



ALTERRA

WAGENINGEN UR



Effecten van verzuring op bodemleven en stikstofstromen in bossen

Verkenning van mogelijkheden voor herstelmaatregelen

Alterra-rapport 2204
ISSN 1566-7197

R.H. Kemmers

Effecten van verzuring op bodemleven en
stikstofstromen in bossen

Dit onderzoek is uitgevoerd binnen het kader van het Kennisbasisonderzoek
Projectcode [KB-14-002-012]

Effecten van verzuring op bodemleven en stikstofstromen in bossen

Verkenning van mogelijkheden voor herstelmaatregelen

R.H. Kemmers

Alterra-rapport 2204

Alterra, onderdeel van Wageningen UR
Wageningen, 2011

Referaat

R.H. Kemmers, 2011. *Effecten van verzuring op bodemleven en stikstofstromen; een verkenning van mogelijkheden voor herstelmaatregelen*. Wageningen, Alterra, Alterra-rapport 2204. 42 blz.; .14 fig.; 7 tab.; 12 ref.

Dit rapport geeft een samenvatting van de resultaten van de analyses van het bodemleven, de stikstofstromen en bodemcondities over een brede range van bosgronden. In dit rapport staat de vraag centraal of door verzuring de relatie tussen ondergrondse en bovengrondse biodiversiteit via de N-kringloop is beïnvloed. De conclusie is dat door verzuring de activiteit van (bacteriën) protozoa en regenwormen is afgenomen en die van schimmels, nematoden en potwormen is toegenomen. Hierdoor is een verschuiving opgetreden in de stikstofbalans van N-immobilisatie naar netto N-mineralisatie. Hiervan profiteren opportunistische soorten in de ondergroei door het extra N-aanbod om te zetten in biomassa waardoor kritischer soorten worden benadeeld. Herstelmaatregelen moeten gericht zijn op herstel van de N-balans tussen bovengronds en ondergronds leven in de richting van een grotere N-retentie door het bodemleven. Hierin kan via het beheer worden gestuurd.

Trefwoorden: bossen, bodembiodiversiteit, N-mineralisatie, N-immobilisatie, herstelmaatregelen natuur

ISSN 1566-7197

Dit rapport is gratis te downloaden van www.alterra.wur.nl (ga naar 'Alterra-rapporten'). Alterra Wageningen UR verstrekt geen gedrukte exemplaren van rapporten. Gedrukte exemplaren zijn verkrijgbaar via een externe leverancier. Kijk hiervoor op www.rapportbestellen.nl.

© 2011 Alterra (instituut binnen de rechtspersoon Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek)
Postbus 47; 6700 AA Wageningen; info.alterra@wur.nl

- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking van deze uitgave is toegestaan mits met duidelijke bronvermelding.
- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking is niet toegestaan voor commerciële doeleinden en/of geldelijk gewin.
- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking is niet toegestaan voor die gedeelten van deze uitgave waarvan duidelijk is dat de auteursrechten liggen bij derden en/of zijn voorbehouden.

Alterra aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Alterra-rapport 2204

Wageningen, juli 2011

Inhoud

Woord vooraf	7
Samenvatting	9
1 Inleiding	13
2 Methoden	15
2.1 Aanpak	15
2.2 Locatiekeuze	15
2.3 Analysemethoden	16
2.3.1 Bodemchemie	16
2.3.2 Microbiologie	16
2.3.3 Micro- en mesofauna	17
2.3.4 N-mineralisatie en -immobilisatie	17
2.3.5 Voorraden	18
2.3.6 Statistiek	18
2.3.7 Laboratoriumexperiment	18
3 Resultaten	19
3.1 Voorraden en fluxen	19
3.1.1 Voorraden organische stof en stikstof in de bodem	19
3.1.2 N-voorraden in bodemorganismen	20
3.1.3 N-fluxen	21
3.1.4 Invloeden beheer	23
3.1.5 Conclusies	24
3.2 Regressieanalyse	25
3.2.1 N-mineralisatie- en -immobilisatiefluxen als functie van bodembiomassa's	25
3.2.2 Mineralisatie- en immobilisatieconstanten als functie van bodemactiviteit	27
3.2.3 Bodemleven als functie van bodemcondities	28
3.2.4 Conclusies	29
4 Effecten van kalkgift en introductie van bodemleven	31
4.1 Rationale	31
4.2 Werkwijze	31
4.3 Resultaten	32
4.3.1 Effect bekalken op zuurgraad	32
4.3.2 Effecten van kalkgift op bodemleven (in combinatie met strooiseltoevoeging)	32
4.3.3 Effecten van bladsoort op bodemleven	33
4.3.4 Effecten van wormen op N-mineralisatie en -immobilisatie	33
4.3.5 Discussie en conclusies	35
5 Synthese	37
5.1 Veldonderzoek- en labexperiment	37
5.2 Een conceptueel model	37
5.3 Herstelmaatregelen?	39
Literatuur	41

Woord vooraf

Aan dit onderzoek is in de loop der jaren door veel mensen een bijdrage geleverd.

Jaap Bloem , Bas van Delft, Jack Faber, Ron de Goede, Patrick Hommel, Gerard Jagers op Akkerhuis, Jan den Oude en Rein de Waal hebben waardevolle bijdragen geleverd bij de opzet van het onderzoek en de interpretatie van de gegevens. Via discussies met hen ben ik ook iets vertrouwder gemaakt met bodembologisch onderzoek en beheer van bostypen. Ton Schouten van het RIVM zorgde als coördinator van het Bodembologisch Meetnet Nederland voor een financiële bijdrage in een deel van de analysekosten. Marieke de Lange stelde een deel van de data beschikbaar die zij bij het laboratoriumexperiment met wormen had verkregen.

Na bemiddeling van André Jansen verleenden de terreinbeheerders Theo Bakker, Theo Heufkens (beiden SBB), Etienne Thomassen (Bosgroep Zuid) toestemming voor de bemonstering van hun terreinen. Zij hebben met enthousiasme meegewerkt de juiste onderzoeksvlakken te selecteren.

Popko Bolhuis, Wim Dimmers, Annemariet van der Hout en Tamas Salanki hebben met grote zorg de bodemonsters in het veld verzameld, die zij naderhand hebben geïnventariseerd op bodemfauna. Meint Vellinga en An Vos hebben met grote zorg de microbiologische analyses uitgevoerd.

Allen ben ik zeer erkentelijk voor hun bijdrage.

Samenvatting

Probleem en vraagstelling

Herstelmaatregelen in bossen zoals bekalken, mineralen giften of plaggen, om effecten van verzuring te bestrijden, blijken niet altijd effectief te zijn. Doelsoorten van de ondergroei keren vaak niet terug. In 2005 werd in opdracht van de Unie Bosgroepen onderzoek gestart naar mogelijke alternatieve herstelmaatregelen. Daarbij werd uitgegaan van het vermoeden dat milieustress niet alleen hogere planten maar ook het bodemleven heeft beïnvloed en dat herstel van doelsoorten uitblijft door verstoorde relaties tussen bodemleven en vegetatie. Onderzocht werd of er effecten van verzuring op het bodemleven in bosgronden kon worden aangetoond en of effecten daarvan op de N-kringloop van boscossystemen zijn opgetreden.

Het onderzoek werd in een aantal jaarlijkse tranches uitgevoerd over een brede range van bodemtypen met multifunctioneel bos: zure voedselarme stuifzanden, matig zure iets voedselrijkere dekzanden, licht zure matig voedselrijke praeglaciale zanden (stuwwallen) en voedselrijke kalkgronden. Binnen elk bodemtype werd gezocht naar verzuurde terreinen en terreinen met een soortenrijke begroeiing die als niet verzuurde referentie werden beschouwd. In al deze bossen werd bodemchemisch en bodembologisch onderzoek uitgevoerd.

Dit rapport geeft een synopsis van de resultaten van de analyses van het bodemleven, de stikstofstromen en bodemcondities over de gehele range van bosgronden. Als hypothese werd gesteld dat er via de nutriëntenkringloop een relatie tussen ondergrondse en bovengrondse biodiversiteit bestaat en dat deze relatie wordt beïnvloed door milieustress (c.q. verzuring). De volgende onderzoeksvragen werden geformuleerd:

- Hoe beïnvloeden de verschillende trofische niveaus of functionele groepen van bodemorganismen de nutriëntenbeschikbaarheid voor de vegetatie (C- en N-mineralisatie, N-immobilisatie)?
- Hoe beïnvloeden verschillende groepen van bodemorganismen elkaar (bacteriën, schimmels, nematoden, mijten, potwormen, regenwormen)? Zijn er relaties tussen micro-organismen en resp. nematoden, potwormen, mijten etc.?
- Welke invloed heeft de zuurgraad op de aanwezigheid of activiteit van bodemorganismen?

Onderzoeklocaties

Voor praeglaciale zandgrond (stuwwallen) werden drie replica's met een Linde opstand (referenties) en drie verzuurde opstanden met een Eiken-berken-dennenopstand geselecteerd bij Doorwerth. Hier werd aansluiting gezocht bij lopend onderzoek naar effecten van de boomsoort (Linde) op bestrijding van verzuring. Voor de dekzandgebieden werden drie referentie gebieden gevonden bij Ulvenhout en drie verzuurde opstanden bij Heeze. Als selectiecriteria voor verzuurd of niet verzuurd werd de soortensamenstelling in de ondergroei genomen. Voor de stuifzanden werd aangesloten bij onderzoek naar de effectiviteit van plagmaatregelen in verzuurde bossen op stuifzand nabij Soest en Harderwijk. In elke gebied werden drie geplagde opstanden vergeleken met drie niet-geplagde opstanden. Voor kalkgronden werd aangesloten bij onderzoek naar effecten van cyclisch hakhoutbeheer in Limburg. Gedurende 80 jaar niet gekapte opstanden (Savelsbos) werden als referentie beschouwd en vergeleken met opstanden die één of meerdere kapcycli achter de rug hadden.

Wat hebben we onderzocht

In alle geselecteerde opstanden werd bodemmateriaal verzameld tot een diepte van 10 cm-mv. Het bodemmateriaal werd onderzocht op bodemchemische en microbiologische variabelen en op het aantal individuen in micro- en mesofauna groepen. Bodemchemisch onderzoek beperkte zich tot pH, N-totaal en organische stofgehalte. Via microbiologische technieken werden de biomassa's van schimmels en bacteriën, de potentiële netto- en bruto- N-mineralisatieconstanten, de C-mineralisatieconstante en de bacteriële activiteit

bepaald. De N-immobilisatieconstante en de massa protozoa werden op indirecte wijze bepaald. Alle stikstof die vrijkomt bij afbraakprocessen wordt bruto N-mineralisatie genoemd. Van de vrijgekomen minerale stikstof wordt een deel weer direct opgenomen door bodemorganismen voor synthese van biomassa. Dit wordt N-immobilisatie genoemd. De stikstof die overblijft (verschil tussen bruto N-mineralisatie en N-immobilisatie) wordt netto N-mineralisatie genoemd en is beschikbaar voor opname door planten. De mineralisatie- en immobilisatiefluxen ($\text{gN.m}^{-2}.\text{jr}^{-1}$) werden berekend door constanten te corrigeren voor temperatuur en te vermenigvuldigen met N-totaal gehalten en de bulkdensity van de bodem. Via tellingen werden aantallen mijten, nematoden, potwormen en regenwormen vastgesteld. Aantallen werden vertaald naar voorraden (massa's) per oppervlakte-eenheid op basis van literatuurgegevens.

Uit de vergelijking van bosesystemen blijkt dat er duidelijke verschillen aanwezig zijn in N-voorraden, procesparameters (mineralisatie en immobilisatie) en in bodemfaunagroepen.

N-voorraden en -fluxen

Van de onderzochte opstanden blijkt de voorraad N-totaal in de bodemlaag (incl. strooisellaag) tot 10 cm-mv. te variëren tussen 150 en 400 gN.m^{-2} . In stuifzanden is de N-voorraad het laagst. Tussen dekzand, praeglaciaal zand en kalkgrond zijn de verschillen gering. In de C/N-verhouding is van stuifzanden, via dekzanden, praeglaciaal zand en kalkgrond een dalende trend aanwezig die samengaat met een toenemende N-immobilisatie. De hoeveelheid N die is vastgelegd in bodemfauna varieert tussen de ca. 1,5 en 8 gN.m^{-2} . Van 'arme' naar 'rijke' bosesystemen neemt het N-aandeel van de biomassa dat in microben (schimmels, bacteriën, protozoa) is vastgelegd af. In dezelfde richting neemt het aandeel dat in de biomassa van de hogere trofische niveaus (mesofauna) is vastgelegd juist toe. De netto N-mineralisatie (0-10 cm) varieert van 6 tot ca. 60 $\text{gN.m}^{-2}.\text{jr}^{-1}$. De N-immobilisatie varieert van ca. 3 tot 70 $\text{gN.m}^{-2}.\text{jr}^{-1}$. De verhouding tussen N-mineralisatie en -immobilisatie is sterk wisselend en o.a. gerelateerd aan de bodemzuurgraad. De bruto N-mineralisatie ($\text{gN.m}^{-2}.\text{jr}^{-1}$) neemt toe van bossen op stuifzand via die op dekzand naar die op praeglaciaal zand. Opvallend is dat deze toename in de richting van bossen op kalkgrond niet doorzet. In de kalkrijke bossen treedt de grootste N-immobilisatie op, terwijl de mineralisatie er relatief gering is en in orde van grootte overeenkomt met die in bossen op dekzand. De N-immobilisatie neemt toe naarmate het aandeel microben in de totale bodemfauna afneemt. De N-depositie bedraagt maximaal 20% van de bruto N-mineralisatie in de armste systemen tot minder dan 5% in de bossen op kalkgrond. Effecten van beheer of standplaatsfactoren binnen de bosopstanden zijn aanwezig maar geven geen eenduidig beeld. Verzuring lijkt op praeglaciale zanden te leiden tot een verschuiving in de stikstofbalans van N-immobilisatie naar N-mineralisatie. Op dekzanden kon dit effect niet worden vastgesteld. Plaggen van bosgrond op stuifzand leidt eveneens tot een verschuiving van N-immobilisatie naar -mineralisatie. Hakhoutbeheer leidt juist tot een verschuiving van N-mineralisatie naar N-immobilisatie.

Invloed pH op bodemleven

Uit regressieonderzoek blijkt dat zowel de N-mineralisatie als de N-immobilisatie afhankelijk zijn van de zuurgraad. De N-mineralisatie neemt toe naarmate de pH lager en de bacteriële activiteit groter is en er meer nematoden zijn, maar wordt door schimmels negatief beïnvloed. De N-immobilisatie neemt toe naarmate de pH hoger is en er meer protozoa en regenwormen zijn. Naarmate meer regenwormen aanwezig zijn verschuift de verhouding tussen netto en bruto N-mineralisatie in het voordeel van de bruto N-mineralisatie. Alleen de hoeveelheid schimmels en regenwormen lijken afhankelijk te zijn van bodemcondities. Naarmate het organische stofgehalte hoger is en de bodem zuurder neemt de hoeveelheid schimmels in de bodem toe. De hoeveelheid regenwormen neemt juist af naarmate de bodem zuurder is. Nematoden en potwormen zijn wel significant positief gecorreleerd maar hun verklaarde variantie is gering.

Invloed bodemleven op N-balans

Onder zure omstandigheden breekt organische stof moeilijk af. Daardoor accumuleert moeilijk verteerbare (recalcitrante) organische stof in de vorm van een LF-horizont op het maaiveld. Schimmels zijn bij uitstek in staat deze moeilijk afbreekbare organische stof af te breken.

Bij verzuring blijkt de balans tussen N-immobilisatie en netto N-mineralisatie te verschuiven in het voordeel van de laatste term. Deze verschuiving gaat gepaard met een toenemende schimmelmassa, een toenemende bacteriële activiteit en nematodenmassa, maar een afnemende massa regenwormen en protozoa. De netto N-mineralisatie lijkt dus positief beïnvloed te worden door de massa nematoden (en potwormen) en de delingsactiviteit van bacteriën, maar wordt weer onderdrukt door de toenemende massa schimmels. De N-immobilisatie is positief gecorreleerd met regenwormen en protozoa. Een verklaring van de verschuiving in de stikstofbalans kan dus zijn dat onder zuurder wordende omstandigheden de invloed van regenwormen en protozoa afneemt en die van nematoden en potwormen toeneemt. Nematoden grazen o.a. op bacteriën. Door deze begrazing vindt geen toename van bacteriële biomassa plaats, maar wordt wel de bacteriële delingsactiviteit gestimuleerd. Door vraat van bacteriële biomassa neemt de N-massa van nematoden toe maar zal tevens een versterkte uitscheiding van mineraal stikstof plaatsvinden. Onder zuurder worden omstandigheden neemt ook de invloed van schimmels toe. De negatieve invloed van de schimmelmassa op de mineralisatie lijkt erop te wijzen dat schimmels stikstof vastleggen. De N-voorraad in schimmels kan weer vrijkomen in de vorm van minerale stikstof via begrazing van schimmels door potwormen, nematoden of mijten. Onder zure omstandigheden lijken er dus twee kanalen in het bodemvoedselweb te zijn voor N-transfer: i) via schimmels naar potwormen en ii) via bacteriën naar nematoden. Omdat nematoden en in mindere mate potwormen kwantitatief van ondergeschikt belang zijn, lijken in zure systemen bacteriën en vooral schimmels in het bodemvoedselweb de belangrijkste N-sink te vormen.

Naarmate omstandigheden minder zuur zijn neemt de schimmelinvloed af en wordt de decompositie en N-mineralisatie overgenomen door bacteriën. Bacteriën worden begraasd door nematoden of protozoa. Nematoden beïnvloeden de N-mineralisatie positief, terwijl protozoa juist de immobilisatie stimuleren. Bacteriën en protozoa worden via graaactiviteit van regenwormen geïnoculeerd in microhabitats van de bodem, waardoor zij zich uitbreiden en meer stikstof in hun biomassa kunnen vastleggen. Onder basenrijkere omstandigheden lijkt de N-transfer dus te verlopen van bacteriën via protozoa naar wormen, waarbij regenwormen de belangrijkste N-sink vormen.

Experiment

Om te onderzoeken of in de praktijk maatregelen gericht op herstel van bodemleven effect sorteren, werd een verkennend laboratoriumexperiment uitgevoerd. Voor dit experiment werd verzuurde grond verzameld, bekalkt tot pH=3,75 en verdeeld over 24 potten. Aan de ene helft van de potten werd berkenblad en aan de andere helft lindenblad als voedselbron voor regenwormen aangeboden. Van elke bladtype werd een blanco serie ingezet en vergeleken met een serie waaraan slechts één regenwormensoort of drie regenwormensoorten werden toegevoegd. Als referentie werden vijf potten van een onbehandelde niet verzuurde grond gebruikt. Bij het experiment bleek bekalking te leiden tot een onverwachte verlaging van de C-mineralisatie en de bruto en netto N-mineralisatie en een verhoging van de schimmelbiomassa. Dit is waarschijnlijk toe te schrijven aan het geringe effect dat bekalking op de pH had in ons experiment. Bij bekalking tot maximaal pH <3.75 assimileren schimmels koolstof en stikstof, waardoor hun biomassa toeneemt. Bij bekalking tot pH <3.75 wordt bacteriële activiteit nauwelijks gestimuleerd. Introductie van regenwormen leidde alleen tot een toename van de C-mineralisatie en de netto N-mineralisatie in aanwezigheid van (stikstofrijk) lindenblad. Onder die omstandigheden bleek ook de N-immobilisatie sterk toe te nemen. Dit laatste effect kon echter niet significant worden vastgesteld.

Conclusie en lonkend perspectief

De conclusie van het onderzoek is dat verzuring heeft geleid tot een verschuiving in de stikstofbalans van N-immobilisatie naar netto N-mineralisatie. Hiervan zullen opportunistische soorten in de ondergroei profiteren door het extra N-aanbod om te zetten in biomassa waardoor kritischer soorten worden benadeeld. Door

verzuring is de activiteit van (bacteriën) protozoa en regenwormen afgenomen en die van schimmels, nematoden en potwormen toegenomen. Met de resultaten van dit onderzoek is een perspectief ontstaan op alternatieve herstelmaatregelen om effecten van verzuring tegen te gaan. Deze maatregelen moeten gericht zijn op herstel van de N-balans tussen bovengronds en ondergronds leven in de richting van een grotere N-retentie door het bodemleven. Hierin kan via het beheer worden gestuurd. In van nature zure systemen lijkt strooiselverwijdering in combinatie met enige bekalking of introductie van schimmels kansrijk. In van nature basenrijkere systemen lijkt bekalking in combinatie met activering van bacteriën door protozoa en regenwormen kansrijk.

De resultaten van het labexperiment en het empirisch onderzoek geven voldoende argumenten om een veldproef te starten met perspectief op een gunstig effect van de maatregel 'bekalking in combinatie met de introductie van bodemleven' op herstel van de verstoorde stikstofbalans van verzuurde bodems.

1 Inleiding

In de afgelopen twee decennia is veel geld geïnvesteerd in effectgerichte maatregelen ter compensatie van milieustress zoals verdroging, verzuring en vermesting. Vaak heeft dit tot succes geleid, maar in veel gevallen bleef succes uit. Daarom werd bekalking en mineralengift geschrapt als subsidiabele maatregel voor multifunctioneel bos omdat uit een evaluatie was gebleken dat dit niet had geleid tot het gewenste effect van herstel van de ondergroei met karakteristieke bossoorten (Olsthoorn et al., 2006). Niettemin blijven beheerders met de vraag zitten welke maatregelen dan wel effectief zijn om effecten van deze stress op de ondergroei te compenseren.

Mede naar aanleiding van ervaringen bij herstelmaatregelen in schraalgraslanden (Kemmers et al., 2010, 2011a) zijn uit onderzoek aanwijzingen verkregen dat milieustress niet alleen hogere planten maar ook het bodemleven nadelig zou kunnen beïnvloeden en dat herstel van doelsoorten uitblijft door verstoorde relaties tussen bodemleven en vegetatie.

Dit rapport is een overkoepelend verslag van een aantal verschillende onderzoeksprojecten dat in het kader van het Beleidsondersteunend Onderzoek over een reeks van jaren sinds 2005 werd uitgevoerd. Ondanks een teruglopende depositie van stikstof en zuur en een aantoonbare daling van de zuurgraad en ammoniakgehalten in bosbodems over de periode 1994-2004 (Kemmers et al., 2007) bleek er ondanks effectgerichte maatregelen vaak geen herstel op te treden van de ondergroei in multifunctionele bossen. Dit leidde tot een kennisvraag van de Unie van Bosgroepen naar alternatieve maatregelen gebaseerd op herstel van bodemleven. Daartoe werd oriënterend onderzoek gestart naar effecten van bodemverzuring in bos op het bodemleven en de doorwerking daarvan op de N-kringloop en de N-beschikbaarheid voor de vegetatie. Het onderzoek werd uitgevoerd in gebieden waar het belangrijkste areaal multifunctioneel bos voorkomt: dekzand gebieden en stuwwallen. Daarbinnen werd gezocht naar verzuurde terreinen en terreinen met een soortenrijke begroeiing die als referentie werden beschouwd. Later kon het onderzoek worden uitgebreid naar bossen op arme stuifzandgronden door aan te sluiten bij daar lopend OBN-onderzoek naar de evaluatie van effectgerichte (plag) maatregelen (Kemmers et al., 2011b). In een nog latere fase kon worden aangesloten bij OBN-onderzoek naar effecten van hakhoutbeheer op herstel van hellingbossen op kalkrijke grond in Limburg (Hommel et al., 2010). In al deze bossen werd bodemchemisch en bodembologisch onderzoek uitgevoerd dat in afzonderlijke rapporten werd gepubliceerd. Door samenvoeging van de resultaten uit de verschillende projecten werd een databestand verkregen over een brede range van standplaatscondities in bossen: van zure, voedselarme zandgronden tot kalk- en voedselrijke gronden. In het kader van het Kennisbasisonderzoek kon dit databestand in zijn totaliteit worden geanalyseerd.

Dit rapport geeft een synopsis van de resultaten van de analyses van het bodemleven, de stikstofstromen en bodemcondities over de gehele range van bossen. Hiermee ontstond een veel duidelijker inzicht dan in de deelonderzoeken afzonderlijk omdat die zich beperkten tot een beperkte range van standplaatscondities. Centraal in dit rapport staat het onderzoek naar de hypothese of er via de nutriëntenkringloop een relatie tussen ondergrondse en bovengrondse biodiversiteit bestaat en of deze relatie wordt beïnvloed door milieustress (c.q. verzuring). De volgende onderzoeksvragen werden geformuleerd:

- Hoe beïnvloeden de verschillende trofische niveaus of functionele groepen van bodemorganismen de nutriëntenbeschikbaarheid voor de vegetatie (C- en N-mineralisatie, N-immobilisatie)?
- Hoe beïnvloeden verschillende groepen van bodemorganismen elkaar (bacteriën, schimmels, nematoden, mijten, potwormen, regenwormen)? Zijn er relaties tussen micro-organismen en resp. nematoden, potwormen, mijten etc.?
- Welke invloed heeft de zuurgraad op de aanwezigheid of activiteit van bodemorganismen.

De veronderstelling daarbij was dat de nutriëntenhuishouding de verbindende schakel tussen ondergronds en bovengronds leven (vegetatie) is. Mineralisatie van organische stof is de belangrijkste voedselbron van N (en P) voor de vegetatie en het bodemleven. Deze mineralisatie is de resultante van decompositie- en humificatie (i.e. immobilisatie)processen die tot stand komen via interacties tussen de verschillende (trofische niveaus van) bodemorganismen. Met ondergrondse biodiversiteit wordt niet bedoeld op aantallen soorten maar op de aanwezigheid en activiteit van de verschillende functionele groepen uit het bodemvoedselweb. Onder bovengrondse biodiversiteit verstaan we wel het aantal soorten (soortenrijkdom). De soortenrijkdom wordt vaak verondersteld te zijn gerelateerd aan de voedselrijkdom van een standplaats: naarmate de voedselrijkdom van een standplaats toeneemt, verandert over het algemeen de diversiteit aan soorten via een optimum verband: (een hump-back relatie) tussen soorten- en voedselrijkdom. Indien verzuring het bodemleven beïnvloedt, zou daardoor indirect de nutriëntencyclus kunnen worden beïnvloed en daarmee de productiviteit en de diversiteit van bovengrondse vegetatie.

Leeswijzer

In het tweede hoofdstuk worden de onderzochte locaties toegelicht. Vervolgens wordt in kort bestek beschreven op welke wijze de verschillende groepen bodemorganismen werden geïnventariseerd en gekwantificeerd, welke methoden werden gebruikt om de N-mineralisatie en -immobilisatie te meten en welke regressieanalyses we hebben uitgevoerd om relaties tussen bodemorganismen en abiotische factoren te vinden. In het derde hoofdstuk worden de resultaten gepresenteerd van de analyse van de biomassa van groepen bodemorganismen, de N-voorraden in deze groepen en de omvang van de N-mineralisatie en -immobilisatie. In het tweede deel van dit hoofdstuk worden regressiemodellen gepresenteerd waarmee de aanwezigheid van bodemorganismen of N-stromen kunnen worden verklaard uit onderliggende bodemeigenschappen. Hoofdstuk 4 staat op zichzelf en beschrijft de opzet en resultaten van een laboratoriumexperiment dat als een pilotstudie voor een veldexperiment op praktijkschaal kan worden beschouwd. In dit labexperiment werd onderzocht of een kalkgift en toevoeging van regenwormen aan potten grond met verschillende strooiseltypen effect had op het bodemleven en de N-mineralisatie of -immobilisatie.

In het vijfde hoofdstuk worden de resultaten met elkaar in verband gebracht en bediscussieerd. Op basis van de synthese van de verschillende resultaten wordt in dit hoofdstuk een conceptueel model gepresenteerd, waarin de invloed zichtbaar wordt gemaakt van verschuiving van de pH op de samenstelling en omvang van de bodemfauna en de daaraan gerelateerde N-mineralisatie en -immobilisatiestromen.

2 Methoden

2.1 Aanpak

Het onderzoek heeft zich in de loop van de tijd ontwikkeld tot een drieluik. In eerste instantie werd bodembologisch onderzoek uitgevoerd in bossen op gestuwd praeglaciaal zand en dekzand. Dit onderzoek leidde niet tot een duidelijk inzicht in effecten van verzuring op bodemfauna. Omdat dekzanden en gestuwd praeglaciale zanden een betrekkelijk beperkte range van bodemcondities vertegenwoordigen werd in een latere fase het onderzoek uitgebreid naar bossen op stuifzand en hellingbos op kalkgrond. Hierdoor werd het mogelijk de samenstelling en activiteit van bodemleven te bestuderen over een brede range van bodemcondities: van arme zure bossen op zand naar rijke neutrale bossen op kalk.

