

o+bn

Kennisnetwerk OBN

Herstel van kruiden- en faunarijke graslanden in het droge zandlandschap

*Analyse van de effecten op
de samenstelling van het bodemleven*



Herstel van kruiden- en faunarijke graslanden in het droge zandlandschap

Analyse van de effecten op de samenstelling van het bodemleven

K. van Bochove, Msc (Datura Molecular Solutions)
G.M. Gerrits, BA (Reinsdyr Advies)



© 2020 VBNE, Vereniging van Bos- en Natuurterreineigenaren

Rapport nr. 2020/OBN235-DZ
Driebergen, 2020

Deze publicatie is tot stand gekomen met een financiële bijdrage van BIJ12 en het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit.

Teksten mogen alleen worden overgenomen met bronvermelding.

Oplage	Dit rapport is als pdf beschikbaar op www.natuurkennis.nl
Samenstelling	K. van Bochove G.M. Gerrits
Foto voorkant	Succesvolle vestiging van gewone margriet na inzaaien in behandelde proefvlakken (Foto: Karl Eichhorn)
Druk	KNNV Uitgeverij/KNNV Publishing
Productie	Vereniging van Bos- en Natuurterreineigenaren (VBNE) Adres : Princenhof Park 7, 3972 NG Driebergen Telefoon : 0343-745250 E-mail : info@vbne.nl

Voorwoord

Het doel van het Kennisnetwerk Ontwikkeling en Beheer Natuurkwaliteit (OBN) is het ontwikkelen, verspreiden en benutten van kennis voor terreinbeheerders over natuurherstel, Natura 2000, PAS, leefgebiedenbenadering en ontwikkeling van nieuwe natuur.

Binnen het Natuur Netwerk Nederland (NNN) neemt het beheertype kruiden- en faunarijke grasland (N12.02) een aanzienlijk areaal in, met name binnen het droge zandlandschap. Echter, op dit moment verkeert het merendeel van het areaal in de grassenfase, veelal gedomineerd door gestreepte witbol en/of gewoon struisgras, ondanks dat er veelal reeds jarenlang ontwikkelingsbeheer wordt toegepast. Deze graslanden hebben een laag aandeel kruiden en een lage soortenrijkdom waardoor zij ook voor fauna van weinig waarde zijn. Het gevoerde beheer van maaien en afvoeren lijkt weliswaar op verschillende locaties te leiden tot een voedselarmere standplaats, maar de dominantie van grassen wordt niet doorbroken en daardoor wordt de gewenste soortensamenstelling niet bereikt.

In een onderzoek uit 2016 in 20 graslandpercelen die in ontwikkelingsbeheer zijn genomen, blijkt dat er geen relatie is gevonden tussen fosfaat en de florakwaliteit c.q. gewenste soortensamenstelling. Voor deze graslanden is dynamiek waarschijnlijk een meer bepalende factor dan voedselrijkdom. Immers, de florakwaliteit was significant hoger op graslanden die een voorgeschiedenis kenden als productieakker dan op graslanden die een voorgeschiedenis kenden als productiegrasland.

Dit was aanleiding om te onderzoeken hoe graslanden op de droge zandgronden, die bij verschraling in een gestreepte witbol- of gewoon struisgrasstadium blijven steken, effectief kunnen worden omgevormd tot kruiden- en faunarijke graslanden. Daarbij zijn vormen van tijdelijk akkerbeheer, in combinatie met het inbrengen van zaden van nectar- en waardplanten, als kansrijke maatregelen onderzocht. De resultaten van dat onderzoek zijn te vinden in het rapport 'Rapport nr. 2019/OBN230-DZ' op www.natuurkennis.nl.

Aanvullend op dat onderzoek is in 2019 onderzoek gedaan naar de samenstelling van de bodemgemeenschap door gebruik van environmental-DNA (eDNA). Dit is alleen op de locatie Soeslo uitgevoerd, omdat hier de meeste verschillen tussen de behandelingen waren te zien. Uit de dendrogramanalyses van de bodemgemeenschappen blijkt dat de verschillen tussen de drie behandelingen beperkt zijn.

Ik wens u veel leesplezier

Teo Wams

Voorzitter van het OBN Platform/Adviescommissie OBN

Inhoudsopgave

Inhoudsopgave	6
1 Inleiding	7
1.1 Aanleiding	
1.2 Doel van het onderzoek	7
1.3 Onderzoeksvraag	8
2 Methodiek bodembioologische metingen	9
2.1 Monstername	9
2.2 Laboratoriumanalyses en bio-informatica	10
3 Resultaten	13
3.1 Bodemgemeenschap	13
3.2 Schimmels	17
3.3 Soortgroepen hoog in het bodemvoedselweb	20
4 Synthese	23
5 Aanbevelingen	25
6 Literatuur	27

1 Inleiding

1.1 Aanleiding

Langdurig verschrallingsbeheer van voormalige landbouwpercelen leidt in de praktijk vaak niet tot een soortenrijke vegetatie met een hoog aandeel aan kruiden. De percelen blijven hangen in een "grassenfase" (*sensu* Schippers et al., 2012), waarbij gestreepte witbol (*Holcus lanatus*) en/of gewoon struisgras (*Agrostis capillaris*) de vegetatie domineren. Het aandeel kruiden in de vegetatie blijft laag, ondanks een afname van de voedselrijkdom van de bodem. Het vermoeden bestaat daarom dat andere factoren een rol spelen bij de dominantie van grassen dan de voedingstoestand van de bodem alleen (Eichhorn & Ketelaar 2016; Gerrits & van der Putten, 2019). Uit onderzoek naar kruidenrijkdom in graslanden op zandgronden (Eichhorn & Ketelaar, 2016), komt naar voren dat dynamiek een belangrijke rol zou kunnen spelen in de soortenrijkdom van de vegetatie; de dichte grasmat voorkomt vermoedelijk dat kruiden succesvol kunnen kiemen.

Om de rol van dynamiek op de kwaliteit van de vegetatie te onderzoeken en hoe soortenarme graslanden effectief omgevormd zouden kunnen worden naar kruidenrijk grasland, is in het kader van OBN een experiment uitgevoerd waarbij drie behandelingen met verschillende dynamiek-intensiteit zijn toegepast (Dorland et al., 2019).

Op drie proeflocaties is het effect onderzocht van hooilandbeheer, roggeteelt en zwarte braak. Hierbij is een analyse gemaakt van de effecten van de behandelingen op de bodemchemie, de samenstelling van de vegetatie en op de entemofauna. Voor details over de opzet en uitvoer van het experiment verwijzen we naar het begeleidende rapport (Dorland et al., 2019).

Het vermoeden bestaat dat het in stand blijven van de grasdominantie niet alleen komt door een gebrek aan kiemingsmogelijkheden voor kruiden, maar dat ook het bodemleven bijdraagt aan het in standhouden van de grasvegetatie (Gerrits & van der Putten, 2019). Tegelijkertijd is er nog maar relatief weinig over de invloed van het bodemleven op de vegetatie bekend.

Aanvullend op het OBN-experiment van Dorland et al. (2019) is daarom besloten om een analyse uit te voeren naar de samenstelling van het bodemleven onder de verschillende behandelingen aan het einde van de looptijd van het experiment. Dit rapport doet verslag van die analyse.

Het onderzoek is uitgevoerd door Datura Molecular Solutions in samenwerking met Reinsdyr Advies.

