



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Stikstofkringloop in kalkrijke en kalkarme duinbodems en de implicaties daarvan voor de effectiviteit van plaggen

Kooijman, A.M.; Bloem, J.; Cerli, C.; Jagers op Akkerhuis, G.A.J.M.; Kalbitz, K.; Dimmers, K.; Vos, A.; Peest, A.K.; Kemmers, R.H.

Publication date

2014

Document Version

Final published version

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Kooijman, A. M., Bloem, J., Cerli, C., Jagers op Akkerhuis, G. A. J. M., Kalbitz, K., Dimmers, K., Vos, A., Peest, A. K., & Kemmers, R. H. (2014). *Stikstofkringloop in kalkrijke en kalkarme duinbodems en de implicaties daarvan voor de effectiviteit van plaggen*. VBNE. <http://edepot.wur.nl/313886>

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

Stikstofkringloop in kalkrijke en kalkarme duinbodems

en de implicaties daarvan voor de effectiviteit van plaggen

A.M. Kooijman
J. Bloem
C. Cerli
G.A.J.M. Jagers op Akkerhuis
K. Kalbitz
W. Dimmers
A. Vos
A.K. Peest
R.H. Kemmers



UNIVERSITEIT VAN AMSTERDAM

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.

In het kader van Natura 2000 worden in Europees perspectief zeldzame soorten en zeldzame vegetatietypen in Nederland beschermd. In dit rapport staat het Natura 2000 habitatype H2130, de Grijze duinen, centraal. De Grijze duinen behoren tot de prioritaire habitattypen van het duin- en kustgebied.

In veel duingebieden is de hoge stikstof-depositie een probleem voor een gunstige staat van instandhouding van de Grijze duinen. In de herstelstrategie die binnen de Programmatische Aanpak Stikstof (PAS) is uitgewerkt voor dit habitatype, staat o.a. de maatregel plaggen genoemd. In deze rapportage wordt onderzocht of plaggen de Grijze duinen minder gevoelig maakt voor stikstofdepositie en daarmee of deze maatregel effectief is.

Voor het beheer van grijze duinen is het belangrijk meer inzicht te krijgen in de betekenis van N-opslag in de bodem en de rol van het bodemleven daarbij. Het in dit rapport beschreven onderzoek geeft antwoord op de vraag in welke mate micro-organismen en mesofauna, en uiteindelijk de opslag van N in organische stof in de bodem, een rol speelt bij de gevoeligheid van duinen voor N-depositie.

Met dit rapport krijgt de beheerder meer inzicht in de effectiviteit van de maatregel plaggen, en kan hij of zij beter inschatten wanneer deze maatregel wel of juist niet in te zetten. Lees daarvoor hoofdstuk negen waarin de aanbevelingen voor het beheer worden besproken.

Ik wens u veel leesplezier.

Drs. T.J. Wams

Directeur natuurbeheer Natuurmonumenten en voorzitter van de OBN
Adviescommissie

Inhoudsopgave

Summary	6
Samenvatting	9
1 Inleiding	7
1.1 Aanleiding tot het onderzoek	7
1.2 Vraagstelling	9
1.3 Onderzoeksgebied Amsterdamse Waterleidingduinen	10
2 Basaal bodemchemisch onderzoek	11
2.1 Inleiding en methoden	11
2.2 Resultaten en discussie	11
2.3 Conclusie	15
3 Onderzoek aan de vegetatie	16
3.1 Inleiding en methoden	16
3.2 Resultaten en discussie	16
3.3 Conclusie	23
4 Microbiologisch onderzoek	24
4.1 Inleiding en methoden	24
4.2 Resultaten en discussie	25
4.2.1 Microbiële biomassa	25
4.2.2 Bacteriën	29
4.2.3 Schimmels	33
4.3 Conclusie	36
5 Onderzoek aan micro- en mesofauna	37
5.1 Inleiding en methoden	37
5.2 Resultaten	37
5.3 Conclusie	45
6 Respiratie en N-mineralisatie	46
6.1 Inleiding en methoden	46
6.2 Resultaten en discussie	47
6.2.1 Respiratie, netto N-mineralisatie, bruto N-mineralisatie en immobilisatie	47

6.2.2	Efficiëntie van respiratie en netto N-mineralisatie	50
6.2.3	Correlaties tussen netto N-mineralisatie en eigenschappen van bodem en vegetatie	53
6.3	Conclusie	58
7	Lange-termijneffecten en incorporatie van ¹⁵N	60
7.1	Inleiding en methoden	60
7.2	Resultaten en discussie	61
7.3	conclusie	69
8	Verdeling van N over verschillende compartimenten	70
8.1	Inleiding en methoden	70
8.2	Resultaten	71
8.3	Conclusie	75
9	Synthese en aanbevelingen voor het beheer	76
9.1	Inleiding	76
9.1.1	Hogere microbiële activiteit, maar lagere netto N-mineralisatie in kalkrijke of OM-rijke duinen?	76
9.1.2	Verschillen in netto N-mineralisatie tussen kalkrijke en kalkarme duinbodems	76
9.1.3	Verschillen in microbiële activiteit en gemeenschap tussen OM-arme en OM-rijke duinbodems	79
9.1.4	Verdeling van microarthropoden en voedselgildes	80
9.1.5	Verdeling van N in de bodem	81
9.1.6	Opslag van ¹⁵ N in de bodem	81
9.2	Conclusies en aanbevelingen voor het beheer	82
9.2.1	Conclusies	82
9.2.2	Aanbevelingen voor het beheer	83
	Literatuur	84

Summary

The present research aimed at functioning of the soil ecosystem in coastal dry dunes, over the gradient in lime-richness and soil organic matter (OM), which is important to nature management. The study has been conducted in lime-rich and lime-poor dune zones in the Amsterdamse Waterleidingduinen (AWD), in localities with low and high soil organic matter content. The following aspects have been studied: basic soil chemistry, species composition and nutrient contents of the vegetation, soil microbiology, micro- and mesofauna, C and N cycling in the soil, accumulation of ^{15}N in different soil compartments, and finally the distribution of N over different ecosystem compartments. The following research questions have been addressed:

1. Are biological activity and gross N-mineralization indeed higher, and net N-mineralization lower, in lime-rich than in lime-poor dune soils? What are the differences between soils with low and high OM?
2. How are microarthropods divided over feeding guilds in lime-rich and lime-poor dunes, and are there differences between low and high OM? Does the distribution in feeding guilds support the response patterns in microbial activity and N-mineralization?
3. How is the soil N distributed over different compartments, such as labile and stable soil organic matter? Are there differences between lime-rich and lime-poor soils, and between low and high OM soils?
4. In which compartments will ^{15}N accumulate after experimental application? Are there differences between lime-rich and lime-poor soils, and between low and high OM?

Results

It was expected that the soil ecosystem would be dominated by bacteria and bacterial feeders such as protozoa in lime-rich soil, and by fungi and (fungivorous) microarthropods in lime-poor soil. As a result, microbial activity, respiration and gross N-mineralization would be higher in lime-rich than in lime-poor soils, but net N-mineralization would be lower, due to higher immobilization and accumulation of N.

The results, however, showed very different response patterns. Possibly, the clear shift in pH from lime-rich to lime-poor soil is not enough to substantially change the soil ecosystem. Outside the coastal dunes, lime-rich and lime-poor soils may also differ in litter quality and development of organic layers, or differences in soil texture and presence of earthworms. In the dry, sandy soils of the AWD, however, lime content and pH values clearly differ, but earthworms are rare anywhere, and organic layers are mostly absent. There may be clear organic layers in acidified areas with strong grass-encroachment, especially in former dune slacks, but these were not studied, because grazing with cattle has been applied since a few years.

In this study, differences between lime-rich and lime-poor soils in microbial communities, activity and N-mineralization were smaller than expected, and patterns differed from expectations in most cases. Lime-rich soils were not characterized by bacteria and protozoa, and lime-poor soils only partially by fungi and microarthropods. Fungi were indeed less abundant in lime-rich soil, but bacterial biomass was not larger than in lime-poor soil, and bacterial growth rates were even lower. Net N-mineralization was indeed lower than in lime-poor soil, but respiration was also lower, which suggests that lower net N-mineralization in lime-rich soil could not be attributed to high microbial immobilization. Additional incubation experiments also showed that

net N-mineralization did not consistently differ between lime-rich and lime-poor dune soils.

We could also not find a clear relationship between net N-mineralization and the relatively high N content in soil and micro-organisms in lime-rich soil. Possibly, soil N is higher due to the higher content of aboveground vegetation, although it is not clear why plant N-contents should be higher. Higher plant N-content did however not lead to higher net N-mineralization.

Accumulation of (labeled) N is an active process in both lime-rich and lime-poor dunes, especially at high OM. In soils with high organic matter content, accumulation in the soil may amount to 20-36% of the ^{15}N supplied after 16-32 weeks. It is possible that recycling is slightly higher in the lime-rich soil.

In all incubation experiments, with and without ^{15}N , nitrification was very high, even in lime-poor soil. Most of the ammonium released during decomposition or experimentally supplied was converted to nitrate within very short time. In the dry dune soils, nitrate was however not further used by micro-organisms. This implies that high atmospheric N-deposition may not really lead to accumulation of N in the soil. Ammonium is rapidly converted to nitrate, but nitrate is not used by micro-organisms, and may leach to the groundwater or be taken up by the vegetation, instead of stored in the soil.

High atmospheric N-deposition may, however, lead to indirect accumulation of C and N in the soil, due to higher biomass production by the vegetation. This does not necessarily mean that net N-mineralization would increase as well. Soils with high OM contained more micro-organisms and soil fauna, and formed a stronger sink for (labelled) N than soils with low OM. However, microbial activity per g C was lower in soils with high OM, and respiration and net N-mineralisation per m^2 was not different.

Recommendations for dune management

The above results suggest that a shift in pH alone is not sufficient for a real shift in microbial communities and cycling of C and N. Other factors, such as differences in litter quality or texture, are probably also important. Differences in C and N cycling between soils with low and high OM were also much smaller than expected. For N-mineralization, it seems relatively unimportant whether the soil is lime-rich or not, or has low or high organic matter content, except for very young soils, or soils with clear organic layers. There are thus no indications that sod-cutting, an expensive management measure, is more useful to reduce N-availability to the vegetation in one situation than in another.

However, soil microarthropods were clearly affected by lime-richness and OM, although not in individual feeding guilds. Lime-richness clearly affected microarthropod community composition, but biomass, diversity and complexity of the soil food web were clearly higher at high OM. Sod-cutting can seriously affect this, and potential losses should be considered before applying such a measure.

Sod-cutting can be applied for other reasons, such as high P-availability in partly decalcified Middle dunes, or in lime-poor soils with high OM. In lime-rich soils, however, P-availability is probably still low, as supported by high N:P ratios of *Carex arenaria*, the only plant species occurring in all sites. Also, in lime-rich soils, more than 30 years of succession in soil and vegetation are needed for development of dune grassland, rather than pioneer vegetation. Plant species composition in lime-rich dunes seems good enough even in soils older than 75 years.

The present study suggests that sod-cutting in lime-rich soils is not really needed. Even soils with high OM do not have higher availability of N and P, compared to low OM soils, but microarthropod diversity is higher than at low OM, and pH still high enough for calcicole plant species. The main threat may be acidification, but in lime-rich dunes, stimulation of aeolian activity is relatively simple. It is possible that sod-cutting is considered on a local scale, in e.g. slightly acidified former dune slacks with *Campylopus introflexus*, an invasive moss species, or in the drinking water infiltration area, where blowing sand is not allowed. In that case, sod-cutting should be as

superficial as needed to bring lime-rich sand to the surface, and even then losses in the soil community should be considered.

Also in lime-poor soils, sod-cutting may not always be needed, unless thick organic layers have developed. High OM does not seem to lead to high net N-mineralization, although P-availability may increase, due to weaker binding of P to OM-Fe complexes instead of in iron phosphates. Higher P-availability may stimulate grass-encroachment, which is a larger problem in lime-poor than in lime-rich dune soils. Grass-encroachment may to some extent be counteracted by grazing with large herbivores, especially with respect to vegetation structure. However, to soil fauna, grazing may also be detrimental.

Samenvatting

Het onderzoek is gericht geweest op het functioneren van het bodemecosysteem in de duinen, over de gradiënt in kalkrijkdom en organische stof, die in de duinen heel belangrijk kan zijn. Het onderzoek is uitgevoerd in de kalkrijke en kalkarme duinen van de Amsterdamse Waterleidingduinen (AWD), in locaties met lage en hoge organische stofgehalten. In het onderzoek is aandacht besteed aan de volgende aspecten van het bodemecosysteem: Basaal bodemchemisch onderzoek, Onderzoek naar de soortensamenstelling en nutriënten in de vegetatie, Microbiologisch onderzoek, Onderzoek naar de bodemfauna, Onderzoek naar de C- en N-huishouding van de bodem, Onderzoek naar de opslag van ^{15}N in verschillende fracties van de bodem, en tenslotte de verdeling van N over verschillende ecosysteemcompartimenten. In dit rapport worden de volgende onderzoeksvragen behandeld:

1. Zijn de microbiële activiteit en de bruto N-mineralisatie hoger in kalkrijke dan in kalkarme duinen, terwijl de netto N-mineralisatie juist lager is? En wat is het verschil tussen OM-rijke en OM-arme bodems?
2. Hoe zijn de voedselgildes in microarthropoden verdeeld over kalkrijke en kalkarme duinen, en is er wat dat betreft verschil tussen OM-rijke dan in OM-arme bodems? In welke mate versterkt of verzwakt dit de microbiële respons uit vraag 1?
3. Hoe is de N in de bodem verdeeld over verschillende compartimenten, als stabiele en labiele organische stof? Is er wat dat betreft verschil tussen kalkrijke en kalkarme duinen, en tussen OM-rijke en OM-arme bodems?
4. In welke compartimenten vindt opslag van N na experimentele toediening (^{15}N) in de bodem plaats? Is er wat dat betreft verschil tussen kalkrijke en kalkarme duinen, en tussen OM-rijke en OM-arme bodems?

Resultaten

De verwachting was dat in kalkrijke duinen het bodemleven gedomineerd zou worden door bacteriën en bacterie-etende protozoa, en in de kalkarme duinen door schimmels en fungivore en herbivore microarthropoden. Mede daardoor zou de microbiologische activiteit in kalkrijke bodems hoger zijn dan in kalkarme, wat naar verwachting zou leiden tot een hogere respiratie en bruto N-mineralisatie, maar een relatief lage netto N-mineralisatie, door hoge immobilisatie en opslag van N in de bodem. In kalkarme bodems zou de microbiële activiteit lager zijn, maar de netto N-mineralisatie mogelijk relatief hoog, door lage immobilisatie en opslag in de bodem.

De resultaten laten een ander beeld zien. Waarschijnlijk is een verschil in kalkrijkdom en pH op zichzelf niet sterk genoeg om het bodemecosysteem substantieel te veranderen. In kalkrijke en kalkarme bodems buiten de duinen spelen ook andere factoren een rol, zoals verschil in strooiselkwaliteit en de ontwikkeling van ectorganische horizonten, of verschil in textuur en aanwezigheid van regenwormen. In de zandige, droge duinbodems van de AWD zijn er wel duidelijke verschillen in kalkrijkdom en pH, maar nergens veel regenwormen, en vrijwel geen ectorganische horizonten aanwezig. Ectorganische horizonten zijn er mogelijk wel in verzuurde en sterk vergraste delen van het gebied, met name in de verdroogde valleien, maar deze konden niet in het onderzoek betrokken worden, omdat hier in de laatste jaren begrazing is toegepast.

In dit onderzoek zijn de verschillen tussen kalkrijke en kalkarme duinbodems wat betreft microbiële gemeenschap en activiteit, en N-beschikbaarheid, anders dan verwacht, en relatief gering. Er is geen sprake van een door bacteriën en protozoa gedomineerd bodemleven in kalkrijke duinen, en een door schimmels en

microarthropoden gedomineerd bodemleven in kalkarme duinen. Zo zijn er wel minder schimmels in kalkrijke bodems, maar de hoeveelheid bacteriën is niet hoger dan in kalkarme bodems, en de bacteriële groeisnelheid is zelfs lager. Ook is de netto N-mineralisatie wel lager in kalkrijke bodems, maar de respiratie ook, wat aangeeft dat een lage netto N-mineralisatie niet het gevolg kan zijn van een hoge microbiële immobilisatie. Ook in aanvullende incubatie-experimenten met minerale bodem is er geen duidelijk verschil in netto N-mineralisatie tussen kalkrijke en kalkarme duinen.

Er is ook geen duidelijke relatie gevonden tussen de netto N-mineralisatie en het relatief hoge N-gehalte in bodem en micro-organismen. Mogelijk speelt vooral het N-gehalte van de vegetatie een rol, al is niet helemaal duidelijk waarom kalkrijke bodems planten hebben met een relatief hoog N-gehalte. Het stikstofrijkere strooisel leidt echter niet tot een hogere netto N-mineralisatie.

De opslag van (gelabeld) N is een actief proces in zowel kalkrijke als kalkarme duinbodems. Vooral bij hoge organische stofgehalten kan de opslag na 16-32 weken oplopen tot 20-36% van de toegediende hoeveelheid. Mogelijk treedt in de kalkrijke locatie TPH iets meer recycling op dan in de kalkarme DHH. Er treedt echter ook een hoge nitrificatie op, zelfs in de kalkarme bodems. Het grootste deel van de bij afbraakprocessen vrijkomende of toegediende gelabelde ammonium wordt binnen korte tijd omgezet in nitraat. Hier wordt verder door de microbiële populatie in de goed doorluchte zandige bodem vrijwel niets mee gedaan. Dat betekent dat een hoge atmosferische N-depositie maar voor een klein deel leidt tot directe opslag van N in organische stof in de bodem. Nitraat wordt niet opgenomen door micro-organismen, en ammonium heel snel omgezet in nitraat, wat wegspoelt naar het grondwater, of wordt opgenomen door de vegetatie.

Hoge atmosferische N-depositie kan wel indirect leiden tot verhoogde opslag van C en N in de bodem, door sterkere groei van de vegetatie. Dat betekent echter niet dat een hoger organische stofgehalte ook leidt tot een hogere netto N-mineralisatie. Bodems met hoge OM bevatten wel meer micro-organismen en bodemfauna, en vormen een sterkere N-sink dan bodems met lage OM. De microbiële activiteit per g C is echter hoger in bodems met lage OM, waardoor respiratie en netto N-mineralisatie per saldo net zo hoog zijn als in bodems met hoge OM.

Aanbevelingen voor het beheer

De bovenstaande resultaten geven aan dat alleen een verschil in pH niet voldoende is om een duidelijk verschil in de bacteriële gemeenschap en de omzetting van C en N te bewerkstelligen. Waarschijnlijk zijn ook andere factoren nodig, zoals verschil in strooiselkwaliteit en/of textuur. Ook het verschil tussen bodems met lage en hoge OM in de omzetting van C en N is kleiner dan verwacht. Voor de N-beschikbaarheid voor de vegetatie maakt het blijkbaar uiteindelijk niet zo veel uit of de bodem kalkrijk, of rijk is aan organische stof of niet, behalve bij heel jonge bodems, of als er een uitgesproken ectorganische horizont aanwezig is. De keuze om wel of niet te plaggen hoeft daar niet van af te hangen.

Wat betreft de bodemfauna maakt het wel uit. De kalkrijkdom heeft vooral invloed op de samenstelling van de bodemfauna, maar biomassa, diversiteit en complexiteit van het voedselweb zijn duidelijk hoger bij een hoger organische stofgehalte. Voor het beheer betekent dit dat bij plaggen rekening gehouden moet worden met wat er potentieel wordt weggehaald. Het gaat hierbij in eerste instantie om het aantal soorten mijten en springstaarten, maar ook om versimpeling van het bodemvoedselweb.

Plaggen kan om andere redenen dan de bovenstaande worden toegepast, zoals een hoge P-beschikbaarheid in de oppervlakkig ontcalciteerde middenduinen, en bij hoge organische stofgehalten in kalkarme bodems van het binnenduin (Kooijman & Besse 2002, Kooijman et al. 2009). De hoge N:P ratio van Zandzeggeblaadjes geeft echter aan dat de P-beschikbaarheid in kalkrijke duinen ook bij hoge OM nog steeds relatief laag is. Ook heeft de vegetatie in kalkrijke duinen minstens dertig jaar nodig om een duingraslandkarakter te krijgen, en is de soortensamenstelling op bodems van >75 jaar oud nog redelijk op orde (Aggenbach et al. 2013).

Op basis van dit onderzoek lijkt plaggen in kalkrijke bodems in principe onnodig. Bodems met hoge organische stofgehalten hebben geen hoge N-beschikbaarheid, geen hoge P-beschikbaarheid, maar wel een hoge diversiteit wat betreft bodemfauna, en de pH is nog hoog genoeg voor de aanwezigheid van kalkminnende plantensoorten. Wel moet de verzuring in het oog gehouden worden. In de kalkhoudende duinen is het relatief simpel om de pH te verhogen door het bevorderen van kleinschalige verstuiving. Het is echter mogelijk dat de beheerder toch wil plaggen, zoals in oppervlakkig verzuurde verdroogde duinvalleien met *Campylopus introflexus* en op plekken waar verstuiving onwenselijk is, zoals in het infiltratiegebied. In dat geval kan er eventueel ondiep geplagd worden, niet dieper dan nodig is om het kalkrijke zand aan de oppervlakte te krijgen. Ook moeten mogelijke winst en verlies aan biodiversiteit tegen elkaar afgewogen worden.

Voor kalkarme bodems is plaggen misschien ook niet altijd nodig. Voor de N-beschikbaarheid lijkt een hoog organische stofgehalte op zichzelf niet zo'n probleem, tenzij er dikke ectorganische horizonten gaan ontstaan. Wel kan de P-beschikbaarheid toenemen bij hogere OM, door de lossere binding met ijzer-organische stofcomplexen in plaats van P-fixatie in ijzerfosfaat (Kooijman et al. 2009). Dat kan leiden tot vergrassing, die in de kalkarme duinen veel sterker is dan in de kalkrijke duinen. Vergrassing is tot op zekere hoogte tegen te gaan door begrazing, met name wat betreft vegetatiestructuur, al lijken ook bij begrazing de effecten op bodemfauna minder gunstig (Nijssen et al. 2014).

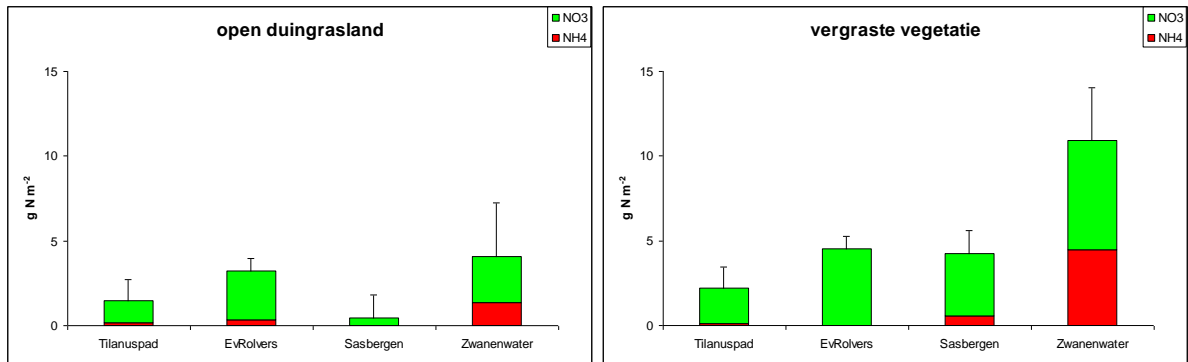
1 Inleiding

1.1 Aanleiding tot het onderzoek

Het in dit rapport beschreven OBN-onderzoek is in opdracht van het Bosschap uitgevoerd in het Natura 2000 habitatype H2130, de Grijze duinen. De Grijze duinen behoren tot de prioritare habitattypen van het duin- en kustgebied. In veel duingebieden is de hoge N-depositie een probleem voor een gunstige staat van instandhouding. Ook de hoge N-depositie uit het verleden speelt mogelijk een rol. Onduidelijk is in welke mate deze atmosferische stikstof wordt vastgelegd in de bodem en daarmee heeft geleid tot onttrekking aan de N-kringloop, dan wel dat er sprake is van het steeds weer vrijkomen van deze stikstof.

Voor het beheer van grijze duinen is het belangrijk meer inzicht te krijgen in de betekenis van N-opslag in de bodem en de rol van het bodemleven daarbij. Het in dit rapport beschreven onderzoek geeft een antwoord op de vraag in welke mate micro-organismen en mesofauna, en uiteindelijk de opslag van N in organische stof in de bodem een rol speelt bij de gevoeligheid van duinen voor N-depositie. Dit is belangrijk voor de vraag of verwijdering van de organische stofrijke bovengrond de grijze duinen minder gevoelig zouden maken voor N-depositie, en daarmee een effectieve maatregel is.

Het onderzoek richt zich vooral op verschillen tussen kalkrijke en kalkarme duinbodems, en op verschillen in organische stofgehalte. Beide factoren zijn in het complexe duinlandschap van groot belang. In jonge duinbodems is de N-mineralisatie in het algemeen lager dan in oudere bodems, omdat de hoeveelheid organische stof beperkt is en de N-kringloop nog op gang moet komen (Sparrius & Kooijman 2012, Aggenbach et al. 2013). Daarnaast zijn kalkarme duinen gevoeliger voor N-depositie en hebben lagere kritische depositie niveaus dan kalkrijke duinen (Kooijman & Besse 2002, van Dobben & van Hinsberg 2008). In kalkrijke Grijze duinen wordt de KDW op ca 15 kg ha⁻¹ jaar⁻¹ gesteld, en in kalkarme op 10 kg ha⁻¹ jaar⁻¹. In de revisie van de KDW door Bobbink et al. (2010) worden nog lagere waarden aangehouden, van 10-15 kg ha⁻¹ jaar⁻¹ in de kalkrijke duinen, en van 8-10 kg ha⁻¹ jaar⁻¹ in de kalkarme duinen. Dit verschil hangt mogelijk samen met verschillen in de N-huishouding. In de traditionele opinie zou de netto N-mineralisatie in kalkrijke bodems hoger zijn dan in kalkarme bodems, als gevolg van de hogere microbiële activiteit en afbraaksnelheid (o.a. Aerts en Chapin 2000). Afbraakprocessen verlopen immers sneller in kalkrijke dan in kalkarme bodems (Swift et al. 1979). Hierdoor zou de hoeveelheid N die vrijgemaakt wordt tijdens de afbraakprocessen ook relatief hoog zijn. In kalkarme bodems is de microbiële activiteit in het algemeen veel lager, waardoor ook de bruto en netto N-mineralisatie lager zouden zijn. In een veldexperiment bleek de netto N-mineralisatie in kalkrijke duinbodems echter significant lager dan in kalkarme bodems, met name die in het Waddendistrict (Kooijman & Besse 2002; Figuur 1.1).



Figuur 1.1. Netto N-mineralisatie onder veldcondities (april-oktober) in kalkrijke en kalkarme duinbodems. De data zijn afkomstig uit Kooijman & Besse (2002). De locaties Tilanuspad (kalkrijk), Eiland van Rolvers (ondiep ontkalkt) en Sasbergen (kalkarm) liggen in de Amsterdamse Waterleidingduinen; het Zwanenwater (kalkarm) is gelegen in de kop van Noord-Holland. De locatie Tilanuspad is dezelfde als in het huidige onderzoek voor de kalkrijke monsters is gebruikt; de locatie Sasbergen is min of meer vergelijkbaar met de huidige kalkarme locatie.

Figure 1.1. Net N mineralization under field conditions (April-October) in lime rich and lime poor dune soils. The data are from Kooijman & Besse (2002). The locations Tilanuspad (lime rich), Eiland van Rolvers (superficially decalcified) and Sasbergen (lime poor) are in the Amsterdamse Waterleidingduinen; the Zwanenwater (lime poor) is in the Northern part of Noord-Holland. The Tilanuspad location is the same as used in the current research for lime rich soils; the Sasbergen location is more or less comparable to the current lime poor location.

Vergelijkbare patronen van hoge netto N-mineralisatie bij lage pH en lage netto N-mineralisatie bij hoge pH zijn gevonden in o.a. bossen en veengebieden (Davy & Taylor 1974, Verhoeven et al. 1990, Kooijman et al. 2008, Kooijman & Hedenäs 2009, Kooijman & Martinez-Hernandez 2009, Kooijman & Smit 2009, Mettrop et al. 2013). Deze verschillen zijn ten dele toegeschreven aan verschillen in de microbiële gemeenschap (Kooijman et al. 2008). Kalkarme bodems worden in het algemeen gedomineerd door schimmels, die mogelijk minder N nodig hebben c.q. opnemen dan de bacteriën die overheersen in kalkrijke bodems. Voor duinbodems is immobilisatie in relatie tot bacteriën en schimmels tot nu toe echter niet onderzocht.

Naast bacteriën en schimmels spelen ook microarthropoden en protozoa een belangrijke rol in de bodem. Microarthropoden als mijten en springstaarten zijn wat betreft hun voedselbehoefte op te delen in functionele groepen, zoals herbivore en fungivore grazers en browsers, bacterivoren en predatoren (Siepel & Maaskamp 1994, Siepel 1996). Zo bevatten fungivore grazers chitinase, waarmee ze N uit de chitine van het schimmelweefsel kunnen vrijmaken, en daardoor de N-beschikbaarheid in zure, schimmel-gedomineerde bodem (verder) kunnen verhogen. In dit onderzoek zijn ook protozoa als amoeben en flagellaten bemonsterd, omdat zij een rol spelen als consument van bacteriën. Een actief bodemleven legt een deel van de N vast, waardoor relatief weinig N beschikbaar blijft voor de vegetatie (Kemmers et al. 2009). De immobilisatie van N in het bodemvoedselweb in heischrale graslanden was vier maal groter dan de netto N-mineralisatie die ten goede komt aan de vegetatie.

Immobilisatie door het bodemvoedselweb lijkt sterker naarmate het bodemleven actiever en het voedselweb uitgebreider is. Ook voor de bodemfauna is organische stof waarschijnlijk een belangrijke factor.

Microarthropoden lieten in stuifzanden een duidelijke verschuiving zien in de loop van de successie (Siepel & Nijssel 2010). Daarnaast speelt de kalkrijkdom van de bodem mogelijk een rol. In basenrijke schraalgraslanden leken vooral bacteriën, protozoa en wormen een belangrijke rol spelen bij N-immobilisatie (Kemmers et al 2011). In basenarme bodems zijn schimmels en microarthropoden waarschijnlijk belangrijker dan bacteriën en protozoa. Voor duinbodems is dit echter nog niet uitgezocht.

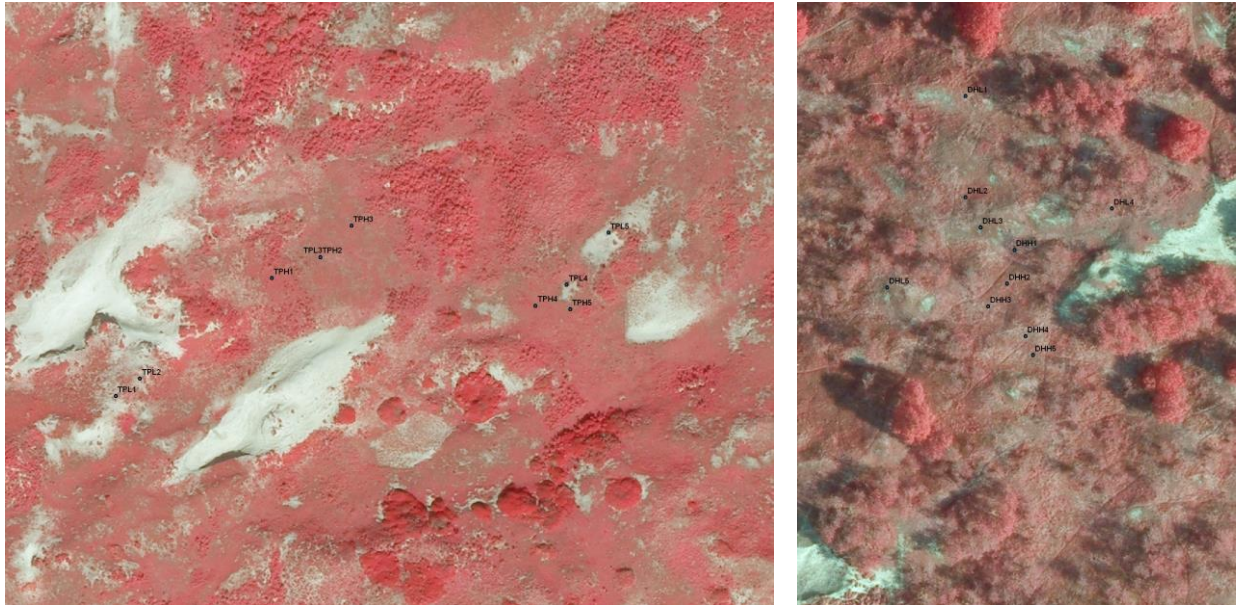
Een belangrijke vraag is welk deel van de N-immobilisatie in het bodemvoedselweb weer wordt hergebruikt, en welk deel uiteindelijk terecht komt in stabiele organische stof, en aan de N-kringloop wordt onttrokken. In Zweedse dennenbossen werd ¹⁵N na enkele weken vooral aangetroffen in de microbiële massa, maar na vijf maanden vooral in de organische stof in de bodem (Sjöberg & Persson 1998). Ook in Miltner et al. (2009) bleek het grootste deel van de gelabelde microbiële aminozuren in de bodem terecht te komen. Verder lijkt de opslag van N hoger in kalkrijke dan in kalkarme bodems (Phoenix et al. 2003). Mogelijk wordt in kalkrijke bodems vooral bacterieel materiaal opgeslagen. Bacteriën worden gegeten door protozoa, die de celinhoud verteren maar de recalcitrante celwanden weer uitscheiden. Mogelijk wordt in kalkarme bodems een deel van de N uit schimmelbiomassa weer vrijgemaakt door fungivore mijten, waardoor de opslag in de bodem per saldo lager wordt.

1.2 Vraagstelling

Het onderzoek moet leiden tot meer inzicht in de respons van het bodemleven op N-depositie en opslag van N in de bodem over de gradiënt in kalkrijkdom en organische stof in grijze duinen. Dit leidt tot een betere ondersteuning bij het beheer en het minimaliseren van effecten van N-depositie. In de opdracht zijn een aantal kennisvragen geformuleerd waarmee de verkregen inzichten verder kunnen worden getoetst op juistheid om vervolgens toegepast te kunnen worden in het beheer:

- Zijn de microbiële activiteit en de bruto N-mineralisatie hoger in kalkrijke dan in kalkarme duinen, terwijl de netto N-mineralisatie juist lager is? En wat is het verschil tussen OM-rijke en OM-arme bodems?
- Hoe zijn de voedselgildes in microarthropoden verdeeld over kalkrijke en kalkarme duinen, en is er wat dat betreft verschil tussen OM-rijke dan in OM-arme bodems? In welke mate versterkt of verzwakt dit de microbiële respons uit vraag 1?
- Hoe is de N in de bodem verdeeld over verschillende compartimenten, als stabiele en labiele organische stof? Is er wat dat betreft verschil tussen kalkrijke en kalkarme duinen, en tussen OM-rijke en OM-arme bodems?
- In welke compartimenten vindt opslag van N na experimentele toediening (¹⁵N) in de bodem plaats? Is er wat dat betreft verschil tussen kalkrijke en kalkarme duinen, en tussen OM-rijke en OM-arme bodems?

1.3 Onderzoeksgebied Amsterdamse Waterleidingduinen



Figuur 1.2. Onderzoekslocaties in de kalkrijke duinen van Tilanuspad (TPL en TPH) en de kalkarme duinen van de Dooie Hoek (DHL en DHH) in de Amsterdamse Waterleidingduinen. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM.

Figure 1.2. Research locations in the lime rich dunes of Tilanuspad (TPL and TPH) and the lime poor dunes of de Dooie Hoek (DHL and DHH) in the Amsterdamse Waterleidingduinen. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM.

Het onderzoek is uitgevoerd met bodemonsters uit de Amsterdamse Waterleidingduinen. In dit gebied zijn zowel kalkrijke als kalkarme duinzones aanwezig, waarin al geruime tijd onderzoek wordt gedaan naar vergrassing en beheersmaatregelen hiertegen (Veer 1998, Kooijman & Besse 2002, Kooijman et al. 2005, 2009). De kalkrijke duinen zijn gevormd in de 17^e eeuw, en komen vooral voor in de strook nabij de kust. De kalkarme duinen liggen aan de binnenkant van het terrein, en zijn al in de 10^e eeuw gevormd (van Til & Mourik 1999). In beide zones komen relatief recent verstoven jonge bodems voor met een laag organische stofgehalte, als oudere stabiele bodems waarin accumulatie van organische stof heeft kunnen optreden. De precieze ouderdom van de bodems is niet bekend, maar waarschijnlijk zijn de stabiele bodems met hoge OM in de kalkarme duinen ouder dan in de kalkrijke. De monsterpunten in de kalkrijke duinen zijn gekozen nabij Tilanuspad (TP), en in de kalkarme duinen in de Dooie Hoek (DH). In ieder gebied zijn tien monsterlocaties gekozen volgens stratified random selectiecriteria: vijf met een laag organische stofgehalte en vijf met een hoog organische stofgehalte (Figuur 1.1). In iedere meetlocatie zijn verschillende deelonderzoeken uitgevoerd, waarvan de details worden besproken in de betreffende hoofdstukken: H2. Basaal bodemchemisch onderzoek; H3. Onderzoek naar soortensamenstelling en nutriënten in de vegetatie; H4. Microbiologisch onderzoek; H5. Bodemfauna onderzoek; H6. Onderzoek naar de C- en N-huishouding van de bodem; H7. Onderzoek naar de opslag van ¹⁵N in verschillende fracties van de bodem, en H8. Verdeling van N over verschillende ecosysteemcompartimenten. Het rapport wordt afgesloten met een synthese (H9) waarin antwoord op de onderzoeksvragen zal worden gegeven, en de conclusies en aanbevelingen voor het beheer op een rijtje worden gezet.

