



# Tussenrapport 2<sup>e</sup> fase O+BN hellingschraallanden onderzoek

*Resultaten 2e jaar, mei 2011-mei 2012*

O+BN project 2010-04



Toos (C.G.E.) van Noordwijk, Maaïke (M.J.) Weijters, Nina (N.A.C.) Smits, Remco Versluijs, Jan Kuper, Rik (H.P.J.) Huiskes, Wim Dimmers, Roland Bobbink & Henk Siepel



Radboud Universiteit Nijmegen



## Colofon

Oprachtgever:	Bosschap, bedrijfschap voor bos en natuur in opdracht van Directie Kennis en Innovatie, Ministerie van Economische Zaken, Landbouw en Innovatie.
Titel:	Tussenrapport 2e fase O+BN hellingschraallanden onderzoek, resultaten 2e jaar, mei 2011–mei 2012
Auteur(s):	Toos (C.G.E.) van Noordwijk, Maaïke (M.J.) Weijters, Nina (N.A.C.) Smits, Remco Versluijs, Jan Kuper, Rik (H.P.J.) Huiskes, Wim Dimmers, Roland Bobbink & Henk Siepel
Rapportnummer:	2012.072

Citeren als: Noordwijk, C.G.E. van, M.J. Weijters, N.A.C. Smits, R. Versluijs, J. Kuper, H.P.J. Huiskes, W. Dimmers, R. Bobbink & H. Siepel (2012) Tussenrapport 2e fase O+BN hellingschraallanden onderzoek, resultaten 2e jaar, mei 2011–mei 2012. Stichting Bargerveen rapport 2012.072. 51p.

Niets uit dit rapport mag worden gereproduceerd, opnieuw vastgelegd, vermenigvuldigd of uitgegeven door middel van druk, fotokopie, microfilm, langs elektronische of elektromagnetische weg of op welke andere wijze dan ook zonder schriftelijke toestemming van de auteurs.

### Informatie:

Stichting Bargerveen  
Postbus 9010  
6500 GL Nijmegen  
t (024) 7410700  
www.stichtingbargerveen.nl

© Stichting Bargerveen, Nijmegen 2012.

# Inhoudsopgave

Samenvatting.....	4
1. Inleiding .....	6
1.1 Context .....	6
1.2 Focus huidig onderzoek.....	6
1.3 Leeswijzer .....	7
1.4 Onderzoekscombinatie .....	7
1.5 Opgeleverde producten.....	7
1.6 Financiële verantwoording.....	8
1.7 Planning.....	8
2. Onderzoeksoopzet uitbreiding areaal hellingschraalland.....	10
2.1 Onderzoeksvragen .....	10
2.2 Aanpak.....	10
2.3 Methode & onderzoeksuitvoering 2011 .....	12
3. Resultaten uitbreiding areaal hellingschraalland.....	16
3.1 Bodement experiment.....	16
3.2 Introductie-experimenten fauna .....	20
3.3 Populatieontwikkeling Veldparelmoervlinder .....	20
3.4 Analyse Microarthropoden.....	21
4. Onderzoeksoopzet verstoorde stikstofhuishouding heischrale vegetatie .....	24
4.1 Achtergrond en Onderzoeksvragen .....	24
4.2 Onderzoeksstrategie .....	24
4.3 Methodiek.....	25
5. Resultaten Stikstofhuishouding heischrale vegetatie .....	30
5.1. Resultaten veldmetingen .....	30
5.2 Resultaten Kolomexperiment (onderzoeksvraag d) .....	34
6. Voorlopige conclusies .....	39
Dankwoord.....	41
Literatuur .....	42
Bijlage 1. Aangepaste methode voor bemonstering fauna uit bodemplaggen .....	43
Bijlage 2. Bodemchemie methode .....	44
Bijlage 3. Methode PAA meting .....	45
Bijlage 4. Bodemchemie entmateriaal .....	46
Bijlage 5. Locaties bodembemonstering .....	47
Bijlage 6. Figuren resultaten bodemchemische metingen in voorjaar en najaar... ..	49

## Samenvatting

Het voorliggende rapport beschrijft de resultaten van het O+BN onderzoek “Hellingschraallanden 2e fase” onderzoeksjaar 2011-2012. Doel van dit onderzoek is het ontwikkelen van kennis die bijdraagt aan herstel van bestaande hellingschraallanden en de ontwikkeling van nieuwe hellingschraallanden op voormalige landbouwgronden. Het onderzoek op voormalige landbouwgrond sluit aan op reeds eerder gestarte veldexperimenten in kleine proefvlakken en op landschapsschaal. In 2011 heeft het onderzoek naar de mogelijkheden voor uitbreiding van hellingschraalland op voormalige landbouwgrond zich geconcentreerd op de vraag of kleinschalig bodementen zinvol is als aanvullende inrichtingsmaatregel. Daarnaast zijn de populatieontwikkelingen van drie sprinkhaansoorten en de Veldparelmoervlinder gevolgd en is een herintroductie-experiment opgezet voor de Bombardeerkever. In het onderzoek naar de verstoorde nutriëntenhuishouding in het heischrale deel van bestaande hellingschraallanden is in dit tweede onderzoeksjaar getracht meer inzicht te krijgen in de locaties met hoge en lage nitrificatiesnelheden en in de mogelijkheden deze snelheden onder labomstandigheden te beïnvloeden.

Bij het opstarten van het bodement experiment in de proefvlakken van het grootschalige experiment op de Verlengde Winkelberg bleek dat diverse faunagroepen aanwezig zijn in bodemmateriaal uit goed ontwikkelde hellingschraallanden die als donorgebied fungeren. Dit betreft zowel verschillende macrofaunagroepen zoals kevers, duizendpoten en regenwormen als microarthropoden zoals mijten en springstaarten. In het bodemmateriaal uit de donorterreinen werden ook een aantal macrofaunagroepen aangetroffen waarvan bekend is dat ze weinig mobiel zijn en waarvan eerder is gebleken dat ze niet in staat zijn met maaisel mee te komen. Het gaat daarbij met name om pissebedden, miljoenpoten, duizendpoten en huisjesslakken. Deze groepen bleken momenteel nog weinig aanwezig te zijn in de ontgronde proefvlakken, terwijl ze wel een belangrijke functie vervullen in het ecosysteem (afbraak van plantenmateriaal). Met name voor deze groepen zou (kleinschalig) bodementen een waardevolle aanvullende maatregel kunnen zijn bij het omvormen van voormalige landbouwgrond tot hellingschraalland. Ook microarthropoden kunnen met bodemmateriaal worden overgebracht, maar nader onderzoek in 2012 moet nog uitwijzen of deze groepen niet ook al via maaisel of meeliftend met grotere dieren meekomen.

Bij het volgen van de populaties van een aantal markante insectensoorten bleek dat de Veldparelmoervlinder zich gevestigd heeft in beide proefvlakken die ontgrond zijn en waar maaisel is opgebracht. In beide delen zijn diverse rupsennesten aangetroffen, ook na de winter. De proefvlakken lijken daarmee gefungeerd te hebben als buffer voor de populatie op de Winkelberg zelf, waar in het voorjaar van 2012 tot nu toe geen rupsennesten zijn gevonden. Dit illustreert hoe belangrijk de uitbreiding van hellingschraalland nabij bestaande reservaten is als uitwijkmogelijkheid voor faunasoorten wanneer de reservaten tijdelijk minder geschikt zijn. Van de drie geïntroduceerde sprinkhaansoorten heeft één, het Negertje zich weten te handhaven in het grootschalige experiment. Daarmee lijkt het erop dat het gebied op zijn minst voor deze soort inmiddels redelijk geschikt is. Deze ontwikkelingen zullen in 2012 verder gevolgd worden als onderdeel van een uitgebreide meting van de aanwezige flora en fauna in de proefvlakken van het grootschalige experiment.

Uit het 1e fase onderzoek is gebleken dat in het heischrale deel van de hellingen de stikstofhuishouding vaak verstoord is: de nitrificatiesnelheid in de bodem is (zeer) laag, waardoor ammonium in plaats van nitraat de dominante N-vorm is voor de vegetatie. Dit is in

potentie een ernstige bedreiging voor gevoelige soorten. Toch zijn er toen ook al enkele plekken aangetroffen waar de nitrificatie minder geremd was. Deze locaties zijn in potentie zeer geschikt om als entmateriaal te dienen en zijn daarom in 2011 nader bodemchemisch onderzocht. Er blijken inderdaad ook in het heischrale deel van de gradiënt (o.a. Hoefijzer) plekken te zijn waar de potentiële nitrificatie (bijna) net zo hoog is als in het kalkgrasland. Ook zijn wederom meerdere locaties gevonden waar de nitrificatie juist zeer laag is (Koeberg, Tiendeberg, en een deel van de Winkelberg).

In 2011 is een experiment opgezet waarbij de potentiële nitrificatiesnelheid in het lab wordt gemeten in intakte bodemkolommen. Op basis van de lage gemeten potentiële nitrificatiesnelheden is besloten om het experiment uit te voeren met materiaal van de Koeberg en Tiendeberg. In de eerste maanden van dit laboratoriumexperiment is gebleken dat in deze bodemkernen de nitraatvorming duidelijk hoger is dan in het veld, vooral voor de Koeberg. Dit heeft mogelijk te maken met het feit dat deze kernen geen vegetatie bevatten. Vervolgens zijn de bodemkernen geënt (bodemslurrie of – kruimels) met materiaal van kernen waar de hoogste nitraatproductie werd gemeten. In de eerste drie maanden zijn nauwelijks nog effecten gemeten van dit enten, alleen bodemslurrie lijkt in de kernen van de Koeberg de nitrificatie wat te verhogen. Er is daarom besloten om de bodemkernen nogmaals (begin mei 2012) te enten, maar nu met materiaal uit het Hoefijzer waar langdurig de hoogste potentiële nitrificatiesnelheden zijn gemeten van alle heischrale vegetaties op de hellingen. Daarnaast zal in 2012 een kleinschalig veldexperiment worden gestart waarbij wordt gekeken naar de effecten van bodementen in het veld. Daarbij wordt ook gekeken naar het effect van de vegetatie en wordt de kieming en vestiging van Valkruid (*Arnica montana*) als succesparameter gebruikt. Verder is nog wel opmerkelijk dat lage nitrificatiesnelheden niet altijd samen lijken te gaan met een minder goede vegetatieontwikkeling van het heischrale deel (Tiendeberg).

# 1. Inleiding

## 1.1 Context

De Zuid-Limburgse kalkgraslanden en heischrale graslanden behoren tot de soortenrijkste habitattypen van Nederland en herbergen een groot aantal planten- en diersoorten die in Nederland min of meer tot deze hellingschraallanden beperkt zijn. Uit de 1<sup>e</sup> fase van het O+BN onderzoek naar de ecologische achteruitgang en de mogelijkheden voor herstel van de flora en fauna van de Zuid-Limburgse hellingschraallanden (Smits et al. 2009; van Noordwijk 2011) is gebleken dat de overleving van karakteristieke planten- en diersoorten van de hellingschraallanden ernstig wordt bedreigd door zowel knelpunten binnen bestaande natuureservaten als door de hoge mate van versnippering en isolatie van het leefgebied.

Uitbreiding van het areaal hellingschraalland is ruimtelijk gezien mogelijk op voormalige landbouwgrond die veelal in het laatste decennium in handen is gekomen van natuurbeheerinstanties. Vooralsnog ontbreekt echter kennis over hoe en op welke tijdschaal succesvol hellingschraalland ontwikkeld kan worden. Ontwikkeling van gebieden nabij bestaande reservaten draagt het meest bij aan duurzaam behoud van kwetsbare populaties doordat populaties groter kunnen worden en meerdere sub-populaties kunnen vormen die met elkaar in verbinding staan.

Bij herstel van hellingschraalland vanuit voormalig agrarisch gebruik moeten allereerst de abiotische condities hersteld worden. Vervolgens zijn maatregelen nodig om te zorgen dat karakteristieke planten- en diersoorten er ook kunnen komen. Bij ontwikkeling van nieuwe hellingschraallanden op voormalige landbouwgrond treedt er een aantal knelpunten op, zoals de zeer beperkte dispersie vanuit bronpopulaties en de ernstig verstoorde abiotische omstandigheden (o.a. zeer hoge fosfaatgehalten). Als kolonisatie niet spontaan gebeurt, dan blijkt het inbrengen van maaisel een oplossing te zijn. Deze methode lijkt op korte termijn (3-4 jaar) effectief voor herstel van verscheidene plantensoorten van kalkgraslanden en heischrale graslanden, voor fauna zijn de resultaten nog onduidelijk.

De 1<sup>e</sup> fase van het O+BN onderzoek in de hellingschraallanden heeft daarnaast inzicht verschaft in de belangrijkste knelpunten binnen bestaande reservaten. Duidelijk is geworden dat het huidige beheer in de meeste reservaten niet leidt tot volledig herstel van de vegetatie en bodemcondities en zelfs tot gevolg heeft dat de karakteristieke entomofauna verder blijft achteruit gaan. Voor de heischrale vegetatie is uit de 1<sup>e</sup> fase naar voren gekomen dat de stikstofhuishouding in de bodem sterk verstoord is waardoor karakteristieke plantensoorten niet meer kunnen kiemen en vestigen. Voor behoud van de heischrale graslanden in het heuvelland is het van essentieel belang te ontrafelen wat de oorzaak is van het gebrek aan nitrificatie en hoe dit proces weer op gang geholpen kan worden.

## 1.2 Focus huidig onderzoek

Om op korte termijn te komen tot aanzienlijk herstel van de sterk aangetaste en bedreigde Zuid-Limburgse hellingschraallandcomplexen is een onderzoeksstrategie nodig waarin de mogelijkheden voor uitbreiding van het areaal hellingschraalland en beheermaatregelen ter

verbetering van de kwaliteit van bestaande hellingschraallandreservaten in samenhang worden onderzocht. Het huidige O+BN onderzoek “Hellingschraallanden 2<sup>e</sup> fase” richt zich daarbij op twee thema’s. Het eerste deel is gericht op de mogelijkheden voor herstel van soortenrijk hellingschraalland op voormalige landbouwgrond. Het tweede onderzoeksonderdeel richt zich op het ontrafelen van het mechanisme achter de geremde nitrificatie in de heischrale vegetatiezone en het ontwikkelen van maatregelen om dit knelpunt op te lossen.

### 1.3 Leeswijzer

In de voorliggende tussenrapportage staan de resultaten van het tweede onderzoeksjaar van het O+BN project hellingschraallanden 2<sup>e</sup> fase. Resultaten uit dit project uit de periode 2010-2011 alsmede resultaten van de start van het grootschalige experiment op de Verlengde Winkelberg in opdracht van Stichting het Limburgs Landschap (periode 2007-2010) zijn terug te vinden in het eerste tussenrapport (van Noordwijk et al. 2011).

In het huidige rapport zijn de beschrijvingen van methode en resultaten van de twee onderzoeksonderdelen gesplitst. De gebruikte methoden voor het onderzoek naar herstel van hellingschraalland op voormalige landbouwgrond staan beschreven in hoofdstuk 2. De resultaten van dit onderzoek zijn te vinden in hoofdstuk 3. In hoofdstuk 4 staan de methoden van het onderzoek naar de stikstofhuishouding in de heischrale vegetatie. In hoofdstuk 5 staan de resultaten van dit onderzoek. In hoofdstuk 6 zijn de voorlopige conclusies voor het beheer van het gehele onderzoeksproject samengebracht.

### 1.4 Onderzoekscombinatie

Het in deze rapportage beschreven onderzoek is uitgevoerd door de volgende onderzoeksinstituten: Stichting Bargerveen (hoofdaannemer en projectleiding), B-Ware en Alterra. De dagelijkse uitvoering van het project is in handen van een projectgroep bestaande uit:

- Toos van Noordwijk    Stichting Bargerveen    Projectleiding & onderzoek insecten
- Maaïke Weijters    B-Ware    Onderzoek bodemchemie
- Nina Smits    Alterra    Onderzoek vegetatie & microarthropoden
- Roland Bobbink    B-Ware    Onderzoek bodemchemie
- Jan Kuper    Stichting Bargerveen    Onderzoek insecten
- Eva Remke    Stichting Bargerveen    Kwaliteitsborging

### 1.5 Opgeleverde producten

Deze tussenrapportage is conform de offerte het tweede opgeleverde product binnen het OBN project “Hellingschraallanden 2<sup>e</sup> fase”. In het afgelopen jaar zijn daarnaast de volgende (internationale) publicaties verschenen over het OBN hellingschraallanden onderzoek:

- Van Noordwijk C.G.E., Flierman D.E., Remke E., WallisDeVries M., Berg M.P., *In press*. Impact of grazing management on hibernating caterpillars of the butterfly *Melitaea cinxia* in calcareous grasslands. *Journal of Insect Conservation*. Doi:10.1007/s10841-012-9478-z.



- Van Noordwijk, C.G.E., Boer, P., Mabelis, A.A., Verberk, W.C.E.P., Siepel, H., 2012. Life-history strategies as a tool to identify conservation constraints: A case-study on ants in chalk grasslands. *Ecological Indicators*. 13: 303-313.
- Berg, M.P., C.G.E. van Noordwijk & A. Kruithof, 2011. De Brede pissebed *Porcellio dilatatus* komt nog vrijlevend voor in Nederland (Isopoda:Porcellionidae). *Nederlandse Faunistische Mededelingen* 35: 45-51.
- Van Noordwijk, C.G.E., 2011. Using life-history analysis to improve restoration management. *Proceedings of the Netherlands Entomological Society Meeting* 22: 79-89.

In de loop van 2012 en 2013 zullen één of meer Nederlandstalige publicaties volgen. Tegen het eind van het project (voorjaar 2013) zal een workshop gehouden worden voor beheerders en zal de verkregen kennis worden verspreid via diverse internetpagina's (o.a. [www.natuurkennis.nl](http://www.natuurkennis.nl)) en middels een eindrapport.

## 1.6 Financiële verantwoording

De financiële verantwoording van het tweede projectjaar (1 mei 2011 tot 1 mei 2012) wordt separaat opgeleverd.

## 1.7 Planning

Het onderzoek ligt over het algemeen goed op schema. In tabel 1.1 is de planning uit de offerte opgenomen en is aangegeven welke onderdelen volgens planning zijn uitgevoerd (ok) en waar wijzigingen zijn opgetreden (zie voetnoten). Alle wijzigingen zijn vooraf overlegd met en goedgekeurd door het Deskundigenteam Heuvelland.