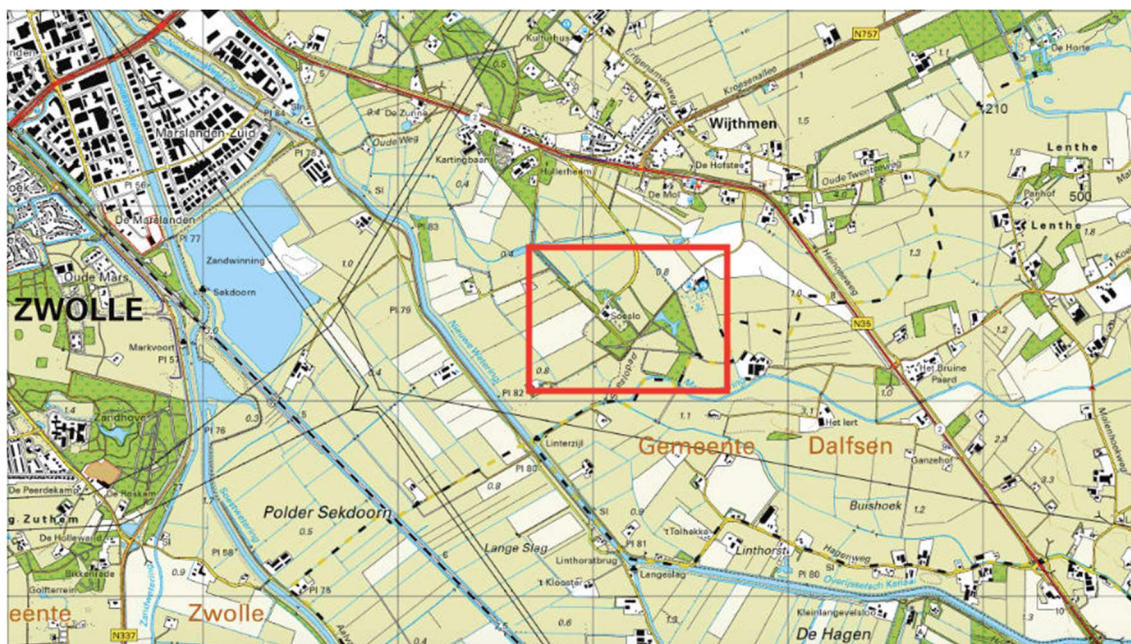
1.2 Doel van het onderzoek

Het doel van het onderzoek was om meer inzicht te krijgen in de rol van de bodemgemeenschap bij het herstel van kruiden- en faunarijke graslanden, door middel van een analyse naar de effecten die de verschillende behandelingen gehad hebben op de samenstelling van het bodemleven. Door de opdrachtgever, VBNE, is ervoor gekozen de aandacht te concentreren op het meest succesvolle van de drie studiegebieden; te weten het graslandperceel op landgoed Soeslo.

1.3 Onderzoeksvraag

De onderzoeksvragen die centraal stonden in dit onderzoek zijn:

1. Wat is het effect van de toegepaste beheermaatregelen op de bodemgemeenschap in het algemeen?
2. Verschilt de verhouding tussen bacteriën en schimmels tussen de verschillende behandelingen?
3. Wat is het aandeel van soort(groepen) die zich hoger in het voedselweb bevinden?
4. Zijn er relaties aanwezig tussen de bodemgemeenschap en de bodemchemische parameters, vegetatie en de entomofauna?



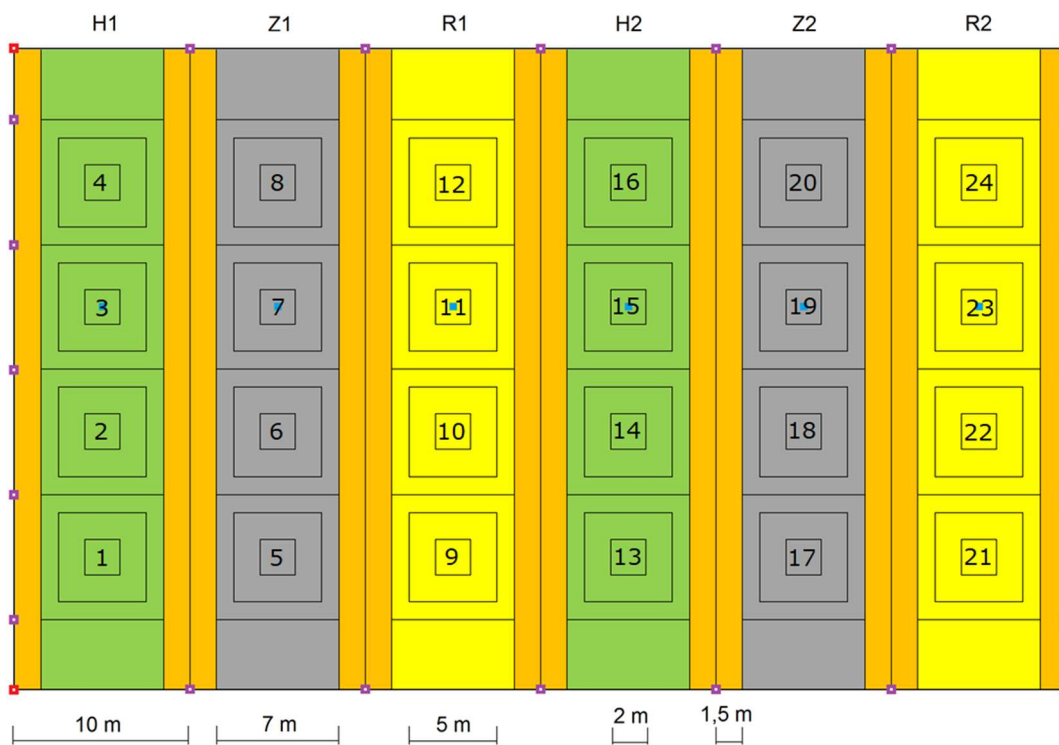
Figuur 1.1: Studiegebied, met landgoed Soeslo gelegen binnen de rode omkadering.

Figure 1.1: Study area, with Soeslo estate indicated within the red border.

2 Methodiek bodembioologische metingen

2.1 Monstername

Op 11 en 12 maart 2019 zijn er 24 mengmonsters verzameld in de 24 deelproefvlakken (zie figuur 2.1). Eerst zijn de proefvlakken, die niet meer herkenbaar waren in het veld, opnieuw uitgemeten met behulp van een meetlint (30 meter), metselaarstouw en markeringspaaltjes (zie figuur 2.2).



- Bufferzone van jaarlijks gemaaid grasland tussen twee behandelingen.
Buffer between treatments consisting of annually mown grassland.
- H: Hooilandbeheer: in 2016 en '17 gemaaid grasland, tijdstip afhankelijk van de productie.
H: Annually mown grassland: mown in 2016 and '17.
- Z: Zwarte braak: in de periode augustus 2016 - juli 2017 eerst gescheurd en daarna tenminste vijf keer met een cultivator behandeld.
Z: bare soil: during period August 2016 – July 2017 firstly tilled and ploughed for about five times afterwards
- R: Roggeteelt: tegelijk met zwarte braak gescheurd, begin oktober 2016 rogge dicht ingezaaid (tenminste 150 kg/ha), eind juli 2017 geoogst.
R: Rye cultivation: simultaneously [gescheurd} as bare soil treatment, densely sown early October 2016 (150 kg/ha), harvested end of July 2017.

Figuur 2.1. Schematische weergave van de inrichting van de onderzoekslocaties. Elke behandeling is in duplo uitgevoerd. Binnen elke behandeling lagen vier proefvlakken van 7x7 m. De plots zijn genummerd van 1-24. Overgenomen uit Dorland et al. (2019).

Figure 2.1. Schematic representation of treatments in each research area. Treatments have been carried out in duplo. The plots are numbered 1-24.

De monsters zijn vervolgens verzameld met behulp van een Eijkelkamp bodemguts, doorsnede 16 mm, en telkens nieuwe steriele handschoenen. 10 steken per deelvlak zijn verzameld, 0-20cm onder maaiveld en vervolgens grondig gemengd in een eigen steriele emmer. De guts is tussendoor "gereinigd" met bodem van het volgende deelvlak, door aan de zijkant van het nieuwe deelvlak minstens 5 keer de guts in de bodem te steken. De mengmonsters zijn individueel in luchtdichte plastic zakken verzameld en voorzien van een volgnummer. Maximaal 4 uur na het steken zijn de monsters ingevroren bij -7 graden Celsius.



Figuur 2.2: Opnieuw uitmeten van de proefvlakken voor monsternamen, 11 maart 2019.
Figure 2.2: Remeasuring plots for sampling, March 11 2019.

Om de resultaten van het project bij Soeslo in een breder perspectief te kunnen plaatsen zijn DNA-monsters gebruikt die in een eerder project op een vergelijkbare manier als hierboven beschreven, verzameld zijn in de herfst van 2018. Deze monsters zijn verzameld in graslanden die onderdeel uitmaakten van het onderzoek naar soortenrijkdom in droge graslanden van Eichhorn & Ketelaar (2016). Dit betreft graslanden in een gradiënt van kruidenarme en door grassen gedomineerde graslanden tot kruidenrijke graslanden. Van deze locaties zijn zowel vegetatieopnames beschikbaar alsook chemische data. Tevens zijn twee raaigrasakkers bemonsterd die in de directe nabijheid gelegen zijn van Havelterberg en Junner Koeland (Ommen). Deze beide locaties dienden als referentie in het project van Eichhorn & Ketelaar (2016).

