

Bodeminoculatie leidt tot wijzigingen in de samenstelling van de plantengemeenschap en het bodemmicrobioom in het Terra Dunes project

Vijf jaar geleden is er in de Meijendel-vallei een groot veldexperiment gestart. De Universiteit van Leiden onderzoekt hier samen met Dunea wat de rol is van de bodem in het herstel van natuur in de duinen. Hoe hebben het microbioom in de bodem en de vegetatie zich ontwikkeld de afgelopen jaren?

TEKST: CHENGUANG GAO, NADEJDA SOUDZILOVSKAIA, PETER VAN BODEGOM, RICCARDO MANCINELLI, HARRIE VAN DER HAGEN EN MARTIJN BEZEMER

In het experiment, het Terra Dunes project (Figuur 1; Bezemer e.a. 2018), zijn bodeminoculaties uitgevoerd in een gebied met kaal duinzand. Nu, een aantal jaren later, worden de percelen bezet door allerlei verschillende plantensoorten. In de experimentele veldjes hebben we al meer dan 70 soorten geregistreerd. Interessant is dat er duidelijke verschillen zijn in de

samenstelling van de plantengemeenschappen van de experimentele percelen. Hoe hebben de bodeminoculatie behandelingen invloed gehad op de vestiging van plantensoorten en hoe reageerde de ondergrondse gemeenschap? In dit artikel beschrijven we de ontwikkeling van de planten- en de microbiële gemeenschappen in het Terra-Dunes experiment.

Planten en bodemmicro-organismen zijn beide belangrijke spelers in ecosystemen en nauw met elkaar verbonden. Sommige planten halen bijvoorbeeld fosfaat uit de bodem met de hulp van een specifieke groep schimmels, mycorrhiza-schimmels genaamd. Andersom wordt het bodemvoedselweb gevoed door de planten. Bodemgemeenschappen zijn

bijvoorbeeld sterk afhankelijk van de plantenresten en stoffen die uitgescheiden worden door plantenwortels. Het is daarom belangrijk plant-bodeminteracties goed te begrijpen en dit kan ons helpen te voorspellen hoe bovengrondse en ondergrondse biodiversiteit verandert en wat hun invloed is op de ontwikkeling van een ecosysteem. Bodemgemeenschappen zijn echter uiterst complex en divers. Een enkele gram grond kan al wel meer dan duizend soorten micro-organismen bevatten. Het onderzoeken van plant-bodeminteracties is daarom niet eenvoudig en het meeste onderzoek wordt dan ook gedaan in het laboratorium of met planten in potten. In het Terra-Dunes project zijn we de uitdaging aangegaan om plant-bodeminteracties te onderzoeken in het veld. We doen dat door de bodemgemeenschap te veranderen met behulp van bodeminoculaties (het uitstrooien van een klein beetje grond uit een bepaald gebied naar een ontvangend perceel) en dan te onderzoeken wat de consequenties zijn voor de planten en de bodem (Bezemer e.a. 2018, Soudzilovskaia e.a. 2020). Allerlei onderzoek heeft laten zien dat bodeminoculaties een handige manier

kunnen zijn om de samenstelling van bodemgemeenschappen en daarmee ook plantengemeenschappen te sturen.

Bodeminoculaties in het Terra-Dunes project

In het voorjaar in 2018 hebben we grond verzameld uit gebieden die typerend zijn voor verschillende ontwikkelingsstadia van de natuur: een vroeg stadium, grond uit open-duinvegetaties met helmgras; een middenstadium, grond uit soortenrijke graslanden; en een laat stadium, grond uit bossen. Voor elk stadium selecteerde Dunea vier verschillende gebieden, de donorlocaties (Figuur 2). De grond uit die verschillende locaties bevat andere bodemorganismen, maar ook een andere zaadbank, en de vraag is hoe het introduceren van deze vroege, midden- of late successiebodems de ontwikkeling van de vegetaties in het nieuwe gebied beïnvloedt en wat de rol van bodemorganismen is in dit proces. In elk van de 12 donorlocaties werd grond verzameld in een stukje van ongeveer twee bij twee meter. Met hulp van veel mensen werd die grond

