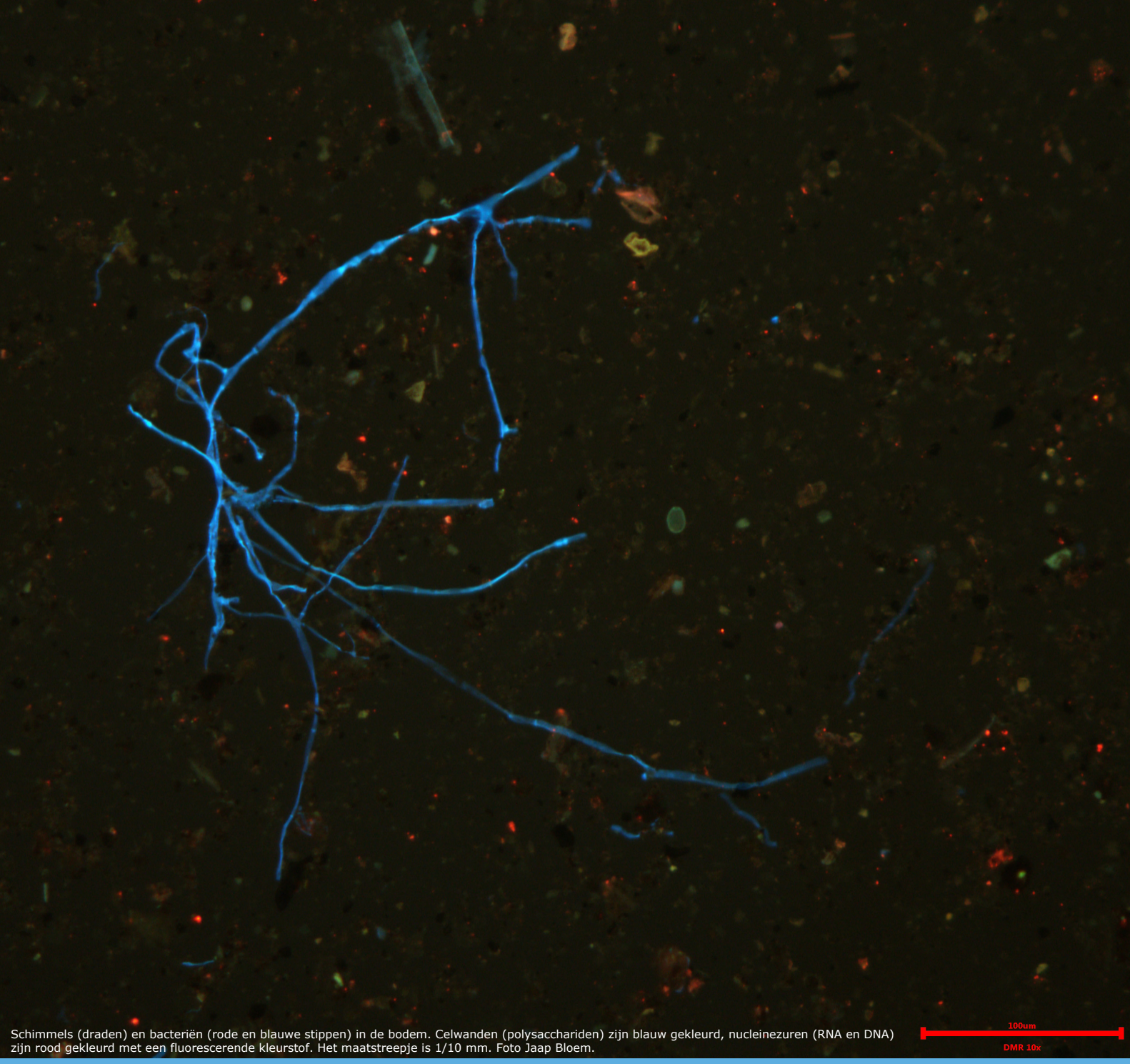


Schimmels (draden) en bacteriën (rode en blauwe stippen) in de bodem. Celwanden (polysacchariden) zijn blauw gekleurd, nucleinezuren (RNA en DNA) zijn rood gekleurd met een fluorescerende kleurstof. Het maatstreepje is 1/10 mm. Foto Jaap Bloem.

Verandering in microbiële samenstelling van zandgrond na mengen met urine, feces, of drijfmest van melkkoeien

H.C. De Boer, J. Bloem

Openbaar
Rapport 1413

WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH

Verandering in microbiële samenstelling van zandgrond na mengen met urine, feces, of drijfmest van melkkoeien

Herman de Boer[1)]
Jaap Bloem[2)]

1 Wageningen Livestock Research
2 Wageningen Environmental Research

Dit onderzoek is uitgevoerd door Wageningen Livestock Research en Wageningen Environmental Research, en gefinancierd door het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, binnen het KennisBasisproject 'Circular and climate neutral society' (KB-34-008-001)

Wageningen Livestock Research
Wageningen, maart 2023

Rapport 1413

WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH

De Boer, H.C., Bloem, J., 2023. *Verandering in microbiële samenstelling van zandgrond na mengen met urine, feces, of drijfmest van melkkoeien.* Wageningen Livestock Research, Openbaar Rapport 1413.

Dit rapport is gratis te downloaden op https://doi.org/10.18174/589822 of op www.wur.nl/livestock-research (onder Wageningen Livestock Research publicaties).

Dit werk valt onder een Creative Commons Naamsvermelding-Niet Commercieel 4.0 Internationaal-licentie.

© Wageningen Livestock Research, onderdeel van Stichting Wageningen Research, 2023
De gebruiker mag het werk kopiëren, verspreiden en doorgeven en afgeleide werken maken. Materiaal van derden waarvan in het werk gebruik is gemaakt en waarop intellectuele eigendomsrechten berusten, mogen niet zonder voorafgaande toestemming van derden gebruikt worden. De gebruiker dient bij het werk de door de maker of de licentiegever aangegeven naam te vermelden, maar niet zodanig dat de indruk gewekt wordt dat zij daarmee instemmen met het werk van de gebruiker of het gebruik van het werk. De gebruiker mag het werk niet voor commerciële doeleinden gebruiken.

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

Wageningen Livestock Research is NEN-EN-ISO 9001:2015 gecertificeerd.

Op al onze onderzoeksopdrachten zijn de Algemene Voorwaarden van de Animal Sciences Group van toepassing. Deze zijn gedeponeerd bij de Arrondissementsrechtbank Zwolle.

Openbaar Wageningen Livestock Research Rapport 1413

Inhoud

Samenvatting **5**

1 Inleiding **7**

2 Materiaal en methoden **9**

2.1 Algemeen 9
2.2 Proefopzet 9
2.2.1 Proef met alleen drijfmest 9
2.2.2 Proef met urine, feces, en drijfmest 9
2.2.3 Proef met toenemende ouderdom van drijfmest 9
2.3 Proefuitvoer 10
2.3.1 Mestverzameling en mestanalyse 10
2.3.2 Grondverzameling en grondanalyse 11
2.3.3 Incubatie en respiratiemeting 11
2.3.4 PLFA-meting 12
2.3.5 Berekeningen en statistische analyse 12

3 Resultaten **13**

3.1 Samenstelling van mest en grond 13
3.2 Effecten van alleen drijfmest 14
3.3 Effecten van urine, feces, en drijfmest 18
3.4 Effecten van mestouderdom 29

4 Discussie **34**

4.1 Rol van functionele groepen bij de afbraak van organische stof 34
4.2 Effecten van drijfmest 34
4.3 Effecten van urine en feces 36
4.4 Effect van toenemende ouderdom van drijfmest 37
4.5 Remming van C-mineralisatie 38

Conclusies **39**

Dankwoord **40**

Literatuur **41**

Samenvatting

Voor een goede benutting van dierlijke mest in de kringloop is het belangrijk dat de organische stof (OS) uit mest in de bodem voldoende snel wordt omgezet en afgebroken door micro-organismen (vooral bacteriën en schimmels). Bemesting van de bodem met rundveedrijfmest betekent toediening van extra voedsel voor de micro-organismen, waardoor hun aantal kan toenemen en de verhouding tussen hun functionele groepen kan veranderen. In eerder onderzoek onder laboratoriumomstandigheden, een vereenvoudiging van de situatie in het veld, werd geconstateerd dat de toediening van drijfmest de afbraak van grond-OS (tijdelijk) kan remmen en dat deze remming wordt veroorzaakt door de urine in drijfmest. Het is echter niet duidelijk welke functionele groepen worden beïnvloedt en verantwoordelijk zijn voor de remming.

Drijfmest wordt gevormd door samenvoeging van apart uitgescheiden urine en feces. Beide componenten verschillen in samenstelling en eigenschappen, en daardoor waarschijnlijk ook in hun effect op de diverse functionele groepen na toediening aan de bodem. Van belang is om vast te stellen welke effecten beide componenten hebben en of deze effecten wezenlijk veranderen als urine en feces gemengd worden toegediend, als drijfmest. Het effect van drijfmest op micro-organismen in de bodem kan daarnaast ook afhankelijk zijn van de hoeveelheid energie in de drijfmest. Tijdens de opslag en veroudering van drijfmest verandert de samenstelling en neemt de hoeveelheid energie af, wat de vraag oproept welke effecten de opslagduur heeft op de functionele groepen.

Om bovenstaande vragen te kunnen beantwoorden zijn drie laboratoriumproeven uitgevoerd waarin effecten werden onderzocht van 1) de toediening van rundveedrijfmest; 2) de (gescheiden) toediening van urine en feces vergeleken met de gezamenlijk toediening als drijfmest; en 3) de ouderdom van toegediende drijfmest, op de functionele groepen van micro-organismen. Hypothesen waren dat 1) gescheiden toediening van urine en feces de groei van micro-organismen meer stimuleert dan de gezamenlijke toediening als drijfmest; en 2) versere mest, ofwel mest met een korte opslagduur, de groei van bepaalde functionele groepen micro-organismen meer of langer stimuleert dan oudere mest. Bij elke proef werd verse zandgrond wel of niet gemengd met rundveedrijfmest (of haar componenten) en geïncubeerd voor een periode toenemend tot 168 dagen, bij een temperatuur van 20°C en een vochtgehalte van de grond van 60% van het waterhoudende vermogen. In de tweede proef werden toenemende hoeveelheden verse urine en feces apart of gezamenlijk met grond gemengd. In de derde proef werd vers verzamelde rundveedrijfmest toegediend, die na verzameling opgeslagen was geweest voor 0, 28, 56, 84, en 119 dagen. Bij alle proeven werden de behandelingen op meerdere tijdstippen bemonsterd en geanalyseerd op de samenstelling van de fosfolipide vetzuren ('Phospholipid Fatty Acids'; PLFA). Uit deze samenstelling werd voor diverse functionele groepen micro-organismen de hoeveelheid biomassa afgeleid.

Uit de resultaten blijkt dat mengen van drijfmest met zandgrond in alle drie proeven een langdurige verhoging gaf van saprotrofe schimmels en Gram-negatieve (GN) bacteriën, en in twee proeven ook van actinomyceten. Hierdoor was de schimmel/bacterieverhouding langdurig hoger en de verhouding Gram-positieve/Gram-negatieve bacteriën langdurig lager. De PLFA van Gram-positieve (GP) bacteriën was in de eerste proef (tijdelijk) verlaagd als gevolg van de toediening van drijfmest, en in de tweede proef als gevolg van de toediening van urine. Mengen van verse urine met zandgrond had vrijwel geen effect op de schimmel-PLFA, gaf een overwegend lagere PLFA van GP bacteriën, en had een groter positief effect op de PLFA van GN bacteriën en actinomyceten dan de toediening van verse feces. Zowel bij toediening van verse urine als verse drijfmest was de verhouding GP/GN bacteriën aanzienlijk lager dan bij toediening van verse feces of vergeleken met de niet-bemeste zandgrond. Bij drijfmest werd deze lagere verhouding vooral veroorzaakt door de bijdrage van de urine.

Gezamenlijke toediening van verse urine en verse feces, als drijfmest, gaf tijdens het eerste deel van de proefperiode meer PLFA dan gescheiden toediening. Bij de bacteriën en actinomyceten was dit vooral tijdens de eerste 56 dagen, en bij de saprotrofe schimmels tussen dag 7 en 28 en na dag 56.

Gemiddeld over de proefperiode was de schimmel-PLFA bij gescheiden toediening significant lager ($P < 0,05$) dan bij gezamenlijke toediening. Er is daarmee in het voorliggende onderzoek geen bewijs gevonden voor de hypothese dat gescheiden toediening van urine en feces de groei van micro-organismen meer stimuleert dan de gezamenlijke toediening als drijfmest, eerder voor het tegendeel. De hogere groei van micro-organismen bij gezamenlijke in plaats van gescheiden toediening werd waarschijnlijk veroorzaakt door de extra minerale N uit de urine.

Remming van de mineralisatie van grond-C, zoals gemeten in een parallel uitgevoerde C-mineralisatieproef, kon op basis van de PLFA-metingen alleen worden verklaard door een (tijdelijk) negatief effect van urine op de groei van GP bacteriën. Tot slot werd er in het voorliggende onderzoek geen bewijs gevonden voor de hypothese dat versere mest, ofwel mest met een korte opslagduur, de groei van bepaalde functionele groepen micro-organismen meer of langer stimuleerde dan oudere mest.

1 Inleiding

Om kringlopen zoveel mogelijk te sluiten is het essentieel dat dierlijke mest, zoals drijfmest, zo goed mogelijk wordt benut door de bodem en het gewas. Voor een goed functionerende bodem en een voldoende snelle levering van nutriënten aan gewassen moet de organische stof (OS) uit mest in de bodem voldoende snel afbreken. Deze afbraak wordt uitgevoerd door micro-organismen, waaronder de functionele groepen bacteriën en schimmels. Toediening van drijfmest aan de grond betekent toediening van extra voedsel, waardoor aantal en activiteit van de micro-organismen toenemen en verhoudingen tussen de functionele groepen kunnen veranderen. Het is van belang om te weten in hoeverre de activiteit van micro-organismen wordt gestimuleerd en voor hoe lang, en of en hoe onderlinge verhoudingen veranderen. Eerder werd in laboratoriumonderzoek geconstateerd dat de toediening van drijfmest de afbraak van bodem-OS kan remmen (De Boer et al. 2018), wat betekent dat de activiteit van micro-organismen negatief wordt beïnvloed. Niet bekend is welke functionele groep(en) dit betreft.

Rundveedrijfmest wordt gevormd door het samenvoegen van urine en feces, die door de koe apart worden uitgescheiden. Beide componenten verschillen duidelijk in samenstelling en eigenschappen, wat leidt tot een verschil in afbraak van hun OS in de bodem (De Boer, 2023a) en waarschijnlijk ook tot verschillen in samenstelling van de micro-organismen. De aparte toediening van urine en feces kan mogelijk andere effecten op de micro-organismen hebben dan de gezamenlijke toediening als drijfmest. Het is van belang om vast te stellen of en welke verschillen er op treden, om later te kunnen beoordelen of gescheiden toediening op dit punt voordelen heeft boven gezamenlijke toediening.

Het effect van rundveedrijfmest op de activiteit en samenstelling van micro-organismen is in belangrijke mate afhankelijk van de hoeveelheid energie die in de mest aanwezig is (Van Vliet et al., 2007; Meyer et al., 2019). Tijdens de opslag van drijfmest, meestal in de kelder onder de roostervloer van de melkveestal, verandert de samenstelling als gevolg van omzettingen en neemt de hoeveelheid OS af. Hoe langer de mest is opgeslagen, des te minder OS aanwezig is en toegediend kan worden bij bemesting. De lengte van de opslagduur en de daarmee gepaard gaande 'veroudering' van de mest kan na bemesting gevolgen hebben voor de hoeveelheid en samenstelling van micro-organismen in de grond, en, afhankelijk van mogelijke effecten kan het voordelig zijn om versere of juist oudere drijfmest toe te dienen.

Het verzamelen van meer informatie over bovenstaande aspecten is niet alleen van belang voor het optimaliseren van het gebruik van dierlijke mest in de kringloop, maar kan ook bijdragen aan de beantwoording van een langer bestaande vraag in hoeverre (rundvee)drijfmest een negatief effect heeft op bodemleven. In het voorliggende onderzoek betreft dit alleen micro-organismen, vooral schimmels en bacteriën. De huidige opvatting is dat toediening van rundveedrijfmest vooral de activiteit van bacteriën stimuleert (Van Eekeren et al., 2009), maar dat de stikstof (N) in drijfmest een negatief effect heeft op de hoeveelheid bodemschimmels (De Vries et al., 2006, 2007, 2009).

Om een bijdrage te leveren aan beantwoording van bovenstaande vragen zijn drie incubatieproeven uitgevoerd waarin het effect van de toediening van mest op de hoeveelheid en samenstelling van de micro-organismen is onderzocht. Onderwerpen van deze proeven waren achtereenvolgens het effect van 1) de toediening van rundveedrijfmest; 2) de (gescheiden) toediening van urine en feces, vergeleken met de gezamenlijk toediening als drijfmest; en 3) de ouderdom van toegediende drijfmest. De opzet, uitvoering, en resultaten van deze proeven zijn gezamenlijk beschreven in het voorliggende rapport.

2 Materiaal en methoden

2.1 Algemeen

Elke incubatieproef waarin het effect van mesttoediening op de hoeveelheid en samenstelling van micro-organismen werd gemeten (via PLFA) werd parallel uitgevoerd aan een identieke incubatieproef waarin de C-respiratie werd gemeten. Voor de opzet van de PLFA-proef werd steeds een subset behandelingen overgenomen uit de opzet van de C-respiratieproef. Bij alle incubatieproeven werd een verse zandgrond gemengd met mest en voor een bepaalde periode geïncubeerd in glazen flessen. De C-respiratieproeven duurden 168 dagen en in deze periode werd steeds gemeten aan dezelfde flessen. De PLFA-proeven varieerden in proefduur en de flessen werden vanwege het destructieve karakter van de PLFA-bemonstering (na bemonstering was de inhoud van een fles niet meer bruikbaar) in veelvoud ingezet, in overeenstemming met het aantal meetmomenten. Bij de C-respiratieproeven werden de behandelingen herhaald in drie gerandomiseerde blokken (eerste twee proeven) of twee gerandomiseerde blokken (derde proef), bij de PLFA-proef steeds in twee gerandomiseerde blokken. In de C-respiratieproeven werd gemeten op dag 1, 3, 7, 14, 28, 56, 84, 112, 140, en 168 na het inzetten van de proef, en bij de PLFA-proeven werden de bemonsteringen uitgevoerd op een selectie van deze meetmomenten. De proefopzet en uitvoering van de drie C-respiratieproeven zijn beschreven in respectievelijk De Boer (2021), De Boer (2023a), en De Boer (2023b). Hierna volgt een verkorte beschrijving van de proefopzet van C-respiratieproeven en een volledige beschrijving van de proefopzet van de PLFA-proeven.

2.2 Proefopzet

2.2.1 Proef met alleen drijfmest

De eerste C-respiratieproef bestond uit twee deelproeven (De Boer, 2021). Voor de PLFA-proef zijn twee behandelingen uit de tweede deelproef overgenomen: de behandeling met 1) alleen zandgrond en 2) zandgrond gemengd met rundveedrijfmest. De PLFA-proef werd 7 dagen (blok 1) of 8 dagen (blok 2) later ingezet dan de C-respiratieproef, en werd bemonsterd op dag 1, 3, 7, 14, 28, 56, en 84.

