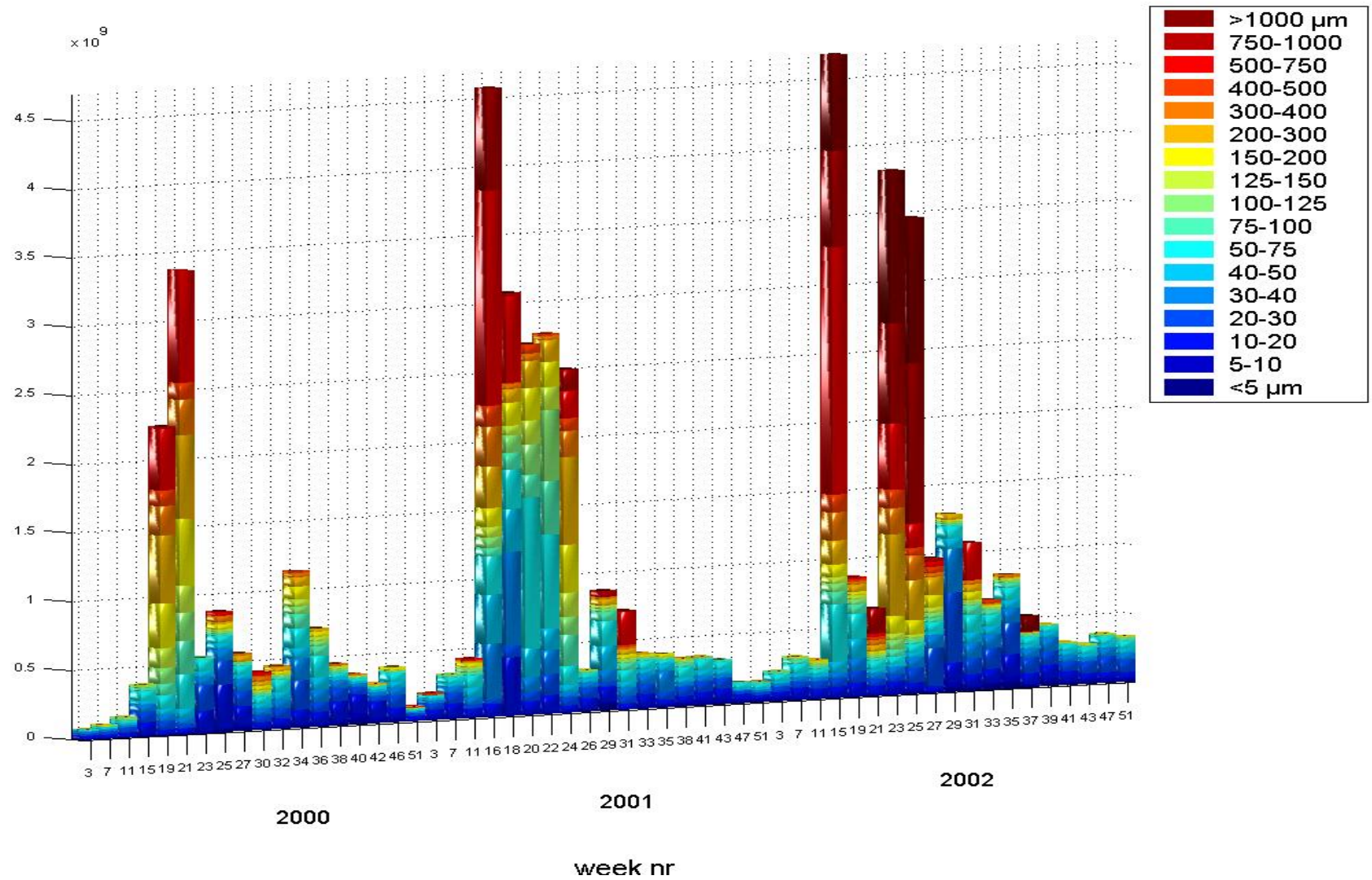
FIGUUR 4.1.5.2
Lange termijn overzicht
van de totaalconcentratie
autotrofe deeltjes > 10
 μm uitgesplitst in
verschillende
groottefracties van de
lokatie Vlissingen over de
periode 2000 t/m 2002



vl chlorophyll-a(biomass) related concentration[linFGR/ml]

FIGUUR 4.1.5.3

Lange termijn overzicht van de totale biomassa concentratie autotrofe deeltjes (LinFGR/ml) uitgesplitst in verschillende groottefracties van de lokatie Vlissingen over de periode 2000 t/m 2002



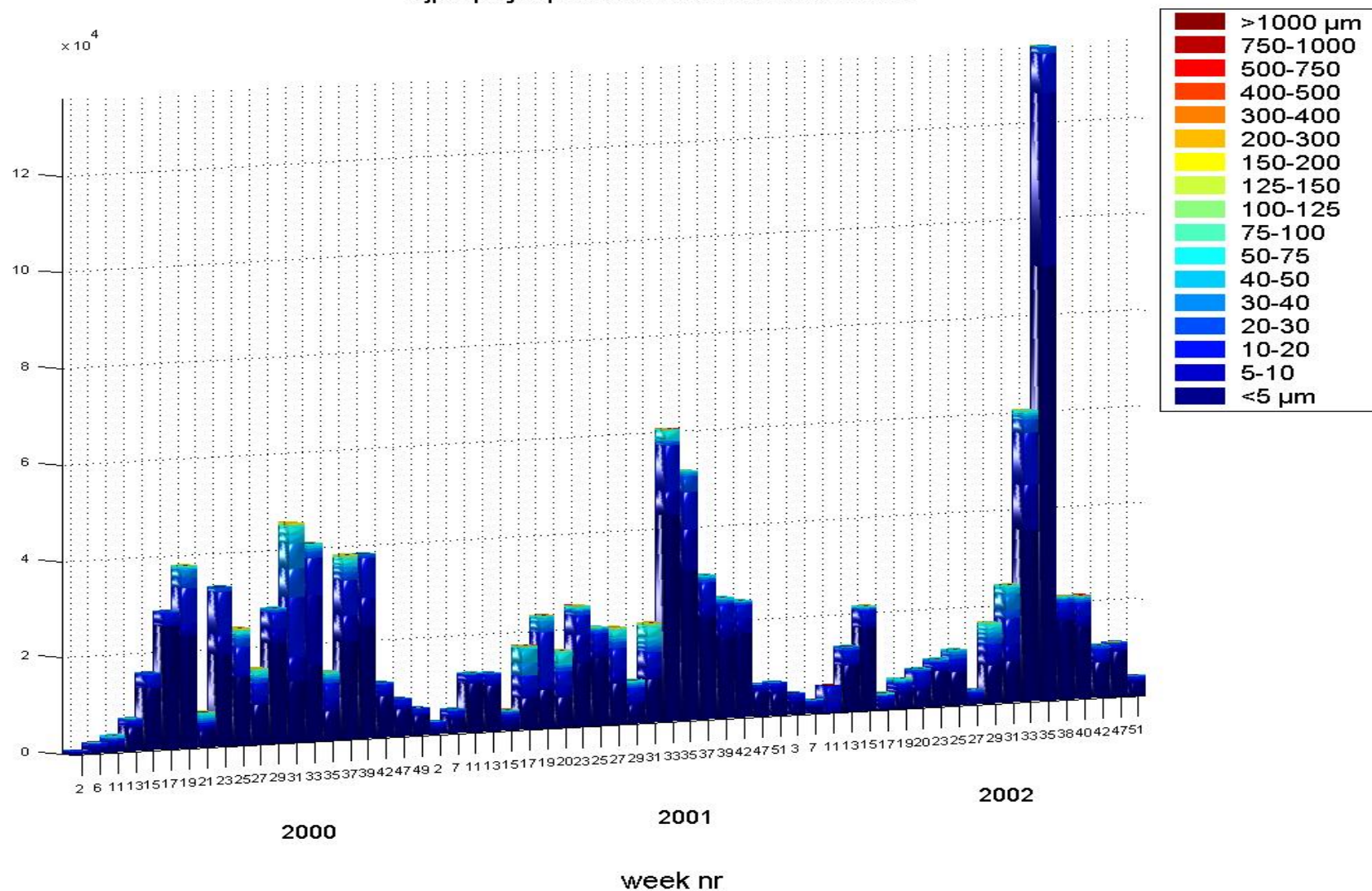
4.1.6 Lange termijn data Zijpe

Het verloop van de totaalconcentratie autotrofe deeltjes, autotrofe deeltjes > 10 µm en de biomassa vertoont op de lokatie Zijpe een zelfde patroon in de jaren 2000 t/m 2002. In de maanden oktober t/m maart worden lage waardes gevonden. In de overige maanden neemt de fytoplanktonconcentratie toe waarbij zelden echte bloeien optreden. In week 33 en 35 van 2001 en 2002 is er een bloei van kleine oranje fluorescerende deeltjes. In 2002 gaat deze echter gepaard met een bloei van kleine deeltjes met fycocyanine/chlorofyl-b waardoor er een zeer hoge totaalconcentratie (136000 d/ml) gemeten wordt. Aangezien beide bloeien veroorzaakt worden door deeltjes < 10 µm is er in het lange termijn overzicht van de grotere deeltjes (Figuur 4.1.6.2) geen bloeipiek meer waarneembaar. In dit overzicht valt week 31 in 2000 op als enigste piek van grotere deeltjes in drie jaar tijd.

Het lange termijn verloop van de biomassa (Figuur 4.1.6.3) vertoont dezelfde trend als de totaalconcentratie. De deeltjes die aanzienlijk bijdragen aan de biomassa variëren in grootte tussen 50 en 300 µm. Dit verschilt van de Westerschelde-lokaties Vlissingen en Schaar van Ouden Doel waar de biomassa aan respectievelijk grotere (tot 1000 µm) en kleinere deeltjes (50 tot 150 µm) toegeschreven wordt.

