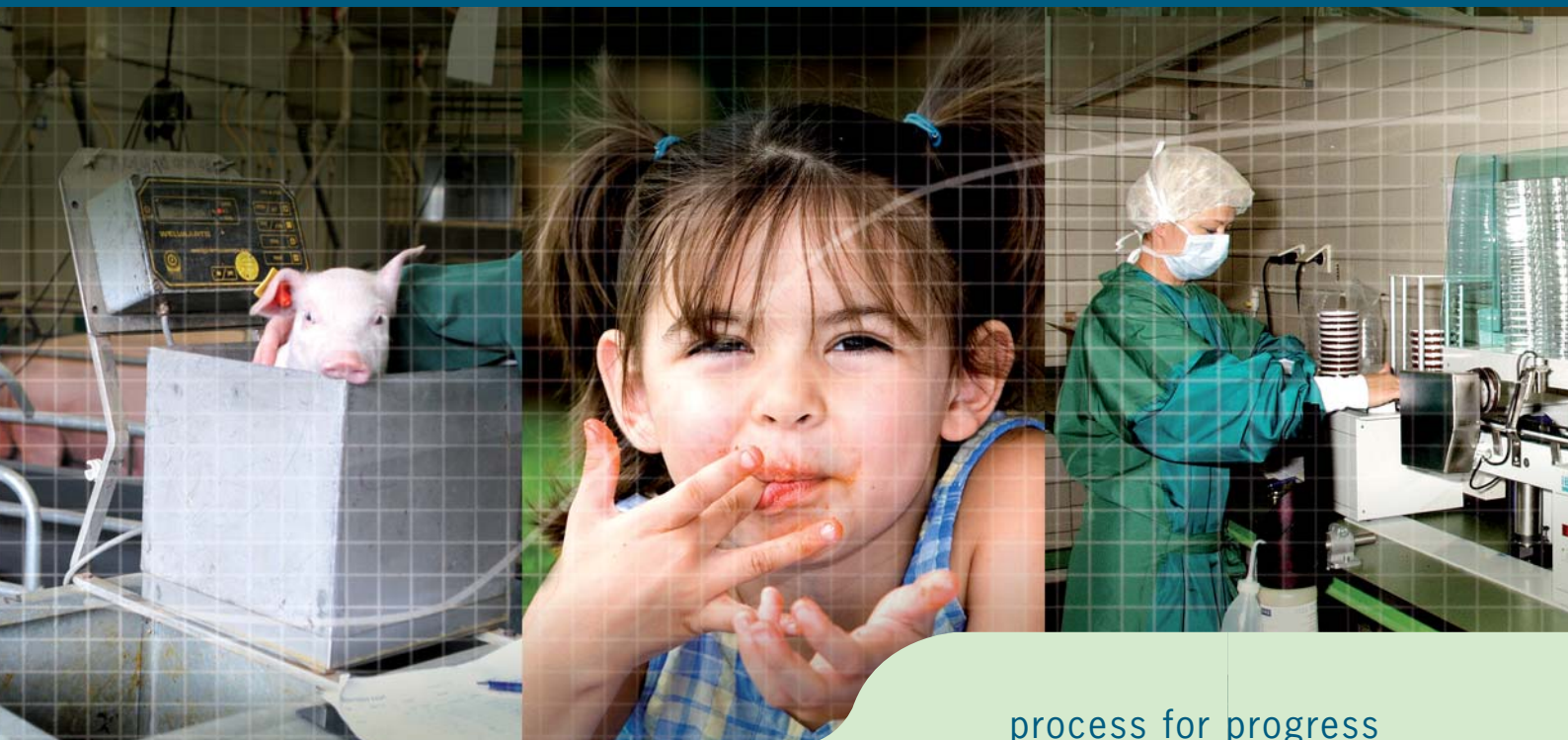


Animal Sciences Group

Kennispartner voor de toekomst



process for progress

Rapport 144

Verkenning van de mogelijkheden om de opname van bodemfosfaat door blijvend grasland te verhogen

Juni 2008



ANIMAL SCIENCES GROUP
WAGENINGEN UR

Colofon

Uitgever

Animal Sciences Group van Wageningen UR

Postbus 65, 8200 AB Lelystad

Telefoon 0320 - 238238

Fax 0320 - 238050

E-mail Info.veehouderij.ASG@wur.nl

Internet <http://www.asg.wur.nl>

Redactie

Communication Services

Aansprakelijkheid

Animal Sciences Group aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Liability

Animal Sciences Group does not accept any liability for damages, if any, arising from the use of the results of this study or the application of the recommendations.

Losse nummers zijn te verkrijgen via de website.



De certificering volgens ISO 9001 door DNV onderstreept ons kwaliteitsniveau. Op al onze onderzoeksopdrachten zijn de Algemene Voorwaarden van de Animal Sciences Group van toepassing. Deze zijn gedeponereerd bij de Arrondissementsrechtbank Zwolle.

Abstract

This literature study gives an overview of the possibilities to increase the soil phosphorus uptake of permanent grassland by practical measures.

Keywords

phosphorus mobilization, permanent grassland, earthworms, P-solubilizing micro-organisms, mycorrhiza

Referaat

ISSN 1570 - 8616

Auteur

H.C. de Boer

Titel

Verkenning van de mogelijkheden om de opname van bodemfosfaat door blijvend grasland te verhogen (2008)

Samenvatting

Deze literatuurstudie geeft een overzicht van mogelijke praktische maatregelen om de opname van bodemfosfaat door blijvend grasland te verhogen

Trefwoorden

fosfaatmobilisatie, blijvend grasland, regenwormen, fosfaatmobiliserende micro-organismen, mycorrhiza



ANIMAL SCIENCES GROUP
WAGENINGEN **UR**

Rapport 144

Verkenning van de mogelijkheden om de opname van bodemfosfaat door blijvend grasland te verhogen

H.C. de Boer

Juni 2008

Voorwoord

De mogelijkheid om de opname van bodemfosfaat door blijvend grasland te verhogen is zowel bij een lage als hoge fosfaatbeschikbaarheid interessant: bij een lage fosfaatbeschikbaarheid omdat daarmee de opbrengst en kwaliteit van grasland mogelijk beter op peil gehouden kan worden; bij een hoge fosfaatbeschikbaarheid omdat daarmee, onder bepaalde voorwaarden, mogelijk eerder evenwichtsbemesting gerealiseerd kan worden. Dit rapport is het resultaat van een literatuurstudie met als doel te inventariseren of de fosfaatopname van blijvend grasland verhoogd kan worden door het nemen van praktische maatregelen op perceelsniveau. De literatuurstudie is gefinancierd door het Productschap voor Zuivel (Zoetermeer), als onderdeel van hun agenda om de gevolgen van de nieuwe mestwetgeving qua fosfaatsnormen in kaart te brengen en oplossingen voor knelpunten te vinden. Nick van Eekeren (LBI) en Jantine van Middelkoop (ASG) worden bedankt voor hun commentaar op een conceptversie van dit rapport.

Samenvatting

Fosfaat wordt, als gevolg van de per 2006 aangescherpte mestwetgeving, steeds meer een kritisch nutriënt in de bedrijfsvoering van de Nederlandse melkveehouder. Bij een voorziene fosfaatgebruiksnorm van $90 \text{ kg P}_2\text{O}_5 \text{ ha}^{-1}$ in 2015 zal er nauwelijks nog makkelijk oplosbare fosfaat met kunstmest bemest kunnen worden. Op percelen met een (tijdelijk) achterblijvende fosfaatmineralisatie kan de groei van gras hieronder te lijden hebben. De bodem onder Nederlands grasland bevat vaak grote hoeveelheden fosfaat. Jaarlijks wordt op goed bemest en productief grasland, met een voldoende tot ruime fosfaattoestand, gemiddeld ongeveer 44 kg P ($=100 \text{ kg P}_2\text{O}_5$) opgenomen. In situaties waar de fosfaatopname door grasland achterblijft bij de behoefte, zou het ideaal zijn als het mogelijk was deze opname te verhogen, zonder dat extra fosfaat aangevoerd wordt. Hierdoor zouden bij lagere aanvoer van fosfaat met drijfmest of kunstmest de grasopbrengst en –kwaliteit beter op peil kunnen blijven. Interessant zou ook de mogelijkheid kunnen zijn om bij een voldoende beschikbaarheid van fosfaat voor een goede grasgroei, de opname toch te verhogen. Hierdoor zou evenwichtsbemesting eenvoudiger te realiseren zijn, of zou door versnelde afbouw van de voorraad makkelijk beschikbare fosfaat in de bodem mogelijk het lekken van fosfaat gereduceerd kunnen worden. De vraag is of er door een melkveehouder op perceelsniveau maatregelen genomen kunnen worden om de fosfaatopname door grasland te verhogen, zonder extra aanvoer met kunstmest of organische mest. Om de mogelijkheden te beoordelen, is een verkennende literatuurstudie uitgevoerd. Het doel van deze studie was te inventariseren welke maatregelen de opname van bodemfosfaat door grasland kunnen verhogen, en om een eerste beoordeling van praktische haalbaarheid van deze maatregelen te geven. Na inventarisatie zijn de volgende maatregelen kort uitgewerkt: (i) selectie en inzaai van grassoorten of –rassen met een hogere fosfaatopname; (ii) verhogen van de bodem-pH door bekalken; (iii) de teelt van witte klaver in grasland; (iv) inoculatie van grasland met mycorrhiza; (v) inoculatie van grasland met fosfaatoplossende bacteriën of vrijlevende schimmels; en (vi) het stimuleren van de activiteit van regenwormen. De keuze voor een andere grassoort dan Engels raai gras, of andere rassen van Engels raai gras, lijkt op dit moment niet effectief om de fosfaatopname door blijvend grasland te verhogen. De reden hiervoor is dat de fosfaatopname van gras meestal positief gecorreleerd is met de opbrengst, en het opbrengstpotentieel is momenteel al een belangrijk selectie criterium bij de keuze voor een grassoort of –ras. Het verhogen van de bodem-pH door bekalken zou theoretisch gezien vooral op zand- en veengronden tot een toename van de hoeveelheid beschikbaar fosfaat kunnen leiden. Deze hypothese wordt echter maar ten dele bevestigd door resultaten van veld- en potproeven, mogelijk mede doordat deze beperkt in aantal zijn. Bekalken lijkt dus niet geschikt als generieke maatregel. Wel is het zo dat wanneer de pH ver onder het landbouwkundig optimum ligt, en de grasgroei daardoor geremd wordt, bekalken in de richting van de optimale pH de grasopbrengst zal verhogen, en daarmee ook de fosfaatopname. Hoewel mengteelt van grasland met witte klaver wel genoemd wordt als maatregel om ook bij lage fosfaattoestanden een goede productie te hebben, is in de literatuur geen bewijs gevonden dat grasland met witte klaver meer fosfaat opneemt dan grasland zonder klaver, de laatste goed bemest met stikstof en kalium. Inoculatie met mycorrhiza zal op de meeste Nederlandse graslanden waarschijnlijk niet leiden tot een hogere fosfaatopname. De fosfaatbeschikbaarheid onder Nederlands grasland is relatief hoog, waardoor de kolonisatie van graswortels met mycorrhiza waarschijnlijk beperkt zal zijn en blijven. Het eventuele voordeel van inoculatie met mycorrhiza kan verder teniet gedaan worden doordat de symbiose ook ten koste gaat van een stukje grasopbrengst. Daarnaast zijn de schimmeldraden van mycorrhiza relatief kwetsbaar. Inoculatie van grasland met fosfaatoplossende bacteriën of vrijlevende schimmels zou in principe een bijdrage kunnen leveren aan een hogere fosfaatopname door het gras, mede omdat de nadelen van mycorrhiza ontbreken. De grootte van dergelijke effecten op grasland is echter niet bekend, en het is nog maar de vraag of het effect voldoende is om inoculatie interessant te maken. Op dit moment lijkt er weinig reden om te gaan inoculeren met fosfaatoplossende bacteriën of schimmels, maar het verdient aanbeveling te onderzoeken hoe groot de effecten kunnen zijn. Regenwormen kunnen naar grove schatting tot 40% bijdragen aan de fosfaatopname van goed bemest grasland op een perceel met voldoende tot hoge fosfaattoestand. Daarom lijkt het stimuleren van de aantallen en/of activiteit van regenwormen een perspectievolle maatregel om de fosfaatopname door grasland te verhogen. Belangrijk hierbij is ook dat een grotere activiteit van regenwormen brede positieve additionele effecten op bodemkwaliteit en grasgroei kan hebben. Maatregelen die perspectief kunnen hebben om de regenwormactiviteit te stimuleren zijn (i) voldoende bekalking, (ii) reductie van grondbewerking bij herinzaai, (iii) mogelijk de teelt van gras-klaver en (iv) in sommige gevallen de aanvoer van vaste mest. Een mogelijk negatief effect van een verhoogde regenwormactiviteit is een eveneens verhoogde molactiviteit. Hierdoor kan de vlakligging van een perceel verslechteren, en kan door meer grond in het gras de voederwaarde afnemen. Voor de maatregel 'het stimuleren van regenwormactiviteit' is het aan te bevelen te onderzoeken hoe groot de bijdrage van regenwormen aan de fosfaatopname van productiegrasland onder Nederlandse omstandigheden is, in welke mate een hogere activiteit van regenwormen de fosfaatopname van dit grasland kan verhogen, welke maatregelen effectief zijn, wat positieve of negatieve neveneffecten zijn, en hoe de kosteneffectiviteit uitpakt.