in het veld gezeefd (1 cm maaswijdte) en opgeslagen in zakken. In een gebied met kaal wit duinzand zoals dit onderzoeksgebied kan behalve het bodemleven ook bijvoorbeeld de hoeveelheid organische stof in de bodem van groot belang zijn voor vestiging en groei van planten. Een bodem met meer organische stof houdt bijvoorbeeld het beschikbare water beter vast, iets dat heel belangrijk is in de droge duinzanden. Het transplanteren van een bodem met veel organische stof, zoals een bosbodem, zou ook op zo'n manier de vegetatie kunnen beïnvloeden. Om hier onderscheid in te kunnen maken, werd een deel van de verzamelde grond gesteriliseerd. Dit doodt het bodemleven en ook de zaden van planten. Vervolgens werden levende en dode bodems getransplanteerd op het onderzoeksterrein. In totaal zijn er 104 veldjes met verschillende bodembehandelingen.

Sinds 2018 hebben we aan het eind van elk groeiseizoen de samenstelling van de plantengemeenschap geregistreerd in elk veldje en bovengrondse plantendelen afgeknipt, gedroogd en gewogen (Figuur 3). Voor elke plantensoort werd de bedekking in alle veldjes geschat. Bodemmonsters werden ook jaarlijks verzameld, direct na de vegetatieopnames. Negen steekmonsters (0-10 cm diepte) werden verzameld in elk veldje om fysisch-chemische bodemparameters te karakteriseren en voor moleculaire analyses van de bodemmicrobiële gemeenschap. We hebben in ons onderzoek de bacteriële en schimmelgemeenschappen bestudeerd.

Over de tijd veranderde de samenstelling van de plantengemeenschap en dit bleek af te hangen van de bodeminoculatiebehandelingen (Figuur 4). Gemiddeld kon ongeveer 7% van de variatie in de vegetatie verklaard worden door de bodembehandelingen. Dit effect was niet heel groot, maar wel significant. Een paar zaken vallen



Figuur 1. Het Terra-Dunes experiment in Meijendel in het voorjaar in 2018 en in de zomer in 2020. Foto's: N. Soudzilovskaia and C. Gao.



Figuur 2. Overzicht met de locaties waar donor grond verzameld is in Meijendel. Het experimentele veld is aangegeven met een rode stip. De donor grond kwam uit locaties met vroege duinvegetatie (Dune), soortenrijk grasland (Grassland) en bos (Forest).

op. In het eerste jaar van het experiment verschilde de vegetatie in de veldjes met bodem uit duingraslanden het meest van die in de controle veldjes zonder inoculatie (Figuur 4a). Deze figuur laat een zogenaamd multivariaat plaatje zien van de vegetatie. Alle soorten zijn verwerkt in één figuur