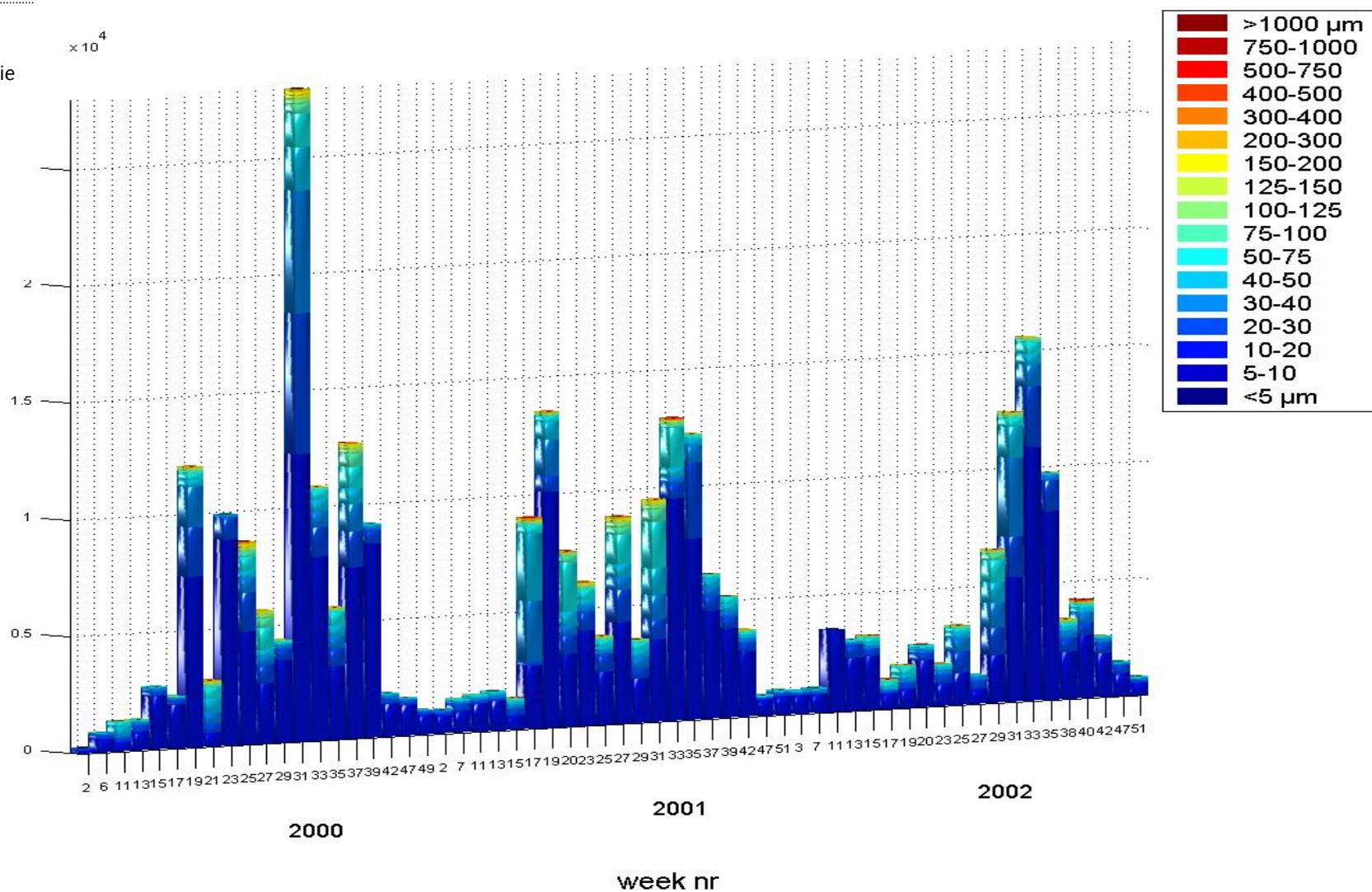
zijpe phytoplankton concentration n/ml

FIGUUR 4.1.6.1
Lange termijn overzicht
van de totaalconcentratie
autotrofe deeltjes
uitgesplitst in verschillende
groottefracties van de
lokatie Zijpe over de
periode 2000 t/m 2002



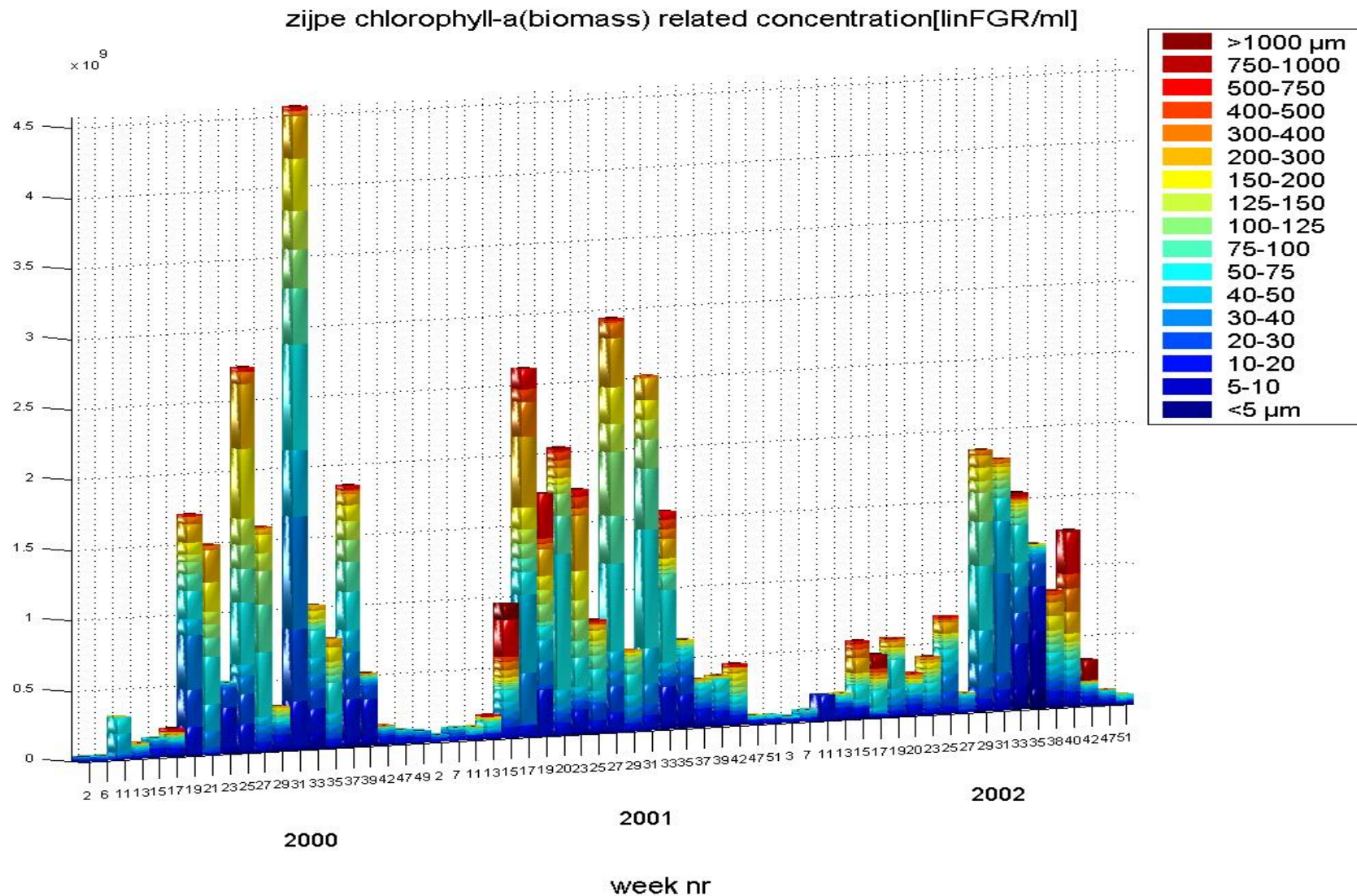
zijpe > 10 µm phytoplankton concentration n/ml

FIGUUR 4.1.6.2
Lange termijn overzicht
van de totaalconcentratie
autotrofe deeltjes > 10
µm uitgesplitst in
verschillende
groottefracties van de
lokatie Zijpe over de
periode 2000 t/m 2002



FIGUUR 4.1.6.3

Lange termijn overzicht
van de totale biomassa
concentratie autotrofe
deeltjes (LinFGR/ml)
uitgesplitst in
verschillende
groottefracties van de
lokatie Zijpe over de
periode 2000 t/m 2002



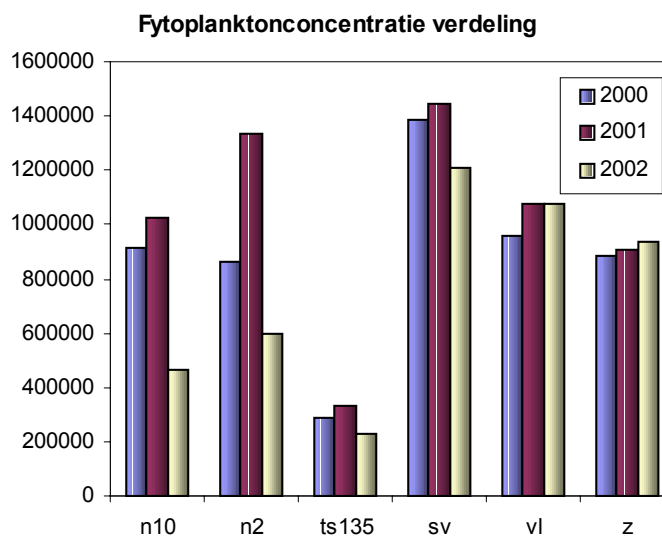
4.2 Een kwantitatieve vergelijking tussen jaargangen en tussen lokaties

Een van de doelstellingen van monitoring is lange termijn trends in kaart te brengen. In deze paragraaf worden de flowcytometrie-totaalresultaten tussen jaargangen 2000, 2001 en 2002 en per lokatie geëvalueerd.

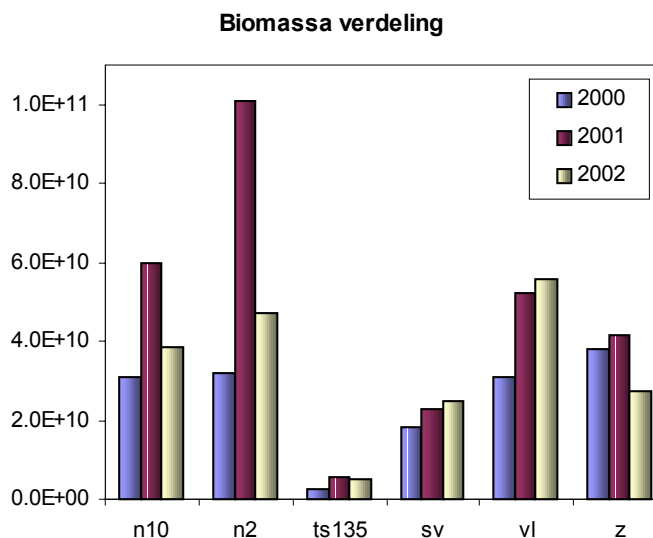
4.2.1 Een vergelijking tussen jaargangen

Van elke lokatie zijn alle datapunten van de totaalconcentratie autotrofe deeltjes en de biomassa concentratie (LinFGR/ml) lineair geïnterpoleerd met een wekelijkse interval over alle jaargangen. Hiertoe wordt de oppervlakte onder de totaalconcentratie- en totaalbiomassacurve gebruikt om kwantitatieve verschillen te berekenen. Dit is gedaan om verschillen ten gevolge van de monsterfrequentie en tijdstip per jaargang eruit te halen. In de figuren 4.2.1 en 4.2.2 zijn deze resultaten weergegeven, waarin te zien is hoe de fytoplanktonconcentratie en de -biomassa zich tussen jaargangen en tussen lokaties verhoudt. In de tabellen 4.2.1 en 4.2.2 zijn de verschillen van 2002 ten opzichte van 2001 en 2000 gegeven.