Inhoudsopgave

Voorwoord	3
Samenvatting	4
Inhoudsopgave	5
1 Inleiding	1
2 Resultaten en discussie	2
2.1 Afbakening	2
2.2 Indirecte maatregelen om opname van bodemfosfaat door grasland te verhogen	2
2.3 Directe maatregelen om de opname van bodemfosfaat door grasland te verhogen	2
2.3.1 Selectie van grassoorten of -rassen met een hogere fosfaatopname?	2
2.3.2 Hogere fosfaatopname door bekalken?	3
2.3.3 Teelt van gras met witte klaver?	4
2.3.4 Inoculatie van grasland met mycorrhiza?	4
2.3.5 Inoculatie van grasland met vrijlevende fosfaatmobiliserende bacteriën of schimmels?	6
2.3.6 Hogere fosfaatopname door stimulatie activiteit regenwormen?	8
3 Conclusies	11
4 Praktijktoeepassing	12
5 Literatuur	13

1 Inleiding

Fosfaat wordt als gevolg van de per 2006 aangescherpte mestwetgeving steeds meer een kritisch nutriënt in de bedrijfsvoering van de Nederlandse melkveehouder. Het doel van de aangescherpte mestwetgeving is een evenwichtsbemesting van fosfaat, waarbij op hectareniveau de aanvoer gelijk is aan de onttrekking vermeerderd met "onvermijdbare verliezen". Als gevolg van deze wetgeving daalt de hoeveelheid fosfaat die op grasland aangevoerd mag worden van 105 kg P₂O₅ ha⁻¹ in 2007 tot waarschijnlijk 90 kg P₂O₅ ha⁻¹ in 2015. De hoeveelheid fosfaat die met drijfmest op grasland bemest mag worden kan daardoor lager liggen dan de hoeveelheid mest die nu per hectare geproduceerd wordt. Om de norm te halen, zal extra land aangekocht of mest afgevoerd moeten worden. Beide maatregelen zijn kostbaar en kunnen het inkomen onder druk zetten. Bij een fosfaatgebruiksnorm van 90 kg P₂O₅ ha⁻¹ in 2015 zal er nauwelijks nog makkelijk oplosbare fosfaat met kunstmest bemest kunnen worden. Op percelen met een (tijdelijk) achterblijvende fosfaatmineralisatie kan de groei van grasland of snijmais hieronder te lijden hebben.

Nederlands grasland bevat vaak grote hoeveelheden fosfaat. Zo bevatte de bouwvoor (0-30 cm) in een vruchtwisselingsproef op Aver Heino in 2002 gemiddeld meer dan 10.000 kg P₂O₅ ha⁻¹ (ongepubliceerde gegevens, vruchtwisselingsonderzoek praktijkcentrum Aver Heino). Van deze grote hoeveelheid wordt jaarlijks op goed bemest en productief grasland gemiddeld ongeveer 100 kg P₂O₅, of 1%, door het grasland opgenomen. Bij minder productief grasland, of een bodem met relatief lage fosfaatmineralisatie, kan deze hoeveelheid kleiner zijn. Het zou ideaal zijn als het mogelijk was om de fosfaatopname door gras uit de bodemvoorraad te verhogen. Hierdoor zou op een bodem met achterblijvende fosfaatmineralisatie de grasopbrengst- en kwaliteit op peil kunnen blijven bij lagere aanvoer van fosfaat met drijfmest of kunstmest. Op een bodem met een al goede fosfaatbeschikbaarheid zou daarnaast de fosfaatopname mogelijk ook verhoogd kunnen worden. Hierdoor zou, onder bepaalde voorwaarden, evenwichtsbemesting eenvoudiger te realiseren zijn, of zou door versnelde afbouw van de hoeveelheid makkelijk beschikbare fosfaat in de bodem mogelijk het lekken van fosfaat gereduceerd kunnen worden. De vraag rijst of er door een melkveehouder op perceelsniveau maatregelen genomen kunnen worden om de fosfaatopname door grasland uit de bodemvoorraad te verhogen. Om dit te beoordelen, is een literatuurstudie uitgevoerd. Deze literatuurstudie had als doel om potentiële maatregelen te inventariseren en een eerste beoordeling van praktische haalbaarheid te geven. In deze rapportage worden de resultaten van de studie weergegeven. Na het uitzetten van het kader zijn een aantal mogelijke maatregelen aangegeven. Afhankelijk van het ruwe perspectief zijn deze in meerdere of mindere mate uitgewerkt. Tot slot zijn conclusies getrokken en is er een aanbeveling gedaan.

2 Resultaten en discussie

2.1 Afbakening

In deze studie worden alleen maatregelen geanalyseerd met als doel de opname van bodemfosfaat door grasland te verhogen. Deze maatregelen worden opgedeeld in twee categorieën: directe maatregelen en indirecte maatregelen. Bij directe maatregelen wordt de hogere fosfaatopname rechtstreeks bereikt, bij indirecte maatregelen neemt de opname toe als neveneffect van andere maatregelen. Indirecte maatregelen zijn geen onderdeel van deze studie, en worden daarom hieronder kort samengevat. Het is niet altijd mogelijk om directe en indirecte maatregelen duidelijk te scheiden; in sommige gevallen zal een als direct aangemerkte maatregel ook een indirecte maatregel genoemd kunnen worden, en mogelijk ook omgekeerd. De opname van fosfaat door grasland hangt onder andere af van de beschikbaarheid van fosfaat in de bodem. Deze beschikbaarheid is de resultante van een groot aantal sterk verweven en complexe processen. In deze rapportage wordt hier niet op ingegaan; een kort overzicht van de belangrijkste processen die een rol spelen wordt gegeven in bijvoorbeeld Horst et al. (2001).

2.2 Indirecte maatregelen om opname van bodemfosfaat door grasland te verhogen

Indirecte maatregelen om de fosfaatopname door grasland te verhogen zijn bijvoorbeeld alle maatregelen die leiden tot een hogere stikstofopname. De reden hiervoor is dat de fosfaatopname van grasland in het algemeen positief gecorreleerd is met de stikstofopname. Deze interactie is aangetoond door Schils en Snijders (2004) en Van Middelkoop et al. (ongepubliceerde gegevens van vijf tot zesjarig fosfaatonderzoek op de grondsoorten zeelei, rivierklei, zandgrond en veengrond). De meest effectieve en eenvoudige indirecte maatregel om binnen de geldende stikstofgebruiksnormen de fosfaatopname te verhogen, lijkt daarom een zo hoog mogelijke stikstofopname en stikstofbenutting te realiseren. Voorbeelden van enkele maatregelen zijn (i) de keuze van een geschikt tijdstip om te bemesten (weinig stikstofverliezen) en (ii) voldoende bemesting met andere kritische nutriënten (bijvoorbeeld kalium of zwavel). Een andere categorie indirecte maatregelen zijn maatregelen die de bewortelingsdichtheid en –diepte van het gras stimuleren. Een betere beworteling leidt in het algemeen tot een hogere fosfaatopname. Het voorkomen van insporing en structuurverslechtering van de bodem zal daarom ook een positief effect op de fosfaatopname kunnen hebben. In algemene zin zullen alle management- en teeltmaatregelen die leiden tot een optimale grasgroei, vooral ook een goede wortelontwikkeling, in beginsel leiden tot een hogere fosfaatonttrekking door gras. De vraag is of er ook maatregelen te identificeren zijn, die de fosfaatopname specifiek en rechtstreeks kunnen verhogen.