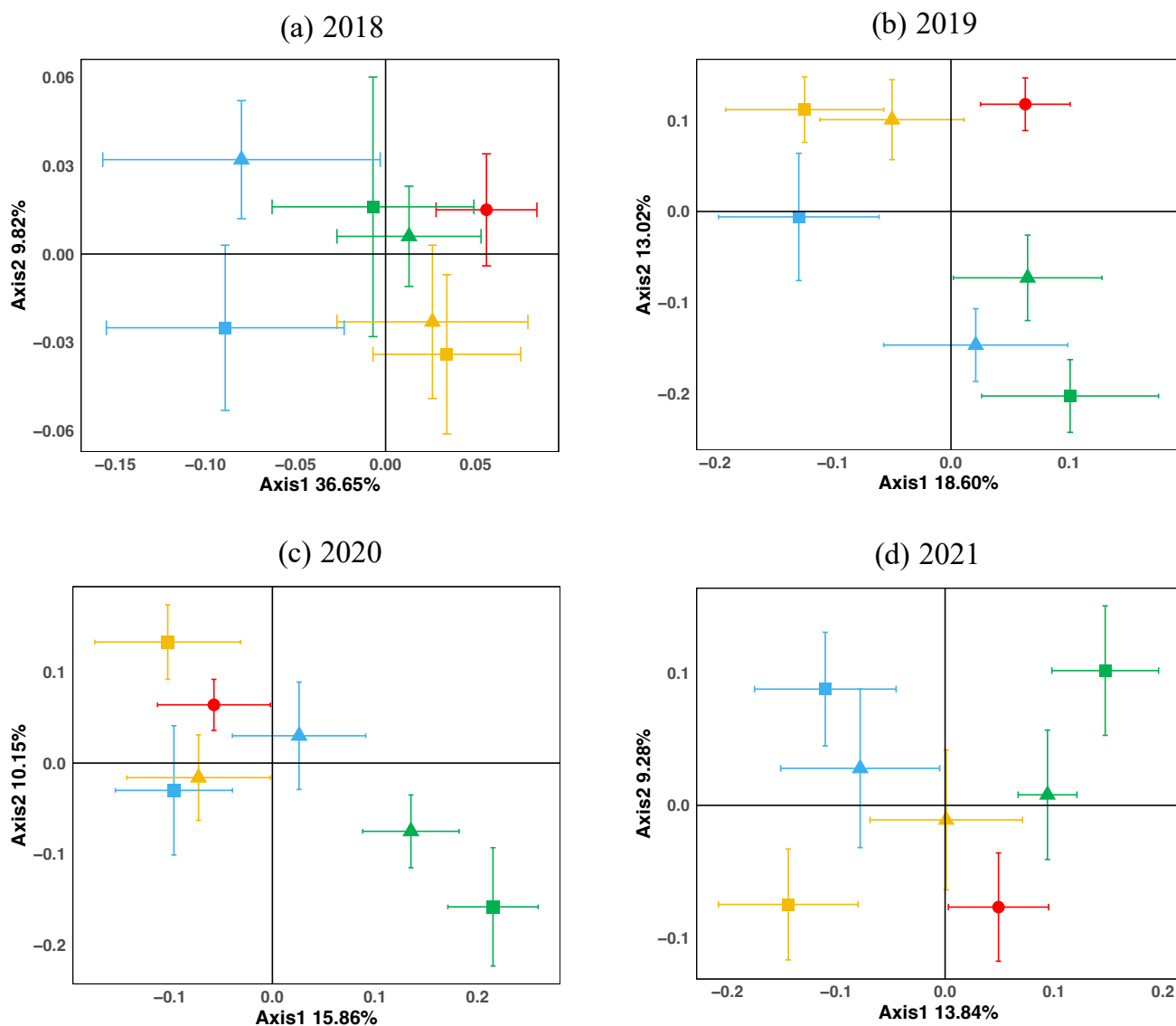
in plaats van elke soort weer te geven in een aparte figuur. De interpretatie van zo'n figuur is wat complex, maar als symbolen dicht bij elkaar liggen betekent dit dat de vegetaties veel op elkaar lijken terwijl het tegenovergestelde het geval is voor symbolen die ver van elkaar verwijderd zijn.



Figuur 3. Jaarlijkse oogst door studenten van de Universiteit van Leiden. Foto: C. Gao.

In Figuur 4a is te zien dat de blauwe symbolen (het gemiddelde voor veldjes met graslandgrondinoculatie) het verst afliggen van het rode symbool (het gemiddelde voor veldjes zonder bodeminoculatie). Bovendien valt het op dat in 2018 er veel meer variatie is tussen veldjes die geïnoculeerd zijn met duingrond dan tussen de controle veldjes (grotere standaardafwijking weergegeven als horizontale en verticale streep). Dit effect werd de daaropvolgende jaren kleiner (Figuur 4b-d). Een interessante waarneming is ook dat het voor de vegetatieontwikkeling belangrijker is welk bodeminoculum gebruikt wordt, dan of het inoculum gesteriliseerd is of niet. Een verklaring hiervoor zou kunnen zijn dat veranderingen door het inoculeren in voedingsstoffen en de hoeveelheid organische stof in de bodem waarschijnlijk belangrijker zijn dan veranderingen in de microbiële gemeenschap voor de ontwikkeling van de plantengemeenschappen.