2 Basaal bodemchemisch onderzoek

2.1 Inleiding en methoden

Basaal bodemchemisch onderzoek is nodig om te toetsen of de vier bemonsteringslocaties TPL, TPH, DHL en DHH inderdaad van elkaar verschillen wat betreft kalkrijkdom en organische stofgehalte. Voor deze analyse zijn de pH en het C- en N-gehalte van de bodem bepaald. Daarnaast zijn de bodemmonsters voor de analyses in Wageningen en Amsterdam in verschillende perioden van het jaar genomen, in mei en oktober. De monsters zijn wel bij dezelfde meetpunten genomen, maar waarschijnlijk niet op exact dezelfde plaats. Deze gescheiden bemonstering heeft nadelen, zeker bij bodemonderzoek waarin de variabiliteit op de korte afstand aanzienlijk kan zijn, en bij microbiologisch onderzoek waarin ook seizoenseffecten kunnen meespelen. Maar een dubbele bemonstering heeft ook voordelen, omdat zo kan worden getest hoe robuust de verschillen tussen locaties zijn. Daarnaast is een deel van de analyses in Wageningen en een deel in Amsterdam gedaan. Hierbij zijn niet altijd alle parameters gemeten, en als dat wel zo was, soms met verschillende methoden. Zo is de pH van de bodem op dezelfde wijze met een standaard pH-meter bepaald, maar is het C-gehalte in Wageningen gemeten met de gloeiverliesmethode en in Amsterdam met de CNS-analysator. Om te toetsen of het tijdstip van bemonstering en/of verschillende analyse van invloed kan zijn geweest op de pH en het C- en N-gehalte van de bodem is een driewegvariantieanalyse toegepast. Hierbij is naast kalkrijkdom en OM ook de monsterserie als onafhankelijke factor meegenomen. Verschillen tussen individuele gemiddelden zijn getoetst met een post hoc LSmeans-test. Het kalkgehalte is alleen in mei bepaald, en statistisch getoetst met een tweewegvariantieanalyse en LSmeans test. De verdeling van C en N over verschillende dichtheidsfracties in de bodem is alleen bepaald in oktober. De fractionering van lichte fracties met relatief labiele organische stof, en zware fracties met relatief stabiele organische stof is uitgevoerd volgens Cerli et al. (2012). De hoeveelheid C en N in de zware fracties (zand) kon door de kleine hoeveelheden niet goed worden gemeten, en is bepaald aan de hand van het verschil tussen het totaal en de lichte fracties. Verschillen tussen locaties zijn getoetst met een tweewegvariantieanalyse en LSmeans test.

2.2 Resultaten en discussie

De kalkrijke en kalkarme locaties verschillen zoals verwacht wat betreft het kalkgehalte. In TP, de kalkrijke duinzone, varieert het kalkgehalte in de bodems met lage organische stofgehalten van 1.3-4.7%, met een gemiddelde van 2.9%. In de bodems met een hoog organische stofgehalte is het kalkgehalte iets lager en varieert van 0-2.7%, met een gemiddelde van 1.8%. In de kalkarme duinen van DH is zoals verwacht geen kalk aangetroffen.

Tabel 2.1. Statistische analyse van bodemeigenschappen in de monsters van mei en oktober van kalkrijke en kalkarme duinbodems met hoog en laag organisch stofgehalte in de Amsterdamse Waterleidingduinen. Significante effecten zijn weergegeven met de overschrijdingskans ($p < 0.05$); ns = niet significant.

Table 2.1. Statistical analysis of soil characteristics in the May and October samples of lime rich and lime poor dune soils with high and low organic matter content in the Amsterdamse Waterleidingduinen. Significant effects are given by the p value ($p < 0.05$); ns = not significant.

	serie	kalk	OM	serie* kalk	serie*OM	kalk*O M	serie* kalk *OM
pH	ns	0.0001	0.0001	ns	ns	ns	ns
C in de bodem (g kg ⁻¹)	0.036	ns	0.0001	ns	ns	ns	ns
C in de bodem (kg m ⁻²)	0.038	ns	0.0001	ns	ns	ns	ns
N in de bodem (g kg ⁻¹)	ns	ns	0.0001	ns	ns	ns	ns
N in de bodem (g m ⁻²)	ns	ns	0.0001	ns	ns	ns	ns
C:N ratio (g g ⁻¹)	ns	0.001	ns	ns	ns	ns	ns

De pH van de bodem is volgens de statistische analyse niet beïnvloed door het bemonsteringstijdstip, maar verschilt zoals verwacht wel significant tussen kalkrijke en kalkarme locaties (Tabel 2.1, 2.2). Ook een hoog of laag organische stofgehalte is van invloed. In zowel mei als oktober is de pH het hoogst in TPL, de kalkrijke locatie met lage OM, waar deze een waarde heeft van 8.0-8.3. In TPH, kalkrijk met hoge OM, is de pH door het afgenomen kalkgehalte iets lager, en ligt rond de 7.0-7.2. In de kalkarme locaties is de pH nog relatief hoog in DHL, de kalkarme locatie met lage OM, als gevolg van het lage organische stofgehalte. De pH varieert hier van 5.0-5.3. In DHH, waar het organische stofgehalte veel hoger is, is de bodem sterk verzuurd en ligt de pH rond 3.8.

Tabel 2.2. Bodemeigenschappen in verschillende duinbodems, bemonsterd in mei en oktober. Verschillende letters geven significante verschillen weer ($p < 0.05$) voor een bepaalde parameter.

Table 2.2. Soil characteristics in different dune soils, sampled in May and October. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) for a specific parameter.

		TPL kalkrijk laag OM	TPH kalkrijk hoog OM	DHL kalkarm laag OM	DHH kalkarm hoog OM
pH minerale bodem	mei	8.3 (0.3) ^d	7.2 (0.8) ^c	5.0 (0.5) ^b	3.8 (0.1) ^a
	okt	8.0 (0.2) ^d	7.0 (0.6) ^c	5.3 (1.0) ^b	3.8 (0.1) ^a
C-gehalte (g kg ⁻¹)	mei	8.1 (2.3) ^a	19.2 (5.6) ^b	9.6 (2.5) ^a	15.9 (3.0) ^b
	okt	8.8 (4.7) ^a	21.2 (5.4) ^b	11.6 (5.6) ^a	24.7 (7.3) ^b
N-gehalte (g kg ⁻¹)	mei	0.7 (0.2) ^a	1.4 (0.5) ^b	0.6 (0.2) ^a	1.0 (0.3) ^a
	okt	0.6 (0.3) ^a	1.7 (0.5) ^b	0.7 (0.4) ^a	1.6 (0.5) ^b
C:N ratio (g g ⁻¹)	mei	11.3 (0.6) ^a	13.8 (3.7) ^{ab}	18.6 (9.7) ^b	16.7 (3.1) ^{ab}
	okt	14.0 (0.8) ^{ab}	12.5 (0.6) ^a	18.1 (2.9) ^c	15.8 (0.4) ^b

Het C-gehalte in de bodem wordt zoals verwacht vooral beïnvloed door de factor OM. In de bodems met lage OM varieert het C-gehalte van 8.1-8.8 g kg⁻¹ in TPL en 9.6-11.6 g kg⁻¹ in DHL. In de bodems met hoge OM is het C-gehalte ongeveer twee keer zo hoog als bij lage OM, en varieert van 19.2-21.2 g kg⁻¹ in TPH en van 15.9-24.7 g kg⁻¹ in DHH. De kalkrijkdom speelt geen rol wat betreft het C-gehalte in de bodem, maar de meetserie wel. De waarden in mei zijn iets lager dan in oktober. Dit kan het gevolg zijn van de net iets andere monsters, maar ook van verschillen in de meetmethode. De verschillen tussen mei en oktober zijn echter relatief klein vergeleken met de variabiliteit van de monsters in het algemeen, en zeker vergeleken met de verschillen tussen hoge en lage OM.

Ook het N-gehalte in de bodem wordt vooral beïnvloed door de indeling in OM-klassen. Net als bij het C-gehalte liggen de waarden bij lage OM ca twee keer lager dan bij hoge OM. In bodems met lage OM varieert het N-gehalte van 0.6-0.7 g kg⁻¹ in zowel TPL als DHL. In bodems met hoge OM is het N-gehalte significant hoger in het kalkrijke TPH dan in het kalkarme DHH. In TPH varieert het N-gehalte van 1.4-1.7 g kg⁻¹, en in DHH van 1.0-1.6 g kg⁻¹.

Hoewel het C- en N-gehalte min of meer vergelijkbare patronen laat zien, is de C:N ratio toch verschillend. De C:N ratio wordt niet beïnvloed door meetserie of OM, maar wel door het kalkgehalte. In de kalkrijke bodems varieert de C:N ratio van 11.3-14.0 in TPL en van 12.5-13.8 in TPH. In de kalkarme bodems is de C:N ratio veel hoger. Deze ligt rond de 18.1-18.6 in DHL en rond de 15.8-16.7 in DHH.

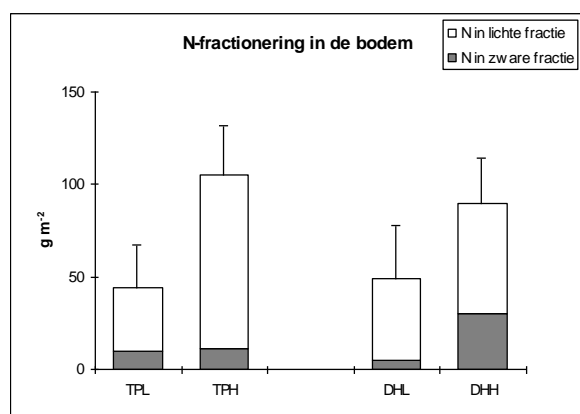
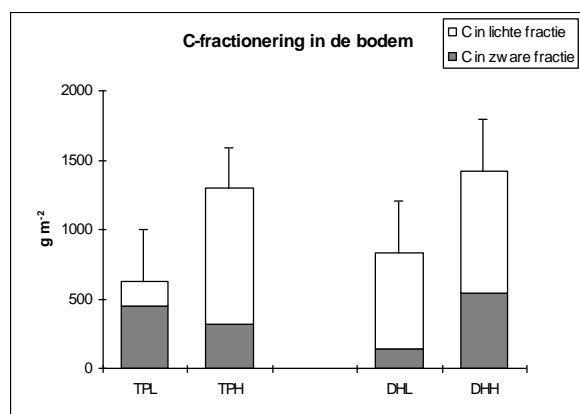
De verschillen tussen de locaties in de verdeling van C en N over lichte fracties met relatief verse, labiele organische stof en zware fracties met relatief stabiele organische stof, zijn minder eenduidig (Tabel 2.3, Figuur 2.1). In de lichte fractie is de hoeveelheid C in de meeste gevallen hoger dan in de zware fractie, behalve voor TPL, de kalkrijke locatie met lage OM. In de andere drie locaties bevat de lichte fractie ca 61-80% van de totale hoeveelheid C, maar in TPL maar 31%. In TPL is de hoeveelheid C in de lichte fractie per m² dan ook significant lager dan in de andere locaties. De zware fractie is behalve in TP sowieso minder belangrijk dan de lichte fractie, maar in DHL is de hoeveelheid C hierin nog lager. In DHL zit maar 140 g C m⁻² in de stabiele organische stoffractie, wat heel weinig is. Dat betekent dat een relatief groot deel van de OM uit licht, goed-afbreekbaar materiaal bestaat.

Het relatieve aandeel van de lichte fracties in de hoeveelheid N in de bodem is nog groter dan voor C. Dit is vooral het geval in TPL, TPH en DHL, waar het percentage N in de lichte fractie oploopt tot 76-92%. In DHH, de kalkarme locatie met hoge OM, is de hoeveelheid N echter relatief hoog in de zware, stabiele fractie, en loopt daar op tot 35%, mogelijk als gevolg van de hogere ouderdom van de bodem. De hoeveelheid N in de lichte en zware fracties wordt vooral bepaald door OM, en neemt in het algemeen toe bij hogere organische stofgehalten. Kalkrijkdom speelt bij de verdeling van N in de bodem geen rol. Wel heeft kalkrijkdom invloed op de C:N ratio van de lichte fractie, net als bij de totale hoeveelheid C en N. De C:N ratio van de lichte fractie in kalkrijke bodems bedraagt gemiddeld 6.1 in TPL en 10.4 in TPH, wat significant lager is dan de waarden van 17.6 in DHL en 15.1 in DHH. In de zware fractie is de C:N ratio hoger, en varieert van 22-36, maar is niet significant verschillend tussen de vier locaties.

Tabel 2.3. Statistische analyse van de dichtheidsafhankelijke fractionering van C en N in de oktobermonsters van verschillende duinbodems, met kalkrijkdom en OM als onafhankelijke factoren. Significante effecten zijn weergegeven met de overschrijdingskans; ns = niet significant ($p < 0.05$).

Table 2.3. Statistical analysis of different density fractions of C and N in the October samples of different dune soils, with lime content and OM as independent factors. Significant effects are given by the p value; n.s. = not significant ($p > 0.05$).

	kalk	OM	kalk*OM
C in lichte fractie (g m^{-2})	ns	0.002	0.031
C in zware fractie (g m^{-2})	ns	ns	0.007
N in lichte fractie (g m^{-2})	ns	0.005	ns
N in zware fractie (g m^{-2})	ns	0.030	ns
C:N ratio in lichte fractie	0.0006	ns	ns
C:N ratio in zware fractie	ns	ns	ns



zware fracties in kalkrijke en kalkarme Amsterdamse Waterleidingduinen. TPL = kalkrijk, lage OM, TPH = kalkrijk, hoge OM, DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. De waarden zijn gemiddelden ($n = 5$) en standaarddeviaties.

Figure 2.1. Distribution of C and N over light and heavy fractions in lime rich and lime poor dune soils with low and high OM content in the Amsterdamse Waterleidingduinen. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. Averages ($n=5$) and standard deviations are given.

2.3 Conclusie

De gekozen meetlocaties voldoen aan de verwachtingen. De kalkrijke locaties TPL en TPH hebben inderdaad aantoonbaar kalk in de bodem en een relatief hoge pH, terwijl in de kalkarme locaties kalk niet voorkomt en de pH een stuk lager ligt. Ook wat betreft het organische stofgehalte zijn de locaties goed gekozen. In de bodems met lage OM zoals TPL en DHL zijn het C- en N-gehalte van de bodem ca twee keer zo laag als in de bodems met een hoge OM zoals TPH en DHH. De absolute of relatieve hoeveelheid N in de bodem hangt echter behalve OM ook samen met de kalkrijkdom. Het N-gehalte is significant hoger in TPH, de kalkrijke bodem met hoge OM, en de C:N ratio is significant lager in kalkrijke bodems, onafhankelijk van de hoeveelheid OM. Dit suggereert dat kalkrijke bodems misschien niet absoluut, maar wel relatief rijk aan N zijn. De C in de bodem zit behalve in TPL voor een groot deel in de lichte fracties met relatief labiele organische stof, en minder in de zware fracties met relatief stabiele organische stof. Ook N is vooral aanwezig in de lichte fracties, meer nog dan voor C. Alleen in de kalkarme DHH zijn grotere hoeveelheden N in de zware, stabiele fractie te vinden, mogelijk omdat dit oudere bodems zijn. Maar in de kalkarme DHL, met lage OM, is de hoeveelheid N in de zware fractie juist erg laag. In de lichte fractie zijn net als bij totaal C en N verschillen in C:N ratio zichtbaar tussen kalkrijke en kalkarme bodems, met relatief lage waarden voor de kalkrijke bodems.

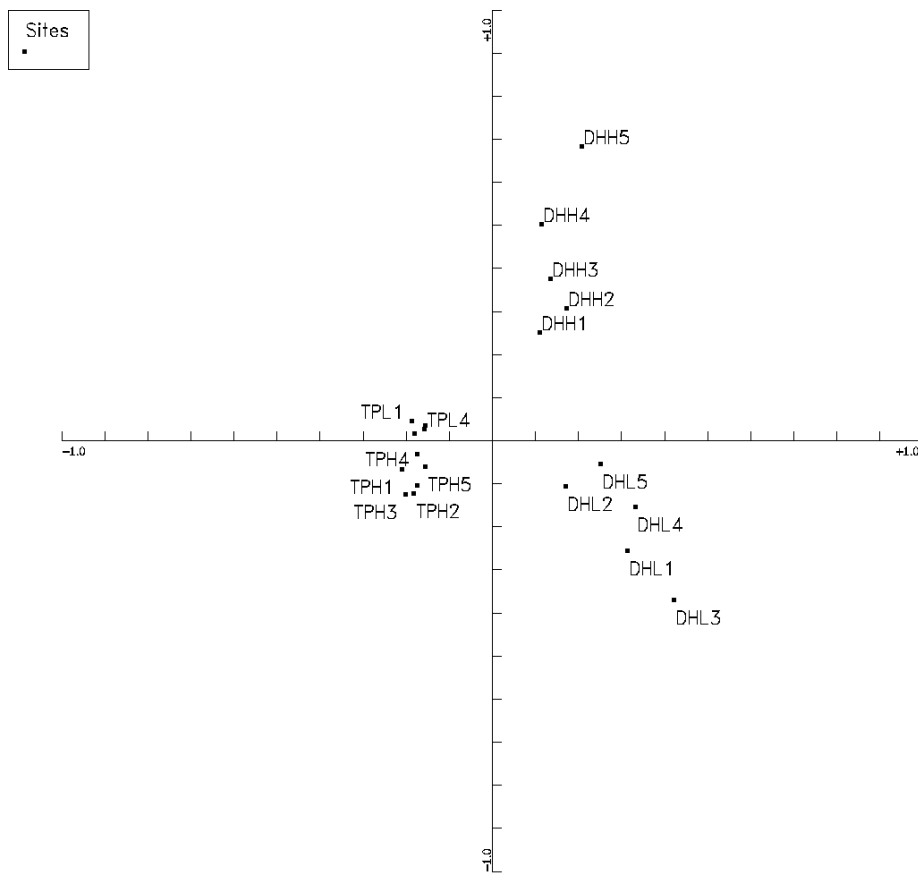
3 Onderzoek aan de vegetatie

3.1 Inleiding en methoden

Onderzoek aan de vegetatie was niet in het projectplan opgenomen, maar werd bij nader inzien wel van belang geacht. De soortensamenstelling van de vegetatie in de 20 plots in kalkrijke en kalkarme duinen met een laag of hoog organische stofgehalte is bepaald tijdens de bemonstering in mei 2011, in proefvlakken van 2 x 2 m rondom het middelpunt. De bedekking van kruidlaag en (korst)moslaag is visueel geschat, en de afzonderlijke hogere planten, mossen en korstmossen zijn genoteerd. De bovengrondse biomassa van de kruidlaag en de moslaag zijn bemonsterd in juli 2012, in proefvlakken van 25 x 25 cm. De bovengrondse biomassa is gedroogd en gewogen. Tevens is in iedere plot een bladmonster genomen van *Carex arenaria*, de enige soort die overal voorkomt. Het materiaal is gebruikt voor nutriëntanalyse, om te toetsen of N-gehalten en N:P ratios verschillen tussen kalkrijke en kalkarme locaties, en tussen locaties met veel of weinig OM. Het N-gehalte van de vegetatie is bepaald met een CNS-analysator. Het P-gehalte is bepaald aan de hand van een magnetrondestructie met HNO₃, en gemeten met een ICP. Voor de moslaag zijn de biomassa en de nutriëntgehalten gecorrigeerd voor de hoeveelheid zand die er tussen zat en die niet verwijderd kon worden. Verschillen tussen de locaties in soortensamenstelling zijn getoetst m.b.v. Canoco (Ter Braak 1986). Verschillen in biomassa en nutriëntgehalten zijn getoetst m.b.v. tweewegvariantieanalyse, met kalkrijkdom en organische stofgehalte als onafhankelijke factoren. Verschillen tussen individuele groepen zijn posthoc getoetst m.b.v. een LSmeans-test.

3.2 Resultaten en discussie

De kalkrijke en kalkarme plots verschillen duidelijk wat betreft soortensamenstelling (Figuur 3.1, Tabel 3.1). De kalkrijke en kalkarme plots worden langs de eerste as verdeeld in twee duidelijk verschillende groepen. Binnen de kalkrijke plots zijn de verschillen minder groot.



Figuur 3.1. Verdeling van de kalkrijke en kalkarme locaties met verschillend organische stofgehalte langs de eerste en tweede as van een correspondentieanalyse (ter Braak 1986). De eigenwaarden van de eerste en tweede as zijn respectievelijk 0.601 en 0.402.

Figure 3.1. Distribution of the lime rich and lime poor locations with different organic matter content along the first and second axis of a correspondence analysis (Ter Braak 1986). The eigenvalues of the first and second axis are 0.601 and 0.402, respectively.

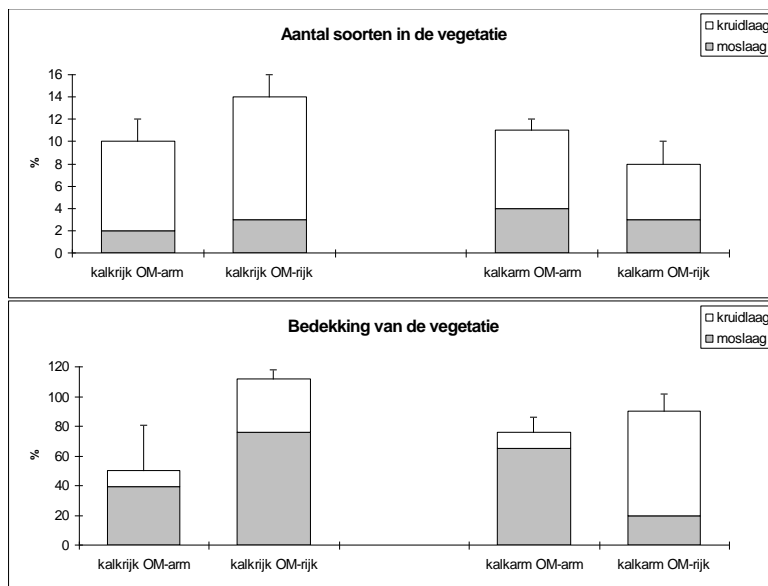
Binnen de kalkrijke plots worden de locaties met lage OM gekenmerkt door *Phleum arenarium*, een kleine grassoort die voorkomt op relatief kaal zand. Verder komen bij zowel lage als hoge OM soorten voor als *Sedum acre*, *Ononis repens*, *Erodium cicutarium* en het mos *Syntrichia ruralis*. In organische stofrijke locaties zijn vooral *Rubus caesius* en *Veronica arvensis* kenmerkend. Een beperkt aantal soorten komt in zowel kalkrijke als kalkarme locaties voor, maar *Carex arenaria* is de enige die bij zowel lage als hoge organische stofgehalten wordt aangetroffen. Soorten als *Cerastium semidecandrum* en *Cladonia foliacea* zijn in de kalkarme locaties beperkt tot relatief kale plekken met weinig organische stof, en een net nog iets hogere pH. Bij hoge organische stofgehalten zijn deze soorten vrijwel niet meer aanwezig. Verder zijn de kalkarme locaties vooral gekenmerkt door soorten die in de kalkrijke duinen niet voorkomen, zoals het rendiermos *Cladonia portentosa*. Op organische stofarme bodem zijn verder soorten als *Corynephorus canescens*, *Rumex acetosella* en het mos *Campylopus introflexus* aanwezig. Op organische stofrijke bodems komen vooral *Calamagrostis epigejos* en *Dicranum scoparium* voor.

Tabel 3.1. Soortensamenstelling van de vegetatie in kalkrijke en kalkarme plots met weinig of veel organische stof. De waarden geven het aantal keer dat een plant in een bepaalde groep is waargenomen (n = 5). Soorten die minder dan drie keer zijn waargenomen zijn niet in de tabel opgenomen.

Table 3.1. Species composition of the vegetation in lime rich and lime poor plots with low and high organic matter content. The values give the number of times that a plant has been observed in a specific group (n=5). Species that were observed less than three times have not been included in the table.

Plantensoort	TPL kalkrijk OM-arm	TPH kalkrijk OM-rijk	DHL kalkarm OM-arm	DHH kalkarm OM-rijk
– <i>Phleum arenarium</i>	4	-	-	-
<i>Sedum acre</i>	4	2	-	-
<i>Syntrichia ruralis</i>	4	3	-	-
<i>Erodium cicutarium</i>	5	5	-	-
<i>Ononis repens</i>	3	3	-	-
<i>Koeleria macrantha</i>	1	2	-	-
<i>Rubus caesius</i>	1	5	-	-
<i>Veronica arvensis</i>	-	5	-	-
<i>Cynoglossum officinale</i>	1	4	1	-
<i>Galium verum</i>	1	3	-	1
<i>Jacobea vulgaris</i>	1	5	-	1
<i>Viola curtisii</i>	2	4	2	-
<i>Cerastium semidecandrum</i>	4	5	4	-
<i>Cladonia foliacea</i>	4	4	5	1
<i>Hypnum cupressiforme</i>	1	5	1	4
<i>Carex arenaria</i>	5	5	5	5
<i>Festuca rubra</i>	4	-	-	5
<i>Luzula campestris</i>	-	3	-	3
<i>Calamagrostis epigejos</i>	-	-	1	3
<i>Dicranum scoparium</i>	-	-	1	3
<i>Hypochaeris radicata</i>	-	-	2	3
<i>Cladonia portentosa</i>	-	-	5	5
<i>Rumex acetosella</i>	-	-	5	1
<i>Corynephorus canescens</i>	-	-	5	1
<i>Campylopus introflexus</i>	-	-	5	-
<i>Aira praecox</i>	-	-	3	-

Het totaal aantal plantensoorten is significant hoger in de kalkrijke dan in de kalkarme plots (Figuur 3.2). Dat komt vooral door het aantal hogere planten. Het aantal soorten mos en korstmoss is juist relatief laag in de kalkrijke locaties. Binnen de kalkrijke locaties neemt het aantal soorten toe van laag naar hoog organische stofgehalte. Binnen de kalkarme locaties neemt het aantal soorten echter af, wat waarschijnlijk samenhangt met de hogere bedekking en hogere bovengrondse biomassa van de kruidlaag in locaties met een hoger organische stofgehalte.



Figuur 3.2. Het aantal plantensoorten en de bedekking van de kruidlaag en de (korst)moslaag in kalkrijke en kalkarme locaties met verschillend organische stofgehalte. De waarden zijn gemiddelden ($n = 5$) en standaarddeviaties.

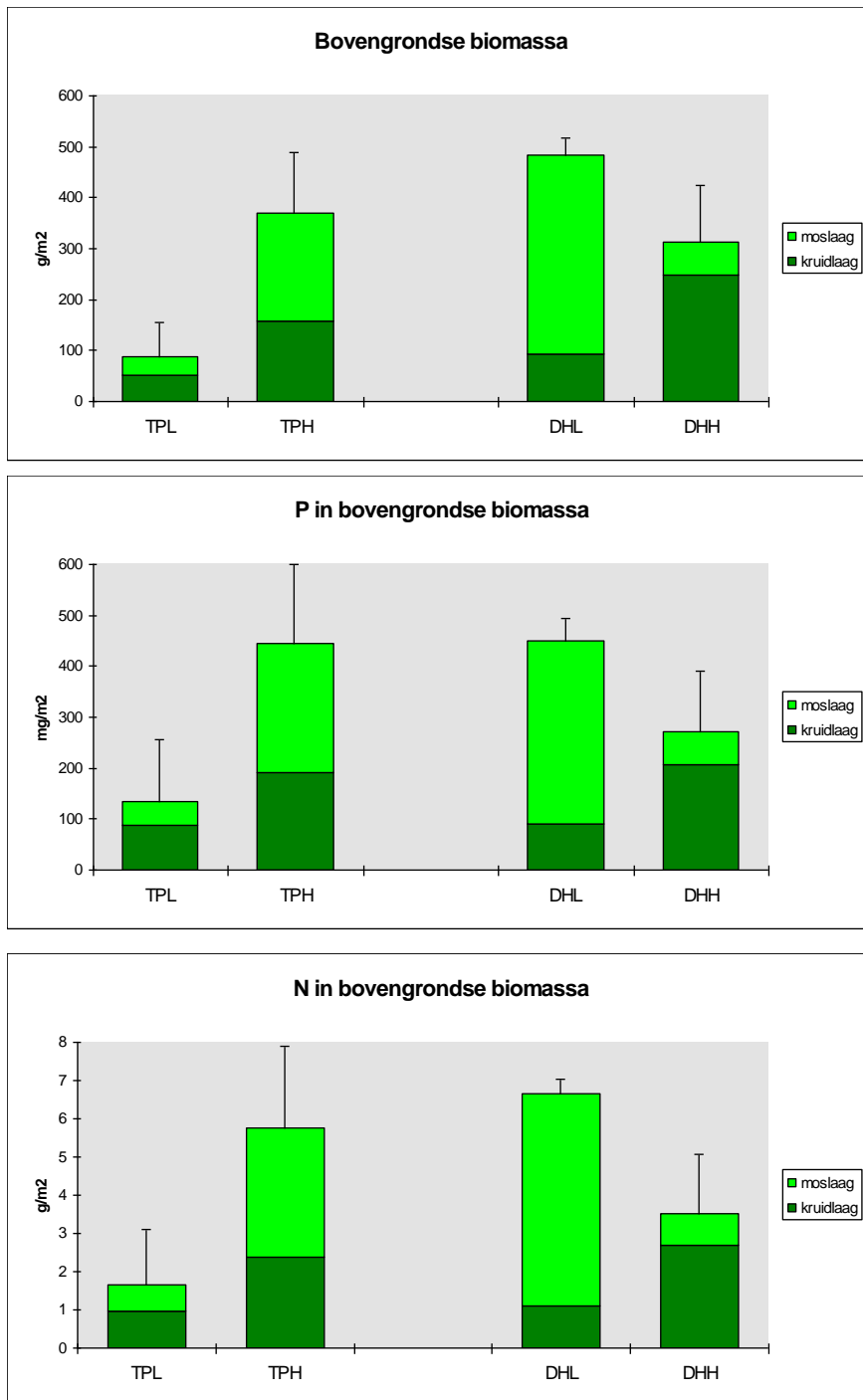
Figure 3.2. The number of plant species and % cover of the herb layer and moss layer (including lichen mats) at lime rich and lime poor locations with different organic matter contents. Averages ($n=5$) and standard deviations are given.

De bedekking van de kruidlaag is in de kalkrijke locaties in zijn algemeenheid significant lager dan in de kalkarme, maar vooral bij hogere organische stofgehalten. In beide duinzones neemt de bedekking wel toe van lage naar hoge OM. In de kalkrijke locaties neemt ook de bedekking van de moslaag langs de organische stofgradient toe. In kalkarme locaties, daarentegen, neemt de moslaag juist af bij hogere organische stofgehalten, waarschijnlijk als gevolg van de hoge kruidlaag, waardoor de lichtbeschikbaarheid op de bodem wordt beperkt. Deze trends in kruidlaag en moslaag zijn ook zichtbaar in de bovengrondse biomassa van beide lagen (Tabel 3.2, Figuur 3.3). De bovengrondse biomassa van de kruidlaag wordt vooral door OM beïnvloed, maar voor de moslaag speelt ook kalkrijkdom een rol. Daarnaast is er een sterk interactie-effect van kalk*OM, doordat de biomassa van de moslaag hoog is in zowel TPH als DHL. Door de grote rol van de moslaag is de totale hoeveelheid bovengrondse biomassa in DHL eigenlijk niet lager dan in TPH en DHH, in tegenstelling tot de kruidlaag. Wel is het zo dat de wortelbiomassa in DHL waarschijnlijk wel lager is dan in de andere twee locaties, als gevolg van de lage biomassa van de kruidlaag.

Tabel 3.2. Statistische analyse van de bovengrondse biomassa en nutriënten in de kruidlaag, moslaag en blaadjes van Zandzegge (*Carex arenaria*), met kalk en OM als onafhankelijke factoren. Significante effecten zijn weergegeven met de overschrijdingskans; ns = niet significant ($p < 0.05$).

Table 3.2. Statistical analysis of aboveground biomass and nutrients in the herb layer, moss layer and leaves of sand sedge (*Carex arenaria*), with lime and organic matter (OM) as independent factors. Significant effects are given by p values ($p < 0.05$). ns = not significant.

	kalk	OM	kalk*OM
Kruidlaag			
bovengrondse biomassa	ns	0.002	ns
N-concentratie (mg g^{-1})	0.0001	0.0007	ns
hoeveelheid N (g m^{-2})	ns	0.008	ns
P-concentratie (mg g^{-1})	0.0001	0.015	ns
hoeveelheid P (g m^{-2})	ns	0.008	ns
N:P ratio	ns	ns	ns
Moslaag			
bovengrondse biomassa	0.013	ns	0.0001
N-concentratie (mg g^{-1})	ns	ns	ns
hoeveelheid N (g m^{-2})	ns	ns	0.0001
P-concentratie (mg g^{-1})	ns	ns	ns
hoeveelheid P (g m^{-2})	ns	ns	0.0001
N:P ratio	ns	ns	ns
blaadjes van Zandzegge			
N-concentratie (mg g^{-1})	0.001	ns	ns
P-concentratie (mg g^{-1})	0.0004	0.024	ns
N:P ratio	0.0001	ns	ns



Figuur 3.3. Bovengrondse biomassa en hoeveelheden nutriënten in de kruidlaag en moslaag op kalkrijke en kalkarme duinbodems met lage en hoge OM in de Amsterdamse Waterleidingduinen. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. De waarden voor kruidlaag en moslaag zijn gemiddelden ($n = 5$). De standaarddeviatie is die van de totale biomassa en hoeveelheid N en P in de vegetatie.

Figure 3.3 Aboveground biomass and amount of nutrients in the herb layer and moss layer on lime rich and lime poor dune soils with low and high OM in the Amsterdamse Waterleidingduinen. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. The values for the herb layer and moss layer are averages ($n = 5$). The standard deviation is that of the total biomass and amounts of N and P in the vegetation.

De hoeveelheid N en P in de bovengrondse biomassa laat vergelijkbare patronen zien. In de kruidlaag hangt de hoeveelheid N en P in de vegetatie vooral samen met OM in de bodem, met relatief hoge waarden voor TPH en DHH, de bodems met hoge organische stofgehalten. In de moslaag vertonen vooral TPH en DHL een piek in de hoeveelheid N en P, als gevolg van de hoge mosbiomassa.

De nutrientconcentraties in het blad laten echter andere patronen zien (Tabel 3.3). In de moslaag is er wat betreft de concentratie aan N en P geen verschil tussen de vier locaties, in tegenstelling tot de totale hoeveelheid. In de kruidlaag en de blaadjes van Zandzegge (*Carex arenaria*) is de N-concentratie echter relatief hoog in de kalkrijke locaties, vooral in TPL. In deze kalkrijke locatie met lage OM ligt de N-concentratie rond de 18.8 mg g^{-1} . In TPH zijn de concentraties iets lager, mogelijk als gevolg van verdunning door de hogere biomassa. In kalkarme bodems zijn de N-concentraties in zowel kruidlaag als Zandzeggeblaadjes nog lager, en lopen in DHH af naar 10.6 mg g^{-1} .

Ook de P-concentratie in de vegetatie is hoger in kalkrijke bodems, tenminste in de kruidlaag. In de kruidlaag ligt de P-concentratie rond de 1.6 mg g^{-1} in TPL en 1.2 mg g^{-1} in TPH, terwijl deze afneemt naar $0.9\text{-}1.0 \text{ mg g}^{-1}$ in DHL en DHH. Omdat de N-concentratie echter vergelijkbare patronen vertoont, treden geen veranderingen op in de N:P ratio, die een indicator kan zijn voor de limitatie van N dan wel P (Koerselman & Meuleman 1996, Gusewell 2004). In de kruidlaag ligt de N:P ratio in alle locaties rond de 12-13, wat zou wijzen op N-limitatie. De blaadjes van Zandzegge laten echter heel andere dingen zien. In Zandzegge, de enige soort die in alle locaties en monsterpunten voorkomt, is de P-concentratie helemaal niet hoog in kalkrijke bodems. De P-concentraties zijn met waarden rond de 0.7 mg g^{-1} significant lager dan in kalkarme bodems, hoewel de concentraties in DHL en DHH net als in de kruidlaag ook niet boven de 1.0 mg g^{-1} uitkomen. In de kalkrijke duinen is de N:P ratio van Zandzegge dan ook veel hoger dan in de kruidlaag, en geeft met waarden boven de 20 duidelijke aanwijzingen voor P-limitatie. Hoe is deze discrepantie in N:P ratio's te verklaren? Uit eerder onderzoek kwam naar voren dat de P-beschikbaarheid in de kalkrijke duinen relatief laag was, door de fixatie in calciumfosfaat (Kooijman et al. 1998, Kooijman & Besse 2002). Veel planten zullen moeite hebben om voldoende P op te nemen, zoals Zandzegge. Andere planten hebben daar waarschijnlijk iets op gevonden, vooral degenen die aangepast zijn aan kalkrijke bodems. Soorten als Muurpeper, Zanddoddegras en Kruipeper zijn mogelijk in staat de calciumfosfaten op te lossen, bijvoorbeeld door de afscheiding van citroenzuur (Marschner 1995). Ook kan opname met behulp van mycorrhiza een rol spelen, die een soort als Zandzegge niet heeft. In dat geval kan niet P, maar N de beperkende factor zijn. In kalkarme bodems kan de P-beschikbaarheid in ijzerrijke bodems ook laag zijn, maar bij hogere organische stofgehalten treedt P-fixatie niet op, omdat de binding met Fe-OM complexen zwakker is dan die met ijzer alleen (Kooijman et al. 2009).

Tabel 3.3. N en P-concentraties en N:P ratio's in de kruidlaag, moslaag en blaadjes van Zandzegge (*Carex arenaria*) in kalkrijke en kalkarme bodems met lage en hoge OM in de Amsterdamse Waterleidingduinen. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. De waarden zijn gemiddelden ($n = 5$) en standaarddeviaties. Verschillende letters geven aan dat er voor een bepaalde vegetatiefractie voor een bepaalde parameter significante verschillen zijn binnen locaties.

Table 3.3. N and P concentrations and N:P ratio's in the herb layer, moss layer and leaves of sand sedge (*Carex arenaria*) in lime rich and lime poor soils with low and high OM in the Amsterdamse Waterleidingduinen. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. Averages and standard deviations are given ($n = 5$). Different letters indicate significant differences.