2.3 Directe maatregelen om de opname van bodemfosfaat door grasland te verhogen

Tijdens de literatuurstudie zijn een aantal maatregelen geïnventariseerd die mogelijk in aanmerking komen als directe maatregel voor het verhogen van fosfaatbeschikbaarheid in de bodem en de opname van bodemfosfaat door grasland. De volgende potentiële maatregelen kwamen naar voren: (i) selectie en inzaai van grassoorten of –rassen met een hogere fosfaatopname; (ii) verhogen van de bodem-pH door bekalken; (iii) teelt van grasland met witte klaver; (iv) inoculatie van grasland met mycorrhiza; (v) inoculatie van grasland met fosfaatoplossende bacteriën of vrijlevende schimmels; en (vi) stimuleren van de activiteit van regenwormen. Deze maatregelen worden nu achtereenvolgens kort uitgewerkt.

2.3.1 Selectie van grassoorten of –rassen met een hogere fosfaatopname?

Grassoorten of -cultivars kunnen sterk verschillen in de opname van nutriënten, en dus waarschijnlijk ook in fosfaatopname. Een zoektocht in de internationale literatuur leverde echter weinig concrete informatie op. Onderzoek van Liu et al. (1995) aan grasrassen voor sportvelden laat significante verschillen zien in fosfaatopname tussen zes rassen van de grassoort veldbeemdgras (*Poa pratensis* L.), Engels raaigras (*Lolium perenne*, L.) en rietzwenkgras (*Festuca arundinacea*, Schreb.). Het maximale verschil in fosfaatopname tussen twee van de zes rassen bedroeg 54% bij Engels raaigras (significant, $p < 0.05$), 70% bij veldbeemdgras (significant) en 12% bij rietzwenkgras (niet-significant). Helaas is in de publicatie van Liu et al. (1995) het niveau van stikstofbemesting niet aangegeven (hoewel waarschijnlijk gelijk voor alle soorten en rassen).

Daarnaast was fosfaatopname positief gecorreleerd met drogestofopbrengst; bij de hoogste fosfaatopname was ook de drogestofopbrengst het hoogst. In een door Liu et al. (1995) parallel uitgevoerd onderzoek in hydrocultuur bleken er geen significante verschillen tussen grassoorten en -rassen te zijn wat betreft de maximale absorptiesnelheid van fosfaat door de wortels. Het lijkt daarom aannemelijk dat verschillen in fosfaatopname tussen cultivars veroorzaakt werden door verschillen in stikstofopname of drogestofproductie, en niet door een soortspecifieke of rasspecifieke hogere efficiëntie van fosfaatopname. In het jaarlijks terugkerende Nederlandse rassenonderzoek worden grassoorten en -rassen onderzocht en beoordeeld op een aantal kenmerken, waaronder opbrengstpotentieel. Mede op basis van het onderzoek van Liu et al. (1995) mag verwacht worden dat grassoorten en -rassen met het hoogste opbrengstpotentieel waarschijnlijk ook de hoogste fosfaatopname zullen hebben. Omdat opbrengstpotentieel een belangrijk selectie criterium is bij de keuze van een grassoort of -ras door een melkveehouder, is de verwachting dat de fosfaatopname van Nederlandse graslanden op basis van raskeuze al relatief hoog is. Dat laat echter onverlet dat er mogelijk soorten of rassen te identificeren zijn die toch een hogere efficiëntie van fosfaatopname hebben. Nader onderzoek zal nodig zijn om dit vast te stellen. Het is daarbij wel de vraag of fosfaatopname belangrijk genoeg is om daar eventueel een selectie criterium van te maken.

2.3.2 Hogere fosfaatopname door bekalken?

Een bodemparameter die invloed heeft op de fosfaatbeschikbaarheid en -opname is de pH. Een verhoging van de pH zou door mineralisatie van organische fosfaat, en het oplossen van anorganische fosfaatverbindingen, de beschikbaarheid van fosfaat en de opname door grasland kunnen verhogen. Uit een literatuurstudie, uitgevoerd door het NMI en de ASG (Wattel-Koekoek et al., 2002), blijkt echter dat dit niet eenduidig gesteld kan worden. De resultaten van deze studie worden hier verkort weergegeven.

Het verhogen van de pH door bekalken kan de mineralisatie van organische stof bevorderen, en daarmee het initieel vrijkomen van organisch gebonden fosfaat. Dit gebeurt vooral op zure gronden. Het effect van bekalken op anorganisch gebonden fosfaat heeft meerdere kanten. Terwijl ijzer- en aluminiumfosfaten oplossen bij een verhoging van de pH, slaan calciumfosfaten juist neer. Daarnaast kunnen kleimineralen, met behulp van met kalk toegevoegde Ca^{2+} -ionen, fosfaat adsorberen, waardoor de fosfaatconcentratie in de bodemoplossing daalt. Het netto effect van deze verkort weergegeven processen op de hoeveelheid makkelijk beschikbaar fosfaat onder grasland is afhankelijk van het bodemtype. Hierbij spelen vooral de uitgangspH, de fosfaattoestand van de bodem, het gehalte klei en het gehalte metaalhydroxiden een belangrijke rol. Resultaten van fosfaatproeven uit de internationale literatuur geven waarschijnlijk daarom ook geen eenduidig antwoord op de vraag of bekalken, oftewel het verhogen van de pH, de beschikbaarheid van fosfaat doet toenemen. Worden de karakteristieken van Nederlandse gronden globaal beoordeeld, dan kan bekalken van grasland waarschijnlijk vooral op zand- en veengronden tot een toename van de hoeveelheid beschikbaar fosfaat leiden. Deze hypothese wordt echter maar ten dele onderschreven door resultaten van veld- en potproeven, waarschijnlijk mede ook doordat deze beperkt in aantal zijn. Een aanvullende raadpleging van enkele relevante publicaties na 2002 (de publicatiedatum van Wattel-Koekoek et al., 2002) laat zien dat ook in deze onderzoeken bekalken zowel een afname als toename van de hoeveelheid beschikbare fosfaat in de bodemoplossing kan geven (Hao et al., 2002; Chapin et al., 2003; Murphy, 2007). Het beeld dat geschetst wordt in Wattel-Koekoek et al. (2002) blijft daarom ongewijzigd.

Bij bekalking wordt het natuurlijke pH-evenwicht van een bodem verstoord. Hierdoor kan de stikstofmineralisatie tijdelijk toenemen. Een verhoging van de pH kan verder leiden tot een verbetering van de bodemstructuur en een betere wortelontwikkeling van het gras. Door deze effecten is een hogere fosfaatopname als indirect gevolg van bekalking te verwachten. Bekalking kan echter ook een aantal minder gewenste effecten hebben, waaronder een snellere afbraak van het gehalte organische stof. Dit risico speelt vooral als grote giften kalk ineens worden toegediend. Regelmatig bekalken met kleinere giften heeft daarom de voorkeur. Bekalken kan ook de beschikbaarheid van de elementen ijzer, mangaan, borium en zink verlagen.

Bij de resultaten van Wattel-Koekoek et al. (2002) moet opgemerkt worden dat effecten van pH op de activiteit van het bodemleven niet zijn behandeld; het effect van pH is als eindeffect besproken. Het is mogelijk dat het gebrek aan eenduidigheid van het effect van bekalken op de fosfaatbeschikbaarheid deels komt doordat het effect van pH op activiteit van het bodemleven hier doorheen speelt. Ook grotendeels buiten beschouwing gelaten is het effect van een hogere pH op wortelontwikkeling en grasgroei. Ook als de fosfaatbeschikbaarheid na bekalken gelijk blijft of zelfs afneemt, zou de fosfaatopname van grasland toch toe kunnen nemen door een betere wortelontwikkeling als gevolg van een hogere pH.

In een aantal situaties kan bij verhoging van de pH de fosfaatbeschikbaarheid afnemen. Het lijkt daarom misschien een optie om deze gronden te laten verzuren. Echter, het handhaven van een zure toestand of het laten verzuren van grond kan het opbrengstpotentieel doen afnemen, waardoor de fosfaatopname ook netto kan dalen.

Gelet op de gevonden resultaten lijkt het bekalken van grasland geen goede generieke maatregel om de fosfaatopname te verhogen, tenzij de pH duidelijk onder het landbouwkundig optimum ligt. In dat geval zal door bekalken de grasopbrengst in de meeste gevallen toenemen, en daarmee ook de fosfaatopname.

2.3.3 Teelt van gras met witte klaver?

De teelt van gras met witte klaver wordt wel genoemd als maatregel om de fosfaatopname door grasland te verhogen. Het gaat hierbij vooral om de totale hoeveelheid fosfaat die van een perceel afgevoerd kan worden. In de internationale literatuur is echter geen bewijs te vinden dat grasland met klaver per hectare meer fosfaat opneemt dan grasland zonder klaver, mits de laatste goed is bemest met stikstof en kali. Weliswaar constateerden Goodman en Collison (1982) in een (zeer beperkte) veldproef dat witte klaver in monocultuur meer fosfaat opnam dan gras in monocultuur, maar in een gras-klaver mengsel was de fosfaatopname van gras hoger. Uit het onderzoek van Goodman en Collison (1982) blijkt dat klaver in grasland wel effect kan hebben op de diepte waarvan fosfaat wordt opgenomen. Gras en klaver in monocultuur namen de meeste fosfaat op van een diepte van 10 tot 15 cm, terwijl gras in een gras-klaver mengsel de meeste fosfaat op een diepte van 22 cm opnam. Opgemerkt moet worden dat het onderzoek van Goodman en Collison (1982) eigenlijk te beperkt is om er betrouwbare conclusies aan te kunnen verbinden. Jenkins (1962) beweert op basis van potonderzoek dat de fosfaatopname van (wilde) witte klaver bij lage fosfaattiveaus in de bodem hoger is dan de fosfaatopname van gras, maar de fosfaatopname van gras en klaver werd niet onder dezelfde omstandigheden vergeleken. Zo werd de klaver acht weken na zaaien geoogst, maar gras al na vijf weken. Verder werd niet gecorrigeerd voor het stikstofbindende vermogen van de klaver, waardoor het niveau van stikstofaanvoer en daardoor ook de fosfaatopname van klaver groter moet zijn geweest dan van gras. De resultaten van Jenkins (1962) zijn daarom niet bruikbaar. Bolan et al. (1987) concludeerden dat de fosfaatopname van klaver (*Trifolium subterraneum*) per eenheid wortelmasse of -lengte hoger was dan van gras (*Lolium rigidum*). Omdat de fosfaatopname per hectare van gras hoger was dan de opname van klaver, suggereren Bolan et al. (1987) dat deze hogere opname het gevolg is van het grotere wortelstelsel van gras. In onderzoek van Crush (1995) was de fosfaatopname van gras met witte klaver lager dan de fosfaatopname van alleen gras, zowel bij een lage als hoge fosfaatbeschikbaarheid. Alleen bij monocultuur klaver (> 80%) was bij hoge fosfaatbeschikbaarheid de fosfaatopname hoger. In onderzoek van Schils et al. (2004) was de fosfaatopname van gras-witte klaver hoger dan de fosfaatopname van grasland zonder klaver, niet met stikstof bemest of met 200 kg N ha⁻¹ jaar⁻¹. De fosfaatopname van gras-witte klaver was echter gelijk of lager dan de opname door ruim met stikstof bemest grasland (400 kg N ha⁻¹ jaar⁻¹).