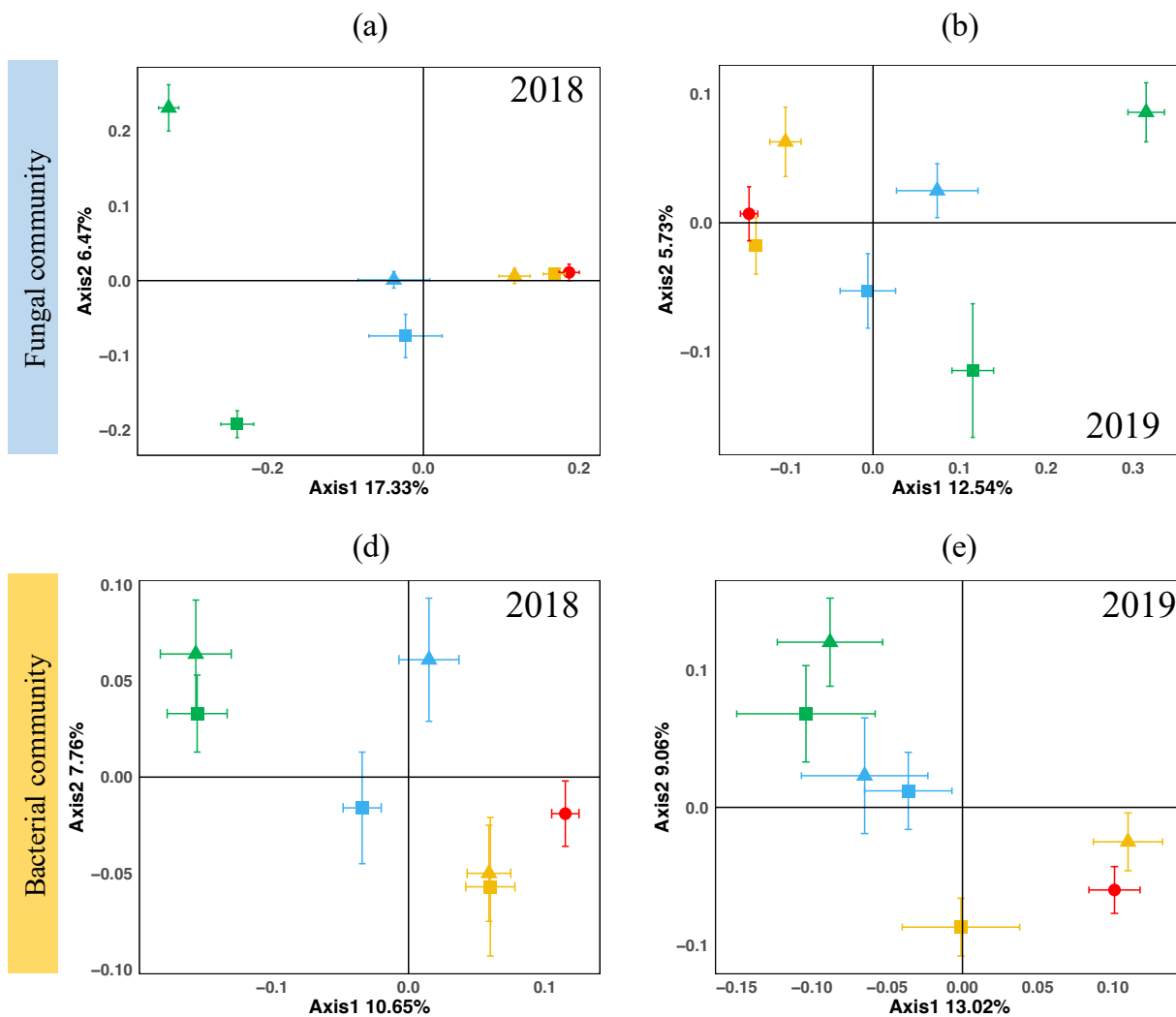
De bodemmicrobiële gemeenschap werd sterker beïnvloed dan de vegetatie door de bodeminoculatiebehandelingen en ook door het wel of niet steriliseren van de bodeminocula voor toediening, (Figuur 5). Gemiddeld werd ongeveer 13% van de variatie in de schimmelgemeenschap en 10% van de variatie in de bacteriegemeenschap verklaard door de bodembehandelingen. Het gebruik van verschillende bodeminocula leidde tot een duidelijk verschil in de samenstelling van bodemschimmels en -bacteriën. De bodemmicrobiële gemeenschappen in veldjes met bodeminocula afkomstig van bossen (groene symbolen) verschilden het sterkst van de controlepercelen (rode symbool). Inoculatie met grond uit een vroeg duinstadium had het minste effect (de gele symbolen liggen dicht bij het rode symbool). In veldjes met bosgrond is er aanvankelijk een groot verschil tussen levend en gesteriliseerd inoculum maar dit effect wordt kleiner over de



tijd. Voor de schimmelmenging lijkt het effect van steriliseren van het inoculum groter te worden voor bos- en duingrond, maar juist kleiner voor grasland grond.