		TPL	TPH	DHL	DHH
N-concentratie (mg g^{-1})	kruidlaag	18.8 (1.7) c	15.4 (1.6) b	12.2 (0.6) a	10.6 (1.0) ^a
	moslaag	10.1 (6.2) a	12.3 (3.1) a	10.2 (0.7) a	9.6 (1.8) ^a
	Zandzegge	17.4 (3.0) b	15.7 (1.9) b	12.6 (0.5) a	14.0 (1.3) ^a
P-concentratie (mg g^{-1})	kruidlaag	1.6 (0.3) ^c	1.2 (0.1) ^b	1.0 (0.1) ^{ab}	0.9 (0.2) ^a
	moslaag	0.7 (0.5) ^a	0.9 (0.2) ^a	0.7 (0.1) ^a	0.7 (0.2) ^a
	Zandzegge	0.7 (0.1) ^a	0.7 (0.1) ^a	0.8 (0.1) ^a	1.0 (0.1) ^b
N:P ratio (g g^{-1})	kruidlaag	11.8 (1.7) a	12.5 (1.1) a	12.4 (1.8) a	12.7 (3.7) ^a
	moslaag	14.8 (1.0) a	13.7 (1.8) a	15.5 (2.1) a	14.6 (2.9) ^a
	Zandzegge	25.2 (4.0) b	21.7 (3.7) b	15.8 (1.6) a	14.7 (2.2) ^a

3.3 Conclusie

De soortensamenstelling van de vegetatie is duidelijk verschillend, vooral tussen kalkrijke en kalkarme bodems. De bovengrondse biomassa van de kruidlaag wordt niet zozeer door kalkrijkdom als door OM bepaald. Een ca. twee keer zo hoog organische stofgehalte lijkt samen te hangen met een meer dan twee keer zo grote bovengrondse biomassa in de kruidlaag. Ook de hoeveelheid N en P in de vegetatie neemt dan toe. In de moslaag, die geen wortels heeft en een minder duidelijke relatie met de bodem, spelen zowel kalkrijkdom als OM een rol. De hoogste mosbiomassa wordt gevonden in TPH, de locatie met kalkrijke bodem en hoge OM, en in DHL, de locatie met kalkarme bodem en lage OM. Dit heeft mogelijk meer met lichtbeschikbaarheid dan met N te maken. In DHH, de kalkarme locatie met hoge OM, is de kruidlaag te hoog en te dicht voor een goed-ontwikkelde moslaag. De relatief lage N:P ratio van de kruidlaag suggereert dat N een beperkende factor is. De P-beschikbaarheid is in kalkrijke bodem in theorie beperkt door de vorming van calciumfosfaat, maar de planten die zijn aangepast aan kalkrijke bodems zijn waarschijnlijk toch in staat hieruit P vrij te maken. Dat betekent dat ook in de kalkrijke duinen een extra hoeveelheid N kan leiden tot een hogere biomassa-productie.

4 Microbiologisch onderzoek

4.1 Inleiding en methoden

Het microbiologische onderzoek is uitgevoerd om te toetsen of de vier locaties TPL, TPH, DHL en DHH verschillen in microbiële gemeenschappen, met name wat betreft bacteriën en schimmels. Voor de analyses zijn de monsters van mei zowel als oktober gebruikt, maar alleen de PLFA-samenstelling is in beide series bepaald. PLFA's (PhosphoLipid-derived Fatty Acids) maken deel uit van de celmembraan van micro-organismen en worden gebruikt als biomarker voor bepaalde groepen bacteriën en schimmels. De PLFA-analyse is uitgevoerd in Amsterdam volgens standaardprocedures (Bloem et al. 2006). Er zijn in totaal 17 verschillende PLFA's gebruikt, waarvan één kenmerkend voor schimmels, elf kenmerkend voor bacteriën en vijf niet nader geïdentificeerde PLFA's.

De monsters van mei zijn verder gebruikt voor microscopische metingen van de bacteriële biomassa in Wageningen (Bloem et al. 1995). Ook de schimmel-biomassa is bepaald met behulp van microscopische metingen na kleuring met fluorescerende stoffen (Bloem & Vos, 2004). Naast de lengte van de hyphen is gekeken naar het percentage actieve en niet-actieve hyphen, en naar het percentage gekleurde en niet-gekleurde schimmels. Actief groeiende hyphen bevatten meer nucleïnezuren (DNA en RNA) die rood kleuren. Bij niet-actieve hyphen zien we alleen de blauw gekleurde polysacchariden in de celwand. Een deel van de schimmeldraden heeft echter bruin pigment (melanine) gevormd in de celwand, waardoor de blauwe kleurstof niet meer aan de polysacchariden kan binden. Dan zie je geelachtige of bruine niet-gekleurde schimmels. Dit wordt beschouwd als een aanpassing aan stressvolle omstandigheden zoals verontreiniging, droogte en UV straling. Naast de microscopische tellingen is ook gekeken naar de activiteit van bacteriën. Dit is gedaan door de inbouwsnelheid te meten van leucine, een aminozuur dat wordt gebruikt voor de eiwitsynthese, en van thymidine, dat wordt omgezet in thymine, een van de vier basen van het DNA. De inbouwsnelheid van leucine is een maat voor de bacteriële eiwitproductie (turnover en groei), en die van thymidine voor de DNA synthese, celdelingsactiviteit en dus de groeisnelheid van bacteriën (Michel & Bloem, 1993; Bloem & Bolhuis 2006).

De monsters van oktober zijn verder gebruikt voor de analyse van de totale hoeveelheid microbiële C en N met behulp van fumigatie-extractie (Jenkinson & Powlson 1976). Daarnaast is in de monsters van mei de potentieel mineraliseerbare stikstof (anaerobe mineralisatie) gemeten door incubatie van een grondmonster "in slurry", dus onder water, gedurende 1 week bij 40°C (Keeny & Nelson, 1982; Canali & Benedetti, 2006). Deze zuurstofarme omstandigheden zijn optimaal voor een snelle mineralisatie van organische stof door anaerobe bacteriën. De afwezigheid van zuurstof voorkomt omzetting van NH₄ in NO₃, waardoor er geen stikstof verloren kan gaan door denitrificatie. De hoeveelheid minerale stikstof (NH₄-N) die vrijkomt is een maat voor labiele stikstof. Mineraliseerbare N correleert vaak goed met de microbiële biomassa, en het is makkelijker te meten. Het omvat levende en dode biomassa en microbiële omzettingsproducten.

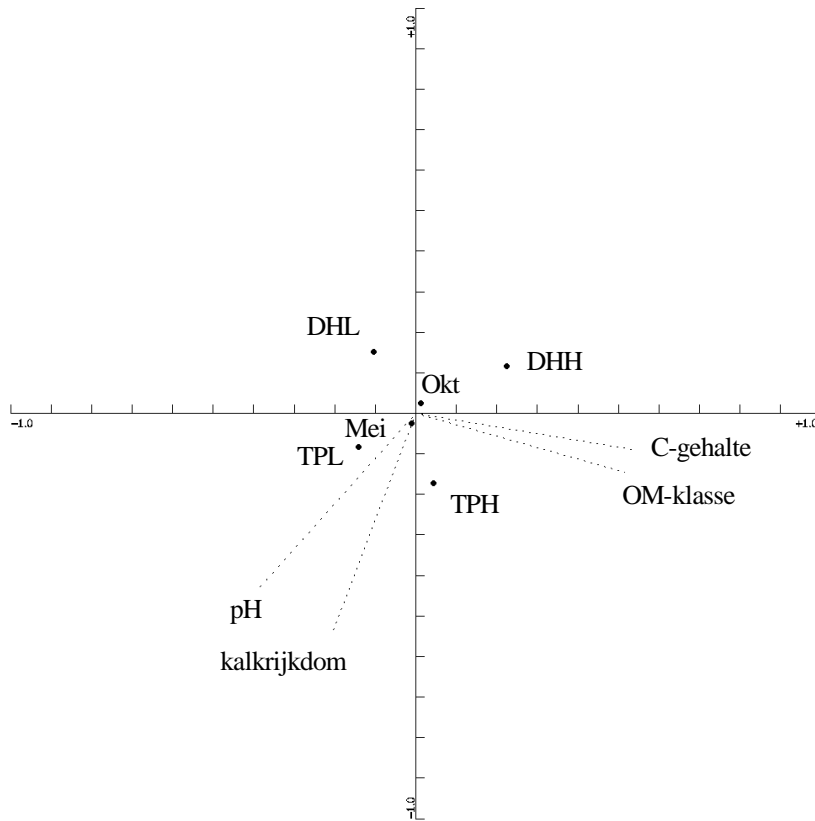
De verschillen tussen de vier locaties TPL, TPH, DHL en DHH in microbiële eigenschappen zijn in de meeste gevallen getoetst met tweewegvariantieanalyses, met kalkrijkdom en OM als onafhankelijke factoren. Alleen voor de PLFA-fracties zijn drieweg-Anova's gebruikt, met serie als derde onafhankelijke factor, om ook het eventuele verschil tussen bemonsteringsseries mee te nemen. Verschillen in samenstelling van de microbiële gemeenschap zijn getoetst met principale componentenanalyse (ter Braak 1986).

4.2 Resultaten en discussie

4.2.1 Microbiële biomassa

Omdat de microbiële eigenschappen zijn bepaald aan monsters van verschillende meetseries, is het belangrijk te toetsen of er grote verschillen tussen deze series zijn. Dat is niet het geval (Figuur 4.1). Een principale componentenanalyse (PCA) van de verschillende PLFA's laat zien dat er geen grote verschillen zijn in de samenstelling van de microbiële gemeenschap. De punten voor mei en oktober liggen dicht bij elkaar rond de oorsprong, wat aangeeft dat de gemiddelde samenstelling gelijk is. Wel zijn er verschillen in de samenstelling van de microbiële gemeenschap tussen de locaties. De variatie in PLFA's per m² op de eerste PCA-as hangt samen met de hoeveelheid organische stof. Voor de tweede PCA-as zijn vooral de kalkrijkdom en de pH van belang. De precieze verschillen in microbiële samenstelling worden in verderop in dit hoofdstuk behandeld bij de afzonderlijke bespreking van verschillen in bacteriën en schimmels. Wel is al duidelijk dat er ook veel overlap is in de microbiële gemeenschap. De eigenwaarden van een vergelijkbare correspondentie-analyse (CA) liggen een stuk lager dan die van de PCA, en zijn voor beide assen lager dan 0.1. Dit is een stuk lager dan de eigenwaarden voor de vegetatieanalyse, die voor de eerste en tweede CA-as respectievelijk 0.601 en 0.402 bedroegen.

Ook de totale hoeveelheid PLFA's verschilt niet significant tussen mei en oktober, hoewel er wat interactie-effecten zijn met kalkrijkdom en/of OM, met name voor de hoeveelheid per m² (Tabel 4.1, Figuur 4.2). De hoeveelheid PLFA's per g C in de bodem is voor alle vier locaties min of meer gelijk, met uitzondering van de waarden voor DHH in oktober, die significant hoger zijn. De totale hoeveelheid PLFA's per m² wordt wel beïnvloed door kalkrijkdom, maar met name door OM. De waarden zijn over het algemeen hoger in kalkarme bodems, maar vooral in bodems met hoge OM.



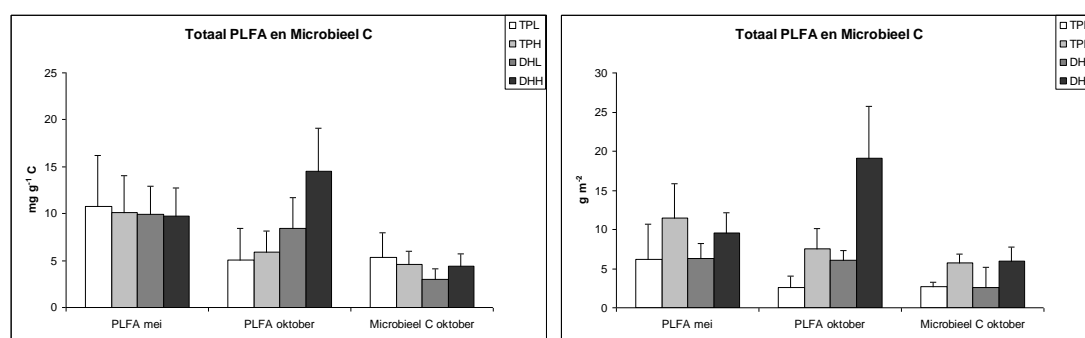
Figuur 4.1. PCA van de samenstelling van de microbiële gemeenschap in mei en oktober op basis van PLFA's in kalkrijke en kalkarme duinbodems met verschillend organische stofgehalte. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. De eigenwaarden van de eerste en tweede PCA-as zijn respectievelijk 0.761 en 0.114.

Figure 4.1. PCA of microbial community composition in May and October based on PLFAs in lime rich and lime poor dune soils with different organic matter content. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. The eigenvalues of the first and second PCA-axis are 0.761 and 0.114, respectively.

Tabel 4.1. Statistische analyse van de totale hoeveelheid PLFA in de bodemonmonsters van mei en oktober, met serie, kalkrijkdom en OM als onafhankelijke factoren. De gegeven waarden zijn overschrijdingskansen; ns = niet significant ($p > 0.05$).

Table 4.1. Statistical analysis of the total amount of PLFA in soil samples of May and October, with series, lime richness and OM as independent factors. Significant p values are given; ns = not significant ($p > 0.05$).

	serie	kalk	OM	serie* kalk	serie *OM	kalk *OM	serie *kalk*OM
totaal PLFA $\text{mg g}^{-1} \text{C}$	ns	ns	ns	0.012	ns	ns	ns
totaal PLFA g m^{-2}	ns	0.030	0.0001	0.007	0.047	ns	0.030



Figuur 4.2. De totale hoeveelheid PLFA's en microbieel C in kalkrijke en kalkarme duinbodems met verschillend organische stofgehalte. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. De waarden zijn gemiddelden ($n = 5$) en standaarddeviaties van verschillende meetseries. De waarden in de linkerfiguur zijn uitgedrukt per g C in de bodem, en de waarden in de rechterfiguur per m^2 .

Figure 4.2. Total amounts of PLFA and microbial C in lime rich and lime poor dune soils with different organic matter content. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. Averages ($n=5$) and standard deviations are given. Values are expressed per g soil C (left) and per m^2 (right).

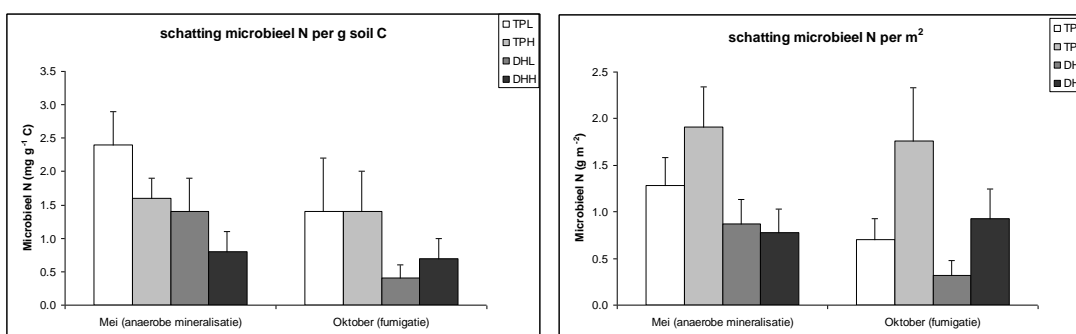
Ook de dichtheid aan microbieel C per g C in de bodem, gemeten in de oktobermonsters met de fumigatie-extractieprocedure, verschilt niet tussen kalkrijke en kalkarme bodems (Tabel 4.2). Per m^2 is er net als voor de PLFA's wel een verschil tussen bodems met lage en hoge OM. Dit is vooral het gevolg van het hogere organische stofgehalte. Er is echter ook per m^2 geen verschil tussen kalkrijke en kalkarme bodems in de totale hoeveelheid microbieel C.

Tabel 4.2. Statistische analyse van microbieel C en N in verschillende duinbodems, met kalkrijkdom en OM als onafhankelijke factoren. Significante effecten zijn weergegeven met behulp van de overschrijdingskans; ns = niet significant ($p < 0.05$).

Table 4.2. Statistical analysis of microbial C and N in different dune soils, with lime richness and OM as independent factors. Significant p values are given; ns = not significant ($p > 0.05$).

		kalk	OM	kalk*OM
Microbieel C fumigatie ($\text{mg g}^{-1} \text{ C}$)	okt	ns	ns	ns
Microbieel C fumigatie (g m^{-2})	okt	ns	0.0001	ns
Microbieel N anaerobe mineralisatie ($\text{mg g}^{-1} \text{ C}$)	mei	0.0002	0.002	ns
Microbieel N anaerobe mineralisatie (g m^{-2})	mei	0.0001	ns	0.022
Microbieel N fumigatie ($\text{mg g}^{-1} \text{ C}$)	okt	0.003	ns	ns
Microbieel N fumigatie (g m^{-2})	okt	0.0001	0.0001	ns
Microbiele C:N ratio fumigatie (g g^{-1})	okt	0.006	ns	ns

Microbieel N laat echter een duidelijk verschil zien tussen kalkrijke en kalkarme bodems (Figuur 4.3). De hoeveelheid Microbieel N is alleen echt gemeten met de fumigatie-extractieprocedure in oktober, maar de waarden van de kortdurende anaerobe incubatie bij hoge temperatuur, uitgevoerd in mei, zijn min of meer vergelijkbaar. De correlatie tussen beide methoden was significant voor zowel waarden per g C in de bodem als per m^2 , met R^2 -waarden van respectievelijk 0.19 en 0.37. Beide methoden laten zien echter dat kalkrijke bodems relatief veel microbieel of makkelijk vrijkomend N bevatten. Omdat microbieel N in tegenstelling tot microbieel C wel verschillend is tussen kalkrijke en kalkarme bodems, is ook de microbiële C:N ratio significant verschillend. In de kalkrijke duinen bedroeg de microbiële C:N ratio in de oktobermonsters gemiddeld 4.1 in TPL en 3.4 in TPH. In de kalkarme duinen was deze echter gemiddeld 9.7 in DHL en 7.0 in DHH.

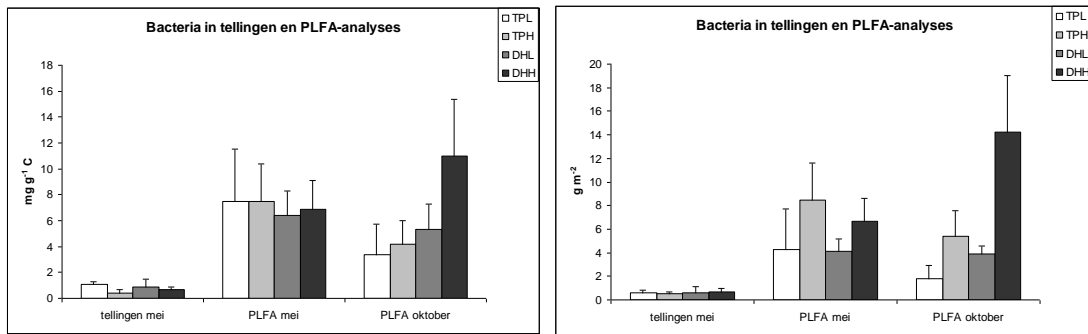


Figuur 4.3. Schatting van microbieel N via fumigatie-extractie (oktober) en via kortdurende anaerobe mineralisatie bij hoge temperatuur (mei) in kalkrijke en kalkarme duinbodems met verschillend organische stofgehalte. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. De waarden zijn gemiddelden ($n = 5$) en standaarddeviaties van verschillende meetseries. De waarden in de linkerfiguur zijn uitgedrukt per g C in de bodem, en de waarden in de rechterfiguur per m^2 .

Figure 4.3. Estimates of microbial N by fumigation-extraction (October) and by short term anaerobic mineralization at high temperature (May) in lime rich and lime poor dune soils with different organic matter content. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. Averages ($n=5$) and standard deviations are given. Values are expressed per g soil C (left) and per m^2 (right).

4.2.2 Bacteriën

De hoeveelheid bacteriën in de monsters is bepaald via microscopische tellingen en via de bacteriële PLFA's. De microscopisch bepaalde bacteriebiomassa was erg laag, en veel lager dan hoeveelheden bepaald via de PLFA-analyses (Figuur 4.4). Dit kan komen omdat onder de microscoop het aantal levende bacteriën wordt geteld, dat relatief laag kan zijn als gevolg van 'begrazing' door protozoa. In de PLFA-analyses doen de bacteriële PLFA-resten wel mee. Desalniettemin zijn er in de tellingen wel significante verschillen in de dichtheid van bacteriën per g C (Tabel 4.3). De dichtheid is groter in bodems met lage OM. Dit effect wordt echter per m² weer opgeheven, doordat het lagere organische stofgehalte per saldo ook leidt tot een lagere hoeveelheid bacteriën.



Figuur 4.4. De hoeveelheid bacteriën in kalkrijke en kalkarme bodems met verschillend organische stofgehalte, bepaald via microscopische tellingen in de monsters van mei en via PLFA-analyse in de monsters van mei en oktober. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. De waarden zijn gemiddelden ($n = 5$) en standaarddeviaties van verschillende meetseries. De waarden in de linkerfiguur zijn uitgedrukt per g C in de bodem, en de waarden in de rechterfiguur per m².

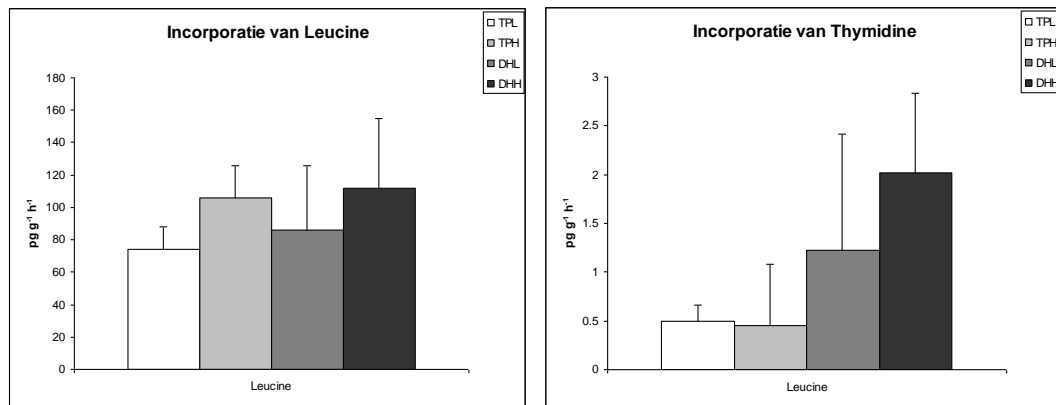
Figure 4.4. Amounts of bacteria in lime rich and lime poor soils with different amounts of organic matter, determined by microscopic counts in samples of May and by PLFA analysis in May and Oktober. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. Averages ($n=5$) and standard deviations are given. Values are expressed per g soil C (left) and per m² (right). Values are expressed per g soil C (left) and per m² (right).

Tabel 4.3. Statistische analyse van bacteriële eigenschappen in de bodemmonsters van mei, met kalkrijkdom en OM als onafhankelijke factoren.

Table 4.3. Statistical analysis of bacterial characteristics in soil samples of May, with lime richness and OM as independent factors.

	kalk	OM	kalk*OM
bacteria _{tellingen} (mg g ⁻¹ C)	ns	0.016	ns
bacteria _{tellingen} (g m ⁻²)	ns	ns	ns
Leucine incorporatie (pmol g ⁻¹ h ⁻¹)	ns	ns	ns
Thymidine incorporatie (pmol g ⁻¹ h ⁻¹)	0.006	ns	ns

In de meimonsters is ook de incorporatie van leucine en thymidine bepaald, als maat voor de bacteriële activiteit en groeisnelheid (Figuur 4.5). De incorporatie van leucine is niet verschillend tussen de locaties, en wordt kennelijk niet beïnvloed door kalkrijkdom of OM. De incorporatie van thymidine wordt echter wel beïnvloed door kalkrijkdom, hoewel tegengesteld aan de verwachtingen. In het algemeen remt een lage pH de DNA-synthese en de groeisnelheid (Bloem et al. 2006), waardoor in kalkarme bodems een lage thymidine-incorporatie verwacht werd. De incorporatiesnelheid en bacteriële groeisnelheid waren in kalkarme bodems echter hoger dan in kalkrijke bodems. Blijkbaar was er in de kalkarme duinbodems geen pH-stress, zelfs niet bij waarden van 3.8. Dit kan komen omdat de activiteit erg laag was, dan valt er ook niet veel te remmen door stress.



Figuur 4.5. Incorporatiesnelheid van het aminozuur leucine, als maat voor de eiwitsynthese en de bacteriële activiteit, en de DNA-precursor thymidine, als maat voor de bacteriële groeisnelheid, in verschillende duinbodems. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. De waarden zijn gemiddelden (n = 5) en standaarddeviaties van de meetserie in mei.

Figure 4.5. Incorporation rate of the amino acid leucine, as a measure of protein synthesis and bacterial activity, and the DNA-precursor thymidine, as a measure of bacterial growth rate, in different dune soils. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. Averages (n=5) and standard deviations are given of measurements in May.

De totale bacteriële biomassa, bepaald via de PLFA-analyse is echter niet verschillend tussen kalkrijke en kalkarme bodems (Tabel 4.4). De dichtheid aan bacteriën per g C is helemaal niet verschillend tussen de locaties, hoewel er wel hogere waarden voorkomen voor de totale bacteriële PLFA's in DHH in oktober. Maar Gram-positieve en negatieve bacteriën laten in alle locaties min of meer dezelfde dichtheid zien. Wat de overige bacteriële PLFA's betreft is er een klein interactie-effect tussen kalkrijkdom en OM, wat vooral gebaseerd is op hogere waarden in DHH in oktober. Per m² zijn alle bacteriële PLFA-fracties significant hoger in de bodems met hoge organische stofgehalten, zoals TPH en DHH. Er zijn echter ook een paar significante verschillen tussen kalkrijke en kalkarme bodems. Zo komen de PLFA's i-15:0, a-15:0, 17:0, cy17:0, cy19:0, 14:0, 16:0 en 18:0 meer voor in kalkarme dan in kalkrijke bodem (Tabel 4.5).

Tabel 4.4. Statistische analyse van bacteriële PLFA's in verschillende duinbodems, met meetserie, kalkrijkdom en OM als onafhankelijke factoren. De bodemmonsters zijn genomen in mei en oktober, in kalkrijke en kalkarme bodems met lage en hoge OM.

Table 4.4. Statistical analysis of bacterial PLFAs in different dune soils, with series (sampling month), lime richness and OM as independent factors. Soil samples were taken in May and October in lime rich and lime poor soils with low and high OM.

	serie	kalk	OM	serie *kalk	serie *OM	kalk *OM	serie *kalk*OM
totaal bacteria (mg g ⁻¹ C)	ns	ns	ns	ns	0.010	ns	ns
G+ bacteria (mg g ⁻¹ C)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
G- bacteria (mg g ⁻¹ C)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
andere bacteria (mg g ⁻¹ C)	ns	0.03	ns	ns	ns	0.045	ns
totaal bacteria g (mg m ⁻²)	ns	ns	0.0001	0.0008	0.043	ns	0.019
G+ bacteria (mg m ⁻²)	ns	ns	0.0001	0.009	ns	ns	0.022
G- bacteria (mg m ⁻²)	ns	ns	0.0001	0.004	ns	ns	0.015
andere bacteria (mg m ⁻²)	ns	0.0002	0.0001	0.005	ns	0.01	0.005
G+ bacteria (mg m ⁻²)							
i-15:0	ns	0.02	0.0001	0.01	ns	ns	0.0031
i-16:0	ns	ns	0.0001	0.049	ns	ns	ns
a-15:0	ns	0.043	0.0001	0.007	ns	ns	ns
i-17:0	ns	ns	0.0001	0.009	ns	ns	0.027
17:0	0.021	0.043	0.021	ns	ns	0.046	ns
G- bacteria (mg m ⁻²)							
16:1n7	ns	ns	0.002	0.005	ns	ns	0.030
cy19:0	ns	0.001	0.0001	0.003	ns	0.002	0.004
cy17:0	ns	0.016	0.0001	n0.03	ns	ns	0.016
andere bacteria (mg m ⁻²)							
14:0	0.035	0.018	0.0006	ns	ns	ns	ns
16:0	ns	0.0006	0.0002	0.006	ns	0.021	0.005
18:0	ns	0.0001	0.0001	0.002	ns	0.004	0.001

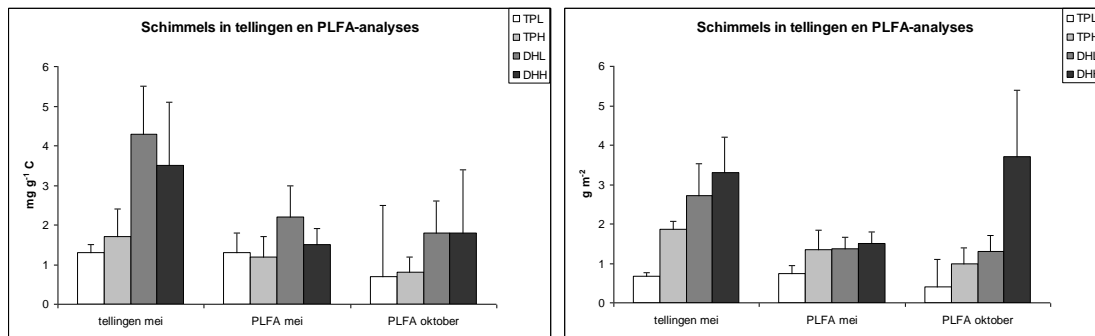
Tabel 4.5. De hoeveelheid bacteriële PLFA's in kalkrijk en kalkarme duinbodems met lage en hoge OM. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. De waarden zijn gemiddelden ($n = 10$) en standaarddeviaties van de meetseries in mei en oktober. Verschillende letters geven significante verschillen weer voor een bepaalde fractie tussen locaties.

Table 4.5. Amounts of bacterial PLFAs in lime rich and lime poor dune soils with low and high OM. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. Averages ($n=10$) and standard deviations are given of the series of May and October. Different letters indicate significant differences.

	TPL	TPH	DHL	DHH
<i>G+ bacteria (mg m⁻²)</i>				
i-15:0	413 (413) ^a	— 1026 (426) _b	644 (150) ^{ab}	1605 (789) ^c
i-16:0	198 (205) ^a	531 (242) ^b	244 (63) ^a	512 (198) ^b
a-15:0	291 (292) ^a	698 (317) ^b	460 (88) ^{ab}	1081 (639) ^c
i-17:0	158 (170) ^a	394 (189) ^b	163 (30) ^a	484 (259) ^b
17:0	28 (66) ^a	42 (89) ^a	36 (25) ^a	145 (142) ^c
Totaal G+ bacteria	1088 (1065) ^a	2691 (1109) ^b	1546 (312) ^a	3826 (1887) ^c
<i>G- bacteria (mg m⁻²)</i>				
16:1n7	1088 (1081) ^a	2090 (931) ^b	863 (177) ^a	1902 (1319) ^b
cy19:0 (Gmin2)	112 (175) ^a	555 (314) ^b	193 (58) ^a	1183 (618) ^c
cy17:0 (Gmin3)	73 (88) ^a	228 (123) ^b	123 (50) ^a	376 (158) ^c
Totaal G- bacteria	1273 (1342) ^a	2872 (1329) ^b	1179 (257) ^a	3461 (2076) ^b
<i>andere bacteria (mg m⁻²)</i>				
14:0	60 (47) ^a	103 (60) ^a	73 (30) ^a	213 (130) ^b
16:0	662 (502) ^a	1047 (456) ^a	999 (337) ^a	2045 (990) ^b
18:0	93 (55) ^a	229 (143) ^b	180 (57) ^b	492 (205) ^c
Totaal andere bacteria	815 (542) ^a	1378 (634) ^b	1252 (402) ^{ab}	2749 (1211) ^c

4.2.3 Schimmels

De schimmels in de microscopische tellingen en de PLFA-analyse komen beter overeen dan die voor de bacteriën (Figuur 4.6).



Figuur 4.6. De hoeveelheid schimmels in kalkrijke en kalkarme duinbodems met verschillend organische stofgehalte, bepaald via microscopische tellingen in de monsters van mei en via PLFA-analyse in de monsters van mei en oktober. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. De waarden zijn gemiddelden ($n = 5$) en standaarddeviaties van verschillende meetseries. De waarden in de linker figuur zijn uitgedrukt per g C in de bodem, en de waarden in de rechterfiguur per m^2 .

Figure 4.6. Amounts of fungi in lime rich and lime poor dune soils with different organic matter content, determined by microscopic counts in May and by PLFA analysis in May and October. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. Averages ($n=5$) and standard deviations are given. Values are expressed per g soil C (left) and per m^2 (right).

Tabel 4.6. Statistische analyse van microscopische tellingen van schimmels in de meimonsters van kalkrijke en kalkarme duinbodems met lage en hoge OM, met kalkrijkdom en OM als onafhankelijke factoren.

Table 4.6. Statistical analysis of microscopic counts of fungi in May samples of lime rich and lime poor dune soils with low and high OM, with lime richness and OM as independent factors.

		kalk	OM	kalk*OM
schimmels tellingen ($mg\ g^{-1}\ C$)	mei	0.0001	ns	ns
schimmels tellingen ($g\ m^{-2}$)	mei	0.0001	0.008	ns
percentage schimmels tellingen (% totaal F+B)	mei	0.006	0.007	0.008
onkleurbare schimmels tellingen (% totaal fungi)	mei	0.0001	ns	ns
actieve schimmels tellingen (% totaal fungi)	mei	ns	ns	ns

Tabel 4.7. Statistische analyse van schimmels bepaald met PLFA-analyse in de monsters van mei en oktober van kalkrijke en kalkarme duinbodems met lage en hoge OM, met meetserie, kalkrijkdom en OM als onafhankelijke factoren.

Table 4.7. Statistical analysis of fungal PLFA in May and Oktober samples of lime rich and lime poor dune soils with low and high OM, with series (month), lime richness and OM as independent factors.

	serie	kalk	OM	serie *kalk	serie *OM	kalk *OM	serie *kalk*OM
schimmels PLFA $mg\ g^{-1}\ C$	ns	0.02	ns	ns	ns	ns	ns
schimmels PLFA $g\ m^{-2}$	ns	0.0003	0.002	0.016	ns	ns	0.006
percentage schimmels (van totaal F+B)	ns	0.0001	0.01	ns	ns	ns	ns

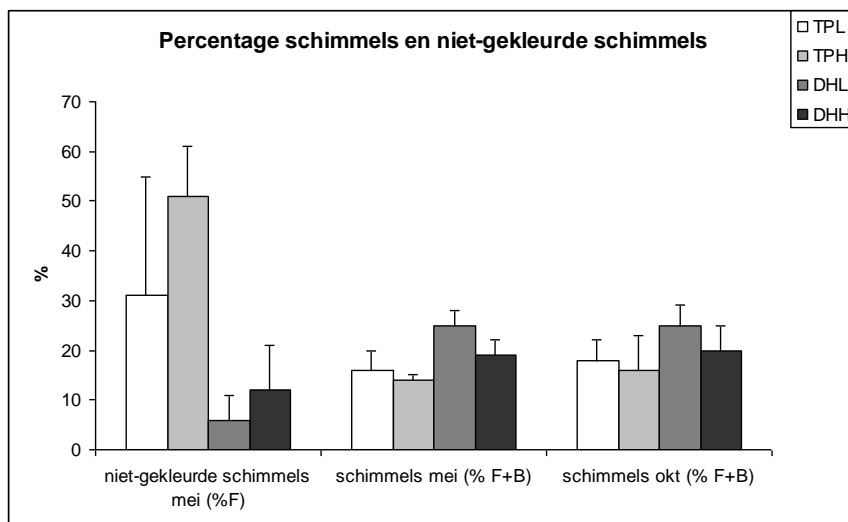
Geheel volgens de verwachting is de schimmelbiomassa in de microscopische tellingen in de monsters van mei significant hoger in kalkarme bodems dan in kalkrijke (Tabel 4.6). Volgens de tellingen is de hoeveelheid schimmels in TPL en TPH ca. 2.5 keer zo laag als in DHL en DHH. De schimmeldichtheid per g C wordt alleen door kalkrijkdom beïnvloed, maar de totale hoeveelheid schimmels per m² ook door OM. Bij hogere organische stofgehalten neemt de schimmelbiomassa toe.

In de PLFA-analyse zijn min of meer vergelijkbare patronen terug te vinden, hoewel de biomassawaarden lager liggen dan in de tellingen. Ook in de PLFA-analyse worden schimmels sterk bepaald door de kalkrijkdom, met hogere waarden in kalkarme bodem voor zowel de dichtheid per g C als de totale hoeveelheid per m². Per m² speelt ook OM een rol, met hogere waarden bij hogere organische stofgehalten. Maar net als voor bacteriën en de totale hoeveelheid PLFA zijn de waarden voor DHH in oktober erg hoog. Dat heeft vooral te maken met de hogere organische stofgehalten in deze monsters.

Het aandeel actieve schimmels is niet verschillend tussen de locaties, en varieert van 12-24%. Het aandeel van de melaninerijke niet-gekleurde schimmels wordt echter significant beïnvloed door kalkrijkdom. In kalkrijke bodems is het percentage niet-gekleurde schimmels in de totale schimmelbiomassa met 31-52% veel groter dan in kalkarme bodems, waar de waarden rond de 6-12% liggen. Dit heeft ook gevolgen voor de hoeveelheid niet-gekleurde schimmels per m². Ondanks de lage totale schimmelbiomassa is deze duidelijk hoger in TPH dan in de andere drie locaties.

Figuur 4.7. Percentage schimmels in kalkrijke en kalkarme duinbodems met lage en hoge OM. Links staat het percentage niet-gekleurde schimmels t.o.v. het totaal, gebaseerd op microscopische tellingen. In het midden en rechts staat het percentage schimmels t.o.v. het totaal aan schimmels en bacteriën, gebaseerd op de PLFA-analyse. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. De waarden zijn gemiddelden (n = 5) en standaarddeviaties van verschillende meetseries.

Figure 4.7. Fungi in lime rich and lime poor dune soils with low and high OM. Left: unstained fungi expressed as percentage of total fungi based on microscopic counts. Middle and right: fungal PLFA as percentage of the sum of fungal and bacterial PLFA in May and September. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. Averages (n=5) and standard deviations are given.



De verhouding tussen schimmels en bacteriën is op een iets andere manier berekend dan gebruikelijk is (Bloem et al. 2006). Meestal wordt de F:B ratio berekend door de hoeveelheid schimmels te delen door de hoeveelheid bacteriën. In dit onderzoek is de verhouding tussen schimmels en bacteriën echter gebaseerd op het totaal van de schimmels en bacteriën samen, en wordt deze uitgedrukt als het percentage van de schimmels t.o.v. het totaal. Dit is vooral gedaan op basis van de PLFA-analyse. Op basis van de tellingen, waarin de hoeveelheid bacteriën relatief laag is als gevolg van begrazing, zou het percentage schimmels oplopen van 53% in TPL tot 80-81% in de andere drie locaties. Op basis van de tellingen hebben kalkrijkdom en OM geen effect, maar op basis van de PLFA's wordt het percentage schimmels vooral beïnvloed door kalkrijkdom, en een beetje door OM. Het effect van kalkrijkdom heeft te maken met de duidelijk hogere schimmelbiomassa in de kalkarme bodems. Maar omdat ook bacteriën in kalkarme bodems relatief algemeen zijn, en in DHH soms zelfs hoger, is de variatie in het percentage schimmels toch relatief klein. In de vier locaties is het percentage schimmels op basis van de PLFA's voor zowel de mei- als de oktobermonsters ca 12-24%. Het hoogste percentage schimmels komt voor in DHL, met name omdat de hoeveelheid bacteriën vergeleken met de andere kalkarme locatie DHH relatief laag is.