Figuur 4.2.1
De gecumuleerde totale autotrofe deeltjesconcentratie per lokatie en jaargang



Figuur 4.2.2
De gecumuleerde totale
biomassaconcentratie
per lokatie en jaargang



TABEL 4.2.1
Vergelijking 2002 ten
opzichte van 2001 van de
totale autotrofe deeltjes-
concentratie en biomassa

	<i>N10</i>	<i>n2</i>	<i>ts135</i>	<i>sch vod</i>	<i>vliss</i>	<i>zippe</i>
aant.conc	-54 %	-55 %	-30 %	-17 %	0 %	+ 4 %
biomassa	-35 %	-53 %	-10 %	+ 9 %	+ 7 %	-34 %

TABEL 4.2.2
Vergelijking 2002 ten
opzichte van 2000 van de
totale autotrofe deeltjes-
concentratie en biomassa

	<i>n10</i>	<i>n2</i>	<i>ts135</i>	<i>sch vod</i>	<i>vliss</i>	<i>zippe</i>
aant.conc	-49 %	-31 %	-20 %	-13 %	+12 %	+ 7 %
biomassa	+25 %	+49 %	+111 %	+35 %	+80 %	-28 %

De concentraties autotrofe deeltjes op de Noordzeelokaties Noordwijk 10 en 2, Terschelling 135 en de lokatie Schaar v.O. Doel zijn in 2002 lager ten opzichte van zowel 2001 als 2000. De lokaties Vlissingen en Zijpe laten een lichte stijging zien. Vooral de drie Noordzee lokaties laten forse dalingen in de totaalconcentratie zien tussen -30 en -55% ten opzichte van 2001 en tussen -20 en -49% ten opzichte van 2000.

De vergelijking van de biomassa laat zien dat in 2002 ten opzichte van 2001 lagere biomassa's zijn waargenomen voor de Noordzeelokaties en Zijpe en een lichte stijging van de biomassa ten opzichte van 2001 voor de lokaties Schaar v.O. Doel en Vlissingen. Ten opzichte van 2000 echter, is de biomassa voor vijf lokaties hoger (+28 tot +111%) en voor Zijpe lager.

Een vraag, die terecht gesteld moet worden is hoe het totaalbeeld eruit zou zien indien alleen gekeken zou worden naar de grotere fytoplanktondeeltjes (>10 µm), omdat immers de totaalconcentratie vooral gedomineerd wordt door deeltjes tussen 0.5 en 10 µm. Uit tabel 4.2.3 blijkt dat over het gehele jaar de bijdrage van de grotere deeltjes aan de totale fytoplanktonconcentratie gemiddeld voor alle lokaties ca. 25% is. De biomassa wordt, zoals al vaker

aangetoond is, vooral bepaald door grotere deeltjes (>10 µm). Opvallend is dat de verschillen in de totale fytoplanktonconcentraties tussen de jaren per lokatie toch nagenoeg hetzelfde zijn (Figuur 4.2.3) voor de grotere fracties vergeleken met de concentraties, waarbij de talrijke kleine fytoplanktondeeltjes wel meedoen (Figuur 4.2.1). Kortom het concentratieverloop van de grotere en de kleinste deeltjes volgt een gelijk patroon.

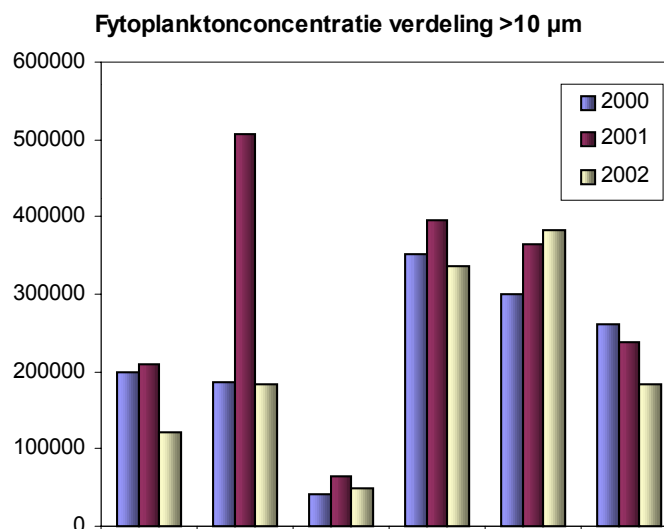
TABEL 4.2.3

Vergelijking waarden tabel 4.2.1 en 4.2.2 tussen fractie vanaf 10 µm en het gehele bereik van alle fracties (0,5-1000 µm)

% >10-1000 µm ten opzichte van gehele bereik 0.5-1000			
Noordwijk 10	2000	2001	2002
cumopptotconc	22	21	26
cumoppbiomassa	99	98	98
Noordwijk 2			
cumopptotconc	22	38	31
cumoppbiomassa	97	99	98
Terschelling 135			
cumopptotconc	14	20	21
cumoppbiomassa	82	91	91
Schaar van Oude Doel			
cumopptotconc	25	27	28
cumoppbiomassa	90	91	90
Vlissingen			
cumopptotconc	31	34	36
cumoppbiomassa	96	98	97
Zijpe			
cumopptotconc	30	26	19
cumoppbiomassa	97	97	91

Figuur 4.2.3

De gecumuleerde totale autotrofe deeltjesconcentratie per lokatie en jaargang voor fracties > 10 µm



4.2.2 Een vergelijking tussen lokaties

De lineair geïnterpoleerde datasets van alle zes lokaties zijn onderling vergeleken (tabel 4.2.4) door de hoogste waarden op 100% te stellen. De hoogste concentratie autotrofe deeltjes wordt in de drie jaargangen gevonden op Schaar van Ouden Doel. Uit de tabel blijkt bijvoorbeeld dat op Terschelling 135 gedurende drie jaar de totaalconcentratie autotrofe deeltjes ca 5-maal lager is ten opzichte van Schaar v.O.Doel. Ook blijkt dat de biomassa op de lokatie Vlissingen ca 2-maal hoger is dan de stroomopwaarts gelegen lokatie Schaar v.O. Doel. Verder blijkt dat er verschillen in de concentraties en biomassa's gevonden worden tussen de lokaties Noordwijk 10 en 2 in de jaargangen 2002 en 2001, maar nagenoeg dezelfde waarden voor beide lokaties in het jaar 2000.

In de jaren 2002 en 2000 bleef een duidelijke *Phaeocystis-bloei* uit. Dit verklaart deels de relatief hogere gevonden biomassa's in 2001 voor de 'Phaeocystis'-lokaties Noordwijk 2 en 10.

TABEL 4.2.4
Vergelijking tussen
lokaties (2002, 2001,
2000) van de totale
autotrofe deeltjes-
concentratie en biomassa

	2002					
	<i>n10</i>	<i>n2</i>	<i>ts135</i>	<i>sch vod</i>	<i>vliss</i>	<i>zipse</i>
aant.conc						
.	39 %	49 %	19 %	100 %	89 %	78 %
biomassa	69 %	85 %	9 %	45 %	100 %	49 %
	2001					
	<i>n10</i>	<i>n2</i>	<i>ts135</i>	<i>sch vod</i>	<i>vliss</i>	<i>Zipse</i>
aant.conc						
.	71 %	92 %	23 %	100 %	74 %	62 %
biomassa	59 %	100 %	6 %	23 %	52 %	41 %
	2000					
	<i>n10</i>	<i>n2</i>	<i>ts135</i>	<i>sch vod</i>	<i>vliss</i>	<i>zipse</i>
aant.conc						
.	66 %	62 %	21 %	100 %	69 %	64 %
biomassa	82 %	84 %	6 %	49 %	81 %	100 %

4.2.3 Een vergelijking tussen jaren en lokaties van de maximale waarden

De weeknummers waarin de maximale waarden van de totale fytoplanktonconcentratie en biomassaconcentratie in een jaargang zijn opgetreden, zijn vastgesteld. De weken waarin maximale fytoplanktonconcentraties worden gevonden, liggen voor Noordwijk 2 en 10 en Schaar v.O. Doel in de perioden week 18 t/m 29 en voor de overige 3 lokaties in weken 29 t/m 50. In week 24 (begin juni) wordt vaak een maximum concentratie gevonden. Terschelling 135 vertoont een maximum in de periode week 38 (2002) t/m week 50 (2001). Voor de biomassa worden vaak maxima gevonden in de weken 15 en 16. Het biomassamaximum van Schaar v.O. Doel ligt rond de weken 23 t/m 26. Het Zipse biomassamaximum ligt in de weken 27

TABEL 4.2.4

Vergelijking tussen lokaties (2002, 2001, 2000) van de perioden waarin maximale totale autotrofe deeltjes-concentratie en biomassa gevonden zijn van alle fracties

Locatie & Jaar	Maximale fytoplankton concentratie in week	Maximale fytoplankton biomassa in week	
n2-2001	18	n10-2001	15
sv-2000	23	n10-2002	15
n10-2000	24	vl-2002	15
n2-2000	24	n2-2002	16
n10-2002	24	ts-2002	16
n2-2002	24	vl-2001	16
sv-2001	24	n2-2001	18
sv-2002	27	vl-2000	21
n10-2001	29	sv-2002	23
vl-2001	29	n10-2000	24
z-2000	31	sv-2000	25
z-2001	33	sv-2001	26
vl-2002	35	z-2001	27
z-2002	35	z-2002	29
ts-2002	38	n2-2000	31
ts-2000	42	z-2000	31
vl-2000	46	ts-2000	42
ts-2001	50	ts-2001	42

Zelden valt het biomassamaximum samen met het concentratiemaximum.