2.2.2 Proef met urine, feces, en drijfmest

Bij de tweede C-respiratieproef werd een zandgrond wel of niet gemengd met rundvee-urine, rundveefeces, of rundveedrijfmest (het mengsel van de urine en de feces), bij een indicatieve dosering van 4, 8, 12, of 16 ton ha^{-1} voor alleen urine; 6, 12, 18, of 24 ton ha^{-1} voor alleen feces, en 10, 20, 30, of 40 ton ha^{-1} voor de drijfmest. De indicatieve dosering werd berekend op basis van het grondoppervlak in de fles. Voor de PLFA-proef werden vier van de 13 behandelingen overgenomen: de behandeling met 1) alleen zandgrond, 2) zandgrond gemengd met 12 ton ha^{-1} urine, 3) zandgrond gemengd met 18 ton ha^{-1} feces, en 4) zandgrond gemengd met 30 ton ha^{-1} drijfmest. De PLFA-proef werd een dag later ingezet dan de C-respiratieproef, en werd bemonsterd op dag 7, 14, 28, 56, 84, en 168.

2.2.3 Proef met toenemende ouderdom van drijfmest

Bij de derde C-respiratieproef werd een zandgrond wel of niet gemengd met rundveedrijfmest met een opslagduur toenemend van 0 tot 119 dagen, in totaal 22 opslagperiodes. Voor de PLFA-proef werden vijf van de 22 periodes overgenomen, de drijfmesten met een opslagduur van respectievelijk 0, 28, 56, 84, en 119 dagen. De PLFA-proef werd een dag later ingezet dan de C-respiratieproef, en werd bemonsterd op dag 0 (alleen controle), 7, 14, 28, en 56.

2.3 Proefuitvoer

2.3.1 Mestverzameling en mestanalyse

Eerste proef
Voor de eerste proef werd de rundveedrijfmest op 30 juli 2019 verzameld uit de kelder van een melkveebedrijf waar de koeien jaarrond op stal stonden. Het rantsoen van de koeien bevatte een bovengemiddelde hoeveelheid snijmaïs. Op het moment van verzameling was de mest gemiddeld bijna 2 maanden oud. Na monstername werden de monsters bewaard bij 4°C tot het moment van inzet in de PLFA-proef en de analyse op samenstelling.

Tweede proef
Voor de tweede proef werden urine en feces verzameld uit meetstallen op proeffaciliteit Dairy Campus (Leeuwarden). De melkkoeien in deze stallen stonden jaarrond op stal en werden gevoerd met een regulier rantsoen, grotendeels bestaande uit kuilgras (70% van ruwvoer-DS) en snijmaïs (30% van ruwvoer-DS). De urine werd verzameld op 12 januari 2021 uit het opvangvat (IBC, 1000 l) van het in stal 70 aanwezige Hanskamp CowToilet (Hanskamp, Doetinchem). Op het moment van verzamelen bevatte het opvangvat 630 liter, de opgevangen hoeveelheid van vier dagen, en was de urine gemiddeld twee dagen oud. Na mengen van de urine in het vat werd er met een multisampler (lengte 1,8 m, ø 35 mm; Eijkelkamp, Giesbeek) van bovenaf een monster van enkele liters genomen, gemengd in een emmer, en werd daaruit een submonster van 0,9 l genomen en ingevroren bij -18°C. Op vrijdag 26 februari werd dit monster ontdooid en daarna bewaard bij 4°C. De feces werden op 28 februari verzameld uit de verse productie van zes koeien in stal 60, meteen na uitscheiding op de stalvloer. Na mengen werd een submonster genomen en bewaard bij 4°C. Een ander deel van de gemengde feces werd met urine uit de koeling gemengd tot drijfmest in de verhouding 60 : 40 (w/w), op hoofdlijn overeenkomstig de verhouding waarin urine en feces door de koe worden uitgescheiden. De drie monsters werden daarna bewaard bij 4°C tot het moment van inzet in de proef en de analyse op samenstelling.

Derde proef
Voor de derde proef werd op 22 december 2021 een partij verse drijfmest samengesteld uit verse urine en verse feces die op die dag werden verzameld uit stal 70 (urine) en stal 60 (feces) op proeffaciliteit Dairy Campus (Leeuwarden). De koeien in deze stallen stonden jaarrond op stal en werden gevoerd met een regulier rantsoen, grotendeels bestaande uit kuilgras (70% van ruwvoer-DS) en snijmaïs (30% van ruwvoer-DS). De urine werd verzameld uit het opvangvat van het Hanskamp CowToilet dat op het moment van verzamelen tenminste 160 liter bevatte, de opgevangen hoeveelheid van ruim een dag, met een gemiddelde ouderdom van 0,6 dag. Na mengen werd er een ruime hoeveelheid urine uit het vat gehaald. Hiervan werd 11,6 kg gemengd met 18,6 kg verse feces, verzameld uit de verse productie van acht verschillende koeien, meteen na uitscheiding op de stalvloer. De mengverhouding urine : feces was 38 : 62 (w/w), op hoofdlijn overeenkomstig de verhouding waarin urine en feces door de koe worden uitgescheiden.

De partij verse drijfmest werd verdeeld over vier nieuwe en schone emmers van ieder 10 l. Deze werden luchtdicht afgesloten met een deksel en gedurende 119 dagen weggezet bij een temperatuur van gemiddeld 17,4°C (De Boer, 2023b). De emmers werden de eerste 11 weken iedere dag ontlucht en daarna eens per week. Eens per 3-4 dagen (eerste maand) of eens per week (laatste drie maanden) werd de drijfmest in de emmers grondig gemengd en werd met mest uit alle emmers een representatief mengmonster van 0,8 liter samengesteld en daarna ingevroren bij -18°C. Op zaterdag 14 mei werden de 22 monsters uit de vriezer gehaald en bij kamertemperatuur ontdooid. Na ontdooien werden de mestmonsters bewaard bij 4-6°C tot het moment van gebruik in de respiratieproef (maandag 16 mei) en daarna bewaard bij 4°C tot het moment van inzet in de PLFA-proef (dinsdag 17 mei) en de analyse op samenstelling.

De mesten van de drie proeven werden op samenstelling geanalyseerd door het Chemisch-Biologisch Laboratorium Bodem (CBLB, Wageningen) met steeds dezelfde methoden (zie De Boer 2021; De Boer (2023a; De Boer 2023b). De mest van de derde proef werd aanvullend ook geanalyseerd op het gehalte vluchtige vetzuren (‘Volatile Fatty Acids, VFA) (De Boer, 2023b).

2.3.2 Grondverzameling en grondanalyse

Eerste proef
Voor de eerste proef werd op 18 juli 2019 zandgrond verzameld op een perceel van proefbedrijf 'De Marke' waarop voor het derde opeenvolgende jaar snijmaïs werd verbouwd. De partij grond werd verzameld in het midden van twee rijen snijmaïsplanten, tot een diepte van 10 cm, opgeslagen bij kamertemperatuur, na drie dagen gezeefd op 6 mm en gemengd met water voor een (geschatte) toename in gravimetrisch vochtgehalte van 10%. Na vier dagen conditionering bij het hogere vochtgehalte werd de grond op 25 juli opgeslagen bij 4°C, op 8 augustus gemengd met de betonmolen, gezeefd (5 mm), bemonsterd voor analyse, en weer opgeslagen bij 4°C tot het moment van inzetten van de PLFA-proef.

Tweede proef
Voor de tweede proef werd op 1 februari 2021 zandgrond verzameld op een perceel blijvend grasland op esgrond, onder biologisch beheer en gelegen op voormalig proefbedrijf Aver Heino (Heino). De partij grond werd verzameld uit bodemlaag 5-10 cm na het verwijderen en deels uitschudden van de graszode, twee weken opgeslagen bij ca. 8°C, op 15 februari gemengd (betonmolen) en gezeefd (5 mm), daarna een dag aan de lucht gedroogd, bemonsterd voor analyse, en opgeslagen bij 4°C tot het moment van inzetten van de PLFA-proef.

Derde proef
Voor de derde proef werd op 29 april 2022 zandgrond verzameld op een perceel blijvend grasland te Midwolde, 18 jaar oud, de laatste 6-8 jaar onder biologisch beheer, en op het moment van verzamelen al ruim een maand regelmatig beweid. De partij grond werd verzameld uit bodemlaag 5-10 cm na het verwijderen en deels uitschudden van de graszode, opgeslagen bij 4°C, op 9 mei gemengd (betonmolen) en gezeefd (5 mm), 1,5 uur aan de lucht gedroogd, bemonsterd voor analyse, en vervolgens weer opgeslagen bij 4°C tot het moment van inzetten van de PLFA-proef.

De drie grondmonsters werden door het CBLB geanalyseerd (Houba et al. 1997) op: granulaire samenstelling (fractie klei, silt, zand), pH-KCl, pH-H_2O, organische stof, C-totaal (Kurmies), N-totaal, P-Al, K-HCl, en (ongebufferde) CEC.

2.3.3 Incubatie en respiratiemeting

Algemeen
De drie incubatieproeven werden uitgevoerd door het laboratorium van de Soil Biology Group (SBL, Wageningen). Bij alle proeven werden glazen flessen (ø 6,9 cm; 575 mL) gevuld met alleen zandgrond of mengsels van zandgrond en mest, en werd demiwater toegevoegd tot de grond op 60% van de vloeigrens was. Na het vullen werden de flessen gewogen, afgesloten met een prop watten, en weggezet bij 20°C, in het donker. Op het moment van bemonstering werden de relevante flessen uit de proef gehaald, werd de grond in de flessen gemengd, en werden per fles twee monsters van ca. 50 gram genomen en bij -80°C bewaard tot het moment van analyse op PLFA. Van de twee monsters werd dan een monster geanalyseerd en het andere aangehouden als reserve.

Eerste proef
Bij de eerste proef werden de flessen op 26 augustus (blok 1) of 27 augustus 2019 (blok 2) gevuld met alleen verse zandgrond (300 g op DS-basis) of zandgrond gemengd met drijfmest (11,1 g per fles), met een dosering in het eindmengsel (grond + mest + toegevoegd water) van 3% (w/w). Na het vullen werden de flessen weggezet en werden de relevante flessen bemonsterd na 1, 3, 7, 14, 28, 56, en 84 dagen incubatie.

Tweede proef
Bij de tweede proef werden de flessen op 2 maart 2021 gevuld met alleen zandgrond (300 g op DS-basis) of zandgrond gemengd met urine, feces, of drijfmest, op een (indicatief) niveau van respectievelijk 12, 18, of 30 ton ha^{-1}. De drijfmestgift was de som van de urine- en fecesgift. Toegediende hoeveelheden per fles waren respectievelijk 4,49 g urine, 6,73 g feces, en 11,22 g drijfmest.

Concentraties in het eindmengsel (grond + meststof + toegediend water) waren respectievelijk 1,25% voor urine, 1,88% voor feces, en 3,1% voor drijfmest. Na het vullen werden de flessen weggezet en werden de relevante flessen bemonsterd na 1 dag (alleen controle), 7, 14, 28, 56, 84, en 168 dagen incubatie.

Derde proef
Bij de derde proef werden de flessen op 16 mei 2022 gevuld met alleen zandgrond (300 g op DS-basis) of zandgrond gemengd met drijfmest die in opslag was geweest voor respectievelijk 0, 28, 56, 84, of 119 dagen. Per fles werd 11,06 g drijfmest toegediend en de concentratie in het eindmengsel (grond + mest + toegediend water) was 3%. Na het vullen werden de flessen weggezet en werden de relevante flessen bemonsterd na 1 dag (alleen controle), 7, 14, 28, en 56 dagen incubatie.

2.3.4 PLFA-meting

In de verzamelde monsters werd de structuur van de microbiële gemeenschap afgeleid van de hoeveelheid en samenstelling van de aanwezige fosfolipide vetzuren ('Phospholipid Fatty Acids'; PLFA). Na ontdooien van de monsters werden de PLFA geëxtraheerd uit een submonster van 4 gram grond en gemeten met gaschromatografie (Hewlett-Packard, Palo Alto, USA) zoals beschreven door Heijboer et al. (2016) en Frostegård et al. (1993) (meer details in Palojärvi, 2006). Bij de analyse werden de PLFA i15:0, a15:0, 15:0, i16:0, 16:1w9, i17:0, a17:0, cy17:0, 18:1w7, en cy19:0 gebruikt als vertegenwoordigers van de bacteriën; PLFA 18:2w6 als vertegenwoordiger van saprotrofe schimmels (ectomycorrhiza en arbusculaire mycorrhiza komen in dit type incubatieproeven niet voor); de PLFA i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, en a17:0 als vertegenwoordigers van de Gram-positieve (GP) bacteriën; PLFA cy17:0 en cy19:0 als vertegenwoordigers van Gram-negatieve (GN) bacteriën; en PLFA 10Me16:0, 10Me17:0, en 10Me18:0 als vertegenwoordigers van actinomyceten (Hedlund, 2002). Voor iedere groep werd het gewicht van de vertegenwoordigende PLFA gesommeerd.

Bij de eerste proef werden de PLFA-metingen in december 2019 uitgevoerd, in 1 meetronde. Bij de tweede proef werden de PLFA-metingen uitgevoerd in augustus 2021 (blok 1 in 1 meetronde) en oktober 2021 (blok 2 in 1 meetronde). Bij de derde proef werden de PLFA-metingen uitgevoerd in september 2022 (ieder blok in 1 meetronde).

2.3.5 Berekeningen en statistische analyse

Bij de eerste en tweede proef werd het gewogen gemiddelde van een parameter tijdens de proefperiode berekend door integratie over de tijd, waarbij de PLFA tussen twee opeenvolgende tijdstippen steeds werd gemiddeld. Bij de tweede proef werd het geschatte effect van gescheiden toediening berekend door de hoeveelheid PLFA van de urinebehandeling en fecesbehandeling bij elkaar op te tellen en hier 1x de waarde van de controle op in mindering te brengen.

Verschillen in hoeveelheden PLFA werden geanalyseerd met de procedure voor variantieanalyse (ANOVA) in statistisch pakket Genstat (Genstat, 19^{e} editie; VSNI, Hemel Hempstead, UK). *Treatment Structure* was 'Behandeling * Meetdag' en *Block Structure* was 'Blok'. Effecten van factoren werden eerst geanalyseerd met een F-toets, en bij significantie van de F-toets ($P < 0,05$) werden paarsgewijze verschillen tussen behandelingen getoetst met de t-toets ($\alpha = 0,05$). Verschillen werden aangeduid als 'significant' bij $P < 0,05$, tenzij anders aangegeven. Bij de parameters schimmel-PLFA en verhouding schimmel/bacterie PLFA was het niveau van het residu afhankelijk van het niveau van de gefitte waarden en werd de data van deze parameters voorafgaande aan de variantieanalyse getransformeerd met de natuurlijke logaritme (LN). Bij de tweede proef werden verschillen tussen gescheiden toediening van urine en feces en gezamenlijke toediening als drijfmest niet apart statistisch getoetst, maar beoordeeld op basis van de LSD's uit de analyses van de oorspronkelijke behandelingen. Bij de derde proef werd de variantieanalyse eerst per parameter uitgevoerd voor alle behandelingen inclusief controle, om effecten van de toediening van drijfmest te beoordelen, en daarna apart voor alle behandelingen exclusief de controle, om effecten van opslagduur van drijfmest te beoordelen.

3 Resultaten

3.1 Samenstelling van mest en grond

De samenstelling van de gebruikte mesten is gegeven in Tabel 1 (eerste en tweede proef) en Tabel 2 (derde proef), en de samenstelling van de zandgronden in Tabel 3 (alle proeven).

Tabel 1 *Samenstelling van de mesten gebruikt in de eerste twee proeven.*

Parameter	**Eenheid**	**Proef 1**	**Proef 2**		
		Drijfmest	*Urine*	*Feces*	*Drijfmest*
pH	-	7,7	9,0	6,6	7,7
EC	mS cm^{-1}	18	45	7	16
Drogestof	g kg^{-1} vers	64	43	135	95
Organische stof	g kg^{-1} vers	48	17	113	75
C-totaal	g kg^{-1} vers	26,1	5,6	60,0	38,5
C-organisch	g kg^{-1} vers	-[1)]	3,6	57,0	32,1
N-totaal	g kg^{-1} vers	3,5	6,8	4,4	5,3
NH_4-N	mg kg^{-1} vers	2039	2777	1	1988
C / N	-	7,5	0,8	13,6	7,3
P-totaal	mg kg^{-1} vers	424	8	880	576
K-totaal	mg kg^{-1} vers	2513	10523	641	4350

[1)] Niet gemeten; [2)] Gehalten weergegeven in mg kg^{-1} in plaats van g kg^{-1}, gelet op het lage gehalte van P-totaal in urine en van NH_4-N in feces

Tabel 2 *Samenstelling van de drijfmesten gebruikt in de derde proef.*

Parameter	**Eenheid**	**Opslagduur**				
		0 dagen	*28 dagen*	*56 dagen*	*84 dagen*	*119 dagen*
pH	-	7,8	7,4	7,2	7,3	7,4
EC	mS cm^{-1}	18	21	22	22	22
Drogestof	g kg^{-1} vers	93	86	84	82	79
Organische stof	g kg^{-1} vers	73	66	62	60	58
C-totaal	g kg^{-1} vers	40	36	34	34	31
C-organisch	g kg^{-1} vers	34	31	30	30	28
VFA[1)]	g kg^{-1} vers	2,9	9,1	11,2	10,3	9,6
VFA-C	g kg^{-1} vers	1,2	4,0	5,0	4,6	4,3
N-totaal	g kg^{-1} vers	4,0	4,1	4,1	4,1	4,1
NH_4-N	g kg^{-1} vers	1,2	1,8	2,0	2,1	2,2
C / N	-	9,9	8,8	8,4	8,3	7,5
P-totaal	g kg^{-1} vers	0,65	0,64	0,64	0,65	0,66
K-totaal	g kg^{-1} vers	5,5	5,5	5,4	5,3	5,4
S-totaal	g kg^{-1} vers	0,60	0,54	0,50	0,47	0,44

[1)] Vluchtige vetzuren, C2 t/m C7

Tabel 3 *Samenstelling van de zandgrond (laag 0-10 cm of 5-10 cm) gebruikt in de drie proeven. Waarden uitgedrukt op basis van drogen bij 40°C; minerale fracties op basis van drogen bij 105°C.*