Op basis van verwachte effecten werd een laboratoriumexperiment uitgevoerd waarin het effect van introductie van regenwormen en bekalking op de stikstofhuishouding werd onderzocht. Op alle onderdelen wordt in dit rapport ingegaan.

2.2 Locatiekeuze

In overleg tussen beheerders en onderzoekers werden drie verzuurde en drie referentie-opstanden geselecteerd van multifunctioneel bos op de wat rijkere zandgronden (gestuwd praeglaciaal) bij Doorwerth. Hier werd aansluiting gezocht bij lopend onderzoek naar effecten van de boomsoort (Linde) op bestrijding van verzuring en de invloed daarvan op de ondergroei in bossen. Drie replica's met een Linde-opstand en drie replica's met een verzuurde Eiken-berken-dennenopstand werden onderzocht.

Daarnaast werden op armere zandgronden (dekzand) drie referentie opstanden geselecteerd bij Ulvenhout en drie verzuurde opstanden bij Heeze. Als selectiecriteria voor verzuurd of niet verzuurd werd de soortensamenstelling in de ondergroei genomen.

Voor de stuifzanden werd aangesloten bij onderzoek naar de effectiviteit van plagmaatregelen in verzuurde bossen op stuifzand in opdracht van de Unie van Bosgroepen. Zowel nabij Soest als Harderwijk werden drie geplagde en drie niet-geplagde (referentie) opstanden onderzocht (Kemmers et al., 2011).

Voor de hellingbossen op kalkgrond werd aansluiting gezocht bij onderzoek naar effecten van cyclisch hakhoutbeheer in middenbossen (Hommel et al., 2010). De indruk bestaat dat het achterwege blijven van dit beheer heeft geleid tot verarming en verruiging van de ondergroei in deze hellingbossen. Een opstand in het Savelsbos werd daarbij als referentie beschouwd. De nabij gelegen Riezenberg is een locatie met een eerste generatie kapvlakte, in het Oombos in het Gerendal zijn derde generatie kapvlakten aanwezig. Al deze opstanden hebben een westexpositie. Op de Schaelsberg nabij Oud-Valkenburg is een derde generatie kapvlakte met een zuidexpositie gekozen. Op deze laatste locatie met zuidexpositie heeft het kapbeheer tot een sterke verruiging geleid. In elke opstand werden drie of vier bosvakken (herhalingen) uitgezet en onderzocht.

De gehele serie groeiplaatsen bestrijkt niet alleen een brede range terreincondities, maar geeft ook de mogelijkheid effecten van herstelmaatregelen in het onderzoek te betrekken.

In alle opstanden werden op identieke wijze bodemchemische en bodembologische gegevens verzameld van de bovenste 10 cm van de bodem en indien aanwezig van de bovenliggende strooisellaag. Van elke standplaats werd het humusprofiel beschreven zodat informatie beschikbaar kwam over de horizontdikte van strooisellagen. Voor het laboratoriumexperiment werd bodemmateriaal gebruikt dat afkomstig was uit de onderzochte opstanden in Doorwerth.

2.3 Analysemethoden

Per onderzocht aspect van de bodem worden kort de geanalyseerde variabelen en hun analysemethoden besproken.

2.3.1 Bodemchemie

- pH-KCl;
- Organische stof (gloeiverlies);
- N-totaal (destructie met Koningswater);
- C-totaal (0.5 x organische stofgehalte).

2.3.2 Microbiologie

De methoden van microbiologisch onderzoek worden uitvoerig beschreven in Bloem et al. (2006). Hieronder wordt slechts een summiere toelichting gegeven.

- Biomassa schimmels (Fungal C), directe microscopie na fluorescentie kleuring, gevolgd door automatische beeldanalyse.
- Biomassa bacteriën (Bacterial C), directe microscopie na fluorescentie kleuring, gevolgd door automatische beeldanalyse.
- Bacteriële activiteit ¹
- (Specifieke) Thymidine inbouwsnelheid;
- (Specifieke) Leucine inbouwsnelheid.
- Schimmelactiviteit (% hyphenlengte), microscopie.
- Unstained (niet-kleurende) fungi.
- Potentiële N-mineralisatie (aeroob, zes weken, 20 °C).
- De potentiële N-mineralisatie (N-min) werd zowel aeroob als anaeroob bepaald. Bij aerobe mineralisatie wordt ammonium gevormd door heterotrofe organismen dat weer kan worden omgezet in nitraat. Zowel ammonium als nitraat kan weer worden opgenomen door autotrofe micro-organismen (schimmels, bacteriën), die op hun beurt weer kunnen worden begraasd door protozoa, nematoden of mijten. De groei en delingsactiviteit van micro-organismen wordt gestimuleerd door vraat. Door dit vraatproces wordt veel stikstof weer vastgelegd in lichaamseiwitten (N-immobilisatie) van een hoger trofisch niveau. Nitraat kan ook door denitrificatie verdwijnen. Gemeten wordt wat het netto verschil is tussen deze afbraak- en opnameprocessen. Daarom wordt deze methode wel de bepaling van de potentiële netto N-mineralisatie genoemd.
- Mineraliseerbaar N (anaeroob, één week, 40 °C).
- Mineraliseerbaar N (Min-N) wordt onder anaerobe omstandigheden gemeten, gedurende een korte tijd maar bij een hoge temperatuur waardoor de microbiologische activiteit sterk wordt gestimuleerd. Door anaerobie kan geen nitraatvorming plaatsvinden en kan dus ook geen N-verlies door denitrificatie plaatsvinden. Protozoa (nematoden en mijten) overleven anaerobe omstandigheden niet en kunnen dus geen stikstof meer immobiliseren via vraat van micro-organismen. Uit analyse van de N-voorraden in bodemfaunacomponenten (Kemmers et al., 2010) blijkt dat mijten en nematoden een verwaarloosbare

¹ Thymidine en leucine zijn aminozuren die door bacteriën worden ingebouwd in lichaamseiwitten (leucine) of DNA (thymidine). Een hoog leucine verbruik duidt op een hoge metabole activiteit van bacteriën; een hoog thymidine verbruik wijst op aanmaak van DNA en vormt een indicatie voor een grote bacteriële celdelingactiviteit. Deze activiteiten worden specifiek genoemd als het verbruik wordt uitgedrukt per eenheid bacterieel C.

voorraad N hebben vergeleken met schimmels en bacteriën. Wormen en potwormen hebben juist weer een aanzienlijk grotere N-voorraad dan schimmels en bacteriën. Het is dus niet waarschijnlijk dat begrazing van bacteriën door nematoden of mijten een wezenlijke invloed heeft op de N-immobilisatie. Dit impliceert dat vooral de protozoa een belangrijke rol spelen bij de N-immobilisatie. De door anaerobie afgestorven protozoa vormen tijdens de incubatie een bron voor decompositie en mineralisatie door heterotrofe bacteriën. De delings- en groeiactiviteit van bacteriën neemt af omdat begrazing door protozoa wegvalt. De micro-organismen zelf schakelen over op een anaerobe stofwisseling (mondelinge mededeling Sietze de Boer, NIOO, Heteren) wat een lagere activiteit en N-behoefte tot gevolg heeft. Omdat via deze anaerobe methode door uitschakeling van opnameprocessen de N-immobilisatie vrijwel wordt uitgesloten, wordt de N-mineralisatie zuiverder gemeten. Deze methode beschouwen wij daarom als een benadering van de bruto N-mineralisatie.

- N-immobilisatie.
- Het verschil tussen netto- en bruto N-mineralisatie (gestandaardiseerd naar dezelfde temperatuur) kan worden beschouwd als een kwantitatieve maat voor de N-immobilisatie. Ook de verhouding N-min/Min-N wordt door ons beschouwd als een indicator voor de N-immobilisatie door bodemactiviteit: naarmate de verhouding lager is, zal er een sterkere N-immobilisatie door micro-organismen plaatsvinden.
- C-mineralisatie (via CO₂-verlies).
- C-mineralisatie (via O₂-consumptie).
- Protozoa.
- Bepaling van de massa protozoa is moeilijk en kostbaar. Wij hebben een indirecte methode toegepast om de N-voorraad die in protozoa ligt opgeslagen te benaderen. Omdat bij N-immobilisatie protozoa een belangrijke schakel vormen en nematoden en mijten verwaarloosbare massa blijken te hebben, is het verschil tussen bruto en netto N-mineralisatie als een proxy voor de protozoa massa beschouwd. De N-voorraad in protozoa is gebaseerd op het verschil tussen N-min en Min-N tijdens de labincubatie, gestandaardiseerd naar 20 °C.

2.3.3 Micro- en mesofauna

Micro- en mesofauna werden bepaald via telling van het aantal individuen per groep van organismen:

- Nematoden: aantallen vertaald naar massa per 100g grond en per m².
 - o Uitgesplitst naar functionele groep (fungi-, bacteriën, carni-, omni-, herbivoor).
- Mijten: aantallen vertaald naar massa per 100g grond en per m².
 - o Uitgesplitst naar functionele groep (browsers, grazers, fungi-, bacteriën, omnivoor, predator).
- Potwormen: aantallen vertaald naar massa per 100 g grond en per m².
- Regenwormen: aantallen en biomassa per m².

2.3.4 N-mineralisatie en -immobilisatie

De mineralisatie- en immobilisatieconstanten zijn berekend op basis van labincubaties onder gestandaardiseerde omstandigheden (mgN.kg⁻¹ droge grond). De mineralisatiesnelheid werd uitgedrukt in mgN.mgN⁻¹.wk⁻¹ en gestandaardiseerd naar een temperatuur van 20 °C . De invloed van temperatuur op de mineralisatieconstante is naar veldomstandigheden vertaald met het Q10-effect. Voor stuifzandbossen is een Q10 aangehouden van 1.25, voor dekzand en praeglaciaal een Q10=1.5 en voor kalkgrond een Q10=2. De jaarlijkse N-mineralisatie en -immobilisatiestroom (gN.m².jr⁻¹) is gekwantificeerd door de maandelijkse fluxen te sommeren. De maandelijkse flux werd berekend door de mineralisatieconstanten met de Q10-regel te corrigeren voor de maandgemiddelde bodemtemperatuur op 5 cm-mv. De bodemtemperatuur werd berekend met een warmte transportmodel en afgeleid van de luchttemperatuur (Feddes, 1971). Daarbij werd verondersteld dat de jaargemiddelde luchttemperatuur 10 °C is en schommelt tussen 0 en 20 °C.

Ook de activiteitsparameters zijn gekwantificeerd. Omdat het hierbij gaat om de activiteit per oppervlakte-eenheid per bodemlaag van 10 cm kunnen we hier spreken van fluxen per volume-eenheid. In wezen komt dit er op neer dat de variabelen niet op gewichtsbasis van de grond worden berekend maar op volumebasis.

2.3.5 Voorraden

Door de dikten van de ectorganische en endorganische laag en de bulkdichtheid van de monsters in beschouwing te nemen, zijn hoeveelheden van een variabele per m² ectorganische (L+F) of endorganische (0-10 cm) horizont berekend. De ectorganische en endorganische horizont zijn vervolgens weer gesommeerd. De verschillende bodemfauna parameters werden zoveel mogelijk onder dezelfde noemer gebracht (aantallen, C- en N-massa per m² incl. strooisellaag tot 10 cm-mv). Aantallen organismen werden omgezet in drooggewicht, C-massa en N-massa op basis van literatuur (Didden et al., 1994).

2.3.6 Statistiek

Gemiddelden en standaardafwijkingen werden berekend met het programma Excel. Regressieonderzoek werd uitgevoerd met het statistische pakket Genstat (Payne et al., 2000). Data werden daarbij lognormaal getransformeerd. Via Stepwise forward selection (Genstat) is gezocht naar de beste enkelvoudige of meervoudige regressiemodellen om verbanden te vinden tussen de C- en N-mineralisatie en bodemorganismen.

2.3.7 Laboratoriumexperiment

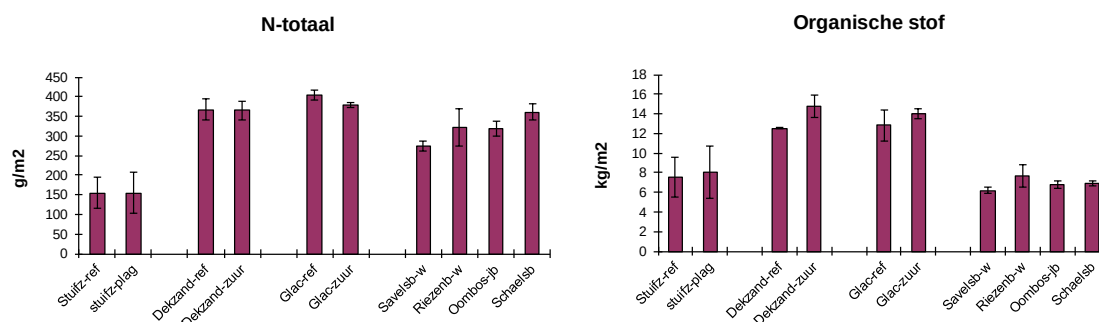
De opzet van en werkwijze bij het laboratorium experiment wordt afzonderlijk in hoofdstuk 4 beschreven.

3 Resultaten

3.1 Voorraden en fluxen

3.1.1 Voorraden organische stof en stikstof in de bodem

Bossen op stuifzand, dekzand, praeglaciale zand en kalkgrond zijn vergeleken op basis van voorraden N-totaal tot 10 cm-mv (al dan niet inclusief een ectorganische horizont). De voorraden zijn gebaseerd op gemiddelden per boscategorie. De N-totaal voorraad is in stuifzandbossen duidelijk lager dan in de overige bosesystemen (figuur 1). Opvallend is dat er weinig verschillen zijn tussen N-voorraden in bossen op dekzanden, gestuwd praeglaciaal en kalkhoudende gronden. De grootste N-voorraden lijken in praeglaciale zandgronden voor te komen. De voorraad organische stof is in de jonge stuifzandbossen lager dan in de oude bossen op dekzand en gestuwd praeglaciaal. In de bossen op kalkgrond is de voorraad onverwacht laag, mogelijk omdat door de hoge pH de decompositie van organische stof hoog is. Er zijn weinig verschillen binnen de 'behandelingen' van een bosesysteem.

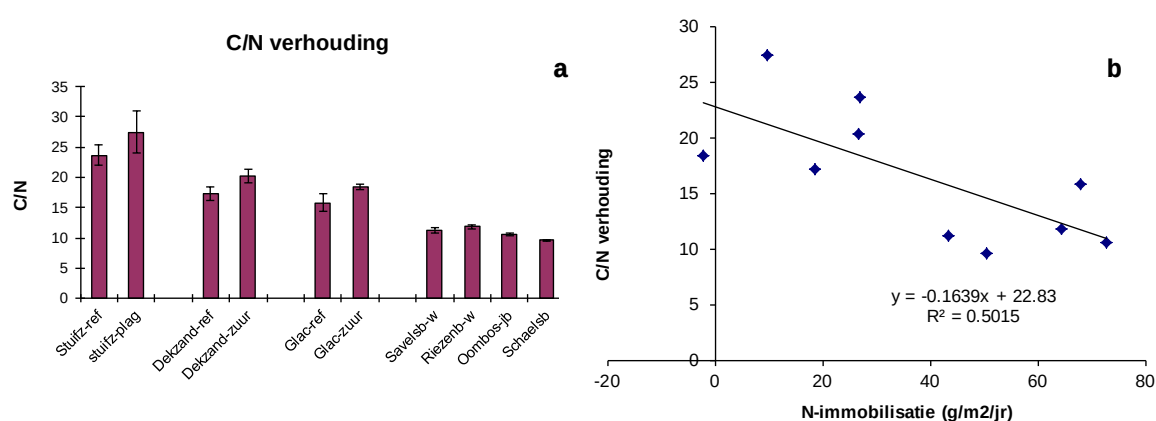


Figuur 1

Voorraden N-totaal en organische stof tot 10 cm-mv (incl. ectorganische laag) in de onderzochte bosesystemen.

C/N verhouding

Er is een duidelijke afname in de C/N-verhouding van arme naar rijke bossen (figuur 2a). In de rijke bossen is de organische stof rijker aan stikstof. Deze trend gaat samen met een toename van de N-immobilisatie (figuur 2b).



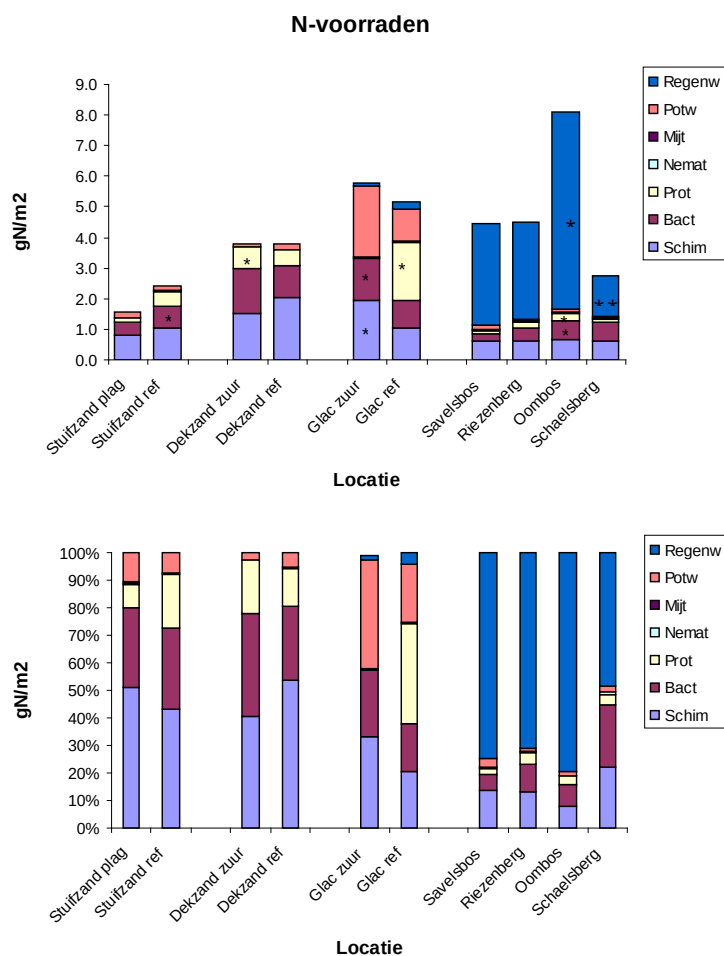
Figuur 2

De C/N-verhouding van de bodem tot 10 cm-mv van de onderzochte bosccosystemen (a) en in relatie tot de N-immobilisatie (b).

3.1.2 N-voorraden in bodemorganismen

Van de verschillende bosccosystemen zijn kwantitatieve inventarisaties gemaakt van de bodemfauna volgens methoden zoals in hoofdstuk 2 beschreven: bossen op stuifzanden, dekzanden, praeglaciale zanden en kalkgronden in Limburg. Deze bosccosystemen vertegenwoordigen een reeks van arm naar rijk. De totale N-voorraad die in het bodemleven van de bosccosystemen ligt opgeslagen (figuur 3) varieert van ca. 20 kg.ha⁻¹ha in stuifzandgebieden, via 40 kg in dekzandgebieden, ca. 50 kg in praeglaciale zanden tot gemiddeld 60 kg in hellingbossen met ondiep kalk in de ondergrond. De spreiding in de hellingbossen op kalkgrond is groot, wat mogelijk samenhangt met de verschillende vormen van beheer (wel/geen hakhoutbeheer).

Tussen de bosccosystemen zijn opvallende verschillen aanwezig in de verhoudingen in N-voorraad van de verschillende groepen organismen. Van arm naar rijk neemt van het totaal het N-aandeel dat in microben (schimmels, bacteriën, protozoa) is vastgelegd af. Microben vertegenwoordigen de laagste trofische niveaus. In dezelfde richting neemt het aandeel van de hogere trofische niveaus (mesofauna) juist toe. In de bossen op praeglaciale gronden vormen potwormen de belangrijkste mesofauna component, terwijl regenwormen vrijwel ontbreken. In de hellingbossen zijn juist regenwormen dominant aanwezig, terwijl potwormen vrijwel ontbreken. Het aandeel stikstof dat in schimmels en bacteriën ligt opgeslagen neemt af naarmate de gronden rijker worden. De verhouding tussen schimmels en bacteriën onderling is over de gehele range bij benadering 1:1. De bijdrage van microfauna (nematoden en mijten) is over de gehele range verwaarloosbaar.

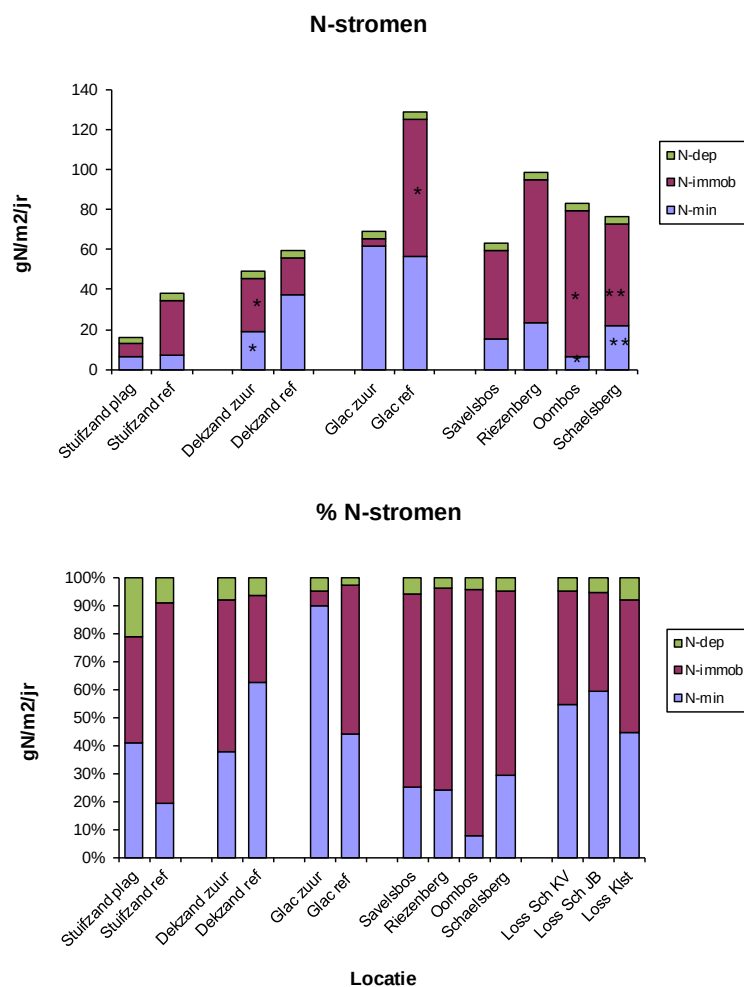


Figuur 3

Stikstofvoorraden in verschillende groepen bodemorganismen in de onderzochte boscossystemen. Een * geeft aan of er een significant verschil ($T_{\text{prob}} < 0.05$) is in de voorraad van een specifieke groep organismen tussen een vlak en de referentie.

3.1.3 N-fluxen

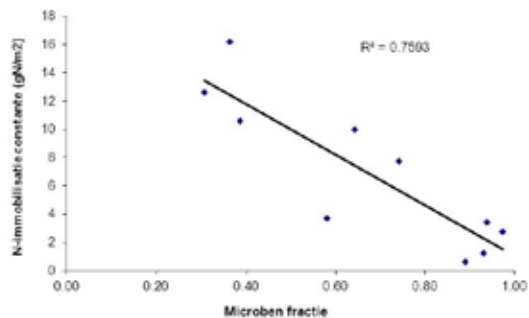
In figuur 4 zijn de N-mineralisatie en -immobilisatie fluxen weergegeven die door de bodemorganismen in de verschillende boscossystemen worden gegenereerd in de bodemlaag tot 10 cm-mv. Tevens is voor de betreffende boscossystemen de gemiddelde N-depositie, gebaseerd op provinciale gemiddelden voor 2007 (bron: RIVM) in de figuur opgenomen. De totale N-flux (bruto mineralisatie i.e. mineralisatie plus immobilisatie) neemt toe van bossen op stuifzand naar die op praeglaciaal zand. In de referentievlakken van de bossen op praeglaciaal zand zijn de N-fluxen het hoogst. Opvallend is dat deze toename in de richting van bossen op kalkgrond niet doorzet, wat wel verwacht werd. In de kalkrijke bossen treedt de grootste N-immobilisatie op, terwijl de mineralisatie relatief gering is en in orde van grootte overeenkomt met die in bossen op dekzand. Het aandeel stikstof dat via depositie het systeem binnenkomt, varieert van 20% bij de geplagde stuifzanden tot minder dan 5% bij de kalkrijke gronden.



Figuur 4

Gemiddelde jaarlijkse netto N-mineralisatie, N-immobilisatie en N-depositie in de bodem tot 10 cm-mv van de onderzochte bosecosystemen. Een * geeft aan of er een significant verschil ($T_{prob} < 0.05$) is in de voorraad van een specifieke groep organismen tussen een vlak en de referentie.

Het blijkt dat de N-immobilisatieconstante toeneemt, naarmate het aandeel microben (bacteriën + schimmels + protozoa) in de totale bodemfauna afneemt (figuur 5). Dit wijst erop dat er meer stikstof door het bodemleven kan worden vastgehouden naarmate hogere trofische niveaus sterker zijn vertegenwoordigd in het bodemvoedselweb.



Figuur 5

Verband tussen de fractie microben van de totale bodemfauna en de N-immobilisatieconstante.

3.1.4 Invloeden beheer

In elk van de bosesystemen zijn twee groepen met elkaar vergeleken (tabel 1). In stuifzandgebieden werden geplagde vlakken vergeleken met niet-geplagde referenties. In de dekzand- en praeglaciale gebieden werden verzuurde bosvakken vergeleken met niet-verzuurde referenties. In de bossen op kalkgrond werden referentievakken in een oud onbeheerd bos met een westexpositie (Savelsbos) vergeleken met 1^e generatie kapvlakten (Riezenberg) en met 3^e generatie kapvlakten met een westexpositie; 3^e generatie kapvlakten met westexpositie werden vergeleken met 3^e generatie kapvlakten met een zuidexpositie.

In de bossen op stuifzand komen significant groter N-voorraden in bacteriën voor in de referentievakken, dan in de geplagde vakken (zie figuur 2). In de referentievakken is de verhouding tussen schimmels en bacteriën significant groter dan in de geplagde vakken.

In de bossen op praeglaciaal zand komen in de referentievakken kleinere N-voorraden in schimmels en bacteriën, maar grotere N-voorraden in protozoa voor dan in de verzuurde vakken. Dit impliceert dat in de verzuurde vakken protozoa, als belangrijke N-immobiliseerders, zijn gereduceerd. In de verzuurde vakken is de verhouding tussen netto- en bruto mineralisatie significant groter dan in de referenties. Dit gaat samen met een significant lagere N-immobilisatie in de verzuurde vakken.

Tabel 1

Gemiddelde hoeveelheden N in bodemfaunagroepen, N-mineralisatie en -immobilisatie waarden en specifieke thymidine en leucine inbouwsnelheden van bossen op verschillende groeiplaatsen en significantie in verschillen tussen gemiddelden (T-prob <0,05). Een gele arcering geeft een significant verschil aan.

