

Steenmeeltrials voor herstel van Oude Eikenbossen op arme zandgronden (H9190)

Eindrapportage (2026)



Steenmeeltrials voor herstel van Oude Eikenbossen op arme zandgronden (H9190)

Eindrapportage (2026)

Judith Sitters
Maaïke Weijters
Daan van Pul
Roland Bobbink
Emiel Brouwer
Erik Verbruggen
Willem-Jan Emsens
Joren Bruggink
Marie-Charlott Petersdorf
Henk Siepel
Joost Vogels
Kevin Geurts
Juliette van der Schoor
Patrick Jansen
Sandra de Goeij
Miriam Scherpenisse



provincie
Gelderland

Titel rapport: Steenmeeltrials voor herstel van Oude Eikenbossen op arme zandgronden (H9190), eindrapportage (2026)

Datum: 30/03/2026

Auteurs: Judith Sitters, Maaïke Weijters, Daan van Pul, Roland Bobbink, Emiel Brouwer, Erik Verbruggen, Willem-Jan Emsens, Joren Bruggink, Marie-Charlott Petersdorf, Henk Siepel, Joost Vogels, Kevin Geurts, Juliette van der Schoor, Patrick Jansen, Sandra de Goeij & Miriam Scherpenisse

Rapportnummer: RP-20.172E.26.39

Projectnummer: PR-20.172E

Opdrachtgever: Provincie Gelderland

Contactpersoon:
Judith Sitters
Tel: 06-45358259
j.sitters@b-ware.eu
www.b-ware.eu

© Onderzoekcentrum B-WARE, 2026

Dit project wordt uitgevoerd door:



Radboud Universiteit



Inhoud

1	Inleiding	8
1.1	Aanleiding	8
1.2	Doel onderzoek	9
1.3	Opzet van het onderzoek	10
2	Proefopzet	14
3	Bodemchemie en bladchemie (spoor 1)	17
3.1	Abiotische randvoorwaarden Oud Eikenbos	17
3.2	Bodemchemie (onderdeel 4.2 uit de offerte)	19
3.3	Bladchemie (onderdeel 4.2)	28
3.4	Verwerking steenmeel (onderdeel 4.3)	34
3.5	Stikstofhuishouding bodem (onderdeel 4.4)	35
3.6	Vastlegging P (onderdeel 4.5)	45
3.7	Sporenelementen/zware metalen (onderdeel 4.6)	48
3.8	Conclusies spoor 1	54
4	Microbiële samenstelling van de bodem (spoor 2)	57
4.1	Verandering van microbiële gemeenschappen onder invloed van steenmeel (onderdeel 5.2)	57
4.2	Kwantitatieve effecten van steenmeel op stikstof-cyclerende microben en op totaalabundantie van bacteriën en schimmels (onderdeel 5.3)	62
4.3	Conclusies spoor 2	65
5	Strooiselafbraak en de rol van de bodemmesofauna (spoor 3)	67
5.1	Diversiteit van bodemfauna (onderdeel 6.1)	67
5.2	Effect van C/N, N/P en C/P ratio's op de decompositiesnelheid (onderdeel 6.2)	73
5.3	Effect van standplaats op de decompositiesnelheid (onderdeel 6.3)	76
5.4	Gecombineerd effect van steenmeel en diversiteit van de bodemmesofauna (onderdeel 6.4)	79
5.5	Conclusies spoor 3	83
6	Macrofauna (spoor 4)	84
6.1	Macrodetritivoren respons – veldrespons miljoenpoten op steenmeeltoediening (onderdeel 7.1.1)	84
6.2	Macrodetritivoren respons – experiment mortaliteit miljoenpoten (onderdeel 7.1.2)	86
6.3	Predatoren respons – loopkevers en spinnen (onderdeel 7.2)	90
6.4	Herbivoren respons – rupsdichtheid (onderdeel 7.3.1)	103
6.5	Herbivoren respons – kweekproeven met vlinderrupsen (onderdeel 7.3.2)	120
6.6	Effecten op hogere trofische niveaus (onderdeel 7.4)	132
6.7	Conclusies spoor 4	133
7	Grote herbivoren observaties	134
8	Vegetatieopnamen en paddenstoelentellingen	137
8.1	Vegetatieopnamen (onderdeel 8.1)	137

8.2	Monitoring paddenstoelen (onderdeel 8.2)	147
8.3	Conclusies vegetatie- en paddenstoelenontwikkeling	158
9	Synthese en conclusies	159
9.1	Urgentie in perspectief: bosconditie en de rol van steenmeel als herstelmaatregel	159
9.2	Doel van het onderzoek	159
9.3	Beoordeling van de steenmeeffecten	160
9.4	Synthese van de resultaten	162
9.5	Kennislacunes	169
10	Literatuur	172

1 Inleiding

1.1 Aanleiding

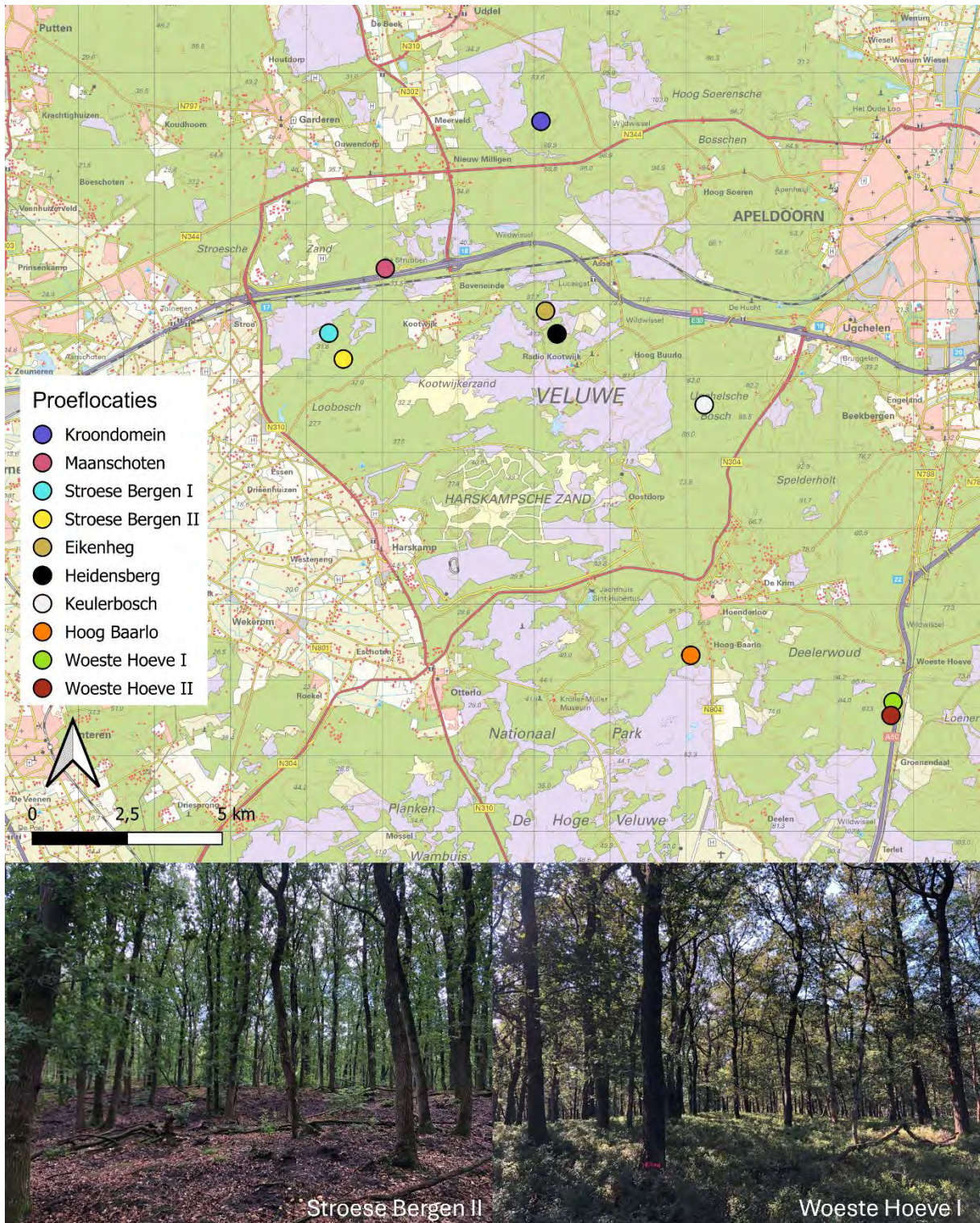
Oude Eikenbossen op zeer voedselarme zandgronden (Natura 2000 habitatype H9190; verder Oude Eikenbossen) vormen een habitatype dat sterk onder druk staat door onder meer chronische verzuring en stikstofeutrofiëring. Een verlaagde vitaliteit en verhoogde sterfte onder de Zomereiken in het laatste decennium heeft de urgentie om ecosysteemherstel via steenmeeltoediening nader te onderzoeken vergroot. In 2018/19 is een bureaustudie uitgevoerd naar de bestaande kennis met betrekking tot deze herstelbaarheid van het habitatype Oude Eikenbossen (Bobbink et al. 2019). De aanbevelingen uit dit rapport zijn om de effecten van steenmeeltoediening als herstelmaatregel in Oude Eikenbossen op vier onderdelen nader te onderzoeken:

1. Effecten op vegetatie (incl. plantchemie) en bodem;
2. Effecten op bodemschimmels en bacteriën;
3. Effecten op bodemfauna en snelheid strooiselafbraak;
4. Effecten op macrofauna (spinnen, insecten) in relatie tot vogels en zoogdieren.

In 2019/begin 2020 is door Onderzoekcentrum B-WARE in samenwerking met de Radboud Universiteit Nijmegen een proefopzet voor bovenstaand onderzoek uitgewerkt, waarbij in totaal 30 proefvlakken zijn ingericht op 10 verschillende locaties in habitatype Oude Eikenbossen op de Veluwe (Figuur 1.1). Elk proefvlak is 0,5 ha (70 × 70 m) groot. Per locatie zijn steeds drie proefvlakken ingericht. Twee ervan zijn na aselechte keuze behandeld met elk een ander soort steenmeel (Soilfeed of Eifelgold), het derde is ingericht als onbehandeld controleproefvlak. Begin 2020 zijn de steenmeelbehandelingen uitgevoerd. Daarnaast werd in ieder proefvlak een raster geplaatst zodat een deel van het proefvlak is afgesloten voor groot wild. De effecten van de steenmeelbehandelingen zijn gedurende vijf jaar gemonitord.

Bij het uitzetten van de proef is tevens een nulmeting uitgevoerd van bodemchemie (plantbeschikbare ionen, buffering, totale elementgehalten bodem) en bodemleven (bacteriën, schimmels, bodemmesofauna). De bodemchemie is direct geanalyseerd, voor het bodemleven zijn monsters verzameld en geconserveerd voor latere analyse. In juli/augustus 2020 is ook een nulmeting uitgevoerd van de bladchemie (Zomereik). De volledige proefopzet, inclusief de beschrijving van de 10 locaties, en de resultaten van de nulmeting van de bodemchemie zijn beschreven in het rapport 'Selectie en uitzetten steenmeeltrials voor herstel van Oude Eikenbossen op arme zandgronden (H9190)' (Weijters et al. 2020a). De resultaten van de nulmeting van de bladchemie zijn beschreven in het rapport 'Metingen bladchemie van Oude Eikenbossen (H9190) in Gelderland' (Weijters et al. 2020b). Aanvullend zijn een aantal onderdelen (bosstructuur, boomvitaliteit, mycorrhiza en fijne wortels) in de proef onderzocht door Wageningen Environmental Research (WENR). Deze zijn in een afzonderlijke rapportage beschreven (Van Delft et al. 2026) en de resultaten hiervan worden in deze rapportage meegenomen in het hoofdstuk 'Synthese en conclusies' (hoofdstuk 9).

Provincie Gelderland heeft Onderzoekcentrum B-WARE opdracht gegeven om de ingerichte proefvlakken te monitoren en om te onderzoeken wat de effecten van de hierboven beschreven steenmeeltoedieningen zijn op het Oud Eikenbos. In dit eindrapport worden de resultaten beschreven van vijf jaar onderzoek naar de effecten van de steenmeelbehandelingen.



Figuur 1.1 Ligging van de tien proeflocaties op de Veluwe in het habitattype Oude Eikenbossen. De foto's geven een indruk van proeflocaties Stroese Bergen II zonder dominante van Blauwe bosbes in de ondergroei en Woeste Hoeve I waar Blauwe bosbes dominant voorkomt in de ondergroei.

1.2 Doel onderzoek

Doel van deze monitoring is inzicht te krijgen in de effectiviteit van steenmeel als verzuringsbestrijdende maatregel in Oude Eikenbossen. Met verzuring wordt hier zowel een daling van pH bedoeld, als de

Met het toedienen van steenmeel worden al deze componenten, via verschillende tussenstappen, beïnvloed. In Figuur 1.3 staan vier belangrijke effectpaden weergegeven, die in het plan van aanpak afzonderlijk worden beschreven. Het belang van het verkrijgen van inzicht in de effecten van steenmeel op deze “paden” of “sporen” is beschreven in Bobbink et al. (2019).

Spoor 1 betreft de keten van het vrijkomen van basische kationen en andere elementen uit het steenmeel als gevolg van verwerking, de doorwerking daarvan op de bodemchemie en de beschikbaarheid van nutriënten en het volgen van effecten van steenmeel op de samenstelling van het blad van de Zomereik en Blauwe bosbes. Eikenblad is een belangrijke voedselbron voor fauna en de belangrijkste bron van strooisel, en de samenstelling van het blad is een belangrijke indicator van de vitaliteit van de Zomereik (Bobbink et al. 2019; de Vries et al. 2019). Ook wordt getracht een inschatting te maken van de verwerkingssnelheid van steenmeel in het veld. Deze gegevens kunnen vervolgens getoetst worden aan bestaande verweringsmodellen (Van Der Bauwhede et al. 2024a). De verandering in de samenstelling van de ondergroei wordt gevolgd en de respons van paddenstoelen wordt gemonitord, met name die van ectomycorrhiza-soorten. Doelstelling van herstel is immers ontwikkeling richting een gezond en biodivers eikenbos, waarbij verruiging een ongewenst effect van steenmeeltoediening kan zijn, en het terugkeren van typische ondergroei-soorten kenmerkend voor het Oud Eikenbos een teken van systeemherstel is.

De hoofdonderdelen van dit spoor zijn de volgende:

- Volgen van veranderingen in bodembuffering en nutriëntenonbalans in blad;
- Inzicht krijgen in de verwerkingssnelheid van steenmeel in het veld;
- Inzicht krijgen in de relatie van steenmeeltoedieningen met de stikstofhuishouding van de bodem (2023-2024);
- Meten of steenmeel zorgt voor vastlegging van fosfor (2023-2024);
- Verder volgen van eerder gevonden mogelijke risico's, met name het verminderen van de magnesiumbeschikbaarheid in blad bij met Soilfeed behandelde proefvlakken; en het eventueel vrijkomen van onwenselijke hoeveelheden zware metalen in bodem en/of blad.

Spoor 2 betreft de microbiële samenstelling van de bodem (schimmels en bacteriën). Dit is een relatief nieuw onderzoeksveld, waarbij als basis een beter begrip van de rol van bacteriën en schimmels in het bosesysteem centraal staat. Hierbij ligt de nadruk op de vorming van mycorrhiza en de rol van microben in de stikstofkringloop. Daarnaast wordt ook onderzocht of er veranderingen optreden in de samenstelling van de microbiële gemeenschap als gevolg van steenmeeltoediening. Om veranderingen te kunnen duiden (wijst de verandering op herstel?) moet ook worden verkend hoe de microbiële gemeenschap van een eikenbos er eigenlijk uit hoort te zien zodat veranderingen als gevolg van steenmeeltoediening geduid kunnen worden.

Concreet worden de volgende hoofdonderdelen in dit spoor uitgewerkt:

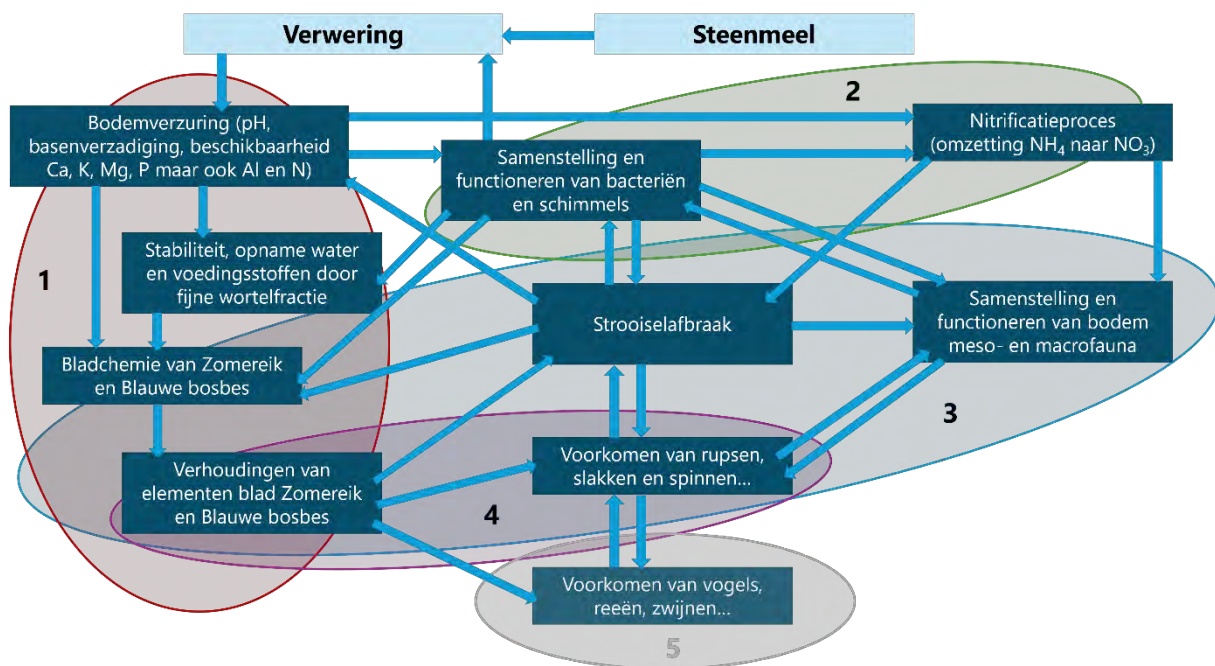
- Verandering van microbiële gemeenschappen onder invloed van steenmeel;
- Kwantitatieve effecten van steenmeel op microben betrokken bij de stikstofcyclus en op totaalabundantie van bacteriën en schimmels;
- Vergelijking met referentie-eikenbossen;
- Benoemen of er risico's op negatieve (neven)effecten zijn en zo ja, welke en (hoe) deze zijn te voorkomen?

Spoor 3 betreft de strooiselafbraak in het eikenbos, en de rol van de bodemmesofauna hierop. De afbraaksnelheid van ingevallen bladmateriaal op de bodem is bepalend voor de mate waarin

voedingstoffen weer beschikbaar komen voor opname door de vegetatie en vormt daarmee een van de belangrijkste pijlers voor het functioneren van bossen op arme zandgronden (de Jong et al. 2015). Deze afbraaksnelheid is afhankelijk van 1) de kwaliteit van het strooisel (ratio's van C/N, N/P en C/P in de macronutriënten), 2) de abiotische condities in de bodem (hoeveelheid en beschikbaarheid van Ca, Mg en K en sporenelementen) en 3) de soortendiversiteit van de bodemmesofauna die de afbraak bevordert (Aerts 1997; de Jong et al. 2015). Om dit complexe veld te ontrafelen en daarmee aan te kunnen geven welke van deze drie factoren voor het beheer het belangrijkste (en eenvoudigst) zijn te sturen, zullen al deze factoren in het veld onder bestaande en onder experimentele situaties moeten worden geanalyseerd.

Concreet worden de volgende hoofdonderdelen uitgewerkt in dit spoor:

- Meten daadwerkelijke diversiteit van de bodemfauna in Oude Eikenbossen op arme zandgrond (nulmeting en uiteindelijke effectmeting);
- Effect van C/N, N/P en C/P ratio's op de decompositiesnelheid bepalen;
- Effect van standplaats op de decompositiesnelheid bepalen;
- Bepalen van het gecombineerde effect van steenmeel en diversiteit van de bodemmesofauna op de afbraak.