De introductie van klaver in grasland is een ingrijpende maatregel. Handhaving van een voldoende klaveraandeel, maar ook het voorkomen van overheersing door klaver, kan lastig zijn, en vereist meer kennis en ervaring van een veehouder. Daarnaast is de opbrengst van gras-klaver in de praktijk 5-15% lager dan de opbrengst van regulier bemest grasland. Samenvattend is het toevoegen van witte klaver aan grasland een geschikte maatregel om de fosfaatopname door het mengsel te verhogen, maar alleen in situaties waarin niet of beperkt met stikstof bemest wordt. De fosfaatopname van regulier bemest grasland zonder klaver zal meestal hoger zijn dan de fosfaatopname van grasland met klaver, ondanks het feit dat klaver per worteleenheid een hogere fosfaatopname kan hebben. Geconcludeerd kan worden dat vervanging van regulier bemest grasland door gras-witte klaver geen geschikte maatregel is om de fosfaatopname te verhogen.

2.3.4 Inoculatie van grasland met mycorrhiza?

Mycorrhiza zijn bodemschimmels die in symbiose leven met plantenwortels. Hierbij fungeert de schimmel onder andere als uitbreiding van het wortelstelsel, waardoor meer nutriënten en water opgenomen kunnen worden. In ruil daarvoor ontvangt de schimmel een deel van de fotosyntheseproducten van de plant. Mycorrhiza's zijn op te delen in twee hoofdgroepen: ectomycorrhiza's en endomycorrhiza's. De laatste groep is vooral van belang voor landbouwgewassen; daarom is de bespreking van het effect van mycorrhiza's op fosfaatopname beperkt tot deze groep. In de literatuur konden weinig specifieke publicaties over het effect van mycorrhiza op de fosfaatopname door grasland gevonden worden. Daarom worden in deze analyse vooral resultaten gebruikt van andere landbouwgewassen, bij voorkeur granen (vanwege grote overeenkomsten met gras, o.a. wat betreft de omvang van het wortelstelsel). Hierbij wordt geprobeerd een vertaalslag naar grasland te maken.

Naast een positief effect op de fosfaatopname kunnen mycorrhiza ook de opname van andere nutriënten door een gewas verhogen, waaronder de opname van zink (Thompson, 1987), calcium en magnesium (Hamel et al., 1992). Kolonisatie van de wortels met mycorrhiza kan de plant ook beschermen tegen ziekteverwekkers (Newsham et al., 1995; Graham, 2001). Verder kan de wateropname verbeterd worden, vooral bij een lage beschikbaarheid van nutriënten (Sánchez-Díaz en Honrubia, 1994). De schimmeldraden van mycorrhiza kunnen een belangrijke bijdrage leveren aan de vorming van bodemaggregaten en daarmee aan de stabiliteit van de bodemstructuur (Miller en Jastrow, 2000).

De omschrijving 'inoculatie met mycorrhiza' zou kunnen suggereren dat er in Nederlandse graslanden geen mycorrhiza voorkomen. Echter, mycorrhiza kunnen wel degelijk aanwezig zijn. In 2003 lieten metingen op acht Bioveebedrijven bijvoorbeeld een variatie in kolonisatiegraad van klaverwortels tussen 20 en 45% zien (Bioveem, 2005). Met inoculatie wordt in deze literatuurstudie niet alleen het introduceren van mycorrhiza bedoeld, maar ook pogingen om de kolonisatiegraad van de wortels met mycorrhiza te verhogen. Een optie daarbij zou ook het introduceren van effectievere, niet-inheems voorkomende soorten kunnen zijn.

Het vermogen van mycorrhiza om de fosfaatopname van gewassen te kunnen verhogen is in meerdere experimenten aangetoond. Illustratief is bijvoorbeeld een recent potonderzoek van Pandey et al. (2005), waarin het effect van inoculatie met mycorrhiza op de drogestofopbrengst en fosfaatopname van tarwe, rogge en triticale werd bepaald. Als gevolg van inoculatie nam de drogestofopbrengst toe van 2,73 tot 3,91, van 2,68 tot 5,19 en van 2,82 tot 4,01 g¹ plant voor respectievelijk de drie gewassen. De fosfaatopname nam toe van 3,40 tot 4,75, van 4,59 tot 12,52 en van 4,23 tot 5,71 mg P plant⁻¹ respectievelijk (helaas wordt in het artikel te weinig informatie gegeven om de resultaten om te kunnen rekenen naar hectareniveau). In potonderzoek van Powell (1979) nam de fosfaatopname van gras, vier tot zeven keer geoogst, met maximaal 4.3 kg P ha⁻¹ (+32%) (omgerekend) toe na inoculatie van grond met niet-inheems mycorrhiza, vergeleken met inheems mycorrhiza. Opgemerkt moet worden dat in een aantal gevallen de fosfaatopname ook significant afnam, met tot 0.8 kg P ha⁻¹ (-24%) (omgerekend).

Ondanks potentiële positieve effecten van mycorrhiza op opbrengst en fosfaatopname, concluderen Ryan en Graham (2002) in een literatuuranalyse dat de rol van mycorrhiza in het algemeen niet van cruciaal belang is in de meeste productielandbouwsystemen. Een reden die Ryan en Graham (2002) daarvoor aanvoeren, is dat bij relatief hoge beschikbaarheid van fosfaat de kolonisatiegraad van plantenwortels met mycorrhiza afneemt. Hierdoor kan als gevolg van de symbiose met mycorrhiza de gewasopbrengst netto dalen, omdat de kosten (gebruik van fotosyntheseproducten door de schimmel) hoger kunnen zijn dan de baten (hogere fosfaatopname door de plant). Bij bepaalde gewassen kunnen deze kosten oplopen tot 20% van de gewasproductie (Jakobsen en Rosendahl, 1990; Graham, 2000). Onduidelijk is echter of dit verschijnsel op praktijkniveau ook tot een significante opbrengstdaling kan leiden. Ryan et al. (2005) vonden bijvoorbeeld in een veldproef in zuidoost Australië een duidelijk negatief effect van een hoge kolonisatie van tarwewortels met mycorrhiza op opbrengstparameters vroeg in het groeiseizoen, maar dit had uiteindelijk geen significant effect op de eindopbrengst. Ryan et al. (2005) meldt dat een parasitair effect van mycorrhiza het grootst zal zijn bij de initiële vorming van het netwerk van schimmeldraden. Hierdoor is een parasitair effect op blijvend grasland mogelijk lager dan bij eenjarige gewassen zoals tarwe, waar ieder jaar weer een nieuw netwerk gevormd moet worden.

Een verminderde kolonisatie van de wortels als gevolg van een relatief hoge fosfaatbeschikbaarheid hoeft overigens niet per definitie tot een lagere opbrengst of fosfaatopname te leiden. Grimoldi et al. (2006) lieten in een 12-weeks experiment aan Engels raigras zien dat, ondanks een verminderde kolonisatie bij een hogere fosfaatbeschikbaarheid, drogestofopbrengst en fosfaatopname van met mycorrhiza geïnoculeerde planten toch hoger kan zijn vergeleken met niet-geïnoculeerde planten.

Als andere mogelijke reden voor het achterwege blijven van een verbetering van de fosfaatopname door grasland bij inoculatie met mycorrhiza wordt door Ryan en Graham (2002) de hoge specifieke wortellengte van gras genoemd. Omdat deze al hoog is, is het mogelijk dat mycorrhiza relatief weinig toevoegen. In onderzoek in Noordoost-Australië, op gronden met relatief lage fosfaatbeschikbaarheid, reageerden gewassen met een relatief hoge specifieke wortellengte (granen) meestal nauwelijks op een reductie van de kolonisatie met mycorrhiza (Thompson 1987, 1991). Dit geeft als indicatie dat de rol van mycorrhiza bij deze gewassen relatief klein was. Bolan et al. (1987) zagen ook geen effect van inoculatie van graswortels met mycorrhiza op de omvang van het wortelstelsel, terwijl bij inoculatie van klaver (*Trifolium subterraneum* L.) de wortellengte, het wortelvolume en het worteloppervlak toenamen. Een belangrijk verschil tussen gras en klaver is dat klaver veel dikkere wortels en minder uitgebreid wortelstelsel heeft. Blijkbaar heeft inoculatie met mycorrhiza bij dergelijke gewassen grotere effecten.

Een derde mogelijke reden voor het achterwege blijven van een positief effect van inoculatie met mycorrhiza op de fosfaatopname door grasland kan zijn dat de mycorrhiza niet alle opgenomen stikstof doorgeeft aan de plant (Wurst et al., 2004). Bij gewassen met regelmatige grondbewerking kan daarnaast de vernietiging van schimmeldraden ook positieve effecten van inoculatie met mycorrhiza teniet doen. Twintig jaar onderzoek in Canada (Zuid Ontario) aan no-tillage mais (samenvatting in Ryan en Graham (2002)) laat zien dat een verhoogde fosfaatopname vroeg in het groeistadium gecorreleerd was met een hogere mycorrhiza kolonisatie bij no-tillage. Verstoring van de grond door bewerking gaf echter een lagere fosfaatopname, als gevolg van vernietiging van de schimmeldraden (Miller, 2000).

Hoewel positieve resultaten van inoculatie met mycorrhiza in procenten vaak spectaculair lijken, lijkt dit meestal het gevolg te zijn van een laag productieniveau bij een sterk tekort aan fosfaat. In absolute zin lijkt de extra opname vaak klein te zijn, en minder relevant gezien het niveau van fosfaatopname door Nederlands grasland. Het meeste onderzoek is gedaan aan potten, onder omstandigheden die het moeilijk maken om gevonden verschillen te vertalen naar veldomstandigheden. Daarnaast mist vaak relevante informatie om opbrengsten en fosfaatopname om te kunnen rekenen naar hectareniveau. Daarom kan geen betrouwbare range gegeven worden van wat verwacht kan worden aan extra fosfaatopname na inoculatie van graswortels met mycorrhiza.