Locatie	Schim	Bact	Prot	Nem	Mijt	Potw	Regenw	Tot Fauna	Sch/Bact	Netto N-min	Bruto N-min	N-imm	Net/Brut	N-min	N-imm	Th/bactC	Leu/bactC
Behandeling	gN/m2 (0-15)								-	gN/m2.wk (0-15)			-	gN/m2/jr		pmol/m²	
	Gemiddelden																
Stuifzand plag	0.79	0.45	0.13	0.01	0.01	0.16	0.00	1.56	4.06	0.17	0.63	0.46	0.28	6.73	6.12	5310	2067081
Stuifzand ref	1.04	0.73	0.60	0.01	0.01	0.17	0.00	2.56	10.81	0.17	1.24	1.07	0.45	7.39	26.93	26208	1963481
Dekzand zuur	1.54	1.42	0.74	0.01	0.00	0.09	0.00	3.80	2.75	0.52	2.78	2.26	0.19	18.82	26.71	801531	21109844
Dekzand ref	2.05	1.02	0.51	0.02	0.00	0.20	0.00	3.81	4.98	1.03	3.46	2.43	0.29	37.25	18.56	791487	20261138
Glac zuur	1.92	1.41	-0.06	0.03	0.00	2.31	0.09	5.71	3.50	1.70	3.70	2.00	0.47	61.81	3.46	1148261	25323240
Glac ref	1.06	0.90	1.87	0.03	0.01	1.08	0.22	5.16	3.05	1.56	7.73	6.16	0.20	56.72	68.04	1043212	21776200
Savelsbos	0.62	0.24	0.14	0.03	0.00	0.20	4.45	5.68	7.28	0.70	10.58	9.88	0.07	15.70	43.49	48666	2640627
Riezenberg	0.60	0.44	0.26	0.03	0.01	0.06	4.29	5.68	6.50	0.76	12.61	11.85	0.06	23.72	71.36	99098	4447458
Oombos	0.65	0.63	0.32	0.02	0.01	0.12	8.61	10.37	3.18	0.32	16.21	15.90	0.02	6.33	72.74	171997	8005469
Schaelsberg	0.61	0.61	0.13	0.04	0.00	0.07	1.76	3.23	2.85	0.76	9.99	9.23	0.08	22.28	50.45	83809	4431931
	Tprob																
Stuifzand	0.09	0.02	0.09	0.34	0.29	0.46		0.05	0.04	0.47	0.12	0.12	0.09	0.29	0.07	0.16	0.41
Dekzand	0.07	0.10	0.01	0.12	0.47	0.25		0.50	0.02	0.05	0.13	0.30	0.01	0.05	0.01	0.47	0.26
Praeglaciaal	0.03	0.02	0.04	0.46	0.15	0.11	0.34	0.09	0.31	0.41	0.13	0.09	0.01	0.41	0.04	0.38	0.35
Sav-riez	0.43	0.17	0.10	0.40	0.26	0.06	0.47	0.49	0.44	0.27	0.18	0.18	0.38	0.15	0.09	0.08	0.08
Oom-schaels	0.36	0.48	0.01	0.00	0.00	0.06	0.01	0.02	0.42	0.00	0.04	0.04	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00
Sav-Oom	0.37	0.02	0.00	0.35	0.00	0.24	0.00	0.02	0.00	0.00	0.03	0.02	0.00	0.01	0.00	0.02	0.00

In de verzuurde dekzanden zijn meer protozoa aanwezig dan in de referentievakken. In de referentievakken is de netto N-mineralisatie significant hoger en de N-immobilisatie lager dan in de verzuurde vakken. In de referentie is de hoeveelheid schimmels significant groter dan in de verzuurde vakken. In de referentie is de verhouding tussen netto en bruto N-mineralisatie significant groter dan in de verzuurde vakken.

Tussen referentievakken van hellingbos (Savelsbos) en eerste generatie kapvlaktes (Riezenberg) met een westexpositie komen geen verschillen voor. Maar in een derde generatie kapvlakte (Oombos) komen significant grotere N-voorraden in bacteriën, protozoa, mijten en regenwormen voor dan in de referentie (Savelsbos). Dit gaat gepaard met een lagere N-mineralisatie maar een hogere N-immobilisatie in de derde generatie kapvlakten dan in de referentievakken. Hakhoutbeheer leidt blijkbaar tot een versterkte N-immobilisatie door bacteriën en protozoa.

In een derde generatie kapvlakte met een zuidexpositie (Schaelsberg) komen lagere N-voorraden in protozoa, mijten en regenwormen maar hogere N-voorraden in nematoden dan bij een westexpositie (Oombos). Dit laatste verschil gaat gepaard met een significant hogere N-mineralisatie maar lagere N-immobilisatie bij een zuidexpositie. Waarschijnlijk speelt een temperatureffect hierbij een rol.

3.1.5 Conclusies

Uit de vergelijking van bosecosystemen blijkt dat er duidelijke verschillen aanwezig zijn in N-voorraden, procesparameters (mineralisatie en immobilisatie) en in bodemfaunagroepen.

- Van de onderzochte standplaatsen blijkt de voorraad N-totaal in de bodemlaag tot 10 cm-mv. te variëren tussen 150 en 400 gN.m². In stuifzanden is de N-voorraad het laagst. Tussen dekzand, praeglaciaal zand en kalkgrond zijn de verschillen gering. In de C/N-verhouding is van stuifzanden, via dekzanden, praeglaciaal zand en kalkgrond een dalende trend aanwezig die samengaat met een toenemende N-immobilisatie.

- De hoeveelheid N die is vastgelegd in bodemfauna varieert tussen de ca. 1,5 en 8 gN.m⁻² en is een benadering van de hoeveelheid N die is geïmmobiliseerd in lichaamseiwit van de verschillende trofische niveaus.
- Van 'arme' naar 'rijke' bossen neemt het N-aandeel van de biomassa dat in microben (schimmels, bacteriën, protozoa) is vastgelegd af. In dezelfde richting neemt het aandeel dat in de biomassa van de hogere trofische niveaus (mesofauna) is vastgelegd juist toe.
- De netto N-mineralisatie (0-10 cm) varieert van 6 tot ca. 60 gN.m⁻².jr⁻¹. De N-immobilisatie varieert van ca. 3 tot 70 gN.m⁻².jr⁻¹. De verhouding tussen N-mineralisatie en -immobilisatie is sterk wisselend en o.a. gerelateerd aan de bodemzuurgraad.
- De bruto N-mineralisatie (gN.m⁻².jr⁻¹) neemt toe van bossen op stuifzand via die op dekzand naar die op praeglaciaal zand. Deze toename zet in de richting van bossen op kalkgrond niet door.
- In de kalkrijke bossen treedt de grootste N-immobilisatie op, terwijl de mineralisatie er relatief gering is en in orde van grootte overeenkomt met die in bossen op dekzand. De N-immobilisatie neemt toe naarmate het aandeel microben in de totale bodemfauna afneemt.
- De N-depositie bedraagt maximaal 20% van de bruto N-mineralisatie in de armste systemen tot minder dan 5% in de bossen op kalkgrond.
- Effecten van beheer of standplaatsfactoren binnen de boscossystemen zijn aanwezig maar geven geen eenduidig beeld. Verzuring lijkt op praeglaciale zanden te leiden tot een verschuiving in de stikstofbalans van N-immobilisatie naar N-mineralisatie. Op dekzanden kon dit effect niet worden vastgesteld. Plaggen van bosgrond op stuifzand leidt eveneens tot een verschuiving van immobilisatie naar mineralisatie. Hakhoutbeheer leidt juist tot een verschuiving van N-mineralisatie naar N-immobilisatie.

3.2 Regressieanalyse

Uit de vergelijking van de verschillende boscossystemen kwamen verschillen naar voren in de omvang van de N-mineralisatie en -immobilisatie en N-massa's in bodemfaunagroepen. Minder eenduidig waren de verschillen binnen boscossystemen in afhankelijkheid van standplaatsfactoren of beheersvormen. Via regressie analyse is onderzocht of er verbanden aanwezig zijn tussen bodemvariabelen, procesparameters en de aanwezigheid van bepaalde bodemfauna groepen. Twee belangrijke vragen daarbij waren of en in welke mate de verschillende trofische niveaus van bodemorganismen de C-mineralisatie, de N-mineralisatie en de N-immobilisatie beïnvloeden en of deze bodemorganismen afhankelijk zijn van bepaalde bodemcondities of beheersvormen.

3.2.1 N-mineralisatie- en -immobilisatiefluxen als functie van bodembiomassa's

Het databestand van alle bossystemen (stuifzanden, dekzanden, praeglaciale zanden, kalkgronden) is gebruikt om te onderzoeken of de N-mineralisatie en -immobilisatie verklaard kunnen worden door de aanwezige N-massa van bodemorganismen en zuurgraad. De N-mineralisatie en -immobilisatie werden berekend op jaarbasis (gN.m⁻².jr⁻¹). De verklarende variabelen werden gekwantificeerd door de N-voorraad in de biomassa van de bodemorganismen per m² (tot 10 cm-mv) te berekenen. In tweede instantie werden veel belovende modellen logaritmisches getransformeerd (tabel 2). In tabel 3 zijn de geparametriseerde modellen met de hoogste verklaarde variantie weergegeven.

Tabel 2

De mate van significantie (*F*prob) waarin de massa van verschillende bodemfaunagroepen bijdraagt aan de voorspelling van de netto N-mineralisatie, de N-immobilisatie en de verhouding daartussen. R^2 : de verklaarde variantie van responsvariabelen.

Model	Respons	R^2	Df	Fprob Predictorvariabelen (n=40)							
				Sch -N	Bact -N	Prot -N	Nemat -N	Mijt -N	Potw -N	Worm -N	pH
1	N-min	68.7	4			.000	.000		.000		
2	N-min	75.4	4				.000		.002		.000
3	N-imm	83.2	3			.000				.000	
4	N-imm	86.4	3			.000					.000
5	N-imm	92.8	4			.000				.000	.000
6	Nmin/MinN	60.9	3						.000	.001	
7	Nmin/MinN	66.6	4	.015					.000	.001	
8	Nmin/MinN	60.9	3						.000	.001	
9	Nmin/MinN	66.6	4	.015					.000	.001	
10	Nmin/MinN	76.8	5	.000		.000			.000		.000
Ln transformatie											
11	LnN-min	76.0	4	.000			.000				.005
12	LnN-imm	80.2	3			.000					.000
13	LnNmin/MinN	70.9	4	.000		.000				.000	

Uit tabel 2 blijkt dat de N-mineralisatie het best verklaard kan worden uit de N-voorraad in nematoden en in potwormen en de zuurgraad (model 2; $R^2=75.4$). Opmerkelijk is dat na logaritmische transformatie de N-mineralisatie het beste verklaard kan worden door een model (11) met schimmels, nematoden en pH. Dit suggereert dat potwormen en schimmels inwisselbare variabelen zijn. Omdat de N-mineralisatie door potwormen positief en door schimmels negatief beïnvloed wordt, zou er een interactie kunnen zijn tussen schimmels en potwormen. De N-mineralisatie wordt hoger naarmate de pH lager is, er meer nematoden maar minder schimmels (tabel 2; model 11) zijn.

De N-immobilisatie wordt het best verklaard door protozoa en regenwormen in combinatie met de pH (tabel 1; model 5). Na logtransformatie (model 12) vallen de wormen weg, mogelijk omdat er een sterke correlatie tussen pH en wormen bestaat. Naarmate er meer protozoa zijn en de pH hoger is, wordt de N-immobilisatie hoger.

De verhouding tussen netto en bruto N-mineralisatie (Nmin/MinN) wordt bepaald door schimmels, protozoa en potwormen of regenwormen (model 10 en 13). Naarmate er meer schimmels, protozoa en regenwormen zijn (model 13), neemt het aandeel van de netto N-mineralisatie in de bruto N-mineralisatie af, of te wel neemt de N-immobilisatie toe.

Mijten blijken in geen enkel model een bijdrage te leveren aan de verklaarde variantie.

Tabel 3

Geparametriseerde modellen waarmee de netto N-mineralisatie en N-immobilisatie het beste verklaard kunnen worden uit de N-massa van groepen bodemorganismen en de pH.

Model	Resp.	R ²	Df	Model
2	N-min	75.4	3	1394Nemat + 9.81Potw - 6.17pH + 17.1
5	N-imm	92.8	3	35.96Prot + 3.76Worm + 7.44pH -19.08
10	Nmin/MinN	76.8	4	0.157Pot - 0.16Prot - 0.27Sch -0.06pH + 0.84
Ln transformatie				
11	LnN-min	76.1	3	0.93LnNemat - 0.38LnSch - 0.17pH +6.96
12	LnN-imm	80.2	2	0.568LnProt + 0.37pH +2.37
13	LnNmin/MinN	70.9	3	-0.49LnSch - 0.31LnProt - 0.082LnWorm - 2.29

In tabel 3 valt op dat zowel N-mineralisatie als N-immobilisatie afhankelijk zijn van de zuurgraad. Een groot verschil is echter dat de N-mineralisatie negatief en de N-immobilisatie positief gecorreleerd is met de pH. Als de pH stijgt neemt de N-mineralisatie af, maar de N-immobilisatie toe.

3.2.2 Mineralisatie- en immobilisatieconstanten als functie van bodemactiviteit

Vervolgens is voor alle standplaatsen onderzocht of de C- en N-mineralisatie en -immobilisatieconstanten of verhoudingen daartussen afhankelijk zijn van de biomassa of activiteit van bodemorganismen. Daartoe werd nagegaan of er modellen zijn af te leiden waarmee de C-biomassa van de verschillende bodemorganismen de potentiële C- en N-mineralisatieconstanten of verhoudingen daartussen kunnen worden voorspeld (tabel 4). Hiertoe werden de potentiële mineralisatieconstanten omgerekend naar eenheid van oppervlak (m²) over een diepte van 10 cm en gerelateerd aan de C-biomassa (g.m⁻²) van de verschillende bodemorganismen. Ook werd de specifieke inbouwsnelheid van thymidine en leucine per m² {(pmol.µgC⁻¹) x (bactC.m⁻²) = pmol.m⁻²} meegenomen in de regressiemodellen. Indien zowel een ecto- als een endo-organische laag aanwezig was, werden de variabelen gesommeerd over het gehele profiel tot een diepte van 10 cm-mv.

Tabel 4

De mate van significantie (F_{prob}) waarin de activiteit of C-massa van verschillende bodemfaunagroepen bijdraagt aan de voorspelling van de C-mineralisatie, de netto N-mineralisatie, de N-immobilisatie en de verhouding daartussen. R²: de verklaarde variantie van responsvariabelen.

Model nr.	Adj R ²	Ln Respons variabele (g.m ⁻² .wk ⁻¹)	Df	F _{prob} Predictor variabelen (n=40)					
				Ln					
				Thym/Bact-C	Leuc/Bact-C	Nemat-C	Potworm-C	Prot-C	Regenworm-C
21	83.4	C-min	2	.000					
22	83.1	C-min	2		.000				
23	74.9	N-min	3	.000		.000			
24	71.9	N-min	3		.000	.000			
25	67.6	N-min	3			.000	.006		
26	61.7	N-imm	2						.000
27	74.1	N-imm	3					.001	.000
28	49.4	Cmin/MinN	3		.003	.000			
29	71.5	N _{min} /Min _N	2						.000
30	74.1	N _{min} /Min _N	3					.048	.000

In tabel 5 zijn de beste modellen uit tabel 4 geselecteerd en geparametriseerd.

Tabel 5

Geparametriseerde modellen waarmee de constanten van C-mineralisatie, de netto N-mineralisatie en N-immobilisatie het beste verklaard kunnen worden uit de bacteriële activiteit en de C-massa van groepen bodemorganismen.

Model nummer	Ln Respons variabele (g.m ⁻² .wk ⁻¹)	Model	R ²
21	C-min	0.596Ln(Thym/BactC) -5.763	82.4
23	N-min	0.293Ln(Thym/BactC) + 0.77LnNemat -2.297	75.6
27	N-imm	0.524LnProt + 0.295LnRegenw + 1.334	80.9
29	N _{min} /Min _N	-0.2087LnRegenw -2.272	72.1

De potentiële C-mineralisatieconstante (i.e. decompositie van organische stof) kan voor meer dan 80% worden verklaard uit de specifieke thymidine-inbouwsnelheid door bacteriën, wat een indicator is voor de delingsactiviteit van bacteriën. Naarmate de delingsactiviteit groter is wordt er meer CO₂ geproduceerd (model 21). De potentiële netto N-mineralisatieconstante kan voor driekwart worden verklaard uit de delingsactiviteit van de bacteriën en de biomassa van nematoden (model 23). Naarmate bacteriën actiever zijn en er meer nematoden zijn neemt de N-mineralisatie kennelijk toe. Interessant is dat bij de voorspelling van de N-mineralisatie flux (model 2, tabel 3) geen bijdrage van de N-massa van bacteriën werd gevonden, maar wel van nematoden. Een massa bacteriën (model 2) heeft blijkbaar een ander effect dan de mate waarin die bacteriën actief zijn (Thym/bactC). Bacteriële activiteit wordt gestimuleerd door vraat c.q. begrazing door een hoger trofisch niveau zoals protozoa of nematoden. Nematoden zetten de N afkomstig van bacteriën om in lichaamseiwit of scheiden N uit. Ondanks een grote bacteriële activiteit kan de bacteriële massa dus niet toenemen als deze continu wordt weggevreten door protozoa of (bacterivore) nematoden. Het uitscheidingsproduct van de nematoden wordt als minerale stikstof gemeten.

De potentiële N-immobilisatie constante (model 27) wordt grotendeels verklaard door protozoa en regenwormen die beiden een positief effect hebben op de N-immobilisatie. Model 27 is in overeenstemming met model 12. Model 29 laat zien dat de verhouding tussen netto- en bruto N-mineralisatie vooral wordt bepaald door regenwormen. Meer regenwormen leidt tot een onderdrukking van de netto N-mineralisatie. Ook hier lijkt het waarschijnlijk dat regenwormen vooral N vastleggen in lichaamseiwitten.

3.2.3 Bodemleven als functie van bodemcondities

Een volgende vraag is in hoeverre de N-massa van bepaalde groepen bodemorganismen kan worden verklaard uit bodemcondities. In tabel 6 zijn de modellen geselecteerd waarin bodemcondities (pH, Organische stof en C/N) een verklaring geven voor micro-organismen of mesofauna.

Tabel 6

Selectie van de beste modellen ter verklaring bodemleven uit bodemchemische of -fysische variabelen.

Model nr.	Adj R ²	Ln Respons variabele (gN.m ⁻²)	Df	T _{prob} Predictor variabelen (n=40)		
				Ln		
				pH	Org. stof	C/N
1	60.29	Schimmels	3	.000	.001	
2	33.57	Bacterien	3	.000		.012
3	31.25	Protozoa	2		.000	
4	47.56	Nematoden	3		.038	.000
5	41.84	Mijten	3	.008	.000	
6	50.16	Potwormen	2		.000	
7	82.97	Regenwormen	2	.000		

Voor bacterien, protozoa en mijten zijn slechts modellen met een onbevredigend lage verklaarde variantie af te leiden. De N-massa's van de andere bodemorganismen blijken maar in redelijke mate te kunnen worden verklaard uit de bodemcondities. Schimmels zijn negatief gecorreleerd met de pH (tabel 7), maar positief met het organische stofgehalte. Nematoden en potwormen zijn positief gecorreleerd met pH en het organisch stofgehalte. Regenwormen vertegenwoordigen de enige groep met een hoge verklaarde variantie en zijn positief gecorreleerd met de zuurgraad.

Tabel 7

Geparametriseerde modellen waarmee de N-massa van schimmels, nematoden, potwormen en regenwormen het beste verklaard kunnen worden uit bodemcondities.

Model nummer	Ln Respons variabele (g.m ⁻² .wk ⁻¹)	Model	R ²
1	Schimmels	-0.147pH + 0.31 Ln. Org stof -2.24	60.3
4	Nematoden	0.217pH + 0.41Ln Org stof -8.7	47.6
6	Potworm	0.071pH + 2.32Ln Org stof -23.4	49.1
7	Regenworm	1.93pH -16.57	83.0

3.2.4 Conclusies

- Zowel de N-mineralisatie als de N-immobilisatie zijn afhankelijk van de zuurgraad.
- De N-mineralisatie neemt toe naarmate de pH lager en de bacteriële activiteit groter is en er meer nematoden zijn, maar wordt door schimmels negatief beïnvloed.
- De N-immobilisatie neemt toe naarmate de pH hoger is en er meer protozoa en regenwormen zijn.
- Naarmate meer regenwormen aanwezig zijn verschuift de verhouding tussen netto- en bruto N-mineralisatie in het voordeel van de bruto N-mineralisatie.
- Alleen de hoeveelheid schimmels en regenwormen lijken afhankelijk te zijn van bodemcondities. Naarmate het organische stofgehalte hoger is en de bodem zuurder neemt de hoeveelheid schimmels in de bodem toe. De hoeveelheid regenwormen neemt juist af naarmate de bodem zuurder is.
- Nematoden en potwormen zijn wel significant positief gecorreleerd maar hun verklaarde variantie is gering.

4 Effecten van kalkgift en introductie van bodemleven

Uit veldonderzoek is gebleken dat de zuurgraad een belangrijke invloed op de samenstelling en activiteit van het bodemleven heeft. Verzuring zou daarom tot een verandering in de activiteit van het bodemleven kunnen hebben geleid. Uit het veldonderzoek zijn aanwijzingen verkregen dat verzuring heeft geleid tot een verminderde stikstofbehoefte van het bodemleven waardoor een verhoogde N-beschikbaarheid voor plantengroei is ontstaan. Herstel van deze verstoorde N-balans is wellicht mogelijk via manipulatie van het bodemleven. In dit hoofdstuk worden de resultaten gepresenteerd van een experiment waarin het effect van de introductie van regenwormen en bladstrooisel op de C- en N-mineralisatie van bekalkte grond werd onderzocht. Doel van het experiment was inzicht te krijgen in de effecten van introductie van mesofauna en bekalking op de N-huishouding van een bodem.

4.1 Rationale

De achterliggende hypothese bij dit experiment is dat herstelmaatregelen ter bestrijding van effecten van verzuring op de ondergroei in bossen zich niet zouden moeten beperken tot verbetering van de abiotische condities, maar zich ook zouden moeten richten op herstel van bodemleven. Vooruitlopend op een eventueel veldexperiment werd een verkennend laboratoriumexperiment opgezet.

Als pilot werd gekozen voor het experimenteel nabootsen van herstelmaatregelen in verzuurde bossen op praeglaciaal zand (stuwwallen). In de opzet van het experiment is zoveel mogelijk aangesloten bij de praktijk. Impliciete veronderstelling was dat een referentieopstand in bos bodembologisch optimaal functioneert. Omdat in een referentieopstand geen herstelmaatregelen nodig zijn, werden in het experiment daarom ook geen behandelingen met een referentiegrond opgenomen. Ook in een reële veldsituatie zouden immers alleen in een verzuurd bosvak herstelmaatregelen worden uitgevoerd.

In de praktijk van verzuringsbestrijding wordt op twee fronten ingezet: plaggen en/of bekalken. Plaggen komt neer op het verwijderen van de L/F- en h-horizont. Daarom werd in alle potten alleen endorganisch (strooiselvrij: minus L/F- en H-horizont) bodemmateriaal aangebracht in combinatie met een kalkgift. Omdat het bodemleven zou zijn aangetast door verzuring, moeten de condities op orde zijn voordat bodemleven wordt gereïntroduceerd. Daarom werd geen behandeling gekozen van een combinatie waarbij bodemleven wordt geïntroduceerd zonder kalkgift.

Na plaggen en bekalken zal in de praktijk of een spontane verjonging (vooral berkenopslag) optreden of een bewuste boomkeuze via aanplant worden gerealiseerd. Linde staat daarbij als boomsoort sterk in de belangstelling vanwege het gunstige effect van zijn bladstrooisel op de basenhuishouding van de bodem (Hommel et al., 2010). In het experiment hebben wij dit gesimuleerd door geschoond lindeblad of berkenblad aan te brengen in de potten.

4.2 Werkwijze

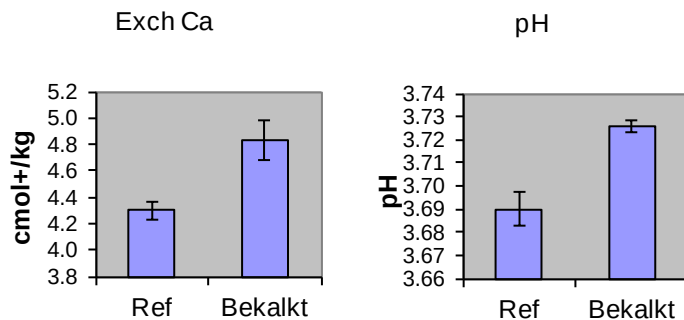
Voor het laboratoriumexperiment werd in de verzuurde opstanden bij Doorwerth bodemmateriaal (Ah-horizont) verzameld. Na bekalking werd ca. 500g grond over 24 potten verdeeld en drie weken met rust gelaten. In week 4 werd de C- en N-mineralisatie in de uitgangssituatie bepaald waarna 15 gram bladstrooisel aan elke pot werd toegevoegd. De incubatie met wormen werd tien weken volgehouden, waarna opnieuw C- en N-

mineralisatie metingen werden verricht. Grond uit de referentieopstand werd na verzameling niet bekalkt en verdeeld over vijf potten om als referentie te kunnen gebruiken. Alle verzuurde monsters met een kalkgift (n=24) werden vergeleken met de niet-bekalkte referenties (n=5). Aan de ene helft (n=12) van de met kalk behandelde potten werd lindenblad toegevoegd en aan de andere helft berkenblad. Aan beide bladbehandelingen werden in week 6 vervolgens geen, drie exemplaren *Lumbricus rubellus* en meerdere soorten regenwormen toegevoegd (complete set: 1 ex. *Allolobophora chlorotica*, 1 ex. *A. caliginosa*, 1 ex. *A. longa* en 1 ex. *L. rubellus*) (n=4) toegevoegd (steeds ca. drie gram wormen per pot).

4.3 Resultaten

4.3.1 Effect bekalken op zuurgraad

Bekalking van de verzuurde grond leidde tot een beperkte maar significante verhoging van de pH en het uitwisselbaar Ca in vergelijking met de grond van de referentieopstand (figuur 6).



Figuur 6

Effect van bekalking (n=24) op het gehalte uitwisselbaar Ca (Exch Ca) en de pH in vergelijking met waarden in referentieopstanden (n=5).

4.3.2 Effecten van kalkgift op bodemleven (in combinatie met strooiseltoevoeging)

Van de bekalkte potten werden de verschillende behandelingen (berken- versus lindeblad; met of zonder wormen) vergeleken met de referentiepoten zonder kalkbehandeling.

Een kalkgift leidde tot:

- een toename van de schimmelbiomassa (figuur 7);
- een gering effect op bacteriële activiteit: alleen onder invloed van *L. rubellus* en toevoeging van lindeblad (figuur 8) werd een versterkte Leucine-inbouw vastgesteld;
- een lagere netto en bruto N-mineralisatie (figuur 9);
- een sterkere afname van de bruto N-mineralisatie dan de netto N-mineralisatie waardoor een daling van de N-immobilisatie (Min-N minus N-min) optrad (figuur 10);
- een lagere C-mineralisatie per eenheid microbieel C bij linde en bij berken alleen in combinatie met een volledige set wormen (figuur 11).

4.3.3 Effecten van bladsoort op bodemleven

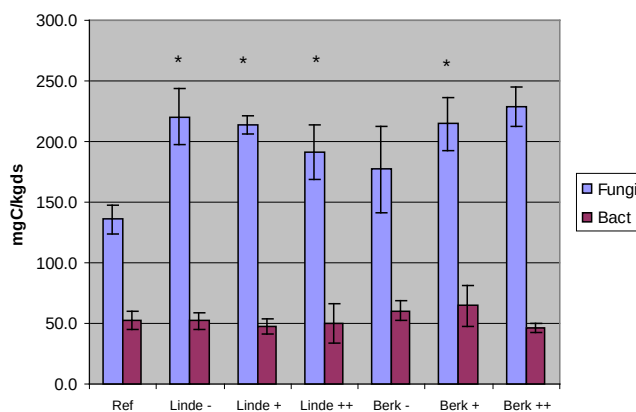
De bladeffecten werden vastgesteld door potten te vergelijken met een verschillende bladbehandeling maar met eenzelfde wormbehandeling:

- lindenblad is zwak significant rijker aan N dan berkenblad;
- er konden geen bladeffecten worden aangetoond; als er al bladeffecten konden worden aangetoond bleek dat in combinatie met wormen: alleen in combinatie met lindenblad hadden wormen effect op de leucine inbouwsnelheid (figuur 8) en de C-mineralisatie (figuur 12).