4.3 Conclusie

De statistische analyses van de PLFA's laten zien dat er vrijwel geen significante verschillen zijn tussen de bodemmonsters uit mei en oktober, en dat beide series een goed beeld geven van de microbiële samenstelling in de vier locaties. De totale microbiële massa, gemeten met fumigatie extractie, wordt niet door kalkrijkdom beïnvloed, maar is per m² wel hoger in de bodems met hoge organische stofgehalten. Microbieel N is daarentegen significant hoger in kalkrijke bodems, en de microbiële C:N ratio lager. De grotere hoeveelheid microbieel N is niet direct toe te schrijven aan een hogere bacteriële biomassa. In tegenstelling tot de verwachting is de bacteriële biomassa niet hoger in kalkrijke dan in kalkarme bodems. De verschillen zijn niet significant, al zijn de waarden in oktober hoger in de kalkarme locatie DHH. De kalkrijkdom beïnvloedt wel de samenstelling van de bacteriële gemeenschap, maar alle bacteriële PLFA's met significante effecten van kalkrijkdom hebben hogere waarden in de kalkarme bodems. De schimmelbiomassa gedraagt zich wel volgens verwachting. Deze is significant hoger in kalkarme dan in kalkrijke bodems. Ook zijn er relatief veel niet-gekleurde, melaninerijke schimmels in de kalkrijke locaties, wat mogelijk wijst op stress. De verschillen in F:B ratio tussen de locaties zijn echter lager dan verwacht, doordat de schimmelbiomassa op basis van zowel tellingen als PLFA's wel hoger is in de kalkarme bodems, maar de hoeveelheid bacteriën niet lager.

5 Onderzoek aan micro- en mesofauna

5.1 Inleiding en methoden

Het onderzoek aan de bodemfauna is ingezet om verschillende groepen protozoa en microarthropoden te kwantificeren, en daarmee hun aandeel in de N-immobilisatie van de bodem te bepalen. Daarnaast wordt voor de microarthropoden onderscheid gemaakt in voedselgildes, om hun rol in het bodemvoedselweb van de duinen beter te begrijpen.

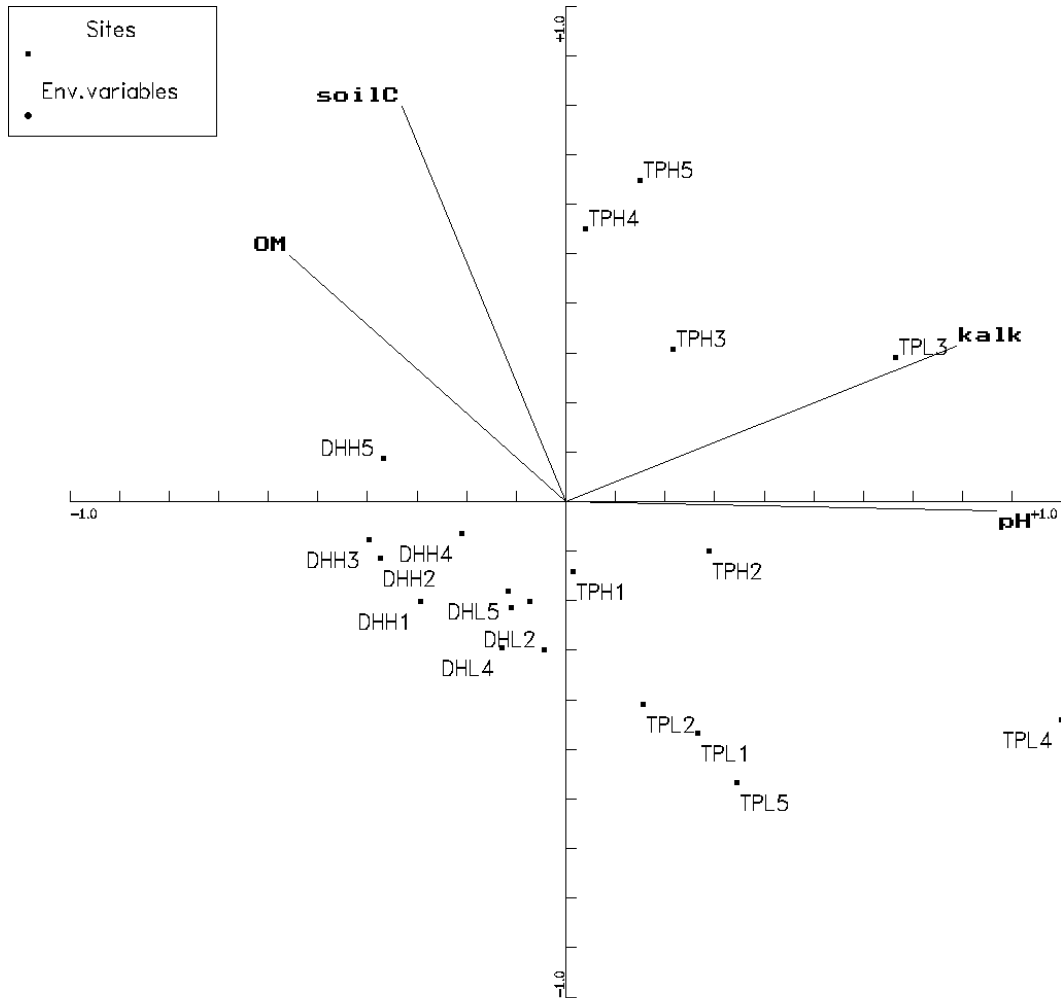
Protozoa, tegenwoordig ook wel protisten genoemd, zijn de belangrijkste bacterivoren. Ze hebben kleine afmetingen maar komen in grote aantallen voor, waardoor de biomassa aanzienlijk kan zijn. Ook kunnen ze bijna net zo snel groeien als hun prooi. Amoeben kruipen in de waterfilm over de gronddeeltjes en vormen pseudopodia, een soort uitstulpingen, waarmee ze hun prooi omgeven en in de cel opnemen (fagocytose). Flagellaten hebben één of meer zweepdraden waarmee ze zwemmen in de waterfilm, en bacteriën naar de mondholte brengen. Nematoden kunnen ook een rol spelen bij de begrazing van bacteriën en schimmels, maar we verwachtten een groter effect van protozoa dan van nematoden, en het budget was niet toereikend om ook deze te bepalen. De protozoa (amoeben en flagellaten) zijn microscopisch geteld in serieel verdunde bodemextracten met de most probable number methode (Bloem et al. 1994, Rønn et al. 1995).

Microarthropoden zijn wel bepaald omdat die schimmels eten, en er bovendien een grote diversiteit en verschillende voedingstrategieën te onderscheiden is. Voor de microarthropoden is onderscheid gemaakt tussen 65 verschillende taxa: 55 voor mijten en 10 voor springstaarten. Niet alle groepen konden tot het soortniveau worden gedetermineerd, en de taxa omvatten zowel individuele soorten, genera als families. De mijten en springstaarten zijn verder verdeeld in een tien verschillende voedselgildes: herbivoren (grazers en browsers), fungivoren (grazers en browsers), predatoren (van arthropoden, nematoden en algemeen) en opportunisten (omnivoren, herbofungivore grazers en herbofungivore opportunisten). Microarthropoden zijn geëxtraheerd gedurende een week in een Tullgren apparaat en bepaald via de gel gebaseerde sub-sample methode (Jagers op Akkerhuis et al. 2008).

Verschillen in samenstelling van de mesofaunagemeenschap zijn getoetst met Correspondentie-Analyse (ter Braak 1986) en Twinspan (Hill 1979). Verschillen in aantallen protozoa en microarthropoden zijn getoetst met tweewegvariantieanalyse, met kalk en OM als onafhankelijke factoren. Verschillen tussen de vier locaties zijn post hoc getoetst met LSmeans testen. Dezelfde werkwijze is toegepast voor de voedselgilden.

5.2 Resultaten

Net als voor de soortensamenstelling van de vegetatie, en in mindere mate die van de microbiële gemeenschap, wordt de samenstelling van de mesofauna beïnvloed door kalkrijkdom en OM (Figuur 5.1). De variatie langs de eerste CA-as wordt vooral bepaald door de kalkrijkdom en de pH, terwijl OM en het organische stofgehalte sterke correlaties hebben met de tweede as.



Figuur 5.1. Correspondentieanalyse voor springstaarten en mijten, uitgevoerd met Canoco (ter Braak 1986). De eigenwaarden van de eerste en tweede CA-as waren respectievelijk 0.305 en 0.225; de species-environment correlaties waren respectievelijk 0.922 en 0.891

Figure 5.1. Correspondence analysis of springtail and mite data, performed by Canoco (Ter Braak 1986). The eigenvalues of the first and second CA-axis were 0.305 and 0.225, respectively; species-environment correlations were 0.922 and 0.891 respectively.

Tabel 5.1. Twinspan tabel van mijten en springstaarten in kalkrijke en kalkarme duinen met lage en hoge organische stofgehalten. Twinspan (Hill 1979) is uitgevoerd met standaardopties, maar met cut levels van 0, 1000, 5000, 10.000 en 50.000 individuen. M1-M55 zijn verschillende taxa van mijten; S1-S10 zijn verschillende taxa van springstaarten. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. De vetgedrukte soorten zijn indicatorsoorten voor een bepaalde splitsing.

Table 5.1. Twinspan table of mites and springtails in lime rich and lime poor dunes with low and high organic matter contents. Twinspan (Hill 1979) was performed with standard options, but with cut levels of 0, 1000, 5000, 10.000 and 50.000 individuals. M1-M55 are different mite taxa; S1-S10 are different springtail taxa. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. Species printed in bold are indicator species for a specific split.

	DDDDD	TTTTT	DDDDD	TTTTT	
	HHHHH	PPPPP	HHHHH	PPPPP	
	HHHHH	HHHHH	LLLLL	LLLLL	
	31245	34512	15234	31245	
M8 Carabodes marginatus	-2---	-----	-----	-----	000000
M11 Eriophyidae	---22	-----	-----	-----	000000
M13 Eupelops plicatus	----1	-----	-----	-----	000000
M19 Latilamellobates incisellus	-2--1	-----	-----	-----	000000
M26 Nothrus borussicus	--2--	-----	-----	-----	000000
M31 Pergamasus	--2--	-----	-----	-----	000000
M34 Pseudoparasitus	---2-	-----	-----	-----	000000
M51 Tyrophagus similis	-2-2-	-----	-----	-----	000000
M54 Zercoseius spathuliger	--32-	-----	-----	-----	000000
S2 Entomobrya nivalis	-2221	1----	-----	-----	000000
S3 Isotoma	-22-2	-----	-----	-----	000000
S4 Lepidocyrtus cyaneus	---2-	-----	-----	-----	000000
S5 Lepidocyrtus lignorum	----1	-----	-----	-----	000000
M39 Scutacarus	32222	-----	-----	-----	000001
M3 Asca bicornis	2-222	-2---	-----	-----	000010
M17 Hypoaspis aculeifer	2--22	1----	-----	-----	000010
M32 Platynothrus peltifer	2---2	-----	-----	-----	000010
S9 Sminthurus viridis	22---	-----	-----	-----	000010
M5 Bimichaelia	2----	-----	-----	-----	000011
M18 Hypoaspis miles	3---1	-----	-----	-----	000011
M42 Siteroptes	2----	-----	-----	-----	000011
M52 Uropoda minima	2----	-----	-----	-----	000011
S1 Cyphoderus albinus	2---1	-----	-----	-----	000011
M27 Oppiella nova	2-2--	-2---	-----	-----	0001
M37 Rhagidia	2-2-1	-2---	-----	-----	0001
S7 Pseudisotoma sensibilis	--2-1	-2---	-----	-----	0001
M15 Eupodidae	-----	--2--	-----	-----	00100
M38 Rhysotritia ardua	-----	--2--	-----	-----	00100
M41 Sellnickochthonius immaculatus	-----	--3--	-----	-----	00100
S8 Sminthuridae	-----	2----	-----	-----	00100
M12 Erythraeidae	---21	-22--	-----	-----	00101
M23 Microppia minus	2-2-2	222--	-----	-----	00101
M6 Brachychthoniidae	22221	23---	-----	2----	0011
M10 Cunaxidae	2-22-	2-2-1	-----	1----	0011
M22 Liochthonius lapponicus	---22	-33--	-----	1----	0011
M45 Tarsonemus	22-21	-232-	-----	-1---	0011
M16 Hypoaspis	-----	-22--	-----	1----	0100
M1 Amblyseius	2----	-2221	-----	-----	0101
M47 Tetranychidae	-----	2-22-	-----	-----	0101
M48 Trhypochthonius tectorum	2--22	23222	---1-	-----	0101
M53 Zercon triangularis	-2---	22-2-	-----	-----	0101
M14 Eupodes	-3223	24---	2----	21---	0110
M20 Leioseius bicolor	--22-	12---	--1--	1--2-	0110
M30 Peloptulus phaenotus	-222-	13--2	-1---	-----	0110
M46 Tectocephus velatus	43443	33222	111--	2----	0110
M35 Pygmephorus	22--1	-----	1----	---1-	0111
M4 Bdella	22221	243-2	11111	2----	100
M7 Brachychthonius berlesei	-----	2----	-----	1----	100
S10 Xenylla	2-242	34323	11111	3----	100
M25 Nanorchestes	44442	23322	--111	12234	101
M44 Stigmaeidae	32222	2--21	--111	1--21	101
M49 Tydeidae	44243	34233	43314	3-312	1100
M9 Cryptognathidae	-----	12-21	-----	1--1-	11010
M21 Liochthonius	-----	1---2	-----	-----	11010
M24 Microtydeus	44454	44454	43434	34445	11011
M28 Paratydeidae	2-322	-2-21	11222	2221-	11011
M43 Speleorchestes	----1	--22-	-1-1-	-----	11011
M33 Pseudocheylidae	-----	1-2-2	-----	3---2	1110
M50 Tyrophagus	-----	44223	212--	42242	1110
S6 Paratullbergia callipygos	-----	122-3	-----	31-43	1110
M2 Anystidae	-----	----1	-----	---12	11110
M36 Raphignathidae	-----	-----	-----	2----	11110
M40 Scutovertex minutus	-----	-----	-----	-2233	11110
M55 Zygoribatula knighti	-----	-----	-----	---1-	11110
M29 Passalozetes perforatus	-----	---22	-----	-----	11111
	00000	00011	11111	11111	
	00000	11100	00000	11111	

De samenstelling van de mesofauna laat een keurige verdeling over de vier locaties zien, hoewel TPH1 en TPH2 door Twinspan in eerste instantie in een andere hoofdgroep werden geplaatst (Figuur 5.1). Het hoogste aantal taxa komt voor in bodems met hoge OM, zoals TPH en vooral DHH. Het gemiddeld aantal taxa in bodems met hoge OM varieert van 22-25, maar ongeveer 40% van de taxa komt vooral voor in DHH, de kalkarme locatie. In de bodems met lage OM is het aantal taxa veel lager, en is gemiddeld maar 9-11. Soorten die wel voorkomen zijn vooral algemene soorten, die ook bij hogere organische stofgehalten aanwezig zijn. Zo'n 12% van de taxa lijkt kenmerkend voor kalkrijke bodems. Hiervan komen maar vier taxa uitsluitend voor bij lage OM, waaronder *Scutovertex minutus*, een mijtensoorst die in rusttoestand gaat bij extreme droogte (Smrz 2002).

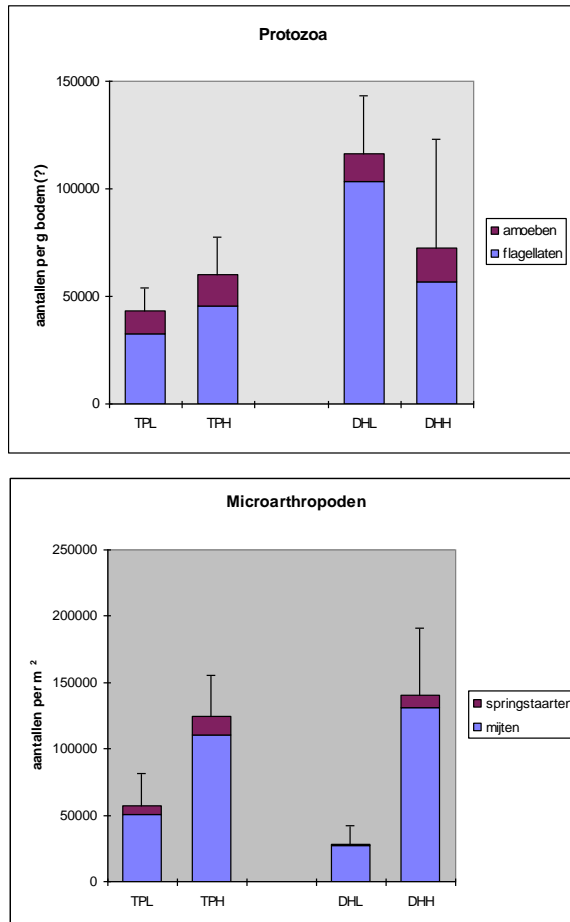
De aantallen organismen in de bodem worden deels door kalkrijkdom bepaald, en deels door OM (Tabel 5.2). Voor de protozoa lijkt vooral kalkrijkdom van belang, maar de resultaten zijn tegengesteld aan de verwachting. De verwachting was dat de voedselketen in kalkrijke bodems vooral gekenmerkt zou worden door bacteriën en protozoa, en die in kalkarme bodems vooral door schimmels en microarthropoden. In kalkrijke bodems komen beduidend lagere aantallen flagellaten voor, hoewel amoeben niet verschillend zijn (Figuur 5.2). Ook voor hun voedsel, de bacteriën vonden we dit patroon. Deze resultaten zijn dus wel consistent, alleen anders dan verwacht. De hoeveelheid en groeisnelheid van bacteriën was in kalkrijke bodems vergelijkbaar of lager dan in kalkarme bodem (zie hoofdstuk 4). De protozoa zijn vooral hoog in DHL, de kalkarme locatie met lage OM, met name wat betreft flagellaten.

Tabel 5.2. Statistische analyse van groepen bodemfauna met kalkrijkdom en organische stofgehalte als onafhankelijke factoren. Significante effecten zijn weergegeven met behulp van de overschrijdingskans; ns = niet significant ($p < 0.05$).

Table 5.2. Statistical analysis of soil fauna groups with lime richness and organic matter as independent factors. Significant p values are given; ns = not significant ($p > 0.05$).

	kalk	OM	kalk*OM
Protozoa totaal	0.007	ns	0.042
amoeben	ns	ns	ns
flagellaten	0.005	ns	0.033
Microarthropoden totaal	ns	0.0001	ns
mijten	ns	0.0001	ns
springstaarten	ns	0.009	ns

Ook de aantallen microarthropoden gedragen zich niet geheel volgens verwachting. Kalkrijkdom speelt geen rol bij het totale aantal mijten en springstaarten, en alleen het organische stofgehalte lijkt belangrijk. Bij hogere organische stofgehalten komen hogere aantallen mesofauna voor. Het aantal mijten en springstaarten is opvallend laag in DHL, de kalkarme bodem met lage OM, zeker vergeleken met de kalkrijke TPL. In hoeverre dit te wijten is aan de combinatie van een laag organische stofgehalte en de lage pH, is niet duidelijk, hoewel de pH met waarden van 5.0-5.3 niet eens zo laag is.



Figuur 5.2. Aantallen protozoa (amoeben en flagellaten) en microarthropoden (mijten en springstaarten) in kalkrijke en kalkarme duinbodems met verschillend gehalte aan organische stof. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM.

Figure 5.2. Numbers of protozoa (amoebae and flagellates) and microarthropods (mites and springtails) in lime rich and lime poor dune soils with different organic matter content. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM.

Ook bij de verschillende voedselgildes is OM in de meeste gevallen belangrijker dan kalkrijkdom (Tabel 5.3). De herbivore mijten en springstaarten zijn veel talrijker in de bodems met hoge OM (Figuur 5.3). Dat geldt voor zowel browsers als grazers, hoewel de grazers een duidelijke dip laten zien in de kalkarme DHL vergeleken met de kalkrijke TPL. Bij de schimmelende mijten en springstaarten speelt ook de kalkrijkdom een rol, maar min of meer tegengesteld aan de verwachtingen. Gezien de grotere hoeveelheid schimmels in de kalkarme duinen zouden ook hogere aantallen schimmelende mesofauna worden verwacht. Dat is niet het geval. Schimmelende mijten en springstaarten komen juist meer voor in kalkrijke duinen, met name de fungivore browsers.

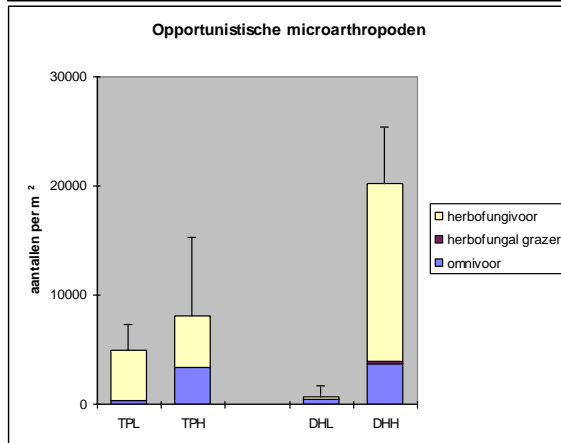
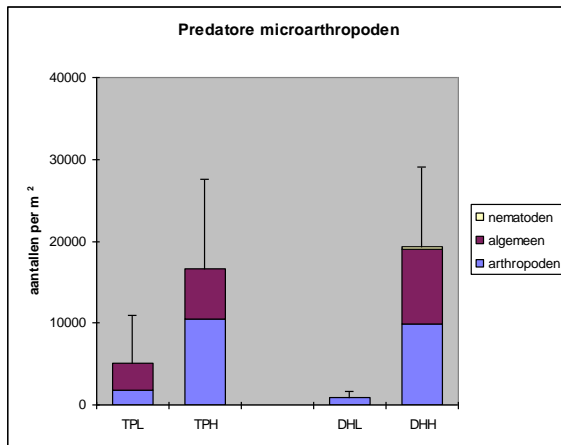
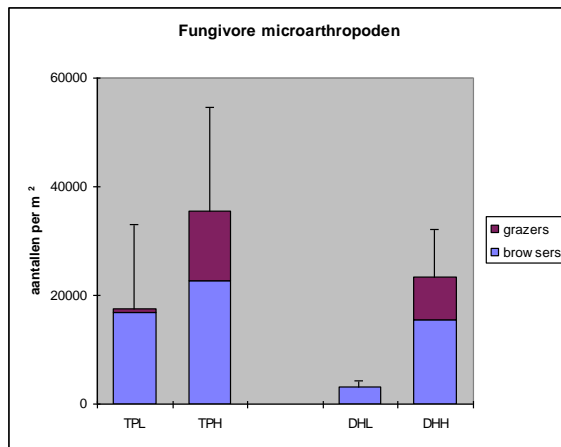
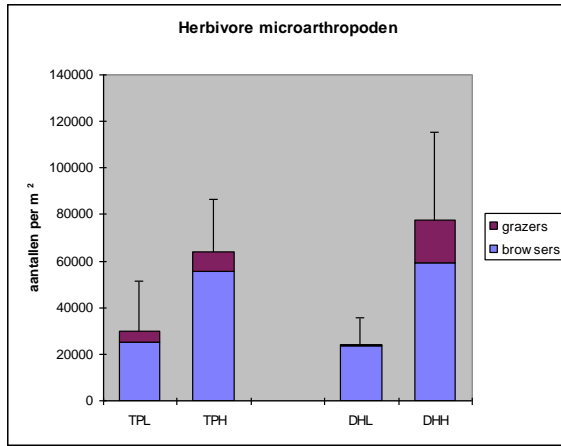
De fungivore grazers, die door hun afscheiding van chitinase een belangrijke rol kunnen spelen bij het vrijmaken van N, worden echter alleen door OM beïnvloed, en vertonen (veel) hogere aantallen bij hoge OM.

Tabel 5.3. Statistische analyse van de aantallen individuen binnen een bepaald voedselgilde binnen de mesofauna, met kalkrijkdom en organische stofgehalte als onafhankelijke factoren. Significante effecten zijn weergegeven met behulp van de overschrijdingskans; ns = niet significant ($p < 0.05$).

Table 5.3. Statistical analysis of numbers of individuals in a specific feeding guild of mesofauna, with lime richness and organic matter content as independent factors. Significant p values are given; ns = not significant ($p > 0.05$).

	kalk	OM	kalk*OM
Herbivoren totaal	ns	0.001	ns
herbivore grazer (G15)	ns	0.0006	ns
herbivore browser (G14)	ns	0.004	ns
Fungivoren totaal	0.038	0.005	ns
fungivore grazer (G8)	ns	0.0003	ns
fungivore browser (G7)	0.031	ns	ns
Predatoren totaal	ns	0.0006	ns
predator arthropoden (G2)	ns	0.0007	ns
algemeen (G9)	ns	0.002	ns
predator nematoden (G21)	ns	ns	ns
Opportunisten totaal	ns	0.0001	0.001
omnivoor (24)	ns	0.047	ns
herbofungivore grazer (G17)	ns	ns	ns
opportunistische herbofungivoor (G25)	0.033	0.0001	0.0001

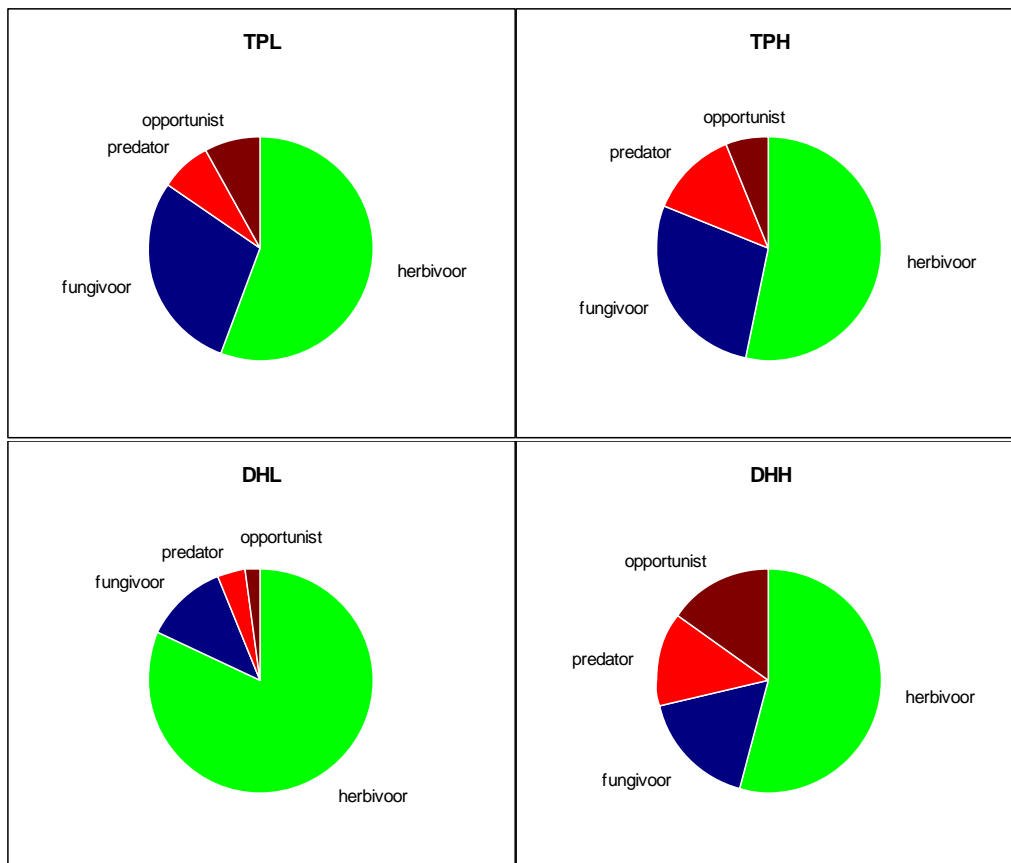
Ook predatoren komen vooral voor in bodems met hoge OM. Opvallend is verder het kleine aantal predatoren in DHL, de kalkarme locatie met lage OM. Predatoren van nematoden zijn nauwelijks aangetroffen, wat suggereert dat nematoden, die niet in het onderzoek zijn meegenomen, in duinbodems inderdaad minder belangrijk zijn. Ook opportunisten komen meer voor bij hoge dan bij lage OM. Hetzelfde geldt voor de subgroepen omnivoren en herbofungivore grazers. Alleen herbofungivore opptunisten zijn ook beïnvloed door kalkrijkdom, met name door de piek in DHH. Ook voor opportunisten is opvallend dat ze bijna niet voorkomen in DHL.



Figuur 5.3. De verdeling van mijten en springstaarten over verschillende voedselgildes in verschillende duinbodems in de Amsterdamse Waterleidingduinen. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM.

Fig. 5.3. Distribution of mites and springtails over different feeding guilds in different dune soils in the Amsterdamse Waterleidingduinen. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM.

De verschillen in aantallen mesofauna tussen de locaties hebben invloed op de verdeling van voedselgildes over het voedselweb (Figuur 5.4). De indeling op basis van aantallen is niet helemaal vergelijkbaar met een indeling gebaseerd op biomassa, omdat niet alle taxa even groot zijn, maar geven wel een beeld van de mogelijke verschillen tussen locaties. Herbivoren zijn met waarden > 50% het dominante voedselgilde in alle vier de locaties, maar vooral in DHL, waar het aandeel 82% bedraagt. Fungivoren nemen met 28-29% een relatief groot aandeel in in de beide kalkrijke bodems. In kalkarme bodems is de bijdrage maar 12-17%. Predatoren zijn vooral belangrijk in OM-rijke bodems, waar hun aandeel 13-14% bedraagt. In bodems met lage organische stofgehalten is de ontwikkeling van de voedselketen nog niet goed op gang gekomen, en maken predatoren maar 4-7% van het totale aantal mijten en springstaarten in het voedselweb uit. Opportunisten spelen nergens een grote rol, behalve in DHH, waar het aandeel toeneemt tot 15%.



Figuur 5.4. Verdeling van de voedselgildes voor mijten en springstaarten over verschillende dungebieden. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM.

Figure 5.4. Distribution of feeding guilds of mites and springtails in different dune areas. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM.

5.3 Conclusie

De samenstelling van de mesofauna wordt sterk beïnvloed door zowel kalkrijkdom als OM. Een klein aantal taxa is kenmerkend voor kalkrijke bodems, maar de meeste komen in zowel kalkrijke als kalkarme bodems voor. Voor een hoge diversiteit lijken oudere bodems met hoge organische stofgehalten noodzakelijk. De diversiteit in mijten en springstaarten is bij lage OM minstens twee keer zo laag dan bij hoge OM, waarschijnlijk vooral door lage aantallen predatoren. Taxa die al wel voorkomen bij lage OM zijn relatief algemeen en komen ook in de OM-rijke locaties voor. In het voedselweb gedragen diverse groepen zich anders dan verwacht, met name wat betreft kalkrijkdom. De bacterie-etende protozoa werden verwacht in kalkrijke bodems talrijker te zijn dan in kalkarme bodems, maar zijn dat niet. Het aantal flagellaten is juist significant hoger in kalkarme bodems, vooral in DHL, hoewel deze minder belangrijk zijn dan amoeben. Amoeben zijn minder talrijk, maar hebben een 2-3 grotere diameter dan flagellaten, waardoor hun biomassa 5-10 maal zo groot is. Het grote aantal protozoa is wel consistent met de lage waarden en geringe verschillen in de bacterietellingen, en de gemiddeld hogere groeisnelheid (thymidine inbouw) van de bacteriën in de kalkarme bodems. Ook het totaal aantal microarthropoden is niet hoger in kalkarme dan kalkrijke bodems, maar gelijk. Daarnaast is het aantal schimmeleeters niet hoger in kalkarme bodems met hoge schimmelbiomassa, maar juist lager. Wat betreft OM zijn de patronen in voedselgildes meer volgens verwachting, met toenemende aantallen herbivoren, fungivoren, opportunisten en predatoren bij hogere organische stofgehalten, en een relatieve toename van het aandeel predatoren.

6 Respiratie en N-mineralisatie

6.1 Inleiding en methoden

De respiratie en netto N-mineralisatie zijn gemeten om een indruk te krijgen van verschillen tussen de vier locaties in de microbiële activiteit, maar ook in de hoeveelheid N die potentieel beschikbaar komt voor de vegetatie. De potentiële respiratie en netto N-mineralisatie zijn gemeten m.b.v. een incubatieproef van vier-zes weken, onder vochtige en relatief warme condities in het laboratorium, met zowel de monsters van mei als oktober. Wel zijn voor de meting van de respiratie in mei en oktober twee verschillende methoden gebruikt. In Wageningen is de respiratie in de meimonsters gemeten aan de hand van het zuurstofverbruik tijdens de zesweekse incubatieperiode. In Amsterdam is de respiratie in de oktobermonsters gedurende vier weken gemeten m.b.v. een respicond, waarin de cumulatieve hoeveelheid CO₂ over de incubatieperiode is bepaald door de afname van de EGV (electrisch geleidingsvermogen) in een KOH-oplossing als gevolg van de vorming van K₂CO₃ (Nordgren 1988). Gelukkig blijken de resultaten van de twee methoden aardig overeen te komen. De netto N-mineralisatie gedurende de incubatieperiode is bepaald door aan het begin en aan het eind bodemmonsters te extraheren met een lichte zoutoplossing, zoals 0.05 M K₂SO₄, en in de extracten de hoeveelheid nitraat, ammonium en DON te meten met behulp van een Skalar autoanalyzer. In de meimonsters van Wageningen zijn de meetresultaten gebaseerd op een replica per bodemmonster, maar in de oktobermonsters van Amsterdam zijn drie replica's per monster gebruikt, mede gezien het lange termijnexperiment met toediening van gelabeld N (zie hoofdstuk 7). De resultaten van de drie replica's zijn gemiddeld om de variatie te verminderen, en de meetwaarden terug te brengen tot een waarde per bemonsteringspunt. Bij respiratie en netto N-mineralisatie zijn niet alleen de directe gegevens gebruikt, maar is ook gekeken naar de relatieve respiratie en N-mineralisatie per eenheid microbiële massa of activiteit. Daarnaast zijn de bruto N-mineralisatie en de microbiële immobilisatie gemodelleerd aan de hand van de gemeten waarden voor respiratie, netto N-mineralisatie en de C:N ratio's van de bodem en de micro-organismen (Kooijman et al. 2008). Voor de microbiële C:N ratio zijn in beide series de gemiddelde waarden per locatie uit de fumigatie-extractie gebruikt, om de variatie hierin te reduceren. De gemodelleerde bruto mineralisatie en immobilisatie geven een grove schatting van de werkelijkheid, en mogen alleen in vergelijkende zin worden gebruikt, maar geven in het algemeen wel een beeld van de mogelijke verschillen tussen locaties (Mettrop et al. 2013). Bij aanvang van het onderzoek werd gedacht dat kortdurende, anaerobe incubatie bij hoge temperatuur ook een maat zou zijn voor de bruto N-mineralisatie. De resultaten vertoonden echter geen enkele correlatie met de gemodelleerde bruto N-mineralisatie, maar gaven waarschijnlijk wel een goede schatting van de hoeveelheid microbieel N. De mogelijke invloed van kalkrijkdom en OM op respiratie en N-mineralisatie zijn getoetst met een tweeweg- of driewegvariantieanalyse, met kalkrijkdom en OM en, indien van toepassing, ook meetserie als onafhankelijke factoren. De verschillen tussen de vier locaties zijn post hoc getoetst met LSmeans tests. Daarnaast zijn correlaties berekend tussen de netto N-mineralisatie en verschillende eigenschappen van de bodem, de microbiële gemeenschap en de bovengrondse biomassa.

6.2 Resultaten en discussie

6.2.1 Respiratie, netto N-mineralisatie, bruto N-mineralisatie en immobilisatie

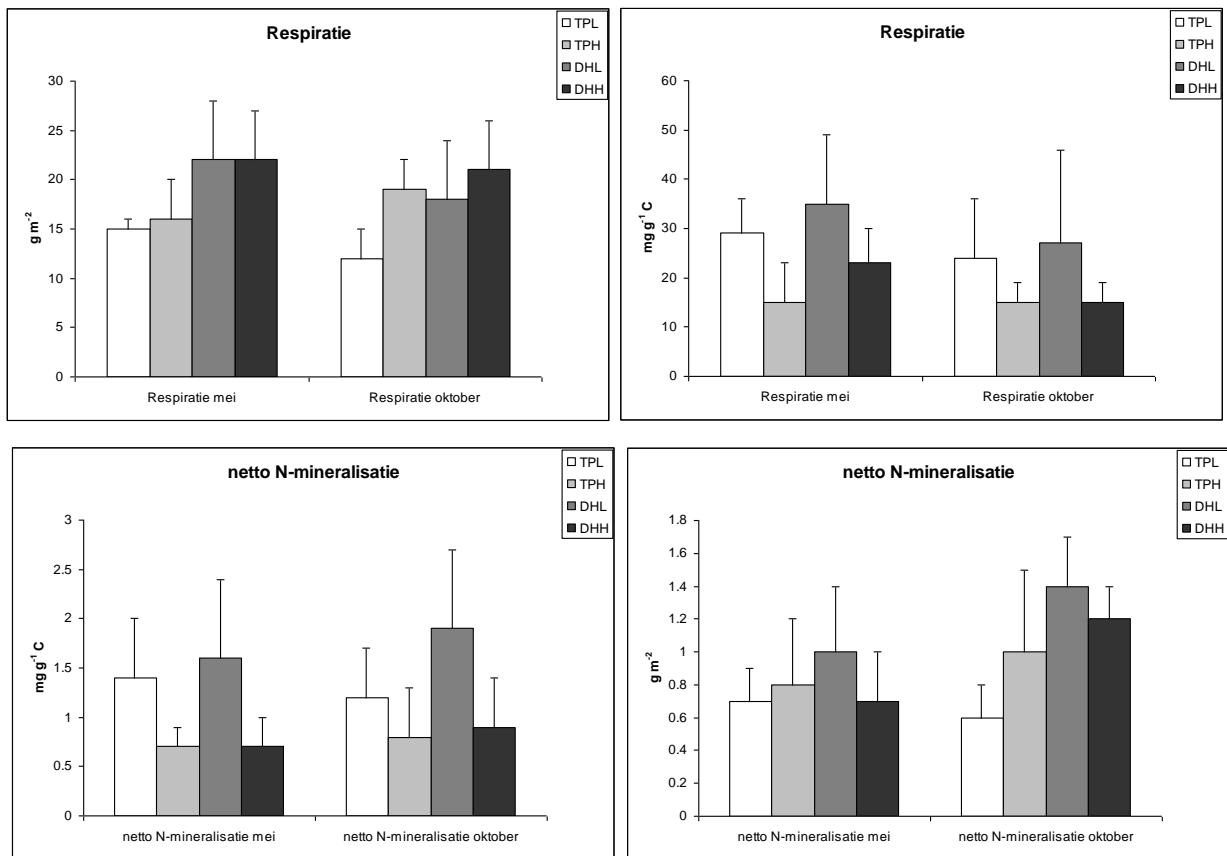
De twee meetseries van mei en oktober laten in de respiratie geen significante verschillen zien (Tabel 6.1, Figuur 6.1). De respiratie wordt echter wel beïnvloed door kalkrijkdom en OM. De respiratiesnelheid per g C varieert vooral met OM, en laat relatieve hoge waarden zien bij hoge organische stofgehalten. Per m² valt het OM-effect echter weg, doordat de lagere waarden per g C in bodems met hoge OM gecompenseerd worden door het hogere organische stofgehalte. Per m² wordt de respiratie echter wel beïnvloed door kalkrijkdom, maar in tegenstelling tot de verwachting met significant hogere waarden voor kalkarme bodems. Volgens verwachting zou de biologische activiteit hoger zijn in kalkrijke bodems (o.a. Kooijman et al. 2008), maar dat is kennelijk niet het geval.