Het beeld dat uit deze analyse naar voren komt is dat mycorrhiza bij een relatief lage fosfaatbeschikbaarheid een hogere fosfaatopname door het gewas kan geven, maar dat het resultaat wisselvallig is. In een aantal situaties kunnen grasopbrengst en fosfaatopname zelfs lager uitpakken. Op bodems met een relatief hoge fosfaatbeschikbaarheid zullen mycorrhiza naar verwachting nauwelijks of geen bijdrage leveren aan een hogere fosfaatopname door het gras. Daarnaast bestaat het risico dat de symbiose met mycorrhiza kan leiden tot een (wat) lagere grasopbrengst. Mycorrhiza zijn verder vanwege de afhankelijkheid van hun schimmeldraden relatief kwetsbaar, vooral bij verstoring van de grond door bewerking. Als mycorrhiza een gunstig effect hebben, dan is de verwachting dat de absolute toename van de fosfaatopname relatief klein zal zijn. Alles overwegend lijkt inoculatie met mycorrhiza op dit moment geen geschikte maatregel om de fosfaatopname van grasland duidelijk te verhogen. Echter, de andere mogelijke positieve effecten van mycorrhiza (wateropname, micronutriënten, aggregaatvorming, ziektevermindering) maken toepassing op minder productieve bodems of in systemen met een lage input potentieel wel interessant. Worden mycorrhiza gebruikt in grasland, dan is de meest effectieve methode waarschijnlijk om bij (her)inzaai het graszaad te inoculeren. Op dit moment is dat te duur, omdat mycorrhiza niet grootschalig worden toegepast. Bij gebruik op grotere schaal zullen de kosten aanzienlijk kunnen dalen, maar het zal dan nog de vraag zijn of de baten voldoende opwegen tegen de kosten. Andere aspecten die bij inoculatie van belang zijn, zijn de duur van een positief effect, en de keuze van een geschikte mycorrhiza-variant.

2.3.5 Inoculatie van grasland met vrijlevende fosfaatmobiliserende bacteriën of schimmels?

Vrijlevende schimmels en bacteriën zijn in staat anorganisch en organisch gebonden bodemfosfaat te mobiliseren (Goldstein, 1986; Rodríguez en Fraga, 1999; Richardson, 2001). Anorganisch fosfaat kan worden gemobiliseerd door het uitscheiden van sterke organische zuren; organisch gebonden fosfaat door het uitscheiden van het enzym fosfatase (Richardson, 2001). Door de aantallen of de activiteit van fosfaatmobiliserende micro-organismen te stimuleren, zou meer fosfaat beschikbaar kunnen komen voor opname door het gras.

Bacteriën kunnen de opbrengst en fosfaatopname van gewassen niet alleen verhogen door het uitscheiden van zuren of fosfatase, maar ook door de synthese van antibiotica, productie van ijzertransporteiwitten (siderophores), productie van fytohormonen, stikstofbinding, reductie van het membraanpotentieel van de wortels (geeft betere fosfaatopname) en synthese van enzymen die het niveau van planthormonen moduleren (Rodríguez en Fraga, 1999). Bacteriën kunnen daarnaast ook het worteloppervlak vergroten (Richardson, 2001). Gulden en Vessey (2000) constateerden bijvoorbeeld dat als gevolg van inoculatie van erwtenplantjes, geteeld onder gecontroleerde condities, met de fosfaatmobiliserende schimmel (*Penicillium bilaii*), het percentage wortels dat wortelharen bevatte toenam met 22%, en de gemiddelde wortelhaarlengte met 33%. Tenslotte is er ook bewijs dat bacteriën een ondersteunende rol kunnen spelen bij het tot stand komen van de symbiose van plantenwortels met mycorrhiza (Richardson, 2001).

Dat inoculatie van zaden met fosfaatmobiliserende micro-organismen inderdaad de fosfaatopname door gewassen kan verhogen, is in meerdere experimenten aangetoond. Helaas konden tijdens deze literatuurstudie geen resultaten van onderzoek aan grassen of grasland gevonden worden; resultaten behaald bij andere gewassen (bijvoorbeeld granen) zullen daarom zo veel mogelijk vertaald moeten worden naar grasland.

In potonderzoek van Whitelaw et al. (1997) nam na inoculatie van tarwezaden met de schimmel *Penicillium radicum* de totale fosfaatopname, gemiddeld over alle fosfaatgiften, toe met 11%. De totale fosfaatopname leek daarnaast ook wat toe te nemen bij een hogere fosfaatgift; bij 0 kg P ha⁻¹ was de toename 8% en bij 20 kg P ha⁻¹ was de toename 10%. In absolute hoeveelheden was de laatste toename omgerekend ongeveer 0.4 kg P ha⁻¹. In veldonderzoek van Whitelaw et al. (1997) in Australië nam de tarweopbrengst (zaden) als gevolg van inoculatie met de schimmel *Penicillium radicum* toe met 14%, gemiddeld over vijf olopemde fosfaalniveaus; de fosfaatopname was helaas niet gemeten. Babana en Antoun (2006) vonden in veldonderzoek in Mali na inoculatie van tarwezaden met een combinatie van een fosfaatmobiliserende bacterie en een fosfaatmobiliserende schimmel (BR2 + C1) een stijging van de totale fosfaatopname van 5.67 tot 6.92 kg P ha⁻¹, een stijging van 1.25 kg P ha⁻¹ of 22%. Deze toename werd gerealiseerd in de afwezigheid van fosfaatbemesting. Met fosfaatbemesting (di-ammoniumfosfaat, 30 kg P ha⁻¹) nam de totale fosfaatopname toe van 7,34 tot 10,13 kg P ha⁻¹, een toename van 2,79 kg P ha⁻¹ of 38 %.

Een aantal studies laat zien dat inoculatie met fosfaatmobiliserende micro-organismen niet altijd effect heeft op fosfaatopname. De Freitas et al. (1997) vonden in een potproef geen significante effecten van de inoculatie van koolzaad met diverse fosfaatmobiliserende bacteriën op de fosfaatopname, hoewel de koolzaadopbrengst met 4 tot 36% toenam. Alleen de toename met 36%, na inoculatie van de zaden met *Bacillus thuringiensis*, was significant ($p < 0.05$). Een reden voor het uitblijven van een hogere fosfaatopname kan zijn dat bacteriën die onder laboratoriumomstandigheden goed presteren, en daarop geselecteerd worden, dit niet noodzakelijkerwijs ook in het veld doen. Verder kan er bij het opzet en de uitvoering van het onderzoek sprake zijn van onvoldoende kennis hoe de bacteriën effectief aan de bodem toegevoegd kunnen worden, en ook actief kunnen blijven. Daarnaast is er vaak onvoldoende begrip van interacties tussen fysische en chemische karakteristieken van de bodem en fosfaat mobilisatie. Een reden zou ook kunnen zijn dat de fosfaatopname door het gewas al ruim voldoende is, waardoor inoculatie niet tot extra opname leidt.

Onderzoek naar het effect van fosfaatmobiliserende micro-organismen op fosfaatbeschikbaarheid is voornamelijk uitgevoerd aan gronden met een geringe fosfaatbeschikbaarheid, en vaak ook een lage totale fosfaattoestand. Over de effectiviteit van inoculatie met fosfaatmobiliserende micro-organismen op gronden met een goede fosfaatbeschikbaarheid is veel minder bekend. Rodriguez en Fraga (1999) suggereren dat de mate van fosfaatbeschikbaarheid in de bodem de fosfaatmobilisatie door bacteriën kan reguleren bij sommige soorten, maar niet bij andere. Whitelaw (2000) somt een aantal experimenten op waarin het effect van inoculatie met vrijlevende schimmels op de fosfaatopname lager was bij een hogere beschikbaarheid van fosfaat. Hieruit zou afgeleid kunnen worden dat bij een relatief goede fosfaatbeschikbaarheid inoculatie niet tot hogere fosfaatopname zal leiden. Echter, duidelijk bewijs voor deze stelling kon niet gevonden worden, en vaak wordt als maatstaf voor respons op inoculatie de drogestofopbrengst gebruikt, en niet de totale fosfaatopname door het gewas. Wel vonden Chabot et al. (1996) onder veldomstandigheden op een grond met zeer goede fosfaatbeschikbaarheid (618 kg P ha⁻¹, Mehlich III) een 13% hogere fosfaatopname door spinazie, maar dit verschil was niet significant ($P > 0.10$). Babana en Antoun (2006) vonden bij inoculatie in de aanwezigheid van 30 kg P ha⁻¹ goed oplosbare fosfaatkunstmest (di-ammoniumfosfaat) een sterkere toename in fosfaatopname (2.8 kg P ha⁻¹) dan bij inoculatie in de afwezigheid van fosfaatkunstmest (1.3 kg P ha⁻¹). Blijkbaar gaat een mogelijk mechanisme van een gering effect van inoculatie op fosfaatopname niet in alle gevallen op.

Een interessante waarneming bij het onderzoek aan fosfaatmobiliserende micro-organismen is dat er bij gelijktijdige inoculatie met mycorrhiza en fosfaatmobiliserende vrijlevende micro-organismen additieve effecten kunnen optreden, waarbij inoculatie met meerdere typen organismen de gewasgroei en fosfaatopname meer stimuleert dan enkelvoudige inoculatie. In onderzoek van Tarafdar en Marschner (1995) was de fosfaatopname van tarwe in een potproef na inoculatie met zowel een vrijlevende schimmel als een mycorrhiza hoger ($p < 0.05$) dan bij afzonderlijke inoculatie. In potonderzoek van Singh en Kapoor (1999) was in een potproef de fosfaatopname van tarwe 26% hoger na inoculatie van de fosfaatarme grond (P-totaal 25,2 mg P₂O₅ 100⁻¹ g grond) met een fosfaatmobiliserende bacterie (*Bacillus circulans*). Bij inoculatie met deze bacterie en een fosfaatoplossende vrijlevende schimmel (*Cladosporium herbarum*) nam de fosfaat opbrengst toe met 73%; bij inoculatie met de bacterie, de vrijlevende schimmel en mycorrhiza (*Glomus* spp. 88) nam de fosfaatopname toe met in totaal 119%. De resultaten suggereren dat het bij inoculeren van zaden met micro-organismen interessant kan zijn om te kiezen voor een mengsel van zowel vrijlevende schimmels als bacteriën en mycorrhiza. Door Rodriguez en Fraga (1999) en Richardson (2001) wordt gesuggereerd dat fosfaatmobiliserende micro-organismen een rol als helperorganisme kunnen vervullen. Hierbij zouden de micro-organismen bijvoorbeeld moeilijk oplosbaar fosfaat kunnen oplossen, dat vervolgens beter opgenomen kan worden door het met mycorrhiza uitgebreide wortelstelsel (Rodríguez en Fraga (1999).