4.3.4 Effecten van wormen op N-mineralisatie en -immobilisatie

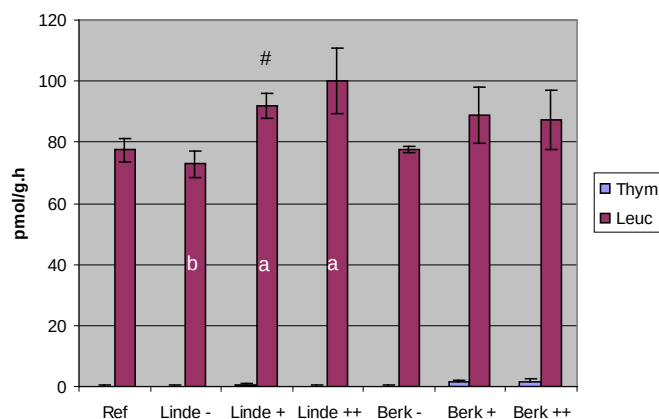
Zowel voor de linden- als de berkenserie werd het effect van geen (-), één (+) en meerdere (++) wormensoorten getoetst op significantie in verschillen:

- introductie van wormen leidt tot versterking van leucine-inbouw door bacteriën, hoewel voor berken dit verschil niet significant kon worden aangetoond. Uit figuur 8 kan worden afgeleid dat introductie van alleen blad niet tot een versterkte bacteriële activiteit leidt, maar wel in combinatie met wormen;
- introductie van wormen leidt tot versterking van de netto N-mineralisatie (figuur 9);
- alleen bij lindenblad leidt introductie van wormen tot een versterking van de C-mineralisatie per eenheid droge stof (figuur 12).



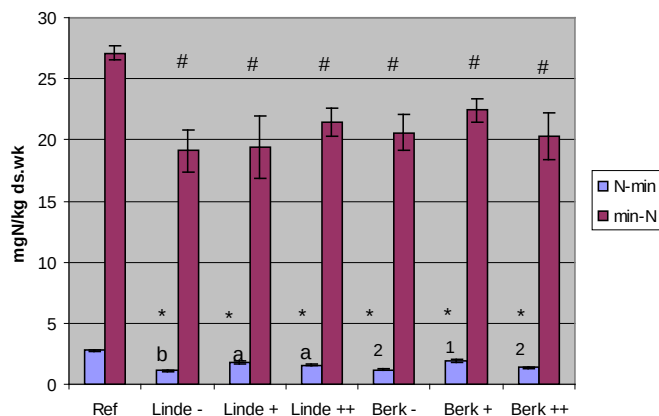
Figuur 7

Effecten van kalkgift op de massa bacterieel en schimmel C na incubatie van potten met linden- en berkenblad zonder (-), met één soort regenworm (+) en met meerdere soorten regenwormen (++). Een * geeft een significant verschil met de niet-bekalkte referentie.



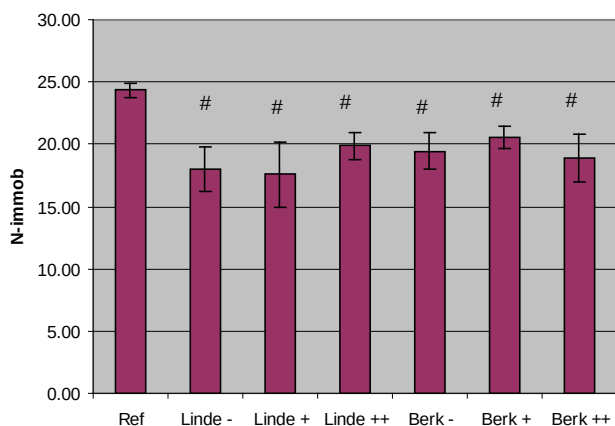
Figuur 8

Effecten van kalkgift op Thymidine- en Leucine-inbouw na incubatie van potten met linden- en berkenblad zonder (-), met één soort regenworm (+) en met meerdere soorten regenwormen (++). Een # geeft een significant verschil met de niet-bekalkte referentie. Een letter- of cijfercode geeft aan of er een significant wormen-effect is bij linden- of berkenblad.



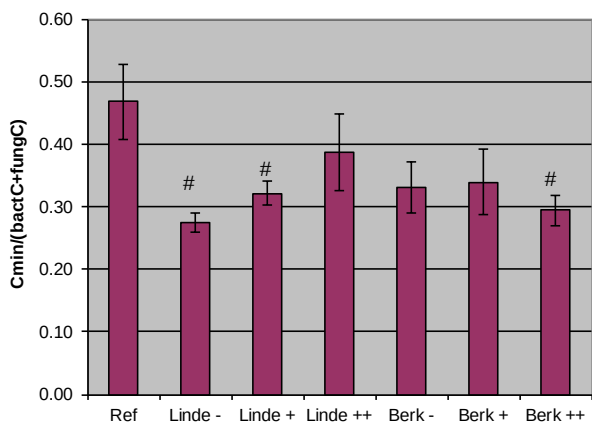
Figuur 9

Effecten van kalkgift op netto- (N-min) en bruto N-mineralisatie (min-N) inbouw na incubatie van potten met linden- en berkenblad zonder (-), met één soort regenworm (+) en met meerdere soorten regenwormen (++). Een # of * geeft een significant verschil met de niet-bekalkte referentie. Een letter- of cijfercode geeft aan of er een significant wormen-effect is bij linden- of berkenblad.



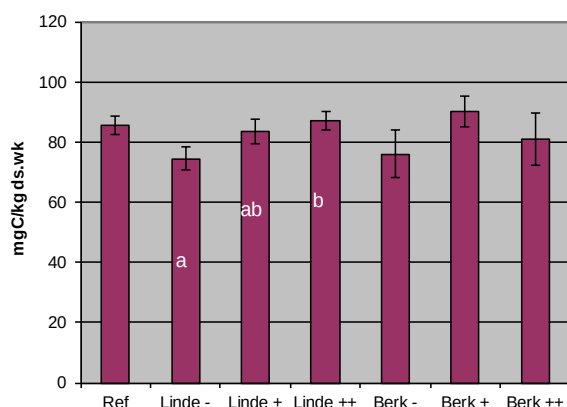
Figuur 10

Effecten van kalkgift op de N-immobilisatie na incubatie van potten met linden- en berkenblad zonder (-), met één soort regenworm (+) en met meerdere soorten regenwormen (++). Een # geeft een significant verschil met de niet bekalkte referentie.



Figuur 11

Effecten van kalkgift op de C-mineralisatie per eenheid microbieel C na incubatie van potten met linden- en berkenblad zonder (-), met één soort regenworm (+) en met meerdere soorten regenwormen (++). Een # geeft een significant verschil met de niet bekalkte referentie.



Figuur 12

Effecten van kalkgift op de C-mineralisatie na incubatie van potten met linden- en berkenblad zonder (-), met één soort regenworm (+) en met meerdere soorten regenwormen (++). Een # geeft een significant verschil met de niet bekalkte referentie. Een letter- of cijfercode geeft aan of er een significant wormeneffect is bij linden- of berkenblad.

4.3.5 Discussie en conclusies

Discussie

Verrassend is dat een kalkgift, ongeacht de aanwezigheid van wormen, tot een lagere netto- en bruto N-mineralisatie en -immobilisatie leidt in grond die een strooiselgift heeft ontvangen. De bruto N-mineralisatie neemt daarbij veel sterker af dan de netto N-mineralisatie, waardoor ook de N-immobilisatie afneemt. Er is alleen enig effect van bekalking op bacteriële activiteit (leucine) of biomassa als tevens wormen worden toegediend. Bekalking leidt wel tot een toename van de schimmelbiomassa (g C). Blijkbaar profiteren vooral schimmels van een kalkgift.

Onder invloed van een kalkgift wordt ook de C-mineralisatie per eenheid microbieel C lager.

Indien ook wormen worden geïntroduceerd bij een kalkgift zien we zowel bij berken- als bij lindenblad weer een toename van de C-mineralisatie en de netto N-mineralisatie, geen effect op de N-immobilisatie en een positief effect op bacteriële activiteit. Blijkbaar leidt kalkgift in combinatie met een strooiselgift en bodemorganismen tot enige toename van de netto N-mineralisatie. De toename van de N-immobilisatie kon niet significant worden vastgesteld, maar was in orde van grootte sterker dan de toename van de netto N-mineralisatie. Dit suggereert dat bekalking in combinatie met bodemleven weliswaar tot enige toename van de van de netto N-mineralisatie leidt, maar tot een nog sterkere N-vastlegging in bodembiomassa.

Conclusies

- Bekalking leidt tot een verlaging van de C-mineralisatie en de bruto en netto N-mineralisatie.
- Bekalking leidt tot een verhoging van de schimmelbiomassa.
- Bij bekalking tot pH <3.75 assimileren schimmels koolstof en stikstof.
- Bij bekalking tot pH <3.75 wordt bacteriële activiteit nauwelijks gestimuleerd.
- Bekalking in combinatie met introductie van wormen leidt alleen tot een toename van de C-mineralisatie en de netto N-mineralisatie in aanwezigheid van stikstofrijk strooisel (lindeblad).
- Bekalking in combinatie met bodemleven leidt tot een toename van de netto N-mineralisatie maar waarschijnlijk tot een nog sterkere toename van de N-immobilisatie.
- De resultaten van het labexperiment en het empirisch onderzoek geven voldoende argumenten om een veldproef te starten met perspectief op een gunstig effect van de maatregel 'bekalking in combinatie met de introductie van bodemleven' voor herstel van de verstoorde stikstofbalans van verzuurde bodems.

5 Synthese

5.1 Veldonderzoek- en labexperiment

Bekalking leidde in het labexperiment tot een versterking van de schimmelbiomassa. Dit lijkt tegenstrijdig te zijn met de resultaten van het veldonderzoek waar juist een toename van schimmelbiomassa bij zuurder wordende omstandigheden werd waargenomen. Wellicht een verklaring hiervoor is dat ondanks bekalking de pH in het experiment vrij laag bleef. Deze nog zure omstandigheden zijn mogelijk ook een verklaring voor het geringe effect van bekalking op de bacteriële activiteit. Bovendien ging het daarbij om metabole (leucine) activiteit en geen delingsactiviteit (thymidine). Mogelijk dat bacteriën door wormen in de bodem werden verspreid via inoculatie met 'uitwerpselen'.

Opvallend is dat zowel bij het veldonderzoek als het labexperiment een toename van de schimmelbiomassa leidde tot een afname van de netto N-mineralisatie. In het labexperiment bleek de afname van de netto N-mineralisatie door bekalking samen te gaan met een afname van de C-mineralisatie. Dit suggereert dat de schimmels geen CO₂ verademden maar juist assimileerden en ook de N immobiliseerden. Ook de Vries (2009) concludeerde uit onderzoek in graslanden dat schimmels een belangrijke rol spelen bij stikstof vastlegging. In ons veldonderzoek bleek de invloed van schimmels en potwormen op de N-mineralisatie inwisselbaar bij de regressieanalyse. Schimmels onderdrukten en potwormen stimuleerden de netto N-mineralisatie. Uit de combinatie van experiment en het veldonderzoek kan nu worden afgeleid dat schimmels inderdaad N-immobiliseren, maar dat de aanwezigheid van potwormen in het veldonderzoek leidt tot een versterkte N-mineralisatie, waarschijnlijk omdat potwormen schimmels begrazen en N-mineraal uitscheiden.

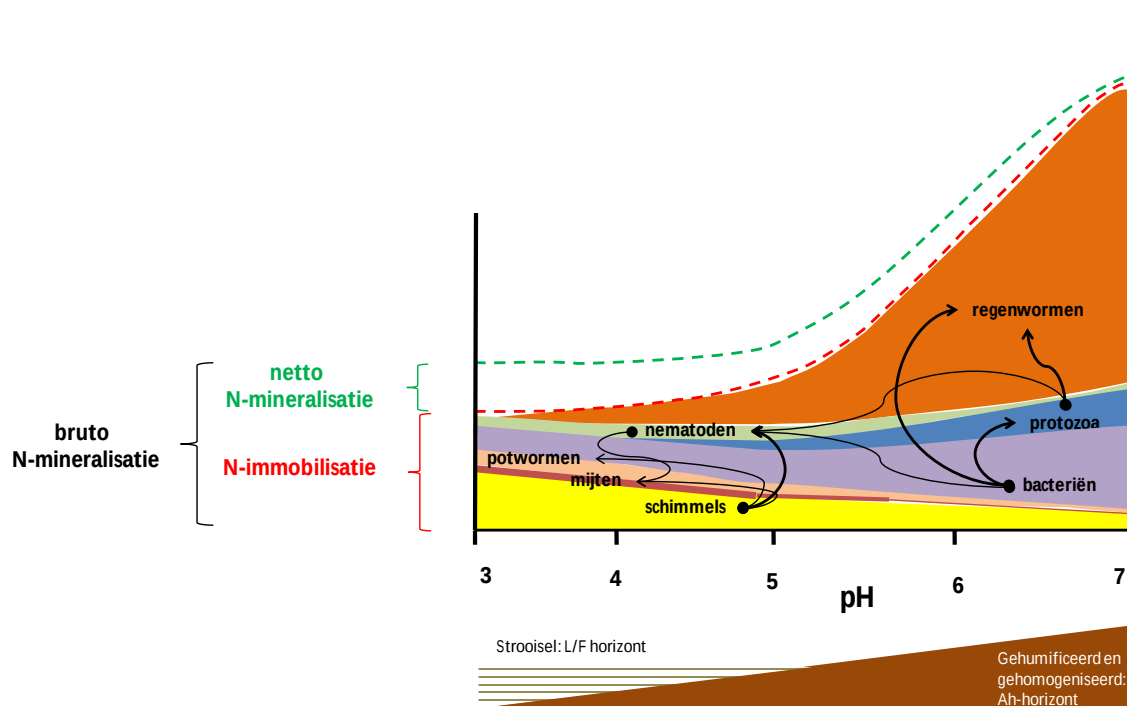
5.2 Een conceptueel model

De synthese van de onderzoeksresultaten is in figuur 13 verbeeld als een conceptueel model. Het aandeel van de verschillende groepen bodemorganismen in de N-voorraad is schematisch weergegeven. In de figuur zijn de trends verwerkt in de relatie tussen deze groepen en de zuurgraad, de N-mineralisatie en N-immobilisatie zoals die werd afgeleid uit het regressieonderzoek.

Onder zuurder wordende omstandigheden neemt de schimmelmassa toe en de hoeveelheid regenwormen juist af. Tegelijkertijd bleek dat onder zuurder worden omstandigheden de netto N-mineralisatie toeneemt en de N-immobilisatie afneemt. Hieruit kan worden afgeleid dat onder zuurder worden omstandigheden de balans tussen N-immobilisatie en netto N-mineralisatie lijkt te verschuiven in het voordeel van de laatste term. De netto N-mineralisatie blijkt positief beïnvloed te worden door de massa nematoden (en potwormen) en de delingsactiviteit van bacteriën, maar wordt weer onderdrukt door de toenemende massa schimmels. De N-immobilisatie is juist positief gecorreleerd met regenwormen en protozoa. Het blijkt dat bij een afname van de microbenfractie (massa van de schimmels, bacteriën en protozoa ten opzichte van de totale bodemfauna) de N-immobilisatie toeneemt (figuur 14). De N-immobilisatie moet dus vooral op het conto van de mesofauna (nematoden, potwormen, regenwormen) worden geschreven. Omdat nematoden en potwormen kwantitatief weinig bijdragen, vormen regenwormen het belangrijkste onderdeel van de mesofauna.

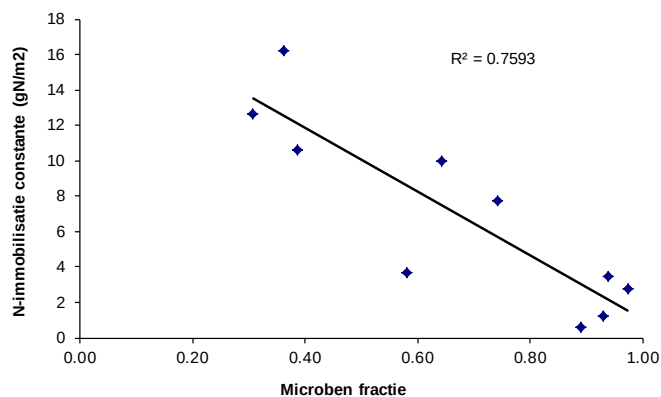
De verschuiving van N-immobilisatie naar N-mineralisatie door verzuring lijkt dus veroorzaakt te worden door een toenemende bacteriële activiteit en nematodenmassa en een afnemende invloed van regenwormen en protozoa. Nematoden stimuleren de bacteriële delingsactiviteit door begrazing waardoor de N-massa van deze mesofauna toeneemt, maar ook een versterkte uitscheiding van mineraal stikstof ontstaat, wat gemeten wordt als een toename van de netto N-mineralisatie. De negatieve invloed van de schimmelmassa op de mineralisatie lijkt erop te wijzen dat schimmels stikstof vastleggen (immobiliseren). De N-voorraad in schimmels kan weer

vrijkomen in de vorm van minerale stikstof via begrazing van schimmels door potwormen, nematoden of mijten.



Figuur 13

Schematische weergave van de N-voorraden in groepen bodemorganismen en de verschillende stikstofstromen in afhankelijkheid van de zuurgraad (pH). Verhoudingen zijn niet op schaal! De bruto N-mineralisatie verbeeldt de omvang van de stikstofstroom die door afbraakprocessen vrijkomt. De N-immobilisatie verbeeldt de stikstof die, na vrijgekomen te zijn, weer onmiddellijk door bodemorganismen op een hoger trofisch niveau in lichaamseiwitten wordt ingebouwd en vastgelegd. De netto N-mineralisatie verbeeldt de stikstofstroom die niet wordt vastgelegd door bodemorganismen en beschikbaar is voor de productie van droge stof van planten. De peilen verbeelden de belangrijkste N-stromen tussen bodemorganismen, die ontstaan door 'graasactiviteiten' in het bodemvoedselweb. De bron van alle omzettingen is strooisel. Naarmate de pH hoger is, wordt strooisel afgebroken en blijven verteerde uitscheidingsproducten als gehumificeerde stabiele organische stofverbindingen achter die o.a. door regenwormen met minerale delen vermengd worden tot een homogene Ah-horizont.



Figuur 14

Verband tussen de fractie microben van de totale bodemfauna en de N-immobilisatieconstante.

Er bleek een positief verband te zijn tussen de netto N-mineralisatie en de bacteriële delingsactiviteit maar niet met de bacteriële massa. Bovendien bleek de netto N-mineralisatie positief gecorreleerd met de hoeveelheid nematoden. Hieruit kan worden afgeleid dat bacteriën door nematoden via begrazing tot delingsactiviteit worden aangezet. Nematoden bouwen daarbij bacterieel stikstof in hun lichaamseiwitten in (N-immobilisatie), maar zullen een deel daarvan weer als minerale stikstof uitscheiden. Interessant is te constateren dat een toename van biomassa in potwormen en nematoden tot een versterkte netto N-mineralisatie leidt en een toename van biomassa in regenwormen tot een versterkte immobilisatie. Dit lijkt erop te wijzen dat in lagere trofische niveaus (potwormen, nematoden) de efficiency om stikstof vast te houden (immobiliseren) in lichaamseiwitten kleiner is dan in hogere trofische niveaus (regenwormen).

Onder zure omstandigheden breekt organische stof moeilijk af. Daardoor accumuleert moeilijk verteerbare (recalcitrante) organische stof in de vorm van een LF-horizont op het maaiveld. Tegelijkertijd zagen we dat onder zure omstandigheden en accumulatie van organische stof de schimmelmassa positief wordt beïnvloedt wat een negatief effect op de netto N-mineralisatie had. Potwormen bleken juist een positief effect te hebben op de netto N-mineralisatie. Dit suggereert een negatieve relatie tussen schimmels en potwormen. De positieve invloed van potwormen op de N-mineralisatie lijkt dus te verlopen via schimmels. Schimmels zijn bij uitstek in staat om de stikstof in de recalcitrante fractie organische stof te ontsluiten (Brady, 1974) en nemen de gemineraliseerde stikstof op voor eiwitsynthese. Stikstof wordt dus geïmmobiliseerd door schimmels. Potwormen grazen o.a. op schimmels en scheiden de in schimmels vastgelegde stikstof weer uit in de vorm van minerale stikstof. Meer schimmelmassa leidt tot N-immobilisatie, maar de geïmmobiliseerde stikstof kan door potwormen weer worden ontsloten via vraat en N-uitscheiding. Onder zure omstandigheden kan de N-mineralisatie dus alleen gestimuleerd worden door grazen of browsen via een hoger trofisch niveau, zoals potwormen of nematoden. Onder zure omstandigheden lijken er dus twee kanalen in het bodemvoedselweb te zijn voor N-transfer: i) via schimmels naar potwormen en ii) via bacteriën naar nematoden. In zure systemen lijken bacteriën en vooral schimmels in het bodemvoedselweb de belangrijkste N-sink te vormen. Deze micro-organismen vormen daardoor ook de belangrijkste N-bron voor grazers als nematoden en potwormen. Mijten lijken kwantitatief nauwelijks een rol te spelen. In zure systemen lijken potwormen en nematoden daarom de belangrijkste producenten van minerale stikstof. Als de N-mineralisatie moet worden onderdrukt zou de schimmelmassa moeten toenemen en de graasactiviteiten van potwormen (of nematoden) moeten afnemen. We hadden immers waargenomen dat schimmels C en N assimileren.

Naarmate omstandigheden minder zuur zijn neemt de schimmelinval af en wordt de decompositie en N-mineralisatie overgenomen door bacteriën. Bacteriën worden begraasd door nematoden of protozoa. Nematoden beïnvloeden de N-mineralisatie positief, terwijl protozoa juist de immobilisatie stimuleren. Bacteriën en protozoa worden door regenwormen geïnoculeerd in microhabitats van de bodem, waardoor zij zich uitbreiden en er meer stikstof in biomassa wordt vastgelegd. Onder basenrijkere omstandigheden lijkt de N-transfer dus te verlopen van bacteriën via protozoa naar wormen, waarbij regenwormen de belangrijkste N-sink vormen. Onder basenrijke omstandigheden is de behoefte aan N van het bodemleven zo sterk dat er nauwelijks minerale N beschikbaar is voor de plantengroei.

5.3 Herstelmaatregelen?

Bacteriële activiteit is op gang te helpen door de zuurgraad te verlagen (o.a. bekalking) in combinatie met toename van de graasdruk door bacterivore nematoden, protozoa, potwormen of regenwormen. In verzuurde systemen is vaak veel recalcitrante organische stof in de strooisellaag opgeslagen. Dergelijke organische stof kan alleen door specialistische organismen zoals schimmels worden ontsloten. Bacteriën zijn hiertoe niet in staat. Het is dus twijfelachtig of bacteriën na bekalking in staat zijn de recalcitrante organische stof af te breken en de strooisellaag te doorbreken en op te ruimen. Eerst zal de recalcitrante organische stof moeten worden verwijderd of schimmels moeten worden geïntroduceerd in afwezigheid van begrazers.

Regenwormen en in mindere mate potwormen bevorderen de verspreiding van bacteriën door inoculatie van de bodem via het maag-darm kanaal. Hiermee is in wezen de vraag beantwoord hoe de N-balans tussen bovengronds en ondergronds leven in de richting van het ondergronds leven verschoven kan worden: in van nature zure systemen strooiselverwijdering in combinatie met enige bekalking of introductie van schimmels. In van nature basenrijkere systemen bekalking in combinatie met activering van bacteriën door bacterivore mesofauna. Daarbij is er keuze uit nematoden, potwormen en regenwormen. Omdat het schimmel-potworm kanaal ter vergroting van de N-immobilisatie vooral in zuurdere systemen functioneert, lijkt het bacteriën-protozoa-regenwormen kanaal de meest voor de hand liggende keuze in basenrijkere systemen. Wellicht is uitbrengen van stalmest een optie om bodemactiviteit te stimuleren. Eerst zal hiermee echter experimentele ervaring moeten worden opgedaan.

Literatuur

Bloem, J., D.W. Hopkins en A. Benedetti (Eds.), 2005. *Microbiological methods for assessing soil quality*. CABI Publishing, Wallingford, UK.

Brady, N.C., 1974. *The nature and properties of soils*. 8th Edition. Macmillan Publishing co. New York, London.

Didden, W.A.M., J.C.Y. Marinissen, M.J. Vreeken-Buijs, S.L.G.E. Burgers, R. de Fluiter, M. Geurs en L. Brussaard. 1994. Soil meso- and macrofauna in two agricultural systems: factors affecting population dynamics and evaluation of their role in carbon and nitrogen dynamics. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 51: pp. 171-186.

Feddes, R.A., 1971. *Water, heat and crop growth*. Dissertation Agricultural University. Wageningen.

Hommel, P.W.F.M. (red.), R.J. Bijlsma, K.A.O. Eichhorn, R.H. Kemmers, J. den Ouden, J.H.J. Schaminée en R.W. de Waal. 2010. *Mogelijkheden voor herstelbeheer in hellingbossen op kalkrijke bodem in Zuid-Limburg. Resultaten eerste onderzoekfase*. Rapport DKI nr. 2010/dk140-O.

Kemmers, R., H. van Dobben, W. Wamelink en A. Jansen, 2007. *Effecten van het generieke milieubeleid op het terugdringen van de verzuring en op het herstel van natuurwaarden in multifunctionele bossen op arme zandgronden*. Wageningen, Alterra, Alterra-rapport 1531.

Kemmers, R.H., J. Bloem en J. Faber, 2009. *De betekenis van bodembiota voor stikstofstromen naar de vegetatie in schraalgraslanden*. Wageningen, Alterra, Alterra-Rapport 1799.

Kemmers, R., P. Brinkman, J. Bloem, J. Faber en W. van der Putten. 2011a. Is bodembiodiversiteit belangrijk voor natuurherstel? *De Levende Natuur* 112 (1): pp. 4-9.

Kemmers, R.H., S.P.J. van Delft, A.W. Boxman en M.T. Veerkamp, 2011b. Monitoring proefprojecten plaggen in naaldbos van de arme zandgronden; Eindrapportage 2011. OBN-rapport in druk.

Olsthoorn, A.F.M., C.A. van den Berg en J.J. de Gruyter, 2006. *Evaluatie van bemesting en bekalking in bossen en de ontwikkeling in onbehandelde bossen*. Wageningen. Alterra. Alterra-deelrapport A1.1.

Payne, R.W. (ed.). 2000. The guide to GenStat®; part 2: Statistics. VSN International Ltd. Oxford, UK.

Vries, F.T. de, 2009. Soil fungi and nitrogen cycling; causes and consequences of changing fungal biomass in grasslands. Ph. D Thesis. Wageningen University and Research center. Wageningen.

Effecten van verzuring op bodemleven en
stikstofstromen in bossen

Dit onderzoek is uitgevoerd binnen het kader van het Kennisbasisonderzoek
Projectcode [KB-14-002-012]

Effecten van verzuring op bodemleven en stikstofstromen in bossen

Verkenning van mogelijkheden voor herstelmaatregelen

R.H. Kemmers

Alterra-rapport 2004

Alterra, onderdeel van Wageningen UR
Wageningen, 2011

Referaat

R.H. Kemmers, 2011. *Effecten van verzuring op bodemleven en stikstofstromen; een verkenning van mogelijkheden voor herstelmaatregelen*. Wageningen, Alterra, Alterra-rapport 2204. 42 blz.; .14 fig.; 7 tab.; 12 ref.

Dit rapport geeft een samenvatting van de resultaten van de analyses van het bodemleven, de stikstofstromen en bodemcondities over een brede range van bosgronden. In dit rapport staat de vraag centraal of door verzuring de relatie tussen ondergrondse en bovengrondse biodiversiteit via de N-kringloop is beïnvloed. De conclusie is dat door verzuring de activiteit van (bacteriën) protozoa en regenwormen is afgenomen en die van schimmels, nematoden en potwormen is toegenomen. Hierdoor is een verschuiving opgetreden in de stikstofbalans van N-immobilisatie naar netto N-mineralisatie. Hiervan profiteren opportunistische soorten in de ondergroei door het extra N-aanbod om te zetten in biomassa waardoor kritischer soorten worden benadeeld. Herstelmaatregelen moeten gericht zijn op herstel van de N-balans tussen bovengronds en ondergronds leven in de richting van een grotere N-retentie door het bodemleven. Hierin kan via het beheer worden gestuurd.

Trefwoorden: bossen, bodembiodiversiteit, N-mineralisatie, N-immobilisatie, herstelmaatregelen natuur

ISSN 1566-7197

Dit rapport is gratis te downloaden van www.alterra.wur.nl (ga naar 'Alterra-rapporten'). Alterra Wageningen UR verstrekt geen gedrukte exemplaren van rapporten. Gedrukte exemplaren zijn verkrijgbaar via een externe leverancier. Kijk hiervoor op www.rapportbestellen.nl.