*Tabel 1.1. Planning van het onderzoek op basis van de offerte met vermelding van de huidige voortgang (kolom Uitvoering). Zie voetnoten voor toelichting. De Kolom vraag verwijst naar de onderzoeksvragen zoals beschreven in hoofdstuk 2 (uitbreiding areaal) en 4 (stikstofhuishouding).*

Onderzoek	Partner	Vraag	2010	2011	2012	Uitvoering
<b>I) Uitbreiding areaal hellingschraalland</b>						
Kleinschalige experimenten						
Beheer kleinschalige experimenten	Alterra	a,b	x	x	x	OK
Metten vegetatie kleinschalige experimenten	Alterra	a,b			x	nvt
Metten bodemcondities kleinschalige experimenten	B-ware	a,b			x	nvt
Grootschalig experiment Verlengde Winkelberg						
Metten vegetatie grootschalig experiment	Alterra	a,b,f	x		x	OK
Metten bodemcondities grootschalig experiment	B-ware	a,b,f	x		x	OK
Metten fauna grootschalig experiment	Bargerveen	d,f	x		x	OK <sup>1</sup>
Uitvoeren 2e keer maaisel opbrengen	Bargerveen	d	x			OK <sup>1</sup>



Onderzoek effectiviteit 2e keer maaisel opbrengen fauna	Bargerveen	d	x	x	OK <sup>1</sup>
Fenologische opnamen voor maaien tbv 2e keer maaisel opbrengen	Alterra	a	x		OK <sup>1</sup>
Uitvoeren kleinschalig bodem enten	Alterra/Bargerveen	e	x		OK <sup>2</sup>
Meten effectiviteit bodementen microarthropoden	Alterra	e	x	x	OK <sup>2</sup>
Meten effectiviteit bodementen macrofauna	Bargerveen			x	OK <sup>2</sup>
Meten effectiviteit bodementen mychorriza	B-ware	e		x	nvt
Deskstudy planteneigenschappen	Alterra	c		x	nvt
<b>II) Stikstofhuishouding</b>					
Labexperiment nitrificatie gedegradeerde en referentie situatie	B-ware	a	x		OK
Bodembiota	Alterra	c	x		OK
Bodemkolommen experiment beheermaatregelen	B-ware	d	x	x	In uitvoering
Kleinschalig veldexperiment beheermaatregelen	B-ware	e		x	Start mei 2012

Toelichting veranderingen in de planning:

- <sup>1</sup> Planning is in het eerste projectjaar aangepast (zie van Noordwijk et al. 2011), verloop in het afgelopen jaar volgens die bijgestelde planning.
- <sup>2</sup> Uitvoering van het bodem enten was voorzien voor eind 2010, maar kon helaas nog niet gestart worden i.v.m. de weersomstandigheden (vroeg en lange vorstperiode) en aangescherpte eisen ten aanzien van mogelijk verstorende werkzaamheden in Natura 2000 terreinen. Gezien de hoge temperaturen in april 2011 die naar verwachting een sterk negatieve invloed zouden hebben op de slagingskans van het bodementen is dit onderdeel in overleg met het DT Heuvelland uitgevoerd in november 2011.

## 2. Onderzoekopzet uitbreiding areaal hellingschraalland

### 2.1 Onderzoeksvragen

De centrale vraag in dit onderzoeksonderdeel is op welke wijze en in welke mate soortenrijk hellingschraalland gecreëerd kan worden op voormalige landbouwgrond. Specifiek zijn hiervoor de volgende onderzoeksvragen geformuleerd:

- a) Is het afplaggen van de nutriëntenrijke toplaag en het opbrengen van soortenrijk maaisel ook op de lange termijn effectief voor herstel van de vegetatie?
- b) Zorgt het voor een duurzaam voedselarmere bodem?
- c) Voor welke plantensoorten werkt uitleggen van maaisel niet en welke maatregel is in dit geval wel effectief?
- d) Hoe herstelt de fauna zich na ontgronden? Voor welke diergroepen is uitleggen van maaisel effectief en voor welke diergroepen moeten andere maatregelen worden getroffen?
- e) Treed er een gebrek op aan essentiële bodembiota zoals specifieke functionele groepen van mijten, springstaarten en mycorrhiza-schimmels? Vormt dit een knelpunt in het herstel van hellingschraallanden op voormalige landbouwgrond?
- f) Welk vervolfbeheer en met welke tijds- en ruimtelijke fasering moet ingezet worden op geplagde landbouwgrond om het herstel van schraalland vegetatie en –fauna te optimaliseren?

### 2.2 Aanpak

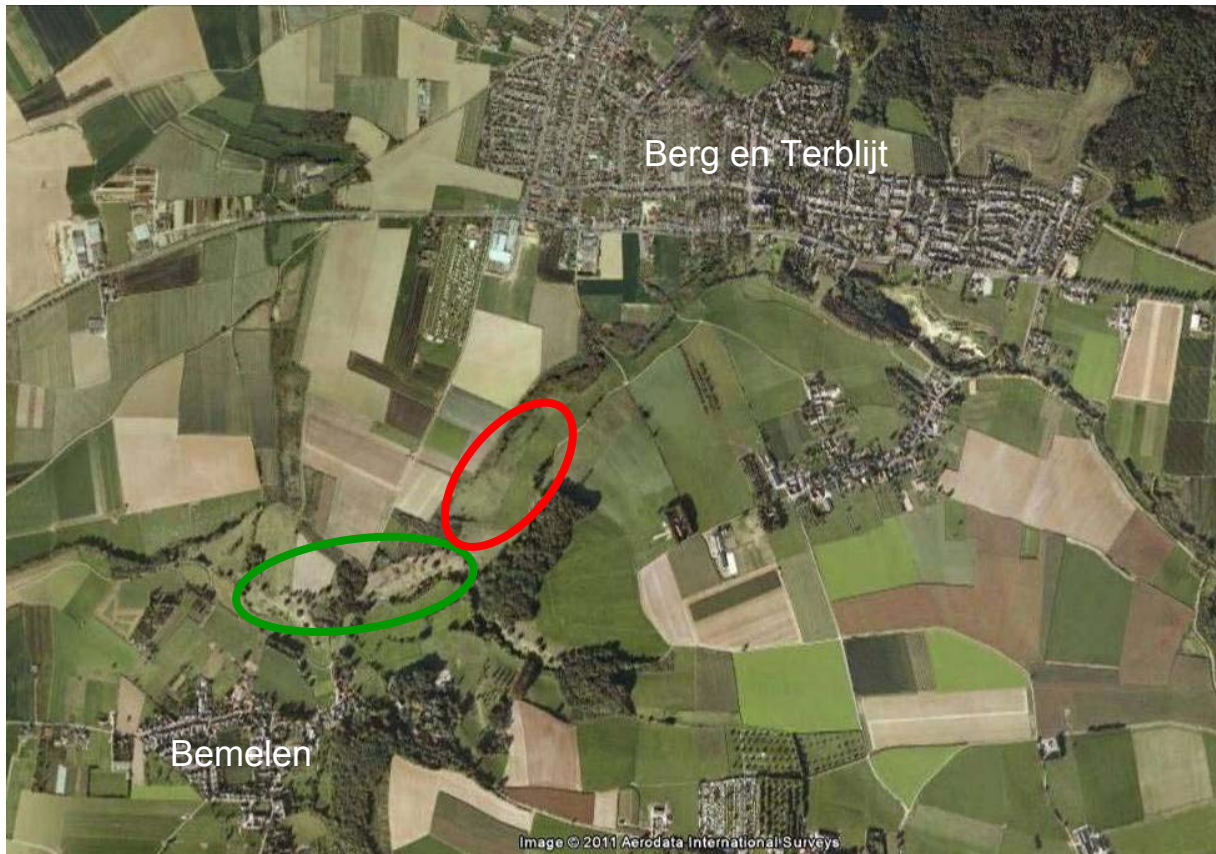
Voor dit onderzoek wordt voortgebouwd op experimenten uit de 1<sup>e</sup> fase van het O+BN onderzoek aan de hellingschraallanden (kleinschalige beheerexperimenten) en onderzoek dat in samenwerking met Stichting het Limburgs Landschap is opgezet in het kader van de leefgebiedenbenadering (grootschalig experiment Verlengde Winkelberg).

#### 2.2.1 Kleinschalige experimenten

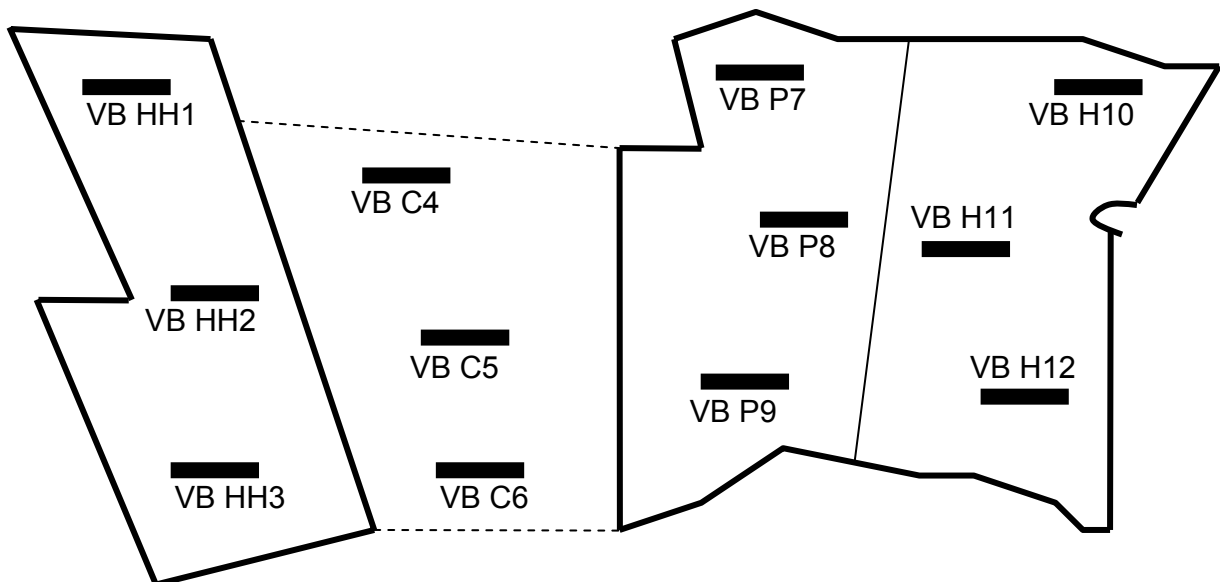
De kleinschalige beheerexperimenten uit de 1<sup>e</sup> fase betreft drie deelexperimenten: 1) Ontwikkeling van heischraal grasland op voormalig agrarisch grasland; 2) Ontwikkeling van kalkgrasland op voormalig agrarisch grasland; 3) Herstel van heischraal grasland en kalkgrasland vanuit een sterk vervuilde situatie. De maatregelen om herstel te onderzoeken zijn het afvoeren voedingsstoffen (ontgronden / maaien) al dan niet in combinatie met de toevoer van soorten (maaisel uitleggen). De kleinschalige beheerexperimenten zijn vanaf 2005 t/m 2008 beheerd en bemonsterd (Smits et al. 2009). In de jaren 2009 t/m 2011 zijn deze alleen beheerd (twee keer per jaar gemaaid). In n 2012 zal weer uitgebreid bemonsterd worden (bodem en vegetatie) om mede antwoord te geven op onderzoeksvragen a, b en c.

#### 2.2.2 Grootschalig experiment

Het grootschalige experiment is gelegen op de Verlengde Winkelberg (figuur 2.1). Dit experiment bestaat uit vier proefvlakken met een oppervlak van elk 0,75 ha, waarin veelbelovende beheermaatregelen op landschapsschaal zijn uitgevoerd. In drie van de vier proefvlakken is eind 2007 de toplaag verwijderd tot een diepte van 10-40 cm. In twee van deze proefvlakken is in de zomer van 2008 maaisel van de Berghofweide opgebracht. In één van de twee proefvlakken werd het maaisel direct na maaien vervoerd en opgebracht. In het andere proefvlak heeft het maaisel enige uren op een berg onderaan de helling gelegen alvorens het werd uitgereden. Zie figuur 2.2 voor de proefopzet.



Figuur 2.1. Ligging van het onderzoeksgebied op de Verlengde Winkelberg (rode cirkel) ten opzichte van het kalkgraslandreservaat de Bemelerberg (groene cirkel) en de plaatsen Bemelen en Berg en Terblijt.



Figuur 2.2. Proefopzet van het grootschalige experiment op de Verlengde Winkelberg met van links naar rechts de proefvlakken ontgronden maaisel direct (OMd), controle (C), ontgronden (O) en ontgronden maaisel vertraagd (OMv). De zwarte balken en labels geven de meetlocaties aan voor zowel bodem, vegetatie als fauna.

## 2.3 Methode & onderzoeksuitvoering 2011

In 2011 bestond uitvoering van het onderdeel uitbreiding areaal hellingschraalland uit het volgen introductie-experimenten voor enkele insectensoorten en het uitvoeren van een bodement experiment binnen het grootschalige experiment. Daarnaast zijn in 2011 de eerder verzamelde microarthropodendata geanalyseerd en is de ontwikkeling van de populatie Veldparelmoervlinders gevolgd.

### 2.3.1 Bodement experiment (onderzoeksvraag c,d & e)

#### *Proefopzet bodem enten*

In het najaar van 2011 is een nieuw experiment op de Verlengde Winkelberg gestart. Hierbij is bodemmateriaal van goed ontwikkeld hellingschraalland (Koeberg, Wrakelberg, Kunderberg en Berghofweide) overgebracht op de Verlengde Winkelberg om te onderzoeken of er een gebrek aan essentiële bodembiota optreedt zoals specifieke functionele groepen van mijten, springstaarten en mycorrhiza-schimmels die een knelpunt vormen in het herstel van hellingschraallanden op voormalige landbouwgrond. Dit experiment moet inzicht geven in de toegevoegde waarde van bodembiota voor versneld herstel van hellingschraallanden op voormalige landbouwgrond. Het effect van bodementen (in termen van bodemchemie, bodembiota en mycorrhiza) op versneld herstel wordt hier onderzocht.

Hiervoor zijn 5 proefvlakken van 2x2m gelegd in de ontgronde en in de ontgronde + maaisel behandeling, waar bodemmateriaal is opgebracht (figuur 2.3). In totaal wordt er in 10 proefvlakken bodem geënt, dat verdund (1:10) wordt opgebracht. Deze zijn geflankeerd door een proefvlak zonder bodemmateriaal. Er is zoveel mogelijk aangesloten bij de bestaande proefvlakken in het grootschalig experiment. Op 18 november 2011 zijn de proefvlakken van het grootschalige experiment teruggezocht en bovengronds gemarkeerd. Op 22 en 24 november 2011 is bodem gehaald en verkruid en geharkt (ook de controles) om menging van het entmateriaal te bewerkstelligen. De bodemchemie van het entmateriaal werd bepaald (zie bijlage 2 voor de methode) maar nog niet geanalyseerd.

In het plagsel (najaar 2011) is onderzocht welke insecten en welke microarthropoden er voorkomen. Er wordt in het najaar van 2012 getest of bodementen bijdraagt aan versneld herstel van microarthropoden en mycorrhiza door op geënte en niet geënte locaties te meten.



Figuur 2.3. Experimenteel bodementen. Links het controle proefvlak, rechts met opgebracht ent materiaal.



### ***Microarthropoden***

Van elke donorlocatie werd 0,001963 m<sup>3</sup> entmateriaal verzameld (in de vorm van een ring met een vaste diameter en diepte) waaruit de microarthropoden werden geëxtraheerd en gedetermineerd.

### ***Macrofauna***

Om te onderzoeken welke macrofauna (kevers, slakken, duizendpoten etc.) met entmateriaal mee kan komen zijn bodemmonsters (plaggen) gestoken (figuur 2.4) in de vier donorterrinen (Berghofweide, Koeberg, Wrakelberg en Kunderberg). Om inzicht te krijgen in hoeverre deze faunagroepen nu al in de ontgronde proefvlakken aanwezig zijn, zijn eveneens plaggen gestoken op de Verlengde Winkelberg, direct naast de proefvlakjes waar het bodemmateriaal werd opgebracht. In de vier referentiegebieden zijn steeds twee plaggen per terrein verzameld. Op de Verlengde Winkelberg zijn per proefvlak (ontgronden en ontgronden met maaisel direct) vier locaties bemonsterd waarbij per locatie twee monsters werden genomen. Op deze wijze zijn de referentiegebieden gezamenlijk te vergelijken met beide proefvlakken op de Verlengde Winkelberg met ieder een steekproef van 4 locaties (replica's).



*Figuur 2.4. Het verzamelen van plaggen voor het meten van aanwezige macrofauna.*

Het verzamelen van de plaggen werd uitgevoerd met behulp van een rond taartblik met een diameter van 28 cm en een diepte van 5,5 cm. Op deze wijze wordt iedere plag even groot en wordt er een vergelijkbare hoeveelheid grond verzameld. Per locatie zijn twee afzonderlijke plaggen genomen die in de analyse werden samengevoegd. Hierdoor werd per locatie een oppervlakte van 0,12 m<sup>2</sup> bodemmateriaal bemonsterd. Het taartblik werd omgedraaid de grond in gedruwd waarna met een schep de plag omhoog kon worden gewerkt en in het taartblik op maat kon worden afgestoken. De plaggen, perfect passend in het taartblik, zijn

tenslotte in een afgesloten vuilniszak vervoerd zodat de fauna niet kon ontsnappen. De plaggen werden in een koelcel bij circa 4°C bewaard tot verdere verwerking. De methode voor het onttrekken van de bodemfauna uit het plagmateriaal is aangepast aan het bijzonder compacte bodemmateriaal van de hellingschraallanden (zie bijlage 1). Alle geëxtraheerde macrofauna is gedetermineerd tot op orde en geteld. De kevers zijn nader gedetermineerd tot op in ieder geval familie niveau. Carabidae, Staphilinidae en Aphodius zijn tot op soort gedetermineerd. Voor de analyse zijn de aantallen gevonden insecten in de twee plaggen per locatie opgeteld en vervolgens omgerekend naar aantal individuen per m<sup>2</sup>.

De intensiteit waarmee de bodemfauna is bemonsterd is onvoldoende om een compleet beeld te krijgen van de aanwezige soorten in de donorgebieden. Veel soorten komen geaggregeerd voor waardoor ze moeilijk te bemonsteren zijn met een kleine steekproef. Grotere oppervlakten bemonsteren is echter niet mogelijk omdat het hellingschraallandsysteem daarvoor te kwetsbaar en zeldzaam is. Om deze reden is ervoor gekozen de individuen grotendeels niet tot op soort te determineren. De data zijn daarmee vooral bruikbaar om te zien welke soortgroepen potentieel met bodemmateriaal mee kunnen komen.

### **2.3.2 Introductie-experimenten fauna (onderzoeksvraag d)**

In 2010 zijn kleinschalige introductie-experimenten opgezet om te onderzoeken of de Verlengde Winkelberg al geschikt leefgebied is voor karakteristieke hellingschraalland fauna en het ontbreken van deze soorten het gevolg is van knelpunten in de dispersie. Voor deze experimenten zijn soorten geselecteerd aan de hand van de volgende criteria:

- de soort is karakteristiek soorten voor kalkgraslanden en/of hellingschraallanden;
- de soort is gevangen in één of meer Nederlandse hellingschraallanden tijdens de bemonstering van 2005/2006 (mogelijk donorgebied bekend);
- de Verlengde Winkelberg lijkt geschikt leefgebied voor de soort;
- de soort heeft waarschijnlijk een dispersieprobleem;
- de soort is nog niet waargenomen in de proefvlakken (op basis van data 2009).