Bij inoculatie van zaden met fosfaatmobiliserende micro-organismen worden soms spectaculaire relatieve toenames in fosfaatopname gemeten. Hierbij moet echter wel gerealiseerd worden dat in absolute zin deze toenames zeer beperkt kunnen zijn, en dat de spectaculaire stijgingen vaak vooral het gevolg zijn van een zeer laag algemeen niveau van fosfaatopname. In het eerder vermeldde potonderzoek van Singh en Kapoor (1999) was de fosfaatopname van tarwe 26% hoger na inoculatie van de grond met een fosfaatoplossende bacterie. Het gaat hierbij echter om een stijging van omgerekend slechts 107 tot 136 g P ha⁻¹. Zoals eerder vermeldt vonden Babana en Antoun (2006) in veldonderzoek in Mali na inoculatie van tarwezaden met een combinatie van een fosfaatmobiliserende bacterie en een fosfaatmobiliserende schimmel (BR2 + C1) een toename van de fosfaatopname tussen de 1.3 en 2.8 kg P ha⁻¹. Omdat weinig resultaten omgerekend kunnen worden tot hectareniveau, is het evenals bij het effect van mycorrhiza moeilijk om een betrouwbare range te geven van te verwachten effecten in absolute zin.

Worden de gegevens op hoofdlijnen beoordeeld, dan kan geconcludeerd worden dat inoculatie van graszaden met fosfaatmobiliserende micro-organismen op gronden met een relatief lage fosfaatbeschikbaarheid, bijvoorbeeld fosfaatfixerende gronden, een positief effect op fosfaatopname en/of opbrengst van grasland zou kunnen hebben. De grootte van dergelijke effecten op grasland zijn echter niet bekend, en het is nog maar de vraag of deze voldoende zijn om inoculatie interessant te maken. Vergeleken met mycorrhiza hebben vrijlevende fosfaatmobiliserende micro-organismen als voordeel dat er geen sprake is van een duidelijke gastheer-relatie, en dat er ook geen sprake lijkt te zijn van verbruik van fotosyntheseproducten door de micro-organismen. Daarnaast lijken micro-organismen ook minder kwetsbaar vergeleken met mycorrhiza, door het ontbreken van de afhankelijkheid van schimmeldraden. In de literatuur wordt gesuggereerd dat op gronden met een goede fosfaatbeschikbaarheid inoculatie weinig zin heeft, maar er zijn ook resultaten die deze stelling lijken te ondergraven. Mogelijk zou ook op gronden met een relatief hoge fosfaatbeschikbaarheid de fosfaatopname van grasland vergroot kunnen worden door te inoculeren met vrijlevende fosfaatmobiliserende micro-organismen. Op dit moment lijkt er weinig reden om te gaan inoculeren, maar het lijkt wel interessant om te onderzoeken hoe groot deze effecten kunnen zijn, zowel op fosfaatfixerende grond als op grond met een (relatief) ruime fosfaatbeschikbaarheid, en zowel op fosfaatopname als op drogestofopbrengst van grasland.

2.3.6 Hogere fosfaatopname door stimulatie activiteit regenwormen?

Van regenwormen is bekend dat ze een belangrijke invloed kunnen hebben op de beschikbaarheid van nutriënten, waaronder die van fosfaat (Edwards en Bohlen, 1996). Het stimuleren van de activiteit van regenwormen (door het nastreven van meer en/of actievare wormen) lijkt daarom op het eerst gezicht een geschikte maatregel om de beschikbaarheid van fosfaat onder grasland te verhogen, en daarmee ook de fosfaatopname. De in Nederland voorkomende regenwormen kunnen grofweg in drie groepen ingedeeld worden: strooiselbewoners, bodembewoners en pendelaars. Strooiselbewoners leven van grof vers organisch materiaal in de strooisellaag. Bodembewoners voeden zich met kleiner en meer verteerd organische materiaal uit de strooisellaag en de bovenste bodemlaag (5 cm), en eten zich horizontaal door de bodem heen. Pendelaars graven diepe, verticale gangen en trekken vers organisch materiaal uit de strooisellaag naar beneden (Van Eekeren et al., 2003). Alle wormen consumeren en verwerken grote hoeveelheden organisch materiaal (uit de strooisellaag) en grond. Bij passage door het verteringskanaal wordt het mengsel van grond en organisch materiaal gemengd en gekneed. Hierbij wordt organische stof vermalen en daardoor verkleind. Door het verkleinen en mengen van het materiaal, het verplaatsen van grond, en ook door het uitscheiden van specifieke stoffen (mucus) wordt de grond en de organische stof beter ontsloten voor de activiteit van micro-organismen, zoals fosfaatmobiliserende vrijlevende schimmels en bacteriën. Wormen kunnen daarnaast ook zelf nog enzymen in het verteringskanaal uitscheiden, die een bijdrage kunnen leveren aan het vrijmaken van fosfaat. Tijdens passage van grond en organische stof door het verteringskanaal wordt een deel van de vrijgemaakte voedingsstoffen door de wormen opgenomen. Hierbij kunnen ook bacteriën in de geconsumeerde grond gebruikt worden als 'secundaire voedselbron' (Zhang et al., 2000).

Door de activiteit van wormen is fosfaat in wormuitwerpselen en de wanden van wormgangen beter beschikbaar dan in de omringende grond, en daardoor beter opneembaar voor planten. Sharpley en Syers (1976) vonden een toename in beschikbare anorganisch fosfaat, geëxtraheerd met behulp van 0.1 M NaCl, van 1,7 tot 4,0% van de totale hoeveelheid fosfaat, wanneer de uitwerpselen van regenwormen werden vergeleken met de omringende grond (0-5 cm). In onderzoek van Van der Werff et al. (1995) nam de hoeveelheid water-extraheerbare fosfaat toe van 4% tot 27% van de totale hoeveelheid fosfaat in respectievelijk de omringende grond en de uitwerpselen (bij aanname soortelijke dichtheid van de kleigrond van 1.45 kg l⁻¹). Brossard et al. (1996) vond een toename in de hoeveelheid extraheerbare fosfaat met 43% na de consumptie van grond door de tropische regenworm

Polypheretima elongata. Deze toename werd gerealiseerd zonder consumptie van strooiselmateriaal. De totale hoeveelheid fosfaat was in zowel uitwerpselen als omringende grond gelijk.

Een toename in de hoeveelheid makkelijk extraheerbare fosfaat zal zeer waarschijnlijk resulteren in een hogere fosfaatopname door het gewas. Er is echter maar weinig materiaal beschikbaar dat een directe link legt tussen een hogere fosfaatbeschikbaarheid als gevolg van regenwormactiviteit en een hogere fosfaatopname door een gewas. Mansell et al. (1981) vergeleken in een potexperiment met Engels raigras het effect van het toedienen van gemaaid gras (bemest met ^{32}P) en het toedienen van uitwerpselen van wormen, gevoed met datzelfde gelabelde gras. De vertering van het gelabelde gras door de regenwormen leidde tot een twee- tot drievoudige toename van de opname van ^{32}P door het gras in de potproef. Met deze resultaten kan een zekere link gelegd worden tussen een toename van de beschikbaarheid van fosfaat na passage van (organisch) materiaal door het verteringskanaal van wormen, en een hogere fosfaatopname door gras.

Als een hogere regenwormactiviteit tot een hogere fosfaatopname door grasland leidt, is een belangrijke vervolgvraag of deze fosfaatopname in absolute zin substantieel kan zijn. Hoewel het belang van regenwormen voor de fosfaatcyclus erkend wordt (Edwards en Bohlen, 1996), is een getalsmatige onderbouwing nauwelijks te vinden, zeker niet voor productiegroenland onder Nederlandse omstandigheden. Om een idee te krijgen van de absolute toename in fosfaatopname is het belangrijk te weten hoeveel grond jaarlijkse per hectare door regenwormen geconsumeerd kan worden, en hoe groot de toename in beschikbare fosfaat kan zijn. Vermenigvuldiging van deze twee factoren kan een idee geven van de relevantie van de verhoging van fosfaatbeschikbaarheid door regenwormen. In de literatuur wordt de grondconsumptie door regenwormen meestal geschat aan de hand van de hoeveelheid uitwerpselen die bovengronds wordt uitgescheiden. Deze hoeveelheid varieert meestal tussen de 20 en 40 ton per hectare per jaar (Sharpley en Syers, 1977; Zaller en Arnone III, 1997). Maar, wormen scheiden ook uitwerpselen in de grond uit, waardoor de totale afgeleide grondconsumptie aanzienlijk hoger kan zijn dan die gebaseerd op de hoeveelheid bovengrondse uitwerpselen. Evans (1948) schatte voor grasland met een leeftijd van 1 tot meer dan 100 jaar de totale hoeveelheid bovengrondse uitwerpselen tussen de 2,5 en 61 ton ha^{-1} , en de totale jaarlijkse grondconsumptie tussen de 9 en 90 ton ha^{-1} . Gemiddeld werd de totale jaarlijkse grondconsumptie geschat op 44 ton ha^{-1} jaar $^{-1}$. In onderzoek van Sharpley en Syers (1977) was het gemiddelde anorganische fosfaatgehalte in regenwormuitwerpselen 380 $\mu\text{g P g}^{-1}$ vergeleken met 250 $\mu\text{g P g}^{-1}$ in de omringende grond. Circa 90% van het verschil bestond uit water-extraheerbare fosfaat. Worden de gegevens van Evans (1948) en Sharpley en Syers (1977) gecombineerd, dan varieert een schatting van de bijdrage van regenwormen aan de hoeveelheid makkelijk beschikbaar fosfaat tussen de 1,1 en 10,5 kg P ha^{-1} jaar $^{-1}$, met een gemiddelde van 5,1 kg P ha^{-1} jaar $^{-1}$. Deze hoeveelheden bedragen onder Nederlandse omstandigheden relatief 2 tot 24% van de fosfaatopname van goed bemest blijvend grasland (44 kg P ha^{-1} jaar $^{-1}$) met een voldoende of hogere fosfaattoestand. Hierbij moet aangetekend worden dat het totale fosfaatgehalte in de grond in het onderzoek van Sharpley en Syers (1977), met circa 900 mg P kg^{-1} uitwerpselen, niet bijzonder hoog was. Het fosfaatgehalte onder Nederlands grasland is gemiddeld aanzienlijk hoger; hoeveelheden van 1500 $\text{mg P-totaal kg}^{-1}$ grond in laag 0-30 cm zijn geen uitzondering. Bij een hoger totaal fosfaatgehalte in de bodem zou ook de bijdrage van regenwormen aan de fosfaatopname hoger kunnen zijn. Wordt aangenomen dat regenwormen bij een hoge fosfaattoestand (1500 $\text{mg P-totaal kg}^{-1}$ grond in laag 0-30 cm) hetzelfde percentage fosfaat vrijmaken als bij een lagere fosfaattoestand, dan zou de range tussen 1,8 en 17,5 kg P ha^{-1} jaar $^{-1}$ liggen, of tussen de 4 en 40% van de fosfaatopname van een goed bemest perceel grasland met een voldoende tot hoge fosfaattoestand.