Figuur 1.3 Versimpelde weergave van de processen in het bossysteem die zijn aangetast als gevolg van verhoogde N- en in het verleden S- depositie, en waar een effect wordt verwacht van de toediening van steenmeel. De gekleurde cirkels geven de onderzoeksporen weer die worden beschreven in deze rapportage. In grijs spoor 5, effect op grote herbivoren, wat wordt uitgevoerd door Wageningen Universiteit.

Spoor 4 betreft het effect van steenmeeltoediening op grote ongewervelde fauna (macrofauna). Macrofauna vervult verschillende functies in droge voedselarme bossen zoals Oude Eikenbossen (H9190) en Beuken-eikenbossen met Hulst (H9120). De soorten zijn te verdelen in drie trofische groepen: detritivoren, predatoren en herbivoren, welke elk een verschillende rol spelen in het functioneren van het ecosysteem, zowel top down (bijdrage decompositie) als bottom up (voedselbron voor insectivore organismen). Als gevolg van verzurende en vermestende depositie is de samenstelling en abundantie van deze soorten veranderd. Dit kan enerzijds de effecten van verzuring versterken door het wegvallen

van detritivore faunagroepen (bijv. de regenwormen; Desie et al. 2020) en bijgevolg remmen van strooiselafbraak. Anderzijds leidt een aantasting van aanbod (Graveland 1998) en de kwaliteit van prooien (Graveland & van der Wal 1996; Graveland & Drent 1997; Mahony et al. 1997) tot een verslechterd prooiaanbod voor insectivoren. Herstel van de bufferstatus van deze bossen dient derhalve ook te leiden tot een meetbaar herstel van de bodem-macrofauna om te kunnen spreken van een adequaat herstel.

Voor dit spoor worden de volgende hoofdonderdelen uitgewerkt:

- Macrodetrivoren respons op steenmeel bepalen;
- Predatoren respons op steenmeel bepalen;
- Herbivore respons op steenmeel bepalen;
- Effecten van steenmeel op hogere trofische niveaus bepalen.

Ook worden gegevens, verkregen uit complementaire studies (Exclosures-onderzoek Wageningen Universiteit en metingen Haskoning/WENR), samengebundeld in deze eindrapportage. Deze vier sporen geven tevens de onderbouwing van spoor 5 (effect op grote herbivoren), dat wordt uitgevoerd door Wageningen Universiteit (promotieonderzoek Sylvana Harmsen). Vanuit dit onderzoek zal ook de vegetatiesamenstelling binnen de rasters worden opgenomen.

2 Proefopzet

De selectie van de 10 proeflocaties werd in nauw overleg met de provincie Gelderland en de verschillende beheerorganisaties uitgevoerd. Hiervoor werden deze organisaties geïnformeerd, waarbij ook de verschillende contactpersonen van de beheerders uit het OBN-DT Droog zandlandschap werden betrokken. Na een check op interne vergelijkbaarheid van de locaties wat bodemtype, (gebruiks)geschiedenis en bosstructuur betreft, werd via gezamenlijke veldbezoeken tot een definitieve selectie van de 10 locaties gekomen. Selectiecriteria waren de volgende:

- De locaties zijn gelegen in Oud Eikenbos (H9190);
- Zomereik is de dominante boomsoort;
- De proefvlakken binnen één locatie zijn vergelijkbaar wat betreft bodemopbouw, reliëf en vegetatiestructuur;
- In ca. 50% van de locaties is Blauwe bosbes dominant in de ondergroei;
- De proefvlakken zijn goed tot redelijk goed bereikbaar.

Vervolgens werden in GIS voor iedere locatie de proefvlakken gemarkeerd, waarna in het veld op de diagonaal van deze proefvlakken steeds drie permanente kwadraten (PQ's) werden gemarkeerd door middel van een paaltje in het veld. Indien nodig werden proefvlakken enigszins verplaatst omdat de digitaal geselecteerde locatie bij veldcheck niet aan bovenstaande criteria voldeed. Vervolgens zijn door de Bosgroep Nederland hoekpalen geplaatst bij de proefvlakken. Door de relatief grote GPS-afwijkingen werden de hoekpunten niet enkel "op coördinaat" geplaatst, maar ook nagemeten met meetlinten. Uiteindelijk werden er op deze manier 30 proefvlakken van 0,5 ha (70 × 70 m) uitgezet.

Na het markeren van de PQ's werd de bemonstering (nulmeting) van de bodem uitgevoerd (Foto 2.1). Voor de bodemchemie werd van vier bodemlagen (FH-laag, 0-10 cm mineraal, 10-20 cm mineraal en 20-40 cm mineraal) per proefveld een mengmonster verzameld van drie boringen (bij iedere PQ één). Per mengmonster werden de volgende parameters geanalyseerd via twee extracties (zout- en strontium) en één destructie: plantbeschikbare ionen (o.a. ammonium, nitraat, fosfaat, basische kationen), buffering (CEC en basenverzadiging) en totaal elementgehalte bodem (o.a. totaal Al, Ca, K, Mg en P en het C/N-gehalte). Ook het vochtgehalte en percentage organische stof werd gemeten. Verder werd een submonster van bodemmateriaal geselecteerd en apart bewaard bij minimaal -30°C voor analyse van het bodemleven (bacteriën en schimmels) via DNA-technieken in een volgende fase van het onderzoek (spoor 2). Tevens werden bodemmonsters verzameld voor de analyse van de bodemmesofauna (microarthropoden, vooral springstaarten en mijten). Na extractie van de organismen uit het bodemmateriaal zijn deze geconserveerd op alcohol en in een volgende fase van het onderzoek uitgezocht (spoor 3).

Op deze proefvlakken is vervolgens onder leiding van de Unie van Bosgroepen 10 ton Eifelgold/ha of 10 ton Soilfeed/ha opgebracht tussen half februari en half april 2020 (Tabel 2.1). Deze doseringen komen overeen met eerder opgebrachte hoeveelheden in eikenbos op de Veluwe in het kader van het OBN-project herstel loofbossen (de Vries et al. 2019), en zijn gebaseerd op mineralogisch onderzoek uitgevoerd op zandgronden op de Veluwe (Weijters et al. 2018). Het steenmeel werd handmatig opgebracht, soms met behulp van een strooiwagentje of kruitwagen. Het derde proefvlak bleef steeds onbehandeld. Daarnaast werd er in ieder proefvlak een 2 meter hoog raster ("exclosure") geplaatst van 6 m × 6 m om inzicht te krijgen in het verschil tussen begraasde en niet-begraasde vegetatie. Hierbij

kunnen grotere dieren zoals herten en zwijnen de proefvlakken niet in, maar kleinere dieren zoals konijnen en muizen kunnen wel door het gaas heen.



Foto 2.1 Linksboven: PQ-paaltje, Rechtsboven: beeld van de bovenlaag van de bosbodem, onderste figuur: boorgoot met overzicht van de boring, met rechts de toplaag.

Tabel 2.1 Overzicht van de behandelingen per proefvlak en de datum waarop het steenmeel is opgebracht door de Unie van Bosgroepen.

Nr.	Gebied	Proeflocatie	Vlknr.	Behandeling	Kleur paal	Steenmeel
1	Meervelderbos	Kroondomein	KD1	Controle		
			KD2	Eifelgold	Rood	17-feb-20
			KD3	Soilfeed	Wit	12-feb-20
2	Maanschoten	Maanschoten	MS1	Soilfeed	Wit	17-apr-20
			MS2	Controle		
			MS3	Eifelgold	Rood	15-apr-20
3	Kootwijkerdijk	Stroese Bergen I	SB1	Eifelgold	Rood	24-feb-20
			SB2	Soilfeed	Wit	13-feb-20
			SB3	Controle		
4	Bosbergerweg	Stroese Bergen II	SB4	Soilfeed	Wit	11-feb-20
			SB5	Eifelgold	Rood	19-feb-20
			SB6	Controle		
5	Eikenheg	Eikenheg	EH1	Controle		
			EH2	Soilfeed	Wit	14-feb-20
			EH3	Eifelgold	Rood	18-feb-20
6	Kootwijkerbosch	Heidensberg	HB1	Soilfeed	Wit	8-apr-20
			HB2	Eifelgold	Rood	25-feb-20
			HB3	Controle		
7	Ugchelsebos	Keulerbosch	KB1	Soilfeed	Wit	10-apr-20
			KB2	Controle		
			KB3	Eifelgold	Rood	5-mrt-20
8	Hoog Baarlo	Hoog Baarlo	BL1	Controle		
			BL2	Soilfeed	Wit	7-feb-20
			BL3	Eifelgold	Rood	21-feb-20
9	Lebretshoeve	Woeste Hoeve I	WH1	Eifelgold	Rood	27-feb-20
			WH2	Controle		
			WH3	Soilfeed	Wit	1-apr-20
10	Lebretshoeve	Woeste Hoeve II	WH4	Soilfeed	Wit	3-apr-20
			WH5	Controle		
			WH6	Eifelgold	Rood	2-mrt-20

3 Bodemchemie en bladchemie (spoor 1)

3.1 Abiotische randvoorwaarden Oud Eikenbos

Dit onderzoek richt zich op de vraag of het toedienen van steenmeel een effectieve maatregel kan zijn voor het herstel van het habitatype Oude Eikenbossen (H9190). Daarmee wordt enerzijds verondersteld dat de huidige conditie van deze bossen niet optimaal is, en anderzijds dat steenmeel een positieve bijdrage kan leveren. Voor bepaalde bodem- en bladchemische parameters is het duidelijk binnen welke waarden deze moeten liggen om te kunnen spreken van abiotisch gunstige condities.

3.1.1 Referentiewaarden bodemchemie

Goede graadmeters voor de mate van bodemverzuring in droge bossen in het zandlandschap zijn de beschikbare calciumconcentratie, de aluminium tot calcium (Al/Ca-)ratio en de bodem pH. Inkomende zuren worden uitgewisseld voor aan het bodemcomplex gebonden basische kationen (met name Ca, K en Mg), die vervolgens uitspoelen en daarmee niet langer beschikbaar zijn voor planten en dieren. Hierdoor neemt de concentratie beschikbaar Ca (en K en Mg) af. Wanneer de minerale bodem niet langer in staat is inkomende zuren te neutraliseren door het uitwisselen van basische kationen, daalt de pH en komt Al in oplossing (de Al-bufferrange). De hoeveelheid giftig Al in de bodemoplossing neemt toe, waardoor de opname van voedingsstoffen (de Wit et al. 2010) en de groei van micro-organismen wordt geremd (Piña & Cervantes 1996). Het is onwenselijk om een verhouding tussen beschikbaar Al en Ca te hebben die hoger is dan 1, want dit levert negatieve effecten op voor boomgroei en een afname in vitaliteit van Europese bossen (Sverdrup & Warfvinge 1993; Cronan & Grigal 1995). Het omslagtraject tussen de buffering van zuren door middel van het adsorptiecomplex en het in oplossing komen van aluminium ligt rond een pH 4-5 gemeten in het demiwaterextract (Rahman et al. 2018). Een pH-water van <4 is een indicator dat er sprake is van een verzuringsknelpunt (o.a. Blume et al. 2016).

De basenverzadiging wordt ook gebruikt als een graadmeter voor de mate van bodemverzuring in droge bossen in het zandlandschap. Dit is de mate waarin het bodemadsorptiecomplex (Cation Exchange Capacity of CEC) is opgeladen door basische kationen, en in staat is om inkomende zuren te bufferen. Een basenverzadiging van <20% wordt geclassificeerd als laag (en <7% als zeer laag) bij bosbodems op zandgronden (Blaser et al. 2008; Wellbrock & Bolte 2019) en is ongunstig. Een basenverzadiging lager dan 25-30% is mede het gevolg van het in oplossing gaan van Al. Er is geen sprake van een harde grens: hoe sterker de verzuring, uitloging en mobilisatie van Al, hoe groter het aantal kenmerkende soorten dat uit het bos zal verdwijnen. Verder is de basenverzadiging beter naarmate er meer organisch stof in de bodem zit en slechter naarmate er meer Al (bijvoorbeeld zure leem) in de bodem zit; voor verschillende bodemtypen zijn er vermoedelijk verschillende grenzen. Voor een duurzaam herstel van het habitatype Oude Eikenbossen wordt een basenverzadiging van 30% aangehouden (Schlutow & Huebener 2004).

3.1.2 Referentiewaarden bladchemie

De gehalten in het blad geven een indruk van tekorten of overschotten aan elementen in de bomen en of er sprake is van een onbalans in nutriënten. Door bladmateriaal te verzamelen en te vergelijken met referentiewaarden kan snel een indruk worden verkregen van eventuele knelpunten op het gebied van nutriënten voor de bomen (Mellert & Göttlein 2012). Daarnaast wordt ook gekeken naar de verhoudingen waarin elementen voorkomen in het blad. Door het uitspoelen van basische kationen (Ca, K en Mg) als gevolg van verzurende depositie (stikstof en in het verleden zwavel), een verminderde opname door beschadigde wortelstelsels als gevolg van Al-toxiciteit en de vermestende N-depositie, kunnen de verhoudingen van elementen in het blad sterk verschuiven. Dat wordt niet enkel veroorzaakt door een lagere beschikbaarheid van voedingsstoffen in de bodem, maar ook door veranderingen in de manier waarop bomen voedingsstoffen op kunnen nemen door aantasting van het wortelstelsel van de

bomen, aantastingen van de mycorrhizaschimmels en veranderingen in de samenwerking tussen bomen en schimmels. Tabel 3.1 geeft een overzicht van de referentiewaarden die gebruikt worden in dit onderzoek.

Tabel 3.1 Referentietabel naar Mellert en Göttlein (2012) met de kritische nutriëntenconcentraties (in mg/g drooggewicht) en -verhoudingen (in g/g) gemeten in zomer- en wintereik (*Quercus robur* en *Quercus petraea*). Als bij de nutriëntenverhoudingen waarden niet binnen het normale bereik vallen is er sprake van een onbalans aan nutriënten, vaak door een overschot van N of een tekort van het andere element.

Eik	Tekort	Normale bereik	Overschot
N	<19,8	19,8-26,8	>26,8
P	<1,4	1,4-2,1	>2,1
K	<7,2	7,2-11,4	>11,4
Ca	<5,3	5,3-10,2	>10,2
Mg	<1,2	1,2-2,4	>2,4
N/P		9,3-19,6	
N/K		1,7-3,7	
N/Ca		1,9-5,0	
N/Mg		8,1-21,8	

3.1.3 Onderzochte referentiebossen

Voor het onderzoek zijn ook bodemchemische metingen uitgevoerd in drie typen 'referentiebossen': (1) zure en zwakgebufferde eikenbossen in Drenthe, (2) goed gebufferde eikenbossen in Duitsland en (3) van nature zure loofbossen in Frankrijk. Deze gegevens geven inzicht in de bandbreedte aan abiotische condities – van zuur tot goed gebufferd – en maken duidelijk hoe de proeflocaties op de Veluwe daarin passen. Daarnaast wordt onderzocht of de steenmeelbehandelingen de Oude Eikenbossen richting de abiotische condities van beter gebufferde bossen laten bewegen. Hieronder worden de referentiebossen wat beter toegelicht.

- Eikenbossen in Drenthe – uit een grotere groep boslocaties (Smeenge et al. 2025) is een selectie gemaakt van 8 eikenbossen die lijken op de onderzochte Oude Eikenbossen. Deze selectie was gebaseerd op een vergelijkbaar bodemtype, vegetaties zonder verruiging, locaties met totaal-Al <100 mmol/l bodem zoals in de proeflocaties, en locaties met relatief lage Al/Ca-ratio's. Uiteindelijk werden 4 locaties geclassificeerd als 'zuur' en 4 als 'zwak gebufferd'. De zwak gebufferde locaties hadden ondergroei met plantensoorten die iets meer gebufferde condities vereisen. De locaties zijn in het voorjaar van 2024 bemonsterd en geanalyseerd op dezelfde wijze als beschreven in 3.2.1 en 3.2.2.
- Eikenbossen in Duitsland – in het Colbitzer Lindenwald zijn 3 eikenlocaties bemonsterd. Deze maken deel uit van een grotere groep boslocaties (van den Berg et al. 2021) die zich bevinden op zandige of leemrijke zandgronden. De bodems in Colbitz zijn dus goed vergelijkbaar met de Nederlandse zandgronden, maar hebben minder last van chronische stikstofdepositie en zijn daardoor waarschijnlijk minder doorverzuurd. De locaties zijn in 2017 bemonsterd.
- Loofbossen in Frankrijk – deze 12 bossen vallen in de categorie eiken-beukenbossen met hulst, gelegen op locaties die bekendstaan als oude bosgroeiplaats (van den Burg & Weijters 2023). Deze bossen zijn van nature mineralenrijker dan de onderzochte Oude Eikenbossen en daardoor minder direct vergelijkbaar dan de andere referentiebossen. Tegelijkertijd zijn ze van nature zuur, zonder de invloed van overmatige stikstofdepositie, en liggen op een buffergradiënt van zuur naar meer gebufferd. Hierdoor is het toch waardevol om te onderzoeken hoe de proeflocaties zich verhouden tot deze Franse bossen. De locaties zijn in 2021 bemonsterd.

3.2 Bodemchemie (onderdeel 4.2 uit de offerte)

3.2.1 Bodembemonstering

De bodem werd bemonsterd in alle 30 proefvlakken tussen 18 december 2019 en 16 januari 2020 (t=0; nulmeting vóór steenmeelbehandeling), 24-27 januari 2021 (1^e effectjaar), 12-16 december 2022 (3^e effectjaar want einde van het jaar gemeten i.p.v. begin), 7-11 december 2023 (4^e effectjaar) en 21-28 november 2024 (5^e en laatste effectjaar). Hierbij werd rondom ieder PQ-paaltje materiaal verzameld met een schep van de FH-laag na verwijdering van de L-laag (strooisellaag) en met een edelmanboor van de 0-10 cm minerale bodemlaag. De dikte van de FH-lagen werd ook genoteerd. In 2020 (t=0) en 2024 (t=5) werden ook minerale bodemmonsters verzameld op 10-20 cm en 20-40 cm diepte, en in 2024 ook op 40-100 cm diepte. De drie bodemmonsters van de verschillende dieptes en de monsters van de FH-laag werden per PQ-paaltje vermengd tot ieder één mengmonster per vlak, en ter analyse naar Onderzoekcentrum B-WARE gebracht. Gedurende sommige meetjaren was de FH-laag in verschillende proefvlakken afwezig vanwege de activiteit van wilde zwijnen (Bijlage 1.1.1 in het Bijlagen rapport).

3.2.2 Laboratorium analyses

De verzamelde bodemmonsters werden door het laboratorium van Onderzoekcentrum B-WARE verwerkt waarbij de volgende analyses zijn uitgevoerd:

- Bepalen organische stof en massa-volume van de bodem;
- Bepalen van de vrij beschikbare concentraties Al, Ca, K Mg en P en ook NH₄ en NO₃ door middel van een NaCl-extractie en de bodem pH;
- Bepalen van de totale concentraties van o.a. Al, Ca, K, Mg en P en de totale concentraties van van sporenelementen en zware metalen (o.a. As, Cd, Co, Cu, Hg, Mo en Pb) door middel van een HNO₃-destructie;
- Bepalen van de Cation Exchange Capacity (CEC) en de basenverzadiging door middel van een strontiumextractie, waarmee de grootte van het bodemadsorptiecomplex wordt bepaald en de bezetting van het complex met basen;
- C/N-analyse.

Voor een gedetailleerde beschrijving van de analyses zie het tussenrapport Sitters et al. (2024).

3.2.3 Statistische analyses

Effecten steenmeelbehandelingen op bodemchemische parameters

Omdat na de bemonstering van het laatste effectjaar de bodemchemische data nu compleet zijn, werd het effect van de steenmeelbehandelingen in één keer getoetst over de vijf effectjaren. Dit beantwoordt de vraag of het toedienen van steenmeel de verzurende en/of vermestende effecten van stikstofdepositie kan mitigeren in vijf jaar tijd. Statistische analyses werden uitgevoerd met R versie 4.3.2 (R Core Team 2023) en modellen werden gemaakt met behulp van het *lme4*-pakket (Bates et al. 2015). Omdat de bodemchemische data niet voldeden aan aannames van normaliteit en variantie voor lineaire modellen (zelfs niet na log-transformatie), werden Generalized Linear Mixed-effect Models (GLMM's) gebruikt om de effecten van bodemdiepte, steenmeelbehandeling en hun interactie op de bodemchemische parameters over de vijf effectjaren te toetsen, met proeflocatie en effectjaar als 'random' variabelen. De modellen gebruikten een gammaverdeling met log-linkfunctie. Om rekening te houden met het ongelijke aantal monsters tussen de FH-laag ($n = 90$) en de bovenste 10 cm van de minerale bodem ($n = 120$), werden 'two-way unbalanced' ANOVA's uitgevoerd en werden type II sommen van kwadraten verkregen met behulp van de *Anova*-functie uit het *car*-pakket. Om de effecten van de steenmeelbehandeling binnen elke bodemdiepte te evalueren, werd het *emmeans*-pakket (Lenth

& Piaskowski 2025) gebruikt om geschatte marginale gemiddelden te extraheren en paarsgewijze vergelijkingen uit te voeren tussen de drie steenmeelbehandelingen (controle, Eifelgold, Soilfeed) op elke bodemdiepte. In de modellen werden de bodemchemische gegevens van meetjaren 2021 tot en met 2024 gebruikt, aangezien de steenmeelbehandelingen werden gestart na de bemonstering in 2020. Uit de bodemdataset werd één extreme uitschieter van NH_4^+ in de bovenste 10 cm van de minerale bodem uit meetjaar 2024 verwijderd (4840 $\mu\text{mol/l}$ bodem; bijna 30 keer hoger dan andere gemeten concentraties) vóór het uitvoeren van de statistische analyses. Volledige modelresultaten zijn weergegeven in Bijlage 1.1.2.