Op basis van deze criteria zijn in de zomer van 2010 drie sprinkhaansoorten geselecteerd, het Zoemertje (*Stenobothrus lineatus*), het Schavertje (*Stenobothrus stigmaticus*) en het Negertje (*Omocestus rufipes*). Deze zijn in 2010 in lage aantallen geïntroduceerd op het proefvlak OMd (zie van Noordwijk et al. 2011 voor de methode). In 2011 zijn aanvullend in totaal 17 exemplaren van de Bombardeerkever (*Brachinus crepitans*) uitgezet. Deze kevers werden met behulp van potvallen, zonder vangvloeistof, maar met kattenvoer als lokaas, gevangen op de Wrakelberg tussen 23 mei en 10 juni 2011. De potvallen werden elke twee tot vier dagen geleegd en gevangen kevers werden nog dezelfde dag overgebracht naar de Verlengde Winkelberg waar ze werden vrijgelaten onder twee dakpannen die midden in het proefvlak OMd waren geplaatst. Het aantal gevangen en uitgezette kevers was lager dan vooraf gehoopt, waarschijnlijk veroorzaakt door het extreem warme en droge voorjaar.

Op 4 augustus 2011 is tijdens één veldbezoek gekeken naar de aanwezigheid van de drie uitgezette sprinkhaansoorten, zowel in het proefvlak waar ze zijn uitgezet als in de andere proefvlakken. Het weer was op deze dag zeer geschikt voor sprinkhaanwaarnemingen (zonnig 25-30 °C, aan het eind van de middag een kort buitje). Per proefvlak werd door twee personen 60 minuten lang gezocht naar individuen van de drie uitgezette sprinkhaansoorten. Daarbij werd steeds het hele proefvlak doorgelopen met extra aandacht voor schralere plekje.

Er werden geen sprinkhanen op geluid gevonden, mede doordat het grote aantal Ratelaars en Krassers een oorverdovend geluid veroorzaakte.

### **2.3.3 Populatieontwikkeling Veldparelmoervlinder (onderzoeksvraag d)**

In maart en april 2012 zijn alle proefvlakken op de Verlengde Winkelberg geïnventariseerd op rupsennesten van de Veldparelmoervlinder (*Melitaea cinxia*). Op 15 maart werden alle proefvlakken 30 minuten lang doorzocht door twee personen. Elk gevonden nest werd gemarkeerd met een paaltje. Op 17 maart werd door medewerkers van de Vlinderstichting eveneens gezocht naar rupsennesten op de proefvlakken. Op 3 april werd nogmaals in alle proefvlakken gezocht en werd van alle gevonden nesten het aantal rupsen per nest geschat.

### **2.3.4 Analyse Microarthropoden (onderzoeksvraag e)**

Op basis van reeds bestaande metingen aan de bodemfauna (springstaarten en mijten) in goed ontwikkelde natuurgebieden (2010-data, zie ook Van Noordwijk et al. 2011) en op de voormalige landbouwgrond (2007-data) is een analyse uitgevoerd om het totaal aantal microarthropoden, aantal schimmel- en plantenmateriaal etende mijten en de verschillende levensstrategieën te kunnen vergelijken tussen goed ontwikkelde kalkgraslanden, voormalig agrarisch grasland en het plagsel dat wordt gebruikt voor het experimenteel bodementen.



### 3. Resultaten uitbreiding areaal hellingschraalland

#### 3.1 Bodement experiment

De bodemchemie metingen van het entmateriaal zijn weergegeven in bijlage 4. Analyse van deze data zal worden uitgevoerd in 2012 in combinatie met de resultaten 1 jaar na uitvoering van het bodementen.

##### *Microarthropoden*

De resultaten van de aantallen microarthropoden in voormalige landbouwgrond (2007-data), goed ontwikkelde natuurgebieden (2010-data, zie ook Van Noordwijk et al. 2011) en het plagsel dat wordt gebruikt voor het experimenteel bodementen is opgenomen onder 3.4/

##### *Macrofauna*

Alle macrofauna soortgroepen die zijn aangetroffen in het entmateriaal uit de donorgebieden en in de plaggen uit de proefvlakken op de Verlengde Winkelberg, staan in tabel 3.1 Deze lijst omvat alle groepen ongewervelden die op het oog zichtbaar zijn (dus geen microfauna).

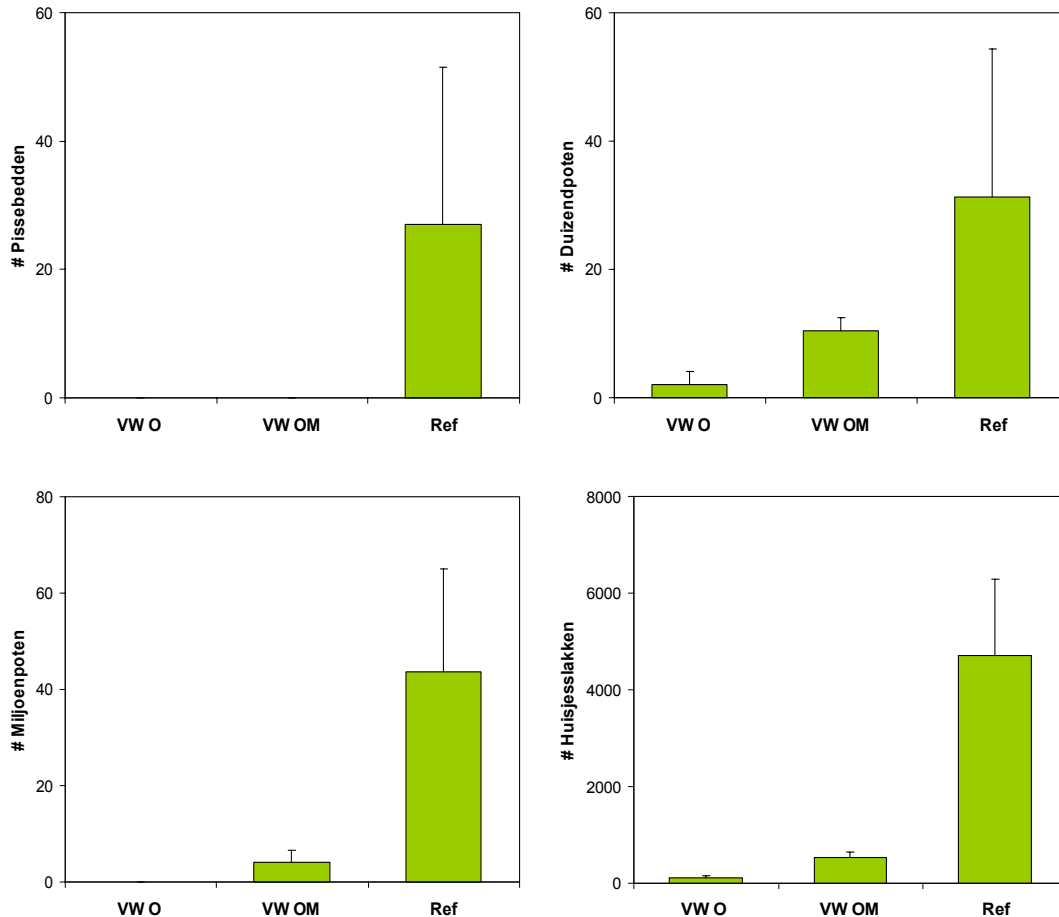
Tabel 3.1. Totaal aantal macrofauna individuen per soortgroep (Klasse of Orde) per vierkante meter (m<sup>2</sup>) die in de plaggen zijn aangetroffen uitgesplitst per behandeling (Verlengde Winkelberg ontgrond zonder maaisel (VW O), Verlengde Winkelberg ontgrond met maaisel (VW OM) en de Referentiegebieden Berghofweide, Kunderberg, Wrakelberg en Koeberg (Ref). In de kolom Sig. is aangegeven of de dichtheden die gevangen werden in de plaggen significant verschillen tussen de drie behandelingen (Kruskal-Wallis test).

Klasse	Orde	NL naam	VW O	VW OM	Ref	Sig.
Arachnida	Araneae	Spinnen	19	27	6	
Malacostraca	Isopoda	Pissebedden	0	0	27	
Myriapoda	Chilopoda	Duizendpoten	2	10	31	
Myriapoda	Diplopoda	Miljoenpoten	0	4	44	
Gastropoda		Huisjesslakken	115	535	4719	X
Oligochaeta	Lumbricidae	Regenwormen	108	54	98	
Insecta	Coleoptera Adult	Kevers	81	46	50	
Insecta	Coleoptera Larf	Keverlarven	44	33	23	
Insecta	Diptera, Larf	Vliegen larven	135	202	12	
Insecta	Diptera, Adult	Vliegen	0	0	15	
Insecta	Hymenoptera	Vliesvleugeligen	40	8	173	X
Insecta	Heteroptera	Wantsen	2	2	2	
Insecta	Auchenorrhyncha	Cicaden	2	0	0	
Insecta	Sternorrhyncha	Bladluizen	35	0	29	
Insecta	Lepidoptera	Vlinder rupsen	0	6	4	
Insecta	Orthoptera	Eipakket sprinkhaan	4	12	0	X

Uit tabel 3.1 valt op te maken dat met het entmateriaal diverse groepen insecten kunnen worden overgebracht naar nieuw ontwikkelde hellingschraallanden. Bodementen is echter alleen een zinvolle maatregel als de soorten die ermee overgebracht worden niet al op een andere wijze in de ontgronde gebieden terecht kunnen komen. Op basis van de huidige gegevens is dit niet op soortniveau vast te stellen, maar we kunnen wel kijken in hoeverre de overgebrachte groepen al in de proefvlakken voorkwamen en in hoeverre deze groepen met

maaisel worden overgebracht. Alleen voor de huisjesslakken, vliësvleugeligen en sprinkhaan eipakketten was er een significant verschil in het aantal individuen tussen de donorterreinen en de ontgronde proefvlakken. De sprinkhaan eipakketten werden alleen in de ontgronde proefvlakken gevonden, waarschijnlijk door de aanwezigheid van veel kale grond, waarin sprinkhanen graag hun eieren afzetten. De gevonden vliësvleugeligen waren voornamelijk mieren. Deze komen uiterst geclusterd voor in nesten. Het hogere aantal in de donorgebieden is dus mogelijk het gevolg van toevallige aanwezigheid van (een deel van) een mierenest in de plaggen. De huisjesslakken werden beduidend meer gevonden in de donorterreinen. Een deel van deze vondsten betreft echter lege slakkenhuisjes. Dergelijke lege huisjes zijn in de proefvlakken met het ontgronden afgevoerd in 2007, terwijl de slakkenhuisjes uit de donorterreinen afkomstig kunnen zijn van slakken die jaren geleden leefden. De gevonden verschillen geven daarmee een enigszins vertekent beeld van de werkelijke populatiedichtheden.

Voor de andere soortgroepen werden geen significante verschillen gevonden. Dit wordt echter mede veroorzaakt door de kleine steekproef (zie methode). Voor een aantal soortgroepen zijn wel degelijk interessante patronen te zien. Naast de huisjesslakken zijn met name de pissebedden, miljoenpoten en duizendpoten beduidend meer aangetroffen in de donorterreinen (figuur 3.1). Alledrie de groepen staan bekend om hun beperkte verspreidingsvermogen en zijn niet of nauwelijks in de ontgronde proefvlakken aangetroffen. In de donorgebieden waren de aantallen beduidend hoger, hoewel er een grote spreiding te zien was in het aantal individuen per plag. Dit betekent dat bodementen voor deze groepen een toegevoegde waarde kan hebben, mits het donormateriaal op de juiste plekken verzamelt wordt.



Figuur 3.1. Gemiddelde individuen aantallen per  $m^2$  (+SE) van Pissebedden, Duizendpoten, Miljoenpoten en Huisjesslakken in het ontgronde proefvlak (VW O), het ontgronde proefvlak met maaisel (VW OM) en de referentiegebieden Berghofweide, Kunderberg, Wrakelberg en Koeberg (ref).

De volgende vraag is in hoeverre deze groepen al met maaisel overgebracht kunnen worden. In het maaiselonderzoek (Van Noordwijk et al. 2011) bleken de miljoenpoten en duizendpoten niet in maaisel aanwezig te zijn, terwijl ze wel in het donorgebied werden aangetroffen. De pissebedden en huisjesslakken werden in lage dichtheden in het gemaaide maaisel aangetroffen, maar waren na transport afwezig. Dit betekent dat alle vier deze groepen slecht met maaisel worden overgebracht. Bodementen kan dus een waardevolle aanvulling zijn.

Voor de kevers bleek in het maaisel experiment dat er grote verschillen zijn tussen de keverfamilies in hoeverre ze met maaisel zijn over te brengen. Deze groep is hier derhalve verder uitgesplitst (tabel 3.2). Diverse keverfamilies werden in het entmateriaal aangetroffen, zowel adulten als keverlarven. Daaronder zijn ook een aantal keverfamilies waarvoor eerder is gebleken dat zij niet of nauwelijks met maaisel zijn over te brengen zoals loopkevers (Carabidae), kniptorren (Elateridae), zwartlijven (Tenebrionidae), kortschildkevers (Staphylinidae) en weekschildkevers (Cantharidae). Ook voor deze keverfamilies zou het opbrengen van bodemmateriaal dus een nuttige aanvulling kunnen zijn.

Tabel 3.2. Het aantal kever individuen per familie per vierkante meter opgesplitst in adulten en larven uitgesplitst per behandeling Verlengde Winkelberg ontgrond zonder maaisel (VW O), Verlengde Winkelberg ontgrond met maaisel (VW OM) en de referentiegebieden Berghofweide, Kunderberg, Wrakelberg en Koeberg (Ref).

Familie	Genus	VW O		VW OM		Ref	
		adult	larf	adult	larf	adult	larf
Carabidae		19	2	19	2	12	2
Elateridae		2	2	0	0	0	6
Curculionidae		4	33	4	19	2	6
Byrrhidae		27	0	0	0	0	0
Scarabaeidae	Aphodius	12	0	10	0	10	0
	Onthophagus	2	0	0	0	2	0
	Diastictus	0	0	0	0	2	0
	Spec.	0	0	0	0	0	6
cf. Tenebrionidae		0	0	4	0	0	0
Staphylinidae		15	2	12	2	21	0
Chrysomelidae		0	0	0	8	0	0
Cantharidae		0	0	0	2	0	2

Een belangrijk punt dat in dit onderzoek niet is onderzocht is in hoeverre de overgebrachte fauna in staat is zich op de proefvlakken daadwerkelijk te vestigen. Daarbij speelt een rol in hoeverre de proefvlakken inmiddels geschikt zijn voor deze soorten. Daarnaast is nog onduidelijk hoe verstoring het transport en opbrengen van bodemmateriaal is voor de verschillende soorten. Waarschijnlijk zijn de meeste groepen, behalve de mieren, goed in staat het transport te overleven en zich te vestigen, mits het bodemmateriaal niet teveel bewerkt wordt en ze voldoende kans krijgen weer weg te kruipen in de bodem. Uitvoering midden in de winter, als de meeste soorten in diapauze zijn of bij zeer warm weer maakt de overlevingskans aanzienlijk lager.

### 3.2 Introductie-experimenten fauna

Van de drie sprinkhaansoorten die in 2010 in proefvlak Omd geïntroduceerd werden is in 2011 alleen het Negertje (*Omocestus rufipes*) teruggevonden. In proefvlak Omd werden één mannetje en één wijfje gevangen. In de andere proefvlakken werd geen van de uitgezette soorten aangetroffen. Andere opmerkelijk vondsten tijdens het veldbezoek waren een Blauwvleugelsprinkhaan (*Oedipoda caerulescens*) op kiezelkop in proefvlak O en een Kalkdoortje (*Tetrix tenuicornis*) in proefvlak Omd.

### 3.3 Populatieontwikkeling Veldparelmoervlinder

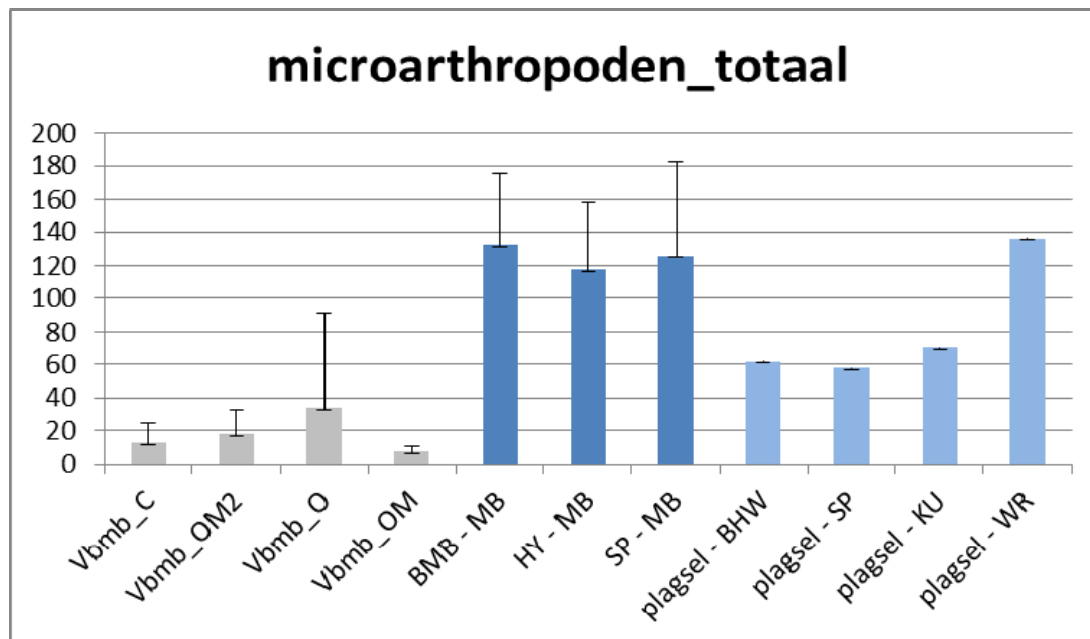
Tijdens een veldbezoek op 4 augustus 2011 werden zowel in proefvlak Omd als in proefvlak OMv meer dan tien grote spinselnesten van de Veldparelmoervlinder (*Melitaea cinxia*) aangetroffen. In de proefvlakken O en C werden geen rupsennesten gezien. In maart en april 2012 werden in totaal acht rupsennesten geteld in proefvlak OMv met 10 tot 50 rupsen per nest (figuur 3.2). In proefvlak Omd werden in totaal 13 tot 19 nesten gevonden (het was niet overal duidelijk of naastgelegen spinsels aparte nesten waren of afsplitsingen van hetzelfde nest). Het aantal rupsen per nest betrof hier 3 tot 85. In totaal werd het aantal rupsen op proefvlak OMv geschat op 185 en op proefvlak Omd op 540 individuen. Op proefvlakken O en C werden ook in het voorjaar geen rupsennesten gevonden. Opmerkelijk is dat ook op de Winkelberg, waar de vlinder oorspronkelijk uitgezet is geen rupsennesten gevonden zijn. Het lijkt erop dat de populatie daar om nog onbekende redenen een grote klap gehad heeft. De Verlengde Winkelberg fungeert daarmee als refugium van waaruit de Winkelberg opnieuw gekoloniseerd kan worden.



Figuur 3.2. Rupsennest van de Veldparelmoervlinder op de Verlengde Winkelberg, maart 2012.