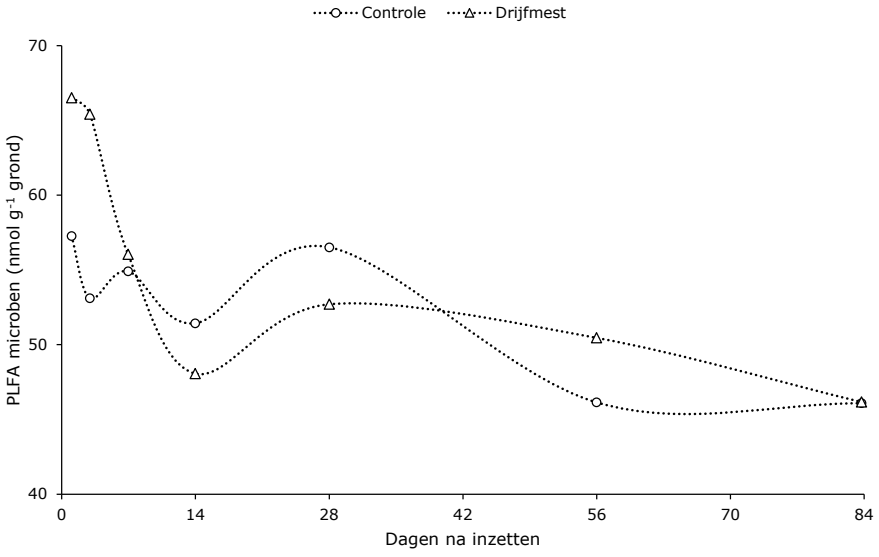
Parameter	Eenheid	Proef 1	Proef 2	Proef 3
Klei	%	3	2	5
Silt	%	7	4	9
Zand	%	83	87	74
pH-KCl	-	5,4	5,5	4,8
pH-H_2O	-	6,3	6,6	5,8
OS	%	5,3	5,4	7,6
C-totaal	g C kg^{-1}	26	29	40
N-totaal	g N kg^{-1}	1,6	2,2	2,8
P-Al	mg P kg^{-1}	332	141	133
K-HCl	mg K kg^{-1}	207	119	142
CEC	$cmol^{+}$ kg^{-1}	-[1)]	9,0	7,2

[1)] Niet gemeten

3.2 Effecten van alleen drijfmest

Alle microben

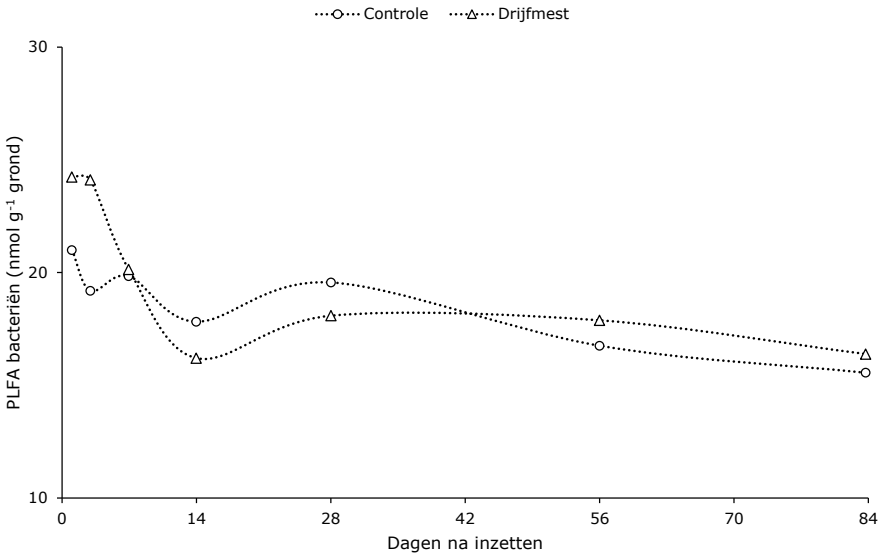
De microbiële PLFA was bij toediening van drijfmest op dag 1 en 3 hoger vergeleken met de controle met alleen zandgrond (Fig. 1). Variantieanalyse gaf een significant effect van behandeling, afhankelijk van meetdag (P = 0,01), met een significant hogere PLFA op dag 1 en 3 bij toediening van drijfmest vergeleken met de controle. Na dag 3 waren verschillen niet meer significant (P > 0,05). Het gewogen gemiddelde van de microbiële PLFA over de hele proefperiode was bij toediening van drijfmest (51,1 nmol g^{-1}) niet significant verschillend vergeleken met de controle (50,4 nmol g^{-1}) (P = 0,19).



Figuur 1 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van alle microben in een zandgrond na wel of niet mengen met rundveedrijfmest.*

Alle bacteriën

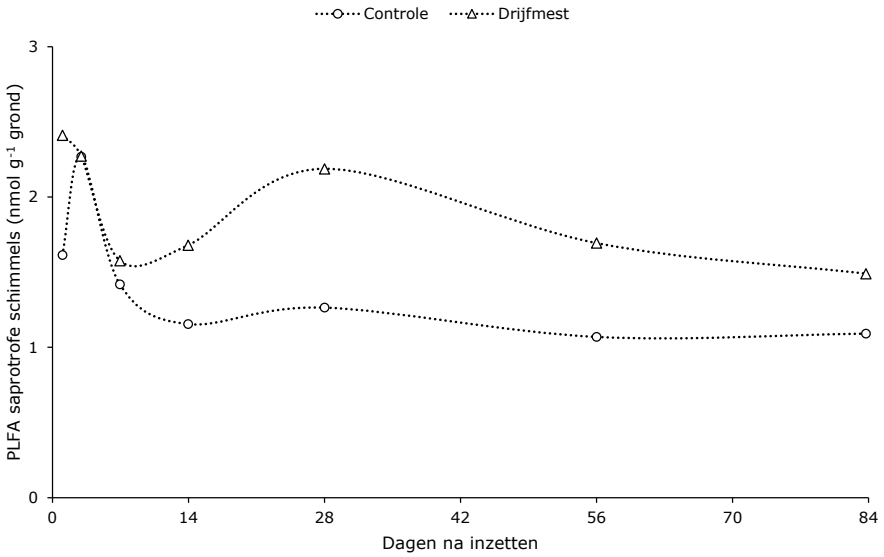
De bacteriële PLFA was bij toediening van drijfmest op dag 1 en 3 hoger vergeleken met de controle (Fig. 2). Variantieanalyse gaf een significant effect van behandeling, afhankelijk van meetdag ($P < 0,01$), met een significant hogere PLFA op dag 1 en 3 bij toediening van drijfmest vergeleken met de controle. Het gewogen gemiddelde van de bacteriële PLFA was bij toediening van drijfmest (17,9 nmol g^{-1}) niet significant verschillend vergeleken met de controle (17,7 nmol g^{-1}) ($P = 0,56$).



Figuur 2 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van alle bacteriën in een zandgrond na wel of niet mengen met rundveedrijfmest.*

Saprotrofe schimmels

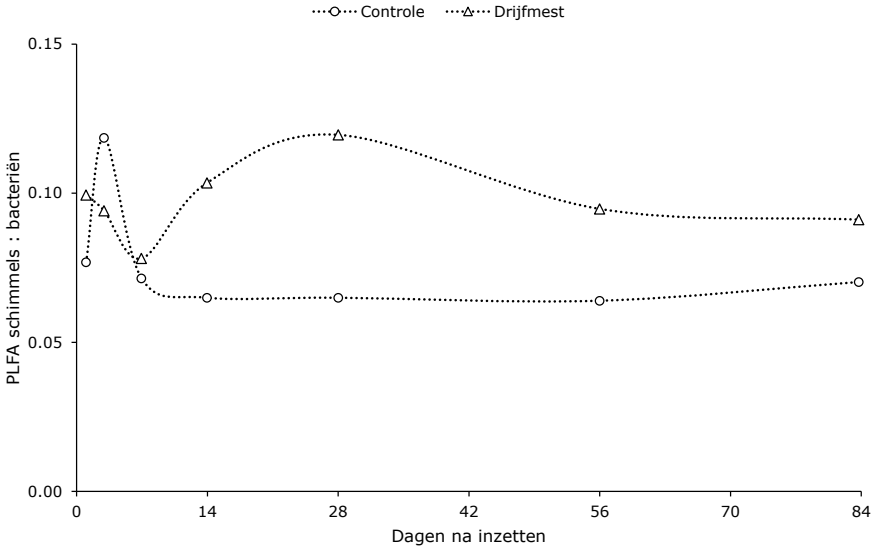
De PLFA van saprotrofe schimmels was bij toediening van drijfmest na dag 7 hoger vergeleken met de controle, piekte op dag 28, en bleef daarna hoger tijdens de rest van de proefperiode (Fig. 3). Variantieanalyse gaf een significant hoofdeffect van behandeling ($P < 0,001$) en van meetdag ($P < 0,01$), met een significant hogere schimmel-PLFA bij toediening van drijfmest vergeleken met de controle. Het gewogen gemiddelde van de PLFA was bij toediening van drijfmest (1,80 nmol g^{-1}) significant hoger dan bij de controle (1,21 nmol g^{-1}) ($P = 0,04$).



Figuur 3 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van saprotrofe schimmels in een zandgrond na wel of niet mengen met rundveedrijfmest.*

Schimmel/bacterieverhouding

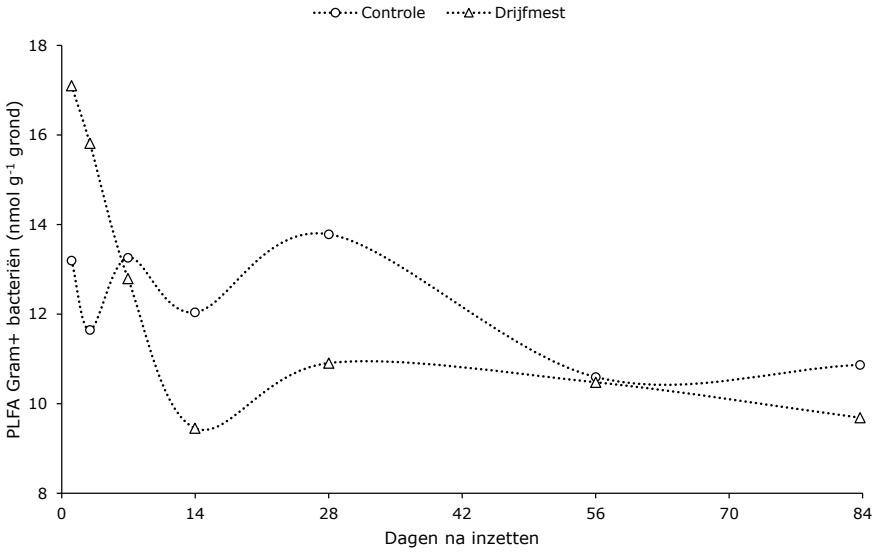
De verhouding tussen PLFA van saprotrofe schimmels en van bacteriën was bij toediening van drijfmest vanaf dag 14 hoger vergeleken met de controle, piekte op dag 28, en bleef hoger tijdens de rest van de proefperiode. Variantieanalyse gaf een significant hoofdeffect van behandeling ($P < 0,01$). Het gewogen gemiddelde van de schimmel/bacterieverhouding was bij toediening van drijfmest (0,101) significant hoger vergeleken met de controle (0,068) ($P = 0,03$).



Figuur 4 *Verandering van de verhouding schimmel/bacterie-PLFA in een zandgrond na wel of niet mengen met rundveedrijfmest.*

Gram-positieve bacteriën

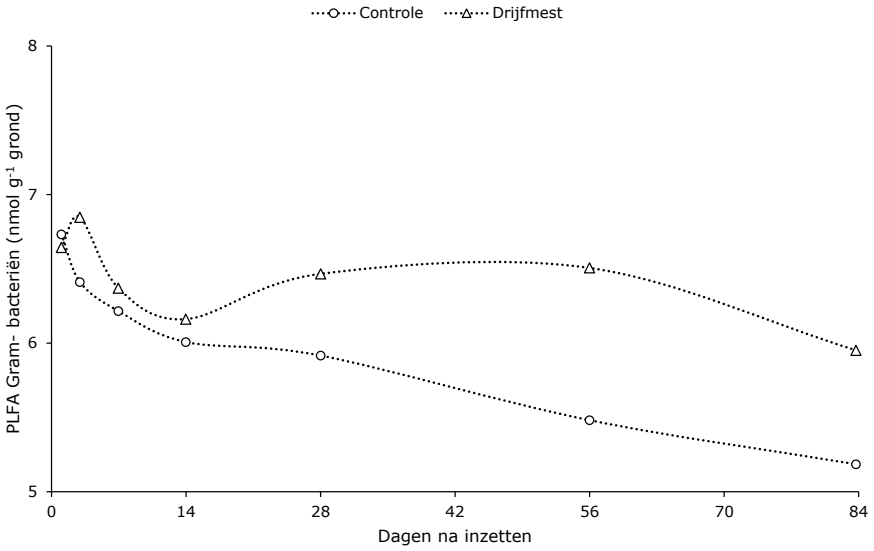
De PLFA van GP bacteriën was bij toediening van drijfmest op dag 1 en 3 hoger, en op dag 14 en 28 lager, vergeleken met de controle (Fig. 5). Variantieanalyse gaf een significant effect van behandeling, afhankelijk van meetdag ($P < 0,01$), met bij toediening van drijfmest op dag 1 en 3 een significant hogere PLFA, en op dag 14 en 28 een significant lagere PLFA, vergeleken met de controle. Het gewogen gemiddelde van de PLFA was bij toediening van drijfmest (10,8 nmol g^{-1}) niet significant verschillend vergeleken met de controle (11,9 nmol g^{-1}) ($P = 0,13$).



Figuur 5 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van Gram-positieve bacteriën in een zandgrond na wel of niet mengen met rundveedrijfmest.*

Gram-negatieve bacteriën

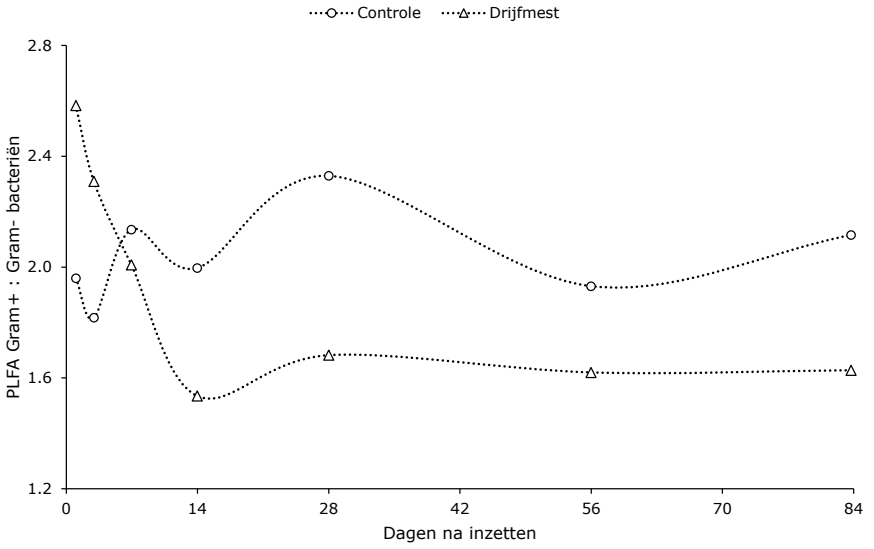
De PLFA van GN bacteriën was bij de toediening van drijfmest vanaf dag 28 hoger vergeleken met de controle (Fig. 6). Variantieanalyse gaf een significant hoofdeffect van behandeling ($P < 0,01$) en van meetdag ($P < 0,01$), met een gemiddeld significant hogere PLFA bij toediening van drijfmest vergeleken met de controle. Het gewogen gemiddelde van de PLFA was bij toediening van drijfmest (6,4 nmol g^{-1}) echter niet significant verschillend van controle (5,7 nmol g^{-1}) ($P = 0,11$).



Figuur 6 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van Gram-negatieve bacteriën in een zandgrond na wel of niet mengen met rundveedrijfmest.*

Gram-positieve/Gram-negatieve bacteriën

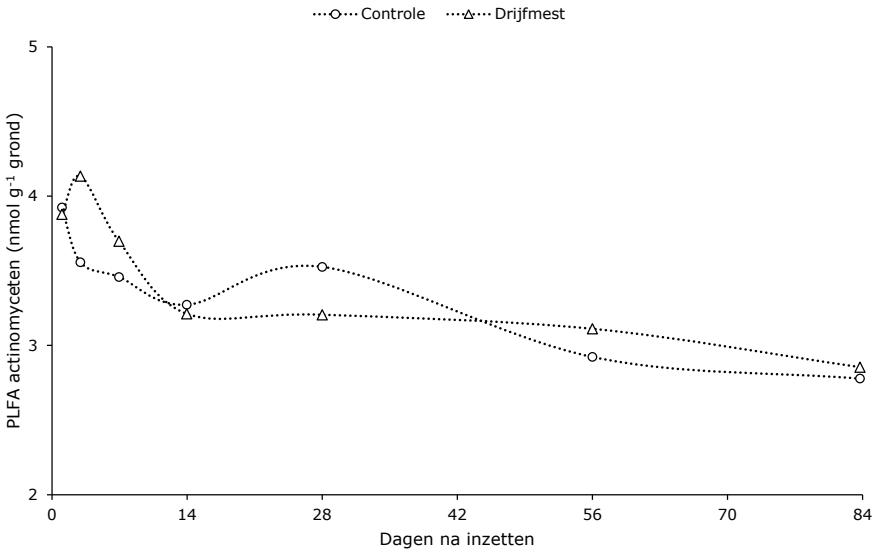
De verhouding van GP/GN bacterie-PLFA was bij toediening van drijfmest op dag 1 en 3 hoger, en vanaf dag 14 lager, vergeleken met de controle (Fig. 7). Variantieanalyse gaf een significant effect van behandeling, afhankelijk van meetdag ($P < 0,01$), met op dag 1 en 3 een significant hogere verhouding en op dag 28, 84, en 168 een significant lagere verhouding bij de toediening van drijfmest vergeleken met de controle. Het gewogen gemiddelde van de verhouding GP/GN bacterie-PLFA was bij toediening van drijfmest (1,69) significant lager vergeleken met de controle (2,08) ($P = 0,03$).



Figuur 7 *Verandering van de verhouding in PLFA van Gram-positieve en Gram-negatieve bacteriën in een zandgrond na wel of niet mengen met rundveedrijfmest.*

Actinomyceten

De PLFA van actinomyceten veranderde vrijwel niet als gevolg van de toediening van drijfmest (Fig. 8). Variantieanalyse gaf een significant hoofdeffect van meetdag ($P < 0,01$), maar niet van behandeling ($P = 0,44$). Het gewogen gemiddelde van de PLFA van actinomyceten was bij toediening van drijfmest (3,2 nmol g^{-1}) niet significant verschillend vergeleken met de controle (3,2 nmol g^{-1}) ($P = 0,93$).