© 2011 Alterra (instituut binnen de rechtspersoon Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek)
Postbus 47; 6700 AA Wageningen; info.alterra@wur.nl

- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking van deze uitgave is toegestaan mits met duidelijke bronvermelding.
- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking is niet toegestaan voor commerciële doeleinden en/of geldelijk gewin.
- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking is niet toegestaan voor die gedeelten van deze uitgave waarvan duidelijk is dat de auteursrechten liggen bij derden en/of zijn voorbehouden.

Alterra aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Alterra-rapport 2204

Wageningen, juli 2011

Inhoud

Woord vooraf	7
Samenvatting	9
1 Inleiding	13
2 Methoden	15
2.1 Aanpak	15
2.2 Locatiekeuze	15
2.3 Analysemethoden	16
2.3.1 Bodemchemie	16
2.3.2 Microbiologie	16
2.3.3 Micro- en mesofauna	17
2.3.4 N-mineralisatie en -immobilisatie	17
2.3.5 Voorraden	18
2.3.6 Statistiek	18
2.3.7 Laboratoriumexperiment	18
3 Resultaten	19
3.1 Voorraden en fluxen	19
3.1.1 Voorraden organische stof en stikstof in de bodem	19
3.1.2 N-voorraden in bodemorganismen	20
3.1.3 N-fluxen	21
3.1.4 Invloeden beheer	23
3.1.5 Conclusies	24
3.2 Regressieanalyse	25
3.2.1 N-mineralisatie- en -immobilisatiefluxen als functie van bodembiomassa's	25
3.2.2 Mineralisatie- en immobilisatieconstanten als functie van bodemactiviteit	27
3.2.3 Bodemleven als functie van bodemcondities	28
3.2.4 Conclusies	29
4 Effecten van kalkgift en introductie van bodemleven	31
4.1 Rationale	31
4.2 Werkwijze	31
4.3 Resultaten	32
4.3.1 Effect bekalken op zuurgraad	32
4.3.2 Effecten van kalkgift op bodemleven (in combinatie met strooiseltoevoeging)	32
4.3.3 Effecten van bladsoort op bodemleven	33
4.3.4 Effecten van wormen op N-mineralisatie en -immobilisatie	33
4.3.5 Discussie en conclusies	35
5 Synthese	37
5.1 Veldonderzoek- en labexperiment	37
5.2 Een conceptueel model	37
5.3 Herstelmaatregelen?	39
Literatuur	41

Woord vooraf

Aan dit onderzoek is in de loop der jaren door veel mensen een bijdrage geleverd.

Jaap Bloem , Bas van Delft, Jack Faber, Ron de Goede, Patrick Hommel, Gerard Jagers op Akkerhuis, Jan den Oude en Rein de Waal hebben waardevolle bijdragen geleverd bij de opzet van het onderzoek en de interpretatie van de gegevens. Via discussies met hen ben ik ook iets vertrouwder gemaakt met bodembologisch onderzoek en beheer van bostypen. Ton Schouten van het RIVM zorgde als coördinator van het Bodembologisch Meetnet Nederland voor een financiële bijdrage in een deel van de analysekosten. Marieke de Lange stelde een deel van de data beschikbaar die zij bij het laboratoriumexperiment met wormen had verkregen.

Na bemiddeling van André Jansen verleenden de terreinbeheerders Theo Bakker, Theo Heufkens (beiden SBB), Etienne Thomassen (Bosgroep Zuid) toestemming voor de bemonstering van hun terreinen. Zij hebben met enthousiasme meegewerkt de juiste onderzoeksvlakken te selecteren.

Popko Bolhuis, Wim Dimmers, Annemariet van der Hout en Tamas Salanki hebben met grote zorg de bodemonsters in het veld verzameld, die zij naderhand hebben geïnventariseerd op bodemfauna. Meint Vellinga en An Vos hebben met grote zorg de microbiologische analyses uitgevoerd.

Allen ben ik zeer erkentelijk voor hun bijdrage.

Samenvatting

Probleem en vraagstelling

Herstelmaatregelen in bossen zoals bekalken, mineralen giften of plaggen, om effecten van verzuring te bestrijden, blijken niet altijd effectief te zijn. Doelsoorten van de ondergroei keren vaak niet terug. In 2005 werd in opdracht van de Unie Bosgroepen onderzoek gestart naar mogelijke alternatieve herstelmaatregelen. Daarbij werd uitgegaan van het vermoeden dat milieustress niet alleen hogere planten maar ook het bodemleven heeft beïnvloed en dat herstel van doelsoorten uitblijft door verstoorde relaties tussen bodemleven en vegetatie. Onderzocht werd of er effecten van verzuring op het bodemleven in bosgronden kon worden aangetoond en of effecten daarvan op de N-kringloop van boscossystemen zijn opgetreden.

Het onderzoek werd in een aantal jaarlijkse tranches uitgevoerd over een brede range van bodemtypen met multifunctioneel bos: zure voedselarme stuifzanden, matig zure iets voedselrijkere dekzanden, licht zure matig voedselrijke praeglaciale zanden (stuwwallen) en voedselrijke kalkgronden. Binnen elk bodemtype werd gezocht naar verzuurde terreinen en terreinen met een soortenrijke begroeiing die als niet verzuurde referentie werden beschouwd. In al deze bossen werd bodemchemisch en bodembologisch onderzoek uitgevoerd.

Dit rapport geeft een synopsis van de resultaten van de analyses van het bodemleven, de stikstofstromen en bodemcondities over de gehele range van bosgronden. Als hypothese werd gesteld dat er via de nutriëntenkringloop een relatie tussen ondergrondse en bovengrondse biodiversiteit bestaat en dat deze relatie wordt beïnvloed door milieustress (c.q. verzuring). De volgende onderzoeksvragen werden geformuleerd:

- Hoe beïnvloeden de verschillende trofische niveaus of functionele groepen van bodemorganismen de nutriëntenbeschikbaarheid voor de vegetatie (C- en N-mineralisatie, N-immobilisatie)?
- Hoe beïnvloeden verschillende groepen van bodemorganismen elkaar (bacteriën, schimmels, nematoden, mijten, potwormen, regenwormen)? Zijn er relaties tussen micro-organismen en resp. nematoden, potwormen, mijten etc.?
- Welke invloed heeft de zuurgraad op de aanwezigheid of activiteit van bodemorganismen?

Onderzoeklocaties

Voor praeglaciale zandgrond (stuwwallen) werden drie replica's met een Linde opstand (referenties) en drie verzuurde opstanden met een Eiken-berken-dennenopstand geselecteerd bij Doorwerth. Hier werd aansluiting gezocht bij lopend onderzoek naar effecten van de boomsoort (Linde) op bestrijding van verzuring. Voor de dekzandgebieden werden drie referentie gebieden gevonden bij Ulvenhout en drie verzuurde opstanden bij Heeze. Als selectiecriteria voor verzuurd of niet verzuurd werd de soortensamenstelling in de ondergroei genomen. Voor de stuifzanden werd aangesloten bij onderzoek naar de effectiviteit van plagmaatregelen in verzuurde bossen op stuifzand nabij Soest en Harderwijk. In elke gebied werden drie geplagde opstanden vergeleken met drie niet-geplagde opstanden. Voor kalkgronden werd aangesloten bij onderzoek naar effecten van cyclisch hakhoutbeheer in Limburg. Gedurende 80 jaar niet gekapte opstanden (Savelsbos) werden als referentie beschouwd en vergeleken met opstanden die één of meerdere kapcycli achter de rug hadden.

Wat hebben we onderzocht

In alle geselecteerde opstanden werd bodemmateriaal verzameld tot een diepte van 10 cm-mv. Het bodemmateriaal werd onderzocht op bodemchemische en microbiologische variabelen en op het aantal individuen in micro- en mesofauna groepen. Bodemchemisch onderzoek beperkte zich tot pH, N-totaal en organische stofgehalte. Via microbiologische technieken werden de biomassa's van schimmels en bacteriën, de potentiële netto- en bruto- N-mineralisatieconstanten, de C-mineralisatieconstante en de bacteriële activiteit

bepaald. De N-immobilisatieconstante en de massa protozoa werden op indirecte wijze bepaald. Alle stikstof die vrijkomt bij afbraakprocessen wordt bruto N-mineralisatie genoemd. Van de vrijgekomen minerale stikstof wordt een deel weer direct opgenomen door bodemorganismen voor synthese van biomassa. Dit wordt N-immobilisatie genoemd. De stikstof die overblijft (verschil tussen bruto N-mineralisatie en N-immobilisatie) wordt netto N-mineralisatie genoemd en is beschikbaar voor opname door planten. De mineralisatie- en immobilisatiefluxen ($\text{gN.m}^{-2}.\text{jr}^{-1}$) werden berekend door constanten te corrigeren voor temperatuur en te vermenigvuldigen met N-totaal gehalten en de bulkdensity van de bodem. Via tellingen werden aantallen mijten, nematoden, potwormen en regenwormen vastgesteld. Aantallen werden vertaald naar voorraden (massa's) per oppervlakte-eenheid op basis van literatuurgegevens.

Uit de vergelijking van bosesystemen blijkt dat er duidelijke verschillen aanwezig zijn in N-voorraden, procesparameters (mineralisatie en immobilisatie) en in bodemfaunagroepen.

N-voorraden en -fluxen

Van de onderzochte opstanden blijkt de voorraad N-totaal in de bodemlaag (incl. strooisellaag) tot 10 cm-mv. te variëren tussen 150 en 400 gN.m^{-2} . In stuifzanden is de N-voorraad het laagst. Tussen dekzand, praeglaciaal zand en kalkgrond zijn de verschillen gering. In de C/N-verhouding is van stuifzanden, via dekzanden, praeglaciaal zand en kalkgrond een dalende trend aanwezig die samengaat met een toenemende N-immobilisatie. De hoeveelheid N die is vastgelegd in bodemfauna varieert tussen de ca. 1,5 en 8 gN.m^{-2} . Van 'arme' naar 'rijke' bosesystemen neemt het N-aandeel van de biomassa dat in microben (schimmels, bacteriën, protozoa) is vastgelegd af. In dezelfde richting neemt het aandeel dat in de biomassa van de hogere trofische niveaus (mesofauna) is vastgelegd juist toe. De netto N-mineralisatie (0-10 cm) varieert van 6 tot ca. 60 $\text{gN.m}^{-2}.\text{jr}^{-1}$. De N-immobilisatie varieert van ca. 3 tot 70 $\text{gN.m}^{-2}.\text{jr}^{-1}$. De verhouding tussen N-mineralisatie en -immobilisatie is sterk wisselend en o.a. gerelateerd aan de bodemzuurgraad. De bruto N-mineralisatie ($\text{gN.m}^{-2}.\text{jr}^{-1}$) neemt toe van bossen op stuifzand via die op dekzand naar die op praeglaciaal zand. Opvallend is dat deze toename in de richting van bossen op kalkgrond niet doorzet. In de kalkrijke bossen treedt de grootste N-immobilisatie op, terwijl de mineralisatie er relatief gering is en in orde van grootte overeenkomt met die in bossen op dekzand. De N-immobilisatie neemt toe naarmate het aandeel microben in de totale bodemfauna afneemt. De N-depositie bedraagt maximaal 20% van de bruto N-mineralisatie in de armste systemen tot minder dan 5% in de bossen op kalkgrond. Effecten van beheer of standplaatsfactoren binnen de bosopstanden zijn aanwezig maar geven geen eenduidig beeld. Verzuring lijkt op praeglaciale zanden te leiden tot een verschuiving in de stikstofbalans van N-immobilisatie naar N-mineralisatie. Op dekzanden kon dit effect niet worden vastgesteld. Plaggen van bosgrond op stuifzand leidt eveneens tot een verschuiving van N-immobilisatie naar -mineralisatie. Hakhoutbeheer leidt juist tot een verschuiving van N-mineralisatie naar N-immobilisatie.

Invloed pH op bodemleven

Uit regressieonderzoek blijkt dat zowel de N-mineralisatie als de N-immobilisatie afhankelijk zijn van de zuurgraad. De N-mineralisatie neemt toe naarmate de pH lager en de bacteriële activiteit groter is en er meer nematoden zijn, maar wordt door schimmels negatief beïnvloed. De N-immobilisatie neemt toe naarmate de pH hoger is en er meer protozoa en regenwormen zijn. Naarmate meer regenwormen aanwezig zijn verschuift de verhouding tussen netto en bruto N-mineralisatie in het voordeel van de bruto N-mineralisatie. Alleen de hoeveelheid schimmels en regenwormen lijken afhankelijk te zijn van bodemcondities. Naarmate het organische stofgehalte hoger is en de bodem zuurder neemt de hoeveelheid schimmels in de bodem toe. De hoeveelheid regenwormen neemt juist af naarmate de bodem zuurder is. Nematoden en potwormen zijn wel significant positief gecorreleerd maar hun verklaarde variantie is gering.

Invloed bodemleven op N-balans

Onder zure omstandigheden breekt organische stof moeilijk af. Daardoor accumuleert moeilijk verteerbare (recalcitrante) organische stof in de vorm van een LF-horizont op het maaiveld. Schimmels zijn bij uitstek in staat deze moeilijk afbreekbare organische stof af te breken.

Bij verzuring blijkt de balans tussen N-immobilisatie en netto N-mineralisatie te verschuiven in het voordeel van de laatste term. Deze verschuiving gaat gepaard met een toenemende schimmelmassa, een toenemende bacteriële activiteit en nematodenmassa, maar een afnemende massa regenwormen en protozoa. De netto N-mineralisatie lijkt dus positief beïnvloed te worden door de massa nematoden (en potwormen) en de delingsactiviteit van bacteriën, maar wordt weer onderdrukt door de toenemende massa schimmels. De N-immobilisatie is positief gecorreleerd met regenwormen en protozoa. Een verklaring van de verschuiving in de stikstofbalans kan dus zijn dat onder zuurder wordende omstandigheden de invloed van regenwormen en protozoa afneemt en die van nematoden en potwormen toeneemt. Nematoden grazen o.a. op bacteriën. Door deze begrazing vindt geen toename van bacteriële biomassa plaats, maar wordt wel de bacteriële delingsactiviteit gestimuleerd. Door vraat van bacteriële biomassa neemt de N-massa van nematoden toe maar zal tevens een versterkte uitscheiding van mineraal stikstof plaatsvinden. Onder zuurder worden omstandigheden neemt ook de invloed van schimmels toe. De negatieve invloed van de schimmelmassa op de mineralisatie lijkt erop te wijzen dat schimmels stikstof vastleggen. De N-voorraad in schimmels kan weer vrijkomen in de vorm van minerale stikstof via begrazing van schimmels door potwormen, nematoden of mijten. Onder zure omstandigheden lijken er dus twee kanalen in het bodemvoedselweb te zijn voor N-transfer: i) via schimmels naar potwormen en ii) via bacteriën naar nematoden. Omdat nematoden en in mindere mate potwormen kwantitatief van ondergeschikt belang zijn, lijken in zure systemen bacteriën en vooral schimmels in het bodemvoedselweb de belangrijkste N-sink te vormen.

Naarmate omstandigheden minder zuur zijn neemt de schimmelinvoel af en wordt de decompositie en N-mineralisatie overgenomen door bacteriën. Bacteriën worden begraasd door nematoden of protozoa. Nematoden beïnvloeden de N-mineralisatie positief, terwijl protozoa juist de immobilisatie stimuleren. Bacteriën en protozoa worden via graafactiviteit van regenwormen geïnoculeerd in microhabitats van de bodem, waardoor zij zich uitbreiden en meer stikstof in hun biomassa kunnen vastleggen. Onder basenrijkere omstandigheden lijkt de N-transfer dus te verlopen van bacteriën via protozoa naar wormen, waarbij regenwormen de belangrijkste N-sink vormen.

Experiment

Om te onderzoeken of in de praktijk maatregelen gericht op herstel van bodemleven effect sorteren, werd een verkennend laboratoriumexperiment uitgevoerd. Voor dit experiment werd verzuurde grond verzameld, bekalkt tot pH=3,75 en verdeeld over 24 potten. Aan de ene helft van de potten werd berkenblad en aan de andere helft lindenblad als voedselbron voor regenwormen aangeboden. Van elke bladtype werd een blanco serie ingezet en vergeleken met een serie waaraan slechts één regenwormensoort of drie regenwormensoorten werden toegevoegd. Als referentie werden vijf potten van een onbehandelde niet verzuurde grond gebruikt. Bij het experiment bleek bekalking te leiden tot een onverwachte verlaging van de C-mineralisatie en de bruto en netto N-mineralisatie en een verhoging van de schimmelbiomassa. Dit is waarschijnlijk toe te schrijven aan het geringe effect dat bekalking op de pH had in ons experiment. Bij bekalking tot maximaal pH <3.75 assimileren schimmels koolstof en stikstof, waardoor hun biomassa toeneemt. Bij bekalking tot pH <3.75 wordt bacteriële activiteit nauwelijks gestimuleerd. Introductie van regenwormen leidde alleen tot een toename van de C-mineralisatie en de netto N-mineralisatie in aanwezigheid van (stikstofrijk) lindenblad. Onder die omstandigheden bleek ook de N-immobilisatie sterk toe te nemen. Dit laatste effect kon echter niet significant worden vastgesteld.

Conclusie en lonkend perspectief

De conclusie van het onderzoek is dat verzuring heeft geleid tot een verschuiving in de stikstofbalans van N-immobilisatie naar netto N-mineralisatie. Hiervan zullen opportunistische soorten in de ondergroei profiteren door het extra N-aanbod om te zetten in biomassa waardoor kritischer soorten worden benadeeld. Door

verzuring is de activiteit van (bacteriën) protozoa en regenwormen afgenomen en die van schimmels, nematoden en potwormen toegenomen. Met de resultaten van dit onderzoek is een perspectief ontstaan op alternatieve herstelmaatregelen om effecten van verzuring tegen te gaan. Deze maatregelen moeten gericht zijn op herstel van de N-balans tussen bovengronds en ondergronds leven in de richting van een grotere N-retentie door het bodemleven. Hierin kan via het beheer worden gestuurd. In van nature zure systemen lijkt strooiselverwijdering in combinatie met enige bekalking of introductie van schimmels kansrijk. In van nature basenrijkere systemen lijkt bekalking in combinatie met activering van bacteriën door protozoa en regenwormen kansrijk.

De resultaten van het labexperiment en het empirisch onderzoek geven voldoende argumenten om een veldproef te starten met perspectief op een gunstig effect van de maatregel 'bekalking in combinatie met de introductie van bodemleven' op herstel van de verstoorde stikstofbalans van verzuurde bodems.

1 Inleiding

In de afgelopen twee decennia is veel geld geïnvesteerd in effectgerichte maatregelen ter compensatie van milieustress zoals verdroging, verzuring en vermesting. Vaak heeft dit tot succes geleid, maar in veel gevallen bleef succes uit. Daarom werd bekalking en mineralengift geschrapt als subsidiabele maatregel voor multifunctioneel bos omdat uit een evaluatie was gebleken dat dit niet had geleid tot het gewenste effect van herstel van de ondergroei met karakteristieke bossoorten (Olsthoorn et al., 2006). Niettemin blijven beheerders met de vraag zitten welke maatregelen dan wel effectief zijn om effecten van deze stress op de ondergroei te compenseren.

Mede naar aanleiding van ervaringen bij herstelmaatregelen in schraalgraslanden (Kemmers et al., 2010, 2011a) zijn uit onderzoek aanwijzingen verkregen dat milieustress niet alleen hogere planten maar ook het bodemleven nadelig zou kunnen beïnvloeden en dat herstel van doelsoorten uitblijft door verstoorde relaties tussen bodemleven en vegetatie.

Dit rapport is een overkoepelend verslag van een aantal verschillende onderzoeksprojecten dat in het kader van het Beleidsondersteunend Onderzoek over een reeks van jaren sinds 2005 werd uitgevoerd. Ondanks een teruglopende depositie van stikstof en zuur en een aantoonbare daling van de zuurgraad en ammoniakgehalten in bosbodems over de periode 1994-2004 (Kemmers et al., 2007) bleek er ondanks effectgerichte maatregelen vaak geen herstel op te treden van de ondergroei in multifunctionele bossen. Dit leidde tot een kennisvraag van de Unie van Bosgroepen naar alternatieve maatregelen gebaseerd op herstel van bodemleven. Daartoe werd oriënterend onderzoek gestart naar effecten van bodemverzuring in bos op het bodemleven en de doorwerking daarvan op de N-kringloop en de N-beschikbaarheid voor de vegetatie. Het onderzoek werd uitgevoerd in gebieden waar het belangrijkste areaal multifunctioneel bos voorkomt: dekzand gebieden en stuwwallen. Daarbinnen werd gezocht naar verzuurde terreinen en terreinen met een soortenrijke begroeiing die als referentie werden beschouwd. Later kon het onderzoek worden uitgebreid naar bossen op arme stuifzandgronden door aan te sluiten bij daar lopend OBN-onderzoek naar de evaluatie van effectgerichte (plag) maatregelen (Kemmers et al., 2011b). In een nog latere fase kon worden aangesloten bij OBN-onderzoek naar effecten van hakhoutbeheer op herstel van hellingbossen op kalkrijke grond in Limburg (Hommel et al., 2010). In al deze bossen werd bodemchemisch en bodembologisch onderzoek uitgevoerd dat in afzonderlijke rapporten werd gepubliceerd. Door samenvoeging van de resultaten uit de verschillende projecten werd een databestand verkregen over een brede range van standplaatscondities in bossen: van zure, voedselarme zandgronden tot kalk- en voedselrijke gronden. In het kader van het Kennisbasisonderzoek kon dit databestand in zijn totaliteit worden geanalyseerd.

Dit rapport geeft een synopsis van de resultaten van de analyses van het bodemleven, de stikstofstromen en bodemcondities over de gehele range van bossen. Hiermee ontstond een veel duidelijker inzicht dan in de deelonderzoeken afzonderlijk omdat die zich beperkten tot een beperkte range van standplaatscondities. Centraal in dit rapport staat het onderzoek naar de hypothese of er via de nutriëntenkringloop een relatie tussen ondergrondse en bovengrondse biodiversiteit bestaat en of deze relatie wordt beïnvloed door milieustress (c.q. verzuring). De volgende onderzoeksvragen werden geformuleerd:

- Hoe beïnvloeden de verschillende trofische niveaus of functionele groepen van bodemorganismen de nutriëntenbeschikbaarheid voor de vegetatie (C- en N-mineralisatie, N-immobilisatie)?
- Hoe beïnvloeden verschillende groepen van bodemorganismen elkaar (bacteriën, schimmels, nematoden, mijten, potwormen, regenwormen)? Zijn er relaties tussen micro-organismen en resp. nematoden, potwormen, mijten etc.?
- Welke invloed heeft de zuurgraad op de aanwezigheid of activiteit van bodemorganismen.

De veronderstelling daarbij was dat de nutriëntenhuishouding de verbindende schakel tussen ondergronds en bovengronds leven (vegetatie) is. Mineralisatie van organische stof is de belangrijkste voedselbron van N (en P) voor de vegetatie en het bodemleven. Deze mineralisatie is de resultante van decompositie- en humificatie (i.e. immobilisatie)processen die tot stand komen via interacties tussen de verschillende (trofische niveaus van) bodemorganismen. Met ondergrondse biodiversiteit wordt niet bedoeld op aantallen soorten maar op de aanwezigheid en activiteit van de verschillende functionele groepen uit het bodemvoedselweb. Onder bovengrondse biodiversiteit verstaan we wel het aantal soorten (soortenrijkdom). De soortenrijkdom wordt vaak verondersteld te zijn gerelateerd aan de voedselrijkdom van een standplaats: naarmate de voedselrijkdom van een standplaats toeneemt, verandert over het algemeen de diversiteit aan soorten via een optimum verband: (een hump-back relatie) tussen soorten- en voedselrijkdom. Indien verzuring het bodemleven beïnvloedt, zou daardoor indirect de nutriëntencyclus kunnen worden beïnvloed en daarmee de productiviteit en de diversiteit van bovengrondse vegetatie.

Leeswijzer

In het tweede hoofdstuk worden de onderzochte locaties toegelicht. Vervolgens wordt in kort bestek beschreven op welke wijze de verschillende groepen bodemorganismen werden geïnventariseerd en gekwantificeerd, welke methoden werden gebruikt om de N-mineralisatie en -immobilisatie te meten en welke regressieanalyses we hebben uitgevoerd om relaties tussen bodemorganismen en abiotische factoren te vinden. In het derde hoofdstuk worden de resultaten gepresenteerd van de analyse van de biomassa van groepen bodemorganismen, de N-voorraden in deze groepen en de omvang van de N-mineralisatie en -immobilisatie. In het tweede deel van dit hoofdstuk worden regressiemodellen gepresenteerd waarmee de aanwezigheid van bodemorganismen of N-stromen kunnen worden verklaard uit onderliggende bodemeigenschappen. Hoofdstuk 4 staat op zichzelf en beschrijft de opzet en resultaten van een laboratoriumexperiment dat als een pilotstudie voor een veldexperiment op praktijkschaal kan worden beschouwd. In dit labexperiment werd onderzocht of een kalkgift en toevoeging van regenwormen aan potten grond met verschillende strooiseltypen effect had op het bodemleven en de N-mineralisatie of -immobilisatie.

In het vijfde hoofdstuk worden de resultaten met elkaar in verband gebracht en bediscussieerd. Op basis van de synthese van de verschillende resultaten wordt in dit hoofdstuk een conceptueel model gepresenteerd, waarin de invloed zichtbaar wordt gemaakt van verschuiving van de pH op de samenstelling en omvang van de bodemfauna en de daaraan gerelateerde N-mineralisatie en -immobilisatiestromen.

2 Methoden

2.1 Aanpak

Het onderzoek heeft zich in de loop van de tijd ontwikkeld tot een drieluik. In eerste instantie werd bodembologisch onderzoek uitgevoerd in bossen op gestuwd praeglaciaal zand en dekzand. Dit onderzoek leidde niet tot een duidelijk inzicht in effecten van verzuring op bodemfauna. Omdat dekzanden en gestuwd praeglaciale zanden een betrekkelijk beperkte range van bodemcondities vertegenwoordigen werd in een latere fase het onderzoek uitgebreid naar bossen op stuifzand en hellingbos op kalkgrond. Hierdoor werd het mogelijk de samenstelling en activiteit van bodemleven te bestuderen over een brede range van bodemcondities: van arme zure bossen op zand naar rijke neutrale bossen op kalk.

Op basis van verwachte effecten werd een laboratoriumexperiment uitgevoerd waarin het effect van introductie van regenwormen en bekalking op de stikstofhuishouding werd onderzocht. Op alle onderdelen wordt in dit rapport ingegaan.

2.2 Locatiekeuze

In overleg tussen beheerders en onderzoekers werden drie verzuurde en drie referentie-opstanden geselecteerd van multifunctioneel bos op de wat rijkere zandgronden (gestuwd praeglaciaal) bij Doorwerth. Hier werd aansluiting gezocht bij lopend onderzoek naar effecten van de boomsoort (Linde) op bestrijding van verzuring en de invloed daarvan op de ondergroei in bossen. Drie replica's met een Linde-opstand en drie replica's met een verzuurde Eiken-berken-dennenopstand werden onderzocht.

Daarnaast werden op armere zandgronden (dekzand) drie referentie opstanden geselecteerd bij Ulvenhout en drie verzuurde opstanden bij Heeze. Als selectiecriteria voor verzuurd of niet verzuurd werd de soortensamenstelling in de ondergroei genomen.

Voor de stuifzanden werd aangesloten bij onderzoek naar de effectiviteit van plagmaatregelen in verzuurde bossen op stuifzand in opdracht van de Unie van Bosgroepen. Zowel nabij Soest als Harderwijk werden drie geplagde en drie niet-geplagde (referentie) opstanden onderzocht (Kemmers et al., 2011).

Voor de hellingbossen op kalkgrond werd aansluiting gezocht bij onderzoek naar effecten van cyclisch hakhoutbeheer in middenbossen (Hommel et al., 2010). De indruk bestaat dat het achterwege blijven van dit beheer heeft geleid tot verarming en verzuuring van de ondergroei in deze hellingbossen. Een opstand in het Savelsbos werd daarbij als referentie beschouwd. De nabij gelegen Riezenberg is een locatie met een eerste generatie kapvlakte, in het Oombos in het Gerendal zijn derde generatie kapvlakten aanwezig. Al deze opstanden hebben een westexpositie. Op de Schaelsberg nabij Oud-Valkenburg is een derde generatie kapvlakte met een zuidexpositie gekozen. Op deze laatste locatie met zuidexpositie heeft het kapbeheer tot een sterke verzuuring geleid. In elke opstand werden drie of vier bosvakken (herhalingen) uitgezet en onderzocht.