TABEL 4.2.5

Vergelijking tussen lokaties (2002, 2001, 2000) van de perioden waarin maximale totale autotrofe deeltjes-concentratie en biomassa gevonden zijn van de fracties >10 µm

Locatie & Jaar	Maximale fytoplankton concentratie 10-1000 µm in week	Maximale fytoplankton biomassa 10-1000 µm in week	
n10-2001	16	n10-2001	15
n2-2001	18	n10-2002	15
vl-2001	18	vl-2002	15
z-2001	19	n2-2002	16
ts-2000	20	vl-2001	16
ts-2001	20	ts-2002	16
sv-2000	25	n2-2001	18
sv-2001	26	vl-2000	21
n10-2000	28	sv-2002	23
n2-2000	29	n10-2000	24
vl-2002	29	sv-2000	25
n2-2002	30	sv-2001	26
z-2000	31	z-2001	27
z-2002	33	z-2002	29
n10-2002	36	n2-2000	31
ts-2002	45	z-2000	31
sv-2002	46	ts-2000	42
vl-2000	46	ts-2001	42

In bovenstaande tabel 4.2.5 is het onderscheid gemaakt ten opzichte van de vorige tabel door alleen de fracties >10 µm mee te nemen en waarbij dus de invloed van de kleinste deeltjes niet meegenomen is. Voor de biomassa maakt

dit onderscheid geen verschil omdat de biomassa vooral in de grotere fracties voorkomt. De periode, waarin een maximale fytoplankton-concentratie in een jaar op een lokatie wordt waargenomen, verschilt wel. Dit houdt in dat de hoogste concentratie van de kleinste ($<10\ \mu\text{m}$) en de grotere ($>10\ \mu\text{m}$) fytoplankton deeltjes meestal niet in dezelfde week worden gevonden. Bij een vergelijking met microscopie dient het concentratiemaximum van de fracties $>10\ \mu\text{m}$ gebruikt te worden, omdat de top van de concentratie inclusief de kleinste deeltjes meestal in een andere week blijkt te vallen.

4.2.4 Conclusie

De totale gecumuleerde autotrofe deeltjesconcentratie en biomassa laten een vergelijking tussen jaargangen en lokaties toe, ongeacht verschillen in de monsterfrequentie. Hieruit blijkt een afname van de fytoplanktonconcentratie in 2002 ten opzichte van 2001 en 2000 voor de Noordzeelokaties Noordwijk 2, 10 Terschelling 135 en de Westerscheldelokatie Schaar van Ouden Doel. De biomassa van dezelfde lokaties is gedaald in 2002 ten opzichte van 2001, maar gestegen ten opzichte van de gevonden biomassa in 2000 (behalve Noordwijk 10, die gedaald is).

Van alle lokaties wordt consequent de hoogste fytoplanktonconcentratie gevonden op Schaar van Ouden Doel. Terschelling 135 laat consequent de laagste waarden zien voor zowel de fytoplanktonconcentratie als voor de biomassa.

Het totaalconcentratieverloop tussen de jaargangen blijft nagenoeg hetzelfde als de fractie van de kleine deeltjes ($<10\ \mu\text{m}$) buiten beschouwing wordt gelaten. Terwijl deze kleinste deeltjes toch vaak de totale (aantal)concentratie domineren blijkt hiermee dat de grotere deeltjes dezelfde trend per jaargang volgen als de kleinste deeltjes.

Duidelijke trends zijn waarneembaar waarin maximale bloeien of biomassa op een bepaald moment (weken) op een lokatie optreden. De weken met de maximale fytoplanktonconcentratie over alle fracties of over de fracties $>10\ \mu\text{m}$ verschillen onderling, wat betekent dat de maxima van de kleinste deeltjes meestal in een andere week liggen dan de maxima van de grotere fytoplanktondeeltjes.

4.3 Vergelijking microscooptellingen en flowcytometertellingen 2001

De microscooptellingen op lugol gefixeerde monsters van het jaar 2001 zijn in 2002 gerapporteerd (Koeman et al., 2002) en zijn in deze uitgave gebruikt voor een vergelijking tussen microscoop- en flowcytometertellingen. De auteurs bedanken Bert Wetsteyn (OSD) voor zijn inbreng bij het bespreken van de resultaten. In de vorige rapportage (werkdokument RIKZ/IT/2002.229x) zijn de resultaten voor het jaar 2000 gepresenteerd. Hierbij zijn de normale microscooptellingen gebruikt en is geen correctie op de gemeten concentraties toegepast. In de huidige vergelijking is echter rekening gehouden met de verschillen tussen de telmethodes zoals die door microscopie en flowcytometrie worden toegepast.

De flowcytometer telt autotrofe deeltjes en maakt met betrekking tot de concentratie geen onderscheid tussen losse cellen en ketens van cellen. Bij het tellen met de microscoop wordt echter rekening gehouden met het aantal cellen in een keten.

Een keten van 10 cellen wordt door de flowcytometer als één deeltje geteld terwijl deze keten bij microscopie als 10 cellen wordt geteld.

In de microscopische tellijsten worden ook deeltjes opgenomen die als 'ondetermineerbare alg' aangeduid worden. Dit is een verzamelnaam voor allerlei meestal bolvormige, niet nader te determineren hetero- en autotrofe planktonorganismen (Aquasense, 2000).

Voor de lokaties Noordwijk 2, Noordwijk 10 en Zijpe is een vergelijking tussen de 2 teltechnieken gemaakt waarbij correcties zijn uitgevoerd bij de microscopische telling voor cellen in ketens (terug gerekend naar aantal ketens) en onetermineerbare algen (niet meegeteld). Bij de flowcytometrische tellingen zijn de deeltjes <10 µm (empirisch vastgestelde waarde) uit de dataset verwijderd.

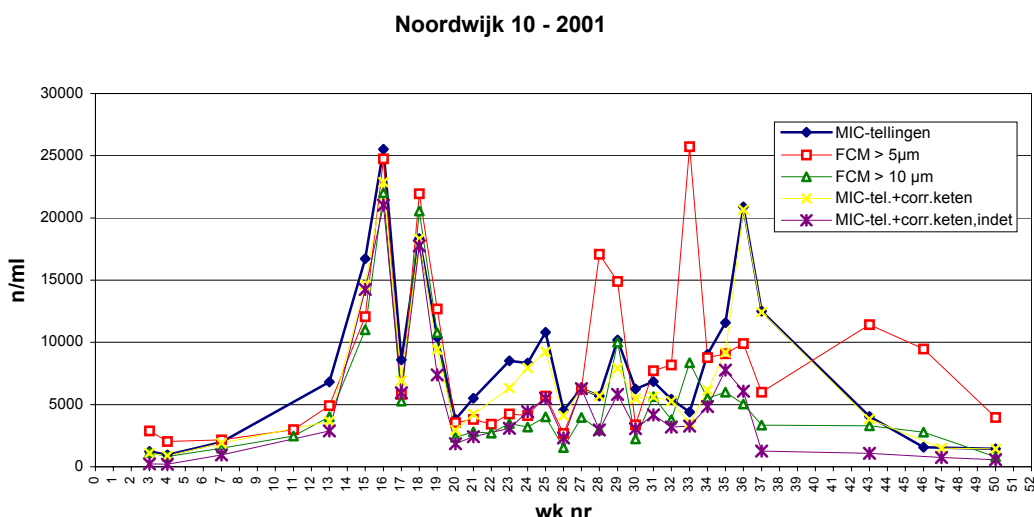
4.3.1 Resultaten Noordwijk 10

De microscooptellingen van 2001 voor de lokatie Noordwijk 10 zijn uitgezet tegen de flowcytometertellingen uit 2001. Uit onderstaande figuur (Figuur 4.3.1) blijkt dat in de eerste 5 maanden een goede relatie wordt gevonden tussen beide tellingen. In de weken 23 t/m 25, 36 en 37 worden met de microscoop duidelijk hogere waardes gemeten. De bijdrage van ketenvormers blijkt gering. Een correctie voor het aantal gevonden ketens leidt tot geringe afnames van de gevonden totaalconcentraties met microscopie. Zodra er echter ook gecorrigeerd wordt voor het percentage 'ondetermineerbare algen' nemen de concentraties sterk af. Uit de resultaten van de microscooptellingen blijkt dat er in de perioden waarin de microscoop beduidend hogere concentraties vindt dan de flowcytometer, een relatief hoog percentage onetermineerbare algen wordt gemeten nl. 30-40% in week 23 t/m 26 en zelfs 65% in week 36 en 37. Het lijkt er sterk op dat het hier deeltjes betreft die niet door de flowcytometer

worden gemeten. De correlatie tussen microscopie en flowcytometrie zonder correctie voor ketenvormers en ondetmineerbare algen $R^2=0,62$. Het corrigeren voor ketenvormers maar met name het weglaten van de ondetmineerbare algen uit de tellijsten zorgt voor een toename van de correlatie $R^2=0,87$ ($p<0,0001$) (Figuur 4.3.2).

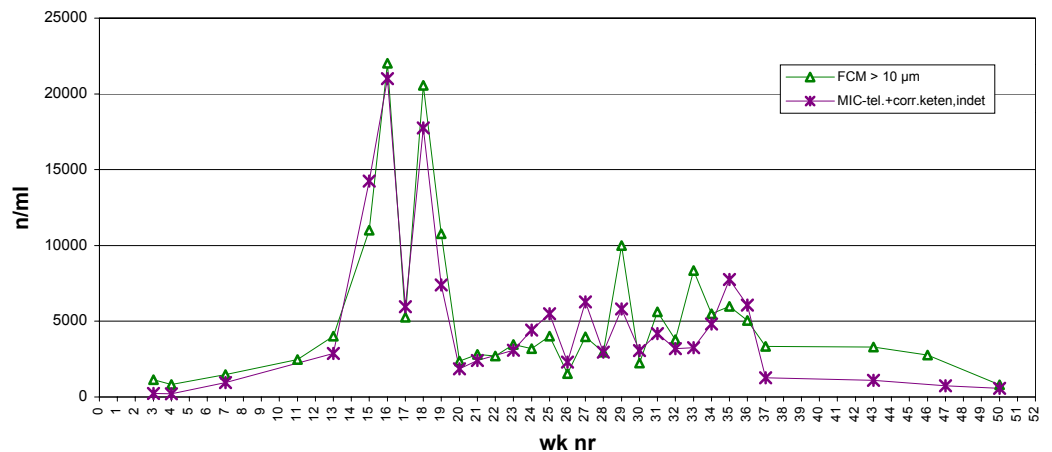
In de weken 28, 29, 33 en 43 t/m 50 worden met de flowcytometer meer deeltjes tussen 5 en 10 μm gemeten. Uit het lange termijn overzicht (Figuur 4.1.1.1) blijkt dat er in 2000 (week 24) in 2001 (week 28 en 29) een bloei was van kleine oranje fluorescerende deeltjes. In 2001 was er in week 33 bovendien een bloei van kleine deeltjes met fycocyanine/chlorofyl-b. Tijdens deze bloeien wordt een bepaald percentage van deze deeltjes door de flowcytometer in de grootteklasse 5–10 μm gevonden. Het verschil tussen flowcytometer- en microscooptellingen wordt in deze weken veroorzaakt door deze kleine deeltjes die wel met de flowcytometer maar niet met de microscoop getelde worden.