2.2 Laboratoriumanalyses en bio-informatica

De bodemmonsters zijn onderzocht op de aanwezigheid van alle mogelijke levensvormen met behulp van *next generation sequencing*. In het kort komt de techniek op het volgende neer: DNA van het bodemleven dat in de bodem aanwezig is, zogenaamd *environmental DNA* (eDNA) wordt in het laboratorium geïsoleerd. Vervolgens wordt het eDNA met behulp van PCR vele keren gekopieerd tot een hoge DNA-concentratie. Hierbij worden "primers" gebruikt die speciaal door Datura Molecular Solutions zijn ontwikkeld. Deze primers hechten aan een specifiek deel van het DNA, dat ook wel "marker" genoemd wordt.

Deze primers vermeerderen een kort fragment van het eDNA dat aanwezig is en waarmee in principe alle soorten die in de bodem voorkomen in kaart gebracht kunnen worden; van bacteriën tot regenwormen. Bij het uitlezen, sequencen genaamd, worden miljoenen stukjes van het eDNA vertaald in digitale code. Het uitgelezen eDNA resulteert in een enorm grote ruwe dataset. Met krachtige computers wordt de ruwe data opgeschoond en volgen er verschillende kwaliteitschecks met behulp van Obitools. Daarbij worden onder andere PCR- en sequencingfouten verwijderd door middel van de "obiclean" tool. Daarna worden vele families, geslachten en soorten bodemleven geïdentificeerd aan de hand van referentie databases. Hiervoor is gebruik gemaakt van 16S en 18S data beschikbaar in de Silva-database en de Greengenes database. De laatste stap bestaat uit het indelen van de gevonden soorten in "functionele groepen". Het resultaat van de analyse is semi-kwantitatief: van iedere gedetecteerde 'soort' is het aandeel eDNA bepaald ten opzichte van de totaal aanwezig hoeveelheid eDNA.

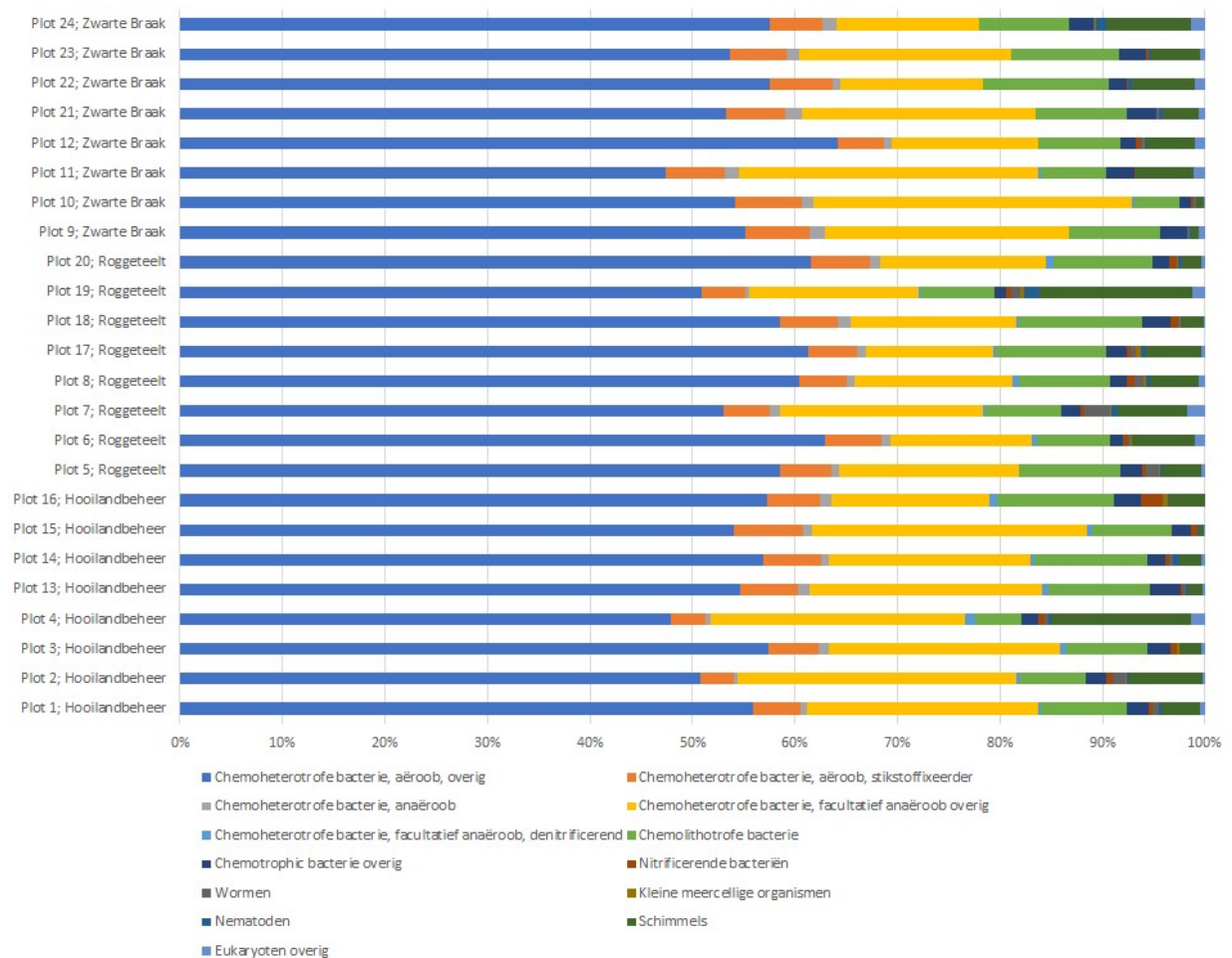
In dit onderzoek zijn er twee primers gebruikt, een "universele primer" en een "eukaryoten primer". Met de universele primer wordt er een globaal beeld verkregen van de organismen die in de bodem zitten, met name organismen die talrijk voorkomen of hoge concentraties DNA hebben achtergelaten. Deze primer is door Datura ontwikkeld. Bij het gebruik van de universele primer wordt DNA-materiaal dat in lage concentraties aanwezig is weggedrukt door de hoge DNA-concentraties van organismen die talrijk aanwezig zijn, zoals bacteriën. Om ook zeldzamere organismen goed te kunnen detecteren, is er gebruik gemaakt van een eukaryoten primer. Deze primer is ontwikkeld door Guardiola et al, 2015. Deze hecht zich alleen op het DNA van eukaryoten, zoals schimmels, planten, zoogdieren en insecten. Daarmee kan bijvoorbeeld in kaart worden gebracht welke typen schimmels in de bodem aanwezig zijn en de aanwezigheid van soorten bepaald worden die hoger in de voedselketen staan, zoals protisten en nematoden. Dit geeft vervolgens inzicht in de complexiteit en stabiliteit van het voedselweb en de bodem.

De ruwe DNA-data wordt verwerkt tot een spreadsheet met daarin de aantallen DNA uitlezingen per gedetecteerde DNA sequentie. Een unieke DNA-sequentie die gedetecteerd is, wordt een OTU (*operational taxonomic unit*) genoemd. Dit kan een soort zijn, maar vaak zullen diverse nauw verwante organismen dezelfde DNA-sequentie dragen. In zo'n geval kan niet vastgesteld worden welke soort het betreft, maar betreft het een groep nauw verwante organismen. De aantallen OTU's geven een goede indicatie voor de diversiteit in het algemeen, of bijvoorbeeld binnen een bepaalde soortgroep. Voor meer technische informatie en kwaliteitswaarborging, zie www.datura.nl.