In tegenstelling tot wat we hadden verwacht, leidde het toevoegen van levende bodembiota door middel van inoculatie de eerste jaren dus slechts tot een relatief beperkt effect op de samenstelling van de plantengemeenschap, hoewel de bodemgemeenschappen wel waren beïnvloed door de experimentele behandelingen. Het lijkt erop dat voor de ontwikkeling van de plantengemeenschap in dit systeem, veranderingen in voedings-

*Figuur 4. Multivariate weergave van de vegetaties in het veldexperiment. De figuren zijn PCA's (principal component analysis) voor 2018 tot en met 2021. Hierin zijn alle plantensoorten verwerkt. De symbolen geven de gemiddelde waarden weer voor alle veldjes die dezelfde bodembehandeling gekregen hebben. De horizontale en verticale lijnen geven de standaardafwijking tussen de veldjes in elke behandeling weer. De F-waarde en significantie voor het Inoculatie effect (I) is ook weergegeven, gebaseerd op een PERMANOVA (Permutational multivariate analysis of variance). Effecten van sterilizatie van de bodem en de interactie tussen inoculatie en sterilizatie van de bodem waren niet significant. * $P < 0.05$.*

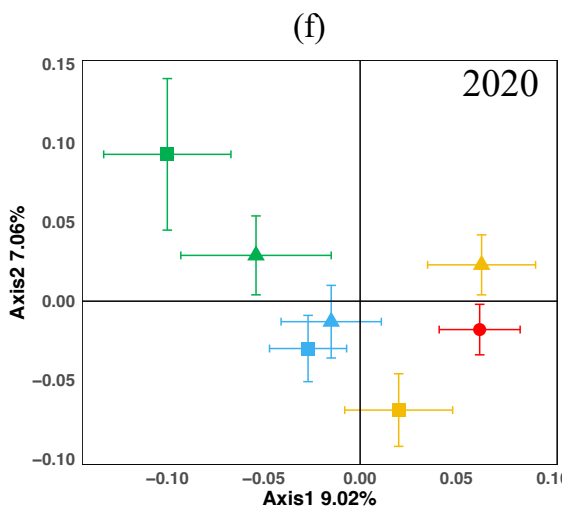
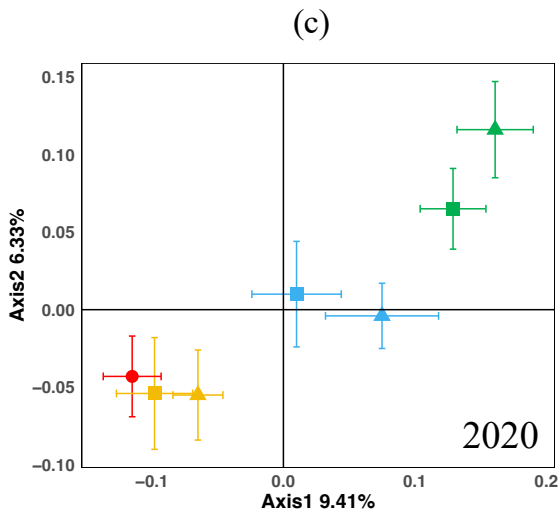


Figuur 5. Multivariate weergave van de schimmel- (a,b,c) en bacterie(d,e,f)gemeenschappen in het veldexperiment in 2018-2020. De figuren zijn PCA's (principal component analysis). De symbolen geven de gemiddelde waarden weer voor alle veldjes die dezelfde bodembehandeling gekregen hebben. De horizontale en verticale lijnen geven de standaardafwijking tussen de veldjes in elke behandeling weer. De F-waardes en significantie voor het inoculatieeffect (I), het sterilisatie effect (S) en de interactie tussen het inoculatie- en sterilisatieeffect (I x S) zijn ook weergegeven, gebaseerd op een PERMANOVA (Permutational multivariate analysis of variance). * $P < 0.05$.