Figuur 4.3.1
Noordwijk 10: 2001
Microscooptellingen op lugol-gefixeerde monsters (blauw), gecorrigeerd voor ketens (geel) en ondetmineerbare algen (paars) versus flowcytometrietellingen van autotofe deeltjes >5 μm (rood) of >10 μm (groen)



Figuur 4.3.2
Noordwijk 10: 2001
Microscooptellingen op lugol-gefixeerde monsters gecorrigeerd voor ketens en ondetmineerbare algen (paars) versus flowcytometertellingen van autotrofe deeltjes van 10 μm en hoger (groen)

Noordwijk 10 - 2001

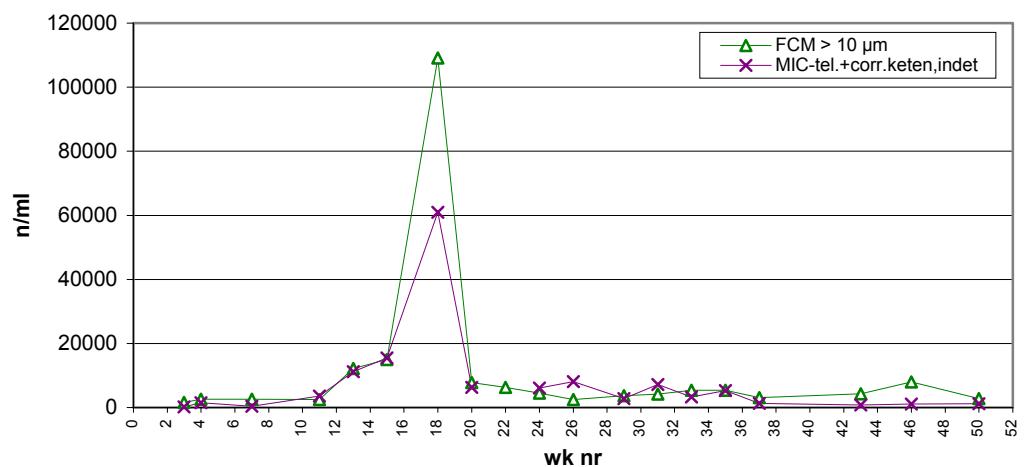


4.3.2 Resultaten Noordwijk 2

De microscoop- en de flowcytometertellingen van 2001 voor de lokatie Noordwijk 2 zijn uitgezet in onderstaande figuur (Figuur 4.3.3). In week 18 is er een bloei van *Phaeocystis*. Met de microscoop wordt een *Phaeocystis* concentratie gemeten van ca. 57 miljoen c/l. Het is opvallend dat met de flowcytometer een veel hogere deeltjesconcentratie gemeten wordt. Nadere analyse van de data in Matlab m.b.v. het algoritme 'Phaeocheck' toont aan dat met flowcytometrie een *Phaeocystis* concentratie van ca. 90 miljoen c/l gemeten wordt.

Na correctie voor ketenvormers en ondetemineerbare algen uit wordt op Noordwijk 2 een zeer goede correlatie $R^2=0,96$ ($p<0,0001$) tussen microscoop- en flowcytometer tellingen gevonden.

Noordwijk 2 - 2001



Figuur 4.3.3
Noordwijk 2: 2001
Microscooptellingen op
lugol-gefixeerde
monsters gecorrigeerd
voor ketens en
ondetermineerbare
algen(paars) versus
flowcytometertellingen
van autotrofe deeltjes
van 10 µm en hoger
(groen)

4.3.3 Resultaten Zijpe

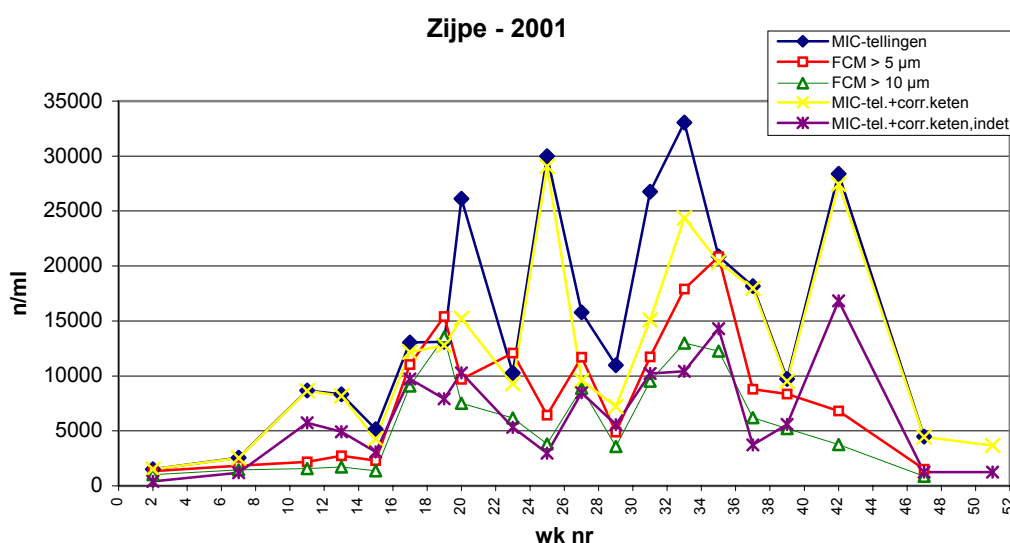
Voor de lokatie Zijpe zijn de microscoop- en de flowcytometertellingen van 2001 uitgezet in de figuren 4.3.4 en 4.3.5. Hiermee wordt het effect van corrigeren voor getelde ketens en onbepaalde algen (microscopie) zeer duidelijk geïllustreerd. De niet-gecorrigeerde microscopietellingen laten 4 pieken zien die niet met flowcytometrie zijn waargenomen. De gevonden correlatie is hierdoor laag $R^2=0,37$. Zodra het aantal cellen, gemeten in ketens, teruggerekend zijn naar aantallen ketens blijkt dat de pieken in week 20 en 33 voor een deel verklaard worden door dit verschil in tellen. In week 20 is er een bloei van *Chaetoceros socialis*. In totaal zijn er met microscopie 4 miljoen ketens/l geteld met gemiddeld 3,5 cel/keten. De normale microscopische telling resulteert hierdoor in een concentratie van ca. 14 miljoen c/l ($4 \times 3,5$) terwijl met de flowcytometer 4 miljoen deeltjes/l zijn geteld. In dit geval zorgt een correctie (14 miljoen c/l $\rightarrow$ 4 miljoen ketens/l) voor een afname van de microscopisch bepaalde totaalconcentratie met 10 miljoen c/l.

Na een tweede correctie voor het aantal waargenomen onbepaalde algen neemt de overeenkomst tussen microscoop- en de flowcytometertellingen verder toe en wordt een correlatie $R^2=0,73$ ($p<0,0001$) gemeten (Figuur 4.3.5). Het effect van deze correctie op een aantal punten is aanzienlijk aangezien het percentage onbepaalde algen zeer hoog op kan lopen. In week 25 bijvoorbeeld wordt 89% van de totaalconcentratie bepaald door deze deeltjes.

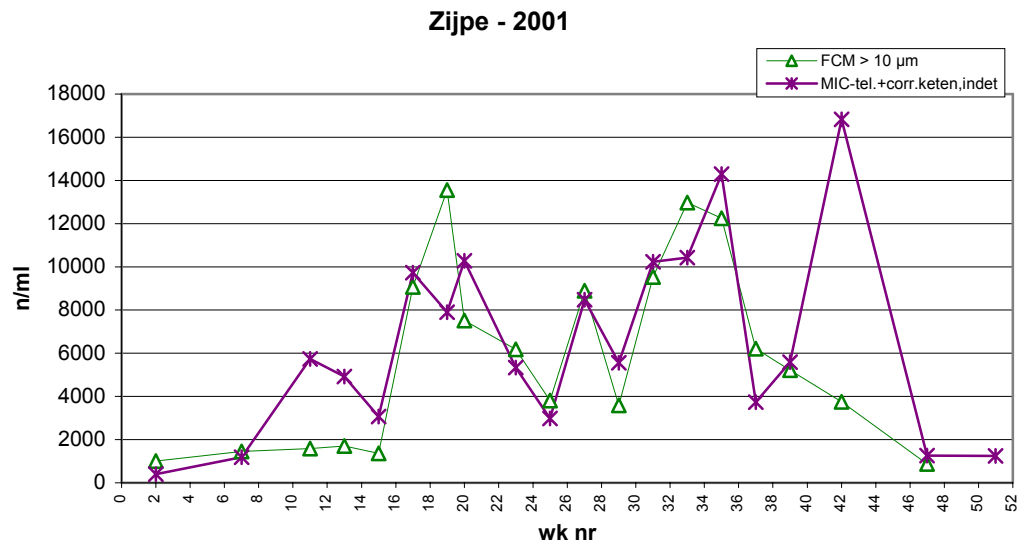
Op slechts 1 punt, in week 42, wordt nog een groot verschil waargenomen. Met de microscoop zijn in deze week 13,6 miljoen Chlorophyceae cellen/l geteld terwijl deze cellen niet de flowcytometer gedetecteerd zijn.

Chlorophyceae is een verzamelnaam van voornamelijk uit het zoet water afkomstige soorten die in het mariene milieu niet lang zullen overleven en in korte tijd hun fluorescentievermogen kunnen verliezen.