3 Resultaten

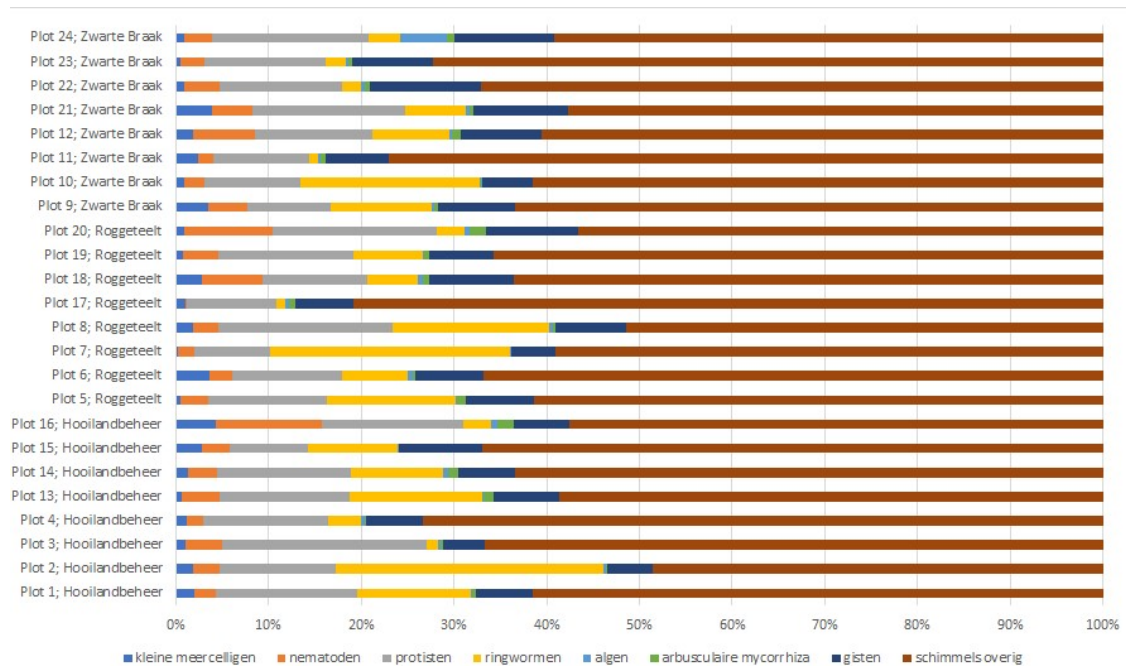
3.1 Bodemgemeenschap

De bodemgemeenschap in alle 24 proefvlakken wordt gedomineerd door bacteriën. Slechts een klein aandeel van het DNA bleek afkomstig van eukaryoten (organismen met een celkern zoals dieren, protozoa en schimmels). Onderstaande figuren 3.1 en 3.2 geven een overzicht van de samenstelling per plot, zowel van de universele als de eukaryote primers.



Figuur 3.1: Staafdiagram van de bodemgemeenschap van de plots. De staven geven de verhoudingen weer van de functionele groepen op basis van de DNA reads van de universele marker.

Figure 3.1: Bar charts of soil biological community, clustered into functional groups based on DNA reads amplified with the universal marker.



Figuur 3.2: Staafdiagram van de bodemgemeenschap van de plots. De staven geven de verhoudingen weer van de functionele groepen op basis van de DNA reads van de eukaryoten marker.

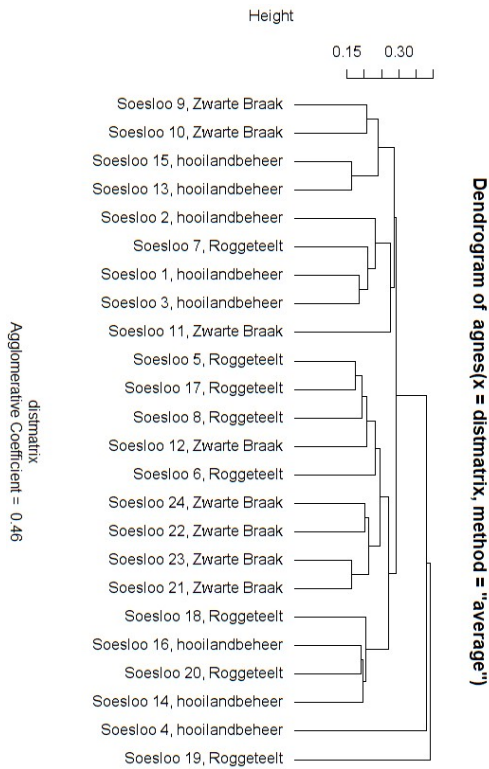
Figure 3.2: Bar charts of soil biological community, clustered into functional groups based on the DNA reads amplified with the eukaryote marker.

Om inzicht te krijgen in de effecten van de omvormingsmaatregelen, is met behulp van het computerprogramma *R* (R core team, 2019) een distance matrix analyse uitgevoerd die resulteert in een dendrogram zoals te zien in figuur 3.3. Deze analyse is uitgevoerd op basis van de data verkregen met zowel de universele als eukaryoten primer. Organismen waarvan DNA gedetecteerd werd, maar die niet behoren tot de bodemgemeenschap zijn uit de dataset verwijderd. Dit betreft onder andere DNA van planten, mensen en koeien.

De belangrijkste conclusie op basis van het dendrogram in figuur 3.3 is dat er geen logische clustering van de deelproefvlakken naar voren komt. De drie behandelingen staan willekeurig verspreid over het dendrogram. Dit betekent dat er geen sprake is van duidelijke en consistente verschillen tussen de bodemgemeenschap van de drie behandelingen.

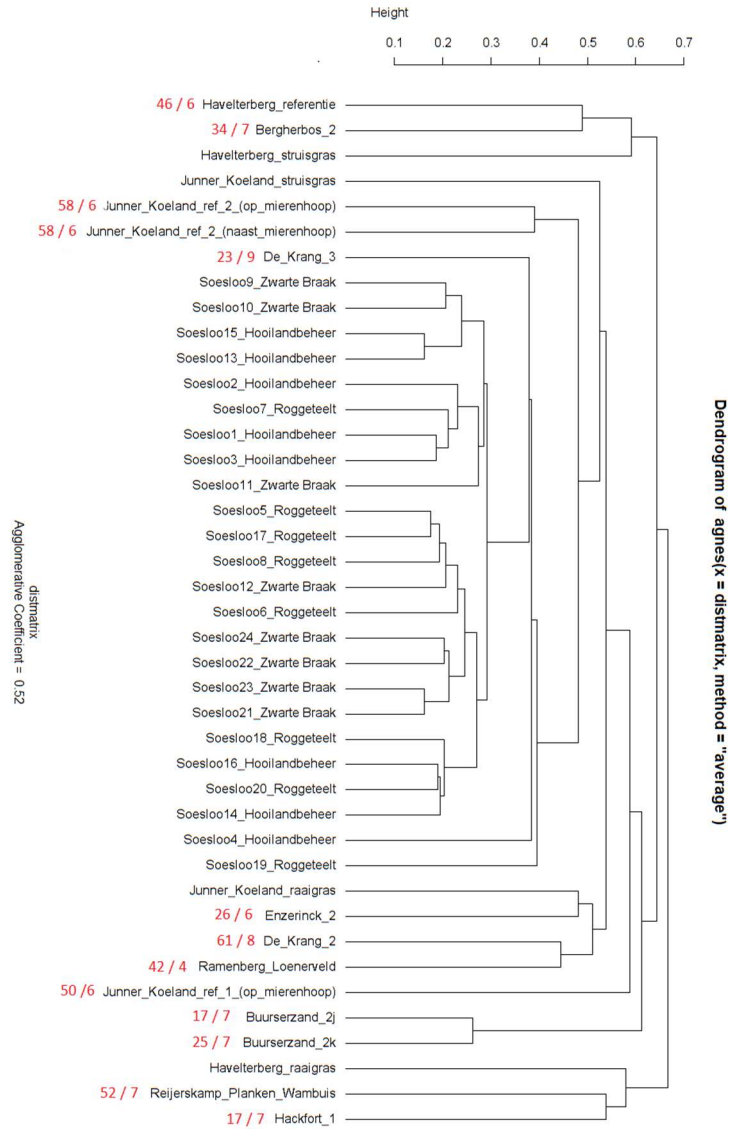
Tevens is een tweede dendrogram gemaakt (figuur 3.4) op basis van de bodemmonsters uit Soeslo gecombineerd met de aanvullende bodemmonsters zoals in paragraaf 2.1 beschreven, die onderdeel uitmaakten van het onderzoek van Eichhorn & Ketelaar (2016). In dit dendrogram is te zien dat de monsters van Soeslo samen clusteren (zie figuur 3.4). Dit betekent dat de variatie in samenstelling tussen de verschillende behandelingen in Soeslo zodanig klein is, dat deze niet samen clusteren met elders gelegen, vergelijkbare akkers of hooilanden, maar een eigen "groep" vormen binnen de monsters. Ook hieruit blijkt dus dat er sprake is van kleine verschillen tussen de drie behandelingen.

De vegetaties waar Soeslo in het dendrogram het dichtsbij in de buurt staat is "De Krang 3", een soortenarm grasland met dominantie van gestreepte witbol en plaatselijke struisgrashaarden. Dit perceel heeft een overeenkomstige lage KIGFz index (Eichhorn & Ketelaar, 2016).