Hoewel bij de bovenstaande schattingen vele kanttekeningen te plaatsen zijn, komt wel het beeld naar voren dat regenwormen in principe een relatief grote bijdrage kunnen leveren aan de hoeveelheid fosfaat die jaarlijks voor opname door het gras beschikbaar is. Stimulering van de activiteit van regenwormen kan daarom effectief zijn om de fosfaatopname door grasland te verhogen. Andere mogelijke positieve effecten van de activiteit van regenwormen (extra mineralisatie van stikstof en andere nutriënten, bodemstructuur, waterafvoer, beworteling ondergrond etc.) maken het stimuleren van de activiteit van regenwormen mede aantrekkelijk.

Na de vaststelling dat de bijdrage van regenwormen aan de fosfaatcyclus aanzienlijk kan zijn, is een volgende belangrijke vraag hoe de activiteit van regenwormen onder grasland van nature al is, en hoe deze gestimuleerd kan worden. Gegevens uit het Bobi-project (Van Eekeren et al., 2003) laten een variatie tussen bedrijven van 130 tot 1123 wormen per vierkante meter zien. Op als gangbaar geclassificeerde bedrijven waren de aantallen relatief laag (130 tot 318), terwijl op biologische bedrijven en bedrijven met alternatieve strategieën het aantal wormen fors hoger leek te zijn (246 tot 709/1123). Deze gegevens suggereren dat er op veel gangbare melkveebedrijven nog volop ruimte is om de aantallen en de activiteit van regenwormen te verhogen, en daarmee waarschijnlijk ook beschikbaarheid van nutriënten, waaronder die van fosfaat, te verbeteren.

De aantallen en activiteit van regenwormen onder grasland kan in een aantal gevallen gestimuleerd worden door bemesting met vaste mest. In Engels onderzoek (Edwards en Lofty, 1982) nam het aantal wormen op grasland (locatie Park Grass) toe van 94 tot 107 m² (+14%) na bemesting met stalmest, en het aantal pendelaars verdubbelde ruim, van 10 tot 25 m². In recent Nederlands onderzoek op praktijkcentrum 'de Marke' en een proefveld te Bakel had bemesting met vaste mest (stalmest of compost) echter geen positief effect op het aantal wormen (De Boer et al., 2007), en leek het effect soms zelfs negatief te zijn (Van Eekeren et al. 2007). Er zijn aanwijzingen dat het aantal regenwormen onder gras-klaver gemiddeld hoger is dan onder bemest grasland zonder klaver (pers. med. Nick van Eekeren), maar sluitend bewijs is nog niet voorhanden. Het handhaven van de bodem pH op een voldoende hoog niveau kan een bijdrage leveren aan het in stand houden van de populatie regenwormen. Daarnaast kan het verhogen van de pH door bekalken ook de activiteit van regenwormen verhogen. Springett en Syers (1984) constateerden in een laboratoriumproef dat door bekalken met CaCO₃ de activiteit van regenwormen toenam, met een piek in activiteit bij een gerealiseerde pH van 7,3. Het gevonden effect stond los van de aanvoer van extra calcium met de kalkmeststof. Naast maatregelen om de activiteit van regenwormen te stimuleren, kunnen ook maatregelen genomen worden die verhinderen dat de activiteit van regenwormen afneemt. Grondbewerking kan resulteren in een sterke afname van het aantal regenwormen, en daarmee ook van hun activiteit. Aslam et al. (1999) lieten zien dat als gevolg van de omzetting van blijvend grasland naar een akkerbouwrotatie met intensieve grondbewerking (en gebruik van glyfosfaat) de populatie regenwormen binnen twee jaar afnam van 429 tot 110 wormen m², en de regenwormbiomassa van 140 tot 33 g m². No-tillage akkerbouw in plaats van akkerbouw met intensieve grondbewerking gaf nog steeds een afname van het aantal regenwormen, maar de daling bleef beperkt van 429 tot 363 wormen m², en de daling in biomassa van 140 tot 99 g m². Blijvend grasland op zandgrond wordt in Nederland gemiddeld eens per vijf jaar opnieuw ingezaaid, vaak door middel van frezen en ploegen. Het beperken van de grondbewerking zou kunnen leiden tot gemiddeld meer wormen, een gemiddeld hogere wormactiviteit, en daaruit voortvloeiend mogelijk ook een hogere fosfaatbeschikbaarheid en fosfaatopname door grasland.

Het stimuleren van de aantallen en activiteit van regenwormen lijkt, gezien het voorgaande, een perspectievolle maatregel om de fosfaatopname door grasland te verhogen. Belangrijk hierbij is ook dat een grotere activiteit van regenwormen brede positieve additionele effecten op bodemkwaliteit en gewasgroei kan hebben. Knelpunt is hierbij nog welke maatregelen de wormactiviteit in voldoende mate kunnen stimuleren. Verder is het belangrijk om vast te stellen wat de bijdrage van regenwormen aan de fosfaatcyclus onder Nederlandse omstandigheden precies kan zijn. Een mogelijk negatief effect van een verhoogde regenwormactiviteit kan zijn dat de activiteit van mollen ook toeneemt. Hierdoor kan de vlakligging van een perceel verslechteren, en kan door meer grond in het gras de voederwaarde afnemen. Het is aan te bevelen om te onderzoeken in welke mate een hogere activiteit van regenwormen de fosfaatopname van intensief gemanaged grasland onder Nederlandse omstandigheden kan vergroten, welke maatregelen effectief zijn, hoe de kosteneffectiviteit uitpakt en wat positieve of negatieve effecten zijn.

3 Conclusies

- De opname van bodemfosfaat door grasland kan zowel door directe als indirecte maatregelen verhoogd worden;
- Indirecte maatregelen zijn bijvoorbeeld maatregelen die de stikstofopname door grasland of de intensiteit van beworteling verhogen. Een hogere stikstofopname of intensievere beworteling leidt in het algemeen tot een hogere fosfaatopname;
- Bij directe maatregelen zou gedacht kunnen worden aan selectie van grasrassen of -cultivars met een relatief hoge fosfaatopname; beïnvloeding van de bodem-pH; de teelt van gras met witte klaver; inoculatie van grasland met mycorrhiza; inoculatie van grasland met (vrijlevende) fosfaatmobiliserende micro-organismen; of stimulering van de activiteit van regenwormen;
- Na literatuuronderzoek lijkt van deze maatregelen het stimuleren van de activiteit van regenwormen de meest perspectiefvolle. Grote schattingen geven aan dat tot 40% van de jaarlijks opgenomen fosfaat het gevolg zou kunnen zijn van de activiteit van regenwormen;
- Maatregelen die de aantallen en activiteit van regenwormen kunnen verhogen zijn (i) voldoende bekalken; (ii) mogelijk de teelt van gras-klaver; (iii) reduceren van (intensieve) grondbewerking bij herinzaai; en (iv) de aanvoer van (vaste) organische mest;
- Inoculatie van grasland met fosfaatmobiliserende micro-organismen (vrijlevende bacteriën of schimmels) zou mogelijk ook perspectief kunnen hebben, hoewel dit perspectief minder lijkt te zijn dan bij het stimuleren van de activiteit van regenwormen;
- Het perspectief van vrijlevende fosfaatmobiliserende micro-organismen lijkt groter te zijn dan het perspectief van mycorrhiza. Nadelen van mycorrhiza ten opzichte van vrijlevende micro-organismen zijn de afhankelijkheid van de kolonisatiegraad van het fosfaatgehalte van de bodem, de gastheerrelatie (die soms parasitair kan zijn) en de afhankelijkheid van kwetsbare schimmeldraden. Dit lijkt praktische toepasbaarheid van mycorrhiza te verkleinen ten opzichte van de vrijlevende micro-organismen;
- Het is aan te bevelen om nader onderzoek te doen naar het stimuleren van de activiteit van regenwormen en in mindere mate ook naar het inoculeren met vrijlevende, fosfaatmobiliserende micro-organismen. Belangrijke punten hierbij zijn in eerste instantie (i) de effectiviteit; (ii) de werkzame termijn; (iii) positieve of negatieve neveneffecten; en in een later stadium ook (vi) het financiële rendement.

4 Praktijktoepassing

Het stimuleren van de activiteit van regenwormen is een maatregel die de beschikbaarheid van bodemfosfaat en de opname van bodemfosfaat door grasland kan vergroten. Omdat regenwormen brede positieve effecten kunnen hebben op de productiviteit van grasland, is het stimuleren van hun activiteit een maatregel die nu al voor de praktijk aanbevolen zou kunnen worden. Positieve neveneffecten van een actieve wormengemeenschap kunnen zijn: (i) een hogere mineralisatie van andere nutriënten, waaronder stikstof; (ii) betere beworteling van de ondergrond, zeker bij de aanwezigheid van storende lagen; (iii) snellere waterafvoer na regenbuien; en (iv) verbetering van de bodemstructuur. Een negatief effect van een zeer actieve wormengemeenschap kan een hogere activiteit van mollen zijn. Dit kan op termijn leiden tot een slechtere vlakligging van een perceel en een verminderde voederwaarde van het gras door een hoger percentage grond. Maatregelen die de aantallen en activiteit van regenwormen kunnen verhogen zijn (i) voldoende bekalken; (ii) mogelijk de teelt van gras-klaver; (iii) reduceren van (intensieve) grondbewerking bij herinzaai; en (iv) de aanvoer van (vaste) organische mest. Vanwege de brede positieve effecten en de relatief geringe inspanningen, zijn maatregelen die de activiteit van regenwormen stimuleren mogelijk kostendekkend uit te voeren.