De netto N-mineralisatie voldoet beter aan de verwachtingen. Wel zijn er per m² significante verschillen tussen de monsters van mei en oktober, met iets hogere waarden in het najaar dan in het voorjaar. Ook is de mineralisatiesnelheid per g C, net als voor respiratie, hoger in bodems met lage OM, hoewel dit effect wegvalt per m². Maar de netto N-mineralisatie per m² laat volgens verwachting significant hogere waarden zien in kalkarme dan in kalkrijke bodems.

Tabel 6.1. Statistische analyse van de respiratie en netto N-mineralisatie in de bodemonsters van mei en oktober in verschillende duinbodems, met meetserie, kalkrijkdom en OM als onafhankelijke factoren. Respiratie en netto N-mineralisatie zijn gemeten in een vierweeks incubatie-experiment onder laboratoriumcondities. Significante effecten zijn weergegeven met behulp van de overschrijdingskans; ns = niet significant ($p < 0.05$).

Table 6.1. Statistical analysis of respiration and net N mineralization in the soil samples of May and October in different dune soils, with series (month), lime richness and OM as independent factors. Respiration and net N mineralization were measured by a 4 week incubation experiment under laboratory conditions. Significant p values are given; ns = not significant ($p > 0.05$).

	serie	kalk	OM	serie* kalk	serie* OM	kalk* OM	serie* kalk*OM
Respiratie mg g ⁻¹ C	ns	ns	0.001	ns	ns	ns	ns
Respiratie g m ⁻²	ns	0.0009	ns	ns	ns	ns	ns
netto N-mineralisatie mg g ⁻¹ C	ns	ns	0.0003	ns	ns	ns	ns
netto N-mineralisatie g m ⁻²	0.026	0.009	ns	ns	ns	0.014	ns



Figuur 6.1. Respiratie en netto N-mineralisatie in een vierweeks incubatie-experiment in kalkrijke en kalkarme duinbodems met lage en hoge OM, gemeten in de monsters van mei en oktober. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. De waarden zijn gemiddelden (n = 5) en standaarddeviaties van verschillende meetseries. De waarden in de linkerfiguur zijn uitgedrukt per g C in de bodem, en de waarden in de rechterfiguur per m².

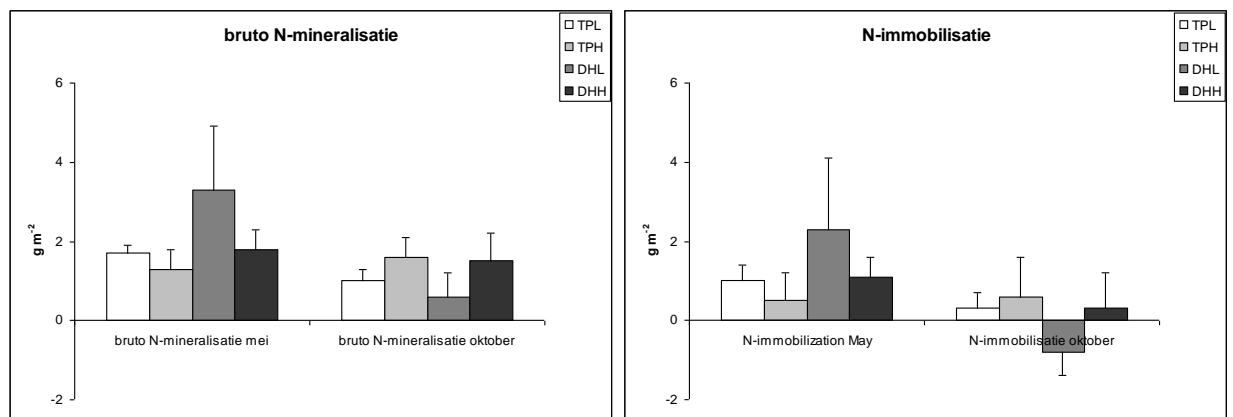
Figure 6.1. Respiration and net N mineralization in a four week incubation experiment with lime rich and lime poor dune soils with low and high OM, measured in the May and October samples. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. Averages (n=5) and standard deviations are given. Values are expressed per g soil C (left) and per m² (right).

Wel zijn de verschillen relatief klein, en treden ze vooral op in de oktobermonsters. De lage netto N-mineralisatie in kalkrijke bodems zou volgens de verwachting vooral toegeschreven moeten worden aan een hoge microbiële immobilisatie. Vooral in een bacterierijke bodem zou de immobilisatie relatief hoog zou zijn, ondanks een hoge brutomineralisatie. Dit wordt echter door de gemiddelde bruto N-mineralisatie en immobilisatie niet ondersteund (Tabel 6.2, Figuur 6.2). Kalkrijke bodems vertoonden geen hoge brutomineralisatie en immobilisatie, en kalkarme maar ten dele een lage. De bruto N-mineralisatie en microbiële immobilisatie lijken vooral te verschillen tussen mei en oktober, met hogere waarden voor het voorjaar, toen de netto N-mineralisatie relatief laag was. Mogelijk heeft dit te maken met een hoge microbiële activiteit in het voorjaar, die na de koude winterperiode weer op gang moet komen. In zo'n periode is waarschijnlijk vooral sprake van opbouw en groei van de microbiële populatie, waarbij een groot deel van de vrijgemaakte C en N door de micro-organismen zelf wordt opgenomen. Mogelijk is dit effect versterkt doordat de oktobermonsters een paar weken langer in de koelcel bewaard zijn dan de meimonsters. In het najaar was de netto mineralisatie significant hoger, vooral in kalkarme bodems, en lijken de bruto mineralisatie en immobilisatie gedaald vergeleken met het voorjaar.

Tabel 6.2. Statistische analyse van de gemodelleerde bruto N-mineralisatie en de microbiële immobilisatie in verschillende duinbodems, met meetserie, kalkrijkdom en OM als onafhankelijke factoren. De waarden zijn gebaseerd op een vierweeks incubatie-experiment onder laboratoriumcondities in de bodemonsters van mei en oktober. De schattingen van de bruto N-mineralisatie en immobilisatie zijn gebaseerd op de gemeten waarden voor de respiratie, de netto N-mineralisatie en de C:N ratio's van de bodem en de micro-organismen, en berekend volgens Kooijman et al. (2008). Significante effecten zijn weergegeven met behulp van de overschrijdingskans; ns = niet significant ($p < 0.05$).

Table 6.2. Statistical analysis of the modelled gross N mineralization and microbial immobilization in different dune soils, with series (month), lime richness and OM as independent factors. The values are based on a four week incubation experiment under laboratory conditions with soil samples of May and October. The estimates of gross N mineralization and immobilization are based on measured values of respiration, net N mineralization and C/N ratios of the soil and the microorganisms, and calculated according to Kooijman et al. (2008). Significant p values are given; ns = not significant ($p > 0.05$).

	serie	kalk	OM	serie *kalk	serie *OM	kalk *OM	serie *kalk*OM
Bruto N-mineralisatie (g m^{-2})	0.0008	ns	ns	0.008	0.001	ns	ns
Immobilisatie (g m^{-2})	0.0004	ns	ns	0.006	0.010	ns	ns



Figuur 6.2. Gemodelleerde bruto N-mineralisatie en microbiële immobilisatie in een vierweeks incubatie-experiment onder laboratoriumcondities in de bodemonsters van mei en oktober. De schattingen van de bruto N-mineralisatie en immobilisatie zijn gebaseerd op de gemeten waarden voor de respiratie, de netto N-mineralisatie en de C:N ratio's van de bodem en de micro-organismen, en berekend volgens Kooijman et al. (2008). TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. De waarden zijn gemiddelden ($n = 10$) en standaarddeviaties van verschillende meetseries.

Figure 6.2. Modelled gross N mineralization and microbial immobilization in a four week incubation experiment under laboratory conditions with the soil samples of May and October. The estimates of gross N mineralization and immobilization are based on measured values of respiration, net N mineralization and C/N ratios of the soil and the microorganisms, and calculated according to Kooijman et al. (2008). TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. Averages ($n=10$) and standard deviations are given.

In het najaar lijken de verwachte patronen in brutomineralisatie en immobilisatie wel min of meer op te treden. De hoge netto N-mineralisatie in DHL, de kalkarme locatie met lage OM, gaat gepaard met een lage, zelfs negatieve immobilisatie, wat suggereert dat N wordt vrijgemaakt uit de microbiële populatie, die meer schimmels bevat dan in andere locaties. In DHH, de kalkarme locatie met hoge OM, lijkt de hoge netto N-mineralisatie echter vooral het gevolg van hoge microbiële activiteit, wat mogelijk samenhangt met de hoge bacteriële massa in deze bodemmonsters. Het lijkt dus mogelijk de afzonderlijke patronen in netto N-mineralisatie te verklaren met behulp van schattingen van brutomineralisatie en immobilisatie. Het is echter duidelijk dat het oorspronkelijke idee dat kalkrijke bodems een relatief lage netto N-mineralisatie zouden hebben, doordat hoge microbiële activiteit (respiratie) gepaard gaat met hoge microbiële immobilisatie, niet opgaat. De netto N-mineralisatie is in kalkrijke bodems wel significant lager dan in kalkarme bodems, maar de respiratie is dat ook. Ook zijn de microbiële massa en de hoeveelheid bacteriën in kalkrijke bodems niet hoger dan in kalkarme bodems, en is de bacteriële groeisnelheid juist lager. Daarnaast lijken brutomineralisatie en immobilisatie in kalkrijke bodem op zijn best even hoog als in DHH, de kalkarme locatie met hoge OM. In DHH lijkt een hoge netto N-mineralisatie niet te danken aan een lage immobilisatie, maar aan hoge microbiële activiteit. Dit heeft mogelijk te maken met de hoge bacteriële biomassa. Alleen in de relatief schimmelrijke DHL kan een hoge nettomineralisatie mogelijk worden verklaard door lage immobilisatie, maar alleen in de monsters van oktober. In mei lijkt toch vooral hoge microbiële activiteit een rol te spelen.

6.2.2 Efficiëntie van respiratie en netto N-mineralisatie

Tabel 6.3. Statistische analyse voor de efficiëntie van respiratie en netto N-mineralisatie in de monsters van oktober in verschillende duinbodems, met kalkrijkdom en OM als onafhankelijke factoren. Respiratie en netto N-mineralisatie zijn gemeten in een vierweeks incubatie-experiment onder laboratoriumcondities. Significante effecten zijn weergegeven met behulp van de overschrijdingskans; ns = niet significant ($p < 0.05$).

Table 6.3. Statistical analysis of the efficiency of respiration and net N mineralization in the October samples of different dune soils, with lime richness and OM as independent factors. Respiration and net N mineralization were measured in a four week incubation experiment under laboratory conditions. Significant p values are given; ns = not significant ($p > 0.05$).

	kalk	OM	kalk*OM
Respiratie mg g ⁻¹ microbiële C	ns	ns	ns
Respiratie mg g ⁻¹ C in lichte fractie	ns	0.003	0.022
net N-mineralisatie mg g ⁻¹ microbiële N	0.0001	0.0001	0.0005
net N-mineralisatie mg g ⁻¹ N in de lichte fractie	0.043	0.024	ns

Tabel 6.4. Statistische analyse voor de efficiëntie van respiratie en netto N-mineralisatie in de monsters van mei en oktober in verschillende duinbodems, met meetserie, kalkrijkdom en OM als onafhankelijke factoren. Respiratie en netto N-mineralisatie zijn gemeten in een vierweeks incubatie-experiment onder laboratoriumcondities. Significante effecten zijn weergegeven met behulp van de overschrijdingskans; ns = niet significant ($p < 0.05$).

Table 6.4. Statistical analysis of the efficiency of respiration and net N mineralization in the May and October samples of different dune soils, with series (month), lime richness and OM as independent factors. Respiration and net N mineralization were measured in a four week incubation experiment under laboratory conditions. Significant p values are given; ns = not significant ($p > 0.05$).

	serie	kalk	OM	serie* kalk	serie* OM	kalk*O M	serie* kalk*OM
Respiratie mg g ⁻¹ PLFA	ns	ns	0.001	0.022	ns	ns	ns
net N-mineralisatie mg g ⁻¹ respiratie	0.018	ns	ns	ns	ns	ns	ns
net N-mineralisatie mg g ⁻¹ PLFA	0.022	ns	0.0006	ns	ns	ns	ns
net N-mineralisatie mg g ⁻¹ N in de bodem	ns	0.0006	0.0001	ns	ns	0.034	ns

De respiratie per eenheid microbiële C is een maat voor de activiteit per microorganisme, en alleen gemeten in oktober. De respiratie per eenheid microbiële C wordt niet beïnvloed door kalkrijkdom of OM (Tabel 6.3). Wel heeft DHL een significant hogere microbiële activiteit dan de andere drie locaties. Per eenheid PLFA, gemeten in zowel mei als oktober, wordt de respiratie echter significant beïnvloed door OM (Tabel 6.4). De microbiële activiteit per eenheid PLFA is vooral hoog in bodems met lage OM, zoals TPL en DHL (Tabel 6.5). Een hogere microbiële activiteit in bodems met lage OM wordt ondersteund door de significant negatieve correlatie tussen respiratie per g C en de totale hoeveelheid C en N in de bodem (Figuur 6.3). Bij lage organische stofgehalten is de respiratie per g C drie-vier keer zo hoog als bij hoge organische stofgehalten.

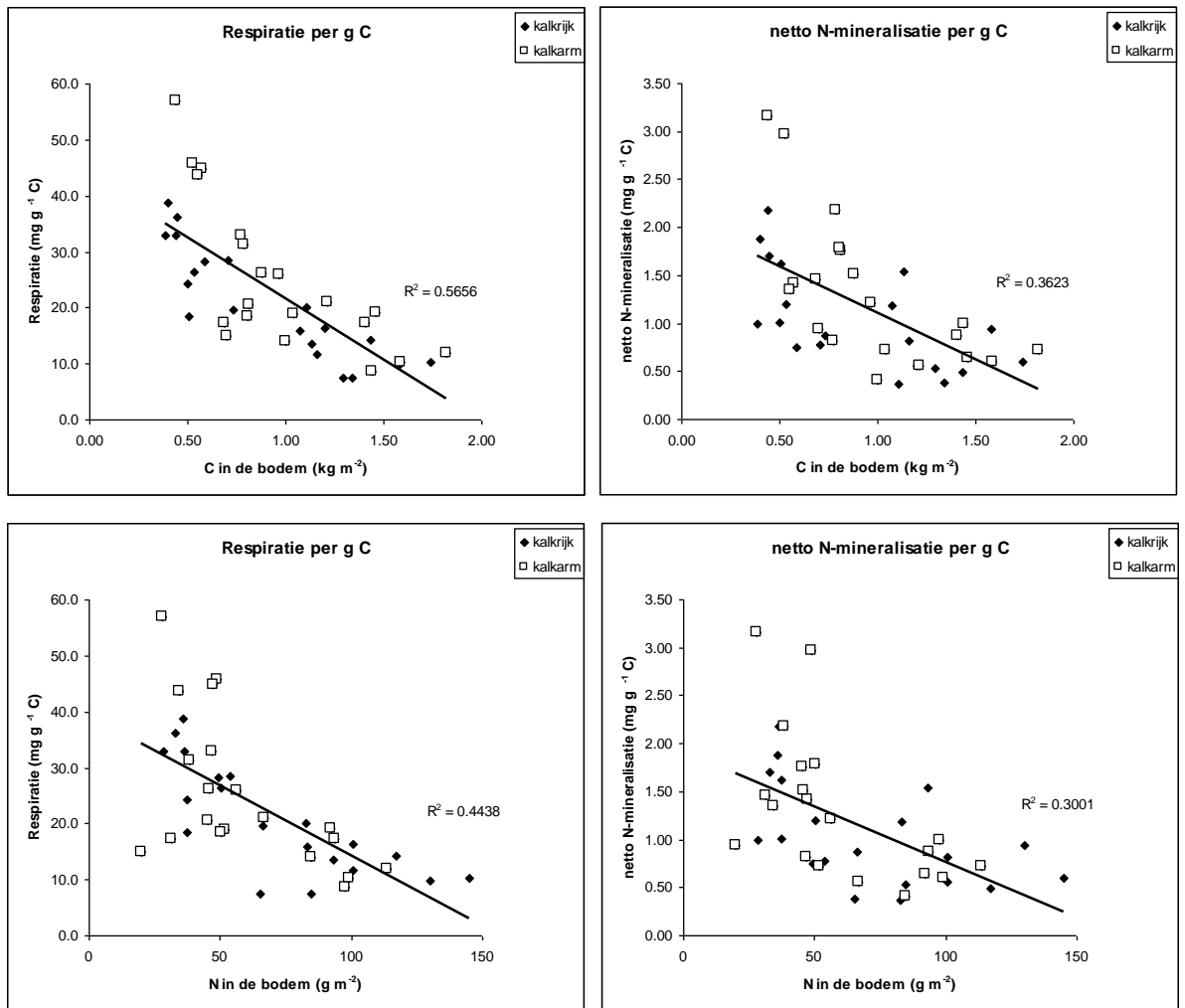
De micro-organismen zijn in oudere bodems met meer organische stof per saldo minder actief, hoewel de totale respiratie net zo hoog kan zijn als bij lage organische stofgehalten. Hetzelfde geldt voor de respiratie per gram C in de lichte fractie, die ook significant hoger is in bodems met lage OM.

Ook de netto N-mineralisatie kan worden vertaald naar activiteit per eenheid microorganisme. De netto N-mineralisatie per eenheid respiratie is een maat voor de hoeveelheid N die vrijgekomen is per eenheid gerespireerde C, en vertoont een sterke correlatie met de gemiddelde brutomineralisatie. De netto N-mineralisatie per eenheid respiratie is net als de brutomineralisatie alleen verschillend tussen mei en oktober. De netto N-mineralisatie per eenheid respiratie wordt echter net als de brutomineralisatie niet beïnvloed door kalkrijkdom en OM. De netto N-mineralisatie per eenheid microorganisme hangt echter wel samen met deze factoren. De netto N-mineralisatie per eenheid PLFA wordt beïnvloed door OM, en vertoont net als de respiratie per eenheid PLFA een hogere activiteit bij lage organische stofgehalten. Ook voor netto N-mineralisatie wordt de hoge activiteit per eenheid microorganisme bij lage OM ondersteund door de hoge activiteit per g C in de bodem. Bij een kleine hoeveelheid C of N in de bodem is de netto N-mineralisatie per g C drie-vier keer zo hoog als bij hogere organische stofgehalten. Ook voor de netto N-mineralisatie is de activiteit per saldo lager in oudere bodems, hoewel de totale netto N-mineralisatie door het hogere organische stofgehalte niet verschillend hoeft te zijn. Kalkrijkdom heeft alleen effect op de netto N-mineralisatie per eenheid microbiële N of per eenheid N in de bodem, of het nu om de totale hoeveelheid of de lichte fractie gaat. Kalkrijkdom heeft invloed omdat zowel microbiële N als N in de bodem hoger zijn in kalkrijke dan in kalkarme bodems. De netto N-mineralisatie per eenheid microbiële N of N in de bodem is daardoor hoger in kalkarme dan in kalkrijke bodems.

Tabel 6.5. Respiratie en netto N-mineralisatie in een vierweekse incubatie-experiment in kalkrijke en kalkarme duinbodems met lage en hoge OM, gemeten in de monsters van mei en/of oktober. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. De waarden zijn gemiddelden en standaarddeviaties van de meetseries van mei en oktober (n = 10), of alleen van oktober (n = 5). Verschillende letters geven significante verschillen tussen locaties weer voor een bepaalde parameter.

Table 6.5. Respiration and net N mineralization in a four week incubation experiment in lime rich and lime poor dune soils with low and high OM, measured in the May and October samples. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. Averages and standard deviations are given of the series of May and October (n=10) or of October only (n=5). Different letters indicate significant differences.

	TPL	TPH	DHL	DHH
Bodemmonsters van mei en oktober (n = 10)				
Respiratie mg g ⁻¹ C	27 (9) ^b	15 (6) ^a	31 (16) ^b	19 (7) ^a
Respiratie g m ⁻²	13 (3) ^a	17 (4) ^{ab}	20 (6) ^{bc}	21 (5) ^c
Respiratie mg g ⁻¹ PLFA	4.7 (3.1) ^b	2.1 (1.1) ^a	3.5 (1.7) ^{ab}	1.9 (0.8) ^a
netto N-mineralisatie mg g ⁻¹ C	1.3 (0.5) ^b	0.8 (0.4) ^a	1.8 (0.8) ^c	0.8 (0.4) ^{ab}
netto N-mineralisatie g m ⁻²	0.7 (0.2) ^a	0.9 (0.4) ^{ab}	1.2 (0.4) ^b	0.9 (0.3) ^{ab}
netto N-mineralisatie mg g ⁻¹ respiratie	51 (19) ^a	58 (31) ^a	66 (25) ^a	46 (22) ^a
netto N-mineralisatie mg g ⁻¹ PLFA	0.23 (0.20) ^b	0.12 (0.09) ^a	0.21 (0.09) ^b	0.08 (0.03) ^a
netto N-mineralisatie mg g ⁻¹ N in de bodem	16 (7) ^a	10 (4) ^a	31 (11) ^b	14 (7) ^a
Bodemmonsters van oktober (n = 5)				
Respiratie mg g ⁻¹ microbiel C	4.6 (0.9) ^{ab}	3.3 (0.7) ^a	11.2 (10.1) ^b	3.7 (1.2) ^a
Respiratie mg g ⁻¹ C in de lichte fractie	83 (39) ^b	20 (6) ^a	36 (25) ^a	26 (7) ^a
netto N-mineralisatie mg g ⁻¹ microbiel N	1.0 (0.4) ^a	0.7 (0.6) ^a	5.0 (1.6) ^b	1.3 (0.3) ^a
netto N-mineralisatie mg g ⁻¹ N in de lichte fractie	26 (14) ^{ab}	11 (6) ^a	41 (16) ^b	25 (17) ^{ab}



Figuur. 6.3. Correlaties tussen de totale hoeveelheid C en N in kalkrijke en kalkarme duinbodems met lage en hoge OM, en de respiratie- en netto N-mineralisatiesnelheid per g C, gemeten in een vierweeks incubatie-experiment in mei en oktober.

Figure 6.3. Correlations between the total amount of C and N in lime rich and lime poor dune soils with low and high OM, and the respiration and net N mineralization rates per g C, measured in a four week incubation experiment in May and October.

6.2.3 Correlaties tussen netto N-mineralisatie en eigenschappen van bodem en vegetatie

Door de hoge variabiliteit en de verschillen tussen mei en oktober zijn correlaties tussen de totale netto N-mineralisatie per m² en verschillende bodemeigenschappen voor de totale dataset niet significant (Tabel 6.6). Als de dataset wordt gesplitst naar kalkrijkdom of OM blijft dat zo voor de netto N-mineralisatie en de hoeveelheid C in de bodem of de totale hoeveelheid PLFA. Ook zijn er geen significante correlaties tussen netto N-mineralisatie en de hoeveelheid schimmels en bacteriën, of het relatieve aandeel van de schimmels, of het nu om de totale dataset gaat, of om een subset voor kalkrijke, kalkarme, OM-rijke of OM-arme bodems. Voor een aantal parameters zijn er voor subsets echter wel significante correlaties tussen netto N-mineralisatie en bodemeigenschappen (Figuur 6.4).

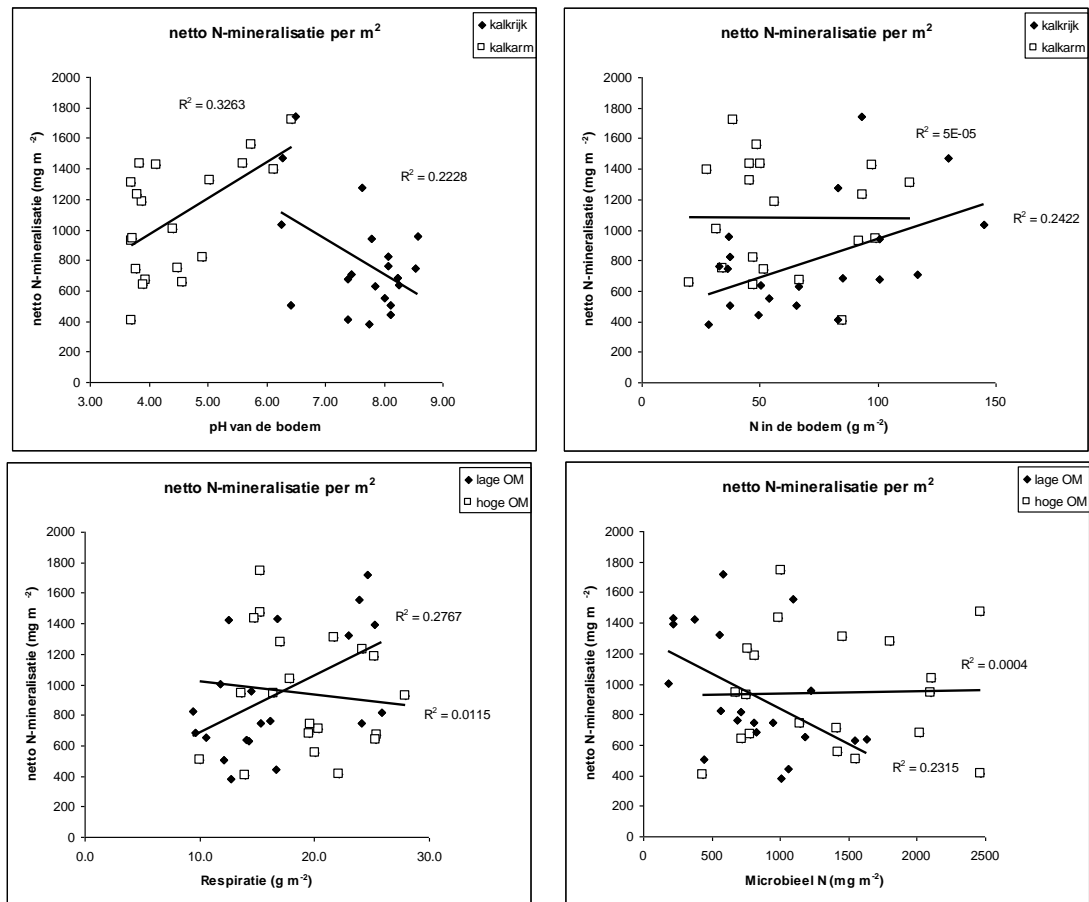
Deze correlaties zijn echter voor verschillende bodems niet altijd gelijk van aard. De totale netto N-mineralisatie per m² vertoont een significant negatieve correlatie met pH in kalkrijke bodems, maar een significant positieve in kalkarme bodems. In kalkrijke

bodems neemt de netto N-mineralisatie per m² toe als de pH lager wordt, wat wijst op de invloed van successie en accumulatie van organische stof. In kalkarme bodems is de netto N-mineralisatie juist hoger in jongere bodems met hogere pH. Mogelijk heeft dit te maken met een hogere microbiële activiteit, die over het algemeen toeneemt bij hogere pH, hoewel dit voor de totale respiratie in DHL alleen voor de meimonsters het geval leek.

*Tabel 6.6. Correlatiecoëfficiënten tussen netto N-mineralisatie per m², gemeten in een vierweeksinclubatie-experiment, en bodemeigenschappen of microbiële karakteristieken. ¹ Microbieel N is in de meimonsters niet direct gemeten, maar gebaseerd op de hoeveelheid vrijgekomen N in de kortdurende anaerobe incubatie bij hoge temperatuur. Significante correlaties zijn vetgedrukt en aangegeven met een * ($p < 0.05$).*

*Table. 6.6. Coefficients of correlation between net N mineralization per m², measured in a four week incubation experiment, and soil properties or microbial characteristics. ¹ Microbial N in the May samples was not measured directly (by fumigation) but based on the amount of N released during a short term (1 wk) anaerobic incubation at high temperature (40°C). Significant correlations are printed in bold type and marked with an * ($p < 0.05$).*

netto N-mineralisatie (g m ⁻²) versus	alle data (n = 40)	kalkrijk (n = 20)	kalkarm (n = 20)	lage OM (n = 20)	hoge OM (n = 20)
pH minerale bodem	0.0829	0.2228*	0.3263*	0.2481*	0.0124
C in de bodem (kg m ⁻²)	0.0457	0.1637	0.0003	0.0657	0.1068
N in de bodem (g m ⁻²)	0.0292	0.2422*	0.0001	0.0823	0.0203
Respiratie (g m ⁻²)	0.0562	0.0001	0.0095	0.2767*	0.0115
PLFA (mg m ⁻²)	0.0251	0.0476	0.0001	0.0919	0.0144
Microbieel N (mg m ⁻²) ¹	0.0242	0.0422	0.0145	0.2315*	0.0004
Schimmels (mg m ⁻²)	0.0120	0.0087	0.0148	0.0964	0.0055
Bacteriën (mg m ⁻²)	0.0286	0.0607	0.0001	0.0029	0.1113
Percentage schimmels (van F+B)	0.0100	0.0668	0.0006	0.1706	0.1075



Figuur 6.4. Correlaties tussen bepaalde bodemeigenschappen en de netto N-mineralisatie per m² in kalkrijke en kalkarme of OM-rijke en OM-arme duinbodems. De netto N-mineralisatie is gemeten in een vierweks incubatie-experiment in mei en oktober. Microbieel N is in oktobermonsters echt gemeten, en in de meimonsters gebaseerd op de N die vrij kwam bij kortdurende anaerobe incubatie bij hoge temperatuur.

Figure 6.4. Correlations between some soil properties and net N mineralization per m² in lime rich and lime poor or OM rich and OM poor dune soils. Net mineralization was measured by a four week incubation experiment in May and October. Microbial N was measured directly in October samples, and in the May samples based on N released during short term anaerobic incubation at high temperature.

De pH van de bodem heeft geen effect op de netto N-mineralisatie in OM-rijke bodems, maar wel in OM-arme bodems. De netto N-mineralisatie neemt af bij hogere pH, wat overeenkomt met de oorspronkelijke gedachten. In de kalkrijke duinen is er ook een significant positieve correlatie tussen N in de bodem en de netto N-mineralisatie. De netto N-mineralisatie neemt toe als er meer N in de bodem zit. In de kalkarme duinen is er van een correlatie tussen N in de bodem en netto N-mineralisatie echter geen sprake. Er zijn ook verschillen tussen bodems met lage en hoge organische stofgehalten. In OM-rijke bodems zijn er geen significante correlaties tussen bodemeigenschappen en de netto N-mineralisatie. Mogelijk is bij hoge organische stofgehalten N een minder beperkende factor. In bodems met een laag organische stofgehalte zijn er echter significante correlaties met respiratie en met microbieel N. Voor respiratie is de correlatie in OM-arme bodems met de netto N-mineralisatie significant positief. De netto N-mineralisatie neemt toe als de respiratie hoog is, wat wijst op een effect van verhoogde microbiële activiteit.

Ook voor microbiel N is er een significante correlatie met de netto N-mineralisatie in OM-arme bodems, maar nu een negatieve. Als de hoeveelheid microbiel N in de bodem toeneemt, daalt de netto N-mineralisatie. Mogelijk hangt dit samen met microbiële immobilisatie. Als deze hoog is, blijft er van de hoeveelheid die bruto is vrijgemaakt minder over. Dit zou overeenkomen met de oorspronkelijke gedachte dat een hoge immobilisatie kan leiden tot een lage netto N-beschikbaarheid, maar mogelijk treedt dit effect alleen op bij lage organische stofgehalten. De correlatie tussen netto N-mineralisatie en immobilisatie is voor OM-arme bodems in ieder geval ook significant negatief ($R^2 = 0.383$).

Behalve voor bodemeigenschappen is ook gekeken naar correlaties tussen netto N-mineralisatie en eigenschappen van de bovengrondse biomassa. Ook deze zijn voor de complete dataset niet significant (Tabel 6.7). Als er echter gekeken wordt naar kalkrijke en kalkarme bodems afzonderlijk, zijn er wel significante correlaties met de netto N-mineralisatie voor de bovengrondse biomassa, het N-gehalte of de totale hoeveelheid N in de kruidlaag (Figuur 6.5).

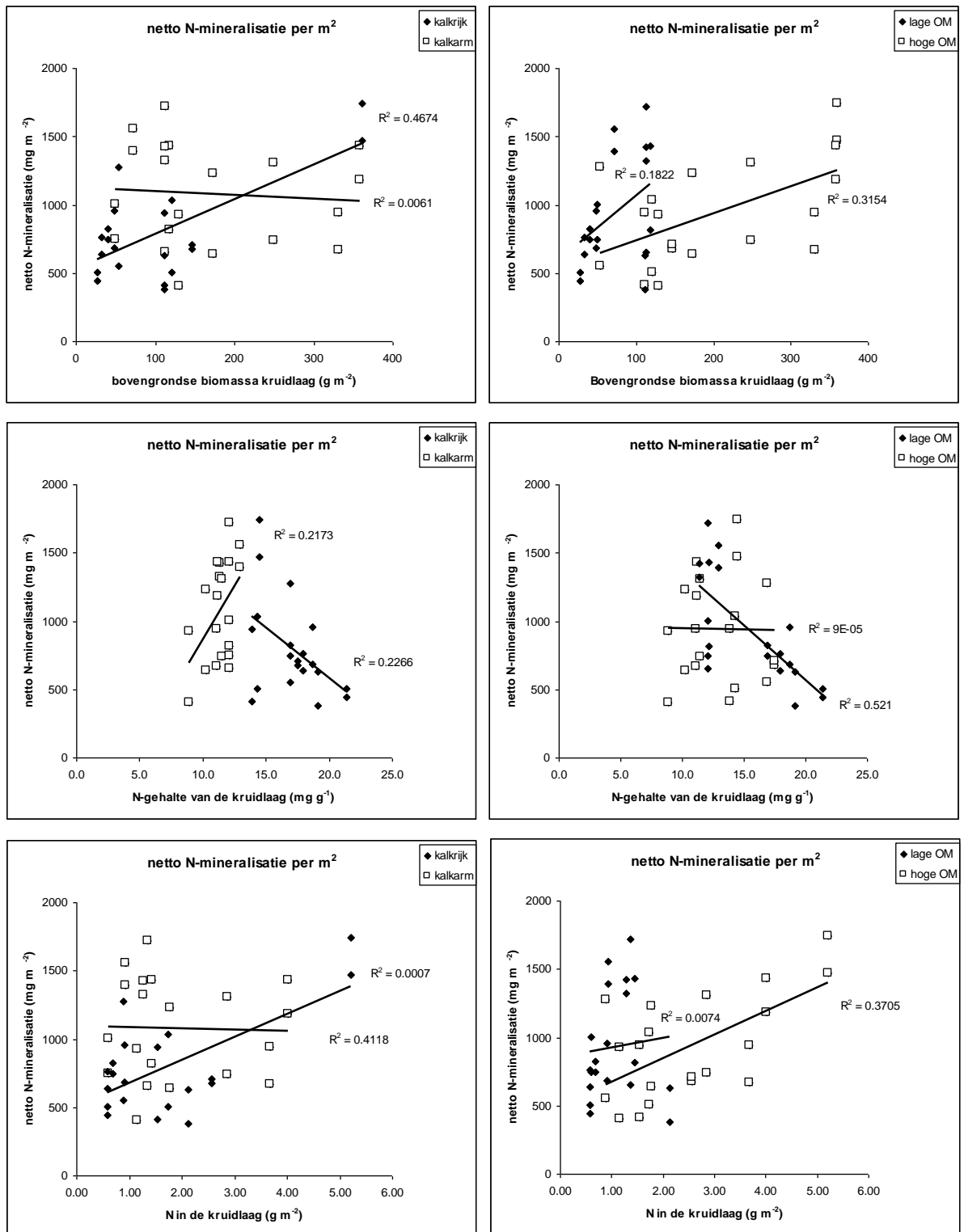
*Tabel 6.7. Correlatiecoëfficiënten tussen netto N-mineralisatie per m², gemeten in een vierweeksinclubatie-experiment, en eigenschappen van de bovengrondse biomassa van de kruidlaag. Significante correlaties zijn vetgedrukt en aangegeven met een * ($p < 0.05$).*

*Table 6.7. Coefficients of correlation between net N mineralization per m², measured in a four week incubation experiment, and properties of the aboveground biomass of the herb layer. Significant correlations are printed in bold type and marked with an * ($p < 0.05$).*

netto N-mineralisatie (g m ⁻²) versus	alle data (n = 40)	kalkrijk (n = 20)	kalkarm (n = 20)	lage OM (n = 20)	hoge OM (n = 20)
Bovengrondse biomassa (g m ⁻²)	0.1349	0.4674*	0.0061	0.1822	0.3154*
N-gehalte van de vegetatie (mg g ⁻¹)	0.1530	0.2173*	0.2266*	0.5210*	0.0001
hoeveelheid N in de vegetatie (g m ⁻²)	0.1160	0.4118*	0.0007	0.0074	0.3705*

In kalkrijke bodems is er een negatief verband tussen het N-gehalte van de kruidlaag en de netto N-mineralisatie, en neemt het N-gehalte af bij hogere netto N-mineralisatie. Het is bij correlaties natuurlijk altijd de vraag of een bepaalde relatie oorzaak of gevolg is, of zelfs een neveneffect, maar voor de vegetatie is dat extra lastig. Aan de ene kant heeft de netto N-mineralisatie in de bodem waarschijnlijk directe gevolgen voor de bovengrondse biomassa van de kruidlaag, omdat nutriënten via de wortels worden opgenomen. Aan de andere kant kan de kruidlaag de netto N-mineralisatie ook beïnvloeden via de strooiselinput. Daarnaast zijn de metingen in verschillende jaren en tijdstippen van het jaar gedaan. Het lijkt niet logisch dat het N-gehalte afneemt als gevolg van een hogere netto N-mineralisatie, of omgekeerd dat de nettomineralisatie toeneemt als gevolg van N-arm strooisel. Waarschijnlijk is het lage N-gehalte meer een neveneffect, en het gevolg van verdunning bij een hogere biomassa-productie.