De gehele serie groeiplaatsen bestrijkt niet alleen een brede range terreincondities, maar geeft ook de mogelijkheid effecten van herstelmaatregelen in het onderzoek te betrekken.

In alle opstanden werden op identieke wijze bodemchemische en bodembologische gegevens verzameld van de bovenste 10 cm van de bodem en indien aanwezig van de bovenliggende strooisellaag. Van elke standplaats werd het humusprofiel beschreven zodat informatie beschikbaar kwam over de horizontdikte van strooisellagen. Voor het laboratoriumexperiment werd bodemmateriaal gebruikt dat afkomstig was uit de onderzochte opstanden in Doorwerth.

2.3 Analysemethoden

Per onderzocht aspect van de bodem worden kort de geanalyseerde variabelen en hun analysemethoden besproken.

2.3.1 Bodemchemie

- pH-KCl;
- Organische stof (gloeiverlies);
- N-totaal (destructie met Koningswater);
- C-totaal (0.5 x organische stofgehalte).

2.3.2 Microbiologie

De methoden van microbiologisch onderzoek worden uitvoerig beschreven in Bloem et al. (2006). Hieronder wordt slechts een summiere toelichting gegeven.

- Biomassa schimmels (Fungal C), directe microscopie na fluorescentie kleuring, gevolgd door automatische beeldanalyse.
- Biomassa bacteriën (Bacterial C), directe microscopie na fluorescentie kleuring, gevolgd door automatische beeldanalyse.
- Bacteriële activiteit ¹
- (Specifieke) Thymidine inbouwsnelheid;
- (Specifieke) Leucine inbouwsnelheid.
- Schimmelactiviteit (% hyphenlengte), microscopie.
- Unstained (niet-kleurende) fungi.
- Potentiële N-mineralisatie (aeroob, zes weken, 20 °C).
- De potentiële N-mineralisatie (N-min) werd zowel aeroob als anaeroob bepaald. Bij aerobe mineralisatie wordt ammonium gevormd door heterotrofe organismen dat weer kan worden omgezet in nitraat. Zowel ammonium als nitraat kan weer worden opgenomen door autotrofe micro-organismen (schimmels, bacteriën), die op hun beurt weer kunnen worden begraasd door protozoa, nematoden of mijten. De groei en delingsactiviteit van micro-organismen wordt gestimuleerd door vraat. Door dit vraatproces wordt veel stikstof weer vastgelegd in lichaamseiwitten (N-immobilisatie) van een hoger trofisch niveau. Nitraat kan ook door denitrificatie verdwijnen. Gemeten wordt wat het netto verschil is tussen deze afbraak- en opnameprocessen. Daarom wordt deze methode wel de bepaling van de potentiële netto N-mineralisatie genoemd.
- Mineraliseerbaar N (anaeroob, één week, 40 °C).
- Mineraliseerbaar N (Min-N) wordt onder anaerobe omstandigheden gemeten, gedurende een korte tijd maar bij een hoge temperatuur waardoor de microbiologische activiteit sterk wordt gestimuleerd. Door anaerobie kan geen nitraatvorming plaatsvinden en kan dus ook geen N-verlies door denitrificatie plaatsvinden. Protozoa (nematoden en mijten) overleven anaerobe omstandigheden niet en kunnen dus geen stikstof meer immobiliseren via vraat van micro-organismen. Uit analyse van de N-voorraden in bodemfaunacomponenten (Kemmers et al., 2010) blijkt dat mijten en nematoden een verwaarloosbare

¹ Thymidine en leucine zijn aminozuren die door bacteriën worden ingebouwd in lichaamseiwitten (leucine) of DNA (thymidine). Een hoog leucine verbruik duidt op een hoge metabole activiteit van bacteriën; een hoog thymidine verbruik wijst op aanmaak van DNA en vormt een indicatie voor een grote bacteriële celdelingactiviteit. Deze activiteiten worden specifiek genoemd als het verbruik wordt uitgedrukt per eenheid bacterieel C.

voorraad N hebben vergeleken met schimmels en bacteriën. Wormen en potwormen hebben juist weer een aanzienlijk grotere N-voorraad dan schimmels en bacteriën. Het is dus niet waarschijnlijk dat begrazing van bacteriën door nematoden of mijten een wezenlijke invloed heeft op de N-immobilisatie. Dit impliceert dat vooral de protozoa een belangrijke rol spelen bij de N-immobilisatie. De door anaërobie afgestorven protozoa vormen tijdens de incubatie een bron voor decompositie en mineralisatie door heterotrofe bacteriën. De delings- en groeiactiviteit van bacteriën neemt af omdat begrazing door protozoa wegvalt. De micro-organismen zelf schakelen over op een anaërobe stofwisseling (mondelinge mededeling Sietze de Boer, NIOO, Heteren) wat een lagere activiteit en N-behoefte tot gevolg heeft. Omdat via deze anaërobe methode door uitschakeling van opnameprocessen de N-immobilisatie vrijwel wordt uitgesloten, wordt de N-mineralisatie zuiverder gemeten. Deze methode beschouwen wij daarom als een benadering van de bruto N-mineralisatie.

- N-immobilisatie.
- Het verschil tussen netto- en bruto N-mineralisatie (gestandaardiseerd naar dezelfde temperatuur) kan worden beschouwd als een kwantitatieve maat voor de N-immobilisatie. Ook de verhouding N-min/Min-N wordt door ons beschouwd als een indicator voor de N-immobilisatie door bodemactiviteit: naarmate de verhouding lager is, zal er een sterkere N-immobilisatie door micro-organismen plaatsvinden.
- C-mineralisatie (via CO₂-verlies).
- C-mineralisatie (via O₂-consumptie).
- Protozoa.
- Bepaling van de massa protozoa is moeilijk en kostbaar. Wij hebben een indirecte methode toegepast om de N-voorraad die in protozoa ligt opgeslagen te benaderen. Omdat bij N-immobilisatie protozoa een belangrijke schakel vormen en nematoden en mijten verwaarloosbare massa blijken te hebben, is het verschil tussen bruto en netto N-mineralisatie als een proxy voor de protozoa massa beschouwd. De N-voorraad in protozoa is gebaseerd op het verschil tussen N-min en Min-N tijdens de labincubatie, gestandaardiseerd naar 20 °C.

2.3.3 Micro- en mesofauna

Micro- en mesofauna werden bepaald via telling van het aantal individuen per groep van organismen:

- Nematoden: aantallen vertaald naar massa per 100g grond en per m².
 - o Uitgesplitst naar functionele groep (fungi-, bacteriën, carni-, omni-, herbivoor).
- Mijten: aantallen vertaald naar massa per 100g grond en per m².
 - o Uitgesplitst naar functionele groep (browsers, grazers, fungi-, bacteriën, omnivoor, predator).
- Potwormen: aantallen vertaald naar massa per 100 g grond en per m².
- Regenwormen: aantallen en biomassa per m².

2.3.4 N-mineralisatie en -immobilisatie

De mineralisatie- en immobilisatieconstanten zijn berekend op basis van labincubaties onder gestandaardiseerde omstandigheden (mgN.kg⁻¹ droge grond). De mineralisatiesnelheid werd uitgedrukt in mgN.mgN⁻¹.wk⁻¹ en gestandaardiseerd naar een temperatuur van 20 °C . De invloed van temperatuur op de mineralisatieconstante is naar veldomstandigheden vertaald met het Q10-effect. Voor stuifzandbossen is een Q10 aangehouden van 1.25, voor dekzand en praeglaciaal een Q10=1.5 en voor kalkgrond een Q10=2. De jaarlijkse N-mineralisatie en -immobilisatiestroom (gN.m⁻².jr⁻¹) is gekwantificeerd door de maandelijkse fluxen te sommeren. De maandelijkse flux werd berekend door de mineralisatieconstanten met de Q10-regel te corrigeren voor de maandgemiddelde bodemtemperatuur op 5 cm-mv. De bodemtemperatuur werd berekend met een warmte transportmodel en afgeleid van de luchttemperatuur (Feddes, 1971). Daarbij werd verondersteld dat de jaargemiddelde luchttemperatuur 10 °C is en schommelt tussen 0 en 20 °C.

Ook de activiteitsparameters zijn gekwantificeerd. Omdat het hierbij gaat om de activiteit per oppervlakte-eenheid per bodemlaag van 10 cm kunnen we hier spreken van fluxen per volume-eenheid. In wezen komt dit er op neer dat de variabelen niet op gewichtsbasis van de grond worden berekend maar op volumebasis.

2.3.5 Voorraden

Door de dikten van de ectorganische en endorganische laag en de bulkdichtheid van de monsters in beschouwing te nemen, zijn hoeveelheden van een variabele per m² ectorganische (L+F) of endorganische (0-10 cm) horizont berekend. De ectorganische en endorganische horizont zijn vervolgens weer gesommeerd. De verschillende bodemfauna parameters werden zoveel mogelijk onder dezelfde noemer gebracht (aantallen, C- en N-massa per m² incl. strooisellaag tot 10 cm-mv). Aantallen organismen werden omgezet in drooggewicht, C-massa en N-massa op basis van literatuur (Didden et al., 1994).

2.3.6 Statistiek

Gemiddelden en standaardafwijkingen werden berekend met het programma Excel. Regressieonderzoek werd uitgevoerd met het statistische pakket Genstat (Payne et al., 2000). Data werden daarbij lognormaal getransformeerd. Via Stepwise forward selection (Genstat) is gezocht naar de beste enkelvoudige of meervoudige regressiemodellen om verbanden te vinden tussen de C- en N-mineralisatie en bodemorganismen.

2.3.7 Laboratoriumexperiment

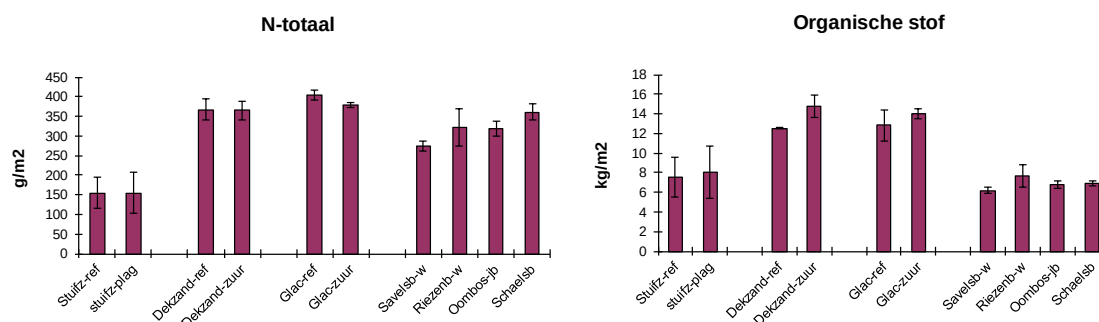
De opzet van en werkwijze bij het laboratorium experiment wordt afzonderlijk in hoofdstuk 4 beschreven.

3 Resultaten

3.1 Voorraden en fluxen

3.1.1 Voorraden organische stof en stikstof in de bodem

Bossen op stuifzand, dekzand, praeglaciale zand en kalkgrond zijn vergeleken op basis van voorraden N-totaal tot 10 cm-mv (al dan niet inclusief een ectorganische horizont). De voorraden zijn gebaseerd op gemiddelden per boscategorie. De N-totaal voorraad is in stuifzandbossen duidelijk lager dan in de overige bosesystemen (figuur 1). Opvallend is dat er weinig verschillen zijn tussen N-voorraden in bossen op dekzanden, gestuwd praeglaciaal en kalkhoudende gronden. De grootste N-voorraden lijken in praeglaciale zandgronden voor te komen. De voorraad organische stof is in de jonge stuifzandbossen lager dan in de oude bossen op dekzand en gestuwd praeglaciaal. In de bossen op kalkgrond is de voorraad onverwacht laag, mogelijk omdat door de hoge pH de decompositie van organische stof hoog is. Er zijn weinig verschillen binnen de 'behandelingen' van een bosesysteem.

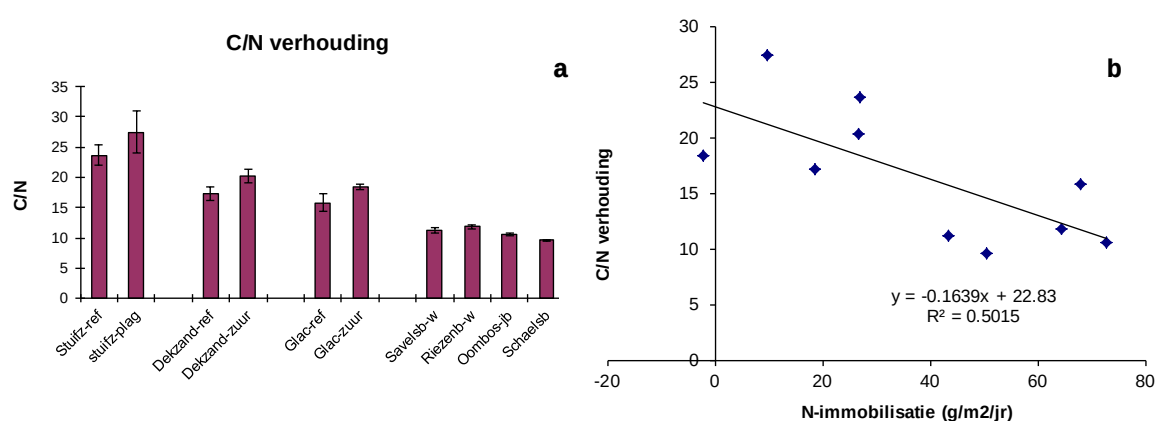


Figuur 1

Voorraden N-totaal en organische stof tot 10 cm-mv (incl. ectorganische laag) in de onderzochte bosesystemen.

C/N verhouding

Er is een duidelijke afname in de C/N-verhouding van arme naar rijke bossen (figuur 2a). In de rijke bossen is de organische stof rijker aan stikstof. Deze trend gaat samen met een toename van de N-immobilisatie (figuur 2b).



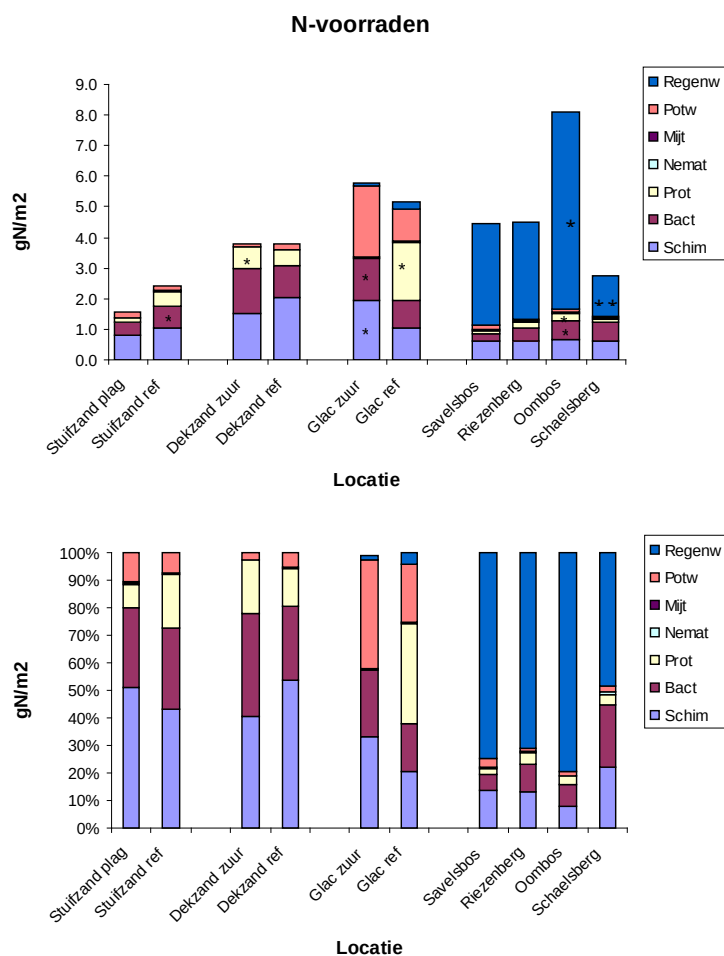
Figuur 2

De C/N-verhouding van de bodem tot 10 cm-mv van de onderzochte bosccosystemen (a) en in relatie tot de N-immobilisatie (b).

3.1.2 N-voorraden in bodemorganismen

Van de verschillende bosccosystemen zijn kwantitatieve inventarisaties gemaakt van de bodemfauna volgens methoden zoals in hoofdstuk 2 beschreven: bossen op stuifzanden, dekzanden, praeglaciale zanden en kalkgronden in Limburg. Deze bosccosystemen vertegenwoordigen een reeks van arm naar rijk. De totale N-voorraad die in het bodemleven van de bosccosystemen ligt opgeslagen (figuur 3) varieert van ca. 20 kg.ha⁻¹ha in stuifzandgebieden, via 40 kg in dekzandgebieden, ca. 50 kg in praeglaciale zanden tot gemiddeld 60 kg in hellingbossen met ondiep kalk in de ondergrond. De spreiding in de hellingbossen op kalkgrond is groot, wat mogelijk samenhangt met de verschillende vormen van beheer (wel/geen hakhoutbeheer).

Tussen de bosccosystemen zijn opvallende verschillen aanwezig in de verhoudingen in N-voorraad van de verschillende groepen organismen. Van arm naar rijk neemt van het totaal het N-aandeel dat in microben (schimmels, bacteriën, protozoa) is vastgelegd af. Microben vertegenwoordigen de laagste trofische niveaus. In dezelfde richting neemt het aandeel van de hogere trofische niveaus (mesofauna) juist toe. In de bossen op praeglaciale gronden vormen potwormen de belangrijkste mesofauna component, terwijl regenwormen vrijwel ontbreken. In de hellingbossen zijn juist regenwormen dominant aanwezig, terwijl potwormen vrijwel ontbreken. Het aandeel stikstof dat in schimmels en bacteriën ligt opgeslagen neemt af naarmate de gronden rijker worden. De verhouding tussen schimmels en bacteriën onderling is over de gehele range bij benadering 1:1. De bijdrage van microfauna (nematoden en mijten) is over de gehele range verwaarloosbaar.

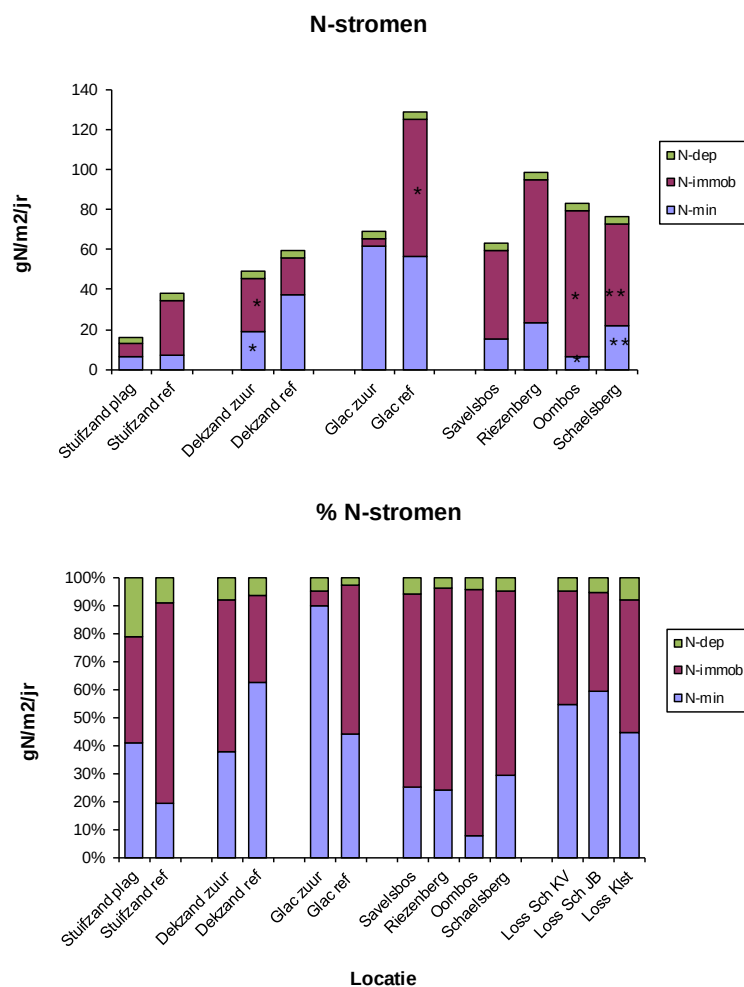


Figuur 3

Stikstofvoorraden in verschillende groepen bodemorganismen in de onderzochte boscossystemen. Een * geeft aan of er een significant verschil ($T_{\text{prob}} < 0.05$) is in de voorraad van een specifieke groep organismen tussen een vlak en de referentie.

3.1.3 N-fluxen

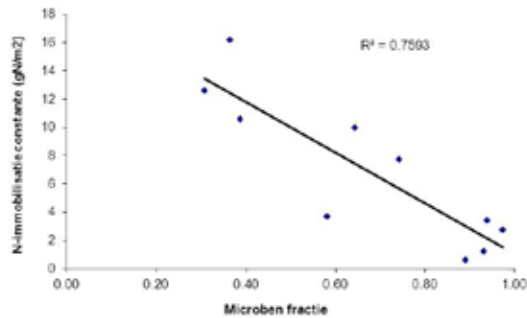
In figuur 4 zijn de N-mineralisatie en -immobilisatie fluxen weergegeven die door de bodemorganismen in de verschillende boscossystemen worden gegenereerd in de bodemlaag tot 10 cm-mv. Tevens is voor de betreffende boscossystemen de gemiddelde N-depositie, gebaseerd op provinciale gemiddelden voor 2007 (bron: RIVM) in de figuur opgenomen. De totale N-flux (bruto mineralisatie i.e. mineralisatie plus immobilisatie) neemt toe van bossen op stuifzand naar die op praeglaciaal zand. In de referentievlakken van de bossen op praeglaciaal zand zijn de N-fluxen het hoogst. Opvallend is dat deze toename in de richting van bossen op kalkgrond niet doorzet, wat wel verwacht werd. In de kalkrijke bossen treedt de grootste N-immobilisatie op, terwijl de mineralisatie relatief gering is en in orde van grootte overeenkomt met die in bossen op dekzand. Het aandeel stikstof dat via depositie het systeem binnenkomt, varieert van 20% bij de geplagde stuifzanden tot minder dan 5% bij de kalkrijke gronden.



Figuur 4

Gemiddelde jaarlijkse netto N-mineralisatie, N-immobilisatie en N-depositie in de bodem tot 10 cm-mv van de onderzochte bosecosystemen. Een * geeft aan of er een significant verschil ($T_{prob} < 0.05$) is in de voorraad van een specifieke groep organismen tussen een vlak en de referentie.

Het blijkt dat de N-immobilisatieconstante toeneemt, naarmate het aandeel microben (bacteriën + schimmels + protozoa) in de totale bodemfauna afneemt (figuur 5). Dit wijst erop dat er meer stikstof door het bodemleven kan worden vastgehouden naarmate hogere trofische niveaus sterker zijn vertegenwoordigd in het bodemvoedselweb.



Figuur 5

Verband tussen de fractie microben van de totale bodemfauna en de N-immobilisatieconstante.

3.1.4 Invloeden beheer

In elk van de bosesystemen zijn twee groepen met elkaar vergeleken (tabel 1). In stuifzandgebieden werden geplagde vlakken vergeleken met niet-geplagde referenties. In de dekzand- en praeglaciale gebieden werden verzuurde bosvakken vergeleken met niet-verzuurde referenties. In de bossen op kalkgrond werden referentievakken in een oud onbeheerd bos met een westexpositie (Savelsbos) vergeleken met 1^e generatie kapvlakten (Riezenberg) en met 3^e generatie kapvlakten met een westexpositie; 3^e generatie kapvlakten met westexpositie werden vergeleken met 3^e generatie kapvlakten met een zuidexpositie.

In de bossen op stuifzand komen significant groter N-voorraden in bacteriën voor in de referentievakken, dan in de geplagde vakken (zie figuur 2). In de referentievakken is de verhouding tussen schimmels en bacteriën significant groter dan in de geplagde vakken.

In de bossen op praeglaciaal zand komen in de referentievakken kleinere N-voorraden in schimmels en bacteriën, maar grotere N-voorraden in protozoa voor dan in de verzuurde vakken. Dit impliceert dat in de verzuurde vakken protozoa, als belangrijke N-immobiliseerders, zijn gereduceerd. In de verzuurde vakken is de verhouding tussen netto- en bruto mineralisatie significant groter dan in de referenties. Dit gaat samen met een significant lagere N-immobilisatie in de verzuurde vakken.

Tabel 1

Gemiddelde hoeveelheden N in bodemfaunagroepen, N-mineralisatie en -immobilisatie waarden en specifieke thymidine en leucine inbouwsnelheden van bossen op verschillende groeiplaatsen en significantie in verschillen tussen gemiddelden (T-prob <0,05). Een gele arcering geeft een significant verschil aan.

Locatie	Schim	Bact	Prot	Nem	Mijt	Potw	Regenw	Tot Fauna	Sch/Bact	Netto N-min	Bruto N-min	N-imm	Net/Brut	N-min	N-imm	Th/bactC	Leu/bactC
Behandeling	gN/m2 (0-15)								-	gN/m2.wk (0-15)			-	gN/m2/jr		pmol/m²	
	Gemiddelden																
Stuifzand plag	0.79	0.45	0.13	0.01	0.01	0.16	0.00	1.56	4.06	0.17	0.63	0.46	0.28	6.73	6.12	5310	2067081
Stuifzand ref	1.04	0.73	0.60	0.01	0.01	0.17	0.00	2.56	10.81	0.17	1.24	1.07	0.45	7.39	26.93	26208	1963481
Dekzand zuur	1.54	1.42	0.74	0.01	0.00	0.09	0.00	3.80	2.75	0.52	2.78	2.26	0.19	18.82	26.71	801531	21109844
Dekzand ref	2.05	1.02	0.51	0.02	0.00	0.20	0.00	3.81	4.98	1.03	3.46	2.43	0.29	37.25	18.56	791487	20261138
Glac zuur	1.92	1.41	-0.06	0.03	0.00	2.31	0.09	5.71	3.50	1.70	3.70	2.00	0.47	61.81	3.46	1148261	25323240
Glac ref	1.06	0.90	1.87	0.03	0.01	1.08	0.22	5.16	3.05	1.56	7.73	6.16	0.20	56.72	68.04	1043212	21776200
Savelsbos	0.62	0.24	0.14	0.03	0.00	0.20	4.45	5.68	7.28	0.70	10.58	9.88	0.07	15.70	43.49	48666	2640627
Riezenberg	0.60	0.44	0.26	0.03	0.01	0.06	4.29	5.68	6.50	0.76	12.61	11.85	0.06	23.72	71.36	99098	4447458
Oombos	0.65	0.63	0.32	0.02	0.01	0.12	8.61	10.37	3.18	0.32	16.21	15.90	0.02	6.33	72.74	171997	8005469
Schaelsberg	0.61	0.61	0.13	0.04	0.00	0.07	1.76	3.23	2.85	0.76	9.99	9.23	0.08	22.28	50.45	83809	4431931
	Tprob																
Stuifzand	0.09	0.02	0.09	0.34	0.29	0.46		0.05	0.04	0.47	0.12	0.12	0.09	0.29	0.07	0.16	0.41
Dekzand	0.07	0.10	0.01	0.12	0.47	0.25		0.50	0.02	0.05	0.13	0.30	0.01	0.05	0.01	0.47	0.26
Praeglaciaal	0.03	0.02	0.04	0.46	0.15	0.11	0.34	0.09	0.31	0.41	0.13	0.09	0.01	0.41	0.04	0.38	0.35
Sav-riez	0.43	0.17	0.10	0.40	0.26	0.06	0.47	0.49	0.44	0.27	0.18	0.18	0.38	0.15	0.09	0.08	0.08
Oom-schaels	0.36	0.48	0.01	0.00	0.00	0.06	0.01	0.02	0.42	0.00	0.04	0.04	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00
Sav-Oom	0.37	0.02	0.00	0.35	0.00	0.24	0.00	0.02	0.00	0.00	0.03	0.02	0.00	0.01	0.00	0.02	0.00

In de verzuurde dekzanden zijn meer protozoa aanwezig dan in de referentievakken. In de referentievakken is de netto N-mineralisatie significant hoger en de N-immobilisatie lager dan in de verzuurde vakken. In de referentie is de hoeveelheid schimmels significant groter dan in de verzuurde vakken. In de referentie is de verhouding tussen netto en bruto N-mineralisatie significant groter dan in de verzuurde vakken.