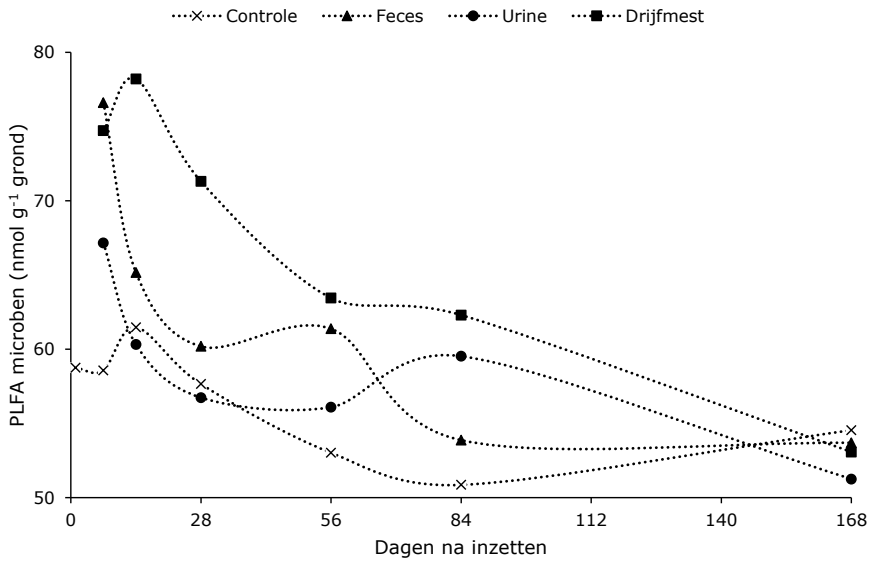


Figuur 8 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van actinomyceten in een zandgrond na wel of niet mengen met rundveedrijfmest.*

3.3 Effecten van urine, feces, en drijfmest

Alle microben

De microbiële PLFA was bij toediening van urine of feces het hoogst in de eerste dagen na toediening en nam daarna af, met nog een tweede (lagere) piek op respectievelijk dag 84 (urine) en dag 56 (feces) (Fig. 9). Bij de controle en drijfmest piekte de PLFA op dag 14, en nam daarna bij drijfmest af tot het einde van de proefperiode, en bij de controle af tot dag 84 en daarna weer toe tot dag 168. NB: bij drijfmest was de gift (30 ton) hoger vergeleken met alleen urine (12 ton) of alleen feces (18 ton) (zie paragraaf 2.3.3).

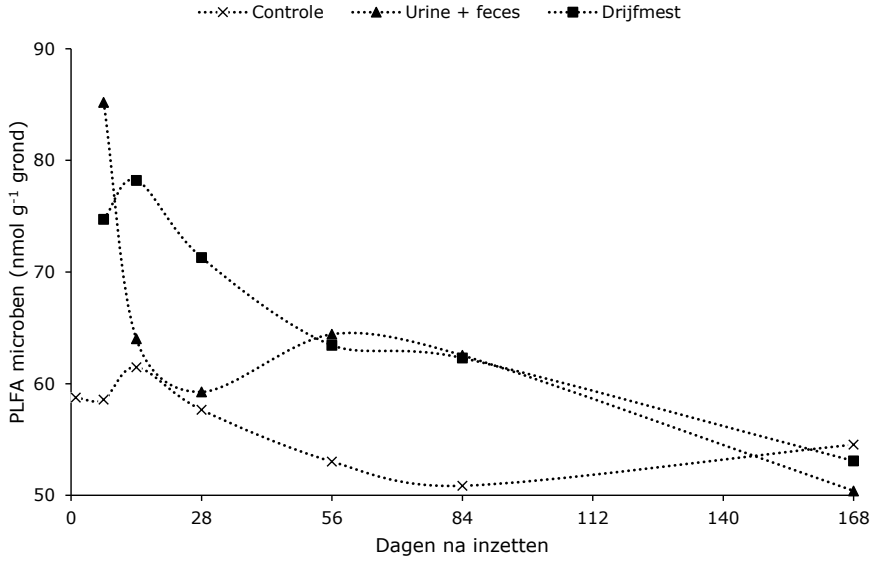


Figuur 9 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van alle microben in een zandgrond na wel of niet mengen met rundvee-urine, rundveefeces, of rundveedrijfmest.*

Uit variantieanalyse bleek een neiging tot significant effect van behandeling, afhankelijk van meetdag (P = 0,06). Vergeleken met de controle was bij de bemeste behandelingen, behalve urine, de PLFA op dag 7 significant hoger, en bij drijfmest bleef de PLFA significant hoger t/m dag 84. Vergeleken met drijfmest was de PLFA bij urine of feces significant lager op dag 14 en dag 28, en vergeleken met feces was de PLFA bij urine ook significant lager op dag 7. Aan het einde van de proefperiode waren er geen significante verschillen meer tussen de behandelingen.

Behandeling had een significant effect op het gewogen gemiddelde van de microbiële PLFA tijdens de proefperiode(P = 0,04), met een significant hoger gemiddelde bij drijfmest (62,6 nmol g^{-1}) vergeleken met de controle (54,0 nmol g^{-1}), urine (56,6 nmol g^{-1}) en feces (57,2 nmol g^{-1}). Urine of feces verschilden niet significant van de controle of onderling.

Bij gescheiden toediening van urine en feces was de PLFA op dag 7 hoger, en op dag 14 en 28 lager, vergeleken met gezamenlijke toediening als drijfmest (Fig. 10). Vanaf dag 56 was de PLFA vergelijkbaar voor beide behandelingen. Op basis van de eerder uitgevoerde variantieanalyse waren de verschillen significant op dag 7, 14, en 28. Het gewogen gemiddelde van de microbiële PLFA over de proefperiode was bij gescheiden toediening (59,9 nmol g^{-1}) niet significant verschillend van gezamenlijke toediening (62,6 nmol g^{-1}) (P > 0,05).

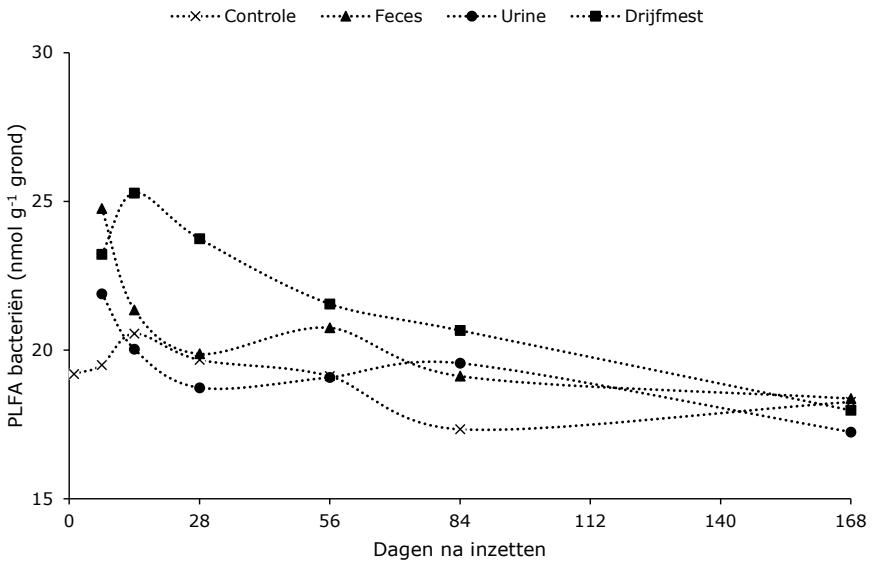


Figuur 10 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van alle microben in een zandgrond na gescheiden of gezamenlijke toediening van eenzelfde hoeveelheid urine en feces (resp. urine + feces of drijfmest).*

Alle bacteriën

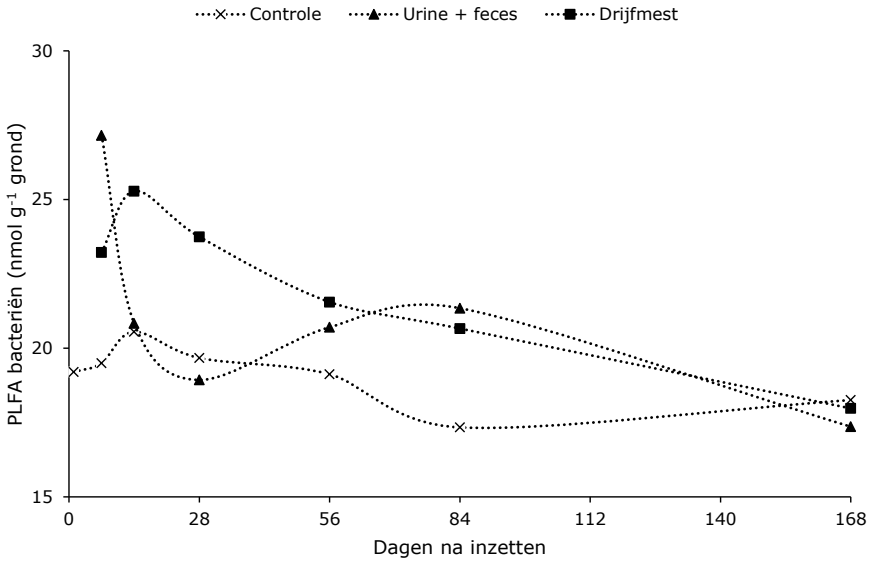
De veranderingen van de bacteriële PLFA waren op hoofdlijn hetzelfde als voor de microbiële PLFA (Fig. 11). Dit is gebruikelijk omdat de meeste microbiële PLFA's in bacteriën voorkomen. Variantieanalyse gaf een significant hoofdeffect van behandeling (P < 0,001) en van meetdag (P < 0,001). Vergeleken met de controle was de PLFA gemiddeld significant hoger bij toediening van feces of drijfmest (maar niet bij urine), vergeleken met drijfmest significant lager bij feces of urine, en vergeleken met feces significant lager bij urine.

Behandeling had een neiging tot een significant hoofdeffect op het gewogen gemiddelde van de PLFA over de proefperiode (P = 0,09). Dit gemiddelde neigde bij drijfmest (20,9 nmol g^{-1}) significant hoger vergeleken met de controle (18,5 nmol g^{-1}) en urine (18,9 nmol g^{-1}), maar niet vergeleken met feces (19,6 nmol g^{-1}). De gewogen gemiddelden voor urine of feces verschilden niet significant van de controle of onderling.



Figuur 11 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van alle bacteriën in een zandgrond na wel of niet mengen met rundvee-urine, rundveefeces, of rundveedrijfmest.*

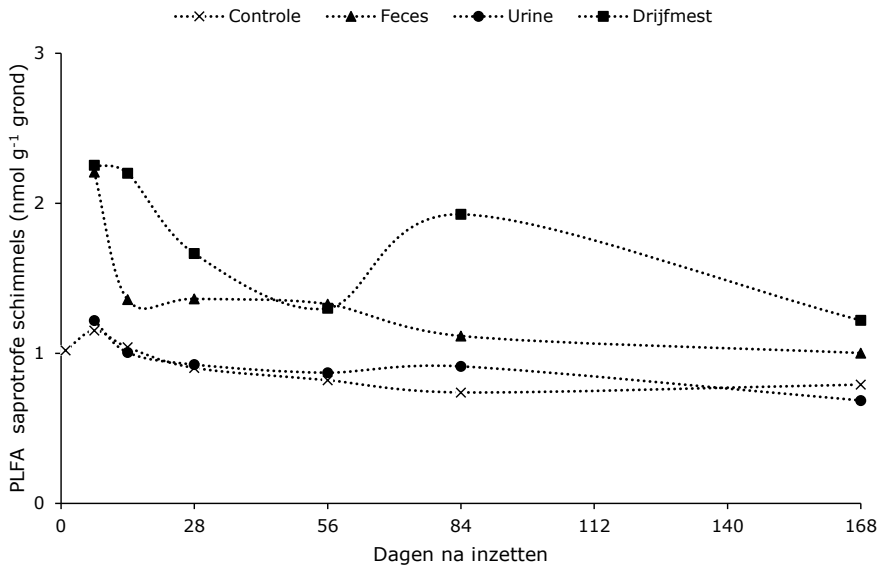
Bij gescheiden toediening van urine en feces was de bacteriële PLFA op dag 7 hoger, en daarna t/m dag 56 lager vergeleken met gezamenlijke toediening (Fig. 12). Op basis van de eerder uitgevoerde variantieanalyse waren er geen significante verschillen tussen gescheiden en gezamenlijke toediening. Het gewogen gemiddelde van de bacteriële PLFA over de proefperiode was bij gescheiden toediening (20,0 nmol g^{-1}) niet significant verschillend van gezamenlijke toediening (20,9 nmol g^{-1}) ($P > 0,05$).



Figuur 12 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van alle bacteriën in een zandgrond na gescheiden of gezamenlijke toediening van eenzelfde hoeveelheid urine en feces (resp. urine + feces of drijfmest).*

Saprotrofe schimmels

De schimmel-PLFA was bij toediening van urine, feces, of drijfmest het hoogst op dag 7 (Fig. 13). Bij feces nam de PLFA aanzienlijk af tussen dag 7 en dag 14, met daarna een langzame verdere afname naar het einde van de proefperiode. Bij drijfmest was de daling na dag 7 langzamer dan bij feces, en op dag 56 lag de PLFA voor beide behandelingen weer op hetzelfde niveau. Daarvan volgde bij drijfmest een tweede piek op dag 84. Bij toediening van urine verschilde de PLFA nauwelijks van de controle. Aan het einde van de proefperiode was de schimmel-PLFA bij drijfmest en feces hoger vergeleken met de controle en urine, met het grootste verschil voor drijfmest.

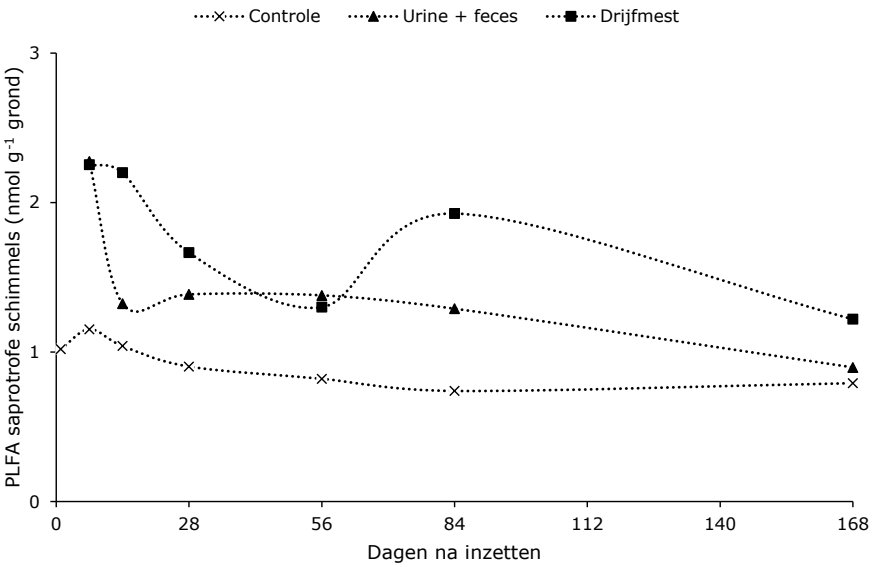


Figuur 13 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van saprotrofe schimmels in een zandgrond na wel of niet mengen met rundvee-urine, rundveefeces, of rundveedrijfmest.*

Variantieanalyse gaf een significant hoofdeffect van behandeling ($P < 0,001$) en meetdag ($P < 0,001$). Vergeleken met de controle was de schimmel-PLFA gemiddeld significant hoger bij toediening van feces of drijfmest (maar niet bij urine), vergeleken met drijfmest significant lager bij feces of urine, en vergeleken met feces significant lager bij urine.

Behandeling had een significant effect op het gewogen gemiddelde van de schimmel-PLFA over de proefperiode ($P = 0,01$), met een significant hoger gemiddelde bij drijfmest (1,63 nmol g^{-1}) vergeleken met de controle (0,82 nmol g^{-1}), urine (0,86 nmol g^{-1}), en feces (1,20 nmol g^{-1}). Bij feces was het gewogen gemiddelde ook significant hoger vergeleken met de controle en urine.

Bij gescheiden toediening van urine en feces was de schimmel-PLFA op dag 7 vergelijkbaar met gezamenlijke toediening als drijfmest (Fig. 14). Daarna nam de PLFA bij beide behandelingen af, bij gescheiden toediening snel, tussen dag 7 en 14, en bij gezamenlijke toediening langzaam, tussen dag 7 en 56. Na dag 56 bleef de PLFA bij gescheiden toediening afnemen, terwijl deze bij gezamenlijke toediening weer toenam. Aan het einde van de proefperiode was de PLFA bij gezamenlijke toediening hoger dan bij gescheiden toediening. Op basis van de eerder uitgevoerde variantieanalyse was de schimmel-PLFA bij gescheiden toediening significant lager dan bij gezamenlijke toediening. Ook het gewogen gemiddelde van de schimmel-PLFA over de proefperiode was bij gescheiden toediening (1,24 nmol g^{-1}) significant lager vergeleken met gezamenlijke toediening (1,63 nmol g^{-1}) ($P < 0,05$).

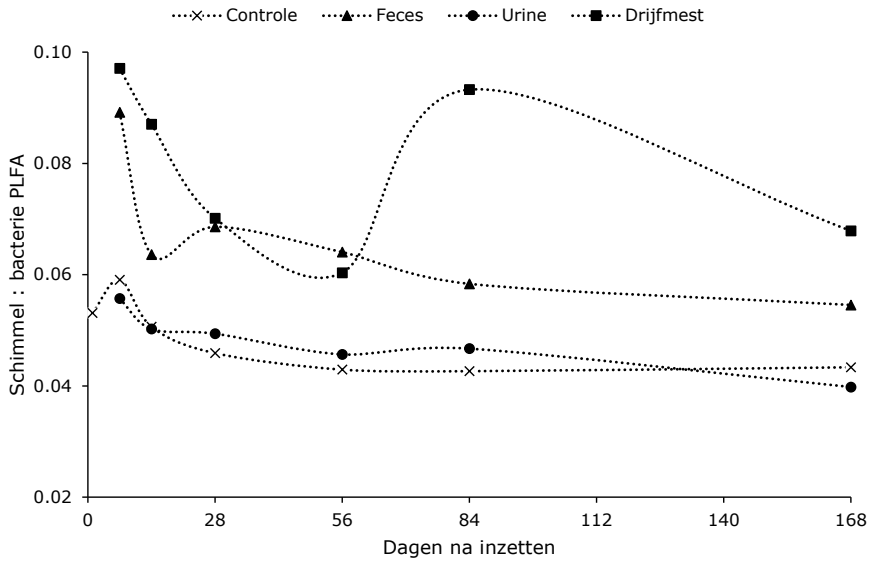


Figuur 14 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van saprotrofe schimmels in een zandgrond na gescheiden of gezamenlijke toediening van eenzelfde hoeveelheid urine en feces (resp. urine + feces of drijfmest).*

Verhouding schimmel/bacterie-PLFA

De verhouding van schimmel/bacterie-PLFA was bij toediening van urine of feces het hoogst in de eerste dagen na toediening en nam daarna af (Fig. 15). Bij drijfmest piekte de verhouding in de eerste dagen na toediening, daalde daarna, en piekte opnieuw na 84 dagen. De verhouding lag bij feces het grootste deel van de proefperiode duidelijk onder die van drijfmest, behalve tussen dag 28 en dag 56. Bij urine was de verhouding duidelijk lager dan bij drijfmest en feces, en verschilde niet wezenlijk van de controle. Aan het einde van de proefperiode was de verhouding bij zowel toediening van feces als drijfmest hoger dan bij urine of de controle, met het grootste verschil voor drijfmest.