In de kalkrijke bodems zijn zowel de bovengrondse biomassa als de totale hoeveelheid N in de vegetatie positief gecorreleerd met de netto N-mineralisatie, al is dit vooral gebaseerd op hoge waarde in slechts twee meetpunten.



Figuur 6.5. Correlaties tussen eigenschappen van de bovengrondse biomassa in de kruidlaag en de netto N-mineralisatie per m² in kalkrijke en kalkarme, of OM-rijke en OM-arme duinbodems. De netto N-mineralisatie is gemeten in een vierweeks incubatie-experiment in mei en oktober.

Figure 6.5. Correlations between properties of the aboveground biomass of the herb layer and net N mineralization per m² in lime rich and lime poor, or OM rich and OM poor dune soils. Net N mineralization was measured in a four week incubation experiment in May and October.

In de kalkarme bodems is de correlatie tussen netto N-mineralisatie en de bovengrondse biomassa of de totale hoeveelheid N in de kruidlaag echter niet significant. Wel neemt het N-gehalte van de vegetatie toe bij hogere netto N-mineralisatie. De vegetatie neemt de vrijgekomen N misschien wel op, maar dit leidt niet tot hogere groei van de bovengrondse biomassa van de kruidlaag. In hoeverre een hogere netto N-mineralisatie gevolgen kan hebben voor de moslaag is niet duidelijk, aangezien deze geen wortels heeft, en zorgt voor de eigen N-voorziening door mineralisatie in de dode moslaag (Sparrius & Kooijman 2012). Maar een dichte moslaag kan de vestiging van vaatplanten mogelijk wel bemoeilijken. Ook tussen organische stofrijke en arme bodems bestaan verschillen in de relatie tussen de netto N-mineralisatie en de vegetatie. In organische stofrijke bodems is er een significant positieve relatie tussen de netto N-mineralisatie en de bovengrondse biomassa of de totale hoeveelheid N in de kruidlaag. Het N-gehalte van de kruidlaag wordt echter niet beïnvloed. In organische stofarme bodems verandert het N-gehalte van de kruidlaag echter wel. Bij hoge netto N-mineralisatie neemt het N-gehalte af. Dit is niet logisch en zou een neveneffect kunnen zijn van verdunning door een hogere biomassa, maar het verband tussen netto N-mineralisatie en bovengrondse biomassa van de kruidlaag is niet significant. Waarschijnlijk speelt vooral het verschil in N-gehalte tussen kalkrijke en kalkarme bodems een rol. In TPL is het N-gehalte van de vegetatie relatief hoog, ondanks de lage netto N-mineralisatie. In DHL is het N-gehalte van de vegetatie echter ondanks de hogere netto N-mineralisatie relatief laag. In het algemeen hebben plantensoorten van kalkrijke standplaatsen hogere N-gehalten dan soorten uit basenarme habitats (Aerts & Chapin 2000). In hoeverre dit samenhangt met een hoge netto N-mineralisatie is echter niet goed bekend. Ook in veengebieden bleken de N-gehalten van de vegetatie hoog te zijn op plaatsen waar de netto N-mineralisatie laag was, zoals kalkrijke veenbodems (Kooijman & Hedenäs 2009). Ook speelt dit verschil in N-gehalte van de vegetatie tussen kalkrijke en kalkarme bodems blijkbaar geen rol bij hogere organische stofgehalten, mogelijk omdat N dan een minder beperkende factor is.

6.3 Conclusie

In tegenstelling tot de microbiële samenstelling zijn er voor microbiële activiteit wel significante verschillen tussen de bodemmonsters in mei en oktober. De respiratie bleef min of meer hetzelfde, maar de netto N-mineralisatie was iets hoger in oktober, en de gemodelleerde bruto N-mineralisatie en de microbiële immobilisatie lager. In het voorjaar is de microbiële populatie mogelijk nog vooral bezig met opbouw en groei, waardoor meer N nodig kan zijn voor eigen gebruik.

Ook OM had een significante invloed op respiratie en netto N-mineralisatie, vooral per g C. Beide parameters hadden hogere waarden per g C in bodems met lage OM dan bij hoge OM, wat wijst op lagere activiteit in oudere bodems, mogelijk als gevolg van de ophoping van recalcitrante organische stof. Per m² verdween het OM-effect weer, doordat lage activiteit per g C in oudere bodems gecompenseerd werd door hogere organische stofgehalten. Lagere activiteit bij hoge OM was ook zichtbaar in respiratie of netto N-mineralisatie per eenheid micro-organisme. Kalkrijkdom had invloed op zowel totale respiratie als netto N-mineralisatie per m², maar niet geheel zoals verwacht. De netto N-mineralisatie was wel significant hoger in kalkarme dan in kalkrijke bodems, vooral in oktober. Maar in tegenstelling tot de verwachting was ook de respiratie hoger in kalkarme bodems, mogelijk als gevolg van de onverwacht hoge bacteriële massa.

Kalkrijkdom had ook invloed op de netto N-mineralisatie per eenheid microbieel N, eenheid N in de bodem of eenheid N in de lichte bodemfractie. Omdat microbieel N en N in de bodem in kalkarme bodems relatief laag zijn, was de netto N-mineralisatie per eenheid N in micro-organismen of bodem significant hoger dan in kalkrijke bodems, vooral in DHL.

Door de hoge variabiliteit zijn correlaties tussen de netto N-mineralisatie en bodemeigenschappen voor de hele dataset niet significant, maar soms wel voor aparte groepen. In kalkrijke bodems is er een significante relatie tussen netto N-mineralisatie en eigenschappen van zowel bodem als vegetatie. De correlatie met pH was negatief, wat wijst op de invloed van successie en de ontwikkeling van de N-kringloop door de accumulatie van organische stof. Hoge netto N-mineralisatie was in kalkrijke bodems

echter wel gekoppeld aan een toename van N in de bodem, bovengrondse biomassa en totale hoeveelheid N in de kruidlaag. In kalkarme bodems heeft de netto N-mineralisatie alleen een significante relatie met pH, die toeneemt bij iets hogere pH, mogelijk als gevolg van hogere microbiële activiteit in jonge bodems. In de vegetatie neemt echter alleen het N-gehalte toe bij hogere N-beschikbaarheid. In OM-arme bodems komen alleen significante correlaties voor met bodemeigenschappen. Er is er een positief verband tussen netto N-mineralisatie en respiratie, wat wijst op toename van de netto N-mineralisatie bij hogere microbiële activiteit, en een negatief verband met pH en microbiële N, wat wijst op afname bij hoge immobilisatie. De vegetatie wordt echter nauwelijks beïnvloed door netto N-mineralisatie. In OM-rijke bodems zijn er juist alleen maar significante correlaties met de vegetatie. In OM-rijke bodems nemen de bovengrondse biomassa en de totale hoeveelheid N in de kruidlaag toe bij hoge netto N-mineralisatie. De correlaties met bodemeigenschappen zijn echter niet significant.

Al met al is de regulatie van de N-beschikbaarheid minder eenduidig dan verwacht. De netto N-mineralisatie is hoger in kalkarme dan in kalkrijke bodems, maar de respiratie is dat ook, en de hogere waarden kunnen maar in beperkte mate worden toegeschreven aan lagere microbiële immobilisatie. Mogelijk speelt een rol dat ook bacteriën en protozoa in kalkarme duinbodems belangrijker zijn dan verwacht, en microarthropoden juist minder. Ook tussen OM-arme en OM-rijke bodems zijn de verschillen in N-beschikbaarheid kleiner dan verwacht. De lage hoeveelheid substraat in OM-arme bodems lijkt gecompenseerd te worden door een hoge microbiële activiteit per g C, waardoor zowel respiratie als netto N-mineralisatie niet verschillen tussen OM-arme en OM-rijke duinbodems, althans niet op de relatief korte termijn van vier weken.

7 Lange-termijneffecten en incorporatie van ¹⁵N

7.1 Inleiding en methoden

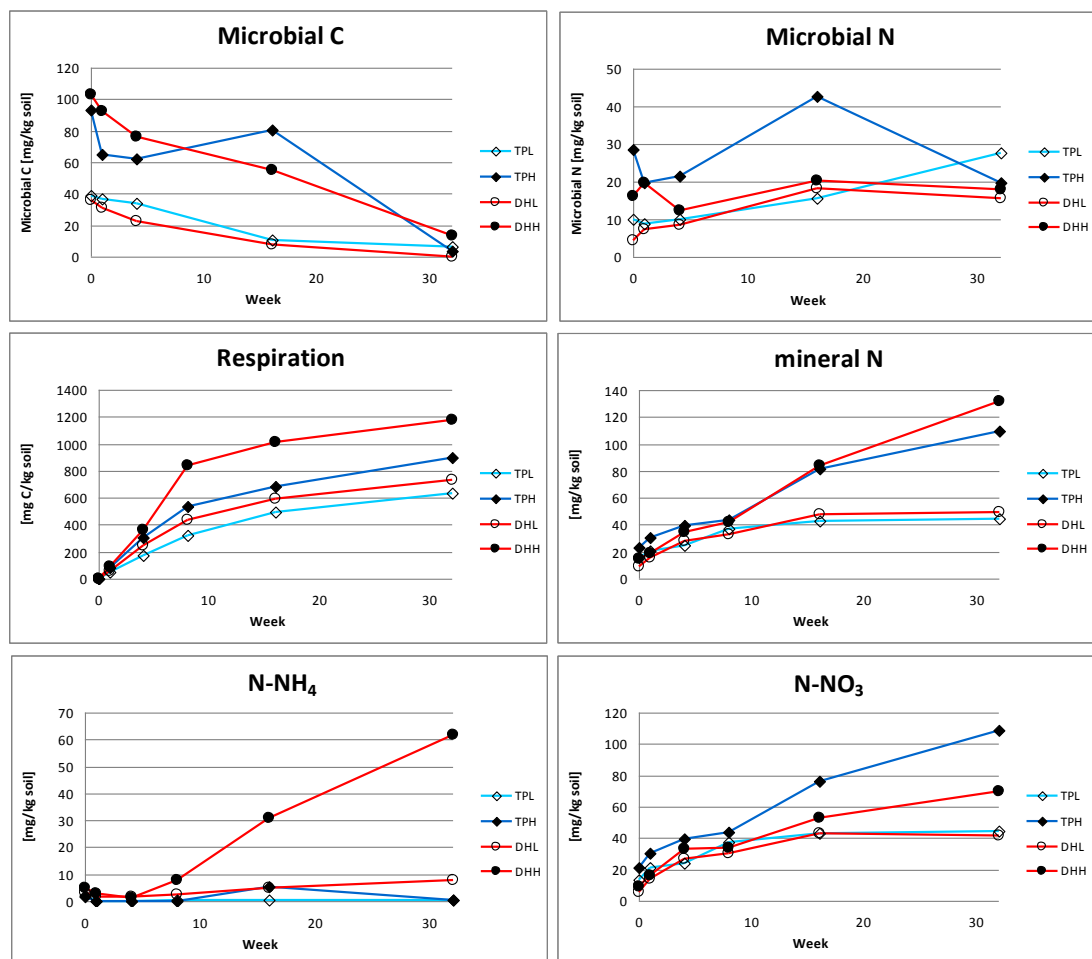
Om te toetsen of N in kalkrijke bodems sneller of sterker zou worden vastgelegd dan in kalkarme, vanwege veronderstelde hogere microbiële, en met name bacteriële activiteit, is een incubatie-experiment met gelabeld ¹⁵N uitgevoerd met de twintig bodemonsters uit TPL, TPH, DHL en DHH. Het experiment is uitgevoerd met de bodemonsters van oktober en gestart in december. In de tussentijd zijn de monsters bewaard in de koelcel, en is een extra PLFA-analyse uitgevoerd om te testen of de microbiële samenstelling was veranderd als gevolg van de opslag. Dar bleek in algemene zin niet het geval te zijn, en de gemiddelde punten lagen ook voor oktober en december dicht bij elkaar bij de oorsprong. Wel was de hoeveelheid schimmel-PLFA in de koele ruimte afgenomen met ca. 37%. De ontwikkelingen in respiratie, netto N-mineralisatie en opslag van ¹⁵N in verschillende fracties zijn gevolgd over een periode van 32 weken, met metingen op T0, T1, T4, T8, T16 en T32. Het experiment is uitgevoerd met drie replica's voor ieder bodemonster, die in aparte incubatiezakken bij 20 °C zijn bewaard. Gelabeld N is toegevoegd met een dosering van 5 mg ¹⁵N kg⁻¹ bodem, in de vorm van ammoniumsulfaat. Deze dosering is in principe laag genoeg om bemestingseffecten te vermijden, en wat orde van grootte betreft ca. twee tot vier keer zo laag als de hoeveelheid ammonium plus nitraat in de bodem op T0. De hoeveelheden normaal (¹⁴N en ¹⁵N samen) en gelabeld N (¹⁵N) in ammonium, nitraat en DON zijn bepaald in 0.05 M K₂SO₄-extracten van de geïncubeerde monsters. De hoeveelheid normaal en gelabeld microbiële N is na fumigatie met chloroform bepaald in extracten van 0.05 M K₂SO₄ (Jenkinson & Powlson 1976). Bij de fumigatie in week 8 is gezien de extreem lage waarden voor microbiële C en N mogelijk iets mis gegaan; deze microbiële waarden zijn in de figuren dan ook niet meegenomen. De niet-gelabelde N is gemeten met een Skalar autoanalyzer, en de gelabelde N met de SPINMAS-techniek (Stange et al. 2007), waarmee het percentage ¹⁵N wordt bepaald. Omdat het atomaire percentage ¹⁵N in een bepaalde fractie verdund kan worden door bijvoorbeeld het vrijkomen van ammonium en nitraat bij mineralisatie, is het percentage ¹⁵N tevens berekend op basis van de oorspronkelijk toegediende hoeveelheid. De hoeveelheid gelabeld en niet-gelabeld N in labiele en stabiele organische stof in de bodem zijn bepaald met behulp van dichtheidsfractionering van de monsters op T16 en T32 (Cerli et al. 2012). Het ¹⁵N-gehalte van de zware fractie kon niet goed worden gemeten, omdat totaal-N in deze fractie al heel klein was. De relatief hoge recovery van ¹⁵N in het bodemvocht (nitraat, ammonium, DON), de microbiële biomassa en de lichte fractie van de bodem suggereert echter dat de vastlegging van de toegevoegde ¹⁵N in de zware fractie heel klein is. De respiratie is bepaald in een Respicond (Nordgren 1988), waarin de cumulatieve hoeveelheid geproduceerde CO₂ over de gehele incubatieperiode gemeten is.

Een ruwe schatting van de bruto N-mineralisatie en microbiële immobilisatie is berekend met een model op basis van de gemeten waarden voor respiratie, netto N-mineralisatie en de C:N ratio's van de bodem en de micro-organismen (Kooijman et al. 2008). Voor de microbiële C:N ratio zijn gemiddelde waarden gebruikt voor de beginsituatie in iedere locatie, maar gebruik van een gemiddelde waarde over de gehele incubatieperiode zou de schatting van de brutomineralisatie en immobilisatie niet wezenlijk veranderen. De respiratie en de hoeveelheid gelabeld en niet-gelabeld N in de verschillende fracties aan het einde van de incubatieperiode zijn getoetst met een tweewegvariantieanalyse, met kalkrijkdom en OM als onafhankelijke factoren. De statistische toets is gebaseerd op de gemiddelde waarde per monsterpunt, berekend

op basis van de resultaten van de drie afzonderlijke replica's. Verschillen tussen locaties zijn verder post hoc getoetst met een LSmeans-test.

7.2 Resultaten en discussie

De hoeveelheid microbiële C neemt in de loop van de incubatie over 32 weken significant af (Figuur 7.1, Tabel 7.1). Dit is vooral het geval in OM-rijke bodems zoals TPH en DHH, waar de microbiële biomassa bij de start van het experiment ruim twee keer zo hoog was als in OM-arme bodems (zie ook hoofdstuk 4). Microbiële N blijft daarentegen in de OM-rijke bodems per saldo meer constant. In OM-arme bodems treedt zelfs in de loop van de tijd een kleine toename in microbiële N op, vooral in TPL. De cumulatieve respiratie neemt toe in de loop van de tijd, maar vooral in bodems met hoge OM, en vooral in DHH, dat na 32 weken de hoogste waarden heeft bereikt. Dit was na vier weken nog niet zo duidelijk (zie hoofdstuk 6), maar correspondeert wel met de grotere hoeveelheid micro-organismen in OM-rijke bodems. Ook de netto N-mineralisatie, die na vier weken tussen OM-rijke en OM-arme bodems nog niet verschillend was, is op langere termijn significant hoger in bodems met hoge organische stofgehalten. In OM-arme bodems neemt de netto N-mineralisatie na 8 weken nauwelijks meer toe, waarschijnlijk bij gebrek aan substraat.



Figuur 7.1. Lange termijnontwikkelingen in de cumulatieve respiratie en hoeveelheid N in verschillende fracties in een incubatie-experiment van 32 weken onder laboratoriumcondities. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. Ieder meetpunt is een gemiddelde waarde ($n = 5$).

Figure 7.1. Long term developments in cumulative respiration and amount of N in different fractions in a 32 week incubation experiment under laboratory conditions. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. Each point is an average value (n=5).

In tegenstelling tot OM-arme bodems gaat de netto N-mineralisatie in OM-rijke bodems wel verder, waarschijnlijk als gevolg van het hogere organische stofgehalte. Ook het verschil tussen TPH en DHH is significant, met hogere waarden voor de kalkarme DHH. Opvallend is wel het verschil tussen ammonium en nitraat, met name op de langere termijn. In kalkrijke bodems wordt ammonium, dat vrijkomt bij de eerste stap van het mineralisatieproces, vrijwel allemaal omgezet in nitraat. Ook op de langere termijn is er in kalkrijke bodems vrijwel geen ammonium in de bodemoplossing te vinden. Ook in kalkarme bodems treedt ondanks de lage pH veel nitrificatie op.

Een hoge nitrificatie in duinbodems was ook gevonden door Kowalchuk et al. (1997), hoewel nitraatvormende bacteriën worden gezien als zwakke concurrenten. Vooral in de eerste vier weken wordt ook hier vrijwel alle ammonium omgezet in nitraat. Pas na acht weken komt er netto ammonium vrij, vooral in DHH, de kalkarme locatie met hoge OM. Maar ook in DHH wordt na 32 weken nog steeds ca 50% van de gemineraliseerde N omgezet in nitraat, ondanks de lage pH van 3.8. De veranderingen in DON zijn niet in de figuur weergegeven, maar waren wel significant verschillend tussen bodems met lage en hoge OM. Bij hoge OM nam de hoeveelheid DON in de bodemoplossing in de loop van de tijd duidelijk toe, waarschijnlijk als gevolg van afbraakprocessen. Bij lage OM was er echter in TPL een afname in de hoeveelheid DON zichtbaar, wat aangeeft dat DON werd gebruikt in plaats van netto geproduceerd. In DHL bleef de hoeveelheid DON min of meer constant.

Tabel 7.1. Statistische toetsing van respiratie en verschillende N-fracties aan het einde van het 32 weken durende incubatie-experiment met monsters uit verschillende duinbodems, en kalkrijdom en OM als onafhankelijke factoren. Significante effecten zijn weergegeven met behulp van de overschrijdingskans; ns = niet significant ($p < 0.05$).

Table 7.1. Statistical test of respiration and different N fractions at the end of the 32 week incubation experiment with samples of different dune soils, with lime richness and OM as independent factors. Significant p values are given; ns = not significant ($p > 0.05$).

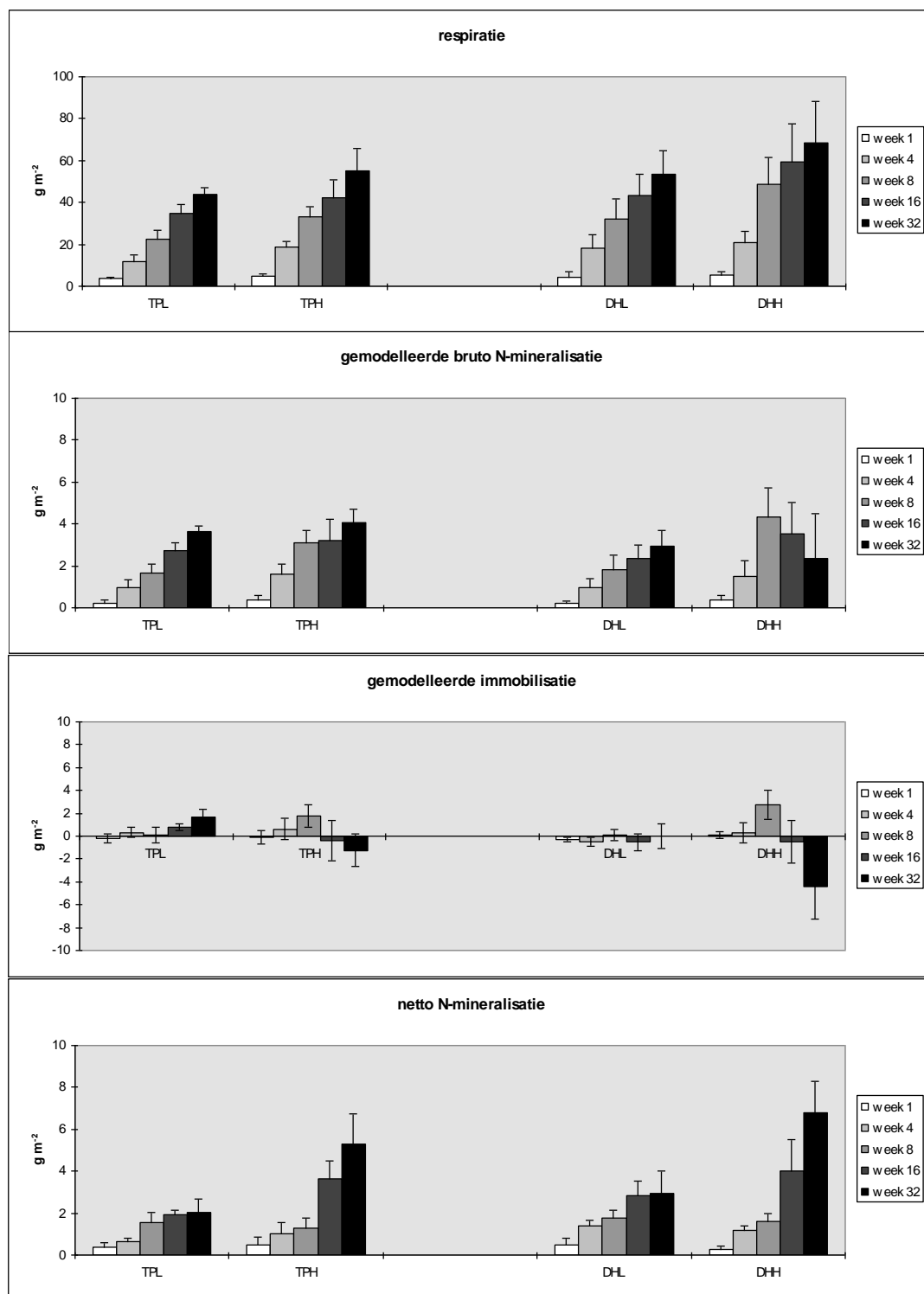
	kalk	OM	kalk*OM
microbieel C T32 (g kg ⁻¹)	ns	0.046	0.004
microbieel N T32 (g kg ⁻¹)	ns	ns	ns
respiratie T32 (g kg ⁻¹)	0.027	0.0003	ns
mineraal N T32 (g kg ⁻¹)	ns	0.0001	ns
ammonium T32 (g kg ⁻¹)	0.0001	0.0001	0.0001
nitraat T32 (g kg ⁻¹)	0.026	0.0001	ns
DON T32 (g kg ⁻¹)	ns	0.029	ns
afname microbieel C over incubatieperiode (g kg ⁻¹)	ns	0.0001	ns
afname microbieel N in incubatieperiode (g kg ⁻¹)	ns	0.021	ns
respiratie over incubatieperiode (g kg ⁻¹)	0.027	0.0003	ns
netto N-mineralisatie over incubatieperiode (g kg ⁻¹)	0.030	0.0001	ns
ammoniumproductie over incubatieperiode (g kg ⁻¹)	0.0001	0.0001	0.0001
nitraatproductie over incubatieperiode (g kg ⁻¹)	ns	0.0001	0.046
DON-productie over incubatieperiode (g kg ⁻¹)	ns	0.016	ns

De totale respiratie en netto N-mineralisatie per m² zijn aan het eind van het experiment significant verschillend tussen OM-rijke en OM-arme bodems (Tabel 7.2). Dit geldt met name voor DHH, de kalkarme locatie, die ook op andere fronten een hogere microbiële massa of activiteit vertoonde (Figuur 7.2). Voor de netto N-mineralisatie is er echter ook een effect van kalkrijkdom, met significant lagere waarden voor kalkrijke bodems. Ook de bruto N-mineralisatie lijkt iets hoger in kalkrijke dan in kalkarme bodems, maar het gaat hier om gemodelleerde waarden, die met de nodige voorzichtigheid bekeken moeten worden. De relatief lage netto N-mineralisatie in kalkrijke bodems heeft mogelijk meer te maken met een relatief hoge immobilisatie. De gemodelleerde immobilisatie is significant hoger in kalkrijke dan in kalkarme bodems. Ook is de correlatie met netto N-mineralisatie duidelijk hoger ($R^2 = 0.799$) voor de gemodelleerde immobilisatie dan voor de respiratie ($R^2 = 0.41$), terwijl die met de gemodelleerde bruto N-mineralisatie niet significant was. De gemodelleerde immobilisatie laat zien dat, behalve in TPL, de waarden vanaf 16 weken negatief zijn, wat suggereert dat er netto N wordt vrijgemaakt uit de microbiële massa. Dit suggereert dat de beschikbaarheid van substraat na ca 16 weken waarschijnlijk sterk afneemt, ook in de bodems met hoge OM. Dit is ook het moment waarop in DHH de hoeveelheid NH₄ sterk begint toe te nemen. Kennelijk is de N-behoefte door het gebrek aan C zo laag geworden dat de vrijgemaakte NH₄ niet meer wordt opgenomen. Zelfs de nitrificerders, die over het algemeen relatief zwakke concurrenten zijn (Kowalchuk et al. 1997), kunnen het overschot niet meer verwerken. Het is dan ook voor het meten van potentiële N-mineralisatie eigenlijk misschien niet zinvol een laboratoriumexperiment zo lang te laten duren. Dat is ook vooral gedaan om de inbouw van gelabeld N in de organische stof in de bodem te kunnen volgen, een proces waar normaal gesproken langere tijd voor nodig is (Sjöberg & Persson 1998).

Tabel 7.2. Statistische toetsing van de respiratie en de netto N-mineralisatie en de gemodelleerde bruto N-mineralisatie en immobilisatie aan het einde van het 32 weken durende incubatie-experiment met monsters uit verschillende duinbodems, en kalkrijkdom en OM als onafhankelijke factoren. Significante effecten zijn weergegeven met behulp van de overschrijdingskans; ns = niet significant ($p < 0.05$).

Table 7.2. Statistical test of respiration, net N mineralization, and modelled gross N mineralization and immobilization at the end of the 32 week incubation experiment with samples from different dune soils, with lime richness and OM as independent factors. Significant p values are given; ns = not significant ($p > 0.05$).

	kalk	OM	kalk*OM
respiratie (g m ⁻²)	ns	0.033	ns
netto N-mineralisatie (g m ⁻²)	0.044	0.0001	ns
gemodelleerde bruto N-mineralisatie (g m ⁻²)	0.037	ns	ns
gemodelleerde microbiële immobilisatie (g m ⁻²)	0.007	0.0002	ns

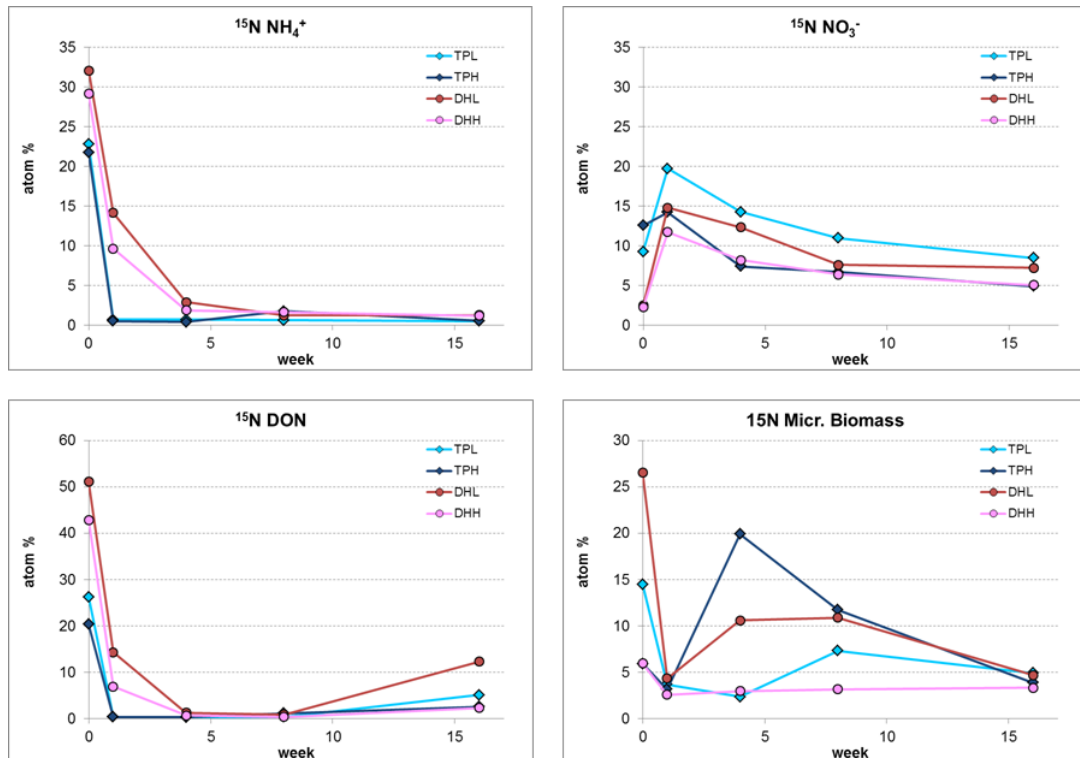


Figuur 7.2. Lange termijnontwikkelingen in de gemodelleerde bruto N-mineralisatie en immobilisatie in een incubatie-experiment van 32 weken onder laboratoriumcondities. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. De waarden zijn gemiddelden ($n = 5$) met standaarddeviaties.

Figure 7.2. Long term developments in modelled gross N mineralization in a 32 week incubation experiment under laboratory conditions. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. Averages ($n=5$) and standard deviations are given.

De resultaten van het experiment met toediening van gelabeld ^{15}N zijn tamelijk verrassend. Al op T0, waarvoor de metingen plaatsvonden binnen enkele uren na de toediening, is een afname te zien van de hoeveelheid gelabeld ammonium (Figuur 7.3).

Bij toediening bedroeg de hoeveelheid gelabeld ammonium ca 69-74% van de totale hoeveelheid ammonium in de kalkrijke bodems, en ca 50-61% in de kalkarme. In de kalkrijke bodems is het percentage ^{15}N -ammonium op T0 echter al gezakt naar ca 23%. Dat is een heel sterke afname in een paar uur tijd. In de kalkarme bodems verliep de daling iets langzamer, maar ook hier was het percentage ^{15}N -ammonium al gezakt naar ca 29-32%.

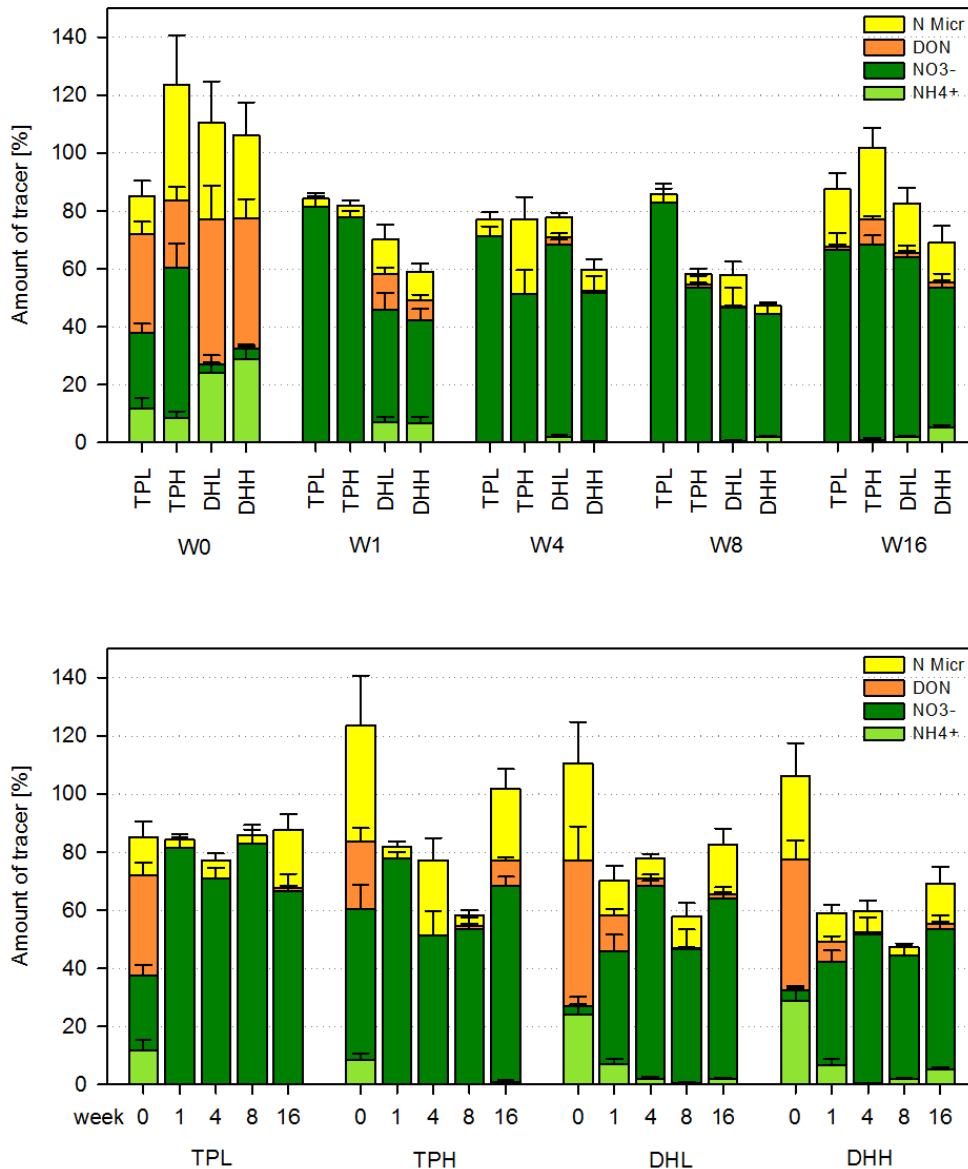


Figuur 7.3. De hoeveelheid gelabeld ^{15}N die op verschillende tijdstippen is terechtgekomen in verschillende N-fracties in de bodem. De waarden zijn uitgedrukt als percentage van de totale hoeveelheid N in een bepaalde fractie. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM.

Figure 7.3. The amount of labelled ^{15}N at different time points in different soil N fractions. Values are expressed as percentage of the total amount of N in a specific fraction. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM.

De gelabelde ammonium is op T0 al voor een deel al opgenomen door microbiële massa en omgezet in nitraat en DON. Snelle nitrificatie treedt vooral in kalkrijke bodems op (Figuur 7.4). In TPL is op T0 al ca. 26% van de oorspronkelijke hoeveelheid gelabeld N terechtgekomen in ^{15}N -nitraat, en in TPH zelfs al ca. 52%. In de kalkarme bodems is dit nog maar 3-4%. Ook micro-organismen hebben op T0 al ca. 15-40% van de gelabelde N in hun biomassa opgenomen. Er lijkt echter geen significant verschil te zijn tussen locaties, alleen in TPL was op T0 minder van de label in de microbiële biomassa aanwezig.

Een ander deel is terechtgekomen in DON, vooral in de kalkarme bodems. Dat was meestal meer dan in de microbiële biomassa. In de kalkarme bodems bedraagt het aandeel gelabeld N in DON op T0 ca. 45-50%. In de kalkrijke bodems is dit maar 23-34%, vooral als gevolg van de hoge nitrificatie. De hoge percentage van de tracer in DON toont een heel snelle turnover van microbiële N aan dat in de kalkarme bodems nog iets sneller is dan in kalkrijke bodems. Dit resultaat komt wel overeen met de netto N-mineralisatie en de respiratie.



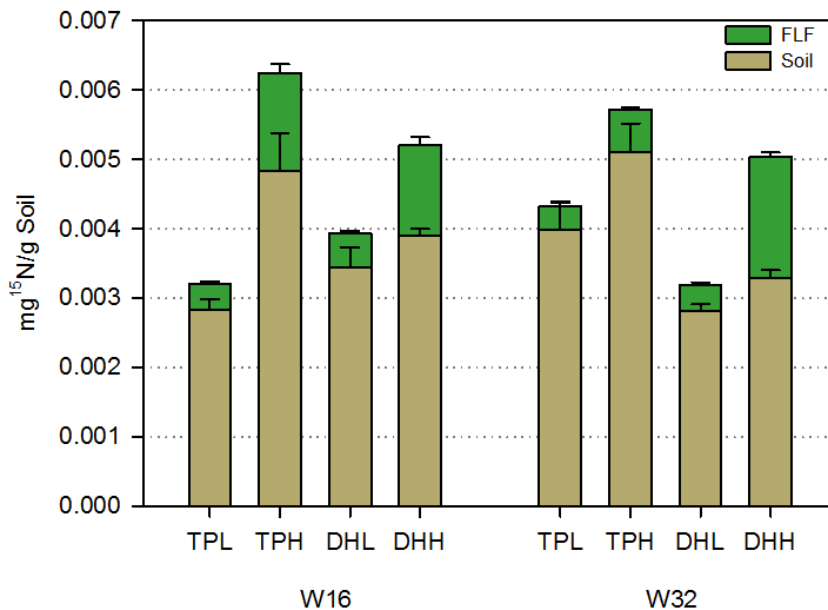
Figuur 7.4. De hoeveelheid gelabeld ¹⁵N die op verschillende tijdstippen is terechtgekomen in verschillende N-fracties in de bodem. De waarden zijn uitgedrukt in percentage van de oorspronkelijk toegevoegde hoeveelheid gelabeld ammonium. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM.