Figuur 4.3.4
Zijpe: 2001
Microscopietellingen op lugol-gefixeerde monsters gecorrigeerd voor ketens en onbepaalde algen (paars) versus flowcytometertellingen van autotrofe deeltjes van 10 μm en hoger (groen)



Figuur 4.3.5
Zijpe: 2001
Microscooptellingen op
lugol-gefixeerde
monsters gecorrigeerd
voor ketens en
ondetermineerbare
algen(paars) versus
flowcytometertellingen
van autotrofe deeltjes
van 10 µm en hoger
(groen)



4.3.4 Conclusie

De vergelijking tussen microscooptellingen en flowcytometertellingen toont voor Noordwijk 10 (2001) grote overeenkomsten aan in de eerste 5 maanden van het jaar. In de overige periode zijn er een aantal verschillen waarneembaar. In een aantal gevallen worden met flowcytometrie meer deeltjes gemeten dan met microscopie. Kleine deeltjes (<5 µm) die een relatief hoge fluorescentie bezitten zullen door de flowcytometer nog geteld worden terwijl deze met microscopie gemist worden. Een deel van deze deeltjes zal door de flowcytometer in lengte overschat worden en in de grootteklasse 5-10 µm vallen.

Er is aangetoond dat voor een goede vergelijking tussen beide teltechnieken ook rekening moet worden gehouden met de manier van tellen. De flowcytometer telt fluorescerende deeltjes en maakt bij de concentratiebepaling geen verschil tussen losse cellen en ketens van cellen. Bij microscopie wordt echter het aantal cellen in een keten als individuele waarneming geteld. Voor een eerlijke vergelijking moet het aantal cellen dat met microscopie in ketens geteld is teruggerekend worden naar oorspronkelijke aantallen waargenomen ketens. Het effect dat deze correctie sorteert is afhankelijk van het aantal getelde ketens en is voor de lokaties Noordwijk 10 en Zijpe over het algemeen gering.

Uit de snelle microscopische tellijsten van 2001 blijkt dat in week 28, 30 en 31 de soort *Myrionecta rubra* op Noordwijk 10 werd aangetroffen. Dit is een soort die na fixatie verschrompeld en meestal uiteenvalt (Aquasense, 2000) en slechts voor een deel herkenbaar is met microscopie. Deze deeltjes zullen nog wel met flowcytometrie (levend plankton) maar slechts deels met microscopie (lugol-gefixeerd) geteld worden. De microscopisch gevonden aantallen kunnen dus enigszins onderschat zijn.

De heterotrofe flagellaten en dinoflagellaten worden wel met de microscoop geteld en kunnen ook voor verschillen zorgen met de flowcytometertellingen

aangezien met de flowcytometer alleen autotrofe deeltjes worden geteld. In de microscopische tellijsten worden ook 'ondetermineerbare algen' opgenomen. Het percentage van dit type deeltjes t.o.v. de totaalconcentratie algen is op sommige punten zeer hoog. Het weglaten van deze deeltjes uit de microscopische tellijst leidt tot een sterke verbetering van de overeenkomst tussen flowcytometer- en microscooptellingen. Dit duidt erop dat het vooral deeltjes betreft die geen fluorescerende pigmenten (meer) bezitten. Een verklaring voor de gevonden verschillen op de locatie Zijpe is mogelijk de aanvoer van zoetwatersoorten. Deze groep, de Chlorophyceae, kan in het mariene milieu zijn fluorescentievermogen verliezen. Cellen in slechte conditie, die hun fluorescentievermogen hebben verloren kunnen nog wel met de microscoop geteld worden maar niet meer met de flowcytometer.

Kortom bij het vergelijken van microscopische en flowcytometrische tellingen moet aan 3 criteria worden voldaan nl.:

- 1.flowcytometrie: deeltjes > 10 µm gebruiken
- 2.microscopie: corrigeer voor ketens(cellen/keten)
- 3.microscopie: groep onetermineerbare algen uit tellijst verwijderen

4.4 Relatie flowcytometrische analyses van alle deeltjes en de zwevend stof analyses en het doorzicht.

Naast de flowcytometrische analyse waarbij alleen de autotrofe deeltjes worden geanalyseerd, wordt er altijd een tweede analyse op het monster uitgevoerd, namelijk een analyse waarbij alle deeltjes (algen, slib, etc.) die een zijwaartse lichtverstrooiing veroorzaken worden geregistreerd (de zogenaamde PLS-getriggerde analyse). Bij deze analyse worden er 5000 deeltjes opgeslagen. Naast de karakteristieken per deeltje wordt ook de concentratie van deze deeltjes bepaald.

Uit metingen met latexbollen is gebleken dat bij de huidige instellingen latexbollen worden geregistreerd met een bolderdiameter van > 0,70 µm.. Bij hogere deeltjesconcentraties (meestal de locatie Schaar van Ouden Doel en Vlissingen) is het noodzakelijk om eerst het monster 10 of 20 maal te verdunnen.

Uit de PLS-getriggerde analyses is het mogelijk een lineaire(lin) PLS-waarde/mL te berekenen. De parameter lin PLS is afhankelijk van de diameter en de oppervlaktestructuur van het deeltje.

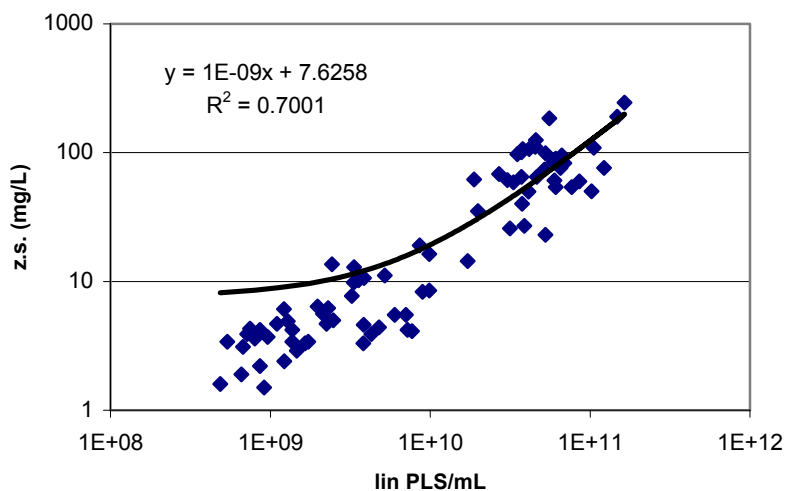
Om de PLS-getriggerde analyse te staven is gezocht naar referentie-technieken waarvan enigszins verwacht mag worden dat er een relatie is met één van de parameters van deze analyse. Hiervoor zijn de zwevendstofgehaltenes (z.s.) uitgezet tegen de lin PLS/mL-waarden en is het doorzicht uitgezet tegen de (PLS) deeltjesconcentratie.

4.4.1 Zwevendstofgehalte versus lin PLS/mL

Voor dit vergelijk zijn de locaties Noordwijk2, Noordwijk10, Schaar van Ouden Doel en Vlissingen gebruikt. De eerste twee zitten vooral in het ondergebied (1,5 - 15 mg/L z.s.) en de laatste twee vooral in het hoge gebied (15 - 244 mg/L z.s.).

lin PLS/mL versus zwevend stof

Figuur 4.4.1
lin PLS/mL versus
zwevendstofgehalte
(mg/L) voor de locaties
Noordwijk2,
Noordwijk10, Schaar
van Ouden Doel en
Vlissingen, n = 80



In de bovenstaande figuur is te zien dat er nog een redelijk lineair verband is tussen de twee waarden, zeker wanneer beschouwd wordt dat;

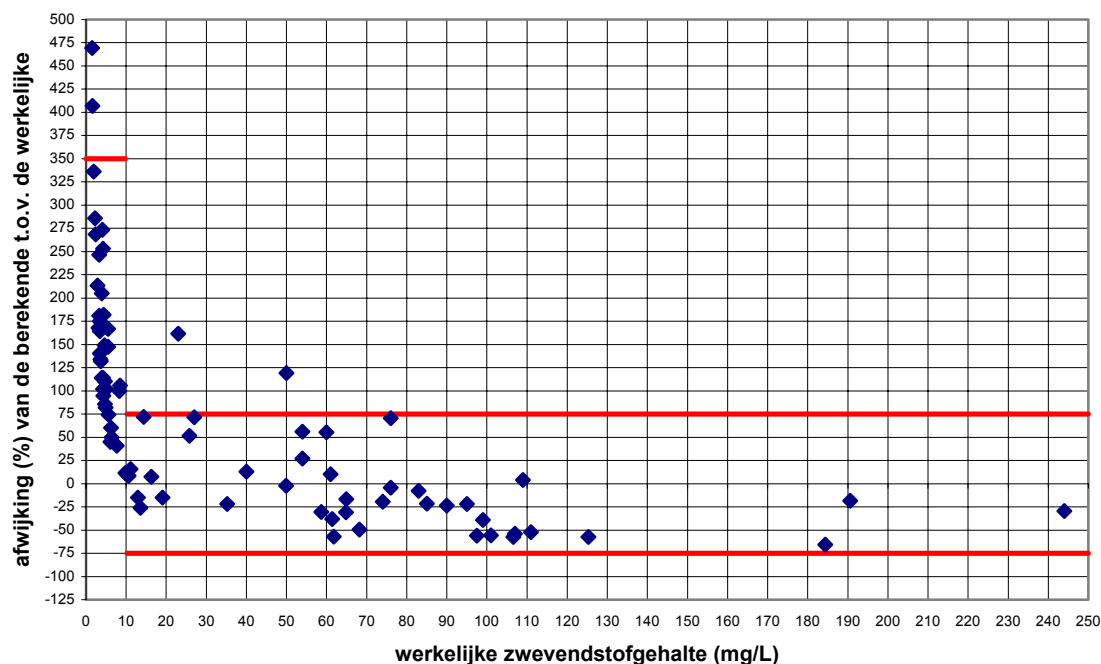
- het geen vergelijk is van bepalingen uit één monsterfles. De spreiding in de monsternamen zit dus in dit vergelijk.
- het een vergelijk is van een één dimensionale waarde (diameter) versus een drie dimensionale waarde (volume) * dichtheid. Wanneer alle deeltjes dezelfde vorm en dichtheid zouden hebben zou dit geen fout opleveren, maar het is bekend dat dit niet voor 100 % het geval is in een natuurlijk monster.

De lin PLS/mL-waarde is met een formule omgezet in een waarde voor bolvormige deeltjes en in een waarde voor slibvormige deeltjes (plaatjes), maar dit leverde geen betere relatie op met het zwevendstofgehalte (ook niet per locatie).

In de bovenstaande figuur is te zien dat er vooral in het ondergebied een fout (overschatting) wordt gemaakt t.o.v. de lineaire trendlijn. Dit wordt nog duidelijker (zie figuur 4.4.2) wanneer de lin PLS/mL-waarde (met de formule van de trendlijn) wordt omgezet naar een berekende zwevendstofgehalte en wanneer de procentuele afwijking hiervan (t.o.v. het werkelijke zwevendstofgehalte) wordt uitgezet tegen het werkelijke zwevendstofgehalte.