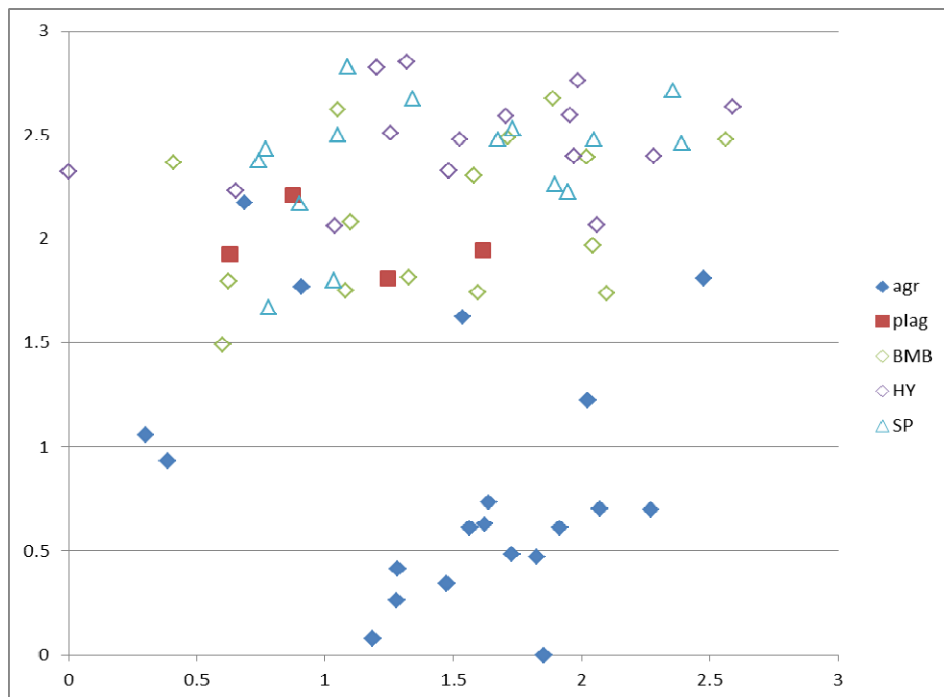
### 3.4 Analyse Microarthropoden

Hieronder zijn in vier grafieken kort de resultaten van de analyses samen weergegeven. Het totaal aantal microarthropoden in het voormalig agrarisch grasland in 2007, direct na ontgronden was lager dan de aantallen in bestaande reservaten (figuur 3.3). De meeste exemplaren komen voor in de juni 2010 metingen in de goed ontwikkelde graslanden. De metingen aan plagsel van kalkgrasland uit november 2011 (vier meest rechtse kolommen) lijken iets achter te blijven ten opzichte van de juni 2010 metingen.



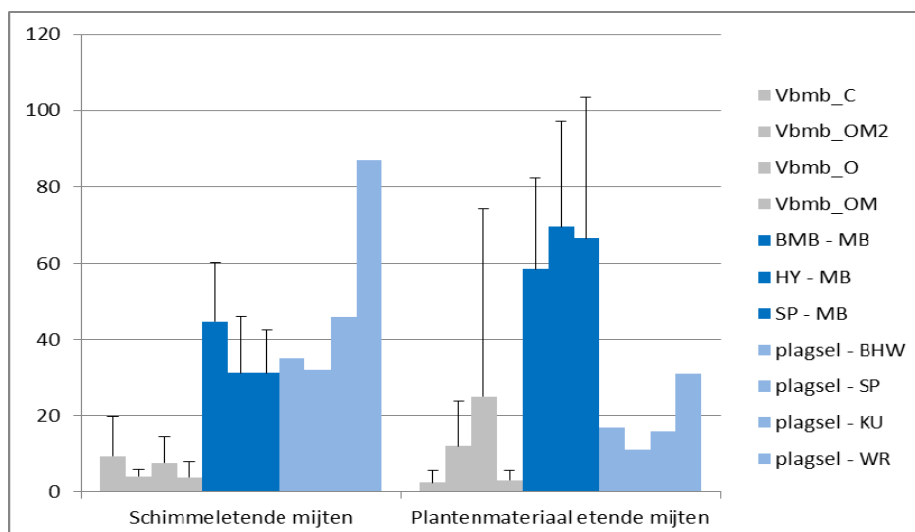
Figuur 3.3. Totaal aantal microarthropoden (gemiddelden per ring) in de nov 2007-data van het grootschalige beheer experiment ( $n = 5$ , in grijs), de juni 2010-data van het kalkgrasland van drie goed ontwikkelde terreinen (BMB = Bemelerberg, HY = Hoefijzer en SP = Schiepersberg, Koeberg in blauw). De laatste 4 kolommen (lichtblauw) betreffen de plagmonsters van het bodement experiment nov 2011 ( $n = 1$ , BHW = Berghofweide, SP = Schiepersberg; Koeberg, KU = Kunderberg en WR = Wrakelberg).

In een ordinatie (DCA, downweighting rare species; figuur 3.4) wordt duidelijk dat ook de soortensamenstelling van het voormalig agrarisch grasland (ruiten) duidelijk afwijkt van de natuurreservaten (open symbolen), hoewel dit met name geldt voor de ontgronde proefvlakken (de vijf controle-proefvlakken (niet ontgrond) bevinden zich namelijk linksboven in de figuur). De samenstelling van het plagsel (gesloten vierkanten) sluit mooi aan bij de reservaten en zou daarmee een goede donor moeten worden voor het ent-experiment.



Figuur 3.4. Ordinatieplaatje van alle monsters waarin microarthropoden zijn gemeten in de nov 2007-data van het grootschalige beheer experiment (gesloten ruiten), de gesloten vierkanten betreffen de plagmonsters van het bodement experiment nov 2011 en de juni 2010-data van de drie onderzoekszones van drie goed ontwikkelde terreinen (BMB = Bemelerberg, HY = Hoefijzer en SP = Schiepersberg, Koeberg).

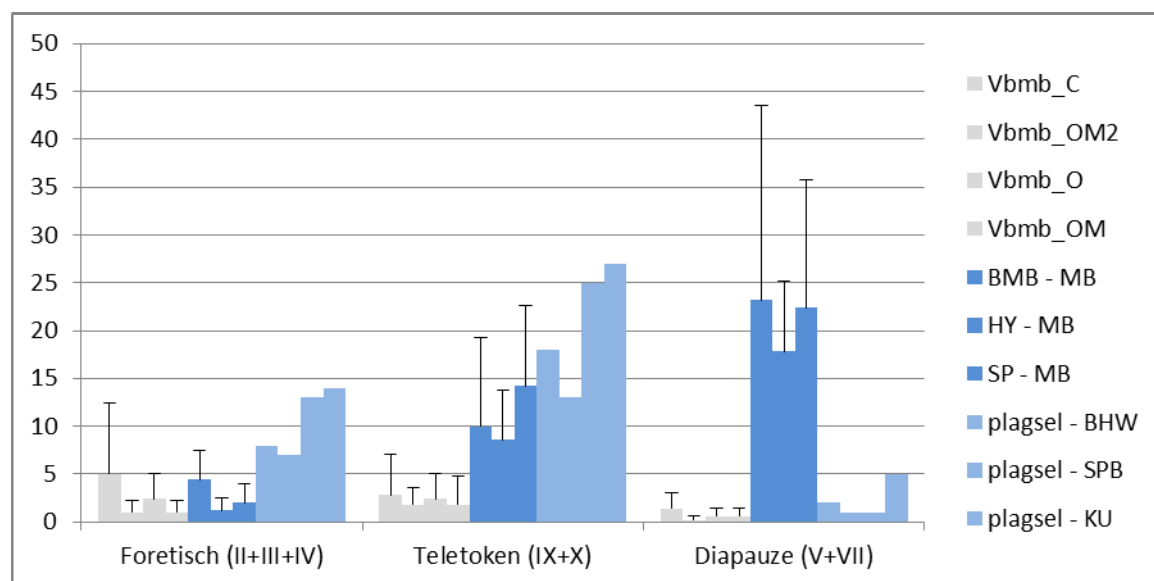
Als onderscheid wordt gemaakt tussen de voedselgildes (figuur 3.5) blijkt dat er geen duidelijke verschillen zijn in de schimmel- en plantenmateriaal etende mijten voor de controle en ontgronde behandelingen. De ontgronde behandeling vertoont veel meer variatie in het aantal plantenmateriaal etende mijten. De gegevens van het plagsel (vier meest rechtse kolommen) zijn wat betreft de schimmelters vergelijkbaar met de 2010-data, maar hebben minder plantenmateriaal etende mijten dan de metingen uit 2010.



Figuur 3.5. Totaal aantal schimmeltende en plantenmateriaal-etende microarthropoden (gemiddelden per ring) in de nov 2007-data van het grootschalige beheer experiment ( $n = 5$ , in grijs), de juni 2010-data ( $n = 5$ ) van het kalkgrasland: van drie goed ontwikkelde terreinen (BMB = Bemelerberg, HY = Hoefijzer en SP = Schiepersberg, Koeberg). De laatste 4 kolommen betreffen de plagmonsters van het bodement experiment nov 2011 ( $n = 1$ , BHW = Berghofweide, SP = Schiepersberg: Koeberg, KU = Kunderberg en WR = Wrakelberg).



Voor de life history traits (LHT) zijn de foretische (groep II, III, IV), teletoken (groep IX, X) en mijten met diapauze (groep V en VII) onderscheiden (figuur 3.5).



Figuur 3.5. Totaal aantal mijten met een foretische, teletoke strategie en strategie met diapauze (gemiddelden per ring) in de nov 2007-data van het grootschalige beheer experiment ( $n = 5$ , in grijs), de juni 2010-data van de drie onderzoekszones ( $n = 5$ , kalkgrasland) van drie goed ontwikkelde terreinen (BMB = Bemelerberg, HY = Hoefijzer en SP = Schiepersberg, Koeberg). De laatste 4 kolommen betreffen de plagmonsters van het bodement experiment nov 2011 ( $n = 1$ , BHW = Berghofweide, SP = Schiepersberg: Koeberg, KU = Kunderberg en WR = Wrakelberg).

De foretische groep (representatief voor een verstoord systeem, betreft mijten die migreren via gastheren) komt relatief het minst voor in de natuurgebieden. De foretische groep komt relatief meer voor in het (voormalig) agrarisch grasland, en dan in de ongeplagde situatie (C). De teletoken (stabiel systeem, betreft asexuele voortplanting en een- of meerjarige mijten) komen veel voor in de natuurgebieden, maar minder in het kalkrijke deel. In het voormalige agrarische grasland komen deze mijten evenveel voor in alle behandelingen (geplagd en ongeplagd).

De mijten met diapauze (extreem milieu, betreft soorten die een sterke synchronisatie vertonen, wat wil zeggen dat ze hun voortplanting samen laten lopen met de geschiktheid van de habitat) komen veel voor in de natuurgebieden (extreme habitats wat temperatuur en vocht betreft), maar het minst in het voormalige agrarische grasland. Merkwaardig is echter dat deze groep in de november 2010-data veel minder voorkomt dan in de juni 2010-meting. Een oorzaak hiervan kan zijn dat deze soorten in november al in diapauze waren in het ei-stadium en dus toen veel minder werden gevangen.

De hypothese van het ent experiment is dat de hoeveelheden bodemmesofauna in de proefvlakken met entmateriaal in staat zijn om op gelijke hoogte te komen als de hoeveelheden in de natuurgebieden zelf.

## 4. Onderzoekopzet verstoorde stikstofhuishouding heischrale vegetatie

### 4.1 Achtergrond en Onderzoeksvragen

In het heischrale deel van de hellingschraallanden in Zuid-Limburg is in fase 1 van het O+BN-onderzoek aangetoond dat een verstoorde stikstofhuishouding een belangrijk knelpunt voor herstel van de vegetatie is (Smits *et al.*, 2009). De ammonium/nitraat ratio's in de bodem van de heischrale vegetatie bleken sterk verhoogd, vergeleken met de hoger (kiezelkopgrasland) of lager (kalkgrasland) gelegen delen van de gradiënt. De oorzaak hiervan bleek een geremde nitrificatie in de bodem te zijn, waardoor de microbiële omzetten van ammonium naar nitraat vrijwel niet plaatsvond en ammonium vrijwel de enige beschikbare vorm van N voor de plantengroei was.

Nitrificatie is bijna altijd een bacterieel proces, dat in twee stappen verloopt. De eerste stap, de oxidatie van ammonium tot nitriet wordt uitgevoerd door ammoniumoxiderende bacteriën (AOB) en door ammoniumoxiderende Archaea (AOA), terwijl de omzetting van nitriet tot nitraat door nitrietoxiderende bacteriën (NOB) gebeurt. In het algemeen is het verloop van de eerste stap het meest bepalend voor het totale nitrificatieproces. In de eerste fase van het O+BN-onderzoek is naar voren gekomen dat de oxidatie van ammonium sterk geremd is in de heischrale vegetatie, maar dat de samenstelling van de bacteriële gemeenschap, althans wat de AOB betreft, niet verschilde met die van de boven en onder gelegen delen van de hellinggradiënt. Ook is in fase 1 gevonden dat de aanwezigheid van heischrale plantensoorten de eerste stap van het nitrificatieproces verminderde, waarschijnlijk door afgifte van stoffen via de wortels, maar deze remming was niet absoluut.

In dit onderdeel staan de volgende onderzoeksvragen centraal;

- a) Welke processen in de bodem zijn verantwoordelijk voor de geremde nitrificatie in de bodem?
- b) In hoeverre hebben verhoogde ammonium/nitraatratio's en/of hoge concentraties ammonium negatieve effecten op kieming en vestiging van karakteristieke heischrale plantensoorten?
- c) Wat is de rol van de bodemfauna in het decompositieproces en wat is het effect van ontgronden op de bodembiologie?
- d) Met welke experimentele maatregel(en) kan/kunnen de geremde nitrificatie in de bodem worden teruggedraaid of voorkomen?
- e) Levert toepassing van de maatregel in de praktijk ook herstel op van verdwenen heischrale soorten?

### 4.2 Onderzoeksstrategie

#### *Onderzoeksvraag a*

Door de bodemchemie van een groot aantal terreinen met heischrale vegetatie in kaart te brengen worden locaties gezocht waar de nitrificatie niet of slechts weinig wordt geremd (referentielocaties) en locaties waar de nitrificatie wel wordt geremd. Door de uitgebreide set van bodemgegevens te koppelen aan de resultaten van de potentiële ammoniumoxiderende activiteit (44 bepalingen) (PAA-metingen) wordt verder gezocht naar aanwijzingen die

kunnen verklaren waarom de nitrificatie geremd is. Verder wordt op basis van literatuurgegevens, vegetatiedata en de resultaten van het kolomexperiment uit onderzoeksvraag d getracht deze vraag te beantwoorden. De resultaten van de PAA metingen zijn verwerkt in dit tussenrapport. In deze tussenrapportage is tevens de meetreeks bodemchemie van de verschillende terreinen uitgebreid met gegevens van maart en mei 2011. Op deze manier kan ook meer inzicht verkregen worden in de fluctuatie van de gemeten bodemchemische parameters tussen de seizoenen, en de verschillen in bodemchemie tussen de onderzochte terreinen.

#### ***Onderzoeksvraag d***

In het veld zijn in augustus 2011 intacte bodemkernen verzameld van heischrale locaties die uit de resultaten van deelvraag a naar voren komen als locaties waar de nitrificatie is geremd. Hierbij is gekozen, in overleg met de beheerders, voor de Koeberg en de Tiendeberg. De bodemkernen van deze locaties zijn vervolgens geënt met materiaal uit bodemkernen waar gedurende de looptijd van het experiment een hoge nitraatconcentratie werd gemeten. De eerste resultaten van dit experiment staan beschreven in dit tussenrapport.

### **4.3 Methodiek**

#### **4.3.1 Methode bodemonderzoek nitrificatie processen (onderzoeksvraag a en d)**

Om antwoord te kunnen geven op de vraag welke processen verantwoordelijk zijn voor de geremde nitrificatie in de bodem van de heischrale delen van de helling is het noodzakelijk om de nitrificatiesnelheid van de verschillende hellingen in kaart te brengen. Om in te kunnen schatten waar de nitrificatie waarschijnlijk niet geremd wordt en waar wel, zijn de volgende twee meetmethoden uitgevoerd.

Ten eerste is in de herfst van 2010 (september en november) de bodemchemie van een groot aantal terreinen doorgemeten. Hierbij is de concentratie nitraat en ammonium bepaald door middel van een extractie met demiwater en 0,2M NaCl. Daarnaast is de pH van de bodem en de concentratie kationen gemeten. Verder is op de bodemmonsters een destructie en Olsenextractie uitgevoerd en is de hoeveelheid organisch stof bepaald. Deze metingen zijn in het voorjaar van 2011 herhaald (maart en mei). Voor de methode van de bodemchemische bepalingen, zie Bijlage 2.

De bodemmetingen zijn in najaar 2010 uitgevoerd op de Strooberg, Winkelberg, Hoefijzer, Koeberg, Berghofweide en Kunderberg. De metingen zijn steeds op de gradiënt van de helling geplaatst en zowel de hoger gelegen zuurdere kiezelkopgraslanden, de heischrale graslanden als de kalkgraslanden zijn, voor zover aanwezig, bemonsterd. Voor de metingen in 2011 zijn de Sint Pietersberg (Kannerhei), Wrakelberg en de Vlaamse Tiendeberg aan de bovenstaande locaties toegevoegd.

Op basis van de metingen in de herfst van 2010 en maart 2011 is een aantal locaties gekozen waarvan wordt verwacht dat er wel nitrificatie in de heischrale zone van de helling plaatsvindt, en een aantal locaties waar wordt verwacht dat de nitrificatie juist laag is. Van deze locaties zijn in april 2011 opnieuw bodemmonsters verzameld waaraan de potentiële ammoniumoxiderende activiteit is gemeten met de zelfde methode als in Fase 1 is gebruikt (Smits et al. 2010. Voor de methode zie bijlage 3). De geselecteerde locaties zijn Tiendeberg 34, Hoefijzer 13, Hoefijzer 16, Berghofweide 21, Winkelberg 4, Winklerberg 7 en Koeberg

19. De monsterlocaties en nummering zijn weergegeven in bijlage 5. De Methode van de PAA bepaling is bijgevoegd in bijlage 3.

#### **4.3.2. Bodembiota (onderzoeksvraag c)**

Er zijn in het voorjaar van 2010 monsters genomen op drie terreinen en binnen elke terrein 5 monsters in het kiezelkopgrasland (Thero-Airion, hierna steeds rood), heischrale deel (Nardo-Galion, hierna steeds roze) en kalkgrasland (Mesobromion, hierna steeds blauw). De terreinen waar dit plaatsvond hebben alledrie een goed ontwikkelde gradient en zijn om die reden ook betrokken geweest in eerder onderzoek rondom nitrificatie-aspecten binnen deze hellingschraallanden. Het gaat om de Winkelberg (onderdeel van de Bemelerberg, code BMB), het Hoefijzer (HY) en de Schiepersberg (SP). De Schiepersberg heeft een andere geschiedenis ten opzichte van de andere twee terreinen: dit terrein vrijwel geheel bebost geweest, wat wellicht de gevonden verschillen in bodembiota (deels) zou kunnen verklaren. Over de resultaten van deze metingen is reeds gerapporteerd in de voortgangsrapportage 2011.