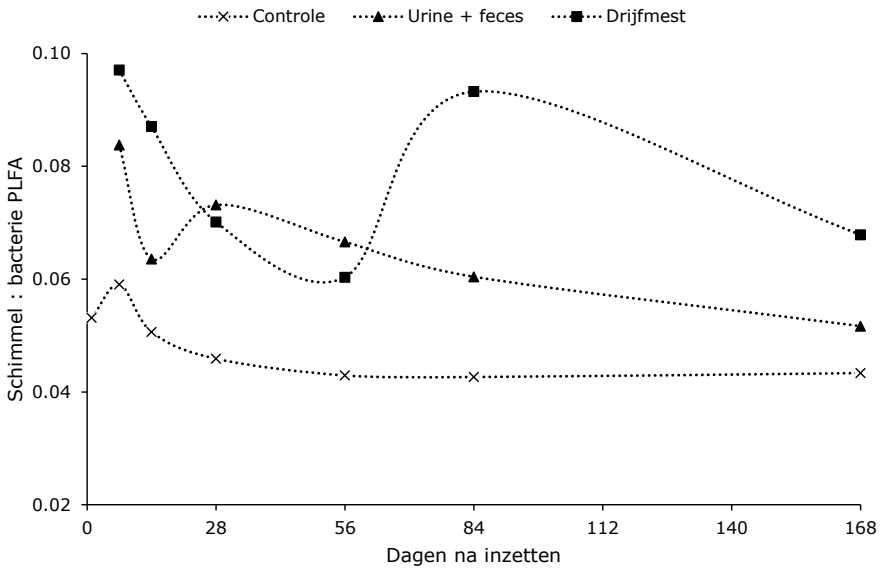
Variantieanalyse gaf een significant hoofdeffect van behandeling ($P < 0,001$) en meetdag ($P < 0,01$). Vergeleken met de controle was de verhouding schimmel/bacterie-PLFA gemiddeld significant hoger bij toediening van feces of drijfmest (maar niet bij urine), vergeleken met drijfmest significant lager bij feces of urine, en vergeleken met feces significant lager bij urine.



Figuur 15 *Verandering van de verhouding schimmel/bacterie-PLFA in een zandgrond na wel of niet mengen met rundvee-urine, rundveefeces, of rundveedrijfmest.*

Behandeling had een significant effect op het gewogen gemiddelde van de verhouding over de proefperiode (P = 0,05), met een significant hoger gemiddelde bij drijfmest (0,078) vergeleken met de controle (0,044) en urine (0,046), maar niet vergeleken met feces (0,061) (P = 0,05). Bij toediening van urine of feces verschilde de verhouding niet significant van de controle, en ook niet onderling.

Bij gescheiden toediening van urine en feces was de verhouding schimmel/bacterie PLFA het grootste deel van de proefperiode lager vergeleken met gezamenlijke toediening als drijfmest (Fig. 16). Op basis van de eerder uitgevoerde variantieanalyse was de verhouding schimmel/bacterie PLFA significant lager bij gescheiden toediening vergeleken met gezamenlijke toediening. Ook het gewogen gemiddelde van de verhouding over de proefperiode was bij gescheiden toediening (0,062) significant lager vergeleken met gezamenlijke toediening (0,078) (P < 0,05).



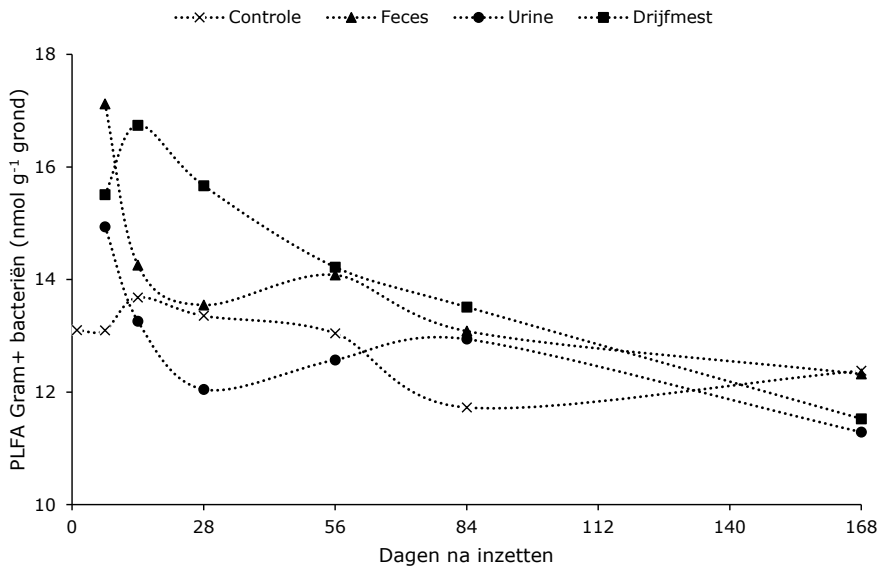
Figuur 16 *Verandering van de verhouding schimmel/bacterie-PLFA in een zandgrond na gescheiden of gezamenlijke toediening van eenzelfde hoeveelheid urine en feces (resp. urine + feces of drijfmest).*

Gram-positieve bacteriën

De veranderingen in de PLFA van GP bacteriën waren grotendeels vergelijkbaar met de veranderingen in bacteriële PLFA, behalve dat het verschil in PLFA tussen urine en de controle groter was tussen dag 14 en 56, en dat de PLFA bij urine en drijfmest aan het einde van de proefperiode lager was vergeleken met de controle (Fig. 17).

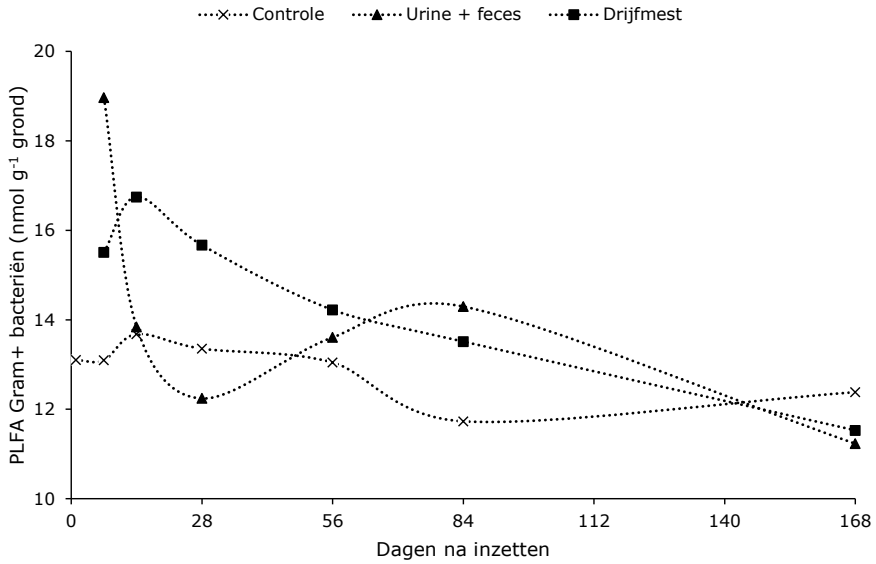
Variantieanalyse gaf een significant hoofdeffect van behandeling (P < 0,001) en meetdag (P < 0,001). Vergeleken met de controle was de PLFA gemiddeld significant hoger bij toediening van feces of drijfmest (maar niet bij urine), vergeleken met drijfmest significant lager bij urine (maar niet bij feces), en vergeleken met feces significant lager bij urine.

Behandeling had geen significant effect op het gewogen gemiddelde van de PLFA van GP bacteriën over de proefperiode (P = 0,17), met daarmee geen significante verschillen tussen de controle (12,5 nmol g^{-1}) en de toediening van urine (12,4 nmol g^{-1}), feces (13,3 nmol g^{-1}), of drijfmest (13,7 nmol g^{-1}).



Figuur 17 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van Gram-positieve bacteriën in een zandgrond na wel of niet mengen met rundvee-urine, rundveefeces, of rundveedrijfmest.*

Bij gescheiden toediening van urine en feces was de PLFA van GP bacteriën op dag 7 hoger vergeleken met gezamenlijke toediening als drijfmest, maar tussen dag 14 en 56 lager (Fig. 18). Vanaf een laagste niveau op dag 28 nam de PLFA bij gescheiden toediening weer toe tot licht boven het niveau van gezamenlijke toediening. Aan het einde van de proefperiode was er geen verschil meer tussen gescheiden of gezamenlijke toediening. Op basis van de eerder uitgevoerde variantieanalyse waren er geen significante verschillen tussen gescheiden en gezamenlijke toediening. Ook het gewogen gemiddelde van de PLFA van GP bacteriën over de proefperiode was bij gescheiden toediening (13,2 nmol g^{-1}) niet significant verschillend van gezamenlijke toediening (13,7 nmol g^{-1}) ($P > 0,05$).



Figuur 18 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van Gram-positieve bacteriën in een zandgrond na gescheiden of gezamenlijke toediening van eenzelfde hoeveelheid urine en feces (resp. urine + feces of drijfmest).*

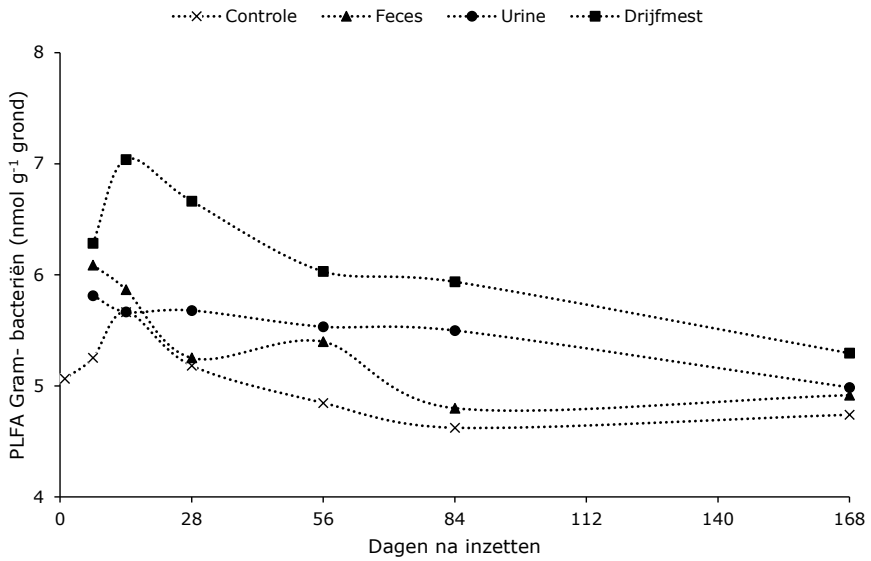
Gram-negatieve bacteriën

De PLFA van GN bacteriën piekte bij toediening van urine of feces op dag 7 en bij drijfmest en de controle op dag 14 (Fig. 19). Na de piek nam de PLFA bij alle behandelingen af tot aan het einde van de proefperiode, met bij feces nog een tweede (lagere) piek op dag 56.

Vergeleken met de PLFA van GP bacteriën was de PLFA van de GN bacteriën bij feces maar weinig hoger vergeleken met de controle, maar was de PLFA bij urine na dag 14 wel duidelijk hoger. Aan het einde van de proefperiode was de PLFA bij urine, feces, en drijfmest hoger vergeleken met de controle, met het grootste verschil voor drijfmest.

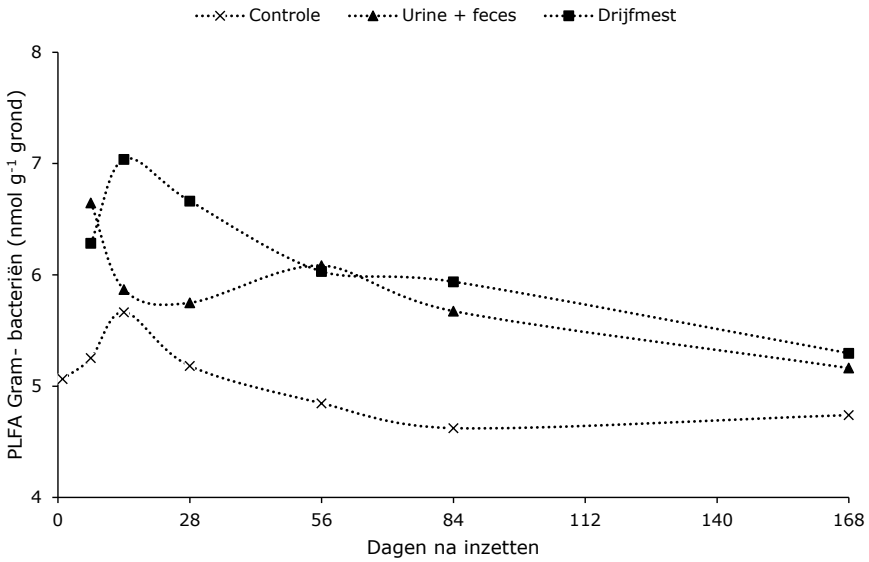
Variantieanalyse gaf een significant hoofdeffect van behandeling ($P < 0,001$) en meetdag ($P < 0,001$). Vergeleken met de controle was de PLFA gemiddeld significant hoger bij toediening van urine of drijfmest (maar niet bij feces), vergeleken met drijfmest significant lager bij feces en urine, en vergeleken met feces niet significant verschillend bij urine.

Behandeling had een significant effect op het gewogen gemiddelde van de PLFA over de proefperiode ($P = 0,02$), met een significant hoger gemiddelde voor drijfmest (6,0 nmol g^{-1}) vergeleken met de controle (4,8 nmol g^{-1}), urine (5,4 nmol g^{-1}), en feces (5,1 nmol g^{-1}). Bij toediening van urine was het gemiddelde significant hoger vergeleken met de controle, bij feces was dit niet het geval, en urine en feces verschilden onderling niet significant.



Figuur 19 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van Gram-negatieve bacteriën in een zandgrond na wel of niet mengen met rundvee-urine, rundveefeces, of rundveedrijfmest.*

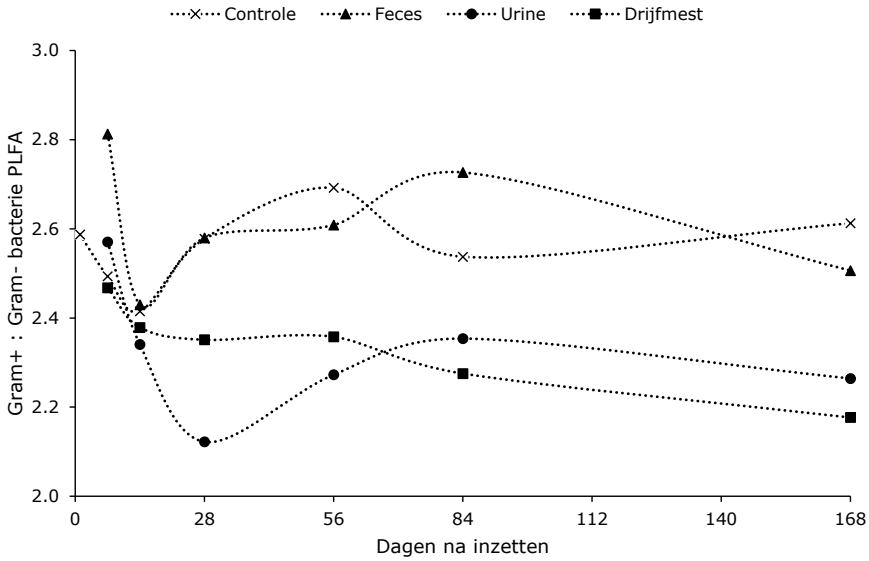
Bij gescheiden toediening van urine en feces was de PLFA van GN bacteriën op dag 7 iets hoger vergeleken met gezamenlijke toediening als drijfmest, tussen dag 14 en 56 lager, en vanaf dag 56 tot aan het einde van de proefperiode iets hoger (Fig. 20). Op basis van de eerder uitgevoerde variantieanalyse waren er geen significante verschillen tussen gescheiden en gezamenlijke toediening. Ook het gewogen gemiddelde van de PLFA over de proefperiode was bij gescheiden toediening (5,7 nmol g^{-1}) niet significant verschillend van gezamenlijke toediening (6,0 nmol g^{-1}) ($P > 0,05$).



Figuur 20 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van Gram-negatieve bacteriën in een zandgrond na gescheiden of gezamenlijke toediening van eenzelfde hoeveelheid urine en feces (resp. urine + feces of drijfmest).*

Gram-positieve/Gram-negatieve bacteriën

De verhouding van GP/GN bacterie-PLFA piekte bij toediening van urine en drijfmest op dag 7 en daalde bij drijfmest daarna tot aan het einde van de proefperiode (Fig. 21). Bij urine daalde de verhouding tot een laagste waarde op dag 28, nam daarna weer toe tot een tweede (lagere) piek op dag 84, en was op het einde van de proefperiode weer lager. Bij feces piekte de verhouding op dag 7, daalde daarna tot een laagste waarde op dag 14, nam daarna weer toe tot een tweede (lagere) piek op dag 84, en was aan het einde van de proefperiode weer lager.

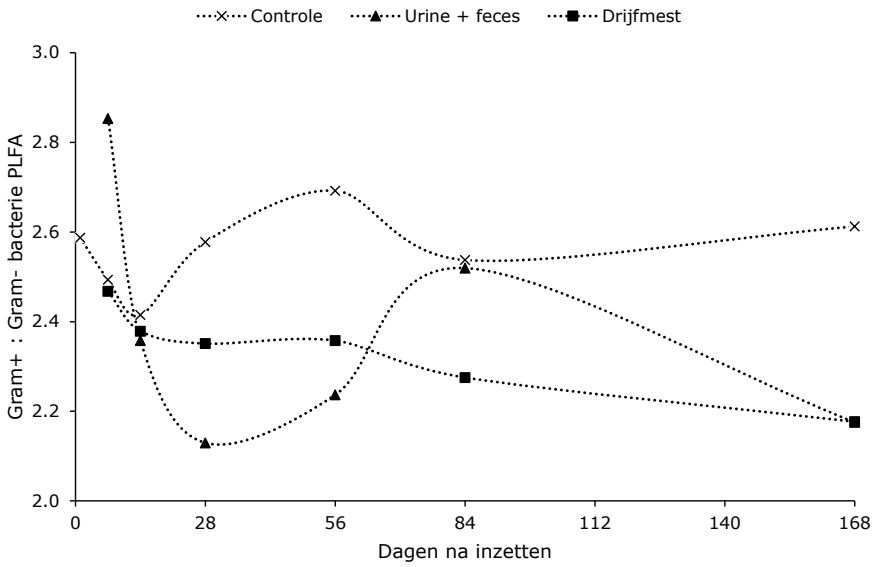


Figuur 21 *Verandering de verhouding van GP/GN bacterie-PLFA in een zandgrond na wel of niet mengen met rundvee-urine, rundveefeces, of rundveedrijfmest.*

Variantieanalyse gaf een significant effect van behandeling, afhankelijk van meetdag (P = 0,01). Vergeleken met de controle was bij urine en drijfmest de verhouding vanaf dag 28 significant lager, en was bij de feces de verhouding op dag 7 en 84 significant hoger, en op dag 56 en 168 significant lager. Vergeleken met drijfmest was bij feces de verhouding op alle dagen significant hoger, behalve op dag 14, en was bij urine de verhouding significant hoger op dag 7 en 168 en significant lager op dag 28 en 56.

Behandeling had een significant effect op het gewogen gemiddelde van de verhouding over de proefperiode (P < 0,01), met een significant lager gemiddelde bij drijfmest (2,29) vergeleken met de controle (2,58) en feces (2,61), maar niet vergeleken met urine (2,29). Bij toediening van urine was het gemiddelde significant lager vergeleken met de controle of feces, en feces verschilde niet significant van de controle.