In 2024 werden er ook minerale bodemmonsters verzameld op 20-40 cm en 40-100 cm diepte. Om te toetsen of er een effect was van de steenmeelbehandelingen op deze grotere diepten, werden GLMM- of LMM-modellen gebruikt om de effecten van bodemdiepte (FH-laag, mineraal op 0-10 cm diepte, 10-20 cm diepte, 20-40 cm diepte en 40-100 cm diepte), steenmeelbehandeling en hun interactie te testen. Om de effecten van de steenmeelbehandeling binnen elke bodemdiepte te evalueren, werd het *emmeans*-pakket gebruikt om paarsgewijze vergelijkingen uit te voeren tussen de drie steenmeelbehandelingen (controle, Eifelgold, Soilfeed). Volledige modelresultaten zijn weergegeven in Bijlage 1.1.3.

Als laatste werden de bodemchemische data van 2020 gebruikt om aanvullende modellen te draaien om te verifiëren dat de getoetste bodemchemische parameters niet verschilden tussen de proefvlakken vóór de behandeling met steenmeel. Voor de bodemchemische parameters werden GLMM- of LMM-modellen gebruikt om de effecten van bodemdiepte (FH-laag, mineraal op 0-10 cm diepte, 10-20 cm diepte en 20-40 cm diepte), (toekomstige) steenmeelbehandeling en hun interactie te testen. Er werden geen significante verschillen in de 'nulmeting' gevonden tussen de proefvlakken (Bijlage 1.1.4), met uitzondering van beschikbare K-concentraties op 20-40 cm diepte, waarin de Eifelgold-behandeling hogere concentraties werden gemeten in vergelijking met de controleproefvlakken.

Relatie tussen humusprofiel en effect steenmeelbehandelingen

Door WENR zijn in elke proeflocatie bodem- en humusprofielen beschreven als nulmeting om de uitgangssituatie vast te leggen (Van Delft et al. 2026). Deze opname geeft een beeld van de bodemkundige variatie tussen en binnen de proefvlakken die van invloed kunnen zijn op het effect van de steenmeelbehandelingen op langere termijn. Dit is onderzocht door het gemiddelde effect van de steenmeelbehandelingen uit te rekenen over de vijf monitoringsjaren: $(\text{parameter behandeling} - \text{parameter controle}) / \text{parameter controle} \times 100\%$ voor zeven belangrijke bodemchemische parameters: pH-NaCl, beschikbaar Ca, K, Mg en Al, Al/Ca-ratio en basenverzadiging. De relatieve verandering houdt rekening met de natuurlijke variatie in de bodemchemische parameters en corrigeert zo voor variatie in de controleproefvlakken. Vervolgens is er met een lineair model getoetst of er een significante relatie ($P < 0,05$) te vinden was tussen deze relatieve veranderingen en de dikte van verschillende humushorizonten (Ft, Fa1, Fa2, Ht, Hr, Hh, HA, At, A, F, H, LF, F2H en FH; zie Van Delft et al. 2026 voor beschrijvingen).

Ligging proeflocaties en effect steenmeelbehandelingen i.r.t. referentiebossen

Ook werd er een Principale componentanalyse (PCA) uitgevoerd waarbij de bodemgegevens van de proeflocaties van het laatste meetjaar (2024) en de referentiebossen samen in een multidimensionaal vlak werden geplaatst. Er is een PCA gedaan op de bodemmonsters genomen van de 0-10 cm bodemlaag. Hierbij zijn de belangrijkste bodemchemische parameters gebruikt: pH (NaCl), beschikbare concentraties van Ca, K, Mg, de Al/Ca-ratio, concentraties NO_3 , NH_4 en P-NaCl en de basenverzadiging. Vervolgens is visueel gekeken hoe de proefvlakken zich tijdens het 5^e effectjaar (2024) verhouden in de

multidimensionale ruimte ten opzichte van elkaar (wat is het effect van de steenmeelbehandelingen?) en in relatie tot de referentiebossen (bewegen de behandelde proefvlakken zich richting een bepaalde referentiesituatie?).

3.2.4 Resultaten

Bodemchemische toestand Oud Eikenbos

De nulmeting in de winter van 2019/2020 vóór de behandeling met steenmeel liet duidelijk zien dat de Oude Eikenbossen in de proeflocaties kampen met bodemverzuring en eutrofiëring. Er werd bijvoorbeeld een basenverzadiging in de bovenste 10 cm van de minerale bodem gemeten van gemiddeld 12,9%, en dit wordt als zeer laag beschouwd voor bossen op zandgronden (Schlutow & Huebener 2004; Blaser et al. 2008; Wellbrock & Bolte 2019). De basenverzadiging in de FH-laag was hoger en bedroeg gemiddeld 29,2%. De beschikbare Al/Ca-ratio's in de bovenste 10 cm van de minerale bodem waren gemiddeld 2,0 mol/mol en >1 mol/mol in 26 van de 30 proefvlakken. In de FH-laag werden veel lagere Al/Ca-ratio's gemeten met een gemiddelde van 0,2 mol/mol, terwijl de ratio's toenamen met de minerale bodemdiepte (Tabel 3.2), wat wijst op de uitspoeling van Ca^{2+} met diepte. De lage basenverzadiging en pH-waarde van de bodem (gemiddeld 3,0 op 0-10 cm diepte) in combinatie met de hoge Al/Ca-ratio's in de bovengrond duiden erop dat de Oude Eikenbossen in dit onderzoek last hebben van bodemverzuring. Tevens varieerde de C/N-ratio van de FH-laag van 17,5 tot 22,7 g/g, en waarden onder de 25 wijzen vaak op N-verrijking of -overschot, met name in gebieden met hoge atmosferische N-depositie (Vanguelova et al. 2024).

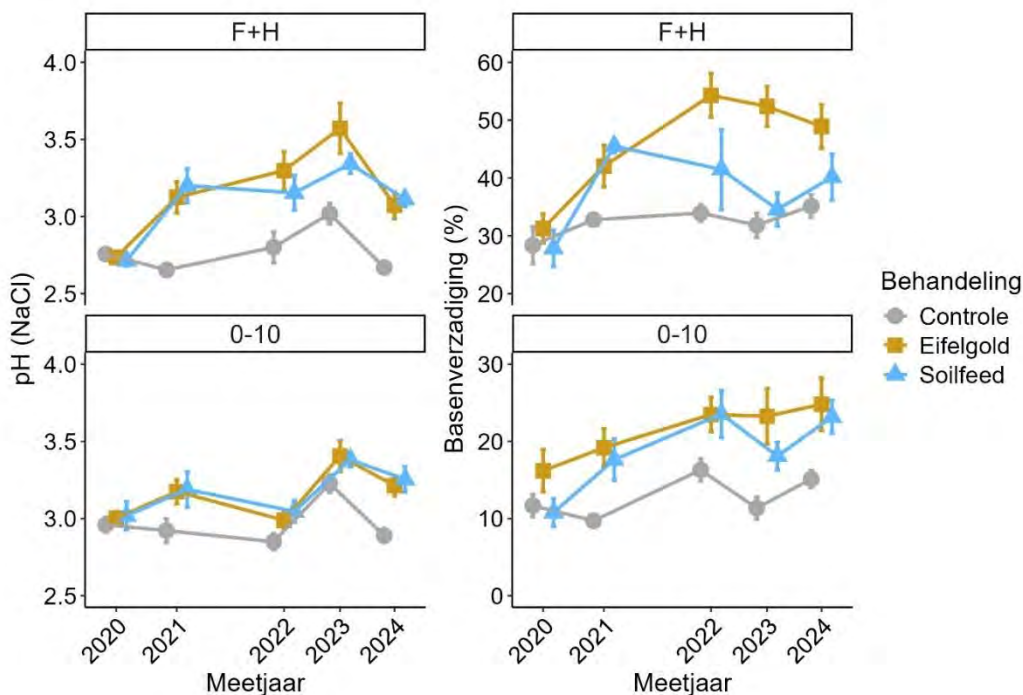
Tabel 3.2 Bodemchemische gegevens van de proeflocaties in 2020 vóór de steenmeelbehandelingen. Waarden vertegenwoordigen gemiddelde \pm standaardfout gemeten op verschillende bodemdieptes.

Bodemchemische parameter	Bodemdiepte			
	FH-laag	0-10 cm	10-20 cm	20-40 cm
Organische stof (%)	26.4 \pm 1.8	6.0 \pm 0.4	3.6 \pm 0.2	2.4 \pm 0.2
Totaal Al (mmol/l bodem)	20 \pm 2.4	45 \pm 3.2	73 \pm 4.7	94 \pm 5.5
pH-NaCl	2.7 \pm 0.02	3.0 \pm 0.04	3.4 \pm 0.05	3.8 \pm 0.05
Beschikbaar Al ($\mu\text{mol/l}$ bodem)	765 \pm 150	2053 \pm 114	2135 \pm 100	1499 \pm 101
Beschikbaar Ca ($\mu\text{mol/l}$ bodem)	3664 \pm 246	1014 \pm 110	530 \pm 49	302 \pm 21
Beschikbaar K ($\mu\text{mol/l}$ bodem)	1052 \pm 249	450 \pm 27	381 \pm 19	499 \pm 135
Beschikbaar Mg ($\mu\text{mol/l}$ bodem)	2086 \pm 153	518 \pm 44	271 \pm 28	147 \pm 10
PO_4^{3-} ($\mu\text{mol/l}$ bodeml)	33.0 \pm 5.1	7.9 \pm 1.2	2.6 \pm 0.3	1.3 \pm 0.1
Beschikbare Al/Ca-ratio (mol/mol)	0.21 \pm 0.09	2.02 \pm 0.36	4.03 \pm 0.44	4.97 \pm 0.43
NO_3^- ($\mu\text{mol/l}$ bodem)	350 \pm 39	196 \pm 24	125 \pm 13	102 \pm 12
NH_4^+ ($\mu\text{mol/l}$ bodem)	614 \pm 106	135 \pm 13	127 \pm 14	84 \pm 6
Basenverzadiging (%)	29.2 \pm 1.7	12.9 \pm 1.2	11.2 \pm 0.7	14.1 \pm 1.3
CEC (meq/l bodem)	52 \pm 1.7	40 \pm 1.1	29 \pm 1.1	19 \pm 1.2
Totaal Ca (mmol/l bodem)	5.6 \pm 0.31	2.7 \pm 0.14	2.8 \pm 0.10	2.7 \pm 0.12
Totaal K (mmol/l bodem)	1.6 \pm 0.07	1.9 \pm 0.08	2.1 \pm 0.06	2.1 \pm 0.07
Totaal Mg (mmol/l bodem)	3.1 \pm 0.11	3.6 \pm 0.24	5.1 \pm 0.25	6.7 \pm 0.41
Totaal P (mmol/l bodem)	3.1 \pm 0.13	2.4 \pm 0.10	2.1 \pm 0.09	1.9 \pm 0.11
Totaal N (mmol/g bodem)	6.5 \pm 0.47	1.7 \pm 0.25	0.79 \pm 0.05	0.42 \pm 0.04
C/N-ratio (g/g)	19.6 \pm 0.2	23.7 \pm 0.5	26.1 \pm 0.5	31.8 \pm 1.1

Effecten steenmeelbehandelingen op bodembuffering

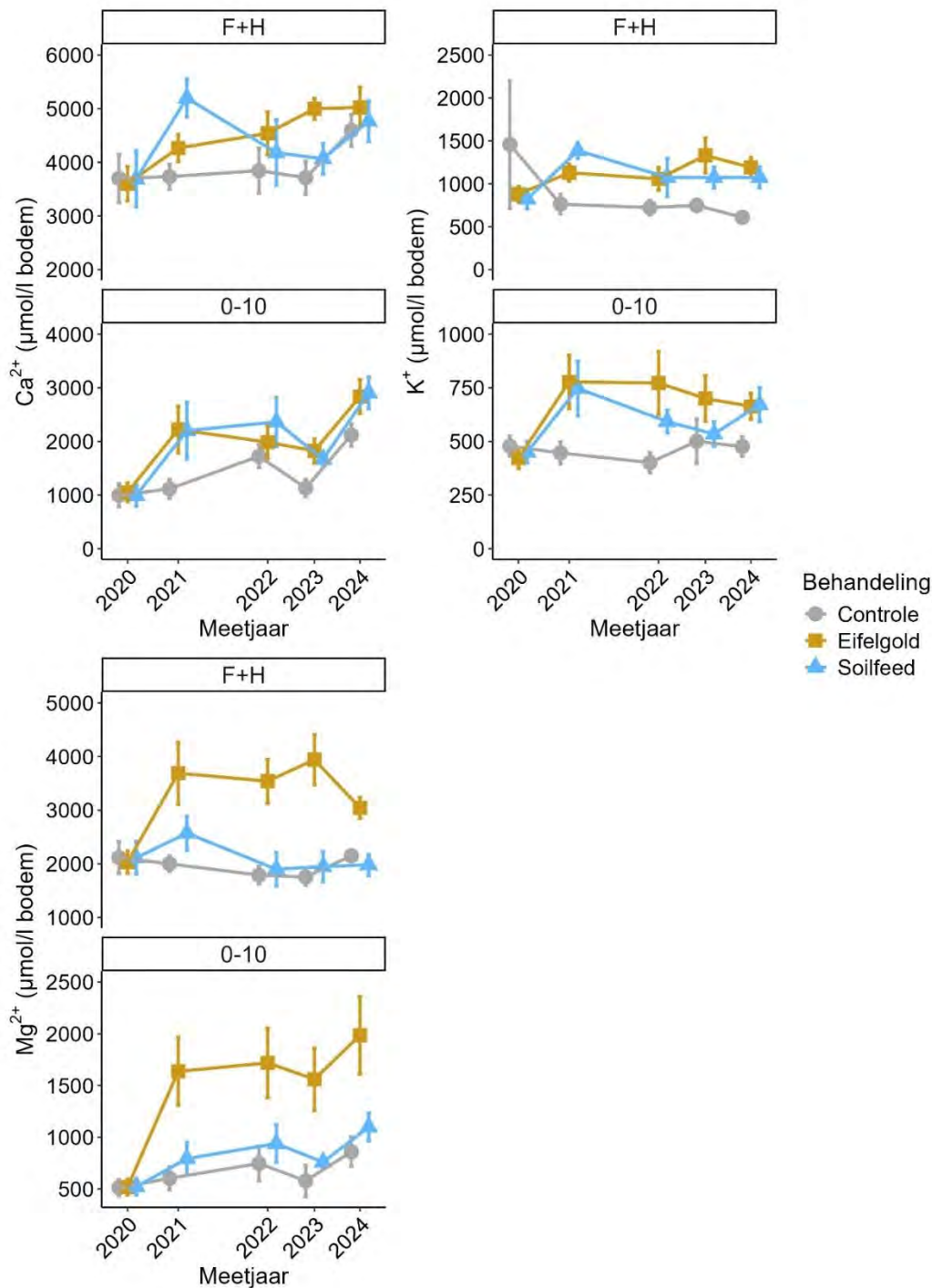
De steenmeelbehandelingen verhoogden de buffercapaciteit en de beschikbaarheid van basische kationen in de toplaag aanzienlijk, hoewel de respons op de behandelingen niet altijd consistent was in beide bodemlagen (Bijlage 1.1.2). Beide steenmeelbehandelingen verhoogden de pH en

basenverzadiging van de toplaag gedurende de vijf meetjaren (2020-2024) in beide bodemlagen (Figuur 3.1). Voor de pH-NaCl werden er geen verschillen gemeten tussen de effecten van de twee steenmeelbehandelingen in beide bodemlagen (Bijlage 1.1.2). Gemiddeld steeg de pH-NaCl met 0,5 eenheid in de FH-laag en met 0,2 eenheid in de bovenste 10 cm minerale bodem, met een waarde van 3,0 in de controleproefvlakken en 3,2 in de steenmeelbehandelde proefvlakken in de laatste bodemlaag (Figuur 3.1). De stijging van de basenverzadiging was bijna drie keer zo hoog met de toediening van Eifelgold dan van Soilfeed in de FH-laag (stijging van 16,4% versus 5,8%; Figuur 3.1). In de bovenste 10 cm minerale bodem werden geen verschillen tussen steenmeelbehandelingen gevonden. Hier nam de basenverzadiging met 8,5% toe, van gemiddeld 13,2% in de controleproefvlakken tot 21,6% in de steenmeelbehandelde proefvlakken (Figuur 3.1). De hoogste basenverzadiging werd gemeten in de Eifelgold-behandeling in 2024 met gemiddeld 24,8%, terwijl dit in de Soilfeed-behandeling 23,2% was.



Figuur 3.1 Gemiddelde en standaardfout ($n = 10$) van pH-NaCl (links) en basenverzadiging (rechts) gemeten in de FH-laag (bovenste grafieken) en de 0-10 cm minerale bodemlaag (onderste grafieken). Metingen werden uitgevoerd begin 2020 (nulmeting), begin 2021 (1^e effectjaar), eind 2022 (3^e effectjaar), eind 2023 (4^e effectjaar) en eind 2024 (5^e effectjaar) in de controleproefvlakken (grijze stippen), de proefvlakken behandeld met Eifelgold (gouden vierkanten) en de proefvlakken behandeld met Soilfeed (blauwe driehoeken). De afstand tussen meetjaar 2021 en 2022 is groter omdat de metingen begin 2021 en eind 2022 plaatsvonden.

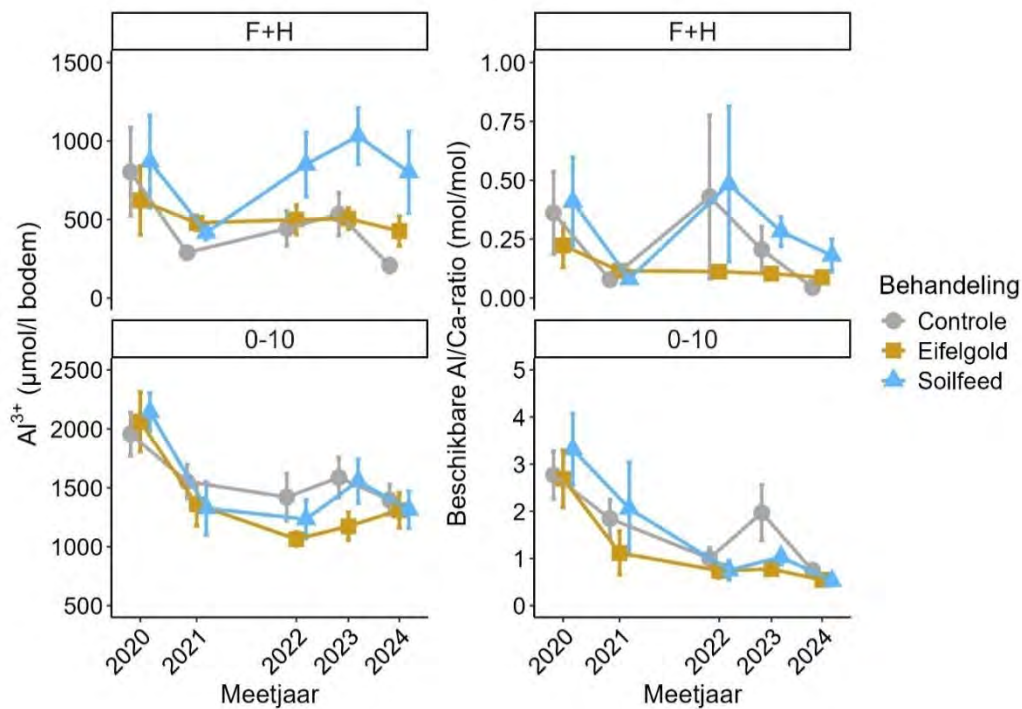
In de bovenste 10 cm minerale bodem verhoogden beide steenmeelbehandelingen de concentraties van beschikbaar Ca, K en Mg gedurende de vijf meetjaren, waarbij Eifelgold een sterkere stijging liet zien in de concentraties van beschikbaar Mg (Figuur 3.2; Bijlage 1.1.2). Deze effecten waren min of meer consistent in de FH-laag, behalve dat de steenmeelbehandelingen geen effect hadden op beschikbaar Ca en de toevoeging van Soilfeed beschikbaar Mg niet verhoogde (Bijlage 1.1.2). In de bovenste 10 cm minerale bodem waren zowel de beschikbare Ca- als K-concentraties gemiddeld 1,5x hoger in de steenmeelbehandelde proefvlakken (2251 Ca $\mu\text{mol/l}$ bodem en 682 K $\mu\text{mol/l}$ bodem) vergeleken met de controleproefvlakken (1546 Ca $\mu\text{mol/l}$ bodem en 450 K $\mu\text{mol/l}$ bodem; Figuur 3.2). De Eifelgold-behandeling verhoogde de beschikbare Mg-concentraties van 684 $\mu\text{mol/l}$ bodem naar 1725 $\mu\text{mol/l}$ bodem (2,5x hoger dan in de controleproefvlakken), terwijl de Soilfeed-behandeling deze verhoogde naar 897 $\mu\text{mol/l}$ bodem (1,3x hoger) (Figuur 3.2).