5 Literatuur

- Aslam, T., M.A. Choudhary, and S. Saggar. 1999. Tillage impacts on soil microbial biomass C, N and P, earthworms and agronomy after two years of cropping following permanent pasture in New Zealand. *Soil Till. Res.* 51:103-111.
- Babana, A.H., and H. Antoun. 2006. Effect of Tilemsi phosphate rock-solubilizing microorganisms on phosphorus uptake and yield of field-grown wheat (*Triticum aestivum* L.) in Mali. *Plant Soil* 287:51-58.
- Bioveem, 2005. Bioveem Nieuwsbrief, mei 2005, 4e jaargang, nr. 12.
- Bolan, N.S., A.D. Robson, and N.J. Barrow. 1987. Effects of phosphorus application and mycorrhizal inoculation on root characteristics of subterranean clover and ryegrass in relation to phosphorus uptake. *Plant Soil* 104:294-298.
- Brossard, M., P. Lavelle, and J.Y. Laurent. 1996. Digestion of a vertisol by the endogeic earthworm *Polypheretima elongata*, megascolecidae, increases soil phosphate extractability. *Eur. J. Soil Biol.* 32:107-111.
- Chabot, R., H. Antoun, and M.P. Cescas. 1996. Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar. *phaseoli*. *Plant Soil* 184:311-321.
- Chapin, C.T., Bridgham, S.D., Pastor, J., Updegraff, K. 2003. Nitrogen, phosphorus, and carbon mineralization in response to nutrient and lime additions in peatlands. *Soil Sci.* 168:409-420.
- Crush, J.R. 1995. Effect of VA mycorrhizas on phosphorus uptake and growth of white clover (*Trifolium repens* L.) growing in association with ryegrass (*Lolium perenne* L.). *New Zeal. J. Agr. Res.* 38:303-307.
- De Boer, H.C., N. Van Eekeren, en M.C. Hanegraaf. 2007. Ontwikkeling van opbrengst en bodemkwaliteit van grasland op een zandgrond bij bemesting met organische mest of kunstmest. Rapport 69, Animal Sciences Group van Wageningen UR, Lelystad.
- De Freitas, J.R., M.R. Banerjee, and J.J. Germida, J.J. 1997. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus* L.). *Biol. Fert. Soils* 24:358-364.
- Edwards, C.A., Lofty, J.R. 1982. Nitrogenous fertilizers and earthworm populations in agricultural soils. In J.E. Satchell (ed.) *Earthworm ecology: from Darwin to vermiculture*. Chapman and Hall, London.
- Edwards, C.A., and P.J. Bohlen. 1996. *Biology and Ecology of Earthworms*. Third Edition. Chapman & Hall, London, UK.
- Evans, A.C. 1948. Studies in relationships between earthworms and soil fertility. II. Some effects of earthworms on soil structure. *Ann. Apl. Biol.* 35:1-13.
- Goldstein, A.H. 1986. Bacterial solubilization of mineral phosphates: historical perspective and future prospects. *Am. J. Alternative Agr.* 1:57-65.
- Goodman, P.J., Collison, M. 1982. Varietal differences in uptake of phosphorus-32 labeled phosphate in clover plus rye grass swards and in mono cultures. *Ann. Apl. Biol.* 100:559-566.
- Graham, J.H. 2000. Assessing costs of arbuscular mycorrhizal symbiosis in agroecosystems. In G.K. Podila and D.D. Douds Jr. (ed.) *Current Advances in Mycorrhizae Research*. APS Press, St. Paul, MN, USA.
- Graham, J.H. 2001. What do root pathogens see in mycorrhizas? *New Phytol.* 148:357-359.
- Grimoldi, A.A., M. Kavanová, F. A. Lattanzi, and H. Schnyder. 2006. Phosphorus nutrition-mediated effects of arbuscular mycorrhiza on leaf morphology and carbon allocation in perennial ryegrass. *New Phytol.* 168:435-444.

- Gulden, R.H., and J.K. Vessey. 2000. *Penicillium bialii* inoculation increases root-hair production in field pea. *Can. J. Plant Sci.* 80:801-804.
- Hamel, C., V. Furlan, and D.L. Smith. 1992. Mycorrhizal effects on interspecific plant competition and nitrogen transfer in legume-grass mixtures. *Crop Science* 32:991-996.
- Hao, X., Cho, C.M., G.J. Racz, and C. Chang. 2002. Chemical retardation of phosphate diffusion in an acid soil as affected by liming. *Nutr. Cycl. Agroecosys.* 64:213-224.
- Horst, W.J., M., Kamh, J.M., Jibrin, and V.O. Chude. 2001. Agronomic measures for increasing P availability to crops. *Plant Soil* 237:211-223.
- Jakobsen, I., and Rosendahl L. 1990. Carbon flow into soil and external hyphae from roots of mycorrhizal cucumber plants. *New Phytol.* 115:77-83.
- Jenkins, W.L. 1962. The yield and uptake of phosphorus by grasses and clovers. II. Effect of species, variety and stage of growth. *J. Brit. Grassland Soc.* 17:198-205.
- Liu, H., R.J. Hull, and D.T. Duff. 1995. Comparing cultivars of three cool-season turfgrasses for phosphate uptake kinetics and phosphorus recovery in the field. *J. Plant Nutr.* 18:523-540.
- Mansell, G.P., J.K. Syers, and P.E.H. Gregg. 1981. Plant availability of phosphorus in dead herbage ingested by surface-casting earthworms. *Soil Biol. Biochem.* 13:163-167.
- Miller, M.H. 2000. Arbuscular mycorrhizae and the phosphorus nutrition of maize: a review of Guelph studies. *Can. J. Plant Sci.* 80:47-52.
- Miller, R.M., and J.D. Jastrow. 2000. Mycorrhizal fungi influence soil structure. In Y. Kapulnik and D.D. Douds (ed.) *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Kluwer, Dordrecht.
- Murphy, P.N.C. 2007. Lime and cow slurry application temporarily increases organic phosphorus mobility in an acid soil. *Eur. J. Soil Sci.* 58:794-801.
- Newsham, K.K., A.H. Fitter, and A.R. Watkinson. 1995. Arbuscular mycorrhiza protect an annual grass from root pathogenic fungi in the field. *J. Ecol.* 83:991-1000.
- Pandey, R., B. Singh, and T.V.R. Nair. 2005. Impact of arbuscular-mycorrhizal fungi on phosphorus efficiency of wheat, rye and triticale. *J. Plant Nutr.* 28:1867-1876.
- Powell, C. L.L. 1979. Effect of mycorrhizal fungi on recovery of phosphate fertilizer from soil by ryegrass plants. *New Phytol.* 83:681-694.
- Ryan, M.H., and J.H. Graham. 2002. Is there a role for arbuscular mycorrhizal fungi in production agriculture? *Plant Soil* 244:263-271.
- Ryan, M.H., Van Herwaarden, A.F., J.F. Angus, and J.A. Kirkegaard. 2005. Reduced growth of autumn-sown wheat in a low-P soil is associated with high colonisation by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil* 270:275-286.
- Richardson, A.E. 2001. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Aust. J. Plant Physiol.* 28:897-906.
- Rodríguez, H., and R. Fraga. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnol. Adv.* 17:319-339.
- Sánchez-Díaz, M., and M. Honrubia. 1994. Water relations and alleviation of drought stress in mycorrhizal plants. In S. Gianinazzi and H. Schüepp (ed.) *Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Systems*. Birkhäuser Verlag, Basel.
- Schils, R.L.M., and P. Snijders. 2004. The combined effect of fertilizer nitrogen and phosphorus on herbage yield and changes in soil nutrients of a grass/clover and grass-only sward. *Nutr. Cycl. Agroecosys.* 68:165-179.

- Sharpley, A.N., and J.K. Syers, J.K. 1976. Potential role of earthworm casts for the phosphorus enrichment of run-off waters. *Soil Biol. Biochem.* 8:341-346.
- Sharpley, A.N., and J.K. Syers. 1977. Seasonal variation in casting activity and in the amounts and release to solution of phosphorus forms in earthworms casts. *Soil Biol. Biochem.* 9:227-231.
- Singh, S., and K.K. Kapoor. 1999. Inoculation with phosphate-solubilizing microorganisms and a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus improves dry matter yield and nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil. *Biol. Fertil. Soils* 28:139-144.
- Springett, J.A., and J.K. Syers. 1984. Effect of pH and calcium content of soil on earthworm cast production in the laboratory. *Soil Biol. Biochem.* 16:185-189.
- Tarafdar, J.C., and H. Marschner. 1995. Dual inoculation with *Aspergillus fumigatus* and *Glomus mosseae* enhances biomass production and nutrient uptake in wheat (*Triticum aestivum* L.) supplied with organic phosphorus as Na-phytate. *Plant Soil* 173:97-102.
- Thompson, J.P. 1987. Decline of vesicular-arbuscular mycorrhizas in long fallow disorder of field crops and its expression in phosphorus deficiency in sunflower. *Aust. J. Agric. Res.* 38:847-867.
- Thompson, J.P. 1991. Improving the mycorrhizal condition of the soil through cultural practices and effects on growth and phosphorus uptake in plants. p. 117-137. In C. Johansen et al. (ed.) *Phosphorus Nutrition of Grain Legumes in the Semi-Arid Tropics*. ICRISAT, Andhra Pradesh.
- Van der Werff, P.A., Van Amelsvoort, P.A.M., J.C.Y. Marinissen, and P. Frissen. 1995. The influence of earthworms and Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza on the availability of phosphate in ecological arable farming. *Acta Zool. Fennica* 196:41-44.
- Van Eekeren, N., E. Heeres, and F. Smeding. 2003. *Leven onder de graszode*. Discussiestuk over het beoordelen van beïnvloeden van bodemleven in de biologische melkveehouderij. Louis Bolk Instituut, Driebergen.
- Van Eekeren, N., H.C. de Boer, en A. van den Pol- Van Dasselaar. 2007. Effect van mestsoorten op biologische bodemkwaliteit. Resultaten De Marke 2006. Rapportage Louis Bolk Instituut, Driebergen.
- Wattel-Koekoek, E.J.W., D.W. Bussink, en H.C. de Boer. 2002. Effecten van bekalking van grasland op de beschikbaarheid van fosfaat. Rapport 811.02, Nutriënten Management Instituut B.V., Wageningen.
- Whitelaw, M.A., T.J. Harden, and G.L. Bender, 1997. Plant promotion of wheat inoculated with *Penicillium radicum* sp. nov. *Aust. J. Soil Res.* 35:291-300.
- Whitelaw, M.A. 2000. Growth promotion of plants inoculated with phosphate-solubilizing fungi. *Adv. Agron.* 69:99-151.
- Wurst, S., Dugassa-Gobena, D., Langel, R., M. Bonkowski, and S. Scheu. 2004. Combined effects of earthworms and vesicular-arbuscular mycorrhizas on plant and aphid performance. *New Phytol.* 163:169-176.
- Zaller, J.G., and J.A. Arnone III. 1997. Activity of surface-casting earthworms in a calcareous grassland under elevated atmospheric CO₂. *Oecologia* 111:249-254.
- Zhang, B.G., Li, G.T., Shen, T.S., J.K. Wang, and Z. Sun. 2000. Changes in microbial biomass C, N and P and enzyme activities in soil incubated with the earthworms *Metaphire guillelmi* or *Eisenia fetida*. *Soil Biol. Biochem.* 32:2055-2062.