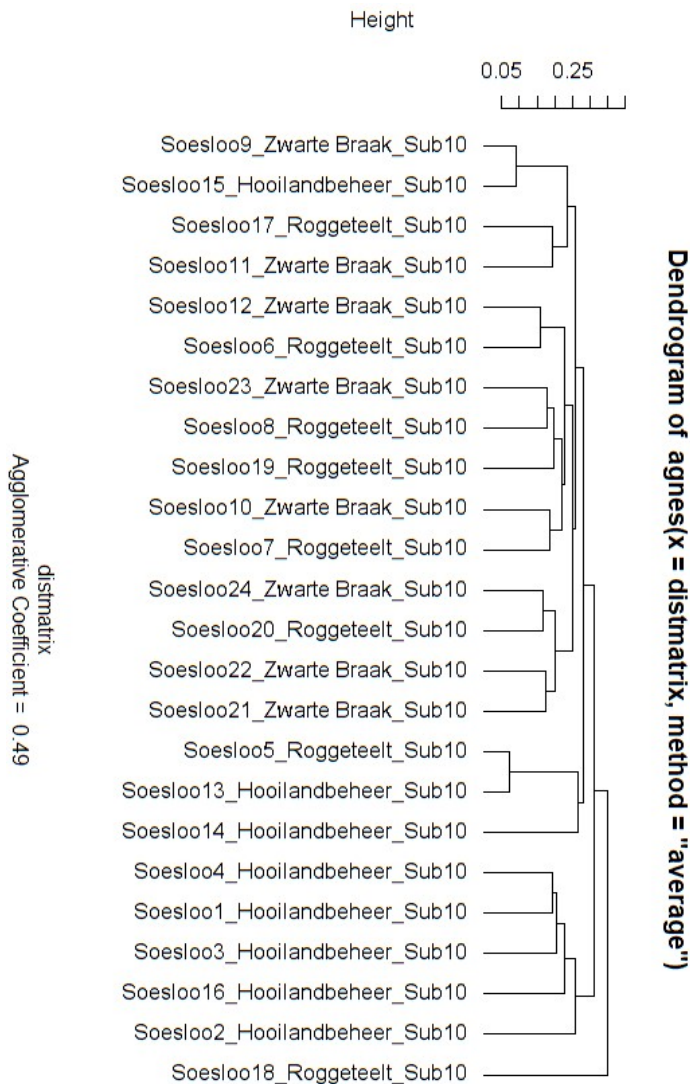
Figuur 3.3: Dendrogram van de deelproefvlakken Soeslo.

Figure 3.2: Dendrogram field plots Soeslo



Figuur 3.4: Dendrogram van de 24 deelproefvlakken Soeslo en diverse andere droge graslanden, op basis van de DNA-data van de universele primer. In rood zijn de soortenrijkdom van de vegetatie en de mate van voorkomen (Tansley-schaal) van witbol weergegeven, gebaseerd op Eichhorn & Ketelaar (2016).

*Figure 3.3: Dendrogram field plots Soeslo in relation with other dry grasslands based on the universal primer. Red numbers indicate species richness and abundance of *Holcus lanatus* (Tansley scale) based on Eichhorn & Ketelaar (2016).*



Figuur 3.5: Dendrogram op basis van de schimmelsamenstelling van de 24 deelvlakken.
Figure 3.5: Dendrogram based on fungal plot diversity.

Ten derde is een dendrogram gemaakt op basis van uitsluitend de schimmels, verkregen met de eukaryoten marker (Figuur 3.5). Hieruit blijkt dat de schimmelgemeenschap in de hooilandplots samen clustert, hetgeen betekent dat deze gemeenschap afwijkt van dezelfde gemeenschap in de zwarte braak en roggeteelt behandelingen. Er is geen verschil te zien in schimmel-gemeenschap tussen roggeteelt en zwarte braak.

De belangrijkste conclusie op basis van dit dendrogram is dat de behandelingen dus uitsluitend effect lijken te hebben gehad op de samenstelling van de schimmels.

Uit andere onderzoeken blijkt dat er wel degelijk grote verschillen bestaan in de samenstelling van het bodemleven tussen verschillende type graslanden. Een engels raaigrasland bijvoorbeeld, heeft een hele andere samenstelling dan een goed ontwikkeld schraalgrasland, maar ook tussen witbolgraslanden zijn er grote verschillen aangetoond (Van Bochove & Gerrits, 2018; Van Himbeek & Gerrits, in prep.). Het gebrek aan differentiatie tussen de verschillende behandelingen, wanneer gekeken wordt naar de gemeenschap als geheel, betekent dus ofwel dat de verschillende behandelingen in de korte looptijd van de behandelingen geen duidelijk effect hebben op de samenstelling van het bodemleven, of dat de effecten heel snel weer verdwijnen.

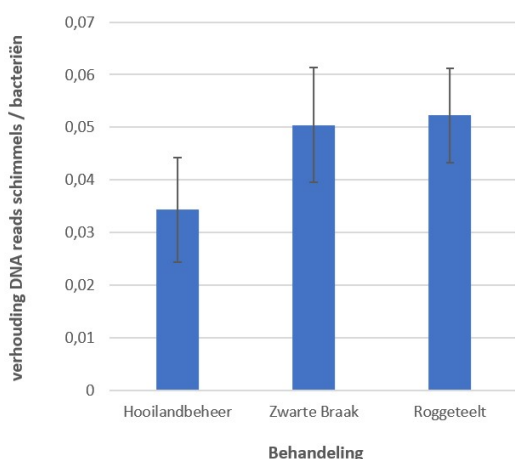
Dat juist de schimmelgemeenschappen verschillen laten zien tussen de hooiland plots enerzijds en zwarte braak en roggeteelt plots anderzijds is te verklaren doordat schimmels het meest gevoelig zijn voor grondbewerkingen, waarbij het mycelium beschadigd wordt.

3.2 Schimmels

Vervolgens hebben we gekeken naar de verhouding tussen schimmels en bacteriën in de bodem; de zogenaamde F:B ratio. Deze ratio is een klassieke parameter om de vertering van organische stof in een bodem te kunnen duiden. Grof gezegd; hoe hoger de ratio, hoe moeilijker afbreekbaar het strooisel is en hoe langzamer de vertering relatief gaat. In voedselrijke en verstoorde milieus gaat de vertering sneller met makkelijker afbreekbaar strooisel dat voornamelijk door bacteriën wordt omgezet. Dit leidt tot een lage schimmel/bacterie ratio. De variatie van de schimmel/bacterie ratio tussen de plots (zie Figuur 3.5) is groter dan verwacht, maar bevat geen logische clustering tussen de verschillende behandelingen. De variatie hangt waarschijnlijk samen met toevallige aanwezigheid van plantenresten in de monsters. Tijdens de bemonstering zijn plantenresten verwijderd maar kennelijk zijn er in sommige monsters toch resten achtergebleven. Ook kan de afwijking tussen de monsters te maken hebben met het relatief lage aantal van 10 submonsters die zijn gestoken per plot (hiervoor is gekozen vanwege het beperkte oppervlak van de plots).

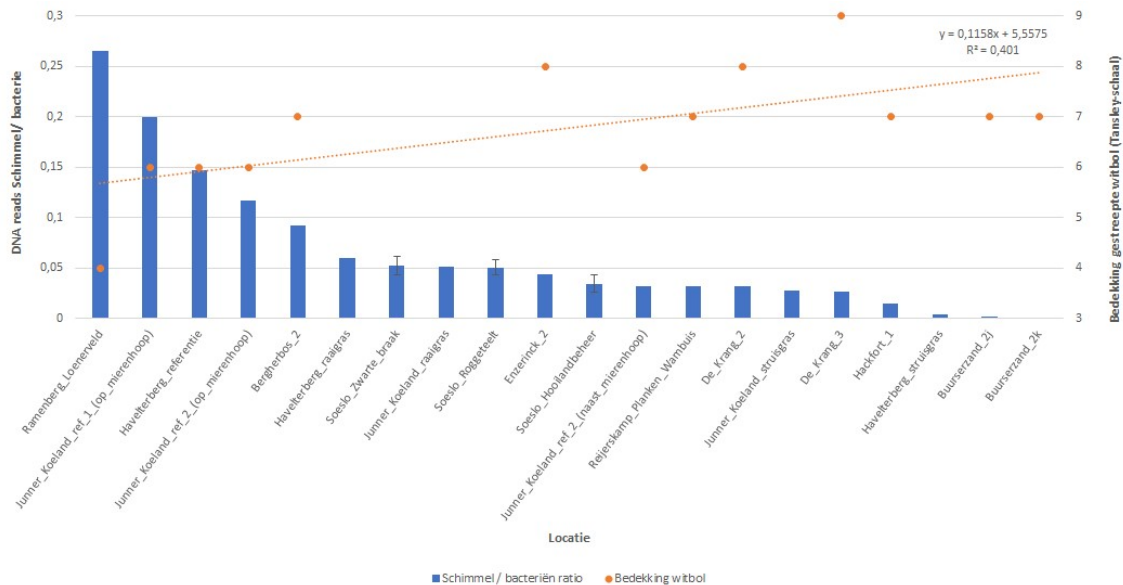
De schimmel/bacterie verhouding was niet significant verschillend tussen de verschillende behandelingen (One-way ANOVA, $F= 1.5218$, $P=0.2316$) (figuur 3.6). De verwachting was dat de onbehandelde hooiland deelvlakken een hogere schimmel/bacterie ratio zouden laten zien dan de bewerkte deelvlakken (zie discussie hierboven), aangezien schimmels kwetsbaar zijn voor grondbewerkingen. Dit effect is aan het einde van het experiment niet terug te zien.