Figuur 3.2 Gemiddelde en standaardfout ($n = 10$) van beschikbaar Ca (linksboven), K (rechtsboven) en Mg (linksonder) gemeten in de bodem. Zie de legende van Figuur 3.1 voor meer details.

Er werd een toename van beschikbaar Al gemeten in de FH-laag in beide steenmeelbehandelingen; deze toename was hoger in de Soilfeed-behandeling (Figuur 3.3; Bijlage 1.1.2). Dit patroon werd niet gevonden in de bovenste 10 cm minerale bodem. In de FH-laag namen de beschikbare Al/Ca-ratio's ook toe in de Soilfeed-behandeling, van gemiddeld 0,1 mol/mol in de controleproefvlakken tot 0,3 mol/mol in de behandelde proefvlakken, als gevolg van een toename van Al en geen verandering in Ca (Figuur 3.3). Deze toename bleef echter ruim onder de kritische toxiciteitsdrempel van 1 mol/mol (Cronan & Grigal 1995). De Eifelgold-behandeling had geen effect op de beschikbare Al/Ca-ratio's in de FH-laag, maar had wel de neiging deze in de bovenste 10 cm minerale bodem te verlagen ($P = 0,071$; Bijlage

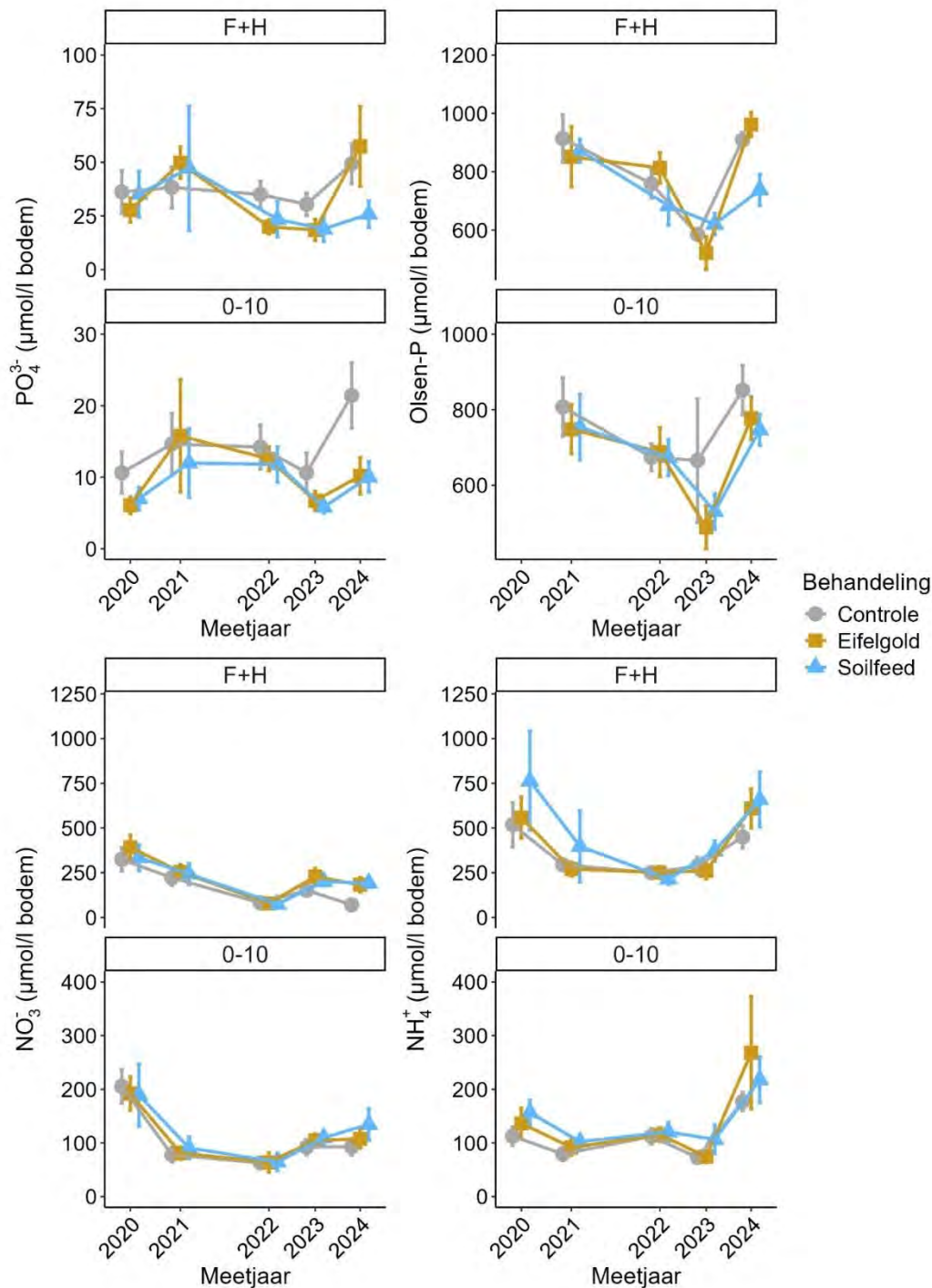
1.1.2) van gemiddeld 1,4 mol/mol in de controleproefvlakken tot 0,8 mol/mol in de behandelde proefvlakken.



Figuur 3.3 Gemiddelde en standaardfout ($n = 10$) van beschikbaar Al (links) en beschikbare Al/Ca-ratio (rechts) gemeten in de bodem. Zie de legende van Figuur 3.1 voor meer details.

Effecten steenmeelbehandelingen op voedselrijkdom

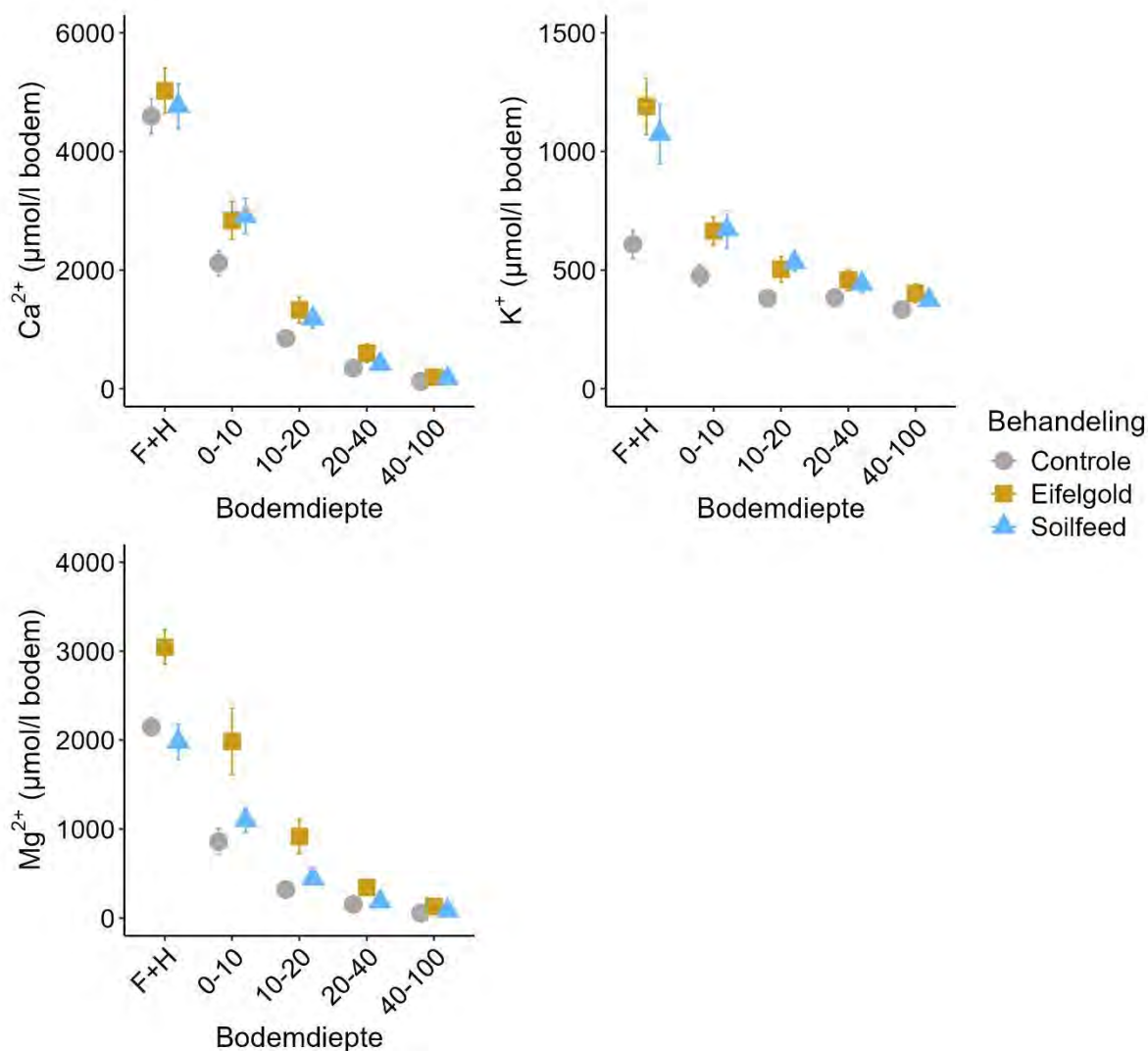
De Soilfeed-behandeling verlaagde de fosfaatconcentraties in zowel de FH-laag als de bovenste 10 cm minerale bodem; gemiddeld van 15,8 µmol/l bodem naar 9,9 µmol/l bodem in de laatstgenoemde bodemlaag (Figuur 3.4). De Eifelgold-behandeling had geen effect op de fosfaatconcentraties in beide bodemlagen, maar zorgde wel voor een lichte daling van de Olsen-P concentraties in de bovenste 10 cm minerale bodem (Figuur 3.4). Er werd geen effect van de steenmeelbehandelingen over de vier meetjaren gevonden op de NO₃- of NH₄-concentraties in de bodem, noch in de FH-laag noch in de bovenste 10 cm minerale bodem (Figuur 3.4).



Figuur 3.4 Gemiddelde en standaardfout ($n = 10$) van fosfaat (linksboven), Olsen-P (rechtsboven), nitraat (linksonder) en ammonium concentraties (rechtsonder) gemeten in de bodem. Zie de legende van Figuur 3.1 voor meer details.

Effecten steenmeelbehandelingen in diepere bodemlagen

De steenmeelbehandelingen verhoogden de concentraties van beschikbaar Ca, K en Mg ook in de diepere bodemlagen na vijf meetjaren (Figuur 3.5; Bijlage 1.1.3). Toediening van Eifelgold zorgde voor hogere beschikbare Ca-concentraties tot 40 cm diepte, hogere beschikbare K-concentraties tot 20 cm diepte en hogere beschikbare Mg-concentraties tot 100 cm diepte in 2024. Toediening van Soilfeed zorgde voor hogere beschikbare K-concentraties tot 20 cm diepte. Ook nam de basenverzadiging toe tot 40 cm diepte bij toediening van Eifelgold of Soilfeed.

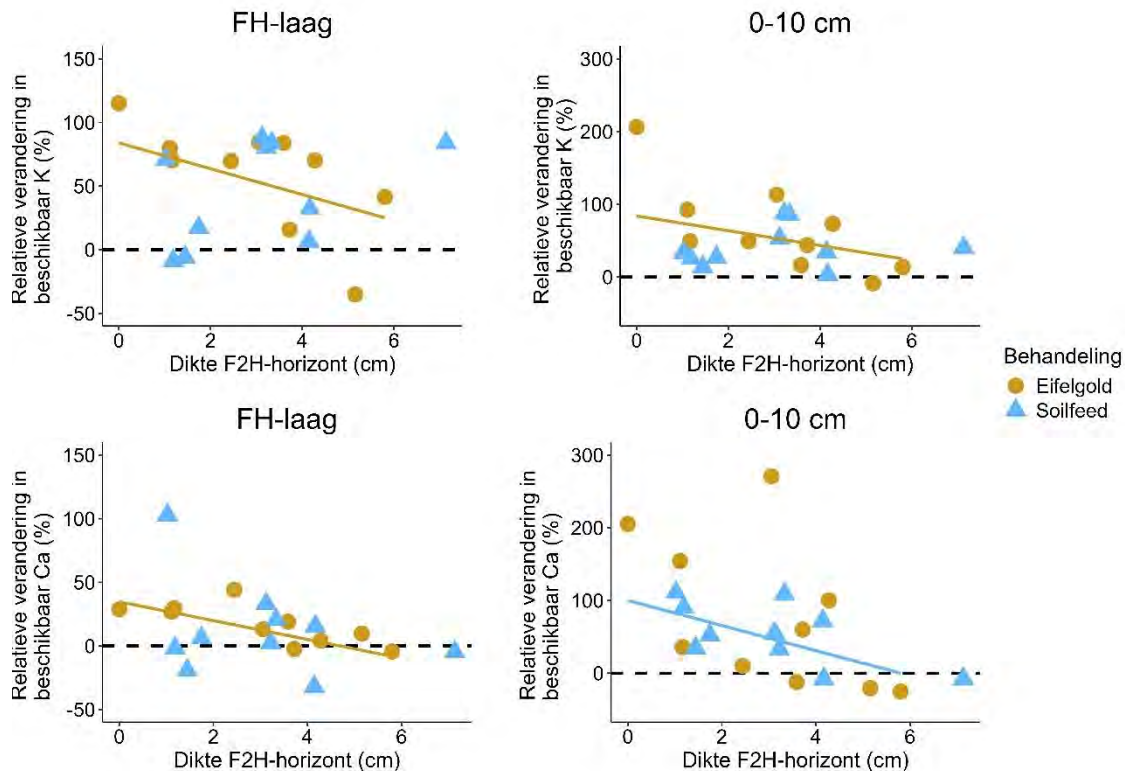


Figuur 3.5 Gemiddelde en standaardfout ($n = 10$) van beschikbaar Ca (linksboven), K (rechtsboven) en Mg (linksonder) gemeten in de bodem in het 5^e effectjaar 2024 op verschillende dieptes. Zie de legende van Figuur 3.1 voor meer details.

Relatie tussen humusprofiel en effect steenmeelbehandelingen

Van de verschillende getoetste humushorizonten bleken vooral de horizonten H en F2H bepalend voor het effect van de steenmeelbehandelingen op de beschikbaarheid van de basische kationen Ca en K (Figuur 3.6). De H-horizont is hierbij de som van de ecto-organische humushorizonten Hr + Hh + Ht, waarin strooisel grotendeels is afgebroken tot amorfe humus en >70% fijn organisch materiaal aanwezig is. De F2H-horizont omvat dezelfde humushorizonten, aangevuld met Fa2; in Fa2 is organisch materiaal slechts gedeeltelijk afgebroken en bevat het 50-70% fijn organisch materiaal. In beide gevallen geldt dat hoe dikker deze horizonten zijn, en dus hoe dikker de (deels afgebroken) strooisellaag is, hoe kleiner het positieve effect van de steenmeelbehandelingen op de beschikbaarheid van Ca en K (Figuur 3.6). Dit patroon treedt vooral op bij Eifelgold; voor Soilfeed is het effect minder duidelijk te koppelen aan de dikte van de onderzochte humushorizonten. Op basis hiervan kan voorzichtig geconcludeerd worden dat in verzuurde bossen een dikkere strooisellaag het effect van Eifelgold op Ca en K afzwakt.

Tegelijkertijd moet hierbij worden opgemerkt dat deze relaties slechts beperkte voorspellende waarde hebben. Hoewel de patronen consistent genoeg zijn om een indicatie te geven, verklaren ze niet waarom de respons op steenmeel op sommige locaties sterk is en op andere locaties vrijwel afwezig. De dikte van de humushorizonten vormt dus mogelijk één van de factoren die de respons beïnvloeden, maar niet voldoende om de variatie tussen locaties overtuigend te verklaren.



Figuur 3.6 Gemiddelde relatieve verandering in beschikbaar K (boven) en Ca (onder) door behandeling met steenmeel over de vijf jaar durende proefperiode uitgezet tegen de dikte van de F2H-horizont.

Ligging proeflocaties en effect steenmeelbehandelingen i.r.t. referentiebossen

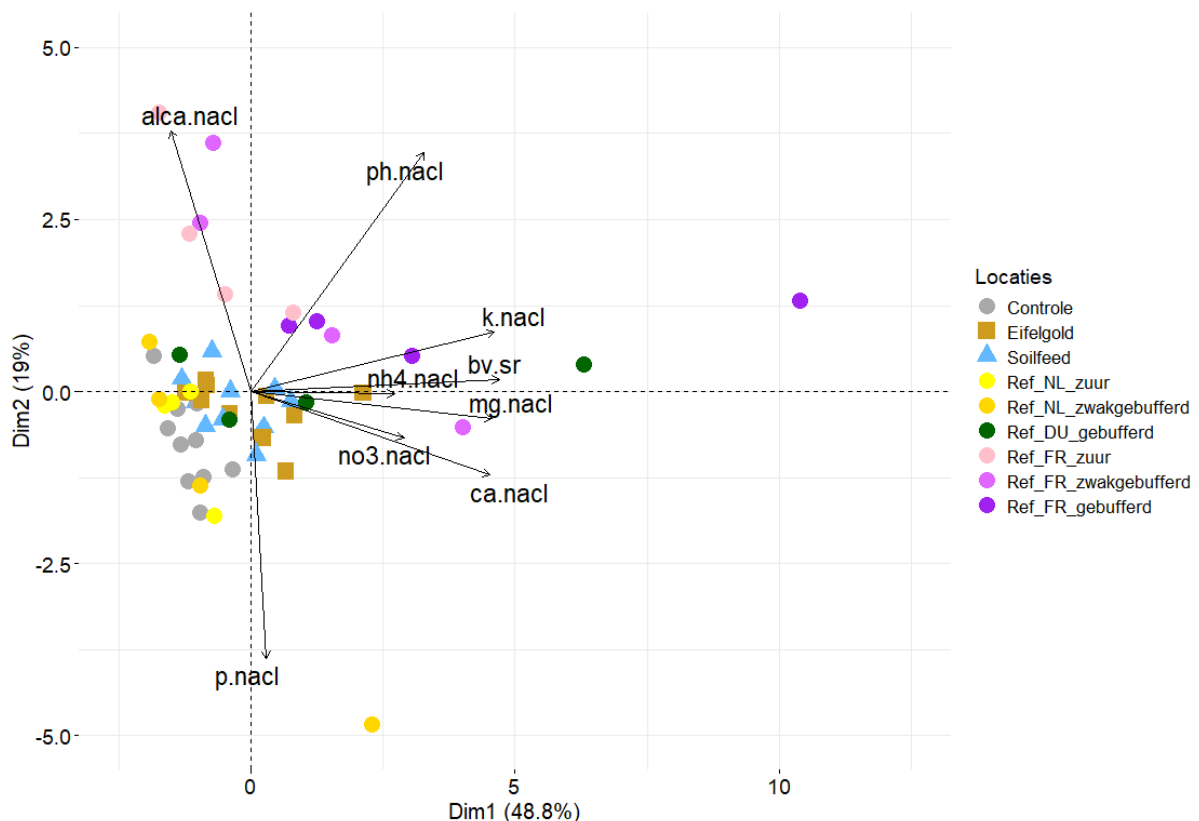
Uit de PCA (Figuur 3.7) bleek dat bijna 49% van de gegevens in de dataset van de 0-10 cm bodemlaag verklaard kon worden met parameters die correleren met de horizontale x-as en zo'n 19% met de verticale y-as. Vervolgens werd gekeken welke parameters verantwoordelijk zijn voor het verklaren van de gegevens op iedere as. De eerste as wordt voornamelijk bepaald door de basenverzadiging (19%), beschikbaar K (19%), Ca (18%) en Mg (18%). De tweede as wordt gestuurd door P-NaCl (34%), Al/Ca-ratio (32%) en pH-NaCl (27%). Kortweg kan zo'n 49% van de variatie in de dataset verklaard worden door parameters gerelateerd aan bodembuffering (eerste as), en 19% van de dataset door parameters gerelateerd aan de beschikbaarheden van P en Al (tegenover elkaar).