**Procentuele afwijking van de berekende waarde t.o.v. de werkelijke waarde
(zwevend stof mg/L)**

Figuur 4.4.2
procentuele afwijking
van het berekende
zwevendstofgehalte
versus de werkelijke
waarde.



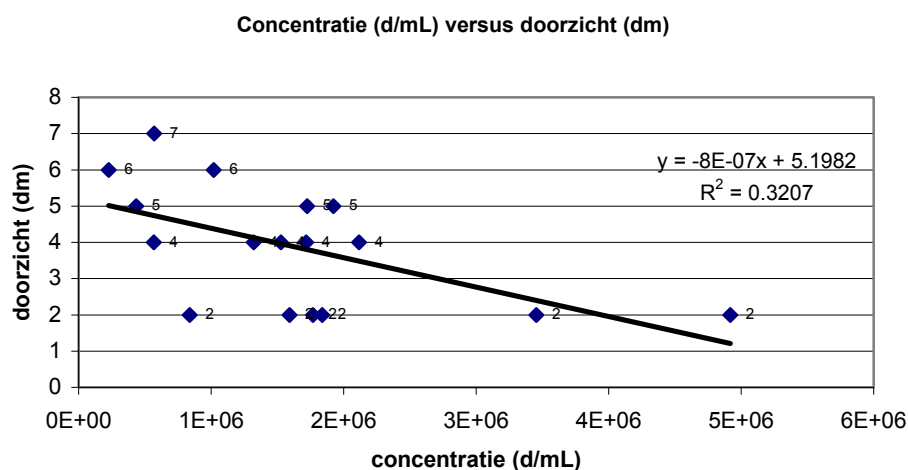
In de bovenstaande grafiek(Figuur 4.4.2) is te zien dat wanneer de lin PLS/mL-waarde volgens het lineaire model wordt omgezet naar een zwevendstofgehalte er in het gebied van 0 – 10 mg/L een fout (overschatting) op de berekende waarde kan zitten van 350 % (95%BI) en dat deze fout (overschatting en onderschatting) 75% (95%BI) is voor het gebied van 10 – 250 mg/L.

Kortom met de lin PLS/mL-waarde kan een zwevendstofgehalte worden berekend met een zekere fout.

4.4.2 Doorzicht versus PLS-concentratie

Een andere combinatie van parameters waarvan een relatie verwacht mag worden is de PLS-deeltjesconcentratie versus het doorzicht. Dit is onderzocht voor de locatie Vlissingen. Opgemerkt moet worden dat het monster voor de flowcytometer en de doorzichtbepaling wel op dezelfde dag zijn uitgevoerd, maar dat er nog wel enig verschil in tijdstip zit, resulterend in een fout die dus ook in dit vergelijk meegenomen is.

Figuur 4.4.3
doorzicht versus de
concentratie van alle
deeltjes van de locatie
Vlissingen(n = 17).



Ondanks het verschil in tijdstip van monsternamen en doorzichtbepaling is toch te zien dat het doorzicht minder wordt wanneer er meer deeltjes in het water zitten.

4.4.3. Conclusie

Er is een redelijk lineair verband ($R^2 = 0.70$) tussen het lin PLS/mL en het zwevendstofgehalte. Omzetting van de flowcytometrische waarde in een zwevendstofgehalte is niet raadzaam gezien er dan toch rekening gehouden dient te worden met een fout van 75% in het gebied van 10 – 250 mg/L en van 350% in het gebied van 0 – 10 mg/L. Als indicatieve waarde is deze parameter zeker bruikbaar.

Het verband tussen het doorzicht en de PLS-concentratie is matig, echter de tendens van hoe hoger de concentratie deeltjes, hoe lager het doorzicht is wel te zien.

Door een combinatie van deze twee flowcytometrische gegevens kan echter wel een indicatie worden verkregen over het doordringen van het zonlicht in het water.

4.5 Innovatieve ontwikkelingen

4.5.1 CYTOPSA

4.5.2 Inleiding

In 2002 is een nieuwe vorm van data-verwerking van flowcytometrische signalen gereed gekomen. Het principe is gebaseerd op de analyse van specifieke signaaltypes die ontstaan per soort alg bij het passeren van een laserstraal. De (flowcytometrische) signaaltypes van algen bevatten extra informatie, die bij standaard flowcytometrie niet wordt gebruikt. Deze informatie fungeert als het ware als een vingerafdruk van algensoorten, waarop vervolgens een alg gekarakteriseerd kan worden. De vingerafdruk wordt in een database gezet. Op grond van deze database kan in monsters per opgeslagen vingerafdruk van een alg gezocht worden naar een mogelijke 'matching'. Met de methode zal getracht worden meer soorten, dan tot nog toe mogelijk is, te identificeren en kwantificeren

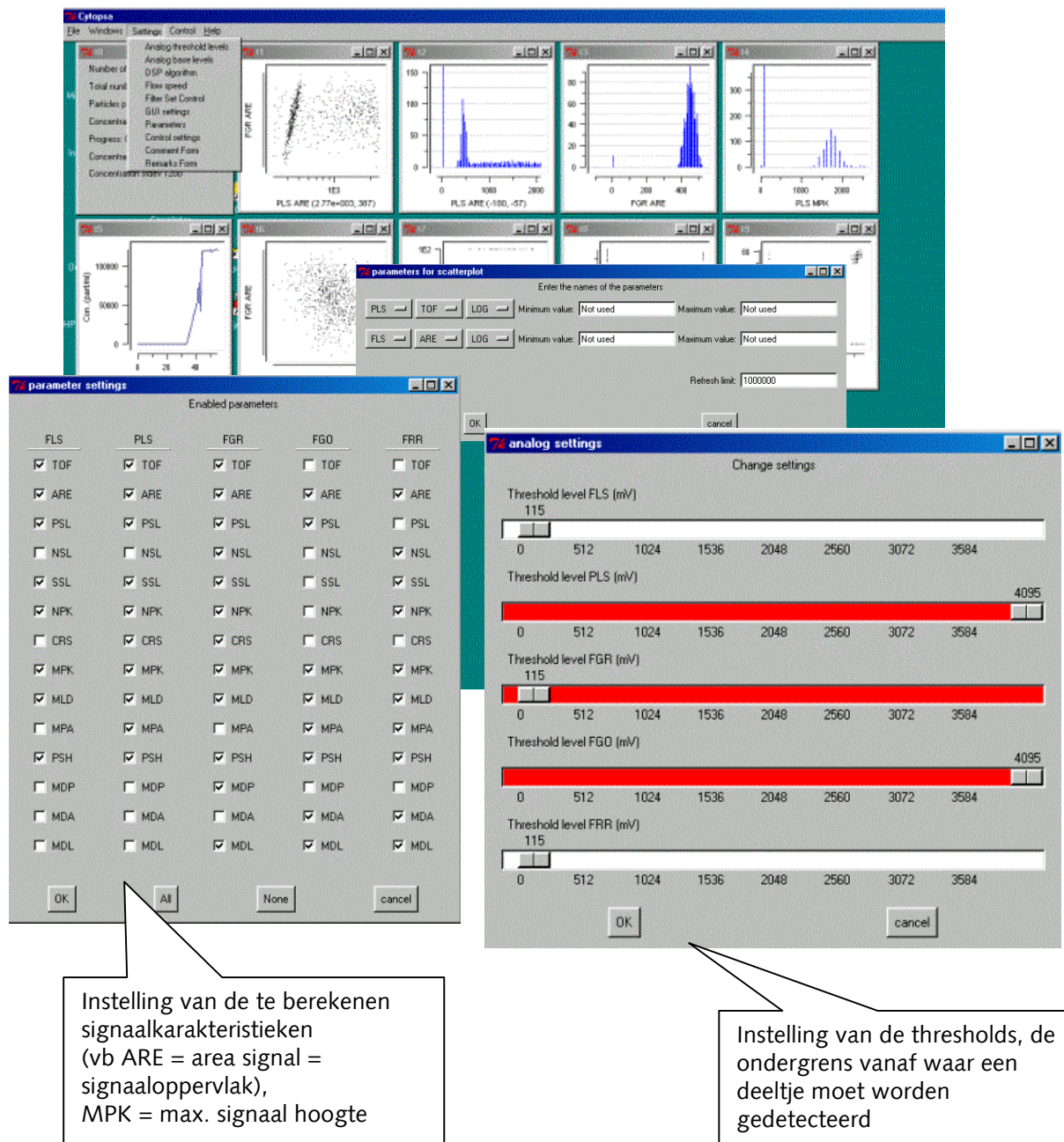
4.5.3 Opzet pulse shape analyses

De module is modulair opgezet, wat inhoudt dat deze aan de meeste flowcytometers gekoppeld kan worden. De module bestaat uit hardware en software. Met behulp van zeer snelle rekenkaarten (digitaal signaal processorkaarten), die in een PC-kaart worden gemonteerd, worden real time (binnen enkele microseconden) de signaalkarakteristieken berekend. Dit levert per deeltje, dat de laserstraal passeert, 70 karakteristieken. Van deze 70 karakteristieken zal uiteindelijk een fingerprint overblijven bestaande uit 10 – 20 karakteristieken.

De voor deze applicatie speciaal ontwikkelde software is CYTOPSA gedoopt (figuur 1) en bevat elementen van standaard flowcytometrie software zoals de scatterplots en histogrammen die gemaakt kunnen worden, van bedieningsknoppen en instellingen die normaal handmatig op regelpanelen worden bediend en vernieuwende elementen zoals de vele parameters die kunnen worden berekend, de mogelijkheid signalen te bekijken, de aansturing om foto's te maken van deeltjes, de 'slimme' concentratieberekening en de mogelijkheid om nauwkeuriger de grootte van algen te bepalen.

In het eerste kwartaal van 2003 zal de module uitgebreid worden getest en worden gevalideerd. Dit houdt in dat alle ins en outs van de module bekend zullen zijn zoals bijvoorbeeld de detectiegrens, de uiterste grenzen (bijv. maximale deeltjeslengte), de snelheid en de betrouwbaarheid van de concentratie. Ook zal een vergelijking van dezelfde monsters met de EurOPA n.s. flowcytometer gemaakt worden, zoals het simultaan meten van MWTL monitoringmonsters.