stoffen in de bodem als gevolg van bodeminoculatie, belangrijker zijn dan veranderingen in het bodemgemeenschap. Dit komt misschien niet helemaal als een verrassing omdat het experiment opgezet is in kaal duinzand. Duinzand bevat zeer weinig voedingsstoffen en houdt geen water vast. Toevoeging van voedingsstoffen en organische stof door bodeminoculaties aan dit zand is dan waarschijnlijk van zeer groot belang voor de vestiging van planten.

In het eerste jaar na inoculatie waren er duidelijke verschillen in de bodemmicrobiële gemeenschappen van de veldjes. Dit was wat we verwacht hadden, omdat we verschillende bodembiota geïntroduceerd hebben in de veldjes. Interessant is dat de verschillen in bodemschimmels tussen percelen die geïnoculeerd zijn met levend en gesteriliseerd bodeminoculum veel groter waren dan die in bodembacteriën, met name in percelen met bos-bodeminocu-

lum. De effecten van sterilisatie van het inoculum bleven zichtbaar in de daarop volgende jaren, maar de sterilisatieeffecten op de bodembacteriegemeenschap namen vervolgens af na verloop van tijd. Dit kan te verklaren zijn door de verschillende levensstrategieën van bodemschimmels en -bacteriën. Bodemschimmels groeien langzaam, terwijl bodembacteriën dynamisch zijn en bacteriegemeenschappen kunnen snel veranderen over de tijd.



Soil inocula origin

- Control
- Primary Dunes
- Dune Grasslands
- Dune Forests

Soil sterilization

- No soil inocula
- ▲ Living soil inocula
- Sterile soil inocula

Op 2 maart 2023 verdedigde Chenguang Gao zijn proefschrift over ondergrondse en bovengrondse ecosysteem processen in het Terra Dunes project (Gao 2023). Het Terra Dunes project biedt een uniek platform voor samenwerking tussen onderzoekers en natuurbeheerders om natuurontwikkelingprocessen te bestuderen en begrijpen. Het Terra Dunes experiment biedt waardevolle inzichten in de effecten van bodeminoculatie op planten- en bodemmicrobiële gemeenschappen in natuurlijke duinecosystemen. We ontdekten dat factoren zoals voedingsstoffen en organische stof in de bodem de dynamiek van plantengemeenschappen sterk kunnen beïnvloeden. Echter, we zagen ook dat vier jaar na inoculatie de bodemgemeenschap nog steeds anders is dan in controle veldjes, en dat in

het bijzonder de schimmels beïnvloed zijn door de inoculaties. Schimmels zijn erg belangrijk voor plantengroei en hoe deze veranderingen in bodemschimmels vervolgens weer planten en het functioneren van de duinbodem beïnvloeden hopen we de komende jaren verder te onderzoeken in het Terra-Dunes project.

Chenguang Gao, Nadejda Soudzilovskaia, Peter M. van Bodegom, Ricardo Mancinelli: Centrum voor Milieuwetenschappen (CML) Leiden Universiteit

Martijn Bezemer: Instituut voor Biologie (IBL), Leiden Universiteit

Harrie van der Hagen: Dunea Duin en Water

Literatuur

- Bezemer TM, Soudzilovskaia NA, Mancinelli R, Duhamel M, Van der Hagen H (2018). *TERRA-Dunes: natuurherstel in de duinen met bodemtransplantaties. Holland's Duinen* 72: 11-14.
- Gao C (2023). *Plant-soil interactions determine ecosystem aboveground and belowground processes in primary dune ecosystems. PhD Thesis. Leiden University.*
- Soudzilovskaia N, Bezemer M, Van Bodegom P, Gao C, Van den Hagen H (2020). *Ondergrondse schimmelloorlog stuurt de ontwikkeling van een plantengemeenschap in de duinen. Holland's Duinen.* 76: 22-27.