#### **4.3.3. Methode Kolomexperiment (onderzoeksvraag d)**

Op basis van de PAA metingen en bodemchemische metingen uit het najaar van 2010 en voorjaar 2011 zijn twee locaties gekozen waar aannemelijk is dat de nitrificatie geremd is (zie resultaten). Dit is het heischrale deel van de Koeberg (locatie 19, 182568-315834) en de Tiendeberg (Locatie 34, 174760-313313). Vervolgens zijn op 10 augustus 2011 op deze twee locaties ieder 20 bodemkernen verzameld. De kernen, bestaande uit een PVC-ring van 16 cm hoog en een diameter van 16 cm, zijn in het veld de grond in geslagen in een blok van 5\*4 kolommen, in totaal een oppervlak van zo'n 80 cm bij 70 cm. Eerst is de vegetatie verwijderd door ondiep te plaggen (circa 5cm). De intacte kolommen zijn uit de grond geschept, op worteldoek geplaatst en er is een deksel met gaten onder geplaatst. Vervolgens zijn er op 5 cm onder de rand (gemeten vanaf de bovenkant van de bodem) en op 10 cm onder de rand rhizons geplaatst om bodemvochtmonsters te kunnen verzamelen (figuur 4.1).



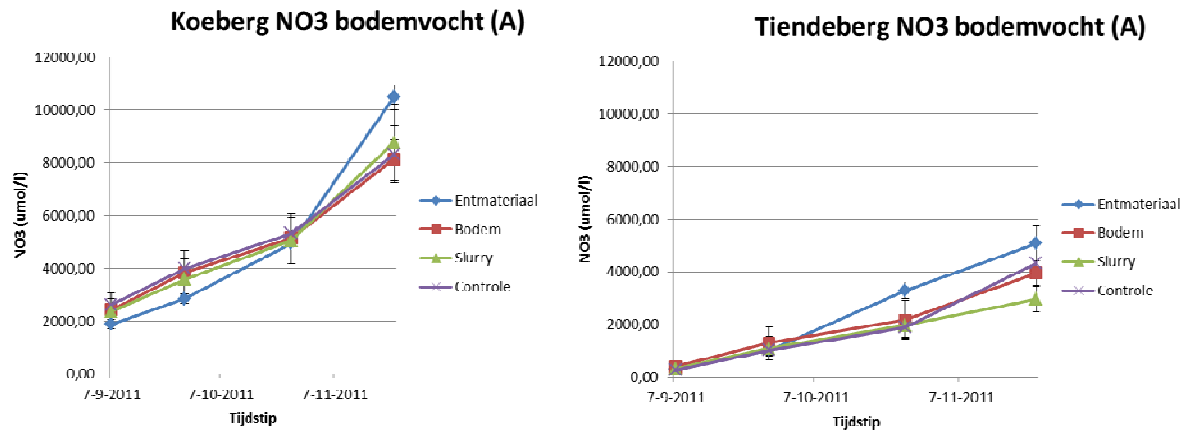
*Figuur 4.1. Bodemkolom met rhizons (links), en de proefopstelling in de klimaatkamer (rechts).*

De bodemkolommen zijn vervolgens in een donkere klimaatkamer geplaatst bij 20°C, in bakken met een gaasbodem (figuur 4.1). Op deze wordt voorkomen dat de bodemkolommen te nat worden. De bodemkolommen zijn vervolgens gedurende 3 weken één keer per week beregend met 300ml (week 1), 600ml (week 2) en 600ml (week 3) demiwater met een zeezoutachtergrond (0,004995 g zeezout/l, overeenkomstig regenwater). De bodemkernen zijn op deze manier op veldcapaciteit gebracht. Na deze eerste 3 weken is er bodemvocht onttrokken aan de kernen (6-9-2011) waaraan de pH en concentratie ammonium en nitraat is gemeten (T=0). Vervolgens is gedurende zeven weken wekelijks 300 ml van de demioplossing met ammonium toegevoegd (0,0063 g NH<sub>4</sub>/l, overeenkomstig de hoeveelheid NH<sub>4</sub> in regenwater in Zuid-Limburg). Op 27-9-2011 (T=1) en 26-10-2011 (T=2) is wederom bodemvocht aan de kernen onttrokken en geanalyseerd. Omdat de gemeten ammonium en nitraatconcentraties hoger waren dan verwacht, is besloten om te stoppen met het toevoegen van ammonium en is sindsdien wekelijks 300ml van de demi oplossing met zeezoutachtergrond toegevoegd. Op 23-11-2011 en 20-12-2011 (T=3 en T=4) is het bodemvocht weer bemonsterd en geanalyseerd (monsterdatums en toevoegingen in tabel 4.1). Op basis van de gegevens van de eerste drie metingen is besloten een deel van de bodemkernen te gebruiken als entmateriaal. Op deze manier wordt gegarandeerd dat het entmateriaal daadwerkelijk goed nitrificeert. Uit de spreiding in de grafiek van de PAA metingen blijkt namelijk dat binnen 1 m<sup>2</sup> zo veel variatie bestaat, dat het mogelijk is dat entmateriaal uit het veld niet de gewenste eigenschappen bezit. Daarom is besloten om 5 bodemkernen met de hoogste op dat moment gemeten nitraatconcentraties te gebruiken (figuur 4.2). Het materiaal van de bovenste 5 a 7 cm van deze kernen is samengevoegd en grondig gemengd. Dit materiaal is in zesvoud geanalyseerd op de concentratie ammonium en nitraat (bijlage 2).

Vervolgens is het materiaal in twee delen opgesplitst. Een deel is gebruikt om direct mee te enten. Het andere deel is vermengd met demiwater met 0,004995 g zeezout/l, in een

verhouding van één deel water op twee delen bodem. Deze bodemslurrie is vervolgens 24 uur geschud op 100 rpm op kamertemperatuur.

De overgebleven bodemkernen zijn in drie groepen verdeeld, zo dat in iedere groep kernen zitten met hoge, lage en gemiddelde nitraatconcentraties. De gemiddelde nitraatconcentratie per groep is zo veel mogelijk gelijk.



Figuur 4.2. Nitraatconcentratie gemeten tot T=3

Vervolgens is op 21 december 2011 de eerste groep kernen geënt met het verkruidde bodemmateriaal (88 ml per bodemkern). De tweede groep kernen op is 22 december 2011 geënt met de slurrie (88 ml bodem+ 44 ml demiwater) (figuur 4.3).



Figuur 4.3. Bodemkernen voor enten (links) en na enten met bodemkruidels (rechtsboven), en slurrie (rechts onder).

Tabel 4.1. Datum waarop is beregent en bemonsterd.

Datum	Regenwater	Met ammonium	Entmateriaal opgebracht	Bemonsterd
16-8-2011	x			
23-8-2011	x			
6-9-2011	x			x
15-9-2011	x	x		
21-9-2011	x	x		
27-9-2011	x	x		x
4-10-2011	x			
12-10-2011	x			
18-10-2011	x			
26-10-2011	x			x
1-11-2011	x			
18-11-2011	x			
23-11-2011	x			x
30-11-2011	x			
7-12-2011	x			
13-12-2011	x			
20-12-2011	x			x
28-12-2011	x		21-12-2012	
4-1-2012	x			x
10-1-2012	x			
18-1-2012	x			x
26-1-2012	x			
2-2-2012	x			
8-2-2012	x			
15-2-2012	x			x
21-2-2012	x			
29-2-2012	x			
6-3-2012	x			
14-3-2012	x			x
20-3-2012	x			
27-3-2012	x			
3-4-2012	x			
10-4-2012	x			x

Daarna is weer wekelijks beregent met 300 ml demiwater met zeezout (0,004995 g zeezout/l) en is het porievocht bemonsterd na twee weken na enten (4-1-2012, T=5), vier weken na enten (18-1-2012 T=6) en daarna maandelijks (15-2-2012 T=7, 14-3-2012 T=8, zie tabel 4.1).



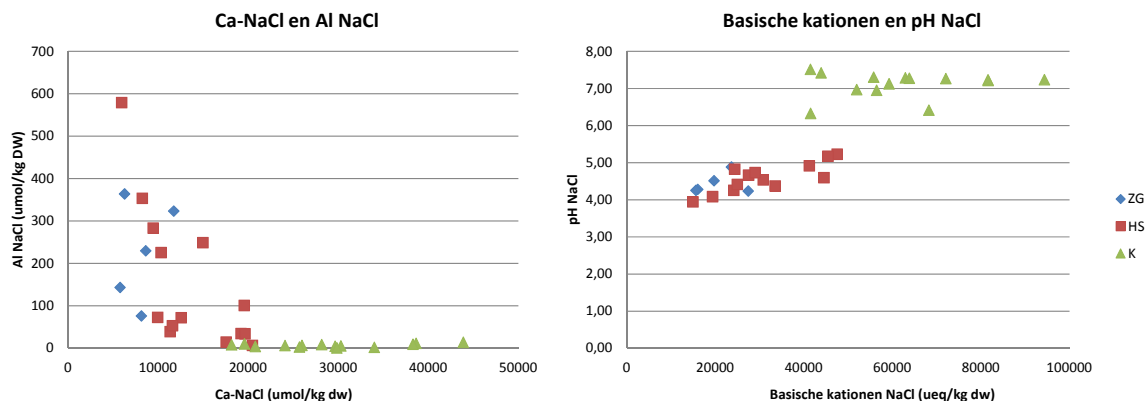
## 5. Resultaten Stikstofhuishouding heischrale vegetatie

### 5.1. Resultaten veldmetingen

#### 5.1.1. Bodemchemie van de verschillende vegetatietypen

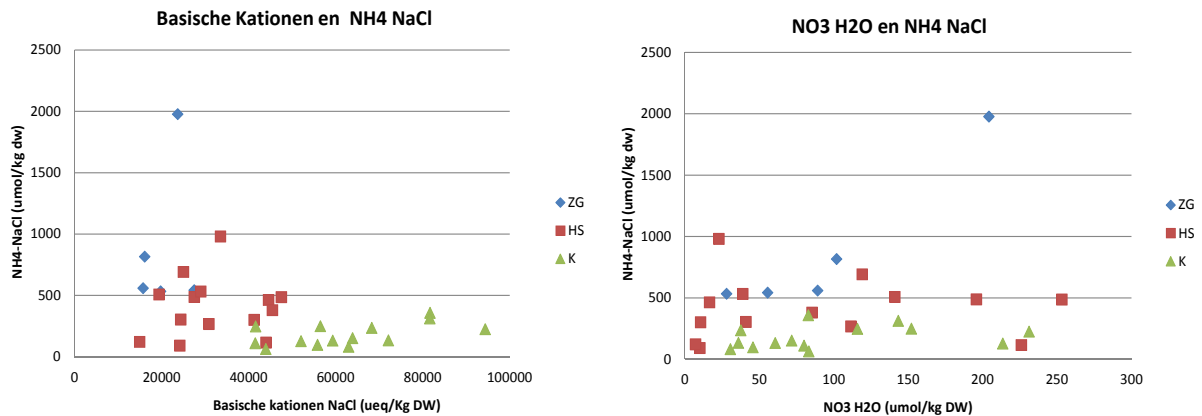
Door de metingen uit het najaar van 2010 en voorjaar van 2011 is een goed beeld verkregen van de verschillen in zuurtegraad en buffering van de vegetatietypen op de gradiënt van de onderzochte hellingen.

Om dit kort weer te geven is de dataset bestaande uit de 4 metingen van 2010 en 2011 gemiddeld en gesplitst per vegetatietype. In figuur 5.1 (linker deel) is de concentratie vrij uitwisselbaar calcium uitgezet tegen de vrije uitwisselbare concentratie aluminium in de bodem. Dit is een indicatie voor de basenverzadiging van de terreinen. Hier is te zien dat de concentraties Al en Ca van het zure en heischrale deel van de hellingen voor een deel overlapt, maar ook dat het heischrale deel van de helling iets meer gebufferd is dan het zure deel, zoals verwacht wordt. De kalkgraslanden zijn duidelijk veel meer gebufferd dan de heischrale en zure graslanden. De concentratie basische kationen gemeten in het zoutextract en de pH bevestigen dit beeld (rechter deel Figuur 5.1), waarbij de heischrale graslanden wat betreft pH dicht bij de zure graslanden lijken te liggen dan bij de kalkgraslanden. Verder valt op dat de zure en heischrale graslanden voorkomen binnen een grote aluminium range.



Figuur 5.1. Concentratie Aluminium en Calcium uit het zoutextract uitgedrukt in  $\mu\text{mol}$  per kg droge bodem (links) en de concentratie basische kationen uit het zoutextract, uitgedrukt in  $\text{meq}$  per kg droge bodem en de pH-NaCl (rechts). De vegetatietypes zijn opgesplitst in zure kiezelkopgraslanden (ZG), blauwe driehoekjes, heischraalgrasland (HS), rode blokjes, en kalkgrasland (K), groene driehoekjes.

Uit figuur 5.2 blijkt dat in de zure en heischrale zone van de hellingen veel meer ammonium dan nitraat is gemeten (2 tot 10 keer zo veel), maar ook hier is de variatie groot. Verder valt op dat in de kalkgrasland delen van de helling de ammoniumconcentratie lager is dan die gemeten in de zure zone, en dat het heischrale deel van de helling hier weer tussenin ligt.



Figuur 5.2. Concentratie basische kationen uit het zoutextract uitgezet tegen de concentratie ammonium (links) en de concentratie nitraat uitgezet tegen de concentratie ammonium (rechts). De vegetatietypes zijn opgesplitst in zure kiezelkopgraslanden (ZG), blauwe driehoekjes, heischraalgrasland (HS), rode blokjes, en kalkgrasland (K), groene driehoekjes.

### 5.1.2. Stikstofconcentratie in de heischrale zone per gebied

De variatie in nitraat in de bodem (tabel 5.1, Figuren in bijlage 6) is hoog, zo varieert deze op de Strooberg nitraatconcentratie van 2,5  $\mu\text{mol/l}$  droge bodem (12-11-2010) tot 18,4  $\mu\text{mol/kg}$  droge bodem (16-3-2011). Op de Winkelberg varieert de nitraatconcentratie van 39,4  $\mu\text{mol/Kg}$  droge bodem op 12-11-2010 tot maar liefst 355  $\mu\text{mol/Kg}$  droge bodem op 16-3-2011. Dit is tevens de hoogste nitraatconcentratie die gemeten is. Ook op het Hoefijzer is het verschil in nitraatconcentratie gemeten in het najaar en voorjaar erg groot, 8,6  $\mu\text{mol/kg}$  droge bodem op 12-11-2010 tegen 201  $\mu\text{mol/kg}$  droge bodem op 16-3-2011. Op de Koeberg en Berghofweide zijn de verschillen minder extreem, 106  $\mu\text{mol/Kg}$  droge bodem op 12-11-2010 en 223  $\mu\text{mol/kg}$  droge bodem op 16-3-2011 op de Koeberg en 6,4  $\mu\text{mol/kg}$  droge bodem (12-11-2010) tegen 70  $\mu\text{mol/kg}$  droge bodem op 16-3-2011 op de Berghofweide. Naast het grote seizoenseffect blijken er ook grote verschillen te zijn in minimale en maximale nitraatconcentraties tussen de onderzochte terreinen, waarbij er geen duidelijk verband is tussen de nitraatconcentraties en de soortenrijkdom van de terreinen.

Ook voor de ammoniumconcentratie (tabel 5.1) gemeten in het zoutextract geldt dat de concentraties in het voorjaar van 2011 (veel) hoger zijn dan die gemeten in het najaar van 2010. Op de Winkelberg werd naast de hoogste nitraatconcentratie ook de hoogste ammoniumconcentratie gemeten met 1544  $\mu\text{mol/kg}$  droge bodem op 11-5-2011. Ook op de Koeberg werd op 11-5-2011 een opvallend hoge ammoniumconcentratie gemeten van 1422  $\mu\text{mol/kg}$  droge bodem.

Verder wordt nogmaals duidelijk dat de ammoniumconcentraties op ieder gemeten tijdstip hoger zijn dan de nitraatconcentraties, en dat de verhouding ammonium en nitraat varieert in de tijd.

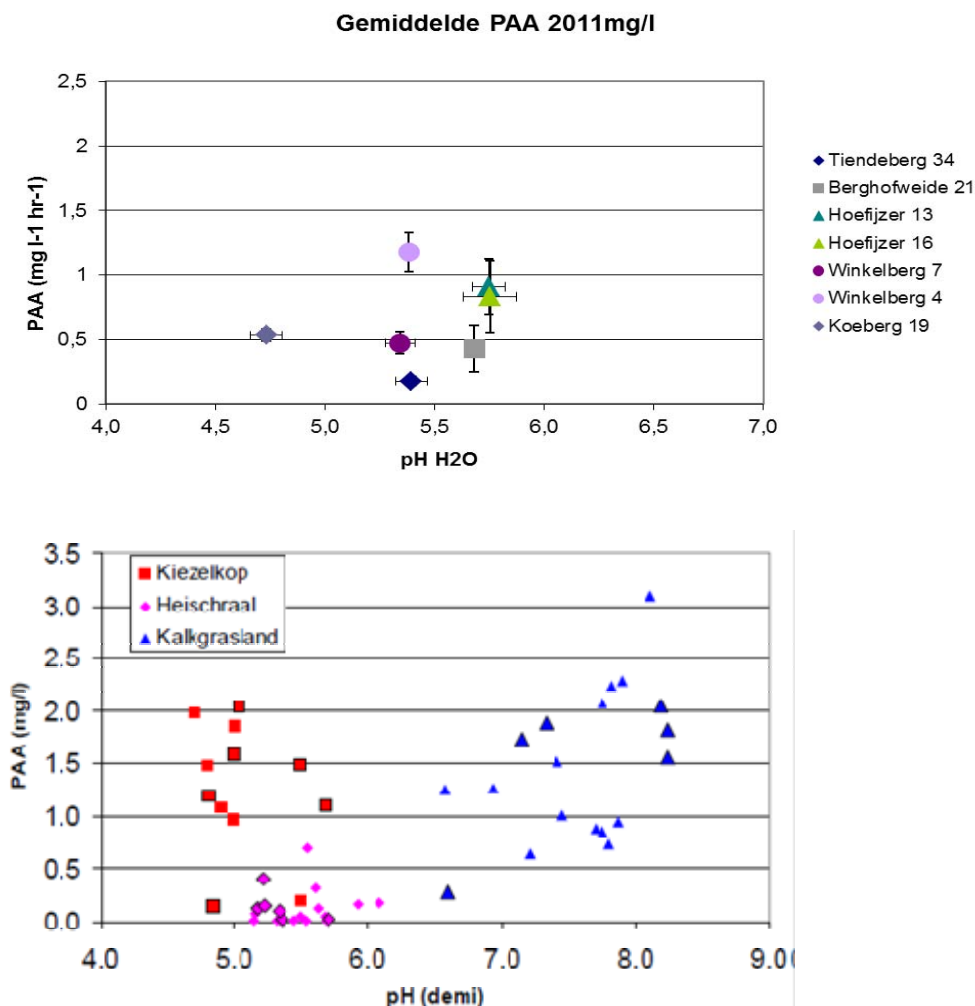
Tabel 5.1. Nitraatconcentraties in het Heischrale deel van de hellingen gemeten in het waterextract, ammoniumconcentraties gemeten in het zoutextract en de ammonium/nitraat ratio, waarbij ammonium uit het zoutextract is gedeeld door de concentratie nitraat uit het waterextract. Wanneer er meerdere heischrale plots zijn bemonsterd binnen een terrein is het gemiddelde genomen van deze metingen. Tussen haakjes: standaard fout.