Figuur 1: Voorbeelden van de software CYTOPSA



4.5.4 Van signaalkarakteristieken naar algen

De grote hoeveelheid extra data, die gegeneerd wordt dient ook efficiënt en snel verwerkt te worden. Hiervoor zijn en worden twee wegen ingeslagen:

A) Verwerking met MATLAB:

- Clusteranalyse: Data wordt geautomatiseerd geclusterd of desgewenst handmatig via scatterplots combinaties. Dit is in 2002 gereed gekomen.
- Verwerking van getallen naar fractiegrootte, de zogeheten monitoringsrapportage: Deze is ook gereed.
- Database-verwerking: Karakteristieken van algen worden in een database opgeslagen en gezocht kan worden naar 'matching' van elk deeltje in een monster per alg in de database. Met een similarityscore wordt de mate van matching weergegeven Deze optie is gereed.

Bovenstaande onderdelen zijn uitgebreider toegelicht in werkdocument RIKZ/IT 2002.853x (T. Rutten)

B) Verwerking met neurale netwerken of andere soortgelijke technieken: Deze route wordt in 2003 in samenwerking met één of meer universiteiten bewandeld, maar er is weinig geld beschikbaar voor uitbesteding.

4.5.5 Resultaten

Een eerste resultaat van de kracht van de CYTOPSA module bewijst onderstaande tabel, waarbij met 8 monocultures en 6 typen bollen metingen zijn verricht. Van alle monsters werden in scatterplots (handmatig) clusters geselecteerd op grond van de simultaan gemaakte foto's van de deeltjes. Deze selectie werd gebruikt om de aantallen van een soort in een monster vast te stellen. Zeven pulsform karakteristieken van een cluster werden telkens aan de database toegevoegd. Vervolgens werden in dezelfde monsters met behulp van de database gezocht naar juist-herkende deeltjes. Ook werden de mismatches vastgesteld, de onjuist herkende deeltjes. De percentages van juiste herkenning zijn veelbelovend, vooral omdat verder niet gekeken is naar de meest geschikte combinatie van pulsformkarakteristieken en omdat slechts 7 karakteristieken gebruikt zijn.

	handselectie	database op grond van 7 psa-karakteristieken				
	aanwezig in monster	gevonden mbv database	percentage	mismatch		
Phaeoc92-k	9531	7211	76 %	2130=Phaeoc91f	2=Isochrysis	
Phaeoc91f	9424	8306	88 %	423=Isochrysis	259=Phaeoc92	
Isochrysis	9869	9294	94 %	279=Phaeoc91f	38=Phaeoc92	
Pseudo_ser	952	922	97 %	27=Phaeoc91f	19=Phaeoc92	2=Skeletonema c
Rhodomonas	2522	2405	95 %	-		
Skeletonema cos	8957	7251	81 %	318=Isochrysis	59=Rhodomonas	5=Phaeoc92
Tetraselmis	9414	8323	88%	3=Skeletonema c		3=Tetraselmis
latex 5.3 µm	4850	4512	93%	6=latex 10 µm		
latex 10 µm	3338	3105	93%	24=latex 5.3 µm		
latex 17.6 µm	863	821	95 %	65=latex 5.3 µm	2=latex 10 µm	
latex 39 µm	496	472	95 %	16=latex 5.3 µm	7=latex17.6 µm	
pcrd-bol	2074	1973	95 %	-		
mp633-bol	2487	2429	98 %	-		

4.5.6 Conclusie

De CYTOPSA module biedt de mogelijkheid algen specifiek te karakteriseren. Hiermee wordt de identificatie van algen verbeterd. De eerste resultaten zijn veelbelovend en in de loop van 2003 zal de waarde van de nieuwe applicatie moeten blijken uit bijvoorbeeld analyses van monitoringmonsters. De module is niet apparaatgebonden en kan gebruikt worden op andere flowcytometers en zou daarmee meerwaarde kunnen bieden bij uitwisseling van data tussen meer flowcytometriegebruikers.

6. Conclusies

Uit de resultaten van de monitoring van fytoplankton met behulp van flowcytometrie blijkt:

- ✓ Voor het opbouwen van reproduceerbare langere termijn datasets is de flowcytometer een robuust instrument en flowcytometrie een betrouwbare methode. Dit wordt bevestigd door de lange termijn overzichten voor de periode 2000 t/m 2002 die duidelijke trends laten zien. Een vergelijking tussen jaargangen en lokaties geeft een duidelijk totaalbeeld van aanwezige trends waarmee nogmaals onderstreept wordt dat flowcytometrie een techniek is die zeer waardevolle informatie biedt op het gebied van fytoplanktonmonitoring.
- ✓ Er is aangetoond dat voor een goede vergelijking van microscopie- en flowcytometertellingen het noodzakelijk is dat de microscopische tellingen gecorrigeerd worden voor het aantal gemeten cellen in ketens aangezien met flowcytometrie een keten als één deeltje geteld wordt.
Een tweede correctie die een vergelijking van de telresultaten zeer ten goede komt is het weglaten van de 'ondetermineerbare algen' uit de microscopische tellijsten. Voor de flowcytometrische tellingen geldt dat de deeltjes $> 10 \mu\text{m}$ gebruikt moeten worden voor een goede vergelijking.
- ✓ Nadat bovengenoemde correcties uitgevoerd zijn toont de vergelijking tussen microscooptellingen en flowcytometertellingen voor de lokaties Noordwijk 2, Noordwijk 10 en Zijpe in 2001 grote overeenkomsten ($R^2 > 0,73$).
- ✓ De totale autotrofe deeltjesconcentraties op de Noordzeelokaties Noordwijk 2 en 10 zijn in 2002 fors lager ten opzichte van 2001 en 2000. Terschelling 135 en Schaar van Ouden Doel laten in 2002 een lichte daling zien t.o.v. 2000 en 2001. De totaalconcentraties op Vlissingen en Zijpe zijn in 2002 licht gestegen t.o.v. de twee voorgaande jaren.
- ✓ Voor Noordwijk 2 en 10 geldt dat de gecumuleerde totale biomassa-concentratie in 2002 een stuk lager (resp. -53% en -35%) is dan in 2001 maar duidelijk hoger (resp. $+49\%$ en $+25\%$) dan in 2000. Op Terschelling 135 is de totale biomassa in 2002 iets lager dan in 2001 maar ruim 2 keer zo hoog dan in 2000). De lokaties Vlissingen en Schaar van Ouden Doel vertonen een stijgende lijn vanaf 2000 terwijl de totale biomassa op de lokatie Zijpe in 2002 ca. 30% lager is t.o.v. 2000 en 2001.
- ✓ De lange termijn overzichten (2000 t/m 2002) van de biomassa laten voor alle lokaties duidelijke trends zien. Op Noordwijk 2 en 10 begint de biomassa toe te nemen vanaf maart en wordt vervolgens tot en

met september voor een aanzienlijk deel bepaald door grote (100 – 1000 µm) deeltjes. Op Terschelling 135 worden elk jaar biomassapieken gemeten in april/mei en in oktober terwijl in de tussenliggende periode de biomassa laag is. In bijna alle gevallen wordt de biomassa bepaald door kleine (<100 µm) deeltjes. Bij de Ooster- en westerscheldelokaties valt op dat de grootte van de deeltjes die bepalend zijn voor de biomassa per lokatie verschilt: op Schaar van Ouden Doel zijn dit vooral de deeltjes tussen 0 en 150 µm, op Zijpe de deeltjes tussen 0 en 300 µm en op Vlissingen de deeltjes tussen 0 en 1000 µm.

- ✓ Er is een redelijk lineair verband ($R^2 = 0.70$) tussen het lin PLS/mL en het zwevendstofgehalte. Bij omrekening van de flowcytometrische waarde in een zwevendstofgehalte moet rekening worden gehouden met een fout van 75% in het gebied van 10 – 250 mg/L en van 350% in het gebied van 0 – 10 mg/L. Als indicatieve waarde is deze parameter zeker bruikbaar. Het verband tussen het doorzicht en de totaalconcentratie van alle deeltjes is matig. Door een combinatie van de flowcytometrische gegevens kan echter wel een indicatie worden verkregen over het doordringen van het zonlicht in het water.
- ✓ De ideale manier van fytoplankton monitoring volgens de auteurs is een kwalitatieve analyse op soorten met behulp van een snelle microscopische analyse gecombineerd met een kwantitatieve flowcytometrische analyse waarbij concentratie, grootteverdeling en biomassa bepaald worden.

7. Referenties

- Anonymus, MONITOR-programma voor de zoute wateren. Nota GWIO-87.018, 1987
- Aquasense 2000. Geannoteerde soortenlijst biomonitoring 1990-1999. Biomonitoring van fytoplankton in de Nederlandse zoute en brakke wateren 1999. Rapportnummer T0017-4a, Bijlage 3. Aquasense, Amsterdam.
- Dubelaar G.B.J., Cunningham A., Groenewegen A.C., Klijnstra J., Jonker R.R., Ringelberg J., Rutten T.P.A., Peeters J.C.H., Vriezekolk G.A., Roy van R.H.M., Tascioglu B., Wietzorrek J., Kachel V., König J.W., Veen van J.J., Boddy L., Wilkins M.F., Morris C.W., Carr M.R., Tarran G.A., Burkill P.H., Beeker A.E.R.: A European Optical Plankton Analysis System: Flow cytometer based technology for automated phytoplankton identification and quantification. Final Report MAS2-CT91-0001, 1995.
- Hofstraat, J.W., M. Rademaker & R.P.T. Koeman, Standaardvoorschrift B001: Oppervlaktewater - Voorschrift voor de verzameling en conservering van fytoplankton in het mariene milieu - Ringleiding en sampler, 1991a
- Hofstraat, J.W., M. Rademaker & R.P.T. Koeman, Standaardvoorschrift B003: Oppervlaktewater - Voorschrift voor de verzameling van levend fytoplankton (kwantitatief) in het mariene- en brakwater milieu - Ringleiding 1991b
- Koeman R.P.T., Bijkerk R., Fockens K., Esselink P., de Haan A.L., Biomonitoring van fytoplankton in de Nederlandse zoute wateren 2001, rapport 2002-16, 2002
- Rutten T.P.A., Sandee A., Hofman A.R.T., Evaluatie van flowcytometrie fytoplanktonmonitoring 2000, Rapport RIKZ/2001.034, 2001
- Rutten T.P.A., Sandee A., Hofman A.R.T., Flowcytometrie monitoring 2001a, Rapport RIKZ/2003.012
- Rutten T.P.A., Sandee A., Hofman A.R.T., Flowcytometrie monitoring 2001b, Rapport RIKZ/2003.013
- Rutten T.P.A., Sandee A., Hofman A.R.T., Flowcytometrie monitoring 2002a, Rapport RIKZ/2003.014
- Rutten T.P.A., Matlabalgoritmen voor de verwerking van flowcytometrische (pulse shape analysis) data, Werkdocument RIKZ/IT/2002.853x