Bij gescheiden toediening van urine en feces was de verandering in de verhouding van GP/GN bacterie-PLFA over de proefperiode duidelijk anders vergeleken met gezamenlijke toediening als drijfmest (Fig. 22). Bij gescheiden toediening begon de verhouding hoger dan bij gezamenlijke toediening, daalde daarna snel tot een laagste waarde op dag 28, nam daarna toe tot een tweede (lagere) piek op dag 84, en was op het einde van de proefperiode weer lager. Bij gezamenlijke toediening was de verhouding op dag 7 het hoogst, en bleef deze daarna dalen tot het einde van de proefperiode. Op basis van de eerder uitgevoerde variantieanalyse waren verschillen tussen gescheiden en gezamenlijke toediening significant op dag 7, 28, en 84. Het gewogen gemiddelde van de verhouding over de proefperiode was, ondanks de grote tussentijdse verschillen, niet significant verschillend tussen gescheiden toediening (2,33) en gezamenlijke toediening (2,29) (P > 0,05).



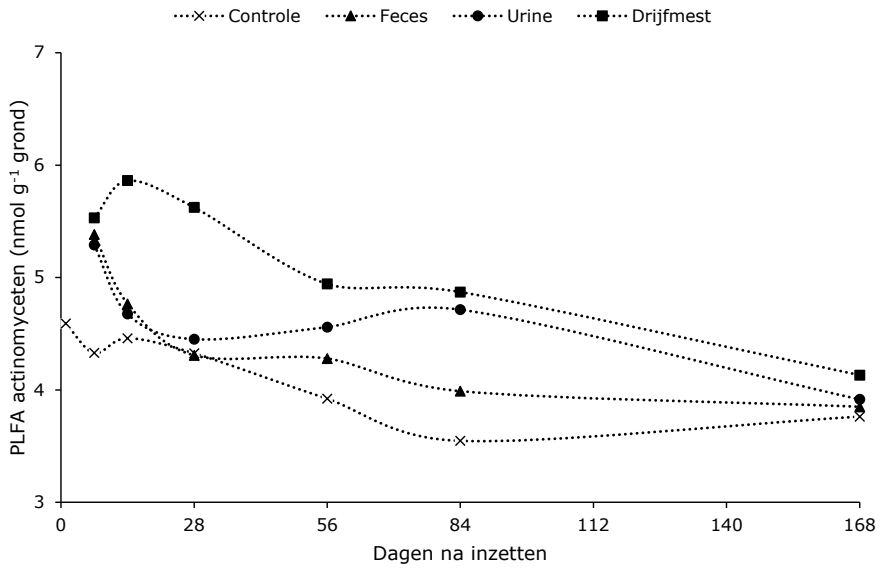
Figuur 22 *Verandering van de verhouding van GP/GN bacterie-PLFA in een zandgrond na gescheiden of gezamenlijke toediening van eenzelfde hoeveelheid urine en feces (resp. urine + feces of drijfmest).*

Actinomyceten

De PLFA van actinomyceten piekte, evenals bij de PLFA van GN bacteriën, bij toediening van urine of feces op dag 7, en bij drijfmest en de controle op dag 14 (Fig. 23). Na de eerste piek nam de PLFA bij alle behandelingen af tot aan het einde van de proefperiode, met bij urine nog een tweede (lagere) piek op dag 84. Evenals bij de PLFA van de GN bacteriën was bij de PLFA van de actinomyceten het verschil tussen de urine en de controle groter dan tussen de feces en de controle. Aan het einde van de proefperiode was de PLFA alleen bij drijfmest hoger vergeleken met de controle.

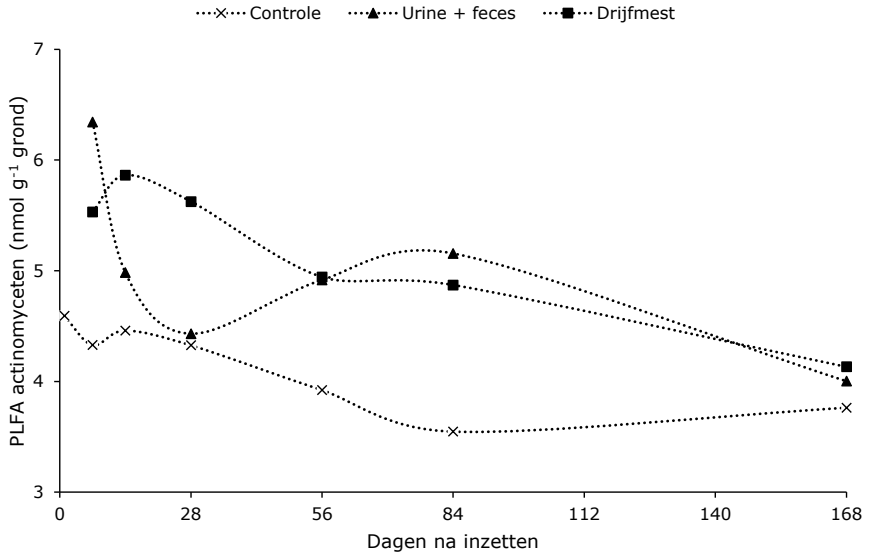
Variantieanalyse gaf een significant hoofdeffect van behandeling (P < 0,001) en meetdag (P < 0,001). Vergeleken met de controle was de PLFA gemiddeld significant hoger bij toediening van urine, feces, of drijfmest, vergeleken met drijfmest significant lager bij feces en urine, en vergeleken met feces niet significant verschillend bij urine.

Behandeling had een significant effect op het gewogen gemiddelde van de PLFA over de proefperiode (P = 0,04), met een significant hoger gemiddelde bij drijfmest (4,9 nmol g^{-1}) vergeleken met de controle (3,8 nmol g^{-1}) en feces (4,1 nmol g^{-1}), maar niet vergeleken met urine (4,5 nmol g^{-1}). Bij urine was het gemiddelde ook significant hoger vergeleken met de controle maar verschilde het niet significant met feces.



Figuur 23 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van actinomyceten in een zandgrond na wel of niet mengen met rundvee-urine, rundveefeces, of rundveedrijfmest.*

Bij gescheiden toediening van urine en feces was de PLFA van actinomyceten op dag 7 hoger vergeleken met gezamenlijke toediening als drijfmest, tussen dag 14 en 56 lager, en op dag 84 wat hoger (Fig. 24). Aan het einde van de proefperiode was er geen verschil tussen gescheiden en gezamenlijke toediening. Op basis van de eerder uitgevoerde variantieanalyse waren er geen significante verschillen tussen gescheiden en gezamenlijke toediening. Ook het gewogen gemiddelde van de PLFA over de proefperiode was bij gescheiden toediening (4,7 nmol g^{-1}) niet significant verschillend van gezamenlijke toediening (4,9 nmol g^{-1}) ($P > 0,05$).

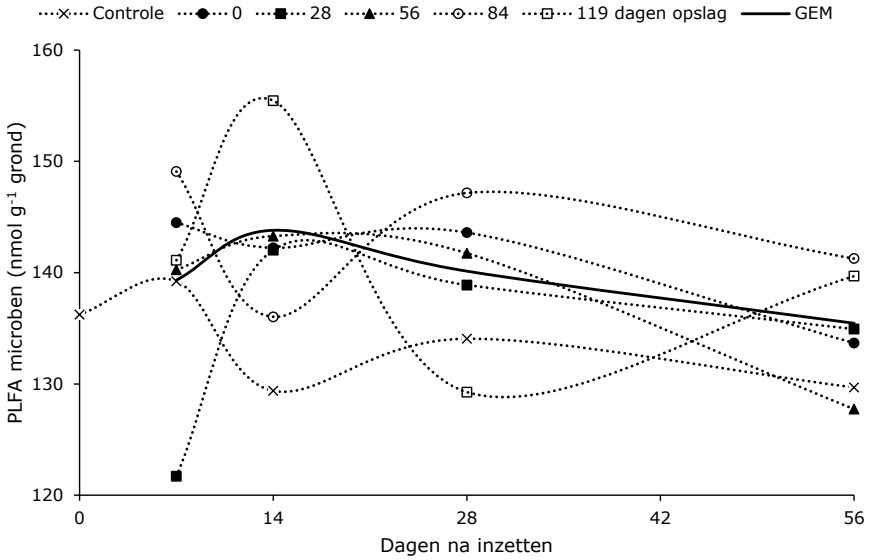


Figuur 24 *Verandering van de PLFA van actinomyceten in een zandgrond na gescheiden of gezamenlijke toediening van eenzelfde hoeveelheid urine en feces (resp. urine + feces of drijfmest).*

3.4 Effecten van mestouderdom

Alle microben

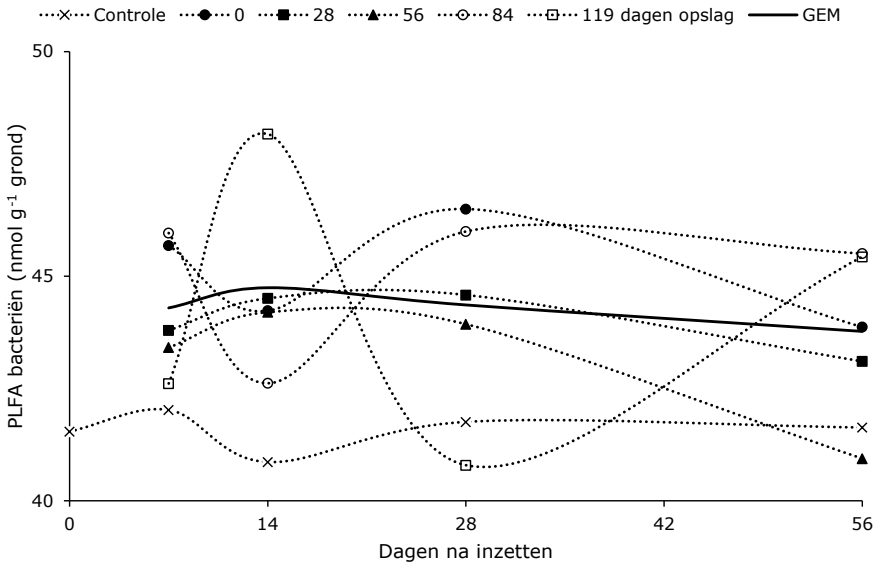
Toediening van drijfmest aan de zandgrond gaf, gemiddeld over de vijf drijfmesten, een verhoging van de microbiële PLFA (Fig. 25). Bij variantieanalyse was er geen significant hoofdeffect (P = 0,67) of tijdstip-afhankelijk effect (P = 0,86) van behandeling op de PLFA, en geen significant hoofdeffect (P = 0,82) of tijdstip-afhankelijk effect (P = 0,85) van opslagduur.



Figuur 25 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van alle microben in een zandgrond na mengen met drijfmest met toenemende opslagduur. Controle is zandgrond zonder drijfmest en GEM het gemiddelde van de vijf behandelingen met toediening van drijfmest.*

Alle bacteriën

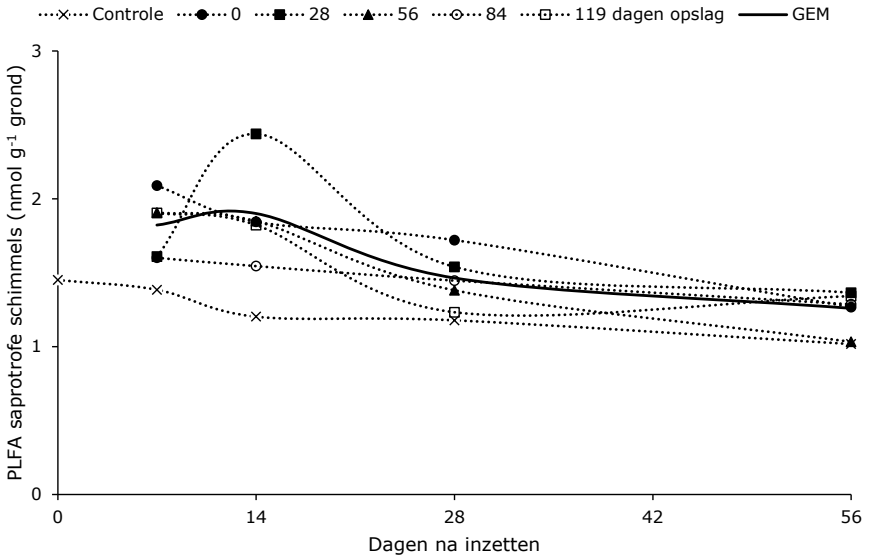
Toediening van drijfmest aan de zandgrond gaf, gemiddeld over de drijfmesten, een verhoging van de bacteriële PLFA (Fig. 26). Bij variantieanalyse was er geen significant hoofdeffect (P = 0,35) of tijdstip-afhankelijk effect (P = 0,85) van behandeling op de PLFA, en geen significant hoofdeffect (P = 0,82) of tijdstip-afhankelijk effect (P = 0,79) van opslagduur.



Figuur 26 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van alle bacteriën in een zandgrond na mengen met drijfmest met toenemende opslagduur. Controle is zandgrond zonder drijfmest en GEM het gemiddelde van de vijf behandelingen met toediening van drijfmest.*

Saprotrofe schimmels

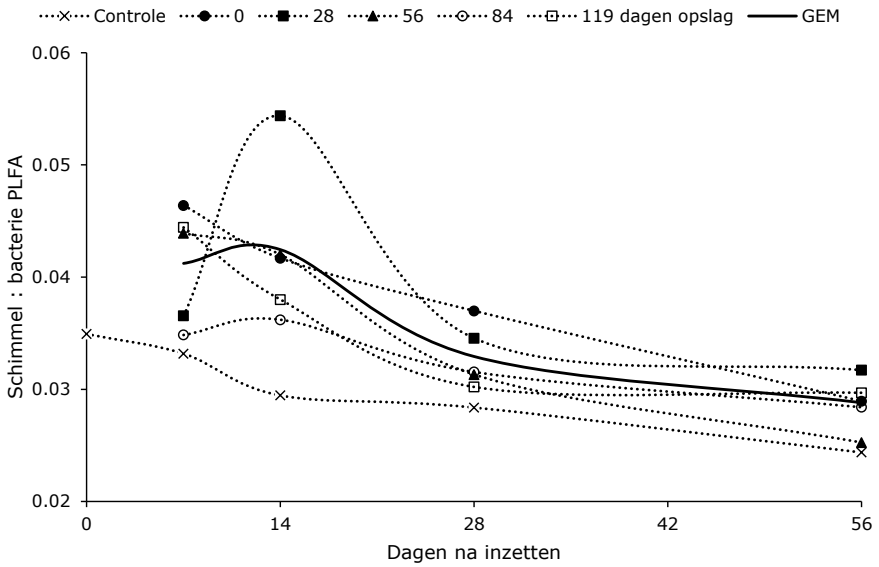
Toediening van drijfmest aan de zandgrond gaf, gemiddeld over de drijfmesten, een verhoging van de schimmel-PLFA (Fig. 27). Variantieanalyse gaf een significant hoofdeffect van behandeling (P < 0,01), met een significant hogere PLFA bij alle vijf drijfmesten vergeleken met de controle, maar geen significant hoofdeffect (P = 0,20) of tijdstip-afhankelijk effect (P = 0,24) van opslagduur.



Figuur 27 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van saprotrofe schimmels in een zandgrond na mengen met drijfmest met toenemende opslagduur. Controle is zandgrond zonder drijfmest en GEM het gemiddelde van de vijf behandelingen met toediening van drijfmest.*

Verhouding schimmel/bacterie-PLFA

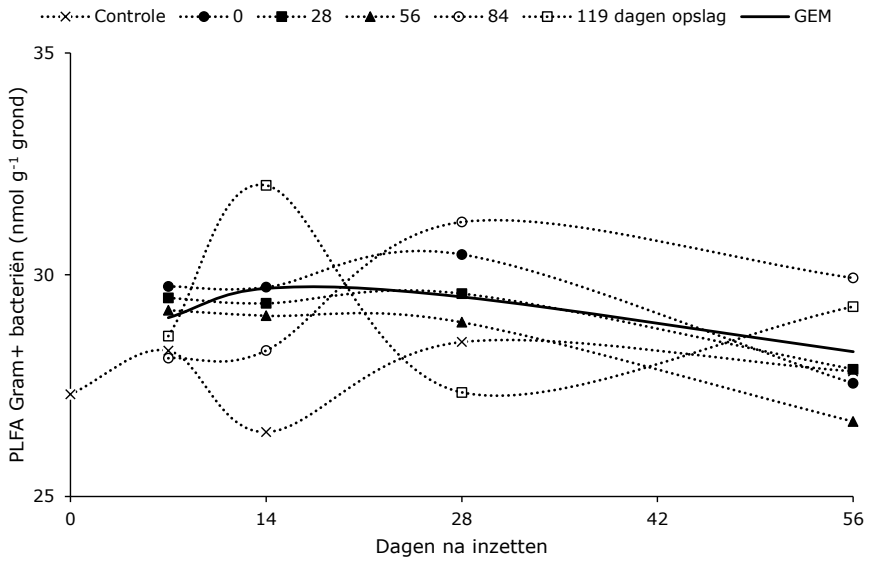
Toediening van drijfmest aan de zandgrond gaf, gemiddeld over de drijfmesten, een verhoging van de verhouding schimmel/bacterie-PLFA (Fig. 28). Variantieanalyse gaf een significant hoofdeffect van behandeling (P < 0,01), met een significant hogere verhouding bij vier van de vijf drijfmestbehandelingen, vergeleken met de controle, maar er was geen significant hoofdeffect (P = 0,15) of tijdstip-afhankelijk effect (P = 0,31) van opslagduur.



Figuur 28 *Verandering van de verhouding schimmel/bacterie-PLFA in een zandgrond na mengen met drijfmest met toenemende opslagduur. Controle is zandgrond zonder drijfmest en GEM het gemiddelde van de vijf behandelingen met toediening van drijfmest.*

Gram-positieve bacteriën

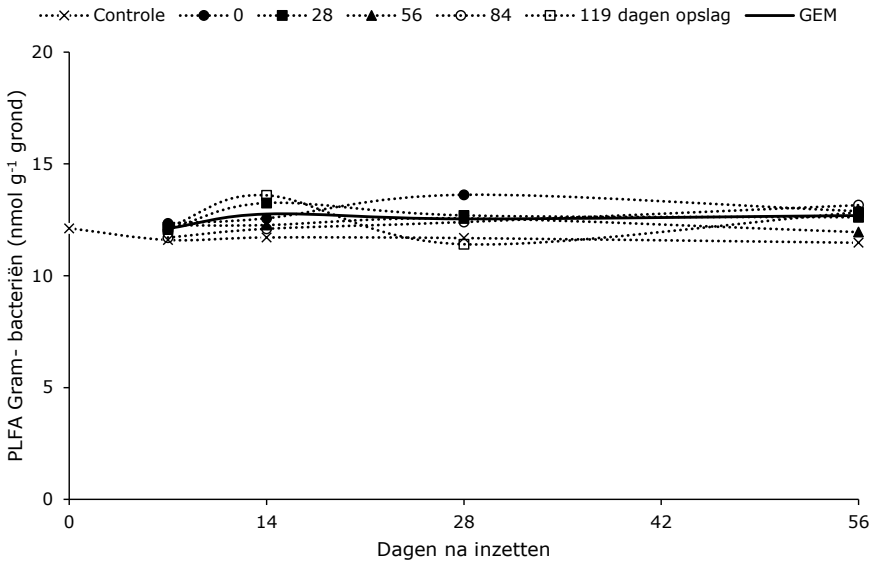
Toediening van drijfmest aan de zandgrond gaf, gemiddeld over de drijfmesten, een verhoging van de PLFA van de GP bacteriën (Fig. 29). Variantieanalyse gaf geen significant hoofdeffect (P = 0,65) of tijdstip-afhankelijk effect (P = 0,76) van behandeling, en geen significant hoofdeffect (P = 0,94) of tijdstip-afhankelijk effect (P = 0,79) van opslagduur.