Figuur 3.7 laat zien hoe de proeflocaties met hun drie behandelingen (controle, Eifelgold en Soilfeed) zich verhouden tot elkaar en tot de referentiebossen (Ref_NL, Ref_DU en Ref_FR) in de multidimensionale ruimte. Datapunten die bodemchemisch sterk op elkaar lijken, liggen dichtbij elkaar; punten die sterk verschillen, liggen ver uit elkaar.

De proeflocaties bevinden zich aan de linkerkant van de grafiek, wat aangeeft dat ze over het algemeen een lage bodembuffering hebben (lage basenverzadiging en lage beschikbaarheden aan Ca, Mg en K). Wel liggen de Eifelgold- en Soilfeed-behandelingen duidelijk meer naar rechts dan de controleproefvlakken, wat aangeeft dat steenmeel zorgt voor een verschuiving naar beter gebufferde condities in deze proefvlakken.

De referentiebossen laten een breed scala aan bodemchemische condities zien. De Nederlandse referenties in Drenthe komen het meest overeen met de proeflocaties, vooral met de zure controleproefvlakken, en zijn qua buffering dus niet beter af dan de Oude Eikenbossen in dit onderzoek. De Duitse referentiebossen zijn wat beter gebufferd (waaronder één sterk gebufferde locatie helemaal rechts) en vallen qua bodemchemie samen met de steenmeelbehandelde proefvlakken. De Franse referentiebossen vormen een eigen cluster en overlappen niet met de proeflocaties of andere referenties. Zij tonen een duidelijke gradiënt: de zure locaties kenmerken zich door hogere Al/Ca-ratio's en lagere buffering, terwijl de meer gebufferde locaties rechts in de grafiek liggen.

Concluderend verbeteren de steenmeelbehandelingen de buffering van de proeflocaties en verschuiven deze richting de beter gebufferde Duitse en Franse bossen.



Figuur 3.7 PCA-analyse met de belangrijkste bodemchemische parameters van de bovenste 10 cm bodem van verschillende locaties (proeflocaties en referentiebossen). De grafiek laat zien hoe de drie behandelingen in de proeflocaties (controle, Eifelgold en Soilfeed) zich tijdens de meting in 2024 verhouden met elkaar en met de referentiesbossen in Nederland (Ref_NL), Duitsland (Ref_DU) en Frankrijk (Ref_FR).

3.3 Bladchemie (onderdeel 4.2)

Jaarlijks werden bladeren van de Zomereiken in alle 30 proefvlakken bemonsterd en in de 15 proefvlakken waar Blauwe bosbes domineerde in de ondergroei, werd ook blad van de Blauwe bosbes bemonsterd. Bladbemonstering gebeurde tussen 31 augustus en 8 september 2020 (t=0; beschouwd als verlate nulmeting 4 maanden na steenmeelbehandeling), 9-12 augustus 2021 (1,5 jaar na behandeling), 8-16 augustus 2022 (2,5 jaar), 13-15 juli 2023 (3,5 jaar) en 7-9 augustus 2024 (4,5 jaar na behandeling en laatste effectjaar). Bladbemonstering van de Blauwe bosbes gebeurde voor het eerst na 1,5 jaar (2021).

Zomereik

Er zijn tien gemarkeerde bomen per proefvlak (vijf bomen gemarkeerd met een "X" en vijf met een "Y"). Van iedere gemarkeerde Zomereik is één takdeel gezaagd dat zonlicht ontving, van deze tak zijn tien bladeren verspreid over de tak geplukt. De bladeren van de "x-bomen" en de "y-bomen" werden verzameld in aparte mengmonsters. Dit leverde per proefvlak twee mengmonsters op van 50 bladeren van de "x-bomen" en 50 van de "y-bomen". Per meetjaar werden 60 bladmonsters (twee per proefvlak) verzameld en geanalyseerd (met uitzondering van de nulmeting die bestond uit 30 bladmonsters van vijf onafhankelijke bomen per proefvlak) op het lab van B-WARE.

Blauwe bosbes

Bij aanvang van de proef werden vijf locaties geselecteerd met Blauwe bosbes in de ondergroei, namelijk Kroondomein (locatie 1), Keulerbosch (locatie 7), de twee proeflocaties op de Woeste Hoeve (locaties 9 en 10) en Heidensberg (locatie 6). Op de laatste locatie was Blauwe bosbes bij aanvang van de proef minder dominant dan op de andere vier geselecteerde locaties. In ieder proefvlak met Blauwe bosbes werden rondom de drie permanente kwadranten (PQ's) 100 volgroeide bladeren van de Blauwe bosbes verzameld. Dit leverde per proefvlak een mengmonster van ca. 300 bladeren op. Per meetjaar werden 15 bladmonsters verzameld en geanalyseerd op het lab van B-WARE.

3.3.1 Laboratorium analyses

De verzamelde bladmonsters werden door het laboratorium van Onderzoekcentrum B-WARE verwerkt waarbij de volgende analyses zijn uitgevoerd:

- Bepalen van de totale concentraties van o.a. Al, Ca, K, Mg en P en de totale concentraties van sporenelementen en zware metalen (o.a. As, Cd, Co, Cu, Hg, Mo en Pb) door middel van een HNO₃-destructie;
- C/N-analyse.
- Voor een gedetailleerde beschrijving van de analyses zie het tussenrapport Sitters et al. (2024).

3.3.2 Statistische analyses

De bladchemische parameters voldeden over het algemeen aan de aannames voor lineaire modellen na log-transformatie. Om het effect van de steenmeelbehandelingen te toetsen werden daarom Linear Mixed-effect Models (LMM's) gebruikt, met proeflocatie en effectjaar als 'random' variabelen. Wanneer niet aan de aannames werd voldaan, werden in plaats daarvan GLMM's toegepast. Paarsgewijze vergelijkingen tussen steenmeelbehandelingen (controle, Eifelgold, Soilfeed) werden opnieuw geëvalueerd met *emmeans*. In de modellen werden de bladchemische gegevens van meetjaren 2021 tot en met 2024 gebruikt, aangezien de steenmeelbehandelingen werden gestart na de bemonstering in 2020. Modellen werden apart voor Zomereik en Blauwe bosbes gerund. Volledige modelresultaten zijn weergegeven in Bijlagen 1.2.1 (Zomereik) en 1.2.2 (Blauwe bosbes).

De bladchemische data van 2020 van Zomereik (er zijn geen data van Blauwe bosbes) werden gebruikt om aanvullende modellen te draaien om te verifiëren dat de getoetste parameters niet verschilden tussen de proefvlakken vóór de behandeling met steenmeel. Voor Zomereik verschilden de Mg-concentraties in het blad en de N/Mg-ratio's in de nulmeting (Bijlage 1.2.3), met respectievelijk lagere en hogere waarden in de proefvlakken behandeld met Soilfeed. Om te corrigeren voor dit verschil in de nulmeting voordat we de effecten van de steenmeelbehandelingen toetsen, werd het verschil in Mg-concentraties in 2020 berekend tussen de controle- en Soilfeed-behandelde proefvlakken op elke proeflocatie. Deze waarden werden vervolgens opgeteld bij de Mg-concentraties die in elk volgend meetjaar in de Soilfeed-behandelde proefvlakken werden gemeten. De N/Mg-ratio's werden vervolgens opnieuw berekend met behulp van de aangepaste Mg-concentraties. Dit zorgt voor vergelijkbare uitgangswaarden voor de nulmeting over de steenmeelbehandelingen heen.

3.3.3 Resultaten Zomereik

Bladchemische toestand Oud Eikenbos

De Zomereiken in de proeflocaties hadden duidelijk een tekort aan Ca, K en P, maar niet aan Mg (Tabel 3.3). De Ca-concentraties in het blad vóór de steenmeelbehandeling varieerden van 2,1 tot 4,3 mg/g en de K-concentraties van 3,1 tot 7,0 mg/g, terwijl Ca- en K-tekorten optreden bij waarden respectievelijk <5,3 mg/g en <7,2 mg/g (Tabel 3.3; Mellert & Göttlein 2012). De P-concentraties in het blad vóór de steenmeelbehandeling varieerden van 0,8 tot 1,6 mg/g (slechts drie proefpercelen hadden concentraties >1,4 mg/g), terwijl een P-tekort optreedt bij waarden <1,4 mg/g. Er werd een Mg-tekort in slechts twee proeflocaties (Stroese Bergen I en II) gevonden tijdens de nulmeting. Hier varieerden de Mg-concentraties van 0,9 tot 1,1 mg/g, terwijl er een Mg-tekort optreedt bij waarden <1,2 mg/g. In de andere proeflocaties varieerden de Mg-concentraties in het blad van 1,2 tot 1,9 mg/g. Er werd geen overmaat aan stikstof gemeten in de Zomereiken, hoewel de N-concentraties in het blad vóór de steenmeelbehandeling aan de hoge kant van het normale bereik lagen (Tabel 3.3). Concluderend vormen de zure en eutrofe bodemomstandigheden dus een groot vitaliteitsrisico voor de Zomereiken, wat blijkt uit het tekort aan P, Ca en K in hun bladeren.

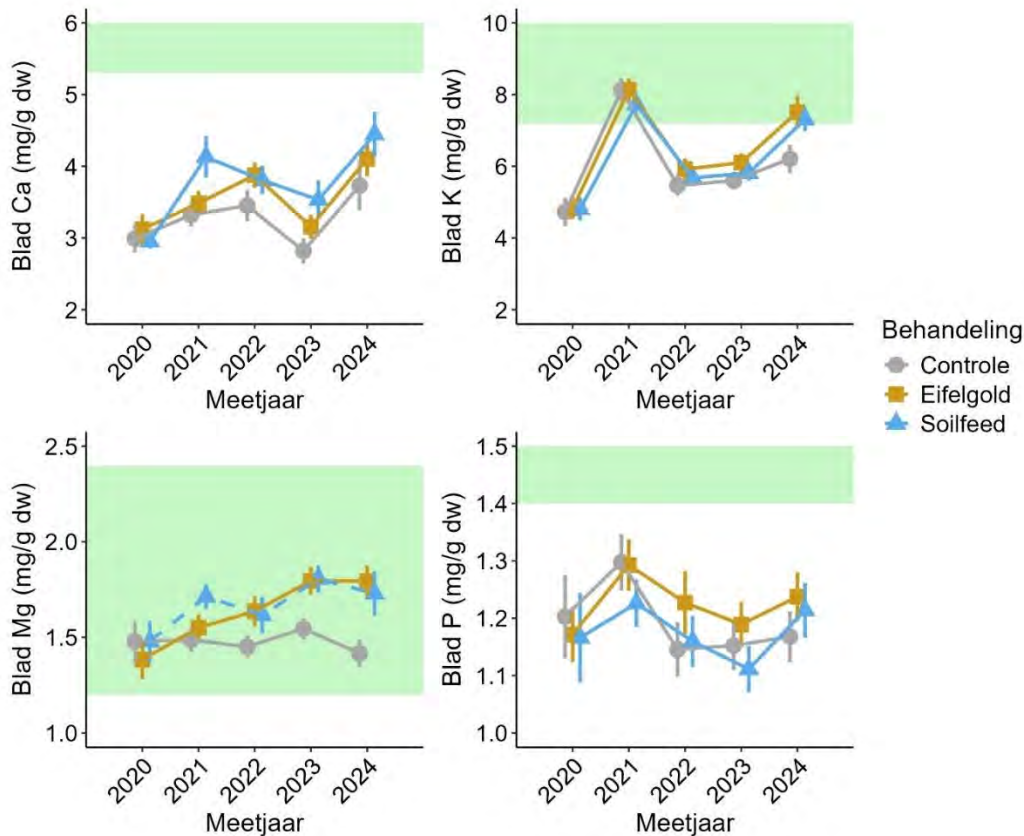
Tabel 3.3 Bladchemische gegevens van de proeflocaties in 2020 vóór de steenmeelbehandelingen. Waarden vertegenwoordigen gemiddelde \pm standaardfout gemeten in blad van Zomereiken en hun normale bereik van Mellert & Göttlein (2012) als referentie.

Bladchemische parameters	Zomereiken	Normaal bereik
	Dit onderzoek	Mellert & Göttlein 2012
N (mg/g dw)	25.3 \pm 0.3	19.8 - 26.8
Ca (mg/g dw)	3.0 \pm 0.08	5.3 - 10.2
K (mg/g dw)	4.8 \pm 0.16	7.2 - 11.4
Mg (mg/g dw)	1.4 \pm 0.06	1.2 - 2.4
P (mg/g dw)	1.2 \pm 0.04	1.4 - 2.1
N/Ca-ratio (g/g)	8.5 \pm 0.3	1.9 - 5.0
N/K-ratio (g/g)	5.4 \pm 0.2	1.7 - 3.7
N/Mg-ratio (g/g)	18.4 \pm 0.9	8.1 - 21.8
N/P-ratio (g/g)	21.8 \pm 0.6	9.3 - 19.6

Effecten steenmeelbehandelingen op bladchemische parameters

De steenmeelbehandelingen verhoogden de concentraties basische kationen in het blad van Zomereiken, waardoor de nutriëntenonbalans van deze bomen afnam (Bijlage 1.2.1). Gedurende de 4,5 effectjaren werd een toename in Ca-, K- en Mg-concentraties in het blad gemeten met toediening van Eifeldigold of Soilfeed, en een extra toename in P-concentraties in de Eifeldigold-behandelde proefvlakken (Figuur 3.8; Bijlage 1.2.1). De hoogste Ca-concentraties in het blad werden gevonden in Soilfeed-behandeling, met een gemiddelde van 4,0 mg/g, terwijl de gemiddelde concentratie in de Eifeldigold-behandeling 3,7 mg Ca/g bedroeg. Deze waren beide hoger dan de concentraties in de controleproefvlakken met een gemiddelde van 3,3 mg Ca/g, maar nog steeds duidelijk lager dan de kritische bladconcentratie van 5,3 mg/g (Mellert & Göttlein 2012), wat wijst op een aanhoudend Ca-tekort in de steenmeelbehandelde proefvlakken (Figuur 3.8). De toename van de K-concentratie in het blad was vergelijkbaar voor de Eifeldigold- en Soilfeed-behandeling (gemiddeld 6,3 mg/g in de controleproefvlakken versus 6,8 mg/g in de steenmeelbehandelde proefvlakken; Figuur 3.8), evenals de toename van de Mg-concentraties in het blad (gemiddeld 1,5 mg/g in de controleproefvlakken versus 1,7 mg/g in de steenmeelbehandelde proefvlakken; Figuur 3.8). De K-concentraties in de bladeren van de steenmeelbehandelde proefvlakken waren over het algemeen nog steeds lager dan de kritische bladconcentratie van 7,2 mg/g (hoewel ze in 2021 en 2024 wel binnen het normale bereik lagen), terwijl

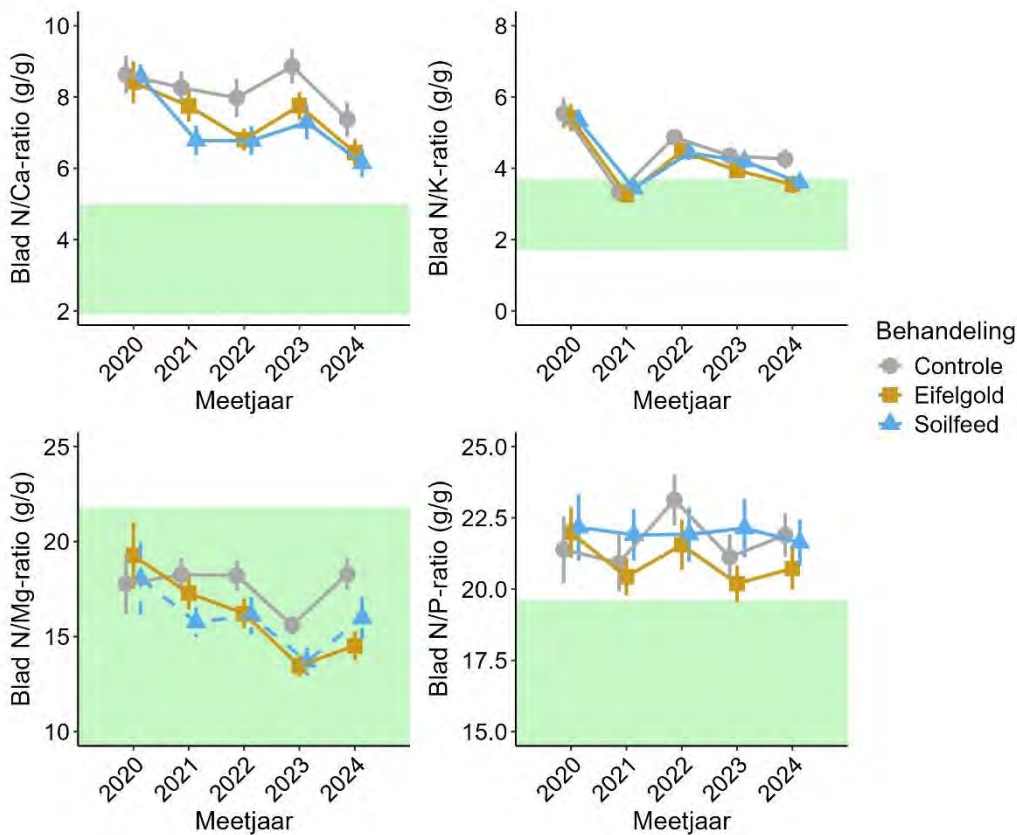
de Mg-concentraties in alle behandelingen binnen het normale bereik bleven (1,2-2,4 mg/g; Mellert & Göttlein 2012). De P-concentraties in het blad stegen licht met 0,05 mg/g in de Eifelgold-behandeling, maar bleven ruim onder de kritische bladconcentratie van 1,4 mg/g, terwijl de Soilfeed-behandeling geen effect had (Figuur 3.8; Bijlage 1.2.1). De steenmeelbehandelingen hadden geen effect op de N-concentraties in het blad van Zomereiken (Bijlagen 1.2.1 en 1.2.4).



Figuur 3.8 Gemiddelde en standaardfout ($n=20$) van calcium (linksboven), kalium (rechtsboven), magnesium (linksonder) en fosfor (rechtsonder) gemeten in het blad van Zomereiken. Metingen werden uitgevoerd in de jaren 2020 (nulmeting), 2021, 2022, 2023 en 2024 in de controleproefvlakken (grijze stippen), de proefvlakken behandeld met Eifelgold (gouden vierkanten) en de proefvlakken behandeld met Soilfeed (blauwe driehoeken). Het groene vlak geeft het normaal bereik weer gemeten in Zomer- en Winterreik door Mellert & Göttlein (2012) met Ca tussen 5,3-10,2 mg/g, K tussen 7,2-11,4 mg/g, Mg tussen 1,2-2,4 mg/g en P tussen 1,4-2,1 mg/g. Waarden onder het bereik duiden op een tekort aan dat element. Mg-concentraties in bladeren in de Soilfeed-behandeling werden gecorrigeerd voor het verschil in waarden tijdens de nulmeting.