	13-9-2010	12-11-2010	16-3-2011	11-5-2011
	NO3-H2O	NO3-H2O	NO3-H2O	NO3-H2O
	umol/Kg Dw	umol/Kg Dw	umol/Kg Dw	umol/Kg Dw
<b>Strooberg</b>	2,6 (0,5)	2,6 (0,6)	18,4 (0,4)	11 (5,2)
<b>Winkelberg</b>	61,1 (42)	39,4 (37)	354,9 (124)	174,6 (108)
<b>Hoefijzer</b>	14,9 (1,8)	8,6 (5,5)	200,7 (121)	80,9 (23)
<b>Koeberg</b>	127,0	105,6	223,1	108,7
<b>Berghofweide</b>	6,4 (2,2)	7,2 (5,4)	69,6 (46)	15,6 (2,8)
<b>Tiendeberg</b>			20,9 (1,7)	18,5 (8)
<b>Kannerhei</b>			276,4 (169)	62,3 (1,6)
	13-9-2010	12-11-2010	16-3-2011	11-5-2011
	NH4-NaCl	NH4-NaCl	NH4-NaCl	NH4-NaCl
	umol/Kg Dw	umol/Kg Dw	umol/Kg Dw	umol/Kg Dw
<b>Strooberg</b>	22,8 (3,2)	21,9 (0,19)	203,3 (385)	176,5 (22,8)
<b>Winkelberg</b>	127,5 (39,5)	143,4 (67,6)	541,1 (293)	1543,6 (595)
<b>Hoefijzer</b>	175,2 (72,6)	155,9 (62,8)	437,1 (125)	411,5 (61)
<b>Koeberg</b>	137,8	214,7	251,9	1421,6
<b>Berghofweide</b>	150,8 (77,7)	182,9 (37,2)	398 (209)	931,7 (197)
<b>Tiendeberg</b>			661,4 (219,9)	781,3 (298)
<b>Kannerhei</b>			521,8 (123)	343,1 (18)
	13-9-2010	12-11-2010	16-3-2011	11-5-2011
	NH4/NO3	NH4/NO3	NH4/NO3	NH4/NO3
	mol/mol	mol/mol	mol/mol	mol/mol
<b>Strooberg</b>	8,8 (0,4)	9,4 (2,3)	10,9 (1,8)	21,95 (12,4)
<b>Winkelberg</b>	3,1 (1,46)	18,24 (15,5)	1,41 (0,33)	17,8 (14,4)
<b>Hoefijzer</b>	12,5 (6,4)	15,1 (2,36)	2,8 (1,1)	5,8 (2,4)
<b>Koeberg</b>	1,1	2,0	1,1	13,1
<b>Berghofweide</b>	22 (4,4)	48,8 (31,4)	7,7 (3,0)	59,2 (1,8)
<b>Tiendeberg</b>			32,8 (13,25)	43,5 (2,8)
<b>Kannerhei</b>			2,58 (1,13)	5,5 (0,18)

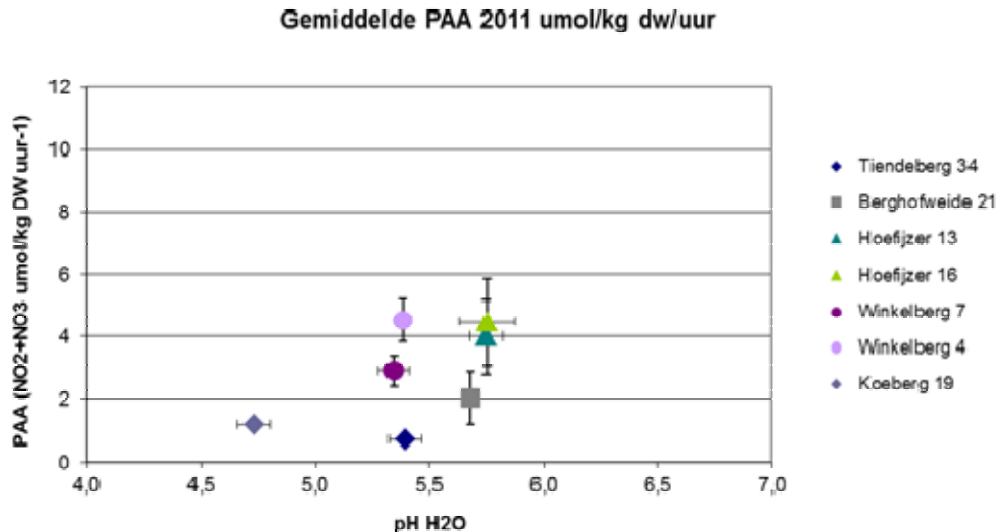
### 5.1.3 Resultaten potentiële ammonium oxiderende activiteit (PAA) metingen

Om locaties te vinden waar de nitrificatie waarschijnlijk geremd wordt en locaties waar dit niet het geval zou kunnen zijn, zijn op 12-4-2011 bodemmonsters verzameld in het heischrale deel van de helling op de Tiendeberg, Berghofweide, het Hoefijzer (twee locaties), de Winkelberg (twee locaties) en de Koeberg. Op iedere monsterlocaties zijn vijf bodemmonsters verzameld en meegenomen voor de bepaling van de potentiële ammoniumoxiderende activiteit.

De resultaten van de PAA metingen uit 2011 blijken goed overeen te komen met de resultaten gevonden in Fase 1 van het onderzoek (figuur 5.3). In het heischrale deel van de Tiendeberg en Koeberg zijn de laagste potentiële ammoniumoxiderende activiteit gemeten (figuur 5.4). Het verschil in PAA gemeten op de twee locaties op de Winkelberg laat wederom zien dat er binnen een terrein grote variatie bestaat. De resultaten van de PAA metingen op de twee locaties op het Hoefijzer liggen dicht bij elkaar. Verder valt op dat de Berghofweide een relatief lage PAA is gemeten, terwijl dit toch één van de beter ontwikkelde terreinen is.



Figuur 5.3. Gemiddelde potentiële ammonium oxiderende activiteit gemeten in mg per liter in 2011 (bovenste figuur) en in 2005 (onderste figuur). Bron: Rapport DKI nr. 2009/dk118-O uitgezet tegen de (gemiddelde) veld pH H<sub>2</sub>O van de verzamelde bodemmonsters. Errorbars: ±standaardfout, n=5

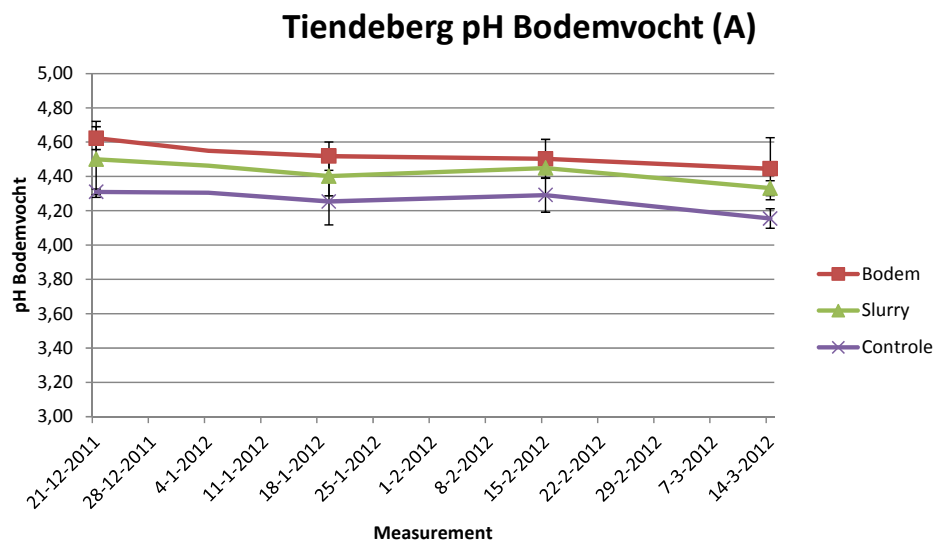
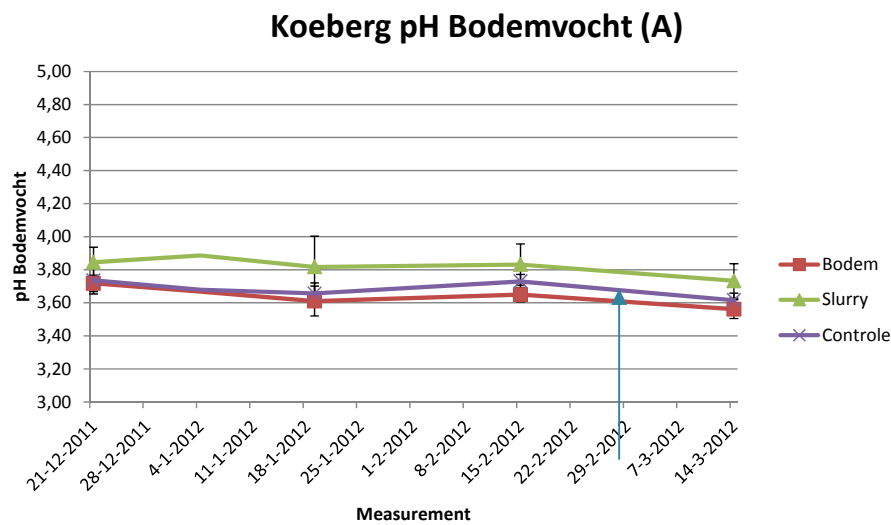


Figuur 5.4. Gemiddelde potentiële ammonium oxiderende activiteit gemeten in umol/kg droge bodem per uur, uitgezet tegen de gemiddelde veld pH H<sub>2</sub>O van de verzamelde bodemonsters. Errorbars: ±standaardfout, n=5

## 5.2 Resultaten Kolomexperiment (onderzoeksvraag d)

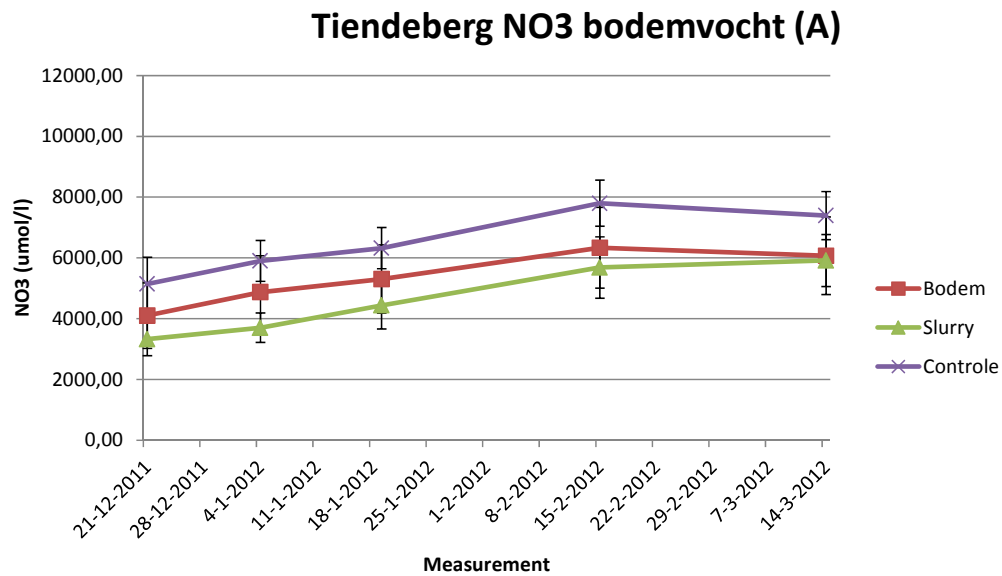
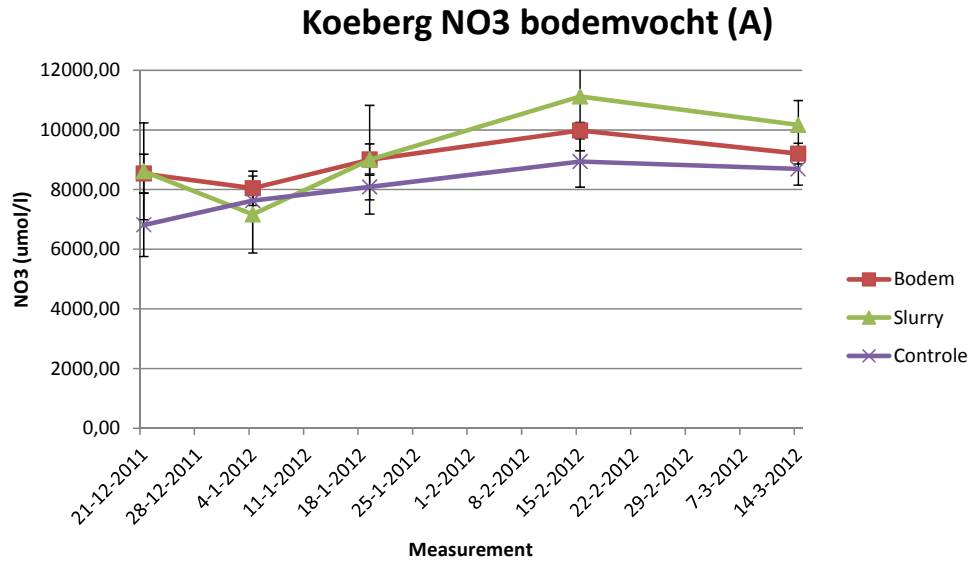
In augustus 2011 is gestart met het kolomexperiment. Op basis van de resultaten van de PAA metingen in het voorjaar van 2011 en na overleg met de terreinbeheerders is besloten om het heischrale deel van de Koeberg en Tiendeberg te gebruiken om de kernen te steken (lage potentiële nitraatproductie). Hier zijn ieder 20 bodemkernen verzameld. In iedere kern zijn twee rhizons geplaatst, een op 5cm van de bovenrand van de bodem (de A rhizons) en een op 10cm van de bovenrand van de bodem (de B rhizons). Eind 2012 zijn de bodemkernen in vier groepen ingedeeld, de groep met de hoogste nitraatconcentraties en laagste ammoniumconcentraties is gebruikt als entmateriaal (5 kernen van de Tiendeberg en 5 kernen van de Koeberg). Hierbij is de bovenste 5 cm van de kernen uit de Koeberg en Tiendeberg gemengd. De overige kernen zijn in drie groepen verdeeld van ieder 5 kernen, een controle groep, een groep die geënt is met bodemmateriaal en een groep die geënt is met de bodemslurrie. Alleen de resultaten van de metingen uit de bovenste rhizons zijn weergegeven (de A rhizons), de metingen van de B-rhizons laten hetzelfde beeld zien.

De pH van het porievocht van de bodemkolommen van de Koeberg is gemiddels (3,7 tot 3,8) wat lager dan die gemeten in de kolommen van de Tiendeberg (rond de 4,5). De pH-waarden zijn in de eerste 3 maanden na behandeling met bodem of slurry niet beïnvloed door de entingen (figuur 5.5).



Figuur 5.5. pH poriewater (-5cm; A rhizon) van december 2011 tot in maart 2012 in de bodemkolommen van de Koeberg (bovenste figuur) en Tiendeberg (onderste figuur). Gemiddelde waarde en standaardfout zijn gegeven.

De nitraatconcentraties (figuur 5.6) gemeten in het porievocht van de behandelingen in de Koeberg-Kolommen zijn ongeveer 2x zo hoog (rond de 8000  $\mu\text{mol/l}$ ) als die gemeten in de Tiendeberg (ongeveer 4000  $\mu\text{mol/l}$ ). Na behandeling met de bodemkrumels of slurry zijn in de kolommen van de Tiendeberg geen verschuivingen t.o.v. elkaar gevonden, terwijl de nitraatconcentraties in het poriewater van de Koeberg wat gestimuleerd lijkt. De vervolgmetingen in april en mei moeten duidelijk maken of deze trend zich voortzet.

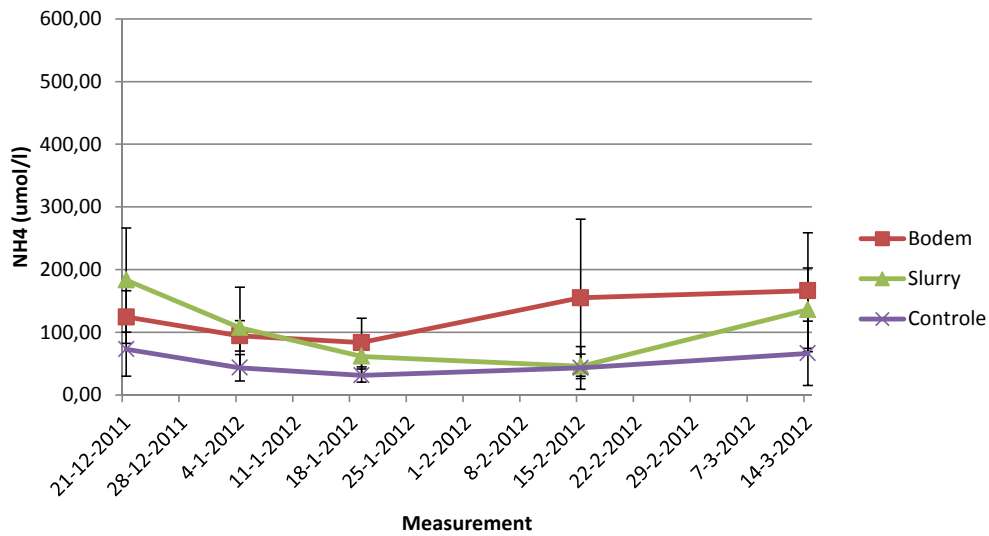


Figuur 5.6. Figuur 5.x. NO<sub>3</sub> gemeten in het poriewater (-5cm; A rhizon) van december 2011 tot in maart 2012 in de bodemkolommen van de Koeberg (bovenste figuur) en Tiendeberg (onderste figuur). Gemiddelde waarde en standaardfout zijn gegeven.

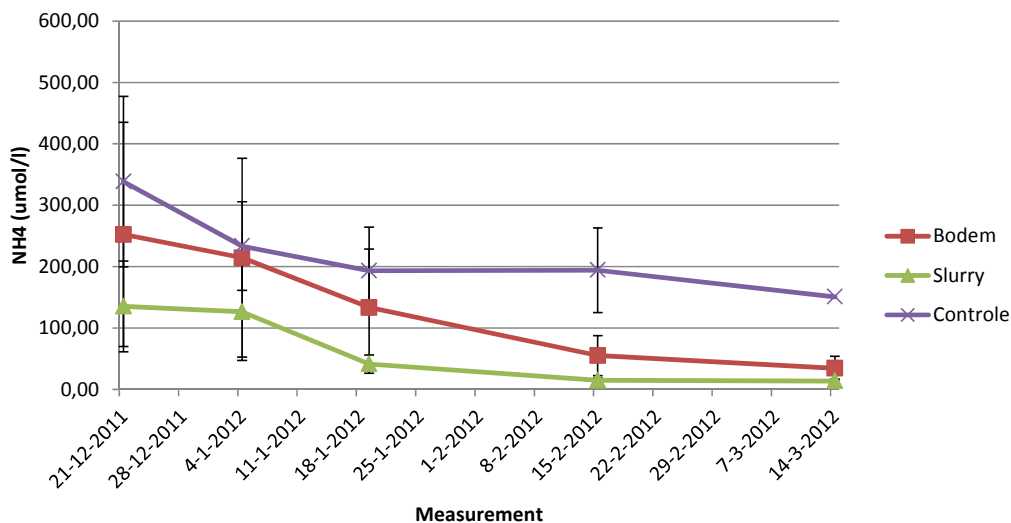
De ammoniumconcentraties gemeten in het porievocht (figuur 5.7) zijn niet verschillend tussen de kolommen van de Koeberg en de Tiendeberg, en vergeleken met nitraat erg laag. Er zijn tot nu toe geen verschillen tussen de behandelingen gevonden, welk zijn de lage ammoniumconcentraties mogelijk een beperking voor het optreden van ammoniumoxidatie.