Figuur 29 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van Gram-positieve bacteriën in een zandgrond na mengen met drijfmest met toenemende opslagduur. Controle is zandgrond zonder drijfmest en GEM het gemiddelde van de vijf behandelingen met toediening van drijfmest.*

Gram-negatieve bacteriën

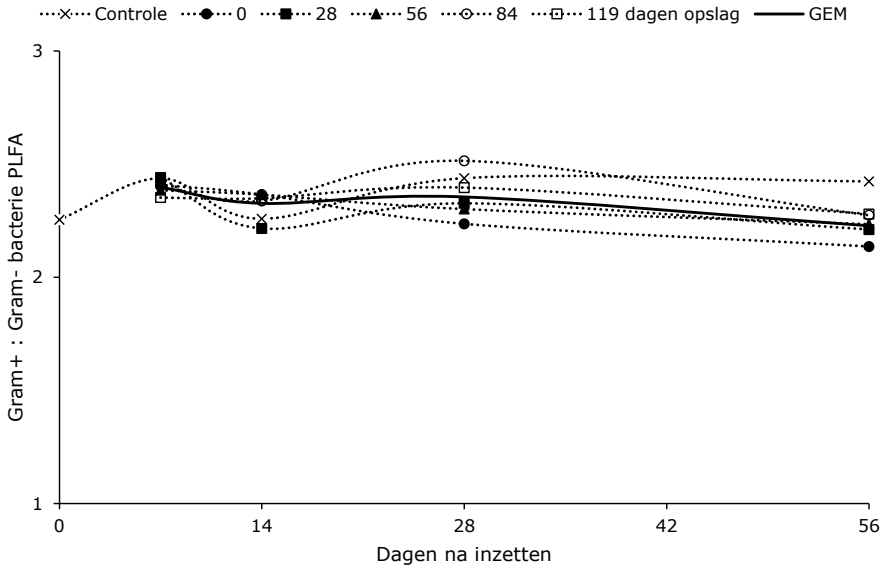
Toediening van drijfmest aan de zandgrond gaf, gemiddeld over de drijfmesten, een verhoging van de PLFA van de GN bacteriën (Fig. 30). Variantieanalyse gaf een neiging tot een significant hoofdeffect van behandeling (P = 0,08), met een significant hogere PLFA bij toediening van drijfmest met een opslagduur van 0, 28, en 119 dagen, vergeleken met de controle. Er was echter geen significant hoofdeffect (P = 0,64) of tijdstip-afhankelijk effect (P = 0,49) van opslagduur op de PLFA van GN bacteriën.



Figuur 30 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van Gram-negatieve bacteriën in een zandgrond na mengen met drijfmest met toenemende opslagduur. Controle is zandgrond zonder drijfmest en GEM het gemiddelde van de vijf behandelingen met toediening van drijfmest.*

Verhouding Gram-positieve/Gram-negatieve bacterie-PLFA

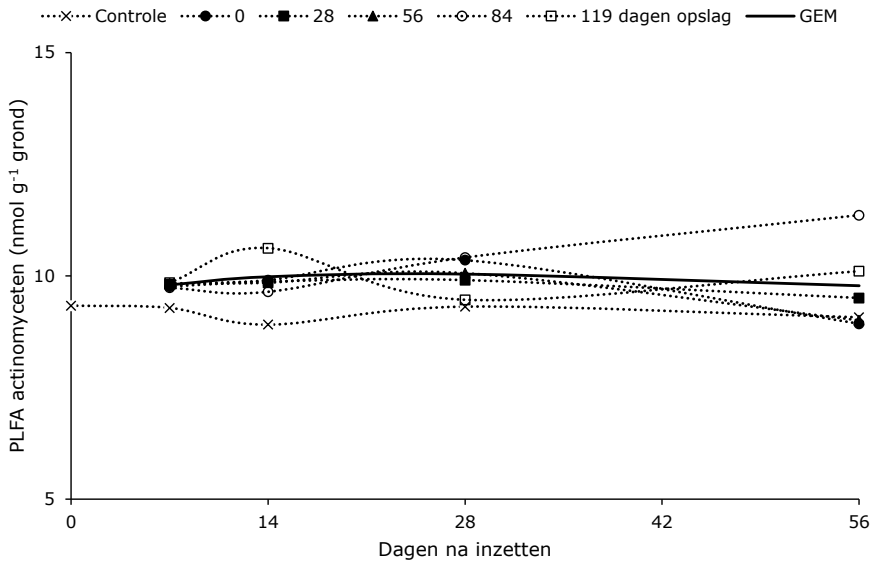
Toediening van drijfmest aan de zandgrond gaf, gemiddeld over de drijfmesten, een verlaging van de verhouding tussen GP/GN bacterie-PLFA (Fig. 31). Variantieanalyse gaf een neiging tot een significant hoofdeffect van behandeling (P = 0,07), met een significant lagere verhouding bij drijfmest met een opslagduur van 0 en 28 dagen, vergeleken met de controle. Er was echter geen significant hoofdeffect (P = 0,19) of tijdstip-afhankelijk effect (P = 0,30) van opslagduur op de verhouding.



Figuur 31 *Verandering van verhouding Gram-positieve/Gram-negatieve bacterie-PLFA in een zandgrond na mengen met drijfmest met toenemende opslagduur. Controle is zandgrond zonder drijfmest en GEM het gemiddelde van de vijf behandelingen met toediening van drijfmest.*

Actinomyceten

Toediening van drijfmest aan de zandgrond gaf, gemiddeld over de drijfmesten, een verhoging van de PLFA van actinomyceten (Fig. 32). Variantieanalyse gaf geen significant hoofdeffect (P = 0,16) of tijdstip-afhankelijk effect (P = 0,52) van behandeling, en geen significant hoofdeffect (P = 0,67) of tijdstip-afhankelijk effect (P = 0,52) van opslagduur.



Figuur 32 *Verandering van de hoeveelheid PLFA van actinomyceten in een zandgrond na mengen met drijfmest met toenemende opslagduur. Controle is zandgrond zonder drijfmest en GEM het gemiddelde van de vijf behandelingen met toediening van drijfmest.*

4 Discussie

4.1 Rol van functionele groepen bij de afbraak van organische stof

Om effecten van de toediening van organische mest op veranderingen in de PLFA van diverse groepen micro-organismen te kunnen duiden, is het belangrijk om wat achtergrondinformatie te geven over de werkwijze van deze groepen. Gram-negatieve bacteriën zijn snelgroeiende bacteriën, r-strategen die vooral makkelijk afbreekbaar opgelost materiaal afbreken en daarbij relatief weinig C vastleggen in levende en dode microbiële biomassa (Churchland et al., 2021; Fanin et al., 2019; Wang et al., 2021). Gram-positieve bacteriën zijn langzaam groeiende bacteriën, k-strategen die complexere en meer recalcitrante verbindingen (zoals cellulose, lignine, en stabielere bodem-OS) afbreken en daarbij meer C vastleggen in zowel levende als dode microbiële biomassa, vergeleken met GN bacteriën. Een recent inzicht is dat GP bacteriën ook grote organische N-verbindingen, zoals eiwitten en aminozuren, kunnen recyclen en inbouwen in hun eigen biomassa, en zo een belangrijke bijdrage kunnen leveren aan de opbouw van bodem-OS (Enggrob et al., 2020). De verhouding GP/GN bacteriën kan mogelijk worden gebruikt als indicator voor de beschikbaarheid van makkelijk afbreekbare OS. In onderzoek van Meyer et al. (2019) gaf een rantsoen met minder N en meer vezels een hogere GP/GN verhouding en hogere schimmel/bacterie verhouding in de rundveemest, waarbij de GP/GN verhouding in rundveemest ongeveer twee keer zo hoog was als in grond.

Actinomyceten zijn algemeen voorkomende bacteriën die, net als schimmels, een draadvormige groeiwijze hebben, maar veel kleiner zijn. Actinomyceten spelen een rol bij de afbraak van plantenresten, en lijken in minder vruchtbare bodems een grotere rol te hebben dan in vruchtbare bodems (Bao et al., 2021).

Schimmels, zowel anaeroob als aeroob, breken in de pens van de koe en in de bodem vooral recalcitrante organische verbindingen af, zoals lignine. In de pens komen alleen anaerobe schimmels voor, die 30% van de microbiële biomassa in verse feces kunnen uitmaken (Meyer et al., 2019). Deze anaerobe schimmels kunnen aerobe condities, zoals in grond, niet overleven.

4.2 Effecten van drijfmest

De hoeveelheid bacteriële PLFA piekte in de eerste proef al op de eerste dag na het mengen van drijfmest met grond (Fig. 2). Het grootste deel van deze toename is waarschijnlijk het gevolg van bacteriegroei door de toediening van extra voedsel. Eerder onderzoek laat zien dat binnen twee dagen na toediening van organisch materiaal de bacterieconcentraties al tien keer hoger kunnen zijn (Bloem et al., 1995). Drijfmest bevat zelf ook veel microbieel PLFA, dat deels zou kunnen bijdragen aan de gemeten PLFA. Echter, een groot deel van de anaerobe rumenbacteriën in drijfmest (afkomstig uit de feces) sterven na toediening aan aerobe grond, waardoor hun PLFA degradeert en niet bijdraagt aan gemeten waarden. De dode bacteriën worden vervolgens afgebroken door autochtone aerobe micro-organismen (Frostegård et al., 1997). Bacteriën die wel overleven krijgen als gevolg van hun goede voedingsstatus te maken met een verhoogde predatie door protozoën en nematoden. Biomassa van protozoën wordt soms afgeleid van marker PLFA C20:4, maar er is twijfel over de bruikbaarheid van deze marker. In de eerste proef werd geen PLFA C20:4 gemeten, maar het lijkt onwaarschijnlijk dat er geen protozoën aanwezig waren. Vanwege de twijfel worden de resultaten van PLFA C20:4 in deze rapportage niet besproken.

In de tweede proef piekte de bacteriële PLFA pas op dag 14, in plaats van op dag 1. De latere piek kan mogelijk verklaard worden uit het verschil in ouderdom van de drijfmest. In de eerste proef was de drijfmest bijna twee maanden oud, maar in de tweede proef was de drijfmest vers. Bij langer opgeslagen drijfmest heeft een deel van de omzetting van makkelijk afbreekbare OS al plaatsgevonden tijdens de opslag, onder grotendeels anaerobe omstandigheden en met vorming van bv. vluchtige vetzuren (VFA) (Tabel 2).

Deze VFA kunnen na toediening aan grond, en daarbij de overgang van aerobe naar anaerobe omstandigheden, binnen 1-2 dagen afbreken (Kirchmann and Lundvall, 1993). Bij de verse drijfmest in de tweede proef was waarschijnlijk veel minder VFA aanwezig dan in oudere drijfmest (zie ook de verschillen in de derde proef, Tabel 2) en werd de makkelijk afbreekbare OS na mengen met de grond omgezet onder aerobe omstandigheden, een proces dat, gezien de latere piek in bacteriële PLFA, mogelijk langzamer verloopt.

In de derde proef piekte de bacteriële PLFA tussen dag 14 en dag 28, afhankelijk van de toegediende drijfmest, en lag de gemiddelde piek op dag 14. Ondanks het aanzienlijke verschil in gehalte VFA tussen de verse mest en de mest met toenemende opslagduur was de piek in bacteriële PLFA bij de drijfmesten met langere opslagduur en hoger VFA-gehalte niet duidelijk eerder dan bij de verse mest. Hoewel in de eerste week niet gemeten werd, en theoretisch daar een piek had kunnen optreden, lijkt dit minder aannemelijk gelet op de verandering in hoeveelheid bacteriële PLFA in de tijd. Gezien over de drie proeven lijkt er een tendens te zijn dat bij toediening van versere mest de piek in de groei van micro-organismen later komt dan bij toediening van oudere mest.

In de derde proef was het effect van drijfmest op de bacteriële PLFA relatief klein, en waren ook eventuele verschillen tussen meettijdstippen relatief klein en lastig te duiden. Mogelijk waren de effecten relatief klein omdat in de gebruikte zandgrond al een grote hoeveelheid bacteriële PLFA aanwezig was. Deze hoeveelheid, als gewogen gemiddelde van de periode vanaf dag 7 t/m dag 56, was in de zandgrond van de derde proef (41,5 nmol g^{-1} grond) meer dan het dubbele van de hoeveelheid in de eerste proef (18,4 nmol g^{-1} grond) of de tweede proef (19,7 nmol g^{-1} grond). Toediening van drijfmest van bijna twee maanden oud gaf in de derde proef een toename van de gemiddelde bacteriële PLFA van 41,5 tot 43,1 nmol g^{-1} grond (+1,5 nmol) maar in de eerste proef een afname van 18,4 tot 17,8 nmol g^{-1} grond (-0,6 nmol). Toediening van verse drijfmest gaf in zowel de tweede als derde proef een vergelijkbare toename van de bacteriële PLFA van 3,7 nmol g^{-1} grond), gemiddeld over de periode vanaf dag 7 t/m dag 56.

In de eerste proef was er een tijdelijke daling van de bacteriële PLFA tussen dag 3 en dag 14 (Fig. 2), mogelijk als gevolg van een 'overshoot' in de predator-prooi cyclus. In de tweede proef nam de bacteriële PLFA na de piek op dag 14 vooral af tijdens de rest van de proefperiode, en in de derde proef bleef de bacteriële PLFA tijdens de 56-dagen durende proefperiode rond hetzelfde niveau liggen.

De GP bacteriën reageerden in de eerste proef niet op de verstoring van de niet-bemeste grond en leken zich met toediening van drijfmest, na de eerste piek, slechter te handhaven. In de tweede proef reageerden de GP bacteriën wel positief op verstoring van de niet-bemeste grond, maar konden ze zich later in de proefperiode eveneens slechter handhaven. Toediening van drijfmest gaf in het begin een toename van GP bacteriën, maar aan het einde van de proefperiode was de overleving in bemeste grond minder vergeleken met niet-bemeste grond. In de derde proef reageerden de GP bacteriën nauwelijks op verstoring van niet-bemeste grond. Toediening van drijfmest gaf in het begin een beperkte toename van GP bacteriën, maar had op de iets langere termijn (tot 56 dagen) gemiddeld geen effect op de overleving.

Zowel in de eerste als tweede proef reageerden de GN bacteriën positief op de verstoring van de niet-bemeste grond, maar konden ze zich daarna slecht handhaven, als gevolg van voedselgebrek. In de derde proef had verstoring geen effect en bleef de biomassa van GN bacteriën stabiel tijdens de (relatief kortdurende) incubatie. De toediening van drijfmest had in de eerste proef nauwelijks een verhogend effect op de GN bacteriën, maar gaf wel een betere overleving later in de proefperiode (na dag 14). In de tweede proef reageerden de GN bacteriën duidelijk positief op drijfmest en hadden de hele proefperiode een betere overleving. In de derde proef was er een beperkt positief effect van drijfmest op de GN bacteriën en hadden ze eveneens over de rest van de proefperiode een betere overleving. Toediening van drijfmest gaf in de drie proeven een duidelijk betere overleving van GN bacteriën, in de tweede proef voor minstens 168 dagen.

Als gevolg van de toediening van drijfmest nam de verhouding GP/GN bacteriën in de eerste proef, na een tijdelijke piek, de eerste 14 dagen af, en bleef daarna constant op een lager niveau, vanaf dag 7 over het niveau van de niet-bemeste controle. In de tweede proef was de GP/GN verhouding maximaal op dag 7, stabiel tussen dag 14 en dag 56, en daalde daarna tot het einde van de proefperiode. Vanaf dag 14 was het niveau lager dan bij de niet-bemeste controle.

In de derde proef had de toediening van drijfmest in het begin weinig effect op de GP/GN verhouding, maar vanaf dag 28 was de verhouding lager dan bij de niet-bemeste controle. Geconcludeerd wordt dat in alle drie proeven de toediening van drijfmest op de langere termijn de verhouding van GP/GN bacteriën verlaagde.

De schimmel-PLFA en de verhouding schimmel/bacterie-PLFA waren in alle drie proeven aanzienlijk hoger als gevolg van de toediening van drijfmest, en in de derde proef waren de schimmels de enige functionele groep met een duidelijke (en significante) toename in PLFA. In de eerste twee proeven piekte de schimmel-PLFA kort na inzetten, daalde daarna, en nam vervolgens weer toe tot een tweede, lagere piek. In de eerste proef vond de afname vooral plaats tussen dag 3 en 7, in de tweede proef tussen dag 14 en 56. De langere periode van afname na de eerste piek en het latere tijdstip van de tweede piek, in de tweede proef, kunnen mogelijk verklaard worden uit het gebruik van verse in plaats van verouderde mest. In de derde proef ontbraken de twee pieken; bij vier van de vijf drijfmesten was de schimmel-PLFA het hoogst bij de eerste meting op dag 7 en vertoonde daarna een dalende trend.

De verhoogde hoeveelheid schimmel-PLFA en daardoor hogere verhouding van schimmel/bacterie-PLFA na bemesting met drijfmest was waarschijnlijk het gevolg van de toediening van moeilijk afbreekbare OS, die vooral door schimmels wordt afgebroken. In lange-termijn veldproeven heeft de N uit mest een negatief effect op de schimmels en de schimmel/bacterieverhouding (De Vries et al., 2006, 2007, 2009). Dit betreft echter niet alleen saprotrofe schimmels maar ook mycorrhiza, schimmels die in de incubatieproeven (vrijwel) geen rol speelden vanwege de afwezigheid van planten. Uit de resultaten van de drie incubatieproeven kan daarom niet worden geconcludeerd dat toediening van drijfmest in algemene zin positief is voor schimmels en de ecosysteemdiensten die ze vervullen, zoals o.a. vastlegging van koolstof en nutriënten, vergroten van droogteresistentie, verbeteren van bodemstructuur, en waterregulatie. Om hier specifiekere uitspraken over te kunnen doen, zou ook het effect van drijfmest op mycorrhiza gemeten moeten worden en zou onderscheid gemaakt moeten worden tussen het (algemene) effect van N en het effect van drijfmest als organische meststof.

In tegenstelling tot de schimmel-PLFA was de PLFA van GP bacteriën, die ook complexe verbindingen van bodemorganische stof afbreken, na enige tijd gereduceerd, terwijl de GN bacteriën juist langdurig verhoogd waren. Dit zou wijzen op een grotere beschikbaarheid van gemakkelijk afbreekbare C, terwijl de verhoogde schimmel/bacterieverhouding juist wijst op een toename van moeilijk afbreekbaar materiaal. De verklaring is waarschijnlijk dat met drijfmest beide typen organische materiaal werden toegediend en daardoor beide effecten tegelijkertijd optraden. Een verhoogde beschikbaarheid van gemakkelijk afbreekbare C kan ook leiden tot verhoogde afbraak van complexe bodem-OS (‘priming’) en mogelijk remming van de groei van GP bacteriën door competitie met GN bacteriën (Fanin et al., 2019).