Omdat de steenmeelbehandelingen geen invloed hadden op de N-concentratie in het blad (Bijlage 1.2.4), maar wel de Ca-, Mg- en K-concentraties in het blad verhoogden (Figuur 6), werd er een afname gemeten van de N/Ca-, N/Mg- en N/K-ratio's in het blad in de steenmeelbehandelingen (Figuur 3.9; Bijlage 1.2.1). De laagste N/Ca-ratio's werden gevonden in de Soilfeed-behandeling, met een gemiddelde van 6,7 g/g, gevolgd door de Eifelgold-behandeling, met 7,2 g/g. Beiden waren lager dan de N/Ca-ratio's in de controleproefvlakken (8,1 g/g). Er werd een afname van de N/K-ratio's gevonden van gemiddeld 4,2 g/g in de controleproefvlakken naar 3,9 g/g in zowel de Eifelgold- als Soilfeed-behandeling. Bovendien daalden de N/Mg-ratio's van gemiddeld 17,6 g/g in de controleproefvlakken naar 15,4 g/g in beide steenmeelbehandelingen. De N/P-ratio's daalden alleen in de Eifelgold-behandeling van 21,8 g/g in de controleproefvlakken naar 20,7 g/g. Er was in alle behandelingen nog

steeds sprake van een nutriëntenonbalans, behalve voor de N/Mg-ratio's. Tevens lagen de N/K-ratio's in het laatste effectjaar (2024) ook voor het eerst in het normale bereik in de steenmeelbehandelingen.

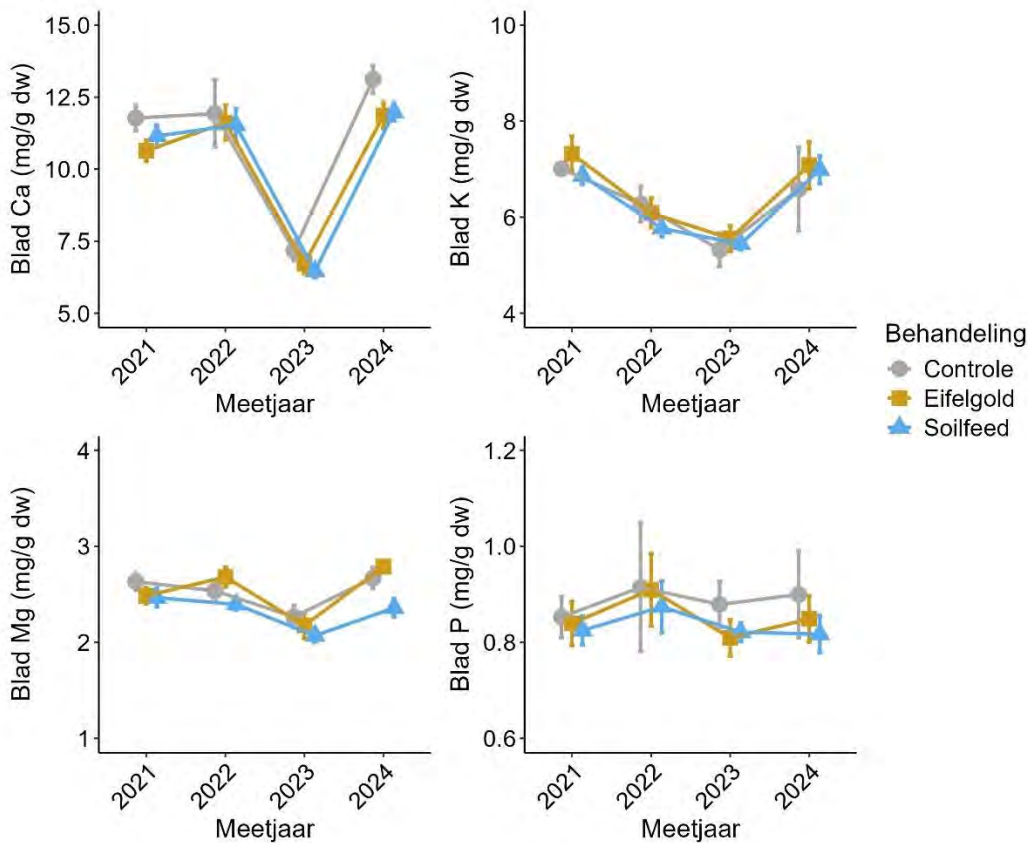


Figuur 3.9 Gemiddelde en standaardfout ($n=20$) van N/Ca- (linksboven), N/K- (rechtsboven), N/Mg- (linksonder) en N/P-ratio's (rechtsonder) gemeten in het blad van Zomereiken. Waarden boven het groene bereik duiden op een nutriëntenonbalans. Blad-N/Mg-verhoudingen in de Soilfeed-behandeling werden gecorrigeerd voor het verschil in waarden tijdens de nulmeting. Zie de legende van Figuur 3.8 voor meer details.

3.3.4 Resultaten Blauwe bosbes

Effecten steenmeelbehandelingen op bladchemische parameters

Het effect van de steenmeelbehandelingen op het blad van Blauwe bosbes was minder sterk dan op het blad van Zomereik, en als er wel een effect werd gemeten, was dit tegenovergesteld. Toediening van Eifelgold of Soilfeed zorgden namelijk voor een afname in Ca-concentraties, en toediening van Soilfeed zorgde ook voor een afname in Mg-concentraties (Figuur 3.10; Bijlage 1.2.2). De hoogste Ca-concentraties in het blad werden gevonden in de controleproefvlakken met een gemiddelde van 11,1 mg/g, terwijl de gemiddelde concentratie in de steenmeelbehandelingen 10,3 mg/g bedroeg. Er werd een gemiddelde Mg-concentratie van 2,3 mg/g gemeten in het blad in de Soilfeed-behandeling, terwijl er in de Eifelgold-behandeling en controleproefvlakken een gemiddelde van 2,5 mg/g werd gevonden. Er werden geen effecten gemeten op de K- of P-concentraties, en ook niet op de N-concentraties (Bijlage 1.2.4). De lagere Ca-concentraties in de steenmeelbehandelde proefvlakken zorgden niet voor een significante verhoging van de N/Ca-ratio's, maar de Soilfeed-behandeling zorgde wel voor een verhoging van de N/Mg-ratio's van 7,3 g/g in de controleproefvlakken naar 7,9 g/g in de Soilfeed-behandeling (Bijlage 1.2.5).



Figuur 3.10 Gemiddelde en standaardfout ($n=5$) van calcium (linksboven), kalium (rechtsboven), magnesium (linksonder) en fosfor (rechtsonder) gemeten in het blad van Blauwe bosbessen. Metingen werden uitgevoerd in de jaren 2021, 2022, 2023 en 2024 in de controleproefvlakken (grijze stippen), de proefvlakken behandeld met Eifelgold (gouden vierkanten) en de proefvlakken behandeld met Soilfeed (blauwe driehoeken).

3.3.5 Conclusies bodem- en bladchemie

De Oude Eikenbossen in de proeflocaties staan duidelijk onder druk door te zure bodemomstandigheden, zoals blijkt uit de lage pH-waarden, lage baseverzadiging en hoge beschikbare Al/Ca-ratio's. Deze omstandigheden gaan gepaard met bladtekorten aan Ca, K en P, die waarschijnlijk worden veroorzaakt door een lage beschikbaarheid of Al-toxiciteit. Dit bevestigt dat de nutriëntenstatus van de eiken is aangetast. De resultaten van het onderzoek laten zien dat het toedienen van steenmeel deze verzurende effecten gedeeltelijk kan opheffen. Binnen vijf jaar verbeterden zowel Eifelgold als Soilfeed de bodemchemische condities aanzienlijk door verhoging van de pH van de bovenste bodemlaag, de basenverzadiging en de beschikbaarheid van de belangrijkste basische kationen (Ca, K en Mg). De steenmeelbehandelingen zorgden zo voor een verschuiving in de buffering van de Oude Eikenbossen richting beter gebufferde referentiebossen. Deze veranderingen gingen gepaard met overeenkomstige verbeteringen in de bladnutriëntconcentraties van Zomereik, met name voor Ca, K en Mg, al waren deze nog onvoldoende om de kritische drempelwaarden voor Ca en (over het algemeen) K te overschrijden (Mellert & Göttlein 2012).

Deze resultaten worden in het algemeen ondersteund door eerdere studies in boreale naaldbossen (Aarnio et al. 2003; Hartmann & Keplin 2003; von Wilpert & Lukes 2003; Moilanen et al. 2005; Koňasová et al. 2012; Battles et al. 2014; Van Der Bauwhede et al. 2024b), terwijl eerdere steenmeelproeven in het Mastbos en het NP de Hoge Veluwe veel beperktere effecten laten zien (de Vries et al. 2019; Bloem et al. 2024). Hier werd, in de minerale bodemlaag, 8 jaar na toediening slechts een toename in beschikbaar Mg en basenverzadiging gemeten in de Eifelgold-behandeling en werden er geen effecten op de

basische kationen gemeten in de Soilfeed-behandeling. Ook werden er in het 8^e effectjaar nauwelijks verschillen in het blad gemeten. Dat is waarschijnlijk deels te verklaren door de aanwezigheid van wilde zwijnen in de Oude Eikenbossen proeflocaties van dit project. Deze waren vooral in 2021 erg actief in de proefvlakken en hebben door omwoeling van de bodem het steenmeel waarschijnlijk beter ingemengd en het verweringsproces versneld. Daardoor versterkte de aanwezigheid van zwijnen vooral in 2021 het effect van de steenmeelbehandelingen op de bodemchemie; dit effect werd minder in 2022 en was vaak niet meer te meten in 2023 (Sitters et al. 2024).

De steenmeelbehandelingen hadden een mitigerend effect op de verzurende effecten van voortdurende atmosferische N-depositie, maar geen sterk effect op de trofische status van de bodem (eutrofiëring). Enerzijds steeg de basenverzadiging in de bovenste 10 cm van de minerale bodem binnen vijf jaar van 13% naar 24%, wat een verschuiving betekent van een "lage" naar een "matige" status voor zandige bosbodems (Blaser et al. 2008; Wellbrock & Bolte 2019). Deze toename vormt echter slechts een gedeeltelijke herstel, aangezien een basenverzadiging van rond de 30% als optimaal wordt beschouwd voor deze eikenbossystemen (Schlutow & Huebener 2004). De beschikbare concentraties van Ca, Mg en K waren eveneens significant verhoogd in de steenmeelbehandelde proefvlakken, en K en Mg namen ook toe in diepere bodemlagen, wat wijst op verticale verplaatsing en retentie van verweerde kationen. Dit kan de opname door diepere wortels en de lange termijn buffering van de bodem ondersteunen. Anderzijds werd er geen effect van de steenmeelbehandelingen op concentraties van beschikbaar-N gevonden. Dit suggereert dat de toename in pH door de steenmeelbehandelingen niet leidde tot een versnelde mineralisatie van organische stof (zie ook hoofdstuk 3.5), wat een ongewenst neveneffect van een pH-stijging zou kunnen zijn. Hierbij wordt één van de belangrijkste nadelen van bekalking in stikstof-verzadigde boscossystemen vermeden. Tegelijkertijd tonen de resultaten aan dat toediening van steenmeel niet in staat is om de eutrofiërende effecten van voortdurende atmosferische N-depositie op bosbodems (en bomen) te verminderen. Dit onderstreept de dringende noodzaak van aanvullende maatregelen om de overmatige N-input aan te pakken, primair via emissiereductie bij de bron. Aanvullend kunnen maatregelen die gericht zijn op het verminderen van reeds opgebouwde N-voorraden in het systeem bijdragen aan het herstel van met stikstof verzadigde bodems.

De effecten van Eifelgold en Soilfeed op de bodem- en bladchemie verschilden licht en waren vooral te herleiden tot hun mineralogische samenstelling. Eifelgold bevat bijvoorbeeld veel diopsiet (ca. 50%) wat snel verweert onder zure omstandigheden en daar daardoor op korte termijn meer Mg^{2+} en Ca^{2+} vrijmaakt (Hodson 2006; Brantley & White 2009). Dit leidde tot hogere Mg-concentraties in de bodem en een sterkere toename van de basenverzadiging. Ondanks de hogere Mg-beschikbaarheid verschilden de blad-Mg-concentraties niet tussen behandelingen, wat duidt op fysiologische regulatie van Mg-opname door Zomereik (Marschner 2012). Hoewel Eifelgold meer Ca bevat, waren de blad-Ca-waarden juist hoger bij Soilfeed. Dat komt mogelijk doordat Ca uit hoornblendes en anorthiet (belangrijker bestanddelen van Soilfeed) beter wordt vrijgemaakt of opgenomen (Lucas 2001; Blum et al. 2002). Kort gezegd: Eifelgold werkt sterker op de korte termijn (vooral Mg en basenverzadiging), terwijl Soilfeed mogelijk een trager maar effectiever effect heeft op Ca-opname op langere termijn. De onderzoeksperiode van vijf jaar is echter waarschijnlijk te kort om de volledige effecten van deze langzaam werkende toevoegingen te kunnen waarnemen. De algemene verschillen tussen beide steenmeelbehandelingen waren, hoewel meetbaar, relatief bescheiden gedurende deze periode, maar kunnen na verloop van tijd sterker worden naarmate de verwerking voortschrijdt.

3.4 Verwerking steenmeel (onderdeel 4.3)

Een veel gestelde en fundamentele vraag bij steenmeeltoepassing is hoe snel de verwerking verloopt en hoe lang deze periode duurt (van Diggelen et al. 2019). Die kennis is essentieel om te kunnen inschatten wanneer het toegediende steenmeel volledig is verweerd en hoeveel basische kationen daarbij zijn vrijgekomen. Belangrijk is dat volledige verwerking niet betekent dat de werking ophoudt: de vrijgekomen

basische kationen circuleren immers nog lang in bosesystemen, zoals ook meer dan 30 jaar na bosbepaling werd aangetoond voor Ca (Bobbink et al. 2018). Wel treedt na verloop van tijd herverzuring op, afhankelijk van de atmosferische zuurlast en uitspoeling van anionen zoals nitraat. De duurzaamheid van steenmeeltoepassing hangt dus sterk samen met het terugdringen van verzurende depositie.

Het verweringsproces van silicaatmineralen is complex en afhankelijk van vele factoren en hun onderlinge interacties. Bodemvocht en pH zijn cruciaal, maar ook biologische en mechanische invloeden zoals schimmelactiviteit, bacteriën, plantenwortels, bodemfauna en de mate van verkleining spelen een rol. Daarnaast verschilt de mineraalsamenstelling en maalgrootte per type steenmeel, wat de inschatting verder bemoeilijkt. Hierdoor is het in de praktijk lastig om de verwerkingssnelheid nauwkeurig te bepalen. Hiervoor zijn geavanceerde benaderingen nodig, zoals laboratoriumstudies onder gecontroleerde omstandigheden, plaats-voor-tijd vervangingsstudies en lange termijn metingen van chemische fluxen in ecosystemen. Integratie van deze factoren in verweringsmodellen is noodzakelijk voor een betrouwbare kwantificering. Kortom, dit alles betekent dat het achterhalen van de verwerkingssnelheid van steenmeel in bossen of heiden een complexe en uitgebreide studie op zich is en daarom geen onderdeel uitmaakt van dit project.

Om toch enige grip te krijgen op de verwerkingssnelheid van de gebruikte steenmeeltypen, wordt met behulp van het VSD+-model van WUR (Mol-Dijkstra & Reinds 2017) een inschatting gemaakt van de verwerkingssnelheid op basis van bodemmetingen uit deze proef (eerste 5 jaar) en uit langer lopende steenmeelproeven (9–11 jaar; de Vries et al. 2019; Bloem et al. 2024).

Dit zijn de tussentijdse conclusies over de verwerking van steenmeel:

- Op basis van laboratoriumonderzoek en literatuur wordt aangenomen dat beide steenmeeltypen zo'n 15-50 jaar effectief zijn in het bufferen van verzurende depositie (van 30 kg N/ha/jaar) (Van Der Bauwhede 2025). Hoe lager de verzurende depositie, hoe langer het steenmeel effectief is (namelijk 50-100 jaar bij depositie van 10 kg N/ha/jaar).
- In het VSD+-model worden drie scenario's doorgerekend: 'snel', 'medium' en 'traag', waarbij de verwerkingssnelheid na de eerste 2 jaar respectievelijk gelijk blijft, 5× en 10× lager wordt. Waarschijnlijk ligt de werkelijke verwerking tussen deze scenario's in.
- Alle scenario's laten in de eerste 20 jaar een toename in bodem-pH en baseverzadiging zien. Bij de tragere scenario's is het effect langdurig, maar na het initiële effect nauwelijks nog zichtbaar (Bloem et al., in prep.).

3.5 Stikstofhuishouding bodem (onderdeel 4.4)

De concentraties van beschikbaar ammonium en nitraat gemeten in de bodem kunnen veranderen als gevolg van veranderingen in de stikstofkringloop, maar geven geen direct inzicht in de achterliggende processen in de bodem. Om hier meer inzicht in te verkrijgen is met name kwantificering van de N-mineralisatie van dood organisch materiaal van belang. N-mineralisatie omvat twee stappen: de omzetting van organisch N naar ammonium (ammonificatie), eventueel gevolgd door nitrificatie (omzetting van ammonium naar nitraat). De oxidatie van ammonium tot nitraat gebeurt in twee stappen door autotrofe bacteriën en Archaea. Nitraat is zeer mobiel en kan, naast opgenomen worden door planten of schimmels en bacteriën (immobilisatie), uitspoelen naar het ondiepe grondwater.

Een bekend verschijnsel in zowel loof- als naaldbossen die langdurig zijn blootgesteld aan N-depositie is dat de uitspoeling van nitraat sterk toeneemt bij verhoogde N-toevoer (Dise & Wright 1995; Gundersen et al. 1998). Dit betekent dat in sterk N-verzadigde bossen die leiden onder ernstige bodemverzuring nog steeds nitrificatie optreedt ondanks de zeer lage pH (Roelofs et al. 1985). Nitraatuitspoeling is een verwijdering van N uit het bos, iets wat op zich positief kan worden beoordeeld, maar kan ook het nitraatgehalte in het grond- en bronwater verhogen en zo negatieve gevolgen hebben voor andere ecosystemen. Bovendien is het ook een motor achter versnelde verzuring. Verder is het

meten van de uitspoeling een indirecte methode om de mate van nitrificatie onder invloed van steenmeel te bepalen.

Naast het feit dat nitraat zeer mobiel is, is het belangrijk te benadrukken dat uitspoeling van nitraat vrijwel altijd gepaard gaat met het verlies van basische kationen zoals Ca^{2+} , Mg^{2+} en K^+ . Dit komt doordat nitraat (NO_3^-) als sterk mobiel negatief anion, positief geladen kationen meeneemt tijdens het percoleren door de bodem. Verschillende lange termijnexperimenten laten zien dat toenemende nitraatmobiliteit onder N-verzadiging gepaard gaat met verliezen van kationen (Gundersen et al. 1998; Currie et al. 1999). Voor dit onderzoek betekent dit dat, wanneer steenmeel basische kationen aanvult, een deel hiervan kan worden uitgespoeld als het systeem N-verzadigd blijft en de nitrificatie hoog blijft. De effectiviteit van steenmeel als bufferherstelmaatregel hangt dus niet alleen af van de mate van bufferherstel, maar ook van de biochemische N-status van het systeem. Dit onderstreept nogmaals dat structurele verlagings van N-depositie essentieel blijft, omdat herstelmaatregelen zoals steenmeeltoediening slechts beperkt effectief kunnen zijn zolang verhoogde nitraatmobiliteit en daarmee gepaarde kationenverliezen blijven optreden.

Als steenmeeltoediening leidt tot een herstel van de bufferstatus naar gunstiger waarden (hogere pH en basenverzadiging) zou dat N-mineralisatie van dood organisch materiaal kunnen stimuleren – en specifiek nitrificatie – en is mogelijk versnelde uitspoeling van nitraat (en basische kationen) te verwachten. Om inzicht te krijgen in de effecten van steenmeeltoediening op de N-huishouding in de bodem is gedurende één jaar (medio 2023 tot medio 2024) in situ met mineralisatiebuisjes de ammonificatie- en nitrificatiesnelheid gekwantificeerd bij de verschillende steenmeelbehandelingen. Tevens is in dezelfde periode de concentratie van nitraat en ammonium (en andere elementen) in het poriewater onder de wortelzone gemeten. Hiermee is later de uitspoeling van nitraat, ammonium en basische kationen bepaald. Uit deze metingen moet blijken of door steenmeeltoediening de N-mineralisatie in zijn algemeenheid beïnvloed wordt (en de nitrificatiesnelheid in het bijzonder) en welk effect dit heeft op de uitspoeling van nitraat en ammonium.