Tussen referentievakken van hellingbos (Savelsbos) en eerste generatie kapvlaktes (Riezenberg) met een westexpositie komen geen verschillen voor. Maar in een derde generatie kapvlakte (Oombos) komen significant grotere N-voorraden in bacterien, protozoa, mijten en regenwormen voor dan in de referentie (Savelsbos). Dit gaat gepaard met een lagere N-mineralisatie maar een hogere N-immobilisatie in de derde generatie kapvlakten dan in de referentievakken. Hakhoutbeheer leidt blijkbaar tot een versterkte N-immobilisatie door bacterien en protozoa.

In een derde generatie kapvlakte met een zuidexpositie (Schaelsberg) komen lagere N-voorraden in protozoa, mijten en regenwormen maar hogere N-voorraden in nematoden dan bij een westexpositie (Oombos). Dit laatste verschil gaat gepaard met een significant hogere N-mineralisatie maar lagere N-immobilisatie bij een zuidexpositie. Waarschijnlijk speelt een temperatureffect hierbij een rol.

3.1.5 Conclusies

Uit de vergelijking van bosecosystemen blijkt dat er duidelijke verschillen aanwezig zijn in N-voorraden, procesparameters (mineralisatie en immobilisatie) en in bodemfaunagroepen.

- Van de onderzochte standplaatsen blijkt de voorraad N-totaal in de bodemlaag tot 10 cm-mv. te variëren tussen 150 en 400 gN.m². In stuifzanden is de N-voorraad het laagst. Tussen dekzand, praeglaciaal zand en kalkgrond zijn de verschillen gering. In de C/N-verhouding is van stuifzanden, via dekzanden, praeglaciaal zand en kalkgrond een dalende trend aanwezig die samengaat met een toenemende N-immobilisatie.

- De hoeveelheid N die is vastgelegd in bodemfauna varieert tussen de ca. 1,5 en 8 gN.m⁻² en is een benadering van de hoeveelheid N die is geïmmobiliseerd in lichaamseiwit van de verschillende trofische niveaus.
- Van 'arme' naar 'rijke' bossen neemt het N-aandeel van de biomassa dat in microben (schimmels, bacteriën, protozoa) is vastgelegd af. In dezelfde richting neemt het aandeel dat in de biomassa van de hogere trofische niveaus (mesofauna) is vastgelegd juist toe.
- De netto N-mineralisatie (0-10 cm) varieert van 6 tot ca. 60 gN.m⁻².jr⁻¹. De N-immobilisatie varieert van ca. 3 tot 70 gN.m⁻².jr⁻¹. De verhouding tussen N-mineralisatie en -immobilisatie is sterk wisselend en o.a. gerelateerd aan de bodemzuurgraad.
- De bruto N-mineralisatie (gN.m⁻².jr⁻¹) neemt toe van bossen op stuifzand via die op dekzand naar die op praeglaciaal zand. Deze toename zet in de richting van bossen op kalkgrond niet door.
- In de kalkrijke bossen treedt de grootste N-immobilisatie op, terwijl de mineralisatie er relatief gering is en in orde van grootte overeenkomt met die in bossen op dekzand. De N-immobilisatie neemt toe naarmate het aandeel microben in de totale bodemfauna afneemt.
- De N-depositie bedraagt maximaal 20% van de bruto N-mineralisatie in de armste systemen tot minder dan 5% in de bossen op kalkgrond.
- Effecten van beheer of standplaatsfactoren binnen de bosccosystemen zijn aanwezig maar geven geen eenduidig beeld. Verzuring lijkt op praeglaciale zanden te leiden tot een verschuiving in de stikstofbalans van N-immobilisatie naar N-mineralisatie. Op dekzanden kon dit effect niet worden vastgesteld. Plaggen van bosgrond op stuifzand leidt eveneens tot een verschuiving van immobilisatie naar mineralisatie. Hakhoutbeheer leidt juist tot een verschuiving van N-mineralisatie naar N-immobilisatie.

3.2 Regressieanalyse

Uit de vergelijking van de verschillende bosccosystemen kwamen verschillen naar voren in de omvang van de N-mineralisatie en -immobilisatie en N-massa's in bodemfaunagroepen. Minder eenduidig waren de verschillen binnen bosccosystemen in afhankelijkheid van standplaatsfactoren of beheersvormen. Via regressie analyse is onderzocht of er verbanden aanwezig zijn tussen bodemvariabelen, procesparameters en de aanwezigheid van bepaalde bodemfauna groepen. Twee belangrijke vragen daarbij waren of en in welke mate de verschillende trofische niveaus van bodemorganismen de C-mineralisatie, de N-mineralisatie en de N-immobilisatie beïnvloeden en of deze bodemorganismen afhankelijk zijn van bepaalde bodemcondities of beheersvormen.

3.2.1 N-mineralisatie- en -immobilisatiefluxen als functie van bodembiomassa's

Het databestand van alle bossystemen (stuifzanden, dekzanden, praeglaciale zanden, kalkgronden) is gebruikt om te onderzoeken of de N-mineralisatie en -immobilisatie verklaard kunnen worden door de aanwezige N-massa van bodemorganismen en zuurgraad. De N-mineralisatie en -immobilisatie werden berekend op jaarbasis (gN.m⁻².jr⁻¹). De verklarende variabelen werden gekwantificeerd door de N-voorraad in de biomassa van de bodemorganismen per m² (tot 10 cm-mv) te berekenen. In tweede instantie werden veel belovende modellen logaritmisches getransformeerd (tabel 2). In tabel 3 zijn de geparametriseerde modellen met de hoogste verklaarde variantie weergegeven.

Tabel 2

De mate van significantie (*F*prob) waarin de massa van verschillende bodemfaunagroepen bijdraagt aan de voorspelling van de netto N-mineralisatie, de N-immobilisatie en de verhouding daartussen. R^2 : de verklaarde variantie van responsvariabelen.

Model	Respons	R^2	Df	Fprob Predictorvariabelen (n=40)							
				Sch -N	Bact -N	Prot -N	Nemat -N	Mijt -N	Potw -N	Worm -N	pH
1	N-min	68.7	4			.000	.000		.000		
2	N-min	75.4	4				.000		.002		.000
3	N-imm	83.2	3			.000				.000	
4	N-imm	86.4	3			.000					.000
5	N-imm	92.8	4			.000				.000	.000
6	Nmin/MinN	60.9	3						.000	.001	
7	Nmin/MinN	66.6	4	.015					.000	.001	
8	Nmin/MinN	60.9	3						.000	.001	
9	Nmin/MinN	66.6	4	.015					.000	.001	
10	Nmin/MinN	76.8	5	.000		.000			.000		.000
Ln transformatie											
11	LnN-min	76.0	4	.000			.000				.005
12	LnN-imm	80.2	3			.000					.000
13	LnNmin/MinN	70.9	4	.000		.000				.000	

Uit tabel 2 blijkt dat de N-mineralisatie het best verklaard kan worden uit de N-voorraad in nematoden en in potwormen en de zuurgraad (model 2; $R^2=75.4$). Opmerkelijk is dat na logaritmische transformatie de N-mineralisatie het beste verklaard kan worden door een model (11) met schimmels, nematoden en pH. Dit suggereert dat potwormen en schimmels inwisselbare variabelen zijn. Omdat de N-mineralisatie door potwormen positief en door schimmels negatief beïnvloed wordt, zou er een interactie kunnen zijn tussen schimmels en potwormen. De N-mineralisatie wordt hoger naarmate de pH lager is, er meer nematoden maar minder schimmels (tabel 2; model 11) zijn.

De N-immobilisatie wordt het best verklaard door protozoa en regenwormen in combinatie met de pH (tabel 1; model 5). Na logtransformatie (model 12) vallen de wormen weg, mogelijk omdat er een sterke correlatie tussen pH en wormen bestaat. Naarmate er meer protozoa zijn en de pH hoger is, wordt de N-immobilisatie hoger.

De verhouding tussen netto en bruto N-mineralisatie (Nmin/MinN) wordt bepaald door schimmels, protozoa en potwormen of regenwormen (model 10 en 13). Naarmate er meer schimmels, protozoa en regenwormen zijn (model 13), neemt het aandeel van de netto N-mineralisatie in de bruto N-mineralisatie af, of te wel neemt de N-immobilisatie toe.

Mijten blijken in geen enkel model een bijdrage te leveren aan de verklaarde variantie.

Tabel 3

Geparametriseerde modellen waarmee de netto N-mineralisatie en N-immobilisatie het beste verklaard kunnen worden uit de N-massa van groepen bodemorganismen en de pH.

Model	Resp.	R ²	Df	Model
2	N-min	75.4	3	1394Nemat + 9.81Potw - 6.17pH + 17.1
5	N-imm	92.8	3	35.96Prot + 3.76Worm + 7.44pH -19.08
10	Nmin/MinN	76.8	4	0.157Pot - 0.16Prot - 0.27Sch -0.06pH + 0.84
Ln transformatie				
11	LnN-min	76.1	3	0.93LnNemat - 0.38LnSch - 0.17pH +6.96
12	LnN-imm	80.2	2	0.568LnProt + 0.37pH +2.37
13	LnNmin/MinN	70.9	3	-0.49LnSch - 0.31LnProt - 0.082LnWorm - 2.29

In tabel 3 valt op dat zowel N-mineralisatie als N-immobilisatie afhankelijk zijn van de zuurgraad. Een groot verschil is echter dat de N-mineralisatie negatief en de N-immobilisatie positief gecorreleerd is met de pH. Als de pH stijgt neemt de N-mineralisatie af, maar de N-immobilisatie toe.

3.2.2 Mineralisatie- en immobilisatieconstanten als functie van bodemactiviteit

Vervolgens is voor alle standplaatsen onderzocht of de C- en N-mineralisatie en -immobilisatieconstanten of verhoudingen daartussen afhankelijk zijn van de biomassa of activiteit van bodemorganismen. Daartoe werd nagegaan of er modellen zijn af te leiden waarmee de C-biomassa van de verschillende bodemorganismen de potentiële C- en N-mineralisatieconstanten of verhoudingen daartussen kunnen worden voorspeld (tabel 4). Hiertoe werden de potentiële mineralisatieconstanten omgerekend naar eenheid van oppervlak (m²) over een diepte van 10 cm en gerelateerd aan de C-biomassa (g.m⁻²) van de verschillende bodemorganismen. Ook werd de specifieke inbouwsnelheid van thymidine en leucine per m² {(pmol.µgC⁻¹) x (bactC.m⁻²) = pmol.m⁻²} meegenomen in de regressiemodellen. Indien zowel een ecto- als een endo-organische laag aanwezig was, werden de variabelen gesommeerd over het gehele profiel tot een diepte van 10 cm-mv.

Tabel 4

De mate van significantie (F_{prob}) waarin de activiteit of C-massa van verschillende bodemfaunagroepen bijdraagt aan de voorspelling van de C-mineralisatie, de netto N-mineralisatie, de N-immobilisatie en de verhouding daartussen. R²: de verklaarde variantie van responsvariabelen.

Model nr.	Adj R ²	Ln Respons variabele (g.m ⁻² .wk ⁻¹)	Df	F _{prob} Predictor variabelen (n=40)						
				Ln						
				Thym/Bact-C	Leuc/Bact-C	Nemat-C	Potworm-C	Prot-C	Regenworm-C	
21	83.4	C-min	2	.000						
22	83.1	C-min	2		.000					
23	74.9	N-min	3	.000		.000				
24	71.9	N-min	3		.000	.000				
25	67.6	N-min	3			.000	.006			
26	61.7	N-imm	2						.000	
27	74.1	N-imm	3					.001	.000	
28	49.4	Cmin/MinN	3		.003	.000				
29	71.5	N _{min} /Min _N	2						.000	
30	74.1	N _{min} /Min _N	3					.048	.000	

In tabel 5 zijn de beste modellen uit tabel 4 geselecteerd en geparametriseerd.

Tabel 5

Geparametriseerde modellen waarmee de constanten van C-mineralisatie, de netto N-mineralisatie en N-immobilisatie het beste verklaard kunnen worden uit de bacteriële activiteit en de C-massa van groepen bodemorganismen.

Model nummer	Ln Respons variabele (g.m ⁻² .wk ⁻¹)	Model	R ²
21	C-min	0.596Ln(Thym/BactC) -5.763	82.4
23	N-min	0.293Ln(Thym/BactC) + 0.77LnNemat -2.297	75.6
27	N-imm	0.524LnProt + 0.295LnRegenw + 1.334	80.9
29	N _{min} /Min _N	-0.2087LnRegenw -2.272	72.1

De potentiële C-mineralisatieconstante (i.e. decompositie van organische stof) kan voor meer dan 80% worden verklaard uit de specifieke thymidine-inbouwsnelheid door bacteriën, wat een indicator is voor de delingsactiviteit van bacteriën. Naarmate de delingsactiviteit groter is wordt er meer CO₂ geproduceerd (model 21). De potentiële netto N-mineralisatieconstante kan voor driekwart worden verklaard uit de delingsactiviteit van de bacteriën en de biomassa van nematoden (model 23). Naarmate bacteriën actiever zijn en er meer nematoden zijn neemt de N-mineralisatie kennelijk toe. Interessant is dat bij de voorspelling van de N-mineralisatie flux (model 2, tabel 3) geen bijdrage van de N-massa van bacteriën werd gevonden, maar wel van nematoden. Een massa bacteriën (model 2) heeft blijkbaar een ander effect dan de mate waarin die bacteriën actief zijn (Thym/bactC). Bacteriële activiteit wordt gestimuleerd door vraat c.q. begrazing door een hoger trofisch niveau zoals protozoa of nematoden. Nematoden zetten de N afkomstig van bacteriën om in lichaamseiwit of scheiden N uit. Ondanks een grote bacteriële activiteit kan de bacteriële massa dus niet toenemen als deze continu wordt weggevreten door protozoa of (bacterivore) nematoden. Het uitscheidingsproduct van de nematoden wordt als minerale stikstof gemeten.

De potentiële N-immobilisatie constante (model 27) wordt grotendeels verklaard door protozoa en regenwormen die beiden een positief effect hebben op de N-immobilisatie. Model 27 is in overeenstemming met model 12. Model 29 laat zien dat de verhouding tussen netto- en bruto N-mineralisatie vooral wordt bepaald door regenwormen. Meer regenwormen leidt tot een onderdrukking van de netto N-mineralisatie. Ook hier lijkt het waarschijnlijk dat regenwormen vooral N vastleggen in lichaamseiwitten.

3.2.3 Bodemleven als functie van bodemcondities

Een volgende vraag is in hoeverre de N-massa van bepaalde groepen bodemorganismen kan worden verklaard uit bodemcondities. In tabel 6 zijn de modellen geselecteerd waarin bodemcondities (pH, Organische stof en C/N) een verklaring geven voor micro-organismen of mesofauna.

Tabel 6

Selectie van de beste modellen ter verklaring bodemleven uit bodemchemische of -fysische variabelen.

Model nr.	Adj R ²	Ln Respons variabele (gN.m ⁻²)	Df	T _{prob} Predictor variabelen (n=40)		
				Ln		
				pH	Org. stof	C/N
1	60.29	Schimmels	3	.000	.001	
2	33.57	Bacterien	3	.000		.012
3	31.25	Protozoa	2		.000	
4	47.56	Nematoden	3		.038	.000
5	41.84	Mijten	3	.008	.000	
6	50.16	Potwormen	2		.000	
7	82.97	Regenwormen	2	.000		

Voor bacterien, protozoa en mijten zijn slechts modellen met een onbevredigend lage verklaarde variantie af te leiden. De N-massa's van de andere bodemorganismen blijken maar in redelijke mate te kunnen worden verklaard uit de bodemcondities. Schimmels zijn negatief gecorreleerd met de pH (tabel 7), maar positief met het organische stofgehalte. Nematoden en potwormen zijn positief gecorreleerd met pH en het organisch stofgehalte. Regenwormen vertegenwoordigen de enige groep met een hoge verklaarde variantie en zijn positief gecorreleerd met de zuurgraad.

Tabel 7

Geparametriseerde modellen waarmee de N-massa van schimmels, nematoden, potwormen en regenwormen het beste verklaard kunnen worden uit bodemcondities.

Model nummer	Ln Respons variabele (g.m ⁻² .wk ⁻¹)	Model	R ²
1	Schimmels	-0.147pH + 0.31 Ln. Org stof -2.24	60.3
4	Nematoden	0.217pH + 0.41Ln Org stof -8.7	47.6
6	Potworm	0.071pH + 2.32Ln Org stof -23.4	49.1
7	Regenworm	1.93pH -16.57	83.0

3.2.4 Conclusies

- Zowel de N-mineralisatie als de N-immobilisatie zijn afhankelijk van de zuurgraad.
- De N-mineralisatie neemt toe naarmate de pH lager en de bacteriële activiteit groter is en er meer nematoden zijn, maar wordt door schimmels negatief beïnvloed.
- De N-immobilisatie neemt toe naarmate de pH hoger is en er meer protozoa en regenwormen zijn.
- Naarmate meer regenwormen aanwezig zijn verschuift de verhouding tussen netto- en bruto N-mineralisatie in het voordeel van de bruto N-mineralisatie.
- Alleen de hoeveelheid schimmels en regenwormen lijken afhankelijk te zijn van bodemcondities. Naarmate het organische stofgehalte hoger is en de bodem zuurder neemt de hoeveelheid schimmels in de bodem toe. De hoeveelheid regenwormen neemt juist af naarmate de bodem zuurder is.
- Nematoden en potwormen zijn wel significant positief gecorreleerd maar hun verklaarde variantie is gering.

4 Effecten van kalkgift en introductie van bodemleven

Uit veldonderzoek is gebleken dat de zuurgraad een belangrijke invloed op de samenstelling en activiteit van het bodemleven heeft. Verzuring zou daarom tot een verandering in de activiteit van het bodemleven kunnen hebben geleid. Uit het veldonderzoek zijn aanwijzingen verkregen dat verzuring heeft geleid tot een verminderde stikstofbehoefte van het bodemleven waardoor een verhoogde N-beschikbaarheid voor plantengroei is ontstaan. Herstel van deze verstoorde N-balans is wellicht mogelijk via manipulatie van het bodemleven. In dit hoofdstuk worden de resultaten gepresenteerd van een experiment waarin het effect van de introductie van regenwormen en bladstrooisel op de C- en N-mineralisatie van bekalkte grond werd onderzocht. Doel van het experiment was inzicht te krijgen in de effecten van introductie van mesofauna en bekalking op de N-huishouding van een bodem.

4.1 Rationale

De achterliggende hypothese bij dit experiment is dat herstelmaatregelen ter bestrijding van effecten van verzuring op de ondergroei in bossen zich niet zouden moeten beperken tot verbetering van de abiotische condities, maar zich ook zouden moeten richten op herstel van bodemleven. Vooruitlopend op een eventueel veldexperiment werd een verkennend laboratoriumexperiment opgezet.

Als pilot werd gekozen voor het experimenteel nabootsen van herstelmaatregelen in verzuurde bossen op praeglaciaal zand (stuwwallen). In de opzet van het experiment is zoveel mogelijk aangesloten bij de praktijk. Impliciete veronderstelling was dat een referentieopstand in bos bodembologisch optimaal functioneert. Omdat in een referentieopstand geen herstelmaatregelen nodig zijn, werden in het experiment daarom ook geen behandelingen met een referentiegrond opgenomen. Ook in een reële veldsituatie zouden immers alleen in een verzuurd bosvak herstelmaatregelen worden uitgevoerd.

In de praktijk van verzuringsbestrijding wordt op twee fronten ingezet: plaggen en/of bekalken. Plaggen komt neer op het verwijderen van de L/F- en h-horizont. Daarom werd in alle potten alleen endorganisch (strooiselvrij: minus L/F- en H-horizont) bodemmateriaal aangebracht in combinatie met een kalkgift. Omdat het bodemleven zou zijn aangetast door verzuring, moeten de condities op orde zijn voordat bodemleven wordt gereïntroduceerd. Daarom werd geen behandeling gekozen van een combinatie waarbij bodemleven wordt geïntroduceerd zonder kalkgift.

Na plaggen en bekalken zal in de praktijk of een spontane verjonging (vooral berkenopslag) optreden of een bewuste boomkeuze via aanplant worden gerealiseerd. Linde staat daarbij als boomsoort sterk in de belangstelling vanwege het gunstige effect van zijn bladstrooisel op de basenhuishouding van de bodem (Hommel et al., 2010). In het experiment hebben wij dit gesimuleerd door geschoond lindeblad of berkenblad aan te brengen in de potten.

4.2 Werkwijze

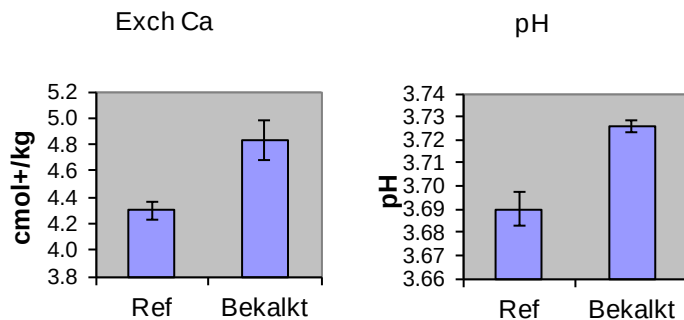
Voor het laboratoriumexperiment werd in de verzuurde opstanden bij Doorwerth bodemmateriaal (Ah-horizont) verzameld. Na bekalking werd ca. 500g grond over 24 potten verdeeld en drie weken met rust gelaten. In week 4 werd de C- en N-mineralisatie in de uitgangssituatie bepaald waarna 15 gram bladstrooisel aan elke pot werd toegevoegd. De incubatie met wormen werd tien weken volgehouden, waarna opnieuw C- en N-

mineralisatie metingen werden verricht. Grond uit de referentieopstand werd na verzameling niet bekalkt en verdeeld over vijf potten om als referentie te kunnen gebruiken. Alle verzuurde monsters met een kalkgift (n=24) werden vergeleken met de niet-bekalkte referenties (n=5). Aan de ene helft (n=12) van de met kalk behandelde potten werd lindenblad toegevoegd en aan de andere helft berkenblad. Aan beide bladbehandelingen werden in week 6 vervolgens geen, drie exemplaren *Lumbricus rubellus* en meerdere soorten regenwormen toegevoegd (complete set: 1 ex. *Allolobophora chlorotica*, 1 ex. *A. caliginosa*, 1 ex. *A. longa* en 1 ex. *L. rubellus*) (n=4) toegevoegd (steeds ca. drie gram wormen per pot).

4.3 Resultaten

4.3.1 Effect bekalken op zuurgraad

Bekalking van de verzuurde grond leidde tot een beperkte maar significante verhoging van de pH en het uitwisselbaar Ca in vergelijking met de grond van de referentieopstand (figuur 6).



Figuur 6

Effect van bekalking (n=24) op het gehalte uitwisselbaar Ca (Exch Ca) en de pH in vergelijking met waarden in referentieopstanden (n=5).

4.3.2 Effecten van kalkgift op bodemleven (in combinatie met strooiseltoevoeging)

Van de bekalkte potten werden de verschillende behandelingen (berken- versus lindeblad; met of zonder wormen) vergeleken met de referentiepoten zonder kalkbehandeling.

Een kalkgift leidde tot:

- een toename van de schimmelbiomassa (figuur 7);
- een gering effect op bacteriële activiteit: alleen onder invloed van *L. rubellus* en toevoeging van lindeblad (figuur 8) werd een versterkte Leucine-inbouw vastgesteld;
- een lagere netto en bruto N-mineralisatie (figuur 9);
- een sterkere afname van de bruto N-mineralisatie dan de netto N-mineralisatie waardoor een daling van de N-immobilisatie (Min-N minus N-min) optrad (figuur 10);
- een lagere C-mineralisatie per eenheid microbieel C bij linde en bij berken alleen in combinatie met een volledige set wormen (figuur 11).

4.3.3 Effecten van bladsoort op bodemleven

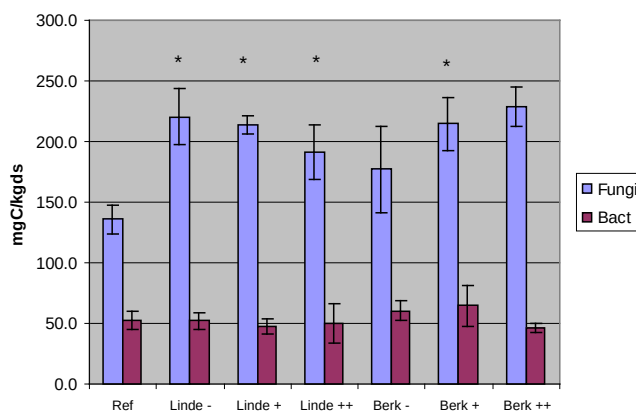
De bladeffecten werden vastgesteld door potten te vergelijken met een verschillende bladbehandeling maar met eenzelfde wormbehandeling:

- lindenblad is zwak significant rijker aan N dan berkenblad;
- er konden geen bladeffecten worden aangetoond; als er al bladeffecten konden worden aangetoond bleek dat in combinatie met wormen: alleen in combinatie met lindenblad hadden wormen effect op de leucine inbouwsnelheid (figuur 8) en de C-mineralisatie (figuur 12).

4.3.4 Effecten van wormen op N-mineralisatie en -immobilisatie

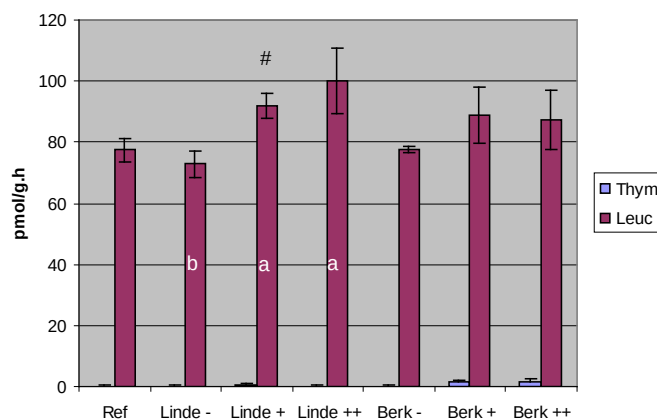
Zowel voor de linden- als de berkenserie werd het effect van geen (-), één (+) en meerdere (++) wormensoorten getoetst op significantie in verschillen:

- introductie van wormen leidt tot versterking van leucine-inbouw door bacteriën, hoewel voor berken dit verschil niet significant kon worden aangetoond. Uit figuur 8 kan worden afgeleid dat introductie van alleen blad niet tot een versterkte bacteriële activiteit leidt, maar wel in combinatie met wormen;
- introductie van wormen leidt tot versterking van de netto N-mineralisatie (figuur 9);
- alleen bij lindenblad leidt introductie van wormen tot een versterking van de C-mineralisatie per eenheid droge stof (figuur 12).



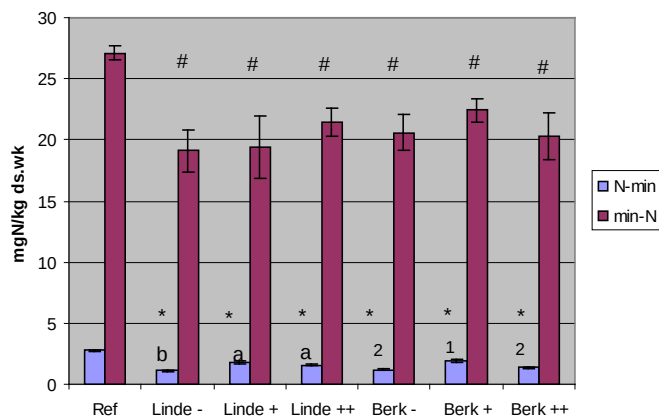
Figuur 7

Effecten van kalkgift op de massa bacterieel en schimmel C na incubatie van potten met linden- en berkenblad zonder (-), met één soort regenworm (+) en met meerdere soorten regenwormen (++). Een * geeft een significant verschil met de niet-bekalkte referentie.