De actinomyceten leken in de eerste proef nauwelijks te reageren op toediening van drijfmest, terwijl in de tweede en derde proef er een duidelijke toename en een verhoogd niveau was tijdens de proefperiode, vergeleken met de niet-bemeste controle. Omdat actinomyceten net als schimmels draden vormen hebben ze daardoor mogelijk minder last gehad van predatie.

4.3 Effecten van urine en feces

Toediening van urine of feces gaf meestal een andere ontwikkeling van de PLFA van de functionele groepen dan toediening van drijfmest. De bacteriële PLFA piekte meteen na toediening van zowel urine als feces, nam daarna de eerste 28 dagen snel af, en nam daarna weer toe tot een tweede (lagere) piek op dag 56 (feces) of dag 84 (urine). Dit patroon werd vooral veroorzaakt door de verandering van de PLFA van GP bacteriën. Bij drijfmest piekte de bacteriële PLFA op dag 14 en nam daarna alleen maar af. Toediening van urine had, vergeleken met de niet-bemeste controle, nauwelijks effect op de schimmel-PLFA, en gaf tussen dag 14 en dag 56 een lagere PLFA van GP bacteriën. Verder had urine, vergeleken met feces, een groter positief effect op de PLFA van GN bacteriën en van actinomyceten. Zowel bij toediening van urine als drijfmest was de verhouding GP/GN bacteriën aanzienlijk lager vergeleken met feces of de niet-bemeste controle. Bij drijfmest werd deze lagere verhouding vooral veroorzaakt door de bijdrage van de urine, omdat bij feces de GP/GN verhouding grotendeels overeenkwam met die van de niet-bemeste controle.

Bij interpretatie van de effecten van gescheiden of gezamenlijke toediening van urine en feces is het belangrijk om te realiseren dat bij gescheiden toediening de hoeveelheid grond dubbel zo groot was als bij gezamenlijke toediening. Hierdoor was bij gescheiden toediening de concentratie van de urine en feces in de grond de helft van de concentratie bij gezamenlijke toediening. In de parallelle C-respiratieproef (De Boer, 2023a) is dit verschil in concentratie ondervangen door de opgetelde bruto C-respiratie van gescheiden toediening van 8 ton urine en 12 ton feces te vergelijken met de helft van de bruto C-respiratie bij toediening van 40 ton drijfmest. In de voorliggende proef met PLFA-meting is het effect van gescheiden toediening versus gezamenlijke toediening benaderd door bij gescheiden toediening 1x de PLFA van de niet-bemeste controle in mindering te brengen (deze zit er door de sommatie namelijk 2x in). Hiermee wordt geen rekening gehouden met eventuele effecten van de lagere concentratie van urine en feces op de PLFA-bijdrage van de grond, maar dit effect was waarschijnlijk beperkt.

Gezamenlijke toediening van urine en feces als drijfmest gaf tijdens een deel van de proefperiode grotere hoeveelheden PLFA vergeleken met gescheiden toediening. Bij de bacteriën en actinomyceten was dit vooral tussen dag 7 en dag 56, en bij de saprotrofe schimmels tussen dag 7 en dag 28 en na dag 56. Bij de schimmels was het gewogen gemiddelde van de PLFA over de proefperiode ook significant hoger bij gezamenlijke toediening vergeleken met gescheiden toediening. Met deze resultaten is in de voorliggende proef geen bewijs gevonden dat gescheiden toediening van urine en feces de groei van micro-organismen meer stimuleert dan de gezamenlijke toediening als drijfmest, eerder van het tegendeel.

De verhoogde PLFA bij gezamenlijke toediening werd waarschijnlijk veroorzaakt door de extra N die met de urine werd toegediend. Bij aparte toediening van feces was er waarschijnlijk een relatief tekort aan opneembare (minerale) N, dat door de gezamenlijke toediening met urine werd opgeheven en waardoor de micro-organismen sneller konden groeien. Uit de parallel uitgevoerde C-respiratieproef blijkt dat de mineralisatie van C uit feces niet door N-gebrek werd geremd (De Boer, 2023a). De saprotrofe schimmels zijn een duidelijk voorbeeld van een functionele groep waarbij toediening van alleen urine nauwelijks effect had op de PLFA, maar waar bij gezamenlijke toediening de PLFA duidelijk hoger was, vergeleken met zowel de niet-bemeste controle als de toediening van alleen feces (Fig. 13). De C in urine kan weinig effect op de schimmel-PLFA hebben gehad, omdat er met urine erg weinig mineraliseerbare C werd toegediend (De Boer 2023a).

4.4 Effect van toenemende ouderdom van drijfmest

In de derde proef was in de niet-bemeste zandgrond de PLFA van GP bacteriën en actinomyceten aanzienlijk hoger dan in de eerste twee proeven, en de verhouding schimmel/bacterie PLFA aanzienlijk lager, terwijl de hoeveelheden PLFA van schimmels en GN bacteriën redelijk vergelijkbaar waren. De grote hoeveelheid PLFA van GP bacteriën in de niet-bemeste zandgrond was mogelijk een reden waarom effecten van de toediening van drijfmest, en van toenemende opslagduur van drijfmest, op de PLFA relatief klein waren.

Effecten van opslagduur leken erg variabel en lastig te duiden, ondanks dat als gevolg van opslag de hoeveelheid OS in mest gestaag was afgenomen, en er met de mest met 119 dagen opslag 20% minder OS werd toegediend vergeleken met de mest zonder opslag (Tabel 2). Daarnaast gaf opslag voor 56 dagen bijna een verviervoudiging van het gehalte VFA, en opslag voor 119 dagen een ruime verdrievoudiging. Mogelijk waren de schommelingen in PLFA wel realistisch, en vooral het gevolg van complexe interacties. Een bijdrage hieraan kan zijn geleverd doordat het VFA-gehalte tijdens de eerste 77 dagen opslag gestaag toenam en bijna verviervoudigde, in de twee weken daarna met bijna 20% daalde, en daarna stabiel bleef (De Boer, 2023b). Om eventuele effecten van langere opslag inzichtelijk te maken, zouden veranderingen in PLFA na mesttoediening mogelijk directer gerelateerd moeten worden aan veranderingen in mestsamenstelling. Op basis van de uitgevoerde proef zijn er geen duidelijke aanwijzingen dat bepaalde functionele groepen micro-organismen meer gestimuleerd worden door toediening van verse(re) mest vergeleken met oude(re) mest. De veel grotere hoeveelheid PLFA van GP bacteriën en actinomyceten in de zandgrond van de derde proef, vergeleken met de twee andere proeven, is mogelijk het gevolg van de verzameling in het voorjaar, uit grasland dat op dat moment al ruim een maand regelmatig was beweid. De zandgrond van de eerste proef was niet afkomstig van grasland maar van bouwland, en de zandgrond van de tweede proef was verzameld in de winter, toen het gras en de bodem in rust waren.

Mogelijk heeft de beweiding de bacterie-activiteit, vooral van GP bacteriën, aanzienlijk gestimuleerd. Bij vervolgonderzoek met organische mest kan het verstandig zijn om geen zandgrond met sterk verhoogde bacteriële PLFA te gebruiken, zodat eventuele effecten van behandelingen eerder aangetoond kunnen worden.

4.5 Remming van C-mineralisatie

In meerdere C-mineralisatieproeven, waaronder de voorliggende drie proeven met PLFA-meting, was er na toediening van drijfmest een remming van de C-mineralisatie van grond-C (~bodemorganische stof) (zie de drie parallel uitgevoerde C-mineralisatieproeven). Uit de tweede proef (De Boer, 2023a) kan worden geconcludeerd dat de remming werd veroorzaakt door de urine in de drijfmest, en uit De Boer (2020) dat zout in de urine waarschijnlijk de achterliggende oorzaak is.

Wanneer wordt geprobeerd om de remming van C-mineralisatie te verklaren uit een negatief effect van urine op de groei van micro-organismen, dan komt vooral een negatief effect op de groei van GP bacteriën in aanmerking. Gram-positieve bacteriën breken vooral oudere, moeilijker afbreekbare bodem-OS af, en remming van GP bacteriën zou dus een reden kunnen zijn voor de geconstateerde geremde afbraak van 'autochtone' bodem-OS (De Boer, 2023a). Daarnaast was de PLFA van GP bacteriën in de eerste proef (tijdelijk) verlaagd als gevolg van de toediening van drijfmest, en in de tweede proef als gevolg van de toediening van urine. In ander onderzoek waren de effecten van urine op de groei van GP bacteriën wisselend. Harris (1981) stelde dat bij waterstress (droogte) of toename in zoutgehalte een *toename* van GP bacteriën kan worden verwacht, en Baumann en Marschner (2013) constateerden inderdaad een toename van GP bacteriën bij experimenteel verhoogde zoutgehalten. Bertram et al. (2012) daarentegen vonden een daling van de verhouding GP/GN bacteriën na toediening van urine, maar schreven dit toe aan een afname van voeding (opgeloste organische koolstof en ammonium) tijdens de proefperiode. In onderzoek van Barin et al. (2015) waren er, als gevolg van een hoger zoutgehalte, veranderingen in PLFA samenstelling van de bodem die wezen op een aanpassing aan stress, een relatieve toename van saprotrofe schimmels ten opzichte van bacteriën, en ook een daling van de verhouding GP/GN bacteriën.

Conclusies

- Mengen van drijfmest met zandgrond gaf in drie incubatieproeven een langdurige verhoging van de PLFA van saprotrofe schimmels en GN bacteriën, en in twee proeven ook van actinomyceten. Hierdoor was de schimmel/bacterieverhouding langdurig hoger en de verhouding GP/GN bacteriën langdurig lager;

- De PLFA van GP bacteriën was in de eerste proef (tijdelijk) verlaagd als gevolg van de toediening van drijfmest, en in de tweede proef als gevolg van de toediening van urine;

- Mengen van verse urine met zandgrond had vrijwel geen effect op de schimmel-PLFA, gaf een overwegend lagere PLFA van GP bacteriën, en had een groter positief effect op de PLFA van GN bacteriën en actinomyceten dan de toediening van verse feces zonder urine;

- Zowel bij toediening van verse urine als verse drijfmest was de verhouding GP/GN bacteriën aanzienlijk lager dan bij toediening van verse feces of vergeleken met de niet-bemeste zandgrond. Bij drijfmest werd deze lagere verhouding vooral veroorzaakt door de bijdrage van de urine;

- Gezamenlijke toediening van verse urine en verse feces als drijfmest gaf tijdens het eerste deel van de proefperiode meer PLFA dan gescheiden toediening. Bij de bacteriën en actinomyceten was dit vooral tijdens de eerste 56 dagen van de proef, en bij de saprotrofe schimmels tussen dag 7 en 28 en na dag 56. Gemiddeld over de proefperiode was de schimmel-PLFA bij gescheiden toediening significant lager ($P < 0,05$) dan bij gezamenlijke toediening;

- Er is daarmee in het voorliggende onderzoek geen bewijs gevonden voor de hypothese dat gescheiden toediening van urine en feces de groei van micro-organismen meer stimuleert dan gezamenlijke toediening als drijfmest, eerder voor het tegendeel;

- De hogere groei bij gezamenlijke in plaats van gescheiden toediening werd waarschijnlijk veroorzaakt door de extra minerale N uit de urine;

- Remming van de mineralisatie van grond-C door de toediening van urine, zoals gemeten in een parallel uitgevoerde C-mineralisatieproef, kon op basis van de PLFA-metingen alleen worden verklaard door een negatief effect van urine op de groei van GP bacteriën;

- In het voorliggende onderzoek werd geen bewijs gevonden voor de hypothese dat versere mest, ofwel mest met een korte opslagduur, de groei van bepaalde functionele groepen micro-organismen meer of langer stimuleerde dan oudere mest.

Dankwoord

Wij danken proefbedrijf de Marke (proef 1), melkveehouder Rob Overesch (proef 2), en melkveehouder Meindert Wiersma (proef 3) voor de mogelijkheid om grond van één van hun percelen te verzamelen; melkveehouder John van Kasteren en Dairy Campus voor de mogelijkheid om mest te verzamelen; Willeke van Tintelen en Tamas Salanki (beide Soil Biology Group) voor het uitvoeren van de PLFA-incubatieproeven; Arriënne Matser (Wageningen Environmental Research) voor het uitvoeren van de PLFA metingen; en Joeke Postma (Wageningen Plant Research) voor het reviewen van een conceptversie van dit rapport. Het uitgevoerde onderzoek werd gefinancierd uit het KennisBasisproject 'Circular and climate neutral society' (KB-34-008-001).

Literatuur

Bao Y, Dolfing J, Guo Z, Chen R, Wu M, Li Z, Lin X, Feng Y (2021) Important ecophysiological roles of non-dominant Actinobacteria in plant residue decomposition, especially in less fertile soils. Microbiome 9:84.

Barin M, Aliasgharzad N, Olsson PA, Rasouli-Sadaghiani M (2015) Salinity-induced differences in soil microbial communities around the hypersaline Lake Urmia. Soil Research 53:494-504.

Baumann K, Marschner P (2013) Effects of salinity on microbial tolerance to drying and rewetting. Biogeochemistry 112:71–80.

Bertram JE, Orwin KH, Clough TJ, Condron LM, Sherlock RR, O'Callaghan M (2012) Effect of soil moisture and bovine urine on microbial stress. Pedobiologia 55:211-218.

Bloem J, Veninga M, Shepherd J (1995) Fully automatic determination of soil bacterium numbers, cell volumes and frequencies of dividing cells by confocal laser scanning microscopy and image analysis. Applied and Environmental Microbiology 61:926-936.

Churchland C, Bengtson P, Prescott CE, Grayston SJ (2021) Dispersed Variable-Retention Harvesting Mitigates N Losses on Harvested Sites in Conjunction With Changes in Soil Microbial Community Structure. Frontiers in Forests and Global Change 3:609216.

De Boer HC (2020) Afbreeksnelheid van organische stof uit runderdrijfmest: effecten van dosering, zoutgehalte en herkomst mest en grond. Rapport 1231, Wageningen Livestock Research, Wageningen.

De Boer HC (2021) Afbreeksnelheid van organische stof uit runderdrijfmest toegediend aan grond - Effecten van vochtgehalte in de grond en drogen van de grond. Rapport 1346, Wageningen Livestock Research, Wageningen.

De Boer HC (2023a) Mineralisatie van koolstof uit urine, feces, en drijfmest van melkkoeien na mengen met zandgrond. Rapport Wageningen Livestock Research, Wageningen (in voorbereiding).

De Boer HC (2023b) Mineralisatie van koolstof uit rundveedrijfmest met toenemende ouderdom na mengen met zandgrond. Rapport Wageningen Livestock Research, Wageningen (in voorbereiding).

De Boer HC, Timmerman M, Verdoes N, Schilder H (2018) Afbraak van organische stof uit (bewerkte) rundermest na toediening aan een zandgrond. Rapport 1095, Wageningen Livestock Research, Wageningen.

De Vries FT, Hoffland E, Van Eekeren N, Brussaard L, Bloem J (2006) Fungal/bacterial ratios in grasslands with contrasting management. Soil Biology and Biochemistry 38:2092-2103.

De Vries FT, Bloem J, van Eekeren N, Brussaard L, Hoffland E (2007) Fungal biomass in pastures increases with age and reduced N input. Soil Biology and Biochemistry 39:1620-1630.

De Vries FT, Bååth E, Kuyper TW, Hoffland E, Bloem J (2009) High turnover of fungal hyphae in incubation experiments. FEMS Microbiology Ecology 67:389-396.

Enggrob KL, Larsen T, Peixoto L, Rasmussen J (2020) Gram-positive bacteria control the rapid anabolism of protein-sized soil organic nitrogen compounds questioning the present paradigm. Scientific Reports 10:15840.

Fanin N, Kardol P, Farrell M, Nilsson MC, Gundale MJ, Wardle DA (2019) The ratio of Gram-positive to Gram-negative bacterial PLFA markers as an indicator of carbon availability in organic soils. Soil Biology and Biochemistry 128:111-114.

Frostegård Å, Bååth E, Tunlid A (1993) Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis. Soil Biology and Biochemistry 25:723-730.

Frostegård Å, Petersen ØO, Bååth E, Nielsen TH (1997) Dynamics of a microbial community associated with manure hot spots as revealed by phospholipid fatty acid analyses. Applied and Environmental Microbiology 63:2224-2231.

Harris RF (1981) Effect of water potential on microbial growth and activity. In: Parr JF, Gardner WR, Elliott LF (eds) Water potential relations in soil microbiology. American Society of Agronomy: 23-95.

Hedlund K (2002) Soil microbial community structure in relation to vegetation management on former agricultural land. Soil Biology and Biochemistry 34:1299-1307.

Heijboer A, Ten Berge HFM, De Ruiter PC, Jørgensen HB, Kowalchuk GA, Bloem J (2016) Plant biomass, soil microbial community structure and nitrogen cycling under different organic amendment regimes; a ^{15}N tracer-based approach. Applied Soil Ecology 107:251-260.

Houba VJG, Van der Lee JJ, Novozamsky I (1997) Soil and plant analysis. Part 1: Soil analysis procedures, Department of Soil Quality, Wageningen University.
Kirchmann H, Lundvall A (1993) Relationship between N immobilization and volatile fatty acids in soil after application of pig and cattle slurry. Biology and Fertility of Soils:161-164.
Meyer S, Thiel V, Joergensen RG, Sundrum A (2019) Relationships between feeding and microbial faeces indices in dairy cows at different milk yield levels. PLoS ONE 14(8):e0221266.
Palojärvi A (2006) Phospholipid fatty acid (PLFA) analyses. In: Bloem J, Hopkins DW, Benedetti A (eds) Microbiological methods for assessing soil quality. CABI, Wallingford, UK: 204-211.
Van Eekeren N, de Boer H, Bloem J, Schouten T, Rutgers M, de Goede R, Brussaard L (2009) Soil biological quality of grassland fertilized with adjusted cattle manure slurries in comparison with organic and inorganic fertilizers. Biology and Fertility of Soils 45:595-608.
Van Vliet PCJ, Reijs JW, Bloem J, Dijkstra J, and de Goede RGM (2007) Effects of cow diet on the microbial community and organic matter and nitrogen content of feaces. Journal of Dairy Science 90:5146-5158.
Wang S, Yan X, Wang D, Siddique IA, Chen J, Xu Q, Zhao C, Yang L, Miao Y, Han S (2021) Soil microbial community based on PLFA profiles in an age sequence of pomegranate plantation in the middle yellow river floodplain. Diversity 13:408.

To explore the potential of nature to improve the quality of life

Wageningen Livestock Research
Postbus 338
6700 AH Wageningen
T 0317 48 39 53
E info.livestockresearch@wur.nl
www.wur.nl/livestock-research

Wageningen Livestock Research ontwikkelt kennis voor een zorgvuldige en renderende veehouderij, vertaalt deze naar praktijkgerichte oplossingen en innovaties, en zorgt voor doorstroming van deze kennis. Onze wetenschappelijke kennis op het gebied van veehouderijsystemen en van voeding, genetica, welzijn en milieu-impact van landbouwhuisdieren integreren we, samen met onze klanten, tot veehouderijconcepten voor de 21e eeuw.

De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen 9 gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research en Wageningen University hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.500 medewerkers en 10.000 studenten behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.