3.5.1 Mineralisatie- en uitspoelingsmetingen

De opzet van de metingen staat uitgebreid beschreven in het rapport Sitters et al. (2024). Hier wordt een korte samenvatting gegeven. De metingen zijn gedaan in zes van de tien proeflocaties waarbij de locaties Keulerbosch, en Woeste Hoeve I en II gedomineerd werden door Blauwe bosbes in de ondergroei en de locaties Maanschoten, en Stroese Bergen I en II niet. Mineralisatie werd gemeten m.b.v. mineralisatiebuisjes (afdoopen van bodem in een buisje) en werd in totaal acht keer gemeten in perioden van ongeveer 50 dagen (Tabel 3.4). Poriewater onder de wortelzone werd in totaal 14 keer verzameld (Tabel 3.4) m.b.v. lysimeters (keramische cups) die werden geplaatst op een diepte van 50 cm onder de bovenkant van de minerale bodem. Lysimeters werden geplaatst op open plekken waar geen ondergroei aanwezig was (ook in de locaties waar Blauwe bosbes in de ondergroei domineerde) zodat de ondergroei een minimale invloed had op de waterfluxen. In verdere analyses werd de factor 'wel of geen bosbes' dan ook niet meegenomen. Aan de lysimeters werden vacuüm gezogen spuitjes gehangen waarin na één dag het poriewater werd verzameld. De meting tijdens het derde meetmoment (30-8-2023) mislukte (er zat erg weinig water in de spuitjes) en hier zijn dus geen bruikbare gegevens van. De bodemonsters van de mineralisatiebuisjes werden geanalyseerd op de vrij beschikbare concentraties van elementen zoals NO_3^- , NH_4^+ , Al, Ca, K Mg en P en de watermonsters van de lysimeters werden geanalyseerd op de opgeloste concentraties van dezelfde elementen en ionen.

Tabel 3.4 Meetrondes van de mineralisatie- uitspoelingsmetingen met bijbehorende data. Voor de uitspoelingsmetingen werd het poriewater de volgende dag verzameld.

Mineralisatiemetingen			
Meetronde	Datum plaatsen	Datum ophalen	# Dagen
1	18-7-2023	5-9-2023	49
2	5-9-2023	24-10-2023	49
3	24-10-2023	13-12-2023	50
4	13-12-2023	30-1-2024	48
5	30-1-2024	19-3-2024	49
6	19-3-2024	7-5-2024	49
7	7-5-2024	26-6-2024	50
8	26-6-2024	13-8-2024	48

Uitspoelingsmetingen	
Meetronde	Datum plaatsen
1	18-7-2023
2	2-8-2023
3	29-8-2023
4	13-9-2023
5	12-10-2023
6	14-11-2023
7	13-12-2023
8	30-1-2024
9	21-2-2024
10	19-3-2024
11	17-4-2024
12	7-5-2024
13	25-6-2024
14	17-7-2024

3.5.2 Gegevensverwerking en statistische analyses

Om te toetsen of N-mineralisatie (nitrificatie + ammonificatie), de nitrificatie specifiek, en de concentraties van ionen zoals nitraat en ammonium en de basische kationen Ca, K en Mg in het poriewater onder de wortelzone in de met steenmeelbehandelde proefvlakken significant anders waren ($P < 0.05$) dan in de onbehandelde controleproefvlakken werd per meetronde een 'generalized linear mixed model' (glmer) gebruikt. De formule van het model was: parameter \sim behandeling + (1 | proeflocatie). Hierbij zijn de gegevens van de zes geselecteerde proeflocaties per behandeling samengenomen ($N=6$). Voor alle statistische analyses is het programma R gebruikt (R Core Team 2023). Volledige modelresultaten zijn weergegeven in Bijlagen 1.3.2 (N-mineralisatie en nitrificatie) en 1.3.4 (NO_3^- - en NH_4^- -concentraties in bodemvocht).

De totale uitspoeling van ionen (zoals nitraat, ammonium, Ca, K en Mg) onder de wortelzone werd over een volledig jaar berekend. Hiervoor werd per meetronde de gemeten poriewaterconcentratie van het betreffende ion vermenigvuldigd met de regenval die plaatsvond tussen twee meetrondes, en vervolgens gecorrigeerd met een infiltratiefactor (ook wel drainagefactor of grondwateraanvulling genoemd) die rekening houdt met de bladbezetting van de bomen. Op deze manier werd berekend hoeveel ionen er gemiddeld per maand in de bodem terecht komt en vervolgens uitspoelt; deze maandtotalen zijn vervolgens opgeteld tot een jaarlijks cijfer (gebaseerd op 12 meetmomenten uit meetrondes 1-13, waarbij meetronde 3 ontbrak; Tabel 3.4). De infiltratiefactoren zijn gebaseerd op Everaarts-Poll (1994) en Ladekarl et al. (2015), en bedragen 0,19 voor de zomermaanden (volledig blad), 0,48 voor oktober en april, en 0,78 voor de wintermaanden (weinig blad). De regenvalgegevens (mm) zijn afkomstig van nabijgelegen KNMI-stations Deelen en Radio Kootwijk, die representatief zijn voor de

betrokken proeflocaties. Hoewel deze methode een robuuste schatting oplevert, is niet gecorrigeerd voor het bladerdek van de ondergroei, dat eveneens infiltratie beïnvloedt. Hierdoor kan de berekende totale uitspoeling enigszins overschat zijn. Bij de interpretatie van de gegevens wordt daarom ook gekeken naar uitspoelingsranges die in andere vergelijkbare bossystemen zijn gevonden, om te beoordelen of de uitspoeling binnen een ecologisch plausibel bereik ligt. Het effect van de steenmeelbehandelingen op de totale uitspoeling is getoetst m.b.v. een generalized linear mixed model zoals hierboven beschreven. Volledige modelresultaten zijn weergegeven in Bijlage 1.3.5.

3.5.3 Resultaten

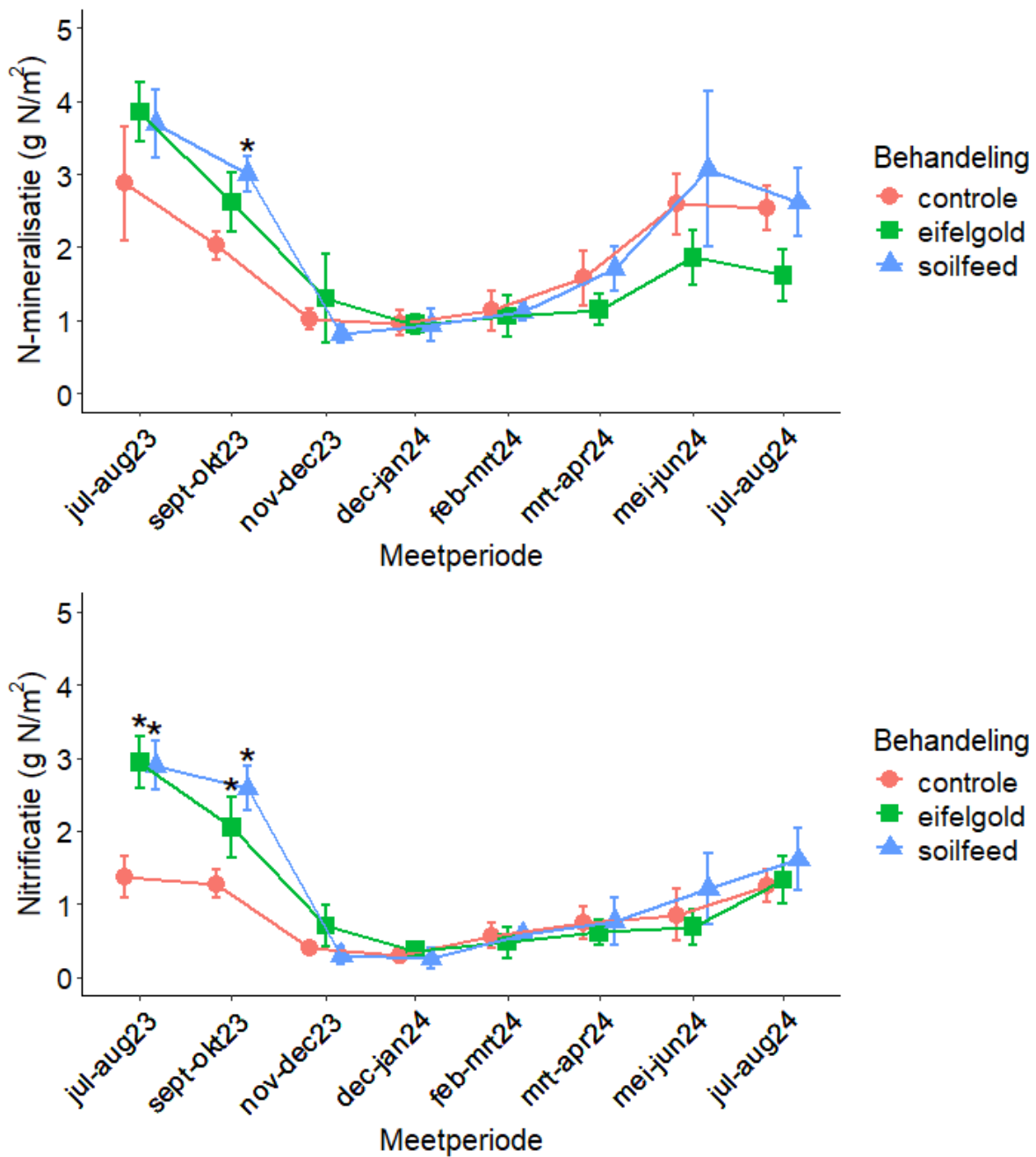
N-mineralisatie en nitrificatie

De N-mineralisatie en nitrificatie die werden gemeten in de zes onderzochte proeflocaties varieerden over het jaar met hogere snelheden in de warmere zomermaanden en lagere snelheden in de koudere wintermaanden (Figuur 3.11; voor de correlatie van N-mineralisatie en nitrificatie met temperatuur zie Bijlage 1.3.1). In de controleproefvlakken bijvoorbeeld werd een gemiddelde nitrificatiesnelheid van zo'n 1,3 g N/m² in 50 dagen gemeten in juli t/m oktober en van 0,4 g N/m² in november t/m maart.

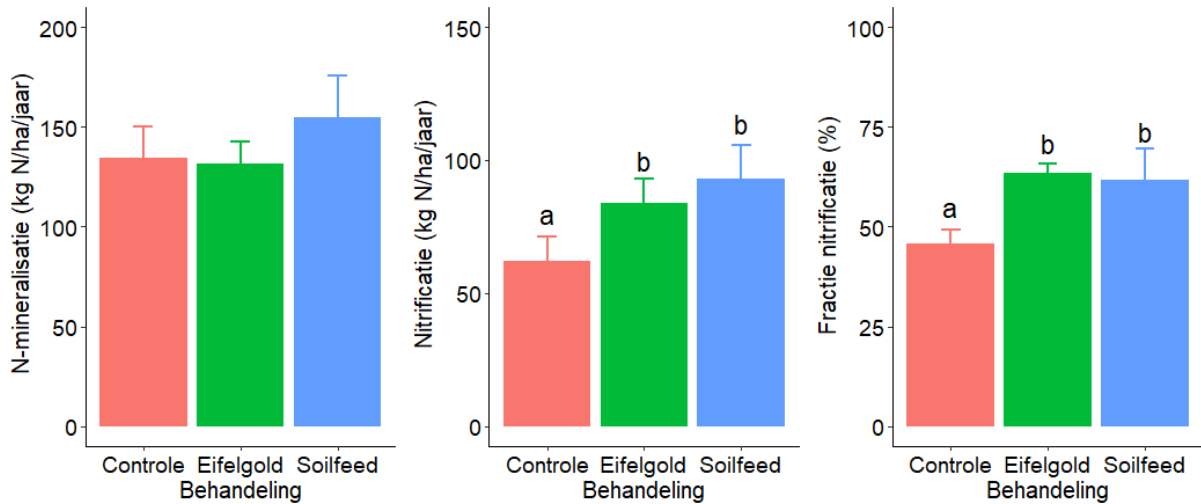
Over het algemeen hadden de steenmeelbehandelingen geen effect op de N die vrijkomt bij mineralisatie (afbraak van dood organisch materiaal); er werd alleen een hogere N-mineralisatie gemeten in de Soilfeed-behandeling tijdens het tweede meetmoment in september-oktober 2023 (Figuur 3.11). De steenmeelbehandelingen hadden ook geen effect op de totale hoeveelheid N die gemineraliseerd werd over het gemeten jaar (Figuur 3.12; Bijlage 1.3.3). Daarentegen hadden de steenmeelbehandelingen wel een effect op de nitrificatiesnelheid, vooral tijdens de warmere zomermaanden. Tijdens de eerste twee meetmomenten (juli-augustus en september-oktober 2023) werd een hogere nitrificatie gemeten in de met steenmeelbehandelde proefvlakken vergeleken met de controleproefvlakken (Figuur 3.11). In de Eifelgold-behandeling werd een gemiddelde toename gemeten van 1,6 g N/m² tijdens het eerste meetmoment en 0,8 g N/m² tijdens het tweede meetmoment en in de Soilfeed-behandeling van 1,5 en 1,3 g N/m². Tijdens de andere meetmomenten werd er geen effect van de steenmeelbehandelingen gemeten. Over het jaar dat de N-mineralisatie werd gemeten, zorgden de steenmeelbehandelingen voor een hogere totale hoeveelheid N die genitrificeerd werd (Figuur 3.12; Bijlage 1.3.3). De totale nitrificatie bedroeg gemiddeld 62 kg N/ha/jaar in de controleproefvlakken, 84 kg N/ha/jaar in de Eifelgold-behandeling en 93 kg N/ha/jaar in de Soilfeed-behandeling. Er werd geen verschil gemeten tussen de Eifelgold- en Soilfeed-behandeling. Deze resultaten geven aan dat de steenmeelbehandelingen vooral de nitrificatiesnelheid stimuleren (en niet de ammonificatie) en de fractie aan N die genitrificeerd wordt (Figuur 3.12). Deze fractie nam toe van gemiddeld 46% in de controleproefvlakken, naar 63% in de Eifelgold-behandeling en 62% in de Soilfeed-behandeling.

Er werd vrij veel variatie in N-mineralisatie en nitrificatie gemeten tussen de proeflocaties (Figuur 3.13). Zo varieerde de totale hoeveelheid N die gemineraliseerd werd in de controleproefvlakken bijvoorbeeld van 78 kg N/ha/jaar in Keulerbosch tot 165 kg N/ha/jaar in Woeste Hoeve II en de nitrificatie van 34 kg N/ha/jaar in Keulerbosch tot 92 kg N/ha/jaar in Woeste Hoeve II. Ook het effect van de steenmeelbehandelingen varieerde; in drie van de zes locaties, namelijk Keulerbosch, Maanschoten en Woeste Hoeve I, werd een positief effect van zowel Eifelgold als Soilfeed gevonden op de nitrificatie, maar in Stroese Bergen I werd alleen een positief effect van Eifelgold gevonden en in Woeste Hoeve II alleen een positief effect van Soilfeed. In Stroese Bergen II werd weinig effect van de steenmeelbehandelingen gevonden op de N-mineralisatie en op de nitrificatie. De mate van N-mineralisatie en nitrificatie kon niet direct gekoppeld worden aan de gemeten bodemchemische condities of aan de abundantie van nitrificerende microben (data uit Spoor 2) in de proeflocaties, wat

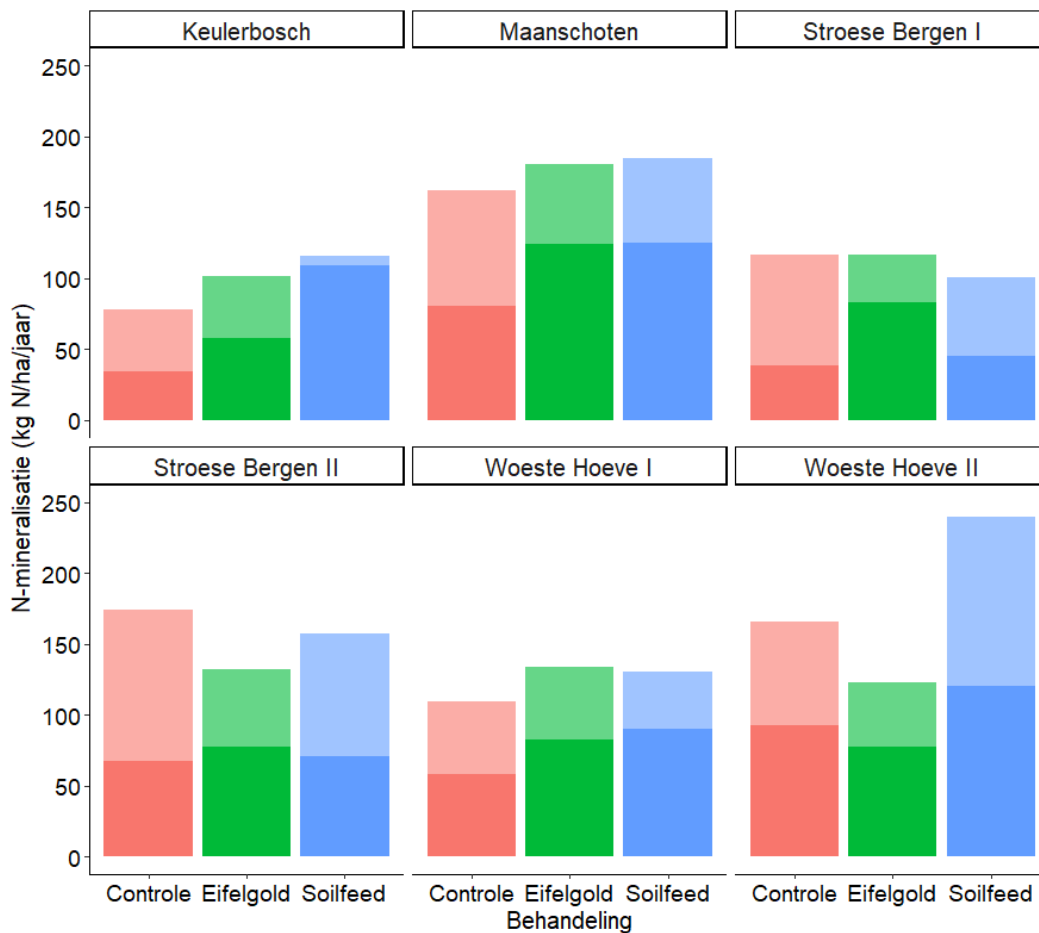
erop duidt dat de waargenomen variatie waarschijnlijk wordt beïnvloed door andere, niet-gemeten factoren.



Figuur 3.11 Gemiddelde en standaardfout (N=6) van N-mineralisatie (boven) en nitrificatie (onder) (g N/m²) na 50 dagen in de controleproefvlakken (rode stippen), de proefvlakken behandeld met Eifelgold (groene vierkanten) en de proefvlakken behandeld met Soilfeed (blauwe driehoeken). Als op een bepaald meetmoment de met steenmeel behandelde proefvlakken significant verschillen van de controle wordt dit aangegeven met een * (P<0,05).



Figuur 3.12 Gemiddelde en standaardfout van N-mineralisatie (links), nitrificatie (midden) (kg N/ha/jaar) en de fractie nitrificatie van de mineralisatie (%) in de verschillende proefvlakken. Verschillende letters geven significante verschillen ($P < 0,05$) aan tussen de behandelingen.



Figuur 3.13 N-mineralisatie (kg N/ha/jaar) in de verschillende proefvlakken per bemonsterde locatie waarbij de fractie nitrificatie in een donkerdere kleur is weergegeven (onderste deel van de staven). De staven geven de som over de meetrondes weer van één proefvlak (vandaar wordt er geen standaardfout gepresenteerd noch statistische testresultaten).