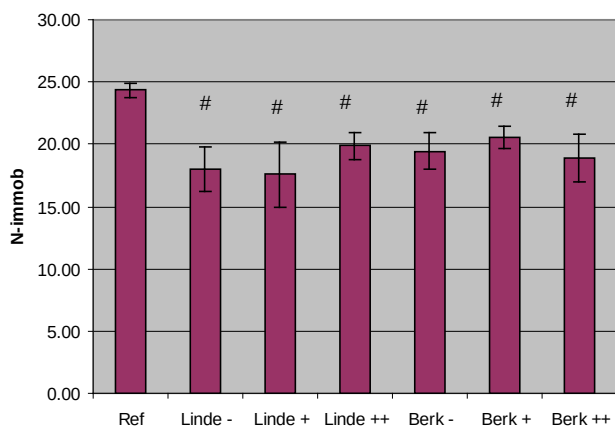
Figuur 8

Effecten van kalkgift op Thymidine- en Leucine-inbouw na incubatie van potten met linden- en berkenblad zonder (-), met één soort regenworm (+) en met meerdere soorten regenwormen (++). Een # geeft een significant verschil met de niet-bekalkte referentie. Een letter- of cijfercode geeft aan of er een significant wormen-effect is bij linden- of berkenblad.



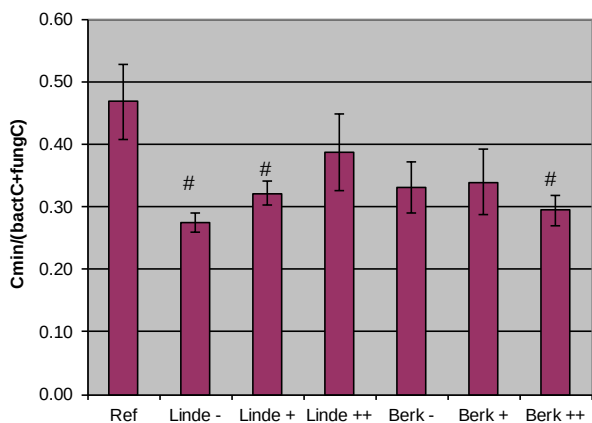
Figuur 9

Effecten van kalkgift op netto- (N-min) en bruto N-mineralisatie (min-N) inbouw na incubatie van potten met linden- en berkenblad zonder (-), met één soort regenworm (+) en met meerdere soorten regenwormen (++). Een # of * geeft een significant verschil met de niet-bekalkte referentie. Een letter- of cijfercode geeft aan of er een significant wormen-effect is bij linden- of berkenblad.



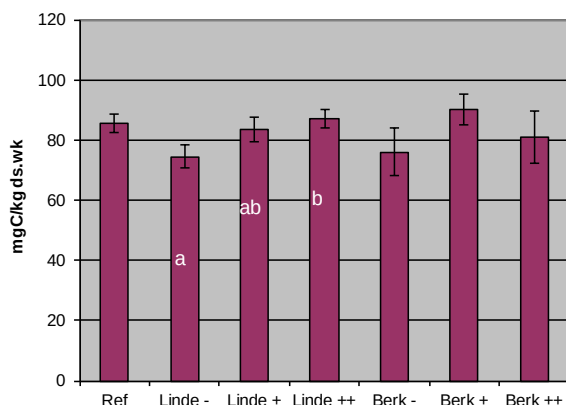
Figuur 10

Effecten van kalkgift op de N-immobilisatie na incubatie van potten met linden- en berkenblad zonder (-), met één soort regenworm (+) en met meerdere soorten regenwormen (++). Een # geeft een significant verschil met de niet bekalkte referentie.



Figuur 11

Effecten van kalkgift op de C-mineralisatie per eenheid microbieel C na incubatie van potten met linden- en berkenblad zonder (-), met één soort regenworm (+) en met meerdere soorten regenwormen (++). Een # geeft een significant verschil met de niet bekalkte referentie.



Figuur 12

Effecten van kalkgift op de C-mineralisatie na incubatie van potten met linden- en berkenblad zonder (-), met één soort regenworm (+) en met meerdere soorten regenwormen (++). Een # geeft een significant verschil met de niet bekalkte referentie. Een letter- of cijfercode geeft aan of er een significant wormeneffect is bij linden- of berkenblad.

4.3.5 Discussie en conclusies

Discussie

Verrassend is dat een kalkgift, ongeacht de aanwezigheid van wormen, tot een lagere netto- en bruto N-mineralisatie en -immobilisatie leidt in grond die een strooiselgift heeft ontvangen. De bruto N-mineralisatie neemt daarbij veel sterker af dan de netto N-mineralisatie, waardoor ook de N-immobilisatie afneemt. Er is alleen enig effect van bekalking op bacteriële activiteit (leucine) of biomassa als tevens wormen worden toegediend. Bekalking leidt wel tot een toename van de schimmelbiomassa (g C). Blijkbaar profiteren vooral schimmels van een kalkgift.

Onder invloed van een kalkgift wordt ook de C-mineralisatie per eenheid microbieel C lager.

Indien ook wormen worden geïntroduceerd bij een kalkgift zien we zowel bij berken- als bij lindenblad weer een toename van de C-mineralisatie en de netto N-mineralisatie, geen effect op de N-immobilisatie en een positief effect op bacteriële activiteit. Blijkbaar leidt kalkgift in combinatie met een strooiselgift en bodemorganismen tot enige toename van de netto N-mineralisatie. De toename van de N-immobilisatie kon niet significant worden vastgesteld, maar was in orde van grootte sterker dan de toename van de netto N-mineralisatie. Dit suggereert dat bekalking in combinatie met bodemleven weliswaar tot enige toename van de van de netto N-mineralisatie leidt, maar tot een nog sterkere N-vastlegging in bodembiomassa.

Conclusies

- Bekalking leidt tot een verlaging van de C-mineralisatie en de bruto en netto N-mineralisatie.
- Bekalking leidt tot een verhoging van de schimmelbiomassa.
- Bij bekalking tot pH <3.75 assimileren schimmels koolstof en stikstof.
- Bij bekalking tot pH <3.75 wordt bacteriële activiteit nauwelijks gestimuleerd.
- Bekalking in combinatie met introductie van wormen leidt alleen tot een toename van de C-mineralisatie en de netto N-mineralisatie in aanwezigheid van stikstofrijk strooisel (lindeblad).
- Bekalking in combinatie met bodemleven leidt tot een toename van de netto N-mineralisatie maar waarschijnlijk tot een nog sterkere toename van de N-immobilisatie.
- De resultaten van het labexperiment en het empirisch onderzoek geven voldoende argumenten om een veldproef te starten met perspectief op een gunstig effect van de maatregel 'bekalking in combinatie met de introductie van bodemleven' voor herstel van de verstoorde stikstofbalans van verzuurde bodems.

5 Synthese

5.1 Veldonderzoek- en labexperiment

Bekalking leidde in het labexperiment tot een versterking van de schimmelbiomassa. Dit lijkt tegenstrijdig te zijn met de resultaten van het veldonderzoek waar juist een toename van schimmelbiomassa bij zuurder wordende omstandigheden werd waargenomen. Wellicht een verklaring hiervoor is dat ondanks bekalking de pH in het experiment vrij laag bleef. Deze nog zure omstandigheden zijn mogelijk ook een verklaring voor het geringe effect van bekalking op de bacteriële activiteit. Bovendien ging het daarbij om metabole (leucine) activiteit en geen delingsactiviteit (thymidine). Mogelijk dat bacteriën door wormen in de bodem werden verspreid via inoculatie met 'uitwerpselen'.

Opvallend is dat zowel bij het veldonderzoek als het labexperiment een toename van de schimmelbiomassa leidde tot een afname van de netto N-mineralisatie. In het labexperiment bleek de afname van de netto N-mineralisatie door bekalking samen te gaan met een afname van de C-mineralisatie. Dit suggereert dat de schimmels geen CO₂ verademden maar juist assimileerden en ook de N immobiliseerden. Ook de Vries (2009) concludeerde uit onderzoek in graslanden dat schimmels een belangrijke rol spelen bij stikstof vastlegging. In ons veldonderzoek bleek de invloed van schimmels en potwormen op de N-mineralisatie inwisselbaar bij de regressieanalyse. Schimmels onderdrukten en potwormen stimuleerden de netto N-mineralisatie. Uit de combinatie van experiment en het veldonderzoek kan nu worden afgeleid dat schimmels inderdaad N-immobiliseren, maar dat de aanwezigheid van potwormen in het veldonderzoek leidt tot een versterkte N-mineralisatie, waarschijnlijk omdat potwormen schimmels begrazen en N-mineraal uitscheiden.

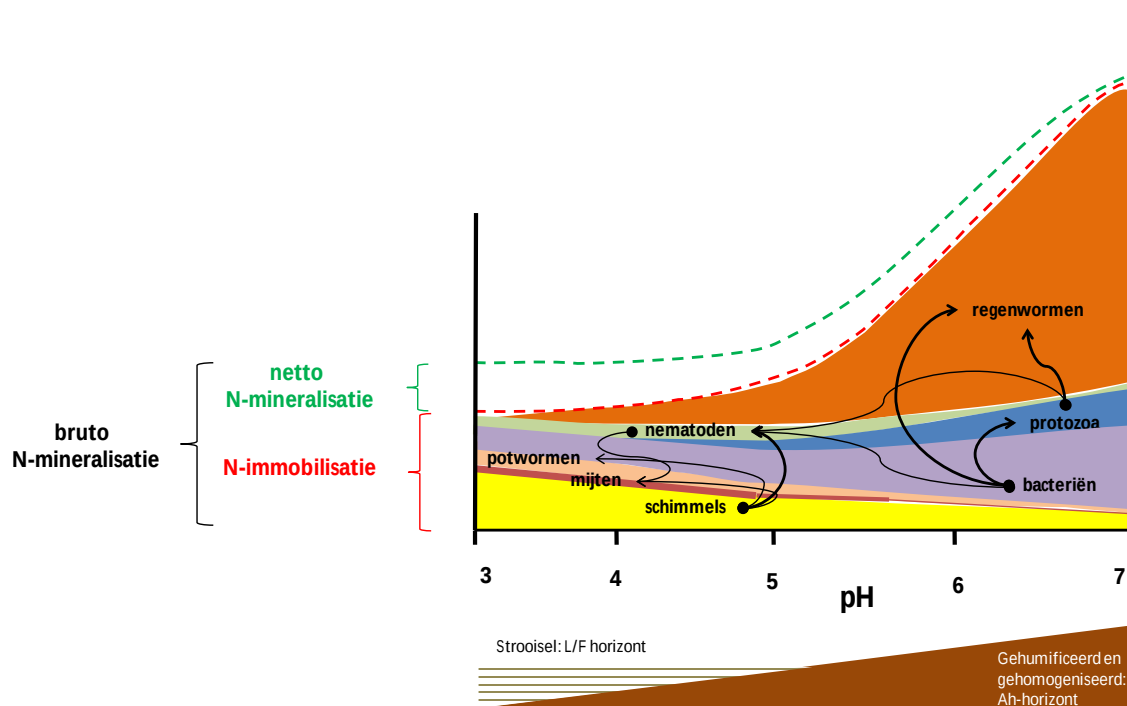
5.2 Een conceptueel model

De synthese van de onderzoeksresultaten is in figuur 13 verbeeld als een conceptueel model. Het aandeel van de verschillende groepen bodemorganismen in de N-voorraad is schematisch weergegeven. In de figuur zijn de trends verwerkt in de relatie tussen deze groepen en de zuurgraad, de N-mineralisatie en N-immobilisatie zoals die werd afgeleid uit het regressieonderzoek.

Onder zuurder wordende omstandigheden neemt de schimmelmassa toe en de hoeveelheid regenwormen juist af. Tegelijkertijd bleek dat onder zuurder worden omstandigheden de netto N-mineralisatie toeneemt en de N-immobilisatie afneemt. Hieruit kan worden afgeleid dat onder zuurder worden omstandigheden de balans tussen N-immobilisatie en netto N-mineralisatie lijkt te verschuiven in het voordeel van de laatste term. De netto N-mineralisatie blijkt positief beïnvloed te worden door de massa nematoden (en potwormen) en de delingsactiviteit van bacteriën, maar wordt weer onderdrukt door de toenemende massa schimmels. De N-immobilisatie is juist positief gecorreleerd met regenwormen en protozoa. Het blijkt dat bij een afname van de microbenfractie (massa van de schimmels, bacteriën en protozoa ten opzichte van de totale bodemfauna) de N-immobilisatie toeneemt (figuur 14). De N-immobilisatie moet dus vooral op het conto van de mesofauna (nematoden, potwormen, regenwormen) worden geschreven. Omdat nematoden en potwormen kwantitatief weinig bijdragen, vormen regenwormen het belangrijkste onderdeel van de mesofauna.

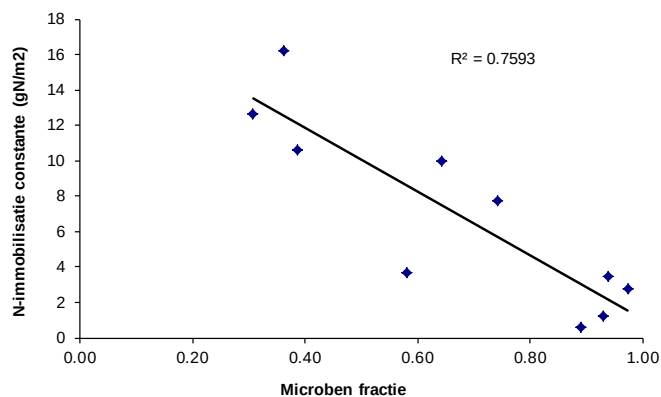
De verschuiving van N-immobilisatie naar N-mineralisatie door verzuring lijkt dus veroorzaakt te worden door een toenemende bacteriële activiteit en nematodenmassa en een afnemende invloed van regenwormen en protozoa. Nematoden stimuleren de bacteriële delingsactiviteit door begrazing waardoor de N-massa van deze mesofauna toeneemt, maar ook een versterkte uitscheiding van mineraal stikstof ontstaat, wat gemeten wordt als een toename van de netto N-mineralisatie. De negatieve invloed van de schimmelmassa op de mineralisatie lijkt erop te wijzen dat schimmels stikstof vastleggen (immobiliseren). De N-voorraad in schimmels kan weer

vrijkomen in de vorm van minerale stikstof via begrazing van schimmels door potwormen, nematoden of mijten.



Figuur 13

Schematische weergave van de N-voorraden in groepen bodemorganismen en de verschillende stikstofstromen in afhankelijkheid van de zuurgraad (pH). Verhoudingen zijn niet op schaal! De bruto N-mineralisatie verbeeldt de omvang van de stikstofstroom die door afbraakprocessen vrijkomt. De N-immobilisatie verbeeldt de stikstof die, na vrijgekomen te zijn, weer onmiddellijk door bodemorganismen op een hoger trofisch niveau in lichaamseiwitten wordt ingebouwd en vastgelegd. De netto N-mineralisatie verbeeldt de stikstofstroom die niet wordt vastgelegd door bodemorganismen en beschikbaar is voor de productie van droge stof van planten. De peilen verbeelden de belangrijkste N-stromen tussen bodemorganismen, die ontstaan door 'graasactiviteiten' in het bodemvoedselweb. De bron van alle omzettingen is strooisel. Naarmate de pH hoger is, wordt strooisel afgebroken en blijven verteerde uitscheidingsproducten als gehumificeerde stabiele organische stofverbindingen achter die o.a. door regenwormen met minerale delen vermengd worden tot een homogene Ah-horizont.



Figuur 14

Verband tussen de fractie microben van de totale bodemfauna en de N-immobilisatieconstante.

Er bleek een positief verband te zijn tussen de netto N-mineralisatie en de bacteriële delingsactiviteit maar niet met de bacteriële massa. Bovendien bleek de netto N-mineralisatie positief gecorreleerd met de hoeveelheid nematoden. Hieruit kan worden afgeleid dat bacteriën door nematoden via begrazing tot delingsactiviteit worden aangezet. Nematoden bouwen daarbij bacterieel stikstof in hun lichaamseiwitten in (N-immobilisatie), maar zullen een deel daarvan weer als minerale stikstof uitscheiden. Interessant is te constateren dat een toename van biomassa in potwormen en nematoden tot een versterkte netto N-mineralisatie leidt en een toename van biomassa in regenwormen tot een versterkte immobilisatie. Dit lijkt erop te wijzen dat in lagere trofische niveaus (potwormen, nematoden) de efficiency om stikstof vast te houden (immobiliseren) in lichaamseiwitten kleiner is dan in hogere trofische niveaus (regenwormen).

Onder zure omstandigheden breekt organische stof moeilijk af. Daardoor accumuleert moeilijk verteerbare (recalcitrante) organische stof in de vorm van een LF-horizont op het maaiveld. Tegelijkertijd zagen we dat onder zure omstandigheden en accumulatie van organische stof de schimmelmassa positief wordt beïnvloedt wat een negatief effect op de netto N-mineralisatie had. Potwormen bleken juist een positief effect te hebben op de netto N-mineralisatie. Dit suggereert een negatieve relatie tussen schimmels en potwormen. De positieve invloed van potwormen op de N-mineralisatie lijkt dus te verlopen via schimmels. Schimmels zijn bij uitstek in staat om de stikstof in de recalcitrante fractie organische stof te ontsluiten (Brady, 1974) en nemen de gemineraliseerde stikstof op voor eiwitsynthese. Stikstof wordt dus geïmmobiliseerd door schimmels. Potwormen grazen o.a. op schimmels en scheiden de in schimmels vastgelegde stikstof weer uit in de vorm van minerale stikstof. Meer schimmelmassa leidt tot N-immobilisatie, maar de geïmmobiliseerde stikstof kan door potwormen weer worden ontsloten via vraat en N-uitscheiding. Onder zure omstandigheden kan de N-mineralisatie dus alleen gestimuleerd worden door grazen of browsen via een hoger trofisch niveau, zoals potwormen of nematoden. Onder zure omstandigheden lijken er dus twee kanalen in het bodemvoedselweb te zijn voor N-transfer: i) via schimmels naar potwormen en ii) via bacteriën naar nematoden. In zure systemen lijken bacteriën en vooral schimmels in het bodemvoedselweb de belangrijkste N-sink te vormen. Deze micro-organismen vormen daardoor ook de belangrijkste N-bron voor grazers als nematoden en potwormen. Mijten lijken kwantitatief nauwelijks een rol te spelen. In zure systemen lijken potwormen en nematoden daarom de belangrijkste producenten van minerale stikstof. Als de N-mineralisatie moet worden onderdrukt zou de schimmelmassa moeten toenemen en de graasactiviteiten van potwormen (of nematoden) moeten afnemen. We hadden immers waargenomen dat schimmels C en N assimileren.

Naarmate omstandigheden minder zuur zijn neemt de schimmelinval af en wordt de decompositie en N-mineralisatie overgenomen door bacteriën. Bacteriën worden begraasd door nematoden of protozoa. Nematoden beïnvloeden de N-mineralisatie positief, terwijl protozoa juist de immobilisatie stimuleren. Bacteriën en protozoa worden door regenwormen geïnoculeerd in microhabitats van de bodem, waardoor zij zich uitbreiden en er meer stikstof in biomassa wordt vastgelegd. Onder basenrijkere omstandigheden lijkt de N-transfer dus te verlopen van bacteriën via protozoa naar wormen, waarbij regenwormen de belangrijkste N-sink vormen. Onder basenrijke omstandigheden is de behoefte aan N van het bodemleven zo sterk dat er nauwelijks minerale N beschikbaar is voor de plantengroei.

5.3 Herstelmaatregelen?

Bacteriële activiteit is op gang te helpen door de zuurgraad te verlagen (o.a. bekalking) in combinatie met toename van de graasdruk door bacterivore nematoden, protozoa, potwormen of regenwormen. In verzuurde systemen is vaak veel recalcitrante organische stof in de strooisellaag opgeslagen. Dergelijke organische stof kan alleen door specialistische organismen zoals schimmels worden ontsloten. Bacteriën zijn hiertoe niet in staat. Het is dus twijfelachtig of bacteriën na bekalking in staat zijn de recalcitrante organische stof af te breken en de strooisellaag te doorbreken en op te ruimen. Eerst zal de recalcitrante organische stof moeten worden verwijderd of schimmels moeten worden geïntroduceerd in afwezigheid van begrazers.

Regenwormen en in mindere mate potwormen bevorderen de verspreiding van bacteriën door inoculatie van de bodem via het maag-darm kanaal. Hiermee is in wezen de vraag beantwoord hoe de N-balans tussen bovengronds en ondergronds leven in de richting van het ondergronds leven verschoven kan worden: in van nature zure systemen strooiselverwijdering in combinatie met enige bekalking of introductie van schimmels. In van nature basenrijkere systemen bekalking in combinatie met activering van bacteriën door bacterivore mesofauna. Daarbij is er keuze uit nematoden, potwormen en regenwormen. Omdat het schimmel-potworm kanaal ter vergroting van de N-immobilisatie vooral in zuurdere systemen functioneert, lijkt het bacteriën-protozoa-regenwormen kanaal de meest voor de hand liggende keuze in basenrijkere systemen. Wellicht is uitbrengen van stalmest een optie om bodemactiviteit te stimuleren. Eerst zal hiermee echter experimentele ervaring moeten worden opgedaan.

Literatuur

Bloem, J., D.W. Hopkins en A. Benedetti (Eds.), 2005. *Microbiological methods for assessing soil quality*. CABI Publishing, Wallingford, UK.

Brady, N.C., 1974. *The nature and properties of soils*. 8th Edition. Macmillan Publishing co. New York, London.

Didden, W.A.M., J.C.Y. Marinissen, M.J. Vreeken-Buijs, S.L.G.E. Burgers, R. de Fluiter, M. Geurs en L. Brussaard. 1994. Soil meso- and macrofauna in two agricultural systems: factors affecting population dynamics and evaluation of their role in carbon and nitrogen dynamics. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 51: pp. 171-186.

Feddes, R.A., 1971. *Water, heat and crop growth*. Dissertation Agricultural University. Wageningen.

Hommel, P.W.F.M. (red.), R.J. Bijlsma, K.A.O. Eichhorn, R.H. Kemmers, J. den Ouden, J.H.J. Schaminée en R.W. de Waal. 2010. *Mogelijkheden voor herstelbeheer in hellingbossen op kalkrijke bodem in Zuid-Limburg. Resultaten eerste onderzoekfase*. Rapport DKI nr. 2010/dk140-O.

Kemmers, R., H. van Dobben, W. Wamelink en A. Jansen, 2007. *Effecten van het generieke milieubeleid op het terugdringen van de verzuring en op het herstel van natuurwaarden in multifunctionele bossen op arme zandgronden*. Wageningen, Alterra, Alterra-rapport 1531.

Kemmers, R.H., J. Bloem en J. Faber, 2009. *De betekenis van bodembiota voor stikstofstromen naar de vegetatie in schraalgraslanden*. Wageningen, Alterra, Alterra-Rapport 1799.

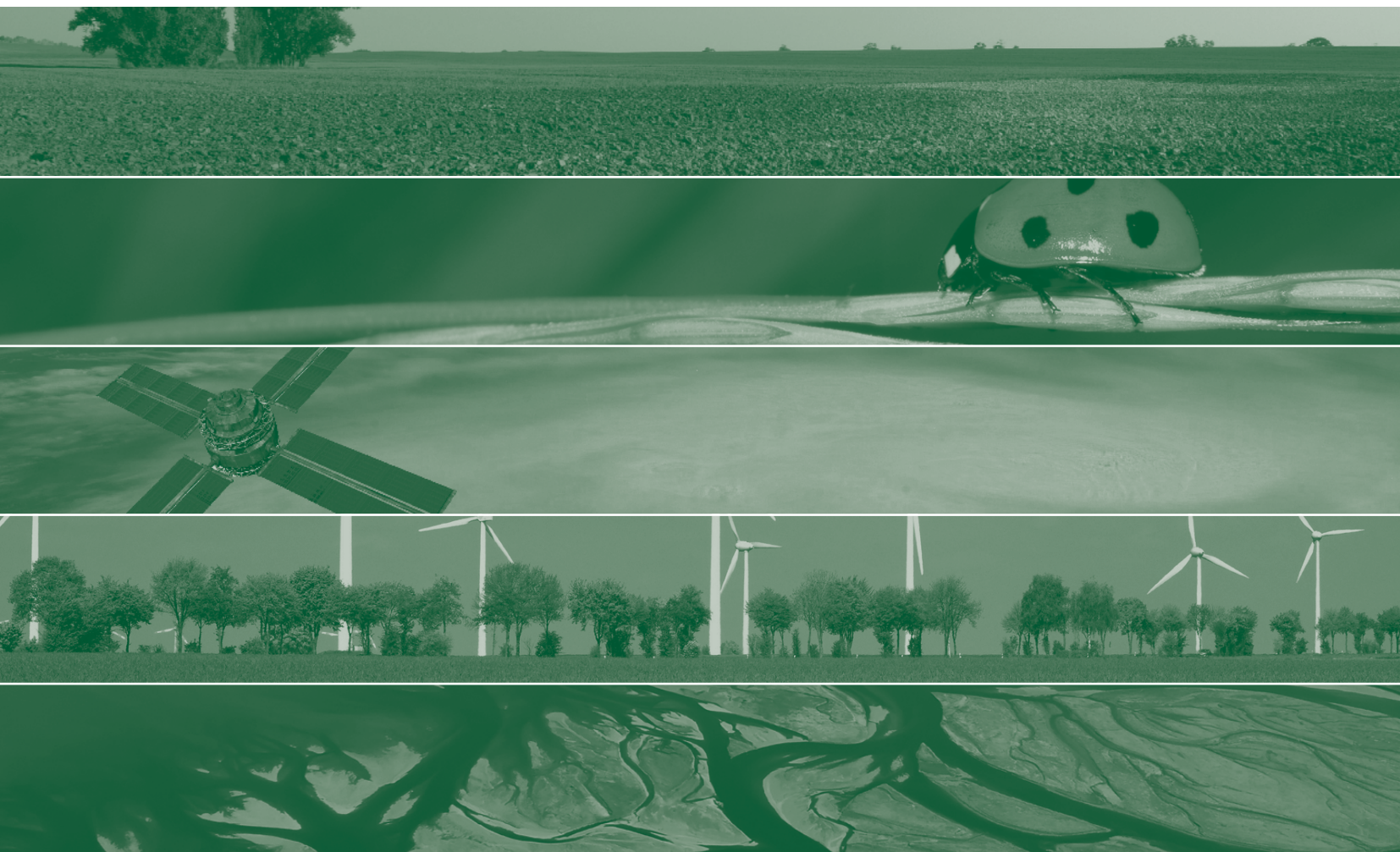
Kemmers, R., P. Brinkman, J. Bloem, J. Faber en W. van der Putten. 2011a. Is bodembiodiversiteit belangrijk voor natuurherstel? *De Levende Natuur* 112 (1): pp. 4-9.

Kemmers, R.H., S.P.J. van Delft, A.W. Boxman en M.T. Veerkamp, 2011b. Monitoring proefprojecten plaggen in naaldbos van de arme zandgronden; Eindrapportage 2011. OBN-rapport in druk.

Olsthoorn, A.F.M., C.A. van den Berg en J.J. de Gruyter, 2006. *Evaluatie van bemesting en bekalking in bossen en de ontwikkeling in onbehandelde bossen*. Wageningen. Alterra. Alterra-deelrapport A1.1.

Payne, R.W. (ed.). 2000. The guide to GenStat®; part 2: Statistics. VSN International Ltd. Oxford, UK.

Vries, F.T. de, 2009. Soil fungi and nitrogen cycling; causes and consequences of changing fungal biomass in grasslands. Ph. D Thesis. Wageningen University and Research center. Wageningen.



Alterra is onderdeel van de internationale kennisorganisatie Wageningen UR (University & Research centre). De missie is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen UR bundelen negen gespecialiseerde en meer toegepaste onderzoeksinstituten, Wageningen University en hogeschool Van Hall Larenstein hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 40 vestigingen (in Nederland, Brazilië en China), 6.500 medewerkers en 10.000 studenten behoort Wageningen UR wereldwijd tot de vooraanstaande kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen natuurwetenschappelijke, technologische en maatschappijwetenschappelijke disciplines vormen het hart van de Wageningen Aanpak.

Alterra Wageningen UR is het kennisinstituut voor de groene leefomgeving en bundelt een grote hoeveelheid expertise op het gebied van de groene ruimte en het duurzaam maatschappelijk gebruik ervan: kennis van water, natuur, bos, milieu, bodem, landschap, klimaat, landgebruik, recreatie etc.

Meer informatie: www.alterra.wur.nl