Figure 7.4. The amount of labelled ¹⁵N at different time points in different soil N fractions. Values are expressed as percentage of the amount of labelled N that was added at the start. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM.

Na een week is de nitrificatie nog veel sterker. Het atomaire percentage ¹⁵N in nitraat is op T1 toegenomen in alle vier locaties. Voor de kalkrijke bodems betekent dit dat ca. 77-81% van de oorspronkelijke hoeveelheid gelabeld N na een week in nitraat terechtgekomen is. Voor de kalkarme bodems is dit ca. 36-39%. In kalkrijke bodems is na een week vrijwel geen gelabeld ammonium meer aanwezig, maar in kalkarme bodems is dit nog ca. 7% van de oorspronkelijk toegediende hoeveelheid. Het percentage gelabeld N in de microbiële massa is terug gelopen naar ca. 3-12% van de oorspronkelijke hoeveelheid. Ook is het toegediende ¹⁵N in DON in de kalkrijke bodems na een week vrijwel verdwenen, maar in kalkarme bodems zit 7-12% van de oorspronkelijk toegediende hoeveelheid gelabeld N nog in DON.

Na vier en acht weken is gelabeld N vrijwel alleen nog te vinden in nitraat en de microbiële massa. De relatief kleine hoeveelheid gelabeld microbiel N in week 8 kan ook het gevolg van problemen bij de chloroform-fumigatie zijn. In alle locaties vormt nitraat de grootste sink voor gelabeld N. De atomaire percentages ¹⁵N in de totale hoeveelheid nitraat dalen als gevolg van verdunning, door de toename van de hoeveelheid nitraat als gevolg van mineralisatie. Als percentage van de oorspronkelijk toegediende hoeveelheid verandert de hoeveelheid gelabeld nitraat in T4 en T8 echter relatief weinig (Figuur xy). DON speelt voor gelabeld N in week 4-8 vrijwel geen rol meer.

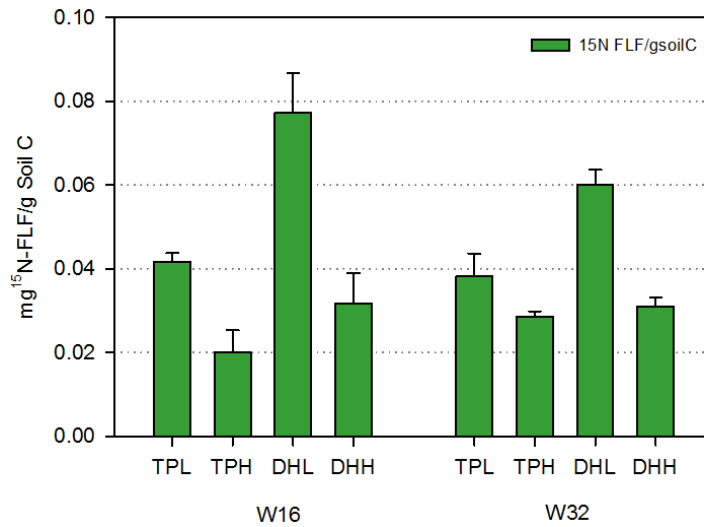
In week 16 is de hoeveelheid gelabeld nitraat nog steeds erg hoog. In kalkrijke bodem zit nog steeds ca. 66-67% van de oorspronkelijke hoeveelheid gelabeld N in nitraat. Ook in de kalkarme duinen gaat het nog steeds om 48-62%. Nitraat wordt blijkbaar door de microbiële pool niet opgenomen, en plantenwortels zijn in dit experiment niet aanwezig. Nitraat wordt over het algemeen door micro-organismen gebruikt als alternatief voor zuurstof, maar in de zandige duinbodems met een vochtgehalte van ca. 60% van het watervasthoudend vermogen is de zuurstofvoorziening geen probleem. Dit kan betekenen dat als er in droge duinbodems eenmaal nitraat gevormd is, dit alleen maar wordt opgenomen door de vegetatie, of weglekt naar het grondwater. Van een grote inbouw van nitraat in de organische stof in de bodem lijkt op dit moment weinig sprake te zijn.



Figuur 7.5. De hoeveelheid teruggevonden ¹⁵N in de bodem na 16 en 32 weken in de lichte fractie van de bodem en de overige fracties (ammonium, nitraat, DON en microbieel N). W16 en W32 = week 16 en week 32. FLF = free light fraction, soil = ammonium, nitraat, DON en microbieel N. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. De oorspronkelijk toegediende hoeveelheid gelabeld N is 0.005 mg ¹⁵N g⁻¹ bodem.

Figure 7.5. The amount of recovered ¹⁵N in the soil after 16 and 32 weeks, in the light fraction of the soil and the other fractions (ammonium, nitrate, DON and microbial N). W16 en W32 = week 16 en week 32. FLF = free light fraction, soil = ammonium, nitrate, DON en microbial N. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. The amount of labelled N added at the start is 0.005 mg ¹⁵N g⁻¹ soil.

In week 16 lijkt er in de andere fracties echter toch wat te gebeuren. In de kalkarme bodems komen kleine hoeveelheden gelabeld ammonium vrij, die uit de microbiële pool of uit de organische stof in de bodem zijn vrijgemaakt. In de kalkrijke bodems neemt de hoeveelheid gelabeld DON voorzichtig toe. Ook dit is waarschijnlijk een gevolg van microbiële afbraak. De bron voor deze ¹⁵N is zeer waarschijnlijk de gelabelde N die tussentijds is opgeslagen in de bodem. Na 16 en 32 weken is een deel van de tracer terecht gekomen in de lichte, labiele fractie van de organische stof in de bodem, vooral in bodems met hoge organische stofgehalten (Figuur 7.5). De opname van de toegediende tracer in de lichte fractie is onafhankelijk van de kalkgehalte. Maar bij hoge OM is tot maximaal 25-30% van de toegevoegde ¹⁵N teruggevonden, en bij lage OM slechts 6-13%. Wel wordt per g C duidelijk meer N geïmmobiliseerd in de lichte fractie dan in OM rijke bodems (Figuur 7.6). Dit duidt op een hogere microbiële activiteit per g C, net als bij de respiratie en de netto N-mineralisatie (zie hoofdstuk 6). Na 32 weken is een deel van de opgeslagen ¹⁵N tracer door mineralisatie weer vrijgekomen, behalve in de kalkarme, OM rijke duinen. Het laboratoriumexperiment kon echter gezien de uitputting van het substraat na 32 weken niet langer worden voortgezet, en de verdere ontwikkeling in N-opslag en recycling is niet bekend.



Figuur 7.6. De hoeveelheid ¹⁵N per gram C in de lichte fractie van de bodem, na 16 en 32 weken incubatie. FLF = free light fraction. W16 en W32= week 16 en week 32. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM.

Figure 7.6. The amount of ¹⁵N per gram C in the light fraction of the soil after 16 and 32 weeks of incubation. FLF = free light fraction, soil = ammonium, nitrate, DON en microbial N. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM.

7.3. conclusie

Bij een incubatieduur van vier weken bleek het organische stofgehalte van de bodem voor de respiratie en de netto N-mineralisatie nog geen rol te spelen. Dat is op een langere termijn wel zo. De OM-arme bodems houden na 16 weken op met verdere netto N-mineralisatie, waarschijnlijk als gevolg van een tekort aan substraat. In OM-rijke bodems nemen respiratie en netto N-mineralisatie wel verder toe, maar er lijkt wel een omslag plaats te vinden van immobilisatie naar het vrijkomen van N uit de microbiële massa, wat ook wijst op substraattekort. De netto N-mineralisatie is ook na 32 weken in kalkarme bodems significant hoger dan in kalkrijke bodems, mogelijk als gevolg van hogere immobilisatie in kalkrijke bodems. Maar ook op de langere termijn is de respiratie in kalkrijke bodems niet hoger dan in kalkarme bodems.

De proef met toediening van gelabeld ¹⁵N blijkt anders uit te pakken dan verwacht. Al in zeer korte tijd wordt een groot deel van de gelabelde ammonium omgezet in nitraat. Dit gaat vooral in kalkrijke bodem heel snel, maar ook in kalkarme bodems is na een week het grootste deel omgezet in nitraat, ondanks de lage pH. De hoeveelheid ¹⁵N-nitraat neemt na die eerste week nauwelijks af, en wordt onder de zuurstofrijke condities in de zandige duinbodems blijkbaar niet door micro-organismen opgenomen. Een relatief klein deel van de gelabelde ammonium wordt ingebouwd in de lichte, labiele fractie van het organisch materiaal, vooral in OM-rijke bodems. De opslag van ¹⁵N in het organische stof verschilt niet tussen kalkrijke en in kalkarme bodems. Na 16 weken komt er voorzichtig wat recycling van gelabeld N vanuit de bodem op gang. Wel lijkt de vastlegging van de toegediende tracer sterker en/of langer in DHH, de kalkarme locatie met hoge OM.

De hoge nitrificatie in het experiment leidt er echter toe dat een groot deel van de N effectief uit het microbiële systeem gesluit wordt. Dit betekent dat directe opslag van N afkomstig uit atmosferische depositie in de bodem waarschijnlijk beperkt is. Ammonium uit de atmosferische depositie wordt waarschijnlijk snel omgezet in nitraat, en nitraat wordt verder niet ingebouwd in microbiële organische stof. Wel kan nitraat uitspoelen naar het grondwater, of benut worden voor verhoogde plantengroei.

8 Verdeling van N over verschillende compartimenten

8.1 Inleiding en methoden

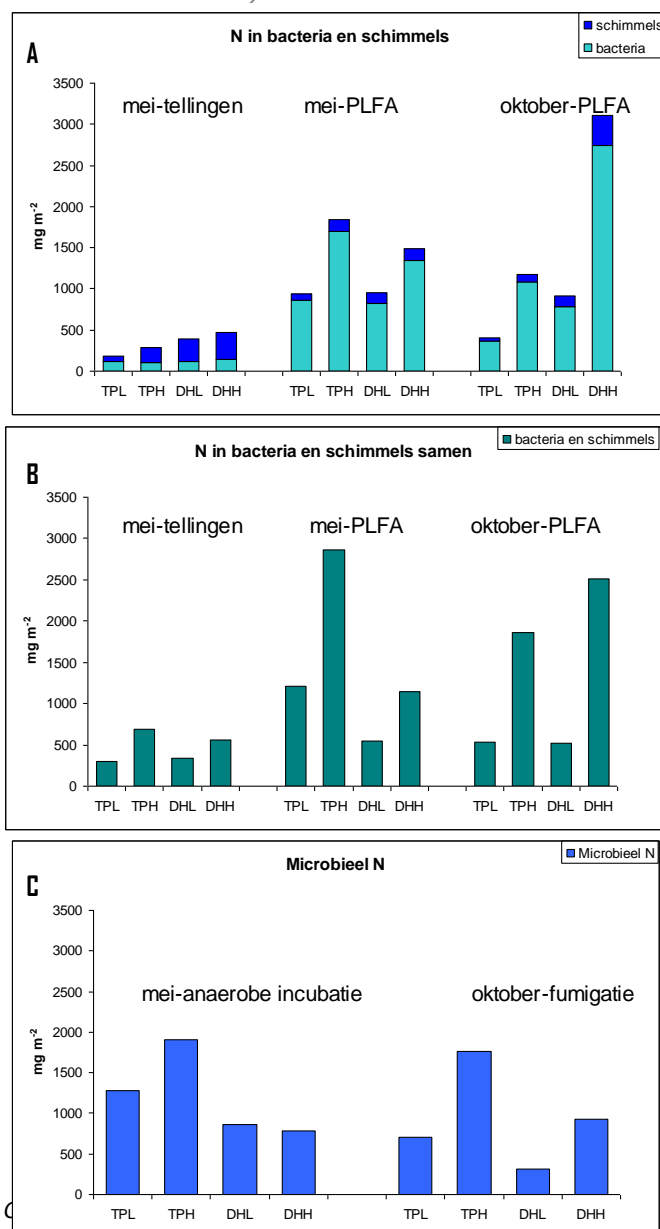
In dit hoofdstuk wordt een overzicht gegeven van de hoeveelheid N die in een bepaalde fractie van het voedselweb of in de bodem aanwezig is. Het uitgangspunt was dat het mogelijke verschil in N-beschikbaarheid voor de vegetatie tussen kalkrijke en kalkarme duinen samenhangt met een verschil in samenstelling en functioneren van het bodemvoedselweb, en daardoor uiteindelijk een verschil in vastlegging van N in de bodem. Voor de omrekening van microbiële biomassa (zie hoofdstuk 4) naar de hoeveelheid N is voor bacteriën een C:N ratio van 5 gebruikt, wat aangeeft dat ca 20% van hun lichaam uit N bestaat. Schimmels hebben in het algemeen een lager N-gehalte dan bacteriën (Hassink 1994, Moore et al. 2005). Voor de omrekening van de schimmelbiomassa naar de hoeveelheid N is een C:N ratio gebruikt van 10. Daarnaast is gebruik gemaakt van de gemeten microbiële C:N ratio, voor bacteriën en schimmels samen. Voor protozoa (amoeben en flagellaten) en mesofauna (mijten en springstaarten) zijn de aantallen gegeven in hoofdstuk 5. Op basis daarvan zijn de bulkmassa en de hoeveelheid N in de verschillende diergroepen per oppervlakte-eenheid berekend volgens Didden et al. (1994). Voor protozoa is gebruik gemaakt van een C:N ratio van 5. Voor mijten en springstaarten is gebruik gemaakt van de indicatieve gewichten, % C per eenheid van gewicht en C:N ratio per functionele groep. Voor de hoeveelheid N in de bodem en de vegetatie zijn de resultaten uit hoofdstuk 2 en 3 gebruikt. De gegevens over de netto N-mineralisatie komen uit hoofdstuk 6. Tevens is een ruwe schatting gemaakt van de jaarlijkse N-fluxen in immobilisatie, netto N-mineralisatie, atmosferische N-depositie en de bovengrondse biomassa van de kruidlaag. Voor immobilisatie is in eerdere tussenrapportages gebruik gemaakt van de hoeveelheid N die vrijkwam bij kortdurende incubatie bij hoge temperatuur en onder anaerobe condities, maar bij nader inzien bleek dit meer overeenkomst te vertonen met de hoeveelheid microbiële N. Voor de inschatting van de jaarlijkse N-fluxen is in plaats daarvan gebruik gemaakt van de gemodelleerde schattingen van de immobilisatie (zie hoofdstuk 6). Voor de omrekening naar jaarlijkse fluxen zijn eerst de maandelijkse waarden van (gemodelleerde) immobilisatie en netto N-mineralisatie in het laboratorium voor mei en oktober gemiddeld. Daarna is voor de veldmetingen van april-oktober uit Kooijman en Besse (2002), die deels in dezelfde en in ieder geval in vergelijkbare locaties zijn uitgevoerd, een schatting gemaakt van de jaarlijkse netto N-mineralisatie in het veld. De jaarlijkse veldwaarden bleken gemiddeld 3.07 keer hoger te zijn dan de maandelijkse laboratoriumwaarden. Deze correctiefactor is gebruikt om de laboratoriumwaarden op te schalen naar een schatting van de jaarlijkse (gemodelleerde) immobilisatie en netto N-mineralisatie. Dat deze waarden met enige voorzichtigheid gehanteerd moeten worden spreekt vanzelf. De jaarlijkse atmosferische depositie is op $15 \text{ kg ha}^{-1} \text{ jaar}^{-1}$ gehouden. De waarden voor N in de bovengrondse biomassa van de kruidlaag komen uit hoofdstuk 3, en worden geacht een maat te zijn voor de jaarlijkse productie. De moslaag wordt in deze vergelijking buiten beschouwing gelaten, omdat de jaarlijkse groeisnelheid hiervan niet goed bekend is, maar het is natuurlijk wel duidelijk dat de moslaag in sommige locaties een fors deel van de N in de vegetatie bevat. De moslaag wordt door het gebrek aan wortels waarschijnlijk echter vooral gevoed door de atmosferische depositie, en veel minder door N-mineralisatie in de bodem.

8.2 Resultaten

Zoals ten dele al eerder geschetst (hoofdstuk 4), is de verdeling van N over de micro-organismen niet helemaal eenduidig. Bij de tellingen in mei is de hoeveelheid bacteriën waarschijnlijk onderschat, door mogelijke vraat van amoeben en flagellaten. Dit leidt ertoe dat ook de hoeveelheid N in bacteriën erg laag is, zeker gezien de totale hoeveelheid microbieel N per m² (Figuur 8.1).

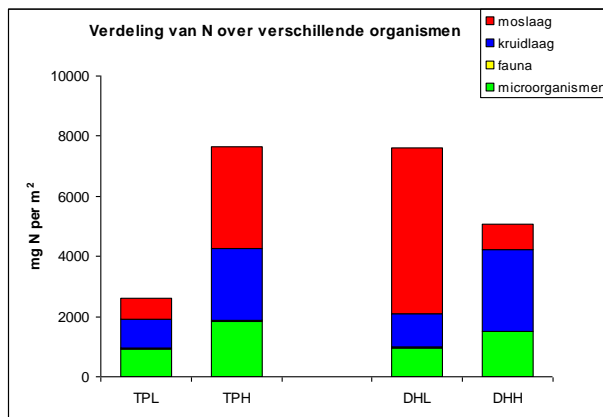
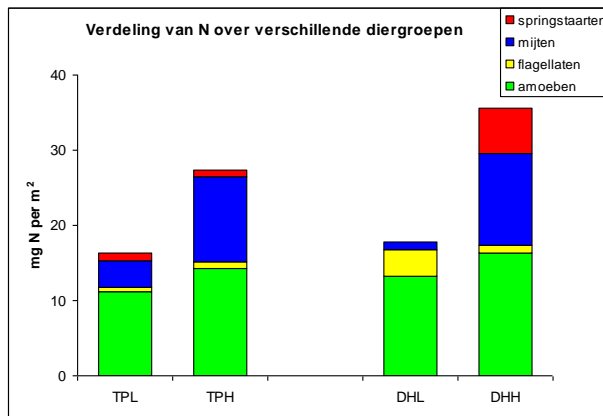
Figuur 8.1. Verdeling van N over bacteriën en schimmels, en totaal microbieel N, in verschillende bemonsteringsperioden en gebaseerd op verschillende analyses. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. De waarden zijn gemiddelden in een bepaalde bemonsteringsperiode (n = 5). Voor figuur A zijn C:N ratio's gebruikt uit de literatuur (C:N 5 voor bacteria en C:N 10 voor schimmels. Voor figuur B zijn de C:N ratio's gebruikt die bij fumigatie-extractie in de oktobermonsters zijn bepaald (TPL 4.1; TPH 3.4; DHL 9.7 en DHH 7.0).

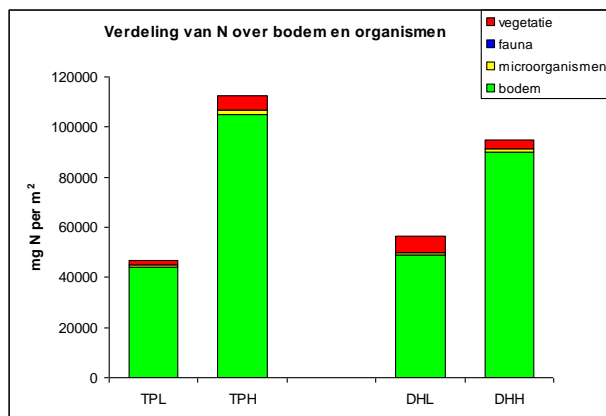
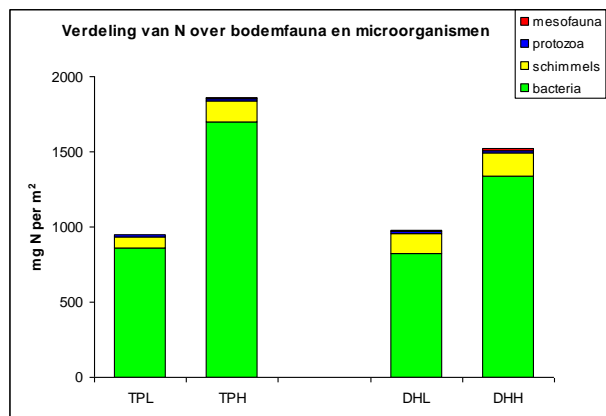
Figure 8.1. Distribution of N over bacteria and fungi, and total microbial N, in different sampling periods and based on different analyses. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. Averages (n=5) and standard deviations are given. For figure A, C:N ratios from the literature were used (C:N 5 for bacteria and C:N 10 for fungi). For figure B, the C:N ratios were used as measured by fumigation extraction in the October samples (TPL 4.1; TPH 3.4; DHL 9.7 en DHH 7.0).



Een andere discrepantie is dat de berekende hoeveelheid N in bacteriën en schimmels niet dezelfde verdeling over de locaties laat zien als microbieel N gemeten via fumigatie-extractie. Bij tellingen en PLFA-analyses is de hoeveelheid N in bacteriën en schimmels relatief hoog in DHH, de kalkarme locatie met organische stofrijke bodem. Met fumigatie-extractie, waarbij de micro-organismen door chloroformdampen gedood worden en de N in hun lichaamcellen wordt vrijgemaakt, is de hoeveelheid microbieel N in DHH juist relatief laag. Hoe dit verschil verklaard moet worden is niet geheel duidelijk. Vaak hebben kalkrijke bodems een hoger microbieel N-gehalte dan kalkarme bodems, zowel in absolute hoeveelheid als in relatieve zin in de C:N ratio (Bååth & Anderson 2003, Kooijman et al. 2008). Dat is ook hier het geval. Maar vaak hebben kalkrijke bodems ook meer bacteriën, en dat is in dit onderzoek niet het geval. Zelfs bij het gebruik van de gemeten microbiële C:N ratio, voor bacteriën en schimmels samen, is de hoeveelheid microbieel N in oktober in DHH nog aan de hoge kant. Deze discrepantie betekent mogelijk wel dat een deel van de bacteriën in kalkarme bodem wellicht helemaal geen hoog N-gehalte hebben, maar dat moet nader worden onderzocht. Als in acht wordt genomen dat de hoeveelheid bacterieel N in DHH waarschijnlijk overschat is, is de verdeling van microbieel N over bacteriën en schimmels wel geschikt voor een vergelijking van de hoeveelheid N in de verschillende compartimenten in de bodem.

De verdeling van N over de bodemfauna is niet helemaal hetzelfde als de verdeling van de aantallen amoeben, fagellaten, mijten en springstaarten uit hoofdstuk 4 (Figuur 8.2). De aantallen amoeben zijn lager dan de aantallen fagellaten, maar wat betreft N laten deze diergroepen een omgekeerd beeld zien. In alle locaties is relatief veel N opgeslagen in amoebes. Fagellaten zijn eigenlijk alleen belangrijk in DHL, de kalkarme locatie met lage OM.





Figuur 8.2. Verdeling van N over verschillende compartimenten en groepen organismen in de bodem. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. De waarden zijn gemiddelden (n = 5).

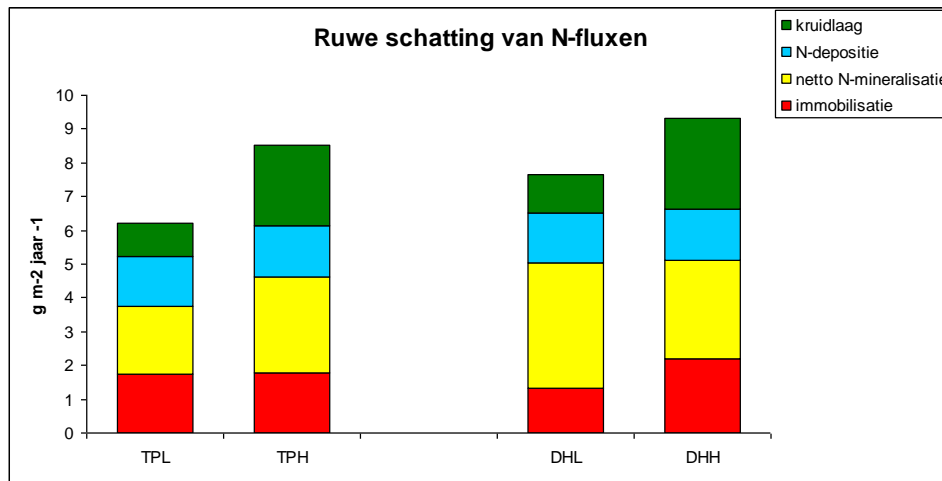
Figure 8.2. Distribution of N over different compartments and groups of organisms in the soil. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. The values are averages (n=5).

Mijten en springstaarten zijn in OM-rijke bodems wat N-opslag ongeveer even belangrijk als de protozoa, maar in OM-arme bodems is de mesofauna nog zeer zwak ontwikkeld. Wel is er verschil tussen TPL en DHL. In de kalkrijke locatie TPL waren al ca 1.8 keer zoveel mijten aanwezig als in de kalkarme DHL, maar de N-opslag in mijten is ca 3.6 keer zo hoog. Dat betekent dat er in TPL relatief grote en/of N-rijke mijten voorkomen. In de locaties met hoge organische stofgehalten, TPH en DHH, zijn dit soort verschillen niet aanwezig. Wel is de N-opslag in springstaarten hoger in de kalkarme DHH dan in de kalkrijke TPH, ondanks de lagere aantallen. Ook dit suggereert dat de springstaarten in DHH relatief groot en/of rijk aan N zijn.

De N-opslag in de bodemfauna is relatief klein vergeleken met de hoeveelheid N in bacteriën en schimmels. De rol in het bodemvoedselweb is belangrijk in de zin van het geschikt maken van bepaalde typen substraat voor een volgende groep gebruikers, en voor de afbraak van organische stof als geheel, maar wat betreft biomassa en N-opslag stelt de bodemfauna niet zo veel voor. Micro-organismen zijn in alle locaties vele malen belangrijker voor de opslag van N in de bodem.

De bodemfauna valt zelfs vrijwel helemaal weg als ook de vegetatie in de optelsom wordt betrokken. Wel is de hoeveelheid N in bacteriën en schimmels ongeveer even groot als in de kruidlaag, vooral in de bodems met lage organische stofgehalten. In OM-rijke bodems is de hoeveelheid N in de kruidlaag iets groter dan in de microbiële massa. Zoals ook eerder al besproken (hoofdstuk 3) is de hoeveelheid N in de moslaag soms kleiner dan in de kruidlaag, en soms groter. Dit heeft niet direct iets te maken

met de N-huishouding in de bodem, omdat mossen en korstmossen geen wortels hebben. Wel speelt lichtbeperking door hoge biomassa van de kruidlaag een rol in DHH. Ook wordt de moslaag waarschijnlijk voor een belangrijk deel direct gevoed door hoge atmosferische N-depositie. De hoeveelheid N in de organismen (micro-organismen, bodemfauna en vegetatie) valt echter in het niet bij de grote hoeveelheid N in de bodem. Ook dit is algemeen bekend en in eerder onderzoek gevonden (Kooijman et al. 2008). De hoeveelheid N in bacteriën en schimmels bedraagt in alle locaties slechts ca 2% van de totale hoeveelheid N in de bodem. Voor de vegetatie loopt dit op tot 3.8-13.6 %, vooral in DHH, waar *Campylopus introflexus* in de moslaag een belangrijke rol speelt.



Figuur 8.3. Grove schatting van de jaarlijkse N-fluxen in (gemodelleerde) immobilisatie, netto N-mineralisatie, atmosferische N-depositie en bovengrondse biomassa in de kruidlaag. TPL = kalkrijk, lage OM; TPH = kalkrijk, hoge OM; DHL = kalkarm, lage OM en DHH = kalkarm, hoge OM. De omrekening van de netto N-mineralisatie en immobilisatie van maandelijks laboratoriumwaarden naar jaarlijkse waarden in het veld is mede gebaseerd op eerdere veldmetingen op vergelijkbare locaties (Kooijman & Besse 2002).

Figure 8.3. Rough estimate of annual N-fluxes in (modelled) immobilization, net N mineralization, atmospheric N deposition and aboveground biomass in the herb layer. TPL = lime rich, low OM; TPH = lime rich, high OM; DHL = lime poor, low OM and DHH = lime poor, high OM. The conversion of net N mineralization and immobilization from laboratory values per month to annual values in the field is partly based on earlier field measurements on comparable locations (Kooijman & Besse 2002).

Voor de kruidlaag van de vegetatie, die daadwerkelijk van de bodem gebruik maakt, is het beter om te kijken naar de jaarlijkse N-fluxen in plaats van naar de voorraad in de bodem. Een ruwe schatting laat zien dat ook hierin de verschillen tussen de locaties betrekkelijk klein zijn. De gemodelleerde immobilisatie bedraagt volgens deze gegevens ca 20-33% van de jaarlijkse N-input via brutomineralisatie en atmosferische depositie. De jaarlijkse N-beschikbaarheid voor de vegetatie zou op deze manier ca 3.5-5.2 g m⁻² jaar⁻¹ bedragen. Deze cijfers, hoe grof ook, geven ook aan dat de atmosferische N-depositie waarschijnlijk een substantieel deel van de N-input bedraagt.

8.3 Conclusie

Ook in dit hoofdstuk zijn de verschillen tussen kalkrijke en kalkarme bodems minder prominent dan verwacht. Wel zijn er duidelijke verschillen tussen bodems met lage en hoge organische stofgehalten. In bodems met hoge OM is de N-opslag in micro-organismen, mesofauna en bovengrondse biomassa van de kruidlaag hoger dan bij lage OM. Voor protozoa en de moslaag zijn ook de verschillen tussen hoge en lage OM minder duidelijk. De hoeveelheid N opgeslagen in het bodemvoedselweb is maar een fractie van de totale hoeveelheid N in de bodem. Bodemfauna valt bij de totale hoeveelheid N vrijwel helemaal weg, en bacteriën en schimmels tellen mee voor ca 2%. In de vegetatie is iets meer N opgeslagen, soms vooral in de moslaag. Ook wat betreft de jaarlijkse N-fluxen lijken de locaties nauwelijks van elkaar te verschillen. De gemodelleerde immobilisatie bedraagt mogelijk 20-33% van de jaarlijkse bruto input, en de totale N-beschikbaarheid lijkt te variëren van 3.5-5.2 g m⁻² jaar⁻¹. Het aandeel van de atmosferische depositie, die ca. 1.5 g m⁻² jaar⁻¹ bedraagt, speelt daarbij een belangrijke rol.

9 Synthese en aanbevelingen voor het beheer

9.1 Inleiding

Het onderzoek zou moeten leiden tot meer inzicht in de respons van het bodemleven op N-depositie en opslag van N in de bodem over de gradiënt in kalkrijkdom en organische stof in grijze duinen, ter ondersteuning van het beheer en het minimaliseren van effecten van N-depositie. Hoewel de resultaten in een aantal aspecten fors afwijken van de verwachting, denken wij dat deze het inzicht in het functioneren van het duinecosysteem daadwerkelijk hebben vergroot. De onderstaande kennisvragen zijn afkomstig uit de opdracht, en worden in de volgende paragrafen beantwoord. Daarna volgen de hieruit voortvloeiende aanbevelingen voor het beheer.

Zijn de microbiële activiteit en de bruto N-mineralisatie hoger in kalkrijke dan in kalkarme duinen, terwijl de netto N-mineralisatie juist lager is? En wat is het verschil tussen OM-rijke en OM-arme bodems?

Hoe zijn de voedselgildes in microarthropoden verdeeld over kalkrijke en kalkarme duinen, en is er wat dat betreft verschil tussen OM-rijke dan in OM-arme bodems? In welke mate versterkt of verzwakt dit de microbiële respons uit vraag 1?

Hoe is de N in de bodem verdeeld over verschillende compartimenten, als stabiele en labiele organische stof? Is er wat dat betreft verschil tussen kalkrijke en kalkarme duinen, en tussen OM-rijke en OM-arme bodems?

In welke compartimenten vindt opslag van N na experimentele toediening (^{15}N) in de bodem plaats? Is er wat dat betreft verschil tussen kalkrijke en kalkarme duinen, en tussen OM-rijke en OM-arme bodems?

9.1.1 Hogere microbiële activiteit, maar lagere netto N-mineralisatie in kalkrijke of OM-rijke duinen?

Het onderzoek is gericht geweest op verschillen tussen kalkrijke en kalkarme duinbodems, en verschillen in organische stofgehalte. De onderzoeksvraag was of de microbiële activiteit en de bruto N-mineralisatie hoger zijn in kalkrijke dan in kalkarme duinen, en de netto N-mineralisatie juist lager, en wat het verschil is tussen OM-rijke en OM-arme bodems.

9.1.2 Verschillen in netto N-mineralisatie tussen kalkrijke en kalkarme duinbodems

De verschillen in netto N-mineralisatie tussen kalkrijke en kalkarme bodems zijn veel kleiner dan verwacht op grond van de literatuur (Davy & Taylor 1974, Verhoeven et al. 1990, Kooijman & Besse 2002, Kooijman et al. 2008, Kooijman & Hedenäs 2009, Kooijman & Martinez-Hernandez 2009, Kooijman & Smit 2009, Mettrop et al. 2013).

De C:N ratio van de bodem en de micro-organismen is volgens verwachting lager in kalkrijke dan in kalkarme duinen, en de hoeveelheid microbieel N hoger, wat suggereert dat er in kalkrijke duinen inderdaad meer N in bodem en micro-organismen is vastgelegd. De netto N-mineralisatie is ook inderdaad significant lager dan in de

kalkarme duinen, maar vooral in de monsters van oktober. Behalve de netto N-mineralisatie is echter ook de respiratie significant lager in kalkrijke dan in kalkarme bodems. Die zou volgens de verwachting eigenlijk hoger moeten zijn, aangezien de biologische activiteit in het algemeen hoger is in kalkrijke bodems. Ook de totale hoeveelheid micro-organismen en de bacteriële massa zijn niet hoger in de kalkrijke dan in de kalkarme duinen, maar vergelijkbaar, en in vergelijking met de kalkarme locatie DHH zelfs lager. Ook de bacteriële groeisnelheid is significant lager in kalkrijke dan in kalkarme duinen. Verder heeft kalkrijkdom wel enige invloed op de samenstelling van de bacteriële gemeenschap, maar vooral in de richting van hogere waarden voor bepaalde PLFAs in kalkarme bodems. Alleen de schimmelbiomassa gedraagt zich volgens verwachting, en is significant lager in kalkrijke dan in kalkarme bodems. Wat betreft het percentage schimmels zijn de verschillen tussen de locaties echter ook kleiner dan verwacht, doordat de schimmelbiomassa wel hoger is in de kalkarme bodems, maar de hoeveelheid bacteriën niet lager. Ook zijn er in kalkrijke bodems relatief veel onkleurbare, melaninerijke schimmels aanwezig, wat wijst op stress, maar ook op een mogelijke vorm van N-opslag.

De in dit onderzoek gestelde hypothese dat microbiële massa, respiratie en bruto-mineralisatie in kalkrijke duinen hoger zijn dan in kalkarme duinen wordt dus niet ondersteund door de resultaten. De netto N-mineralisatie is wel lager dan in de kalkarme bodems, maar dit lijkt vooral te wijten aan lagere activiteit, en minder aan hoge immobilisatie. Mogelijk speelt een rol dat ook de hoeveelheid en de groeisnelheid van bacteriën in kalkrijke bodems lager is dan verwacht, en dat een groot deel van de schimmels in kalkrijke bodem bestaan uit onkleurbare, melaninerijke hyfen, die mogelijk een bijdrage leveren aan de N-opslag in de bodem. Dit moet verder worden uitgezocht. De resultaten van dit onderzoek geven echter ook geen ondersteuning voor het traditionele beeld, dat de netto N-mineralisatie hoger zou zijn in kalkrijke bodems, juist door die hoge microbiële activiteit. In dit experiment zijn de respiratie en bacteriële groeisnelheid in kalkrijke bodems juist lager dan in kalkarme bodems. Om de resultaten van dit onderzoek in een breder perspectief te plaatsen zijn zij vergeleken met drie andere laboratoriumexperimenten met kalkrijke en kalkarme duinbodems (van der Voort 2010, Fuyita et al. 2014, Nijssen et al. 2014), waarin ook alleen de minerale bodem bemonsterd is. Ook in deze onderzoeken zijn de verschillen tussen kalkrijke en kalkarme duinen relatief klein (Tabel 9.1). In van der Voort (2010), een experiment met duinbodems uit de AWD met verschillend organische stofgehalte, waren respiratie en netto N-mineralisatie tussen kalkrijke en kalkarme monsters niet verschillend, hoewel kalkrijke bodems wel hogere gehalten hadden aan microbieel C en N. In het onderzoek van Fuyita et al. (2014), uitgevoerd met kalkrijke en kalkarme monsters uit de AWD, waren de respiratie en de microbiële massa net als in het huidige onderzoek lager in de kalkrijke duinen. De netto N-mineralisatie liet echter per kg bodem een omgekeerd patroon zien, met hogere waarden in kalkrijke bodems. Per g C was er echter geen verschil. In het begrazingsonderzoek van Nijssen et al. (2014) was de netto N-mineralisatie in de onbegraste plots in de kalkrijke bodems van het Renodunaal district echter weer net iets lager dan in de kalkarme bodems, net als in het huidige onderzoek.

Tabel 9.1. netto N-mineralisatie in vier verschillende laboratoriumexperimenten: het huidige onderzoek, van der Voort (2010), Fuyita et al. (2014) en Nijssen et al. (2014). ¹ = omdat de bulkdichtheid van deze monsters niet is bepaald, is het niet mogelijk de waarden per m² te berekenen. * = significante verschillen tussen kalkrijke en kalkarme duinbodems (p < 0.05).