### Koeberg NH4 Bodemvocht (A)



### Tiendeberg NH4 Bodemvocht (A)



Figuur 5.7.  $\text{NH}_4$  gemeten in het poriewater (-5cm; A rhizon) van december 2011 tot in maart 2012 in de bodemkolommen van de Koeberg (bovenste figuur) en Tiendeberg (onderste figuur). Gemiddelde waarde en standaardfout zijn gegeven.

Het bodemkolommen-experiment met de toevoegingen van bodemkrumels of bodemslurry laat nog niet de verwachte resultaten zien. De bemonsterde locaties zijn geselecteerd op basis van zeer lage PAA's (Koeberg & Tiendeberg), maar na enkele maanden zijn de nitraatconcentraties toch relatief hoog in het bodemwater, vooral in de bodems uit de Koeberg. Er treedt onder deze omstandigheden dus toch nitrificatie op. Het enten met materiaal van goed nitrificerende kernen heeft tot nu toe weinig effect op de chemie van het bodemporiewater, al lijkt in de kolommen van de Koeberg na de toediening van bodemslurry de nitraatconcentraties in het bodemvocht toe te nemen. Dit alles kan veroorzaakt worden doordat het nitrificatieproces niet (meer?) geremd is in de kernen waardoor enten niet (of nauwelijks) nodig is en geen effect heeft, of doordat het verschil tussen het entmateriaal en de te enten kernen niet groot genoeg is. Mogelijke oplossing om te zien of het enten een effect heeft is om de kernen nogmaals te enten met materiaal van het Hoefijzer, waar de gemeten

PAA's altijd hoog zijn. Aangezien de ammoniumconcentraties relatief erg laag geworden zijn, is het verder waarschijnlijk noodzakelijk om nogmaals met ammonium te beregenen.

Het doel van het experiment met intacte bodemkolommen is om de meest effectieve entmethode te ontwikkelen om later ook in het veld de nitrificatie te kunnen stimuleren, en daarmee de negatieve effecten van ammoniumvoeding te beperken of te voorkomen. Echter, op dit moment zijn de resultaten nog onvoldoende om nu al een definitieve keuze te kunnen maken, en de verwachte looptijd van het kolommenexperiment is nog zeker 3-4 maanden. Na overleg met het DT-Heuvellandschap op 25-4-2012 is besloten het volgende traject in te gaan:

De kernen van het kolomexperiment worden opnieuw geënt, maar nu met materiaal uit het Hoefijzer. Ondertussen, dus parallel aan het kolomexperiment, wordt een kleinschalig veldexperiment ingezet. Dit experiment zal worden geplaatst op de Koeberg en het slecht nitrificerende deel van de Winkelberg (locatie Winkelberg 7). Hier worden kleine proefvlakken uitgezet waarbij de volgende behandelingen worden ingezet:

- a) al of niet enten met bodemslurry en – bodemkruimels uit het Hoefijzer;
- b) al of niet ondiep plaggen.

Iedere behandeling wordt zowel op de Koeberg als Winkelberg in vier- of vijfvoud uitgevoerd.

*Arnica montana* zal in het experiment als testplant worden gebruikt of de behandelingen zo effectief zijn dat deze soort in de proefvlakken kan kiemen en vestigen. Hypothese hierbij is dat door bodementen de nitrificatie gestimuleerd wordt en zo nitraat de dominante N-vorm wordt, en niet ammonium, waarvoor veer bedreigde heischrale soorten zeer gevoelig zijn.

In Fase 1 van het onderzoek zijn aanwijzingen gevonden dat de nitrificatie mogelijk geremd wordt door de kenmerkende heischrale vegetatie. Om dit te testen in het veld wordt een deel van de proefvlakken geplagd en een deel niet. Zo kan tevens worden onderzocht wat het effect van de vegetatie is op de behandelingen.

## 6. Voorlopige conclusies

In het tweede onderzoeksjaar van het project 2<sup>e</sup> fase onderzoek hellingschraallanden is in beide projectonderdelen met name onderzocht of experimenteel bodem enten een deel van de geconstateerde knelpunten kan opheffen. Het onderzoek naar de mogelijkheden voor uitbreiding van hellingschraalland op voormalige landbouwgrond heeft zich geconcentreerd op de vraag of kleinschalig bodementen zinvol is als aanvullende inrichtingsmaatregel. In het onderzoek naar de verstoorde nutriëntenhuishouding in het heischrale deel van bestaande hellingschraallanden is in dit tweede onderzoeksjaar met name getracht de nitrificatiesnelheid onder gecontroleerde labomstandigheden weer op gang te brengen. Dit onderzoek heeft een aantal nieuwe inzichten opgeleverd, in aanvullingen op de voorlopige conclusies uit de eerste tussenrapportage (Van Noordwijk et al. 2011).

### **Bodem enten op voormalige landbouwgrond**

In het bodemmateriaal uit goed ontwikkelde hellingschraallanden dat als bron dient voor het bodementen bleken diverse faunagroepen te zitten. Dit betreft zowel verschillende macrofaunagroepen zoals kevers, duizendpoten en regenwormen als microarthropoden zoals mijten en springstaarten. In het bodemmateriaal uit de donorterreinen werden ook een aantal macrofaunagroepen aangetroffen waarvan bekend is dat ze weinig mobiel zijn en die niet in staat zijn met maaisel mee te komen. Het gaat daarbij met name om pissebedden, miljoenpoten, duizendpoten, huisjesslakken en enkele keverfamilies. Deze groepen bleken momenteel nog weinig aanwezig te zijn in de ontgronde proefvlakken. Met name pissebedden, duizendpoten en miljoenpoten spelen echter een belangrijke rol in het ecosysteem (afbraak van plantenmateriaal). Met name voor deze groepen zou (kleinschalig) bodementen een waardevolle aanvullende maatregel kunnen zijn bij het omvormen van voormalige landbouwgrond tot hellingschraalland. Ook diverse microarthropoden zijn goed met bodemmateriaal mee te krijgen en waren direct na ontgronden nog weinig aanwezig in de hellingschraallanden. Voor deze groep is niet bekend in hoeverre ze met maaisel meekomen en in hoeverre ze nu, vier jaar na ontgronden, op eigen kracht naar de ontgronde proefvlakken zijn gekomen. Metingen in proefvlakken met en zonder bodementen die gepland staan voor eind 2012 moeten uitwijzen of bodementen ook voor microarthropoden een zinvolle aanvullende maatregel is.

### **Spontane kolonisaties en herintroducties fauna op voormalige landbouwgrond**

De Veldparelmoervlinder heeft zich gevestigd in beide proefvlakken die ontgrond zijn en waar maaisel is opgebracht. In beide delen zijn diverse rupsennesten aangetroffen, ook na de winter. De proefvlakken lijken daarmee gefungeerd te hebben als buffer voor de populatie op de Winkelberg zelf, waar in het voorjaar van 2012 tot u toe geen rupsennesten zijn gevonden. Dit illustreert hoe belangrijk de uitbreiding van hellingschraalland nabij bestaande reservaten is als uitwijkmogelijkheid voor faunasoorten wanneer de reservaten tijdelijk minder geschikt zijn.

Van de drie geïntroduceerde sprinkhaansoorten heeft één, het Negertje zich weten te handhaven in het grootschalige experiment. Daarmee lijkt het erop dat het gebied op zijn minst voor deze soort redelijk geschikt is.

### **Stikstofhuishouding heischrale vegetatie**

De bodemchemische parameters zoals pH, ammonium- en nitraatconcentratie en de calcium- en aluminiumconcentratie gemeten in de bodem van de verschillende hellingen variëren, zoals

verwacht, sterk over de aanwezige gradiënt die aanwezig is in de Zuid-Limburgse hellingschraallanden. De ammonium- en nitraatconcentraties gemeten in de bodems van de heischrale delen van de hellingen fluctueren sterk tussen de seizoenen. In het algemeen waren de ammonium- en nitraatconcentraties gemeten in het voorjaar het hoogst.

De resultaten van de PAA-metingen (“potentiële nitrificatie”) uitgevoerd in 2011 komen goed overeen met de resultaten van de metingen uit 2005. Verder is gevonden dat met name heischrale locaties op de Tiendeberg en Koeberg zeer lage nitrificatiesnelheden hebben, terwijl die op het Hoefijzer duidelijk hoger zijn. Ook is er soms grote variatie aanwezig binnen één terrein (Winkelberg). Overigens is er niet altijd een duidelijk verband te zien tussen een zeer lage potentiële nitrificatie en de botanische kwaliteit van het betreffende reservaat.

Het bodemkolommen-experiment met de toevoegingen van bodemkruimels of bodemslurry laat nog niet de verwachte resultaten zien. De kernen van het kolomexperiment zullen daarom in 2012 opnieuw geënt worden, maar nu met materiaal uit het Hoefijzer, waar in het veld hogere potentiële nitrificatiesnelheden gemeten zijn. Ondertussen, dus parallel aan het kolomexperiment, wordt een kleinschalig veldexperiment ingezet. Dit experiment zal worden geplaatst op de Koeberg en het slecht nitrificerende deel van de Winkelberg (locatie Winkelberg 7). Hier worden kleine proefvlakken uitgezet waarbij de volgende behandelingen worden ingezet: a) al of niet enten met bodemslurry en – bodemkruimels uit het Hoefijzer; b) al of niet ondiep plaggen. *Arnica montana* zal in het experiment als testplant worden gebruikt of de behandelingen zo effectief zijn dat deze soort in de proefvlakken kan kiemen en vestigen. Hypothese hierbij is dat door bodementen de nitrificatie gestimuleerd wordt en zo nitraat de dominante N-vorm wordt, en niet ammonium, waarvoor veer bedreigde heischrale soorten zeer gevoelig zijn. In Fase 1 van het onderzoek zijn aanwijzingen gevonden dat de nitrificatie mogelijk geremd wordt door de kenmerkende heischrale vegetatie. Om dit te testen in het veld wordt een deel van de proefvlakken geplagd en een deel niet. Zo kan tevens worden onderzocht wat het effect van de vegetatie is op de behandelingen.

## Dankwoord

Wij zijn de terreinbeheerders in Zuid-Limburg, Stichting het Limburgs Landschap, Staatsbosbeheer en Natuurmonumenten zeer dankbaar voor het toestaan van onderzoek in hun terreinen en de grote hulpvaardigheid bij het zoeken naar informatie en het uitvoeren van onderzoek. Stichting het Limburgs Landschap zijn wij zeer erkentelijk voor alle praktische hulp bij het onderzoek op de Verlengde Winkelberg. Wanda Floor-Zwart, Marten Geertsma en Marijn Nijssen worden hartelijk bedankt voor hun bijdrage in het veld- en determineerwerk van het faunaonderzoek. Deze publicatie is tot stand gekomen met een financiële bijdrage van het Ministerie van Economische Zaken, Landbouw en Innovatie in het kader van het OBN onderzoeksprogramma.

## Literatuur

Smits, N.A.C., C.G.E. van Noordwijk, R. Bobbink, H. Esselink, R. Huiskes, L. Kuiters, W. Ozinga, J.H.J. Schaminée, H. Siepel, W.C.E.P. Verberk & J.H. Willems, 2009. Onderzoek naar de ecologische achteruitgang en het herstel van Zuid-Limburgse hellingschraallandcomplexen. Ede, Ministerie van LNV, Directie Kennis, 2009 (Rapport DKI nr. 2009/dk118-O). 153p.

Van Noordwijk, C.G.E., 2011. Using life-history analysis to improve restoration management. *Proceedings of the Netherlands Entomological Society Meeting 22*: 79-89.

Van Noordwijk, C.G.E., M.J. Weijters, N.A.C. Smits, J. Kuper, R. Loeb, H.P.J. Huiskes, W. Dimmers, R. Bobbink & H. Siepel, 2011. Tussenrapport 2e fase O+BN hellingschraallanden onderzoek, resultaten 1e jaar, 2010-2011. Stichting Bargerveen rapport 2011.072. 75p.

## **Bijlage 1. Aangepaste methode voor bemonstering fauna uit bodemplaggen hellingschraallanden**

Voor het extraheren van de macrofauna uit de plaggen van de Zuid-Limburgse hellingschraallanden moest een aparte methode ontwikkeld worden. De standaardmethode, waarbij de ongewervelden onder hittelampen uit de bodem 'gepest' worden bleek niet bruikbaar omdat het bodemmateriaal te snel inklonk, waardoor insecten geen kans kregen om uit de bodem te kruipen. Derhalve is speciaal voor de lemige löss-bodems een alternatieve methode ontwikkeld. Daarbij werd de plag in een hoge afsluitbare emmer 24 uur in water ingeweekt zodanig dat de grond helemaal verzadigd was. Waar nodig werd de plag uit elkaar getrokken om het proces te versnellen. Na de inweekperiode werd de emmer voor ca. 1/3 gevuld met water zodat de plag ruim onder water kwam te staan. De emmer met een deksel afgesloten is vervolgens op een trilplaat (Gyrotory) geplaatst om op middelhoge snelheid (stand 90) circa 15 minuten door elkaar geschud te worden. Hierdoor werd de bodem gescheiden van de vegetatie. Plaggen met kluitvorming zijn vervolgens handmatig losgemaakt. Stenen zijn tijdens dit proces ook zoveel mogelijk verwijderd. Na de behandeling op de Gyrotory is de emmer ongeveer drie minuten met rust gelaten om het materiaal een beetje te laten bezinken en de levende fauna de kans te geven zich naar het oppervlak te bewegen. Met een fijne handzeef kon vervolgens de drijvende massa worden verzameld en worden uitgezocht in een ondiepe witte bak met water. Deze laag leverde gemiddeld al 75% van de aanwezige (grote) fauna op. De overgebleven substantie werd voorzichtig gezeefd met drie op elkaar geplaatste zeven van verschillende maaswijdte (3 mm, 1,5 mm en 0,5 mm). Alle zeven zijn vervolgens met het blote oog uitgezocht op de aanwezigheid van insecten. Hierdoor zijn zeer kleine groepen zoals Acari, Collembola, Nematoden en Chironomidae niet meegenomen.



## **Bijlage 2. Bodemchemie methode**

### ***Drooggewicht en organisch stofgehalte***

Om het vochtgehalte van het verse bodemmateriaal te bepalen is het vochtverlies gemeten door bodemmateriaal per monster af te wegen in aluminium bakjes en gedurende 24 uur te drogen in een stoof bij 70 °C. Vervolgens is het bakje met bodemmateriaal teruggewogen en is het vochtverlies berekend. Dit alles is in duplo uitgevoerd. De fractie organisch stof in de bodem is berekend door het gloeiverlies te bepalen. Hiertoe is het bodemmateriaal per monster, na het drogen, gedurende 4 uur verast in een oven bij 550 °C. Na het uitgloeien van de monsters is het bakje met bodemmateriaal weer gewogen en de fractie organisch materiaal berekend. Het gloeiverlies komt in dit type bodems goed overeen met het gehalte aan organisch materiaal in de bodem.

### ***Bodemdestructie***

Door de bodem te destrueren (ontsluiten) is het mogelijk de totale concentratie van bijna alle elementen in het bodemmateriaal te bepalen. Dit is uitgevoerd door het bodemmateriaal na het drogen op 70 °C te vermalen. Van het bodemmateriaal is per monster nauwkeurig 200 mg afgewogen en in teflon destructievaatjes overgebracht. Aan het bodemmateriaal is 5 ml geconcentreerd salpeterzuur (HNO<sub>3</sub>, 65%) en 2 ml waterstofperoxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%) toegevoegd en de vaatjes zijn geplaatst in een destructie-magnetron (Milestone microwave type mls 1200 mega). De monsters zijn vervolgens gedestruerd in gesloten teflon vaatjes. Na destructie zijn de monsters overgegoten in 100 ml maatcilinders en aangevuld tot 100 ml door toevoeging van milli-Q water. Vervolgens is het geheel overgeheveld in polyethyleenpotjes van 100 ml. De polyethyleenpotjes zijn bewaard voor verdere analyse.

### ***Zoutextract en waterextract***

In de zoutextracten en waterextracten is de eerst pH van de bodem bepaald. Hiervoor is 17,5 gram verse bodem met 50 ml zoutextract (0,2M NaCl) of 50ml demiwater gedurende 2 uur geschud op een schudmachine bij 100 rpm. De pH is gemeten met een standaard Ag/AgCl<sub>2</sub> elektrode verbonden met een radiometer Titralab TIM 840. Vervolgens is de hoeveelheid NO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>, Al en Ca bepaald, alsmede de hoeveelheid P en kationen, gemeten in het extract op de ICP en Autoanalyser.

### ***Olsenextract***

Het Olsen-extract is uitgevoerd ter bepaling van de hoeveelheid plantbeschikbaar fosfaat. Hiertoe is 3 gram droog bodemmateriaal met 60 ml Olsen-extract (0,5 M NaHCO<sub>3</sub> bij pH 8.4) gedurende 30 minuten uitgeschud op een schudmachine bij 100 rpm. Het extract is vervolgens geanalyseerd op de ICP.

### ***Analysemethoden***

De chemische analyse van de monsters heeft plaatsgevonden op het Gemeenschappelijk Instrumentarium van de Radboud Universiteit Nijmegen. De analyse van calcium, magnesium, ijzer, aluminium, zink, mangaan, totaal fosfor en totaal zwavel is uitgevoerd met behulp van Inductief Gekoppeld Plasma - Optische Emissie Spectrometrie (ICP-OES; Techno Electron Cooperation). De hoeveelheid NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en PO<sub>4</sub> is gemeten met Technicon autoanalyzers volgens Grasshoff & Johansen (1977) en Kamphake *et al.*, (1967).

## **Bijlage 3. Methode PAA meting**

### **Method Potential ammonia-oxidising activities (Thesis N.Smits, page 32)**

Potential ammonia-oxidising activities (PAA) as estimation of numbers of actively ammonia-oxidising cells were determined in 250 ml Erlenmeyer flasks.

15 gram of fresh soil in 100 ml buffered medium with 2 mM  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . The buffer was composed of 2 mM phosphate buffer (an equimolar mixture of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  and  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , adapted to the prevailing soil pH).