Dit is mogelijk te verklaren doordat bij aanvang van het experiment (zie controle hooiland) er reeds weinig schimmels aanwezig waren in vergelijking tot kruidenrijke graslanden (zie figuur 3.6). Er lijkt sprake te zijn van een lichte toename van de verhouding na het ploegen, hoewel deze effecten niet significant zijn. Deze stijging is een mogelijk tijdelijk effect van het ploegen. Na het ploegen is er veel dood organisch materiaal aanwezig dat verteerd wordt door saprotrofische schimmels. De verwachting zou zijn dat op lange termijn schimmels afnemen als gevolg van het ploegen.



*Figuur 3.6: De schimmel/bacterie ratio in de verschillende behandelingen met standaardfout.
Figure 3.6: Fungal/bacteria ratio with standard error in the different treatments.*

De verhouding tussen schimmels en bacteriën van de verschillende behandelingen is vergeleken met andere droge graslanden op de zandgronden (zie figuur 3.7).



Figuur 3.7: De schimmel/bacterie ratio vergeleken met de andere graslanden en akkers uit Eichhorn & Ketelaar (2016). De ratios voor de Soeslo plots betreffen het gemiddelde van acht plots met standaardfout. Ook is de bedekking van gestreepte witbol geplot, voor zover deze beschikbaar was.

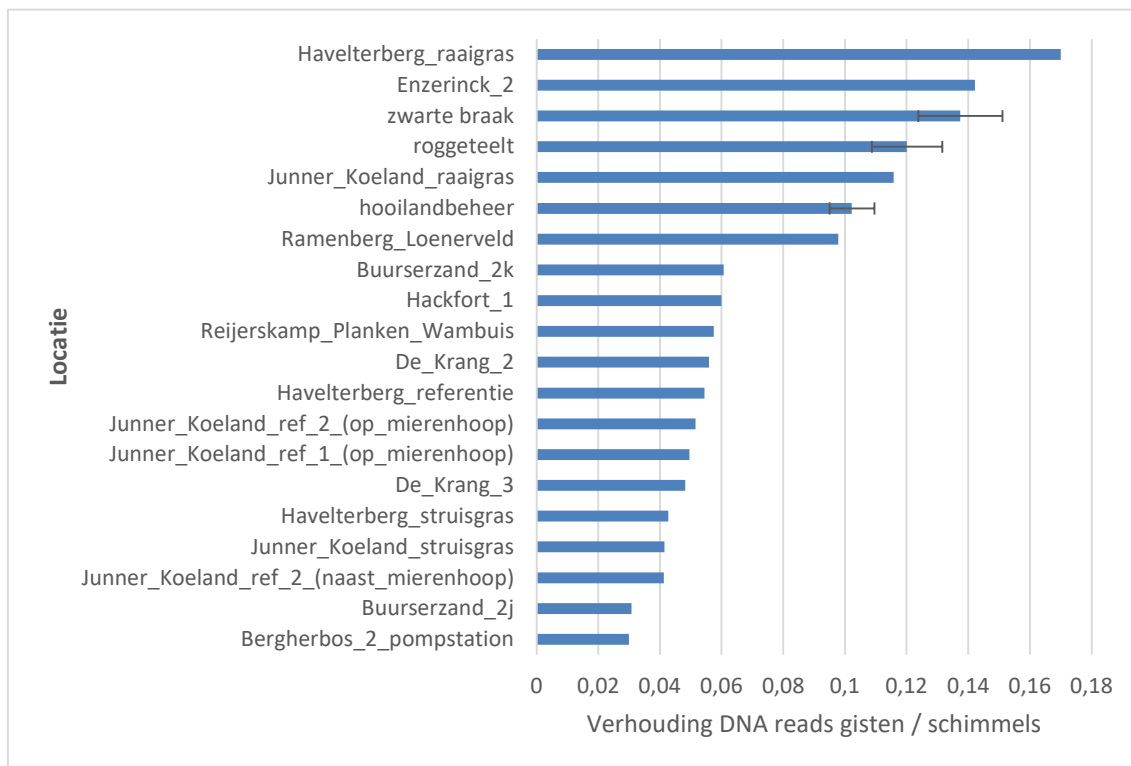
*Figure 3.7: Fungal/bacteria ratio compared to other grasslands and fields selected on Eichhorn & Ketelaar (2016). The ratios of the Soeslo plots are averages with standard error. Also *Holcus lanatus* abundance was plotted where data was available.*

De schimmel/bacterie verhouding van de zwarte braak en roggeteelt behandelingen in Soeslo komen overeen met de verhouding die aangetroffen is in raaigrasakkers bij Havelterberg en nabij het Junner Koeland. De schimmel/bacterie verhouding in het controle hooiland is iets *lager* en komt overeen met andere soortenarme graslanden. De hoogste schimmel/bacterie verhouding werd aangetroffen in de oude halfnatuurlijke, zeer kruidenrijke graslanden die als referentie diende voor het project van Eichhorn & Ketelaar (2016). In deze graslanden was de bedekking van gestreepte witbol laag. Het laagste aandeel schimmels werd aangetroffen in kruidenarme vegetaties waarin gestreepte witbol domineert. Hieruit blijkt dat schimmels een grotere rol spelen in de vertering in kruidenrijke graslanden dan in soortenarme graslanden. Deze uitkomst wijkt consistent af van de traditionele opvatting dat in akkers en andere veel verstoorde landbouwgronden, de schimmel/bacterie ratio lager is dan in minder dynamische en meer natuurlijke graslanden (Van Himbeek & Gerrits in prep.) zoals witbolgraslanden.

De verhouding tussen het aantal DNA reads afkomstig van schimmels ten opzichte van bacteriën (de schimmel/bacterie ratio) bleek hoog te zijn als er veel DNA van planten gedetecteerd werd. Dit was het geval in twee monsters (Soeslo4; hooilandbeheer en Soeslo19; roggeteelt; zie figuur 3.8).

Vermoedelijk zijn er in deze monsters plantenresten achtergebleven, ondanks dat visuele plantenresten verwijderd zijn en heeft dit invloed gehad op de hoeveelheid schimmel DNA in deze monsters. En de toekomst kan dit mogelijk voorkomen worden door monsters te filteren en de volume bodem als basis voor de DNA-extractie te vergroten.

Het gedetecteerde DNA van planten is voornamelijk afkomstig van grassen. De schimmels die verantwoordelijk zijn voor het grootste aandeel van schimmel DNA in monsters Soeslo4 en Soeslo19 betroffen saprotrofische schimmels. De monsters met een relatief hoge schimmel/bacterie ratio bevatte waarschijnlijk per toeval meer resten van moeilijk verteerbare grasresten (vezels) dan andere monsters. De resultaten van deze twee samples



Figuur 3.9: De gist/multicellulaire schimmel ratio in Soeslo en de andere graslanden. De ratios voor de Soeslo plots betreffen het gemiddelde van acht plots met standaardfout.
Figure 3.9: Yeast/mould ratio in the Soeslo experiment compared to the other grasslands. The ratios of the Soeslo plots are averages with standard error

3.3 Soortgroepen hoog in het bodemvoedselweb

Er zijn geen significante effecten gevonden van de behandelingen op de aantallen OTU's (operational taxonomic units) van soortgroepen hoger in het bodemvoedselweb zoals gemeten met de eukaryoten marker (zie Tabel 1). Hiervoor is gekeken naar kleine meercelligen, nematoden, protisten en ringwormen. Ook werden er geen significante verschillen gevonden tussen de som van de genoemde groepen. Toppredatoren zoals sommige mijten en springstaarten zijn buiten beschouwing gelaten omdat de toegepaste methode deze groepen niet met een voldoende constante betrouwbaarheid meet.