Table 9.1. Net N mineralization in four different laboratory experiments: the current research, Van der Voort (2010), Fuyita et al. (2014) and Nijssen et al. (2014). ¹ = because bulk density of these samples was not determined it is not possible to calculate values per m². * = significant differences between lime rich and lime poor dune soils (p < 0.05).

			n	kalkrijk	kalkarm
dit rapport	g m ⁻² in 4 weken	AWD, lage OM	10	0.7 (0.2)	1.2 (0.4)*
		AWD, hoge OM	10	0.9 (0.4)	0.9 (0.3)
van der Voort (2010)	g m ⁻² in 6 weken	AWD, lage OM	5	1.9 (1.1)	1.3 (0.8)
		AWD, intermediaire OM	5	2.3 (1.3)	2.1 (2.2)
		AWD, hoge OM	5	1.8 (0.9)	2.9 (1.4)
Fuyita et al. (2014)	g m ⁻² in 6 weken	AWD, 33-44 jaar oud	5	3.3 (0.7)*	1.6 (0.7)
		AWD, ouder dan 75 jaar	5	5.1 (0.9)*	3.7 (1.4)
Nijssen et al (2014) ¹	mg/kg in 4 weken	Renodunaal, onbegraasd	12-20	4.3 (2.0)	5.9 (2.1)*

Dit zijn vier laboratoriumexperimenten in de duinen op een rij waarin de verschillen tussen kalkrijke en kalkarme bodems in netto N-mineralisatie kleiner zijn dan verwacht, en soms hoger zijn in kalkrijke (Fuyita et al. 2014) en soms hoger in kalkarme bodems (dit experiment, Nijssen et al. 2014). Dit lijkt in tegenspraak met de metingen in het veld van Kooijman & Besse (2002), die grote verschillen tussen kalkrijke en kalkarme bodems lieten zien. Als echter goed naar de veldmetingen wordt gekeken, zijn de verschillen vooral groot tussen de kalkrijke AWD-locatie en de kalkarme Zwanenwater-locatie in het Waddendistrict (zie Figuur 1.1.). De verschillen tussen kalkrijke en kalkarme bodems binnen de AWD zijn veel kleiner. Waarschijnlijk wordt een deel van het verschil verklaard door de aan- of afwezigheid van een ectorganische horizont. In de huidige locaties was er ook in de kalkarme duinen nauwelijks een strooisellaag aanwezig, en kon ook niet apart bemonsterd worden. Een ectorganische laag kan echter substantieel bijdragen aan de totale netto N-mineralisatie, zoals te zien was in een serie van relatief kort tot langdurig vergraste duinen (Kooijman et al. 2009). In de veldmetingen was ook in het Zwanenwater, in tegenstelling tot de AWD, een duidelijke ectorganische laag aanwezig (Kooijman & Besse 2002). De massa hiervan was ca 5-10 keer zo hoog als in de AWD, vooral als gevolg van de lage afbreekbaarheid van het helmstrooisel. De netto N-mineralisatie in het Zwanenwater was vooral zo hoog door de bijdrage van de organische horizont. Ook in bossen kan de bijdrage van de strooisellaag aanzienlijk zijn. In kalkarm beukenbos bedroeg het aandeel van de strooisellaag in de netto N-mineralisatie ca 70%, maar in kalkrijk beukenbos zorgde deze echter vooral voor immobilisatie (Kooijman et al. 2008). In goed-ontwikkelde strooisellagen op kalkarme bodems kan ook de hoeveelheid schimmels aanzienlijk zijn. Naast verschil in strooiselkwaliteit en ectorganische horizonten kan ook textuur een rol spelen in het verschil tussen kalkrijke en kalkarme bodems (Hassink 1994). Vaak zijn kalkrijke bodems relatief lemig, omdat ze ontwikkeld zijn in mergel of kalksteen in plaats van zand. Kalkrijke bodems bevatten vaak relatief veel regenwormen, maar vooral in lemige bodems. In de zandige droge duinbodems zijn die grotendeels afwezig (Nijssen et al. 2014). Wormen spelen een grote rol in de afbraak van strooisel en de mineralisatie van N (Scheu 2007). Ook leidt een hoge wormactiviteit tot een toename van bacteriën, met name doordat de uitwerpselen veel suikerhoudende slijmresten bevatten. De

afwezigheid van regenwormen in de zandige kalkrijke duinbodems zou een reden kunnen zijn voor de relatief lage bacteriële massa vergeleken met de kalkarme bodems. Ook kunnen in kalkrijke lemige bodems klei-humuscomplexen een rol spelen, die bij hoge pH en Ca-gehalten zeer stabiel kunnen zijn, en beter beschermd tegen afbraak dan in kalkarme bodems (Pulleman et al. 2005). In de zandige duinbodems zijn complexen van organisch materiaal en minerale bodem gezien de relatief kleine hoeveelheid C en N in de zware bodemfractie echter zeldzaam. Alleen in DHH, de kalkarme locatie met hoge OM, zit een substantieel deel van de C en N in de bodem in de zware fractie.

Het is mogelijk dat nog meer factoren een rol spelen, maar het huidige onderzoek laat hoe dan ook zien dat alleen een verschil in pH niet voldoende is om een duidelijk verschil in de bacteriële gemeenschap en de omzetting van C en N en te bewerkstelligen. Waarschijnlijk zijn ook andere factoren nodig, zoals verschil in strooiselkwaliteit en/of textuur. Voor het beheer van de duinen betekent dit dat, zolang er geen uitgesproken ectorganische horizonten zijn, het voor de N-beschikbaarheid van de vegetatie uiteindelijk niet zo veel uitmaakt of de bodem kalkrijk is of niet. De keuze om wel of niet te plaggen hoeft daar niet van af te hangen.

Wel is nog steeds niet goed duidelijk waarom kalkrijke duinen in zowel bodem als micro-organismen een relatief lage C:N ratio hebben, en dus relatief stikstofrijk zijn. Mogelijk speelt de lagere schimmelbiomassa, die geacht wordt een hogere C:N ratio te hebben dan bacteriën (Hassink 1994, Moore et al. 2005) toch een rol. Ook is het mogelijk dat de onkleurbare schimmels, die in kalkrijke bodem relatief talrijk zijn, relatief veel N vastleggen in melanine. Dit moet verder worden uitgezocht. Mogelijk wordt de lage C:N ratio in de bodem vooral beïnvloed door de strooiselinput. Het N-gehalte van de vegetatie is significant hoger in de kalkrijke duinen, met waarden van rond de 15-19 mg g⁻¹ in kalkrijke bodems tot 11-12 mg g⁻¹ in kalkarme bodems. Ook in bossen is de C:N ratio van de bodem lager als het N-gehalte van het strooisel hoger is (Kooijman & Cammeraat 2010). Een relatief hoog N-gehalte in de vegetatie op kalkrijke bodems lijkt een algemeen verschijnsel te zijn (Ellenberg 1974, Aerts & Chapin 2000), ook al gaat dit lang niet altijd gepaard met een hoge netto N-mineralisatie. Misschien is een hoge concentratie van N niet zinvol als andere nutriënten beperkend zijn. Misschien maken de hoge concentraties Ca in de planten op kalkrijke bodem de vegetatie extra aantrekkelijk voor begrazing, waardoor hoge N-concentraties zinvol zijn om weer snel aan te kunnen groeien. Ook hier moet meer onderzoek naar worden verricht.

9.1.3 Verschillen in microbiële activiteit en gemeenschap tussen OM-arme en OM-rijke duinbodems

In de loop van de successie nemen respiratie en netto N-mineralisatie in het algemeen toe, door de accumulatie van organische stof (Sparrius & Kooijman 2012, Fuyita et al. 2014). In het huidige experiment is de hoeveelheid micro-organismen dan ook hoger bij hogere organische stofgehalten, vooral wat betreft bacteriën.

In het huidige experiment is echter vooral opvallend dat de totale respiratie en de netto N-mineralisatie per m² in bodems met lage en hoge OM eigenlijk gelijk zijn. Bij lage OM lijkt het lage organische stofgehalte te worden gecompenseerd door een hoge activiteit per g C in de bodem.

Bij hoge OM is er wel een hoger organische stofgehalte, maar is de activiteit per g C ook lager, waardoor de totale respiratie en netto N-mineralisatie per m² min of meer hetzelfde is. Dit kwam ook naar voren uit het experiment van van der Voort (2010), en wat betreft respiratie ook uit het experiment van Fuyita et al. (2014). In het experiment van Fuyita et al. (2014) nam de respiratie wel toe van jonge naar oudere bodems, maar vanaf de leeftijd van 33-44 jaar was er eigenlijk geen verschil meer met oudere stadia. Het is niet precies bekend hoe oud de bodems in het huidige experiment zijn, maar de organische stofgehalten komen voor de lage OM-bodems ongeveer overeen met de leeftijdsklasse 33-44 jaar, en voor de hoge-OM bodems met de oudere stadia. De netto N-mineralisatie bleef in Fuyita et al. (2014) per kg bodem echter wel stijgen tot op hogere leeftijd, vooral omdat deze per g C na 6-11 jaar niet meer veranderde. Ook in het langere termijnexperiment van 32 weken in het huidige onderzoek nam de netto N-mineralisatie uiteindelijk vooral toe in de organische

stofrijke bodems, waarschijnlijk vooral als gevolg van de hogere substraatbeschikbaarheid. Aan de andere kant was er in Kooijman et al. (2009), in een monsterserie in de kalkarme duinen met verschillende vergrassingsduur, weer geen relatie zichtbaar tussen OM-gehalte van de bodem en de netto N-mineralisatie. Deze ietwat tegenstrijdige resultaten geven aan dat ook het verschil tussen bodems met lage en hoge organische stofgehalte wat betreft respiratie en netto N-mineralisatie waarschijnlijk minder prominent is dan gedacht. Voor het beheer van de duinen betekent dit dat het voor de N-beschikbaarheid van de vegetatie uiteindelijk niet zo veel uitmaakt of de bodem rijk is aan organische stof of niet, behalve bij heel jonge bodems, of als er een uitgesproken ectorganische horizont aanwezig is. In de keuze om wel of niet te plaggen moet dit worden meegenomen.

9.1.4 Verdeling van microarthropoden en voedselgildes

Naast bacteriën en schimmels spelen ook microarthropoden en protozoa een belangrijke rol in de bodem. In deze paragraaf wordt de vraag beantwoord hoe de voedselgildes in microarthropoden verdeeld zijn over kalkrijke en kalkarme duinen, en of er wat dat betreft verschil is tussen OM-rijke dan in OM-arme bodems. Ook komt aan bod in welke mate eventuele verschillen de microbiële respons uit de vraag over respiratie en netto N-mineralisatie versterken of verzwakken.

Net als de microbiële gemeenschap wordt de samenstelling van de mesofauna beïnvloed door zowel kalkrijkdom als OM. De verschillen tussen kalkrijke en kalkarme bodems zijn echter ook voor bodemfauna vrij klein. Een klein aantal taxa is kenmerkend voor kalkrijke bodems, maar de meeste komen in zowel kalkrijke als kalkarme bodems voor. Voor een hoge diversiteit lijken vooral oudere bodems met hoge organische stofgehalten noodzakelijk. De diversiteit in mijten en springstaarten is bij lage OM minstens twee keer zo laag dan bij hoge OM, waarschijnlijk vooral omdat predatoren nog relatief zeldzaam zijn. Taxa die al wel voorkomen bij lage OM zijn relatief algemeen en komen ook in de OM-rijke locaties voor. In het voedselweb gedragen diverse groepen zich echter anders dan verwacht, met name wat betreft kalkrijkdom. De bacterie-etende protozoa zouden talrijker moeten zijn in kalkrijke bodems, maar zijn dat niet. Het aantal flagellaten is zelfs significant hoger in kalkarme bodems, vooral in DHL.

Dat heeft mogelijk te maken met de bacteriële massa, die in kalkrijke bodems ook niet hoger is dan in kalkarme bodems, mogelijk door het gebrek aan regenwormen. Ook is het totaal aantal microarthropoden niet hoger in kalkarme dan kalkrijke bodems, maar gelijk.

Daarnaast is het aantal schimmeleeters juist hoger in kalkrijke bodems met lage schimmelbiomassa. Wat betreft OM zijn de patronen in voedselgildes meer volgens verwachting, met toenemende aantallen herbivoren, fungivoren, opportunisten en predatoren bij hogere organische stofgehalten, en een relatieve toename van het aandeel van de predatoren in het geheel.

Dit betekent dat ook de bodemfauna zich niet geheel gedraagt volgens de verwachting. Protozoa zijn niet talrijker in kalkrijke bodem, mogelijk omdat bacteriën dat ook niet zijn. Mijten en springstaarten zijn niet talrijker in kalkarme bodems, mogelijk omdat er geen duidelijke ectorganische horizonten zijn te vinden.

Schimmeleeters, waarvan de grazers bij zouden kunnen dragen aan een hogere N-beschikbaarheid door het losweken van N uit de schimmelwand met chitinase (Siepel & Maaskamp 1994, Siepel 1996), zijn juist talrijker in kalkrijke bodem, waar schimmels minder algemeen zijn, en de netto N-mineralisatie lager. Wel neemt de biomassa van de bodemfauna duidelijk toe bij hogere organische stofgehalten, zoals verwacht. Ook de complexiteit en diversiteit van het voedselweb zijn dan hoger. Voor het beheer betekent dit dat bij plaggen rekening gehouden moet worden met wat er wordt weggehaald. Dat is niet alleen maar organische stof in de bodem, maar ook een groot aantal bodemorganismen, ook al is de biomassa hiervan relatief klein.

9.1.5 Verdeling van N in de bodem

In deze paragraaf wordt de vraag beantwoord over hoe de N in de bodem verdeeld is over verschillende compartimenten in het ecosysteem, en of er wat dat betreft verschil is tussen kalkrijke en kalkarme duinen, en tussen OM-rijke en OM-arme bodems. Ook in dit de verdeling van N over het ecosysteem zijn de verschillen tussen kalkrijke en kalkarme bodems minder prominent dan verwacht. Wel zijn er duidelijke verschillen tussen bodems met lage en hoge organische stofgehalten. In bodems met hoge OM is de N-opslag in micro-organismen, mesofauna en bovengrondse biomassa van de kruidlaag hoger dan bij lage OM. Voor protozoa en de moslaag zijn ook de verschillen tussen hoge en lage OM minder duidelijk. De hoeveelheid N opgeslagen in het bodemvoedselweb is maar een fractie van de totale hoeveelheid N in de bodem. De N in de bodem zelf is vooral aanwezig in de lichte fractie, in de relatief verse en labiele organische stof. De zware fractie, bestaande uit stabiele aggregaten van OM en mineraal materiaal, bevat relatief weinig N, mede omdat deze in een zandige bodem relatief zeldzaam zijn. Bodemfauna valt bij de totale hoeveelheid N vrijwel helemaal weg, en bacteriën en schimmels tellen mee voor ca. 2%. In de vegetatie is iets meer N opgeslagen, soms vooral in de moslaag. Ook wat betreft de jaarlijkse N-fluxen lijken de locaties nauwelijks van elkaar te verschillen. De gemodelleerde immobilisatie bedraagt mogelijk 20-33% van de jaarlijkse bruto input, en de totale N-beschikbaarheid lijkt te variëren van 3.5-5.2 g m⁻² jaar⁻¹. Het aandeel van de atmosferische depositie, die ca. 1.5 g m⁻² jaar⁻¹ bedraagt, speelt daarbij een belangrijke rol.

9.1.6 Opslag van ¹⁵N in de bodem

In deze paragraaf wordt de vraag beantwoord in welke compartimenten opslag van N na experimentele toediening (¹⁵N) in de bodem plaats vindt, en of er wat dat betreft verschil is tussen kalkrijke en kalkarme duinen, en tussen OM-rijke en OM-arme bodems.

Bij een incubatieduur van vier weken bleek het organische stofgehalte van de bodem voor de respiratie en de netto N-mineralisatie nog geen rol te spelen. Dat is op een langere termijn wel zo. De OM-arme bodems houden na 16 weken op met verdere netto N-mineralisatie, waarschijnlijk als gevolg van een tekort aan substraat. In OM-rijke bodems nemen respiratie en netto N-mineralisatie wel verder toe, maar er lijkt wel een omslag plaats te vinden van immobilisatie naar het vrijkomen van N uit de microbiële massa, wat ook wijst op substraattekort. De netto N-mineralisatie is ook na 32 weken in kalkrijke bodems significant hoger dan in kalkarme bodems, mogelijk als gevolg van hogere immobilisatie. Maar ook op de langere termijn is de respiratie in kalkrijke bodems niet hoger dan in kalkarme bodems.

De proef met toediening van gelabeld ¹⁵N blijkt anders uit te pakken dan verwacht. Al in zeer korte tijd wordt een groot deel van de gelabelde ammonium omgezet in nitraat. Dit gaat vooral in kalkrijke bodem heel snel, maar ook in kalkarme bodems is na een week het grootste deel omgezet in nitraat, ondanks de lage pH. De hoeveelheid ¹⁵N-nitraat neemt na die eerste week nauwelijks af, en wordt onder de zuurstofrijke condities in de zandige duinbodems blijkbaar niet door micro-organismen opgenomen. Na 16 weken komt er voorzichtig wat recycling van gelabeld N vanuit de microbiële pool of organische stof in de bodem op gang. Of opslag van gelabeld N sneller of sterker plaats vindt in kalkrijke dan in kalkarme bodem kan in dit experiment slechts ten dele worden vastgesteld, door de hoge nitrificatie waardoor N effectief uit het microbiële systeem gesluit wordt.

De opslag van ¹⁵N in de (lichte fractie van) de bodem is per g C hoger bij lage dan bij hoge OM. Dit wijst net als bij respiratie en netto N-mineralisatie op een hogere microbiële activiteit per g C in relatief jonge bodems. De totale opslag van ¹⁵N in de bodem is echter hoger in bodems met hoge OM, waar na 16 en 32 weken ca 12-36% van de gelabelde N terug te vinden was in de lichte fractie. De opslag van ¹⁵N lijkt in de kalkarme DHH iets sterker te zijn dan in de kalkrijke TPH, waar de hoeveelheid gelabeld N in de bodem na 32 weken weer afnam. Het is mogelijk dat een deel van de gelabelde N in TPH weer terug in de circulatie komt, mogelijk geholpen door het relatief grote aantal schimmelgrazers, die voor vrijmaking van N uit de celwand

kunnen zorgen. Ook houdt een sterkere opslag in de bodem van DHH mogelijk verband met de hogere bacteriële massa, maar dit moet verder worden uitgezocht. De opslag van ¹⁵N in de (lichte fractie van de) bodem is dus hoger bij hoge organische stofgehalten, maar de verschillen tussen kalkrijke en kalkarme duinen zijn minder duidelijk. Wel betekent de hoge nitrificatie en het in stand blijven van de gelabelde nitraat-pool dat directe opslag van N afkomstig uit atmosferische depositie in de bodem waarschijnlijk relatief beperkt is. Ammonium uit de atmosferische depositie wordt snel omgezet in nitraat, en nitraat wordt verder niet ingebouwd in microbiële organische stof. Wel kan nitraat uitspoelen naar het grondwater, of benut worden voor verhoogde plantengroei. In dat laatste geval kan een hoge atmosferische N-depositie wel indirect tot N-opslag in de bodem leiden, via verhoogde plantengroei en strooiselininput. Dit correspondeert met de bevindingen van Aggenbach et al. (2013) en Fuyita et al. (2014), dat de hoge atmosferische depositie van de afgelopen decennia geleid lijkt te hebben tot hogere opslag van N in de bodem.

9.2 Conclusies en aanbevelingen voor het beheer

9.2.1 Conclusies

De resultaten suggereren dat een verschil in pH op zichzelf niet sterk genoeg is om het bodemecosysteem substantieel te veranderen. In veel kalkrijke en kalkarme bodems spelen ook andere factoren een rol, zoals verschil in strooiselkwaliteit en de ontwikkeling van ectorganische horizonten, of verschil in textuur en aanwezigheid van regenwormen. In de droge zandige kalkrijke en kalkarme duinbodems van de AWD zijn er echter wel duidelijke verschillen in kalkrijkdom en pH, maar nergens veel regenwormen, en vrijwel geen ectorganische horizonten aanwezig. Dit kan voor de gedeeltelijk ontkalkte middenduinen anders zijn, mede omdat daar de P-beschikbaarheid veel hoger is (Kooijman et al. 1998, Kooijman & Besse 2002), maar die zone is in dit onderzoek niet meegenomen.

Dit kan verklaren dat de verschillen tussen kalkrijke en kalkarme bodems wat betreft microbiële gemeenschap en activiteit en N-beschikbaarheid anders uitpakken dan verwacht, en relatief gering zijn. Er is anders dan verwacht ook geen sprake van een door bacteriën en protozoa gedomineerd bodemleven in kalkrijke duinen, en een door schimmels en microarthropoden gedomineerd bodemleven in kalkarme duinen. Zo zijn er wel minder schimmels in kalkrijke bodems, maar de hoeveelheid bacteriën is niet hoger dan in kalkarme bodems, en de bacteriële groeisnelheid is zelfs lager. Ook is de netto N-mineralisatie wel lager in kalkrijke bodems, maar de respiratie ook, wat aangeeft dat een lage netto N-mineralisatie niet het gevolg kan zijn van een hoge microbiële immobilisatie. Ook in de andere incubatie-experimenten met minerale bodem is er geen duidelijk verschil in netto N-mineralisatie tussen kalkrijke en kalkarme duinen.

Er is ook geen duidelijke relatie gevonden tussen de netto N-mineralisatie en het relatief hoge N-gehalte in bodem en micro-organismen. Mogelijk speelt vooral het N-gehalte van de vegetatie een rol, al is niet helemaal duidelijk waarom kalkrijke bodems planten hebben met een relatief hoog N-gehalte. Het stikstofrijkere strooisel leidt echter niet tot een hogere netto N-mineralisatie.

De opslag van (gelabeld) N is een actief proces in zowel kalkrijke als kalkarme duinbodems. Vooral bij hoge organische stofgehalten kan de opslag na 16-32 weken oplopen tot 20-36% van de toegediende hoeveelheid. Mogelijk treedt in de kalkrijke locatie TPH iets meer recycling op dan in de kalkarme DHH.

Er treedt echter ook een hoge nitrificatie op, zelfs in de kalkarme bodems. Het grootste deel van de bij afbraakprocessen vrijkomende of toegediende gelabelde ammonium wordt binnen korte tijd omgezet in nitraat. Hier wordt verder door de microbiële populatie in de goed doorluchte zandige bodem vrijwel niets mee gedaan. Dat betekent dat een hoge atmosferische N-depositie maar voor een klein deel leidt tot directe opslag van N in organische stof in de bodem. Nitraat wordt niet opgenomen

door micro-organismen, en ammonium heel snel omgezet in nitraat, wat wegspoelt naar het grondwater, of wordt opgenomen door de vegetatie.

Hoge atmosferische N-depositie kan wel indirect leiden tot verhoogde opslag van C en N in de bodem, door sterkere groei van de vegetatie. Dat betekent echter niet dat een hoger organische stofgehalte ook leidt tot een hogere netto N-mineralisatie. Bodems met hoge OM bevatten wel meer micro-organismen en bodemfauna, en vormen een sterkere N-sink dan bodems met lage OM.

De microbiële activiteit per g C is echter hoger in bodems met lage OM, waardoor respiratie en netto N-mineralisatie per saldo net zo hoog zijn als in bodems met hoge OM.

9.2.2 Aanbevelingen voor het beheer

De bovenstaande resultaten geven aan dat alleen een verschil in pH niet voldoende is om een duidelijk verschil in de bacteriële gemeenschap en de omzetting van C en N te bewerkstelligen. Waarschijnlijk zijn ook andere factoren nodig, zoals verschil in strooiselkwaliteit en/of textuur. Ook het verschil tussen bodems met lage en hoge OM in de omzetting van C en N is kleiner dan verwacht. Voor de N-beschikbaarheid van de vegetatie maakt het uiteindelijk niet zo veel uit of de bodem kalkrijk, of rijk is aan organische stof of niet, behalve bij heel jonge bodems, of als er een uitgesproken ectorganische horizont aanwezig is. De keuze om wel of niet te plaggen hoeft daar niet van af te hangen.

Wat betreft de bodemfauna maakt het wel uit. De kalkrijkdom heeft vooral invloed op de samenstelling van de bodemfauna, maar biomassa, diversiteit en complexiteit van het voedselweb zijn duidelijk hoger bij een hoger organische stofgehalte. Voor het beheer betekent dit dat bij plaggen rekening gehouden moet worden met wat er potentieel wordt weggehaald. Het gaat hierbij in eerste instantie om het aantal soorten mijten en springstaarten, maar ook om versimpeling van het bodemvoedselweb.

Plaggen kan om andere redenen dan de bovenstaande worden toegepast, zoals een hoge P-beschikbaarheid in de oppervlakkig ontkalkte middenduinen, en bij hoge organische stofgehalten in kalkarme bodems van het binnenduin (Kooijman & Besse 2002, Kooijman et al. 2009). De hoge N:P ratio van Zandzeggeblaadjes geeft echter aan dat de P-beschikbaarheid in kalkrijke duinen ook bij hoge OM nog steeds relatief laag is. Ook heeft de vegetatie in kalkrijke duinen minstens dertig jaar nodig om een duingraslandkarakter te krijgen, en is de soortensamenstelling op bodems van >75 jaar oud nog redelijk op orde (Aggenbach et al. 2013).

Op basis van dit onderzoek lijkt plaggen in kalkrijke bodems in principe onnodig. Bodems met hoge organische stofgehalten hebben geen hoge N-beschikbaarheid, geen hoge P-beschikbaarheid, maar wel een hoge diversiteit wat betreft bodemfauna, en de pH is nog hoog genoeg voor de aanwezigheid van kalkminnende plantensoorten. Wel moet de verzuring in het oog gehouden worden. In de kalkhoudende duinen is het relatief simpel om de pH te verhogen door het bevorderen van kleinschalige verstuing. Het is echter mogelijk dat de beheerder toch wil plaggen, zoals in oppervlakkig verzuurde verdroogde duinvalleien met *Campylopus introflexus* en op plekken waar verstuing onwenselijk is, zoals in het infiltratiegebied. In dat geval kan er eventueel ondiep geplagd worden, niet dieper dan nodig is om het kalkrijke zand aan de oppervlakte te krijgen. Ook moeten mogelijke winst en verlies aan biodiversiteit tegen elkaar afgewogen worden.

Voor kalkarme bodems is plaggen misschien ook niet altijd nodig. Voor de N-beschikbaarheid lijkt een hoog organische stofgehalte op zichzelf niet zo'n probleem, tenzij er dikke ectorganische horizonten gaan ontstaan. Wel kan de P-beschikbaarheid toenemen bij hogere OM, door de lossere binding met ijzer-organische stofcomplexen in plaats van P-fixatie in ijzerfosfaat (Kooijman et al. 2009). Dat kan leiden tot vergrassing, die in de kalkarme duinen veel sterker is dan in de kalkrijke duinen. Vergrassing is tot op zekere hoogte tegen te gaan door begrazing, met name wat betreft vegetatiestructuur, al lijken ook bij begrazing de effecten op bodemfauna minder gunstig (Nijssen et al. 2014).

Literatuur

Aggenbach, C.J.S., Kooijman, A.M., Bartholomeus, R.P. & Fujita, Y. 2013. Herstelbaarheid van droge duingraslanden in relatie tot accumulatie van organisch stof en stikstof in de bodem. KWR rapport 2013.028.

Aerts, M.A.P.A. & Chapin, F.S. 2000. The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of process and patterns. *Advances in ecological research* 30, 1-67.

Bååth, E. & Anderson, T.H. 2003. Comparison of soil fungal/bacterial ratios in a pH gradient using physiological and PLFA-based techniques. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 955-963.

Bloem, J. & P.R. Bolhuis. 2006. Thymidine and leucine incorporation to assess bacterial growth rate. In "Microbiological Methods for Assessing Soil Quality" (J. Bloem, D.W. Hopkins and A. Benedetti, editors). pp. 142-149. CABI, Wallingford, UK.

Bloem, J., Hopkins, D.W. & Benedetti, A. 2006. *Microbiological Methods for Assessing Soil Quality*, CABI, Wallingford, UK.

Bloem, J., G. Lebbink, K.B. Zwart, L.A. Bouwman, S.L.G.E. Burgers, J.A. de Vos & P.C. de Ruiter. 1994. Dynamics of microorganisms, microbivores and nitrogen mineralisation in winter wheat fields under conventional and integrated management. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 51, 129-143.

Bloem, J., M. Veninga & J. Shepherd. 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.

Bloem, J. & A. Vos. 2004. Fluorescent staining of microbes for total direct counts. In "Molecular Microbial Ecology Manual", 2nd edition, (Kowalchuk, G.A., De Bruijn, F.J., Head, I.M., Akkermans, A.D.L. and Van Elsas, J.D., editors), pp. 861-874. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Bobbink, R. & Hettelingh, J.P. 2010. Review and revision of empirical critical loads and dose-response relationships. Proceedings of an expert workshop, Noordwijkerhout, 23-25 June 2010.

Braak, C.J.F. ter 1988. CANOCO- a FORTRAN program for canonical community ordination by partial detrended canonical correspondence analysis, principal component analysis and redundancy analysis. Technical report: LWA 88-02, Wageningen.

Canali, S. & Benedetti, A., 2006. Soil nitrogen mineralization. In: Bloem J., Hopkins, D.W., Benedetti, A. (Eds), *Microbiological Methods for Assessing Soil Quality*, pp. 23-49. CABI, Wallingford, UK, pp. 127-135.

Cerli, C., Celi, L., Kalbitz, K., Guggenberger, G. & Kaiser, K. 2012. Separation of light and heavy organic matter fractions in soil — Testing for proper density cut-off and dispersion level, *Geoderma* 170, 403-416.

Davy, A.J. & Taylor, K. 1974. Seasonal patterns of nitrogen availability in contrasting soils in the Chiltern hills. *Journal of Ecology* 62, 793-807.

- Didden, W.A.M., J.C.Y. Marinissen, M.J. Vreeken-Buijs, S.L.G.E. Burgers, R. de Fluite, M. Geurs & L. Brussaard, 1994. Soil meso- and macrofauna in two agricultural systems: factors affecting population dynamics and evaluation of their role in carbon and nitrogen dynamics. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 51, 171-186.
- Dobben, H.F. van & Hinsberg, A. van. 2008. Overzicht van kritische depositiewaarden voor stikstof, toegepast op habitattypen en Natura 2000-gebieden. *Alterra-rapport 1654*. Alterra, Wageningen, 78 pp.
- Ellenberg, H., Weeber, H.E., Düll, R., Wirth, V. & Werner, W. 1974. *Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa*. Verlag Erich Goltze GmbH & Co, Gottingen.
- Fujita, Y., Melis, J.W.C., Kooijman, A.M. & Aggenbach C.J.S. 2014. Interactions between SOM accumulation, nutrient availability, and plant diversity in lime-rich and lime-poor dune (grassland) succession. *KWR-rapport (in press)*.
- Güsewell, S. 2004. N:P ratios in terrestrial plants: variation and functional significance. *New Phytologist* 164, 243-266.
- Hassink, J. 1994. Effects of soil texture and grassland management on soil organic C and N and rates of C and N mineralization. *Soil biology and Biochemistry* 26, 1221-1231.
- Hill, M.O. 1979. *TWINSPAN manual ecology and systematics*, New York.
- Jagers op Akkerhuis, G.A.J.M., Dimmers, W.J., van Vliet, P.C.J., Goedhart, P.W., Martakis, G.F.P. & de Goede, R.G.M. 2008. Evaluating the use of gel-based sub-sampling for assessing responses of terrestrial microarthropods (Collembola and Acari) to different slurry applications and organic matter contents. *Applied Soil Ecology* 38, 239-248.
- Jenkinson, D.S. & Powlson, D.S. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. *Soil Biology and Biochemistry* 8, 209-213.
- Keeney, D. R. & Nelson, D. W. 1982. Nitrogen-inorganic forms. In "Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties" (A. L. Page, R. H. Miller, and D. R. Keeney, Eds.), pp. 643-698. American Society of Agronomy, Madison, WI.
- Kemmers, R.H., Bloem, J. & Faber, J. 2009. De betekenis van bodembiota voor stikstofstromen naar de vegetatie in schraalgraslanden. Wageningen, Alterra, *Alterra-rapport 1979*.
- Kemmers, R.H., Brinkman, P., Bloem, J., Faber, J. & Putten, W. van der. 2011. Is bodembiodiversiteit van belang voor herstel van beekdalvegetaties? *De Levende Natuur* 112, 4-9.
- Koerselman, W. & Meuleman, A.F.M. 1996 The vegetation N:P ratio: a new tool to detect the nature of nutrient limitation. *Journal of Applied Ecology* 33, 1441-1450.
- Kooijman, A.M., Dopheide, J., Sevink, J., Takken, I. & Verstraten, J.M. 1998. Nutrient limitation and their implications for the effects of atmospheric deposition in lime-poor and lime-rich coastal dunes in the Netherlands. *Journal of Ecology* 86, 511-526.
- Kooijman, A.M. & Besse, M. 2002. The higher availability of N and P in lime-poor than lime-rich coastal dunes in the Netherlands. *Journal of Ecology* 90, 394-403.
- Kooijman, A.M., Besse, M. & Haak, R. Effectgerichte maatregelen tegen verzuring en eutrofiering in open droge duinen. 2005. Directie Kennis, Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, rapport DK 2005/dk008-O.

- Kooijman, A.M., Kooijman-Schouten, M.M. & Martinez-Hernandez, G.B. 2008. Alternative strategies to sustain N-fertility in acid and calcareous Beech forests: low microbial N-demand versus high biological activity. *Basic and Applied Ecology* 9, 410-421.
- Kooijman, A.M. & Hedenäs, L. 2009. Changes in nutrient availability from calcareous to acid wetland habitats with closely related brownmoss species: increase instead of decrease in N and P. *Plant and Soil* 324, 267-278.
- Kooijman, A.M., Lubbers, I. & Til, M. van 2009. Iron-rich dune grasslands: Relations between soil organic matter and sorption of Fe and P. *Environmental Pollution*, 157: 3158-3165.
- Kooijman, A.M. & Martinez-Hernandez, G.B. 2009. Effects of litter quality and parent material on organic matter characteristics and N-dynamics in Luxembourg beech and hornbeam forests. *Forest Ecology and Management* 257, 1732-1739.
- Kooijman, A.M. & Smit, A. 2009. Paradoxical differences in N-dynamics between Luxembourg soils: litter quality or parent material? *European Journal of Forest Research* 128, 555-565.
- Kooijman, A.M. & Cammeraat, L.H. 2010. Biological control of beech and hornbeam on species richness via changes in the organic layer, pH and soil moisture characteristics. *Functional Ecology* 24, 469-477.
- Kowalchuk, G.A., Stephen, J.R., Boer, W. de, Prosser, J.I., Embly, T.M. & Woldendorp, J.W. 1997. Analysis of Ammonia-Oxidizing Bacteria of the b Subdivision of the Class *Proteobacteria* in Coastal Sand Dunes by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis and Sequencing of PCR-Amplified 16S Ribosomal DNA Fragments. *Applied and Environmental Microbiology* 63, 1489-1497.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic press London. 889 pp.
- Mettrop, I.S., Cusell, C., Kooijman, A.M. & Lamers, L.P.M. 2014. Nutrient and carbon dynamics in peat from rich fens and *Sphagnum*-fens during different gradations of drought. *Soil Biology & Biochemistry*, in press.
- Michel, P.H. & Bloem, J. 1993. Conversion factors for estimation of cell production rates of soil bacteria from thymidine and leucine incorporation. *Soil Biology and Biochemistry* 25, 943-950.
- Moore, J.C., McCann, K. & Ruiters, P.C. de 2005. Modeling trophic pathways, nutrient cycling, and dynamic stability in soils. *Pedobiologia* 49, 499-510.
- Nijssen, M., B. Wouters, J. Vogels, A. Kooijman, H. van Oosten, C. van Turnhout, M. Wallis de Vries, J. Dekker & I. Janssen, 2014. Begrazingsbeheer in relatie tot herstel van faunagemeenschappen in droge duingraslanden. Eindrapportage 2009-2013. Rapport OBN/2014. Samenstelling Stichting Bargerveen, IBED-UvA, SOVON Vogelonderzoek Nederland, Zoogdiervereniging, RAVON en De Vlinderstichting in opdracht van Directie Kennis van het Ministerie van Economische Zaken, Den Haag.
- Nordgren, A, 1988, Apparatus for the continuous long-term monitoring of soil respiration rate in larger numbers of samples. *Soil Biology and Biochemistry* 20, 955-958.
- Phoenix, G.K., Booth, R.E., Leake, J.R., Read, D.J., Grime, J.P. & Lee, J.A. 2003. Effects of enhanced nitrogen deposition and phosphorus limitation on nitrogen budgets of semi-natural grasslands. *Global Change Biology* 9, 1309-1321.

- Pulleman, M.M., Six, J., Breemen, N. van, & Jongmans, A.G. 2005. Soil organic matter distribution and microaggregate characteristics as affected by agricultural management and earthworm activity. *European Journal of Soil Science* 56, 453-467.
- Rønn R., Ekelund F. & Christensen S. 1995. Optimizing soil extract and broth media for MPN-enumeration of naked amoebae and heterotrophic flagellates in soil. *Pedobiologia*, 39, 10-19.
- Scheu, S. 1997. Effects of litter (beech and stinging nettle) and earthworms (*Octolasion lacteum*) on carbon and nutrient cycling in beech forests on a basalt-limestone gradient: a laboratory experiment. *Biology and Fertility of Soils* 24, 384-393.
- Siepel, H. & F. Maaskamp, 1994. Mites of different feeding guilds affect decomposition of organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 26, 1389-1394.
- Siepel, H. 1996. Biodiversity of soil microarthropods: the filtering of species. *Biodiversity and Conservation* 5, 251-260.
- Siepel, H. & M. Nijssen 2010. Role and development of soil fauna. In: Fanta, J. & H. Siepel. *Inland drift sand landscapes*. KNNV-Uitgeverij, Driebergen, 157-172.
- Sjöberg, R.M. & Persson, T. 1998. Turnover of carbon and nitrogen in coniferous forest soils of different N-status and under different $^{15}\text{NH}_4$ -application rate. *Environmental Pollution* 102, 385-393.
- Smrz, J. 2002. Microanatomical and microbiological characteristics of the quiescent state of *Scutovertex Minutus* (Acari: Oribatida). *Experimental and Applied Acarology* 27, 103-112.
- Sparrius, L.B. & Kooijman, A.M. 2012. Nitrogen deposition and soil carbon content affect nitrogen mineralization during primary succession in acid inland drift sand vegetation. *Plant Soil* 364, 219-228.
- Stange, C.F., Spott, O., Apelt, B. & Russow, R.W.B. 2007. Automated and rapid online determination of 15N abundance and concentration of ammonium, nitrite or nitrate in aqueous samples by the SPINMAS technique, *Isotopes in Environmental Health Studies* 43, 227-236.
- Swift, M.J., Heal, O.W. & Anderson, J.M. 1979. *Decomposition in terrestrial ecosystems*. University of California Press, Berkeley.
- Til, M. van & Mourik, J. 1999. Hieroglyfen in het zand. *Vegetatie en landschap van de Amsterdamse Waterleidingduinen*. Gemeentewaterleidingen Amsterdam, 272 pp.
- Veer, M. 1998. Effects of grass-encroachment and management measures on vegetation and soil of coastal dry dune grasslands. PhD-thesis University of Amsterdam.
- Verhoeven J.T.A., Maltby, E. & Schmitz, M.B. 1990. Nitrogen and phosphorus mineralization in fens and bogs. *Journal of Ecology* 78, 713-726.
- Voort, J. van der. 2010. The effect of carbon on grass-encroachment in the Dutch coastal dunes: A case study in the Amsterdamse Waterleidingduinen. MSc-report Universiteit van Amsterdam.