During the measurements the slurries were constantly shaken at 100 rpm and stored in the dark at a temperature of 27°C, Sub-samples of 3ml were taken at t=0, 2, 4, 6, 21, 27, 51, 74, 98, 122 and 146 hours, and centrifuged for 5 minutes at 13,000 rpm, decanted and frozen (-18°C) till analysed. At each sampling time, the pH of the incubation medium was checked, and restored to its original value with 0,1 N NaOH or 0,1 N HCL, if necessary. Concentrations of nitrite plus nitrate were measured on a continuous flow analyzer. Potential ammonia-oxidising activities were calculated from the changes in  $\text{NO}_2^-$  plus  $\text{NO}_3^-$  concentrations in time, using linear regressions. The slope of the regression lines were used as a measure for the potential ammonia-oxidising activity.

**Protocol measurement of Potential ammonia-oxidising activities**, derived from thesis N.Smits, page 32

#### ***Needed:***

- 250 ml Erlenmeyer flasks
- 2 mM  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- 2 mM phosphate buffer (an equimolar mixture of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  and  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , adapted to the prevailing soil pH)
- 0,1 N NaOH
- 0,1 N HCL

#### ***What to do:***

1. Measure the soil-pH in Demi-extract
2. Make the buffer 2mM with an equimolar mixture of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  and  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , and adjust to the pH-demi with 0,1 N NaOH or 0,1 N HCL.
3. Place 15 gram of fresh, sieved (4mm) soil in the 250ml Erlenmeyer flaks.
4. Add 100 ml of 2 mM phosphate buffer (an equimolar mixture of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  and  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , adapted to the prevailing soil pH)
5. Shake and take the t=0 sample 3ml.
6. Place the erlenmeyers on a shaker at 100 rpm and store this in the dark at a temperature of 27°C
7. Take a sub-samples of 3ml t=0, 2, 4, 6, 21, 27, 51, 74, 98, 122 and 146 hours
  - a. Check the pH with each sampling and adjust it to its original value with 0,1 N NaOH or 0,1 N HCL
  - b. Centrifuge the samples for 5 minutes at 13,000 rpm, decant and freeze (-18°C)
8. Concentrations of nitrite plus nitrate are measured on a continuous flow analyzer

## Bijlage 4. Bodemchemie entmateriaal

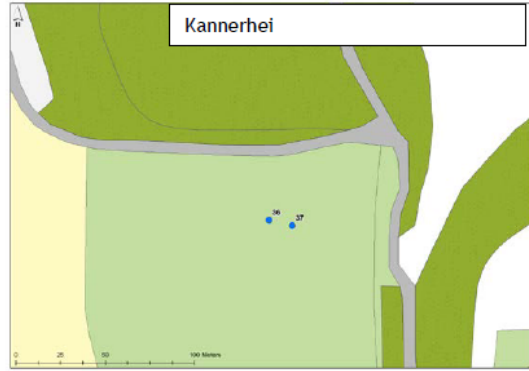
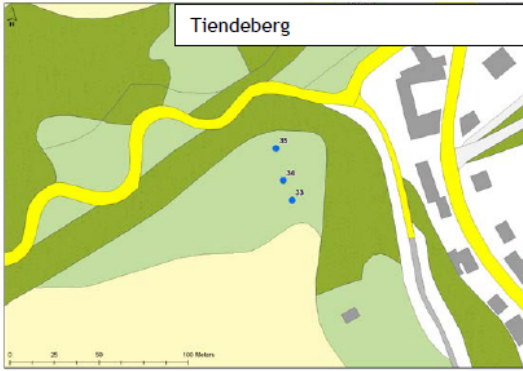
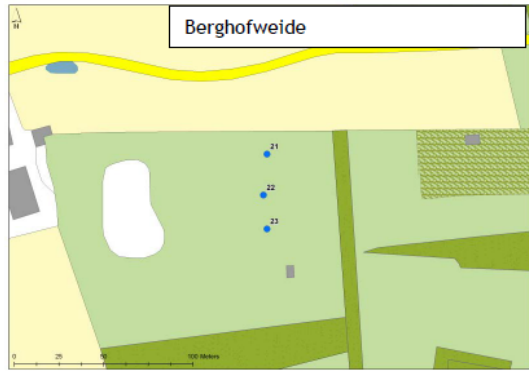
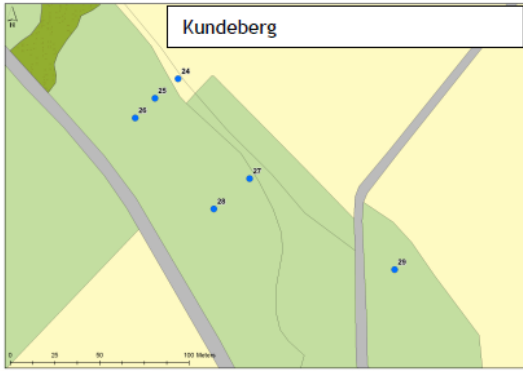
Nummer	fractie OS	vocht- gehalte (%)	Massavol bodeml	pH	Waterextract																
					Al	Ca	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	S	Si	Zn	NO3	NH4	K	Na	Cl	PO4
				umol/l FW		umol/l FW		umol/l FW		umol/l FW		umol/l FW		umol/l FW		umol/l FW		umol/l FW		umol/l FW	
1.2	0,12	38,59	0,83	4,10	51,92	1700,55	9,45	334,22	295,59	12,57	412,99	5,02	249,18	182,45	11,30	3767,56	352,70	316,53	348,36	318,87	5,69
1.2	0,12	38,66	0,87	4,01	51,34	1674,54	7,67	273,30	284,55	12,30	397,94	5,20	232,16	166,79	11,35	3795,29	280,92	253,13	312,40	258,47	2,62
1.2	0,12	37,69	0,92	3,75	39,63	1749,09	13,02	285,63	303,78	22,09	390,49	12,64	263,29	175,65	9,37	3918,09	325,12	263,66	331,07	240,10	10,07
2.2	0,11	35,81	0,98	3,49	70,37	2045,87	12,25	184,10	352,40	21,12	286,95	3,97	255,25	224,41	12,86	4419,43	205,02	168,82	196,09	167,85	2,82
2.2	0,12	36,44	0,95	3,53	42,41	1941,86	18,39	255,47	372,19	10,39	381,71	2,80	251,66	198,37	10,33	4376,87	321,30	226,00	304,42	225,37	1,94
2.2	0,12	35,59	0,95	3,59	57,24	2054,83	8,16	236,78	358,29	20,59	365,47	3,84	264,07	238,01	13,04	4486,29	242,62	197,95	271,75	193,83	2,50

Zoutextract															
pH	Al	Ca	Fe	K	Mg	Mn	P	S	Si	Zn	NO3	NH4			
		umol/l FW		umol/l FW		umol/l FW		umol/l FW		umol/l FW		umol/l FW		umol/l FW	
3,90	210,48	14276,97	5,43	967,81	1535,74	126,29	0,61	231,02	167,56	152,09	3991,95	1081,16			
3,99	247,05	14626,27	4,05	949,63	1535,03	123,00	1,06	231,73	152,23	156,99	3370,63	1112,71			
3,99	215,98	14729,66	4,23	951,57	1489,19	148,21	1,02	238,39	172,53	157,67	1921,89	1003,91			
3,94	369,18	14429,99	6,34	842,36	1555,28	174,77	1,92	252,80	203,90	155,46	4063,47	1172,35			
3,99	277,37	15285,06	5,81	729,50	1612,27	180,53	0,56	234,85	222,89	133,94	4251,61	1072,79			
3,99	296,54	14930,03	5,83	874,44	1597,03	159,02	1,07	244,15	190,73	157,62	3942,20	1187,49			

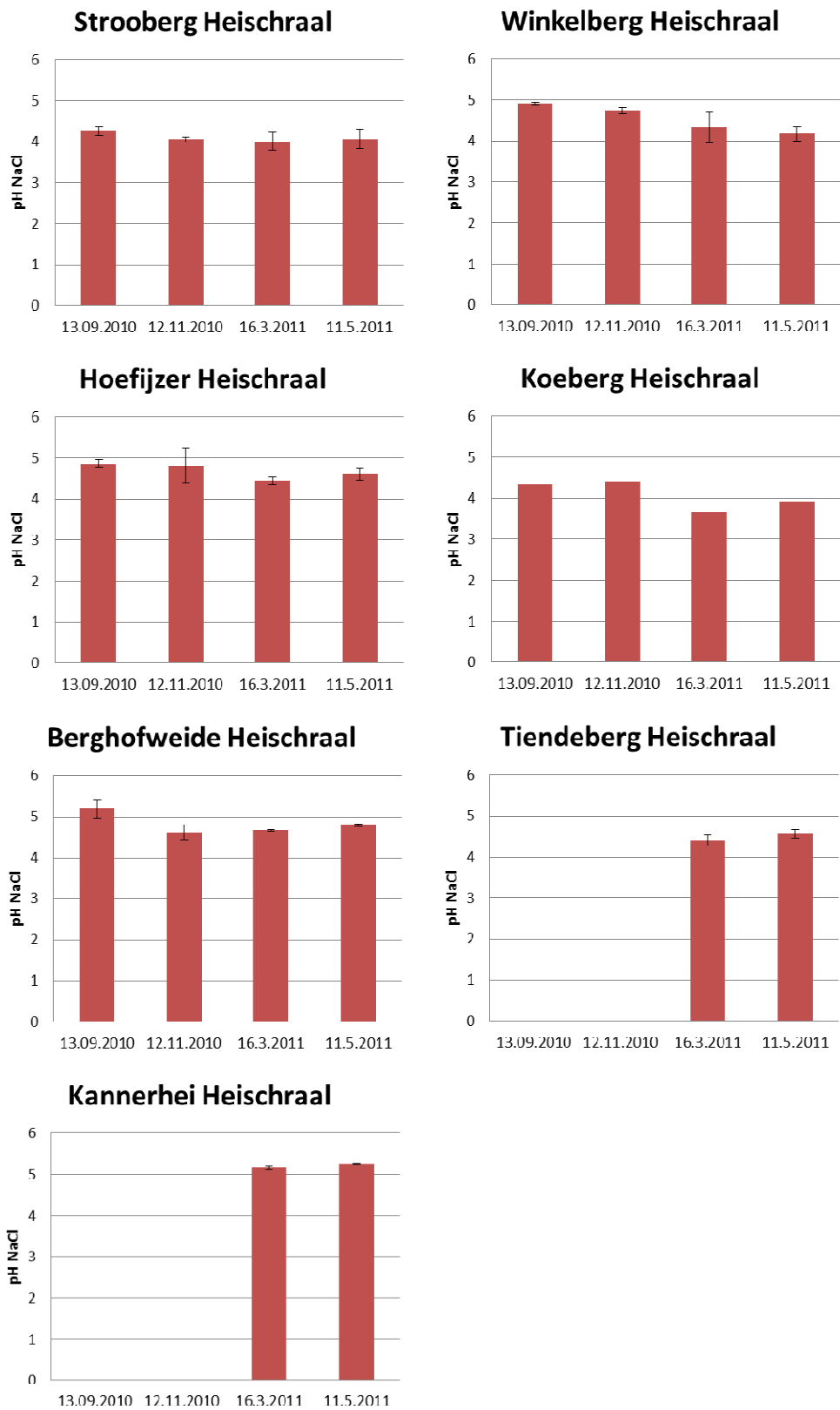
**Bijlage 5. Locaties bodembemonstering**



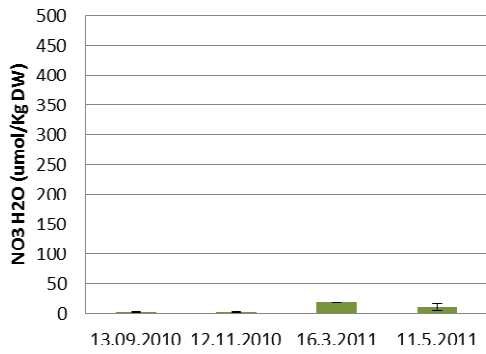


## Bijlage 6. Figuren resultaten bodemchemische metingen in voorjaar en najaar

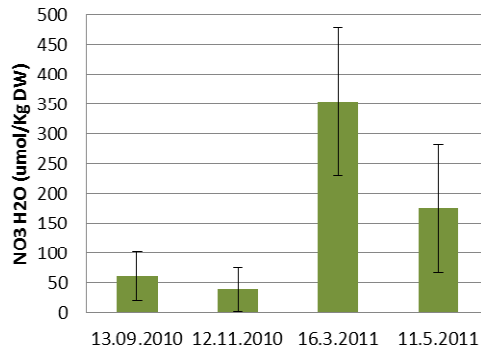
Error basr  $\pm$ standaardfout



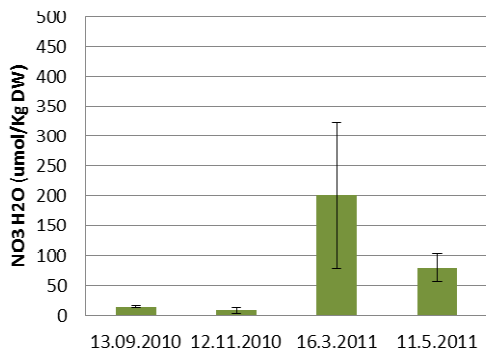
### Strooberg Heischraal



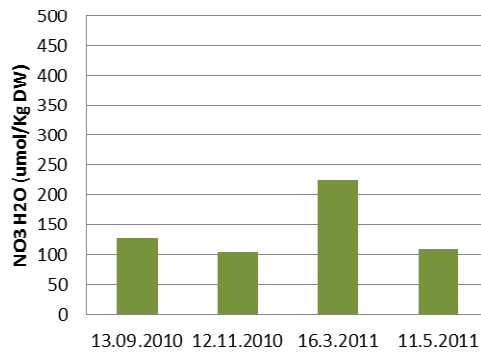
### Winkelberg Heischraal



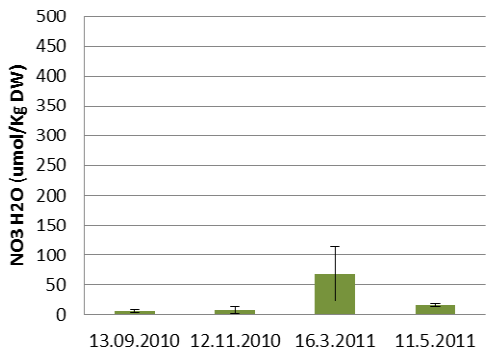
### Hoefijzer Heischraal



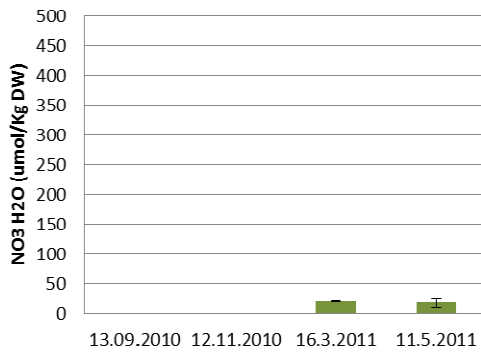
### Koeberg Heischraal



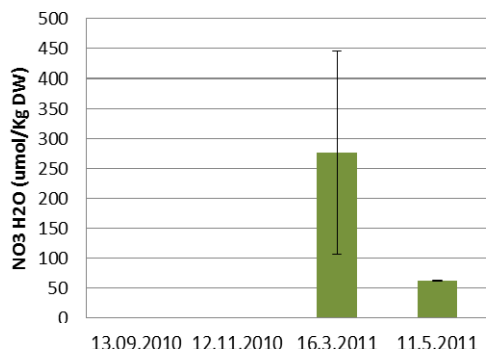
### Berghofweide Heischraal



### Tiendeberg Heischraal

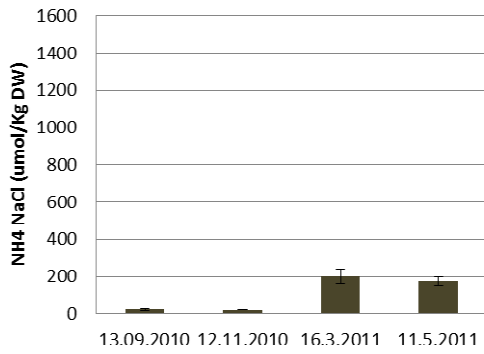


### Kannerhei Heischraal

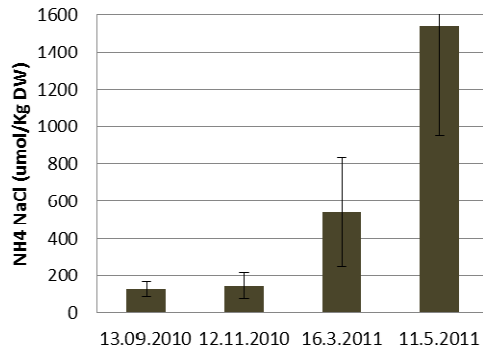




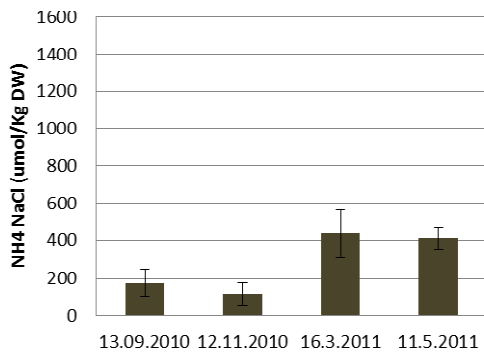
### Strooberg Heischraal



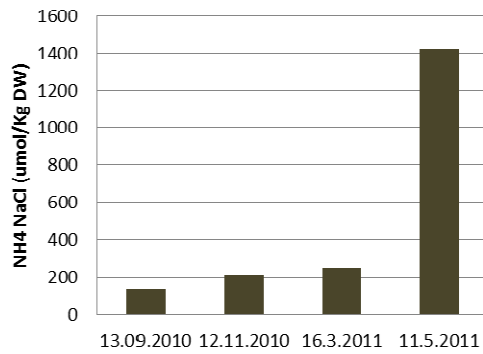
### Winkelberg Heischraal



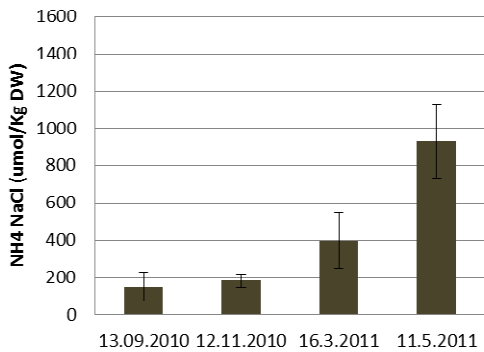
### Hoefijzer Heischraal



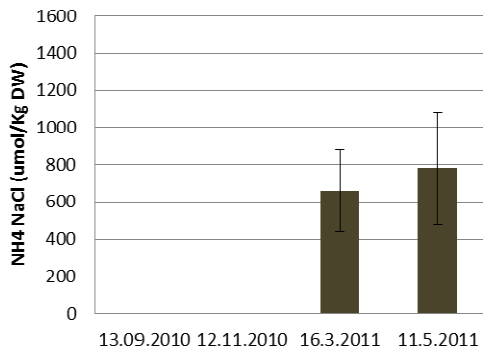
### Koeberg Heischraal



### Berghofweide Heischraal



### Tiendeberg Heischraal



### Kannerhei Heischraal