Tabel 1. Aantal OTU's zoals gedetecteerd door middel van de eukaryoten marker.

Table 1. Number of OTUs detected using the eukaryote marker.

	kleine meercelligen		nematoden	
	gemiddelde	standaardfout	gemiddelde	standaardfout
hooilandbeheer	6,125	0,57111459	10,5	1,159202312
roggeteelt	6,375	0,789333184	10,125	1,849303078
zwarte braak	6,625	0,846638574	11,875	1,242948863
	protisten		ringwormen	
	gemiddelde	standaardfout	gemiddelde	standaardfout
hooilandbeheer	41,25	2,650177	4,25	0,551985
roggeteelt	41,5	2,65165	5,875	0,597848
zwarte braak	43,875	2,618668	4,75	0,701561

Ook is het aandeel eDNA van deze groepen berekend ten opzichte van de totale hoeveelheid eDNA dat gemeten is door middel van de eukaryoten marker. Ook de aandelen verschilden niet significant tussen de verschillende behandelingen (Tabel 2).

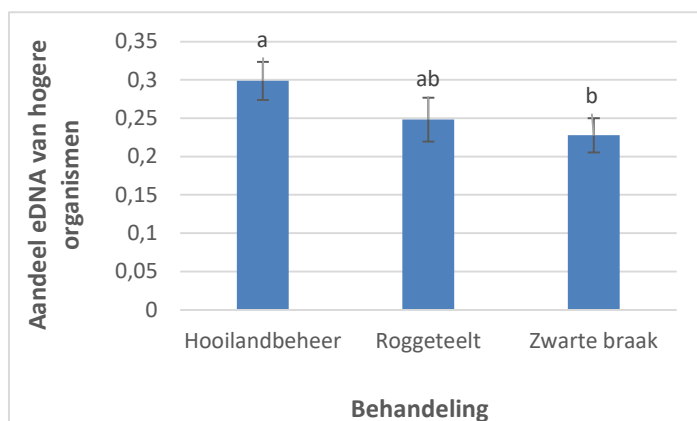
Tabel 2. Fractie DNA ten opzichte van totale hoeveelheid gemeten eDNA van eukaryoten.

Table 2. Fraction DNA of total number of reads using the eukaryote marker.

	kleine meercelligen		nematoden	
	Gemiddelde	Standaardfout	Gemiddelde	Standaardfout
hooilandbeheer	0,018575013	0,003875633	0,039438756	0,010235439
roggeteelt	0,012298892	0,003365874	0,031666617	0,008680487
zwarte braak	0,017289745	0,004095909	0,032749812	0,005174399
	protisten		ringwormen	
	Gemiddelde	Standaardfout	Gemiddelde	Standaardfout
hooilandbeheer	0,140835825	0,012155605	0,10003461	0,027955278
roggeteelt	0,114191044	0,011921469	0,090214338	0,026651371
zwarte braak	0,115120882	0,009412464	0,062641264	0,019155418

Tenslotte zijn de aandelen van de onderzochte groepen gesommeerd. Er werd een significant effect gevonden tussen de hooiland en zwarte braak plots (T-toets, $p=0,034$).

Hooilandbeheer en roggeteelt (T-toets, $p=0,116$), en roggeteelt en zwarte braak (T-toets, $p=0,303$) verschilden niet significant (figuur 3.8). De verwachting was dat hogere organismen relatief gevoelig zijn voor effecten van verstoring (ploegen). Er lijkt inderdaad een (klein) versturend effect te zijn van de behandelingen. Het was echter niet mogelijk om het effect toe te wijzen aan een specifieke groep. Het verschil tussen roggeteelt en hooilandbeheer was niet significant. Mogelijk heeft de teelt van rogge positief effect gehad op het voorkomen van hogere organismen doordat er meer biomassa aanwezig was.



Figuur 3.8. Fractie eDNA van hogere organismen (kleine meercelligen, nematoden, protisten en ringwormen) ten opzichte van de totale hoeveelheid gemeten eDNA met behulp van de eukaryoten marker.

Figure 3.8. Fraction eDNA of (higher organisms) small multi-cellular organisms, nematodes, protists and annelids as measured using a eukaryote DNA marker.

4 Synthese

Uit de proef in Soeslo blijkt dat het aandeel kruiden sterk is toegenomen na het toepassen van een periode van zwarte braak of roggeteelt, maar er zijn geen verschillen gevonden in chemie en entomofauna tussen de verschillende behandelingen (Dorland et al., 2019).

Uit de dendrogramanalyses van de bodemgemeenschappen blijkt dat de verschillen tussen de drie behandelingen beperkt zijn. Alleen de samenstelling van de schimmelgemeenschap blijkt verschil te maken tussen de behandelingen. Het oorzakelijk verband tussen de verschillen in schimmelgemeenschap en de behandelingen is niet met zekerheid te duiden.

De deelvlakken in Soeslo clusteren in de dendrogrammen samen ten opzichte van andere droge graslanden op de zandgronden. De verschillen tussen Soeslo en de andere monsters zijn dus groter dan de verschillen tussen de behandelingen binnen het perceel Soeslo. Opvallend is dat er weinig verschil in bodemgemeenschap tussen de behandelingen is terwijl uit andere onderzoeken blijkt dat beheer en gebruik (in ieder geval op lange termijn) groot effect heeft op de bodemgemeenschap (Van Bochove & Gerrits, 2018; Van Himbeek & Gerrits, in prep.). Mogelijk zou dit kunnen komen door de beperkte grootte van de proefvlakken, het over brengen van micro-organismen door machines tijdens de behandelingen en maaien. Het verschil tussen zwarte braak en rogge is wellicht verkleind doordat de percelen met één machine zijn geploegd.

Een andere mogelijkheid is dat de verschillen direct na de behandelingen wel aanwezig waren, maar dat deze na twee jaar weer grotendeels zijn verdwenen. Dit is niet te controleren aangezien alleen aan het einde van de looptijd van het experiment is gemeten. Het effect van de behandelingen op het bodemleven lijkt duidelijk klein te zijn geweest. Een alternatieve verklaring zou kunnen zijn dat het herstellend vermogen van het bodemleven en/of het dispersievermogen effecten van de behandelingen hebben gemaskeerd.

Zoals in hoofdstuk 3 is beschreven, zijn er tussen verschillende soorten graslanden grote verschillen in de samenstelling van het bodemleven. Een belangrijke vraag is of er bij een langduriger verschillend beheer in behandelingen; meerdere jaren braak, danwel akkerbeheer, de verschillen tussen proefpercelen groter zouden zijn en/of langer in stand blijven, zodat er mogelijkwijs een groter effect op de vegetatie kan zijn.

De mechanistische hypothese die ten grondslag ligt aan het grasland experiment zoals uitgevoerd in Soeslo (Dorland et al., 2019), is dat de grote concurrentiekracht van dominante grassoorten zoals gestreepte witbol en struisgras de vestiging van kruiden blijvend verhindert. Het doorbreken van de dominantie van de grassen door het vergroten van de dynamiek in het beheer, stelt kruiden beter in staat zich te vestigen in de vegetatie. De concurrentiekracht van grassen lijkt inderdaad een belangrijk onderdeel van de verklaring van het gebrek aan soortenrijkdom in veel kruiden- en faunarijke graslanden te zijn. Tegelijkertijd zijn er aanwijzingen dat er meer aan de hand is en dat het bodemleven mogelijk een rol speelt in het instandhouden van de dominantie van grassen (Gerrits & van der Putten, 2019). De dominantie van een soort als gestreepte witbol is vanuit de bodemchemie moeilijk te verklaren. Tegelijkertijd lijkt witbol nauwelijks hinder te ondervinden van pathogenen en parasieten; iets dat vanuit de plantstrategieën theorie van Grime (2001) en plant-soil feedback mechanismes (Bardgett & Wardle, 2010) ook moeilijk te verklaren is. Een hypothese zou kunnen zijn dat tegelijk met het bewerken van de bodem, niet alleen de grassen worden verstoord, maar ook het bodemleven en de netwerken die deze met de vegetatie vormt. Hierdoor zou het concurrentievoordeel van de grassen kunnen worden verminderd, waardoor er meer mogelijkheden komen voor kruiden om zich te vestigen.

In dit onderzoek zijn geen verschillen gevonden tussen bacteriegemeenschap en de behandelingen. Wel zijn er effecten voor de schimmelgemeenschap. Mogelijk hangt een beter vestigingsklimaat voor de kruiden na het bewerken van de bodem dus deels ook samen met veranderingen van de schimmelgemeenschap.

5 Aanbevelingen

Uit bovenstaande analyse komt naar voren dat er weinig duidelijke (langdurige) effecten van de verschillende behandelingen op door grassen gedomineerde graslanden binnen het experiment in Soeslo zijn op de totale samenstelling van het bodemleven. Hieruit kan geconcludeerd worden dat er, voor wat betreft het bodemleven, geen duidelijke argumenten zijn om dergelijke omvormingsmaatregelen niet op grotere schaal uit te gaan testen.

Om beter inzicht te krijgen in de rol van het bodemleven op vegetaties in kruiden- en faunarijke graslanden, zou het waardevol zijn om gedurende een langer lopend onderzoek te kijken of de bodemgemeenschap meer richting goed ontwikkelde graslanden te bewegen is. Dit zou bijvoorbeeld kunnen door een onderzoek op te zetten met landbouwgronden die nu uit productie worden gehaald, om die als nulmeting te kunnen gebruiken in een chronosequentie met graslanden die op verschillende momenten in het verleden zijn omgevormd tot kruiden- en faunarijke graslanden vanuit akkerland danwel weiland. Wanneer hierbij ook een vergelijking wordt gemaakt met goed en slecht ontwikkelde voorbeelden uit beide categorieën, zou er met relatief weinig inzet van middelen potentieel veelzeggende resultaten uit voort kunnen komen.

Onderzoek uitgevoerd door het NIOO laat zien dat er met behulp van goed uitgevoerde bodemtransplantaties gestuurd kan worden in de ontwikkeling van de vegetatie (Wubs, 2017; Waenink et al., 2019). Proefpercelen waarop bodemmateriaal en maaisel van droge heide werd gebracht, ontwikkelden zich richting heide. Op proefpercelen waar bodemmateriaal van schraal grasland en maaisel werd opgebracht ontwikkelde zich richting een grasland vegetatie. Middels potproeven, werd vervolgens een significante, aanvullende rol van het bodemleven in deze ontwikkeling geconstateerd. Ook het project "Blues in the Marshes", uitgevoerd in de Moerputten in Noord-Brabant, laat zien dat bodemtransplantaties in de vorm van levende plaggen, een succesvolle vestiging en uitbreiding van soortenrijk grasland kunnen stimuleren en versnellen (<https://www.natuurmonumenten.nl/projecten/blues-in-de-marshes/>). Recent zijn conclusies gepresenteerd van onderzoek uitgevoerd door onderzoekscentrum B-WARE en de Universiteit van Antwerpen in het Dwingelderveld (Radujković et al. 2019), waarin gekeken is naar de ontwikkeling van schimmelsembioses in heideontwikkelingsproeven met behulp van netwerkanalyses. Doel van het onderzoek was vergelijkbaar met de proeven van het NIOO, namelijk om te kijken of een beter ontwikkeld bodemleven zorgt voor een betere ontwikkeling van de heidevegetatie.

Een van de conclusies van het onderzoek is dat in de proefvlakken waar bodemleven is geïntroduceerd, de negatieve invloed van pH op de vegetatie werd verkleind. De onderzoekers vermoeden dat plant-schimmel interacties voor deze verminderde invloed zorgen: "It is likely that biotic interactions can override environmental filters, where plant-soil interactions mitigate sub-optimal abiotic circumstances and affect competitive interactions with other plants." Deze voorbeelden laten zien dat de rol van het bodemleven in de ontwikkeling van de vegetatie aanzienlijk kan zijn. Ook een recente meta-analyse van internationale studies toont aan dat de invloed van plant-bodem interacties op de vegetatie groot zijn. In sommige gevallen is de invloed van plant-bodem interacties zelfs vergelijkbaar met concurrentie tussen planten (Lekberg, 2018). Het verdient dan ook aanbeveling om in de toekomst het bodemleven en de invloed op de vegetatie nadrukkelijker onderdeel te maken in onderzoek.

Tenslotte dient de DNA-meetmethode verfijnd te worden. Er is een verband gevonden tussen de hoeveelheid planten DNA en de schimmel-bacterie verhouding. Dit wordt mogelijk veroorzaakt doordat er schimmel DNA geïntroduceerd dat op plantaardig materiaal aanwezig

is. Mogelijk dat een deel van de variatie in de schimmel-bacterie verhouding dus verklaard kan worden door de toevallige aanwezigheid van plantaardig materiaal. In de toekomst dienen de bodemmonsters daarom zorgvuldig gezeefd te worden om zodoende plantaardig materiaal te verwijderen. Mogelijk dat deze aanpassing resulteert in een nauwkeurigere schimmel-bacterie verhouding.

6 Literatuur

- Bardgett, R.D. en D.A. Wardle. 2010. Aboveground-belowground linkages. Biotic interactions, ecosystem processes and global change. Oxford University Press.
- Bochove, K. van en G.M. Gerrits 2018. eDNA als instrument om bodembioologische gemeenschap in kaart te brengen. *Vakblad Natuur Bos en Landschap* 148: 24-25.
- Dorland, E., T. van de Broek, K. Eichorn, M. Courbois, 2019. Herstel van kruiden en faunarijke graslanden (N12.02) in het droge zandlandschap. Rapportnr. 2019/OBN230-DZ2. VBNE, Driebergen.
- Eichorn, K. en R. Ketelaar. 2016. Ecologie en beheer van kruidenrijke graslanden op de zandgronden. Rapport Vereniging Natuurmonumenten, 's Graveland.
- Guardiola, M. M. J. Uriz, P. Taberlet, E. Coissac, O.S. Wangenstein, X. Turon. (2015). Deep-sea, deep-sequencing: metabarcoding extracellular DNA from sediments of marine canyons. *PLoS One*, 10(10), e0139633.
- Grime, J.P. 2001. Plant strategies, vegetation processes and ecosystem properties. John Wiley & Sons, Chicester.
- Gerrits, G.M. en W. Van der Putten 2019. Bodembioologie in het natuurbeheer. Nieuwe inzichten en perspectieven. *Vakblad Natuur Bos en Landschap* 156: 3-7.
- Hannula, S.E., E. Morriën, M. de Hollander, W.H. van der Putten, J.A. van Veen en W. De Boer 2017. Shifts in rhizosphere fungal community during secondary succession following abandonment from agriculture. *ISME journal* (2017): 1-11.
- Himbeek, R. van en G.M. Gerrits 2019. Bodembioologie en graslanden. *Vakblad Natuur, Bos en Landschap*, In prep.
- Lekberg, Y. J.D. Bever, R. A. Bunn, R. M. Callaway, M. M. Hart, S. N. Kivlin, J. Klironomos, B. G. Larkin, J. L. Maron, K. O. Reinhart, M. Remke, W. H. van der Putten 2018. Relative importance of competition and plant–soil feedback, their synergy, context dependency and implications for coexistence. *Ecology Letters*; doi: 10.1111/ele.13093.
- Radujković, D., R. van Diggelen, R. Bobbink, M. Weijters, J. Harris, M. Pawlett, S. Vicca, E. Verbruggen 2019. Initial soil community drives heathland fungal community trajectory over multiple years through altered plant-soil interactions. *New Phytologist* <https://doi.org/10.1111/nph.16226>.
- R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Waenink, R. R. Wilschut, M. Bezemer 2019. Evaluatierapport bodemtransplantatie als basis voor heideontwikkeling. Rapport NIOO-KNAW, Wageningen.
- Wubs, E.R.J. 2017. The steering role of plant-soil interactions in natural community dynamics and nature restoration. Proefschrift NIOO-KNAW.

ontwikkeling+beheer natuurkwaliteit

o+bn

Het Kennisnetwerk Ontwikkeling Beheer Natuurkwaliteit:

- is een onafhankelijk en innovatief platform waarin beheer, beleid en wetenschap op het gebied van natuurherstel en -beheer samenwerken;
- ontwikkelt en verspreidt kennis met als doel het structureel herstel en beheer van natuurkwaliteit.



vereniging van
bos- en natuurterreineigenaren

VBNE

**Kennisnetwerk OBN wordt gecoördineerd door de VBNE en gefinancierd door
het ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit en BIJ12**

Vereniging van bos- en natuurterreineigenaren (VBNE)

Princenhof Park 7
3972 NG Driebergen
0343-745250
info@vbne.nl

Alle publicaties en
producten van het
OBN Kennisnetwerk
zijn te vinden op
www.natuurkennis.nl

ontwikkeling+beheer natuurkwaliteit

o+bn



Ministerie van Landbouw,
Natuur en Voedselkwaliteit