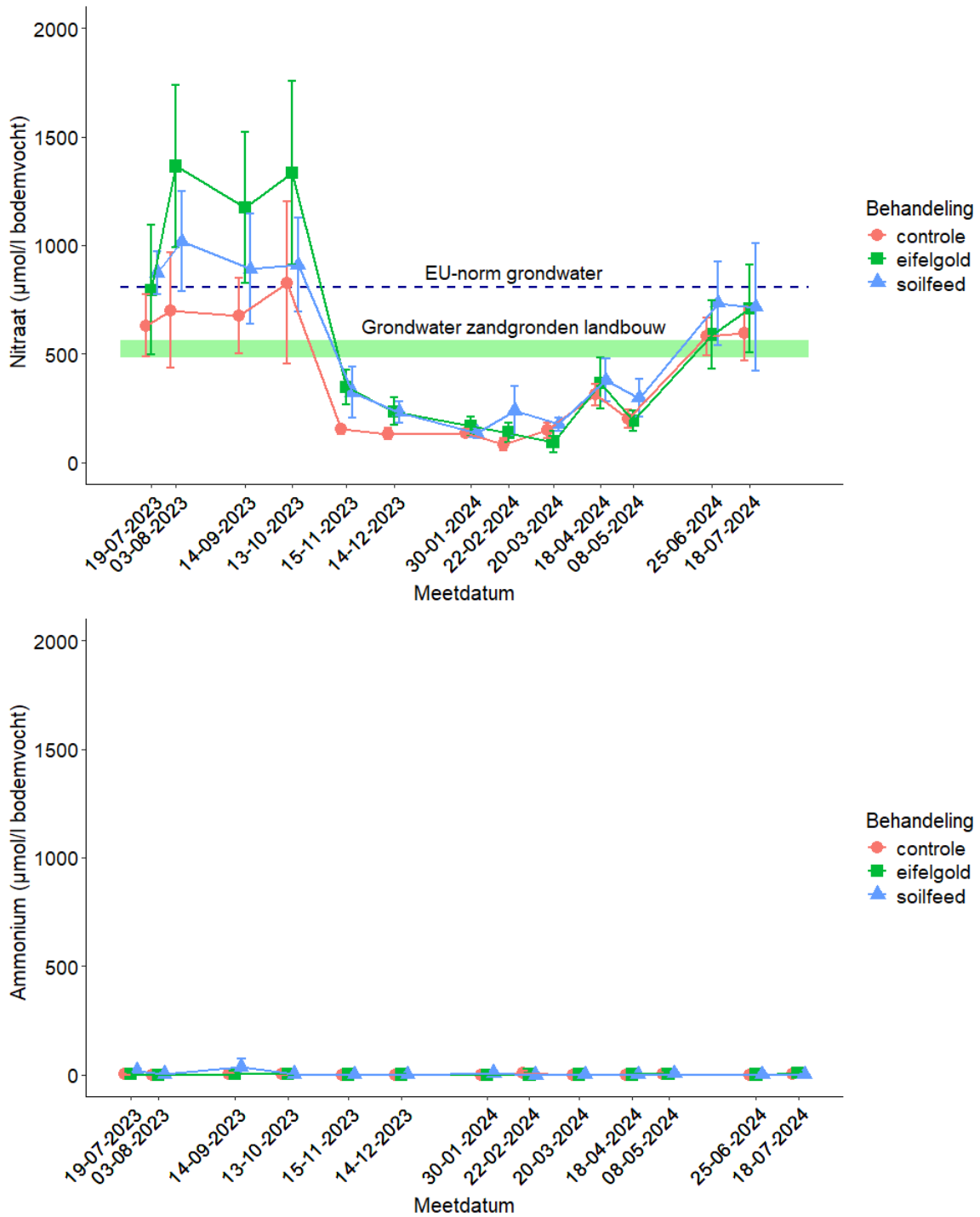
Uitspoeling van nitraat en ammonium

De concentratie nitraat in het poriewater onder de wortelzone varieerde in de zes onderzochte proeflocaties (zoals de nitrificatiesnelheid) over het jaar, met hogere concentraties in de warmere zomermaanden en lagere concentraties in de koudere wintermaanden (Figuur 3.14). De nitrificatiesnelheid en nitraatconcentraties waren sterk aan elkaar gerelateerd; hoe meer NO_3 er werd genitrificeerd, hoe meer NO_3 er uitspoelde naar het grondwater (Figuur 3.15). Over het algemeen is de nitraatconcentratie in de warmere maanden (eind juni tot begin oktober) ook erg hoog in de onderzochte boslocaties. In die maanden werd er zelfs in de controleproefvlakken een hogere NO_3 -concentratie in het bodemvocht gemeten dan er in het ondiepe grondwater (5-15 m) werd gemeten onder landbouwgrond op de zandgronden in Nederland (gemiddeld 41 mg NO_3/l tegen 30-35 mg NO_3/l ; groen vlak in Figuur 3.13; Claessens et al. 2024). In de steenmeelbehandelingen lag de gemeten NO_3 -concentratie in het bodemvocht in deze maanden zelfs boven de EU-norm voor grondwater (65 mg NO_3/l tegen 50 mg NO_3/l ; blauwe stippellijn in Figuur 3.14). Daarentegen was er extreem weinig NH_4 aanwezig in het poriewater onder de wortelzone in alle behandelingen (Figuur 3.14); er werd een gemiddelde concentratie NH_4 in het bodemvocht gemeten van 2,9 mg/l over het jaar, wat minder was dan 1% van de NO_3 -uitspoeling. Vanwege de variatie tussen proeflocaties werd er tijdens geen enkel meetmoment een significant hogere nitraat- of ammoniumconcentratie in het bodemvocht gemeten in de met steenmeelbehandelde proefvlakken vergeleken met de controleproefvlakken (Bijlage 1.3.4).

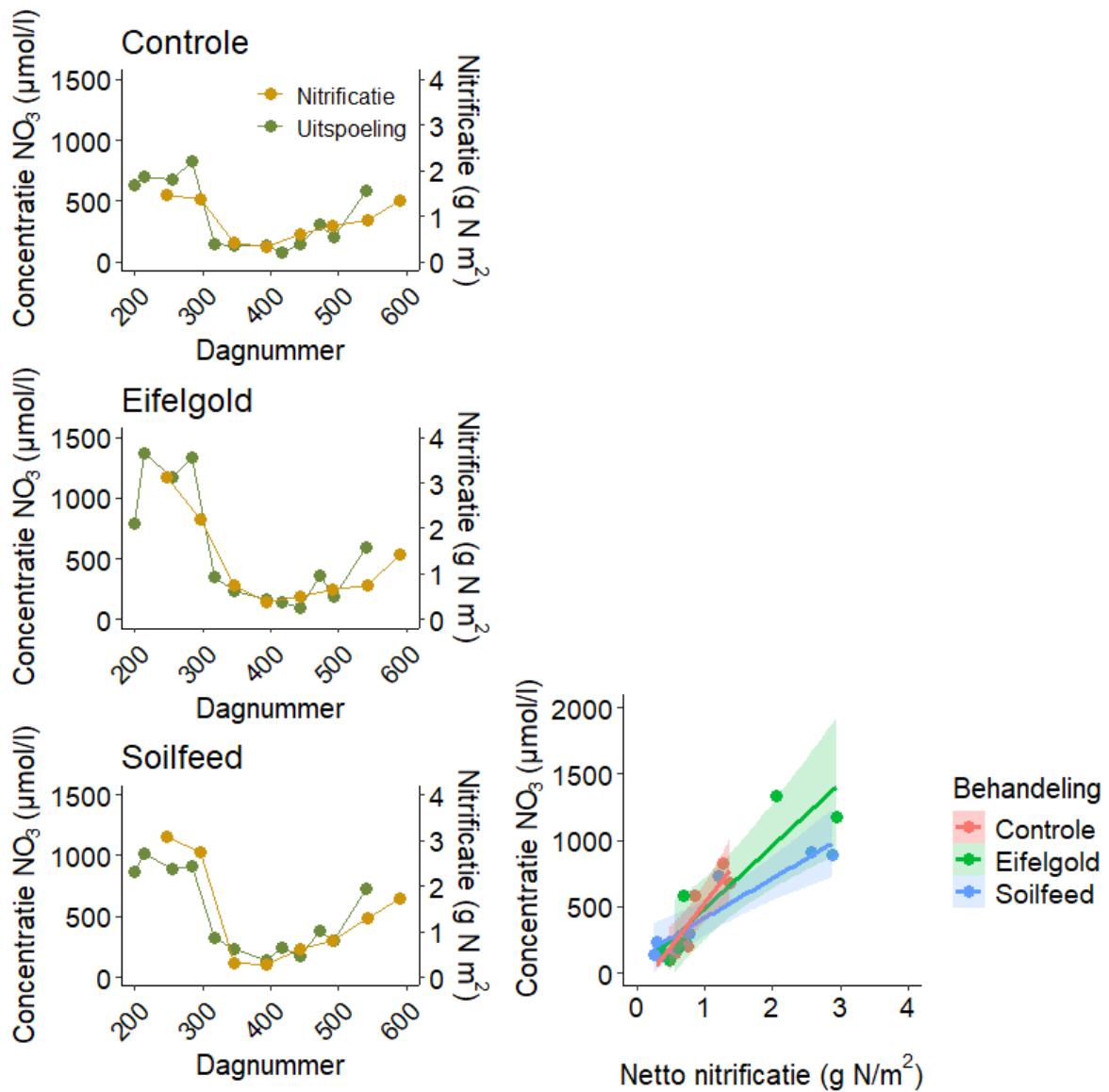
Als de totale nitraatuitspoeling over het volledige jaar werd berekend, bedroeg deze gemiddeld 24 kg N/ha/jaar in de controleproefvlakken, 36 kg N/ha/jaar in de Eifelgold-behandeling en 34 kg/ha/jaar in de Soilfeed-behandeling (Figuur 3.16). De toename in de steenmeelbehandelingen was echter niet significant (Bijlage 1.3.5); in de met Eifelgold behandelde proefvlakken was deze wel bijna significant ($P=0,09$). Ook werd er geen verschil gemeten tussen de Eifelgold- en Soilfeed-behandeling. De totale ammoniumuitspoeling was heel veel lager (gemiddeld 0,21 kg/ha/jaar in de controleproefvlakken, 0,11 kg/ha/jaar in de Eifelgold-behandeling en 0,36 kg/ha/jaar in de Soilfeed-behandeling) dan de nitraatuitspoeling. Hier werden ook geen significante verschillen tussen de behandelingen gevonden.

Uitspoeling van basische kationen

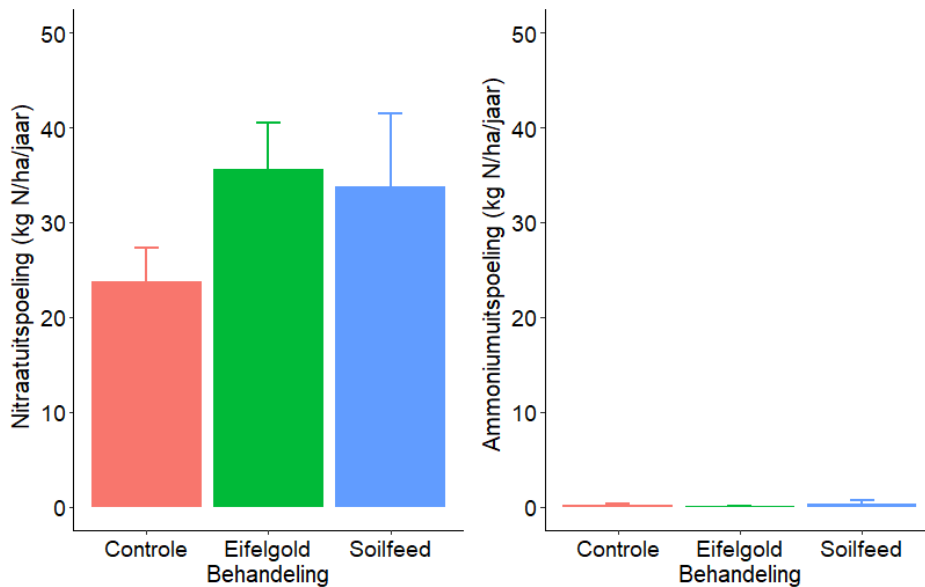
De concentraties van Ca, K en Mg in het poriewater waren sterk positief gecorreleerd aan de concentraties nitraat (Figuur 3.17), wat duidelijk aangeeft dat nitraatuitspoeling gepaard gaat met het uitspoeling van basische kationen.



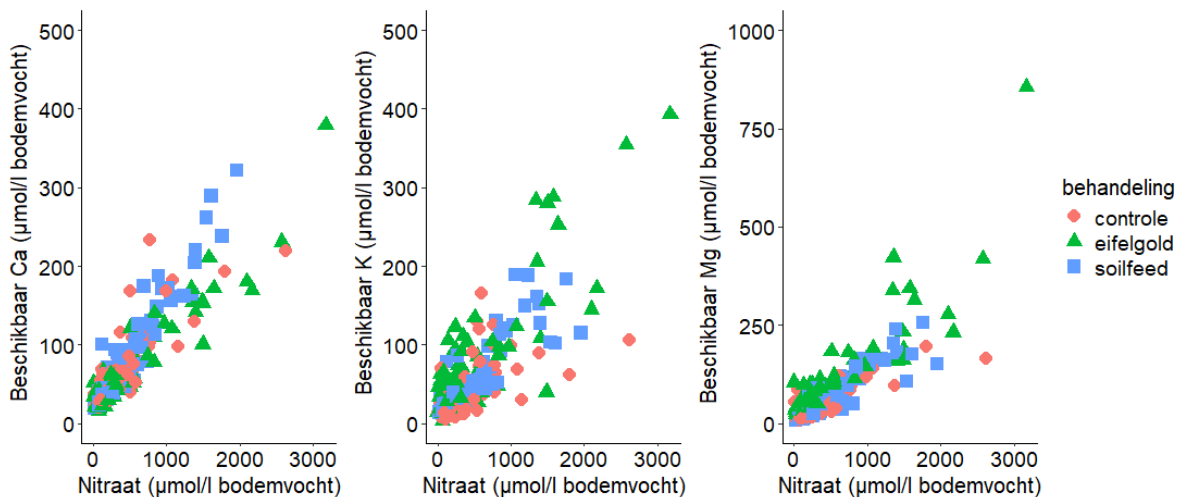
Figuur 3.14 Gemiddelde en standaardfout (N=6) van nitraat- (boven) en ammonium (onder) in het poriewater in de wortelzone ($\mu\text{mol/l}$ bodemvocht) in de controleproefvlakken (rode stippen), de proefvlakken behandeld met Eifelgold (groene vierkanten) en de proefvlakken behandeld met Soilfeed (blauwe driehoeken).



Figuur 3.15 Links: gemiddelde nitrificatie (g N/m^2 ; gele stippen) en concentratie nitraat in poriewater onder wortelzone ($\mu\text{mol/l}$ bodemvocht; groene stippen) in de controleproefvlakken (boven), de proefvlakken behandeld met Eifelgold (midden) en de proefvlakken behandeld met Soilfeed (onder). Rechts: relatie tussen de gemiddelde nitrificatie en de gemiddelde concentratie nitraat in het bodemvocht in de controleproefvlakken (rode stippen), de proefvlakken behandeld met Eifelgold (groene stippen) en de proefvlakken behandeld met Soilfeed (blauwe stippen). De regressielijnen geven een significante ($P < 0,05$) positieve relatie weer; controleproefvlakken: $P = 0,004$ en $R^2 = 0,80$, Eifelgold-behandeling: $P = 0,005$ en $R^2 = 0,79$ en Soilfeed-behandeling: $P = 0,002$ en $R^2 = 0,85$.



Figuur 3.16 Gemiddelde en standaardfout van nitraatuitspoeling (links) en ammoniumuitspoeling (rechts) (kg N/ha) over een jaar in de verschillende proefvlakken.



Figuur 3.17 Correlatie tussen concentratie nitraat gemeten in het poriewater onder de wortelzone en beschikbaar Ca (links), K (midden) en Mg (rechts) in de controleproefvlakken (rode stippen), de proefvlakken behandeld met Eifelgold (groene driehoeken) en de proefvlakken behandeld met Soilfeed (blauwe vierkanten). Correlaties tussen de concentraties nitraat waren voor alle basische kationen en behandelingen sterk significant (overall $P < 0,001$, r^2 tussen 0,82 en 0,95).

3.5.4 Conclusies stikstofhuishouding bodem

In de zes onderzochte proeflocaties werd een erg hoge nitrificatie gemeten (gemiddeld 62 kg N/ha/jaar in de controleproefvlakken) en een hoge nitraatuitspoeling naar het grondwater (gemiddeld 24 kg N/ha/jaar in de controleproefvlakken). De sterke correlatie tussen nitrificatie en nitraatuitspoeling die werd gevonden, geeft aan dat de planten en/of micro-organismen lang niet alle gemineraliseerde N opnemen en er dus een overmaat aan N in deze bossen aanwezig is. Inderdaad zijn een hoge nitrificatie en daaropvolgend een hoge nitraatuitspoeling als gevolg van een hoge N-depositie indicatoren voor N-verzadiging van boscsystemen (Dise & Wright 1995; Aber et al. 1998; Dise et al. 1998). De gemeten nitrificatiesnelheden waren hoger dan verwacht in de zure condities in deze proef maar hoge snelheden zijn ook gerapporteerd in Zweedse eikenbossen langs een gradiënt in N-depositie (Diekmann et al. 1999). Dit komt waarschijnlijk doordat de nitrificerende bacteriën in staat zijn geweest zich aan te passen

aan de zure omstandigheden. Europese bossen die een N-depositie ontvingen van boven de 25-30 kg N/ha/jaar vertoonden consequent een hoge nitraatuitspoeling, variërend tussen de 20-40 kg N/ha/jaar (Dise & Wright 1995; MacDonald et al. 2002; Gundersen et al. 2006). Bovendien lag de C/N-ratio van de organische FH-laag in de proeflocaties tussen 18 en 23 g/g, en waarden onder de 25 zijn indicatief voor N-verzadiging, vooral in gebieden met een hoge atmosferische stikstofdepositie (Vanguelova et al. 2024). Deze C/N-range komt overeen met nitraatuitspoelingswaarden van 25-40 kg N/ha/jaar die in andere Europese bossen zijn gemeten (Gundersen et al. 1998). De uitspoelingsranges die in vergelijkbare Europese bossystemen worden gerapporteerd, tonen aan dat de berekende uitspoeling in de proeflocaties binnen een ecologisch plausibel bereik valt. In de proeflocaties werd een nitraatuitspoeling van zo'n 24 kg N/ha/jaar gemeten in de controleproefvlakken wat ongeveer gelijk is aan wat er binnenkomt via N-depositie op de Veluwe in Oude Eikenbossen (in 2020 tussen de 20-29 kg N/ha/jaar volgens AERIUS). Dit betekent dus dat het systeem compleet N-verzadigd is: wat er binnenkomt, loopt er ook weer uit. In de Eifelgold- en Soilfeed-behandelingen spoelt er vervolgens zo'n 10-12 kg N/ha meer uit per jaar vanwege een verhoging in de nitrificatiesnelheid. Dat is aan de ene kant goed nieuws voor het bos – dit is namelijk de enige manier om van N af te komen naast denitrificatie – maar aan de andere kant slecht nieuws voor het grondwater waar de NO₃-concentraties in bepaalde maanden boven de drinkwaternorm uitstijgen.

Hoewel de verhoogde nitraatuitspoeling ook leidt tot extra uitspoeling van Ca, Mg en K, laten de NaCl-extracties tot 40 cm diepte zien dat steenmeel duidelijk ook de beschikbaarheid en basenverzadiging in diepere bodemlagen verhoogt (Figuur 3.5). Dit wijst erop dat steenmeel niet alleen kationen mobiliseert, maar ook bijdraagt aan accumulatie en (tijdelijke) vastlegging van kationen in diepere bodemlagen.

Dit is de eerste steenmeelproef in bossen die duidelijk laat zien dat toediening van steenmeel de nitrificatie en nitraatuitspoeling verhoogd. Metingen in de steenmeelproeven in Mastbos en het NP de Hoge Veluwe lieten namelijk geen eenduidig beeld zien; er werd geen effect van steenmeel op de ammonia-oxiderende (nitrificatie) activiteit gemeten, maar wel een verlaging op de percentages NH₄ van de gemineraliseerde N, wat wel wijst op een hogere nitrificatie (de Vries et al. 2019).

3.6 Vastlegging P (onderdeel 4.5)

Uit eerder onderzoek naar de effecten van bekalking in heide en bossen bleek dat er negatieve effecten kunnen optreden voor onder- en bovengrondse fauna met name bij hoge kalkgiften (Vogels et al. 2017; Siepel et al. 2019). Als het achterliggende mechanisme werd het vastleggen van fosfaat (P) door Al en/of Ca-verbindingen geopperd, waardoor de beschikbaarheid van P vermindert. Dit komt doordat bij een verhoging van de pH door bekalking, Al³⁺ gemakkelijker kan reageren met fosfaat en zo moeilijk oplosbare verbindingen vormt. Daarnaast kan het extra Ca²⁺ leiden tot vorming van stabiele calcium-fosfaatmineralen, die eveneens slecht oplosbaar zijn. In beide gevallen wordt fosfaat als het ware 'vastgelegd' in de bodem en is daardoor minder goed beschikbaar voor planten en bodemorganismen (Haynes 1982).

Er is in de proeflocaties op de Veluwe een duidelijk tekort aan P gemeten in het blad van de Zomereiken, zowel in de controleproefvlakken als in de vlakken behandeld met Soilfeed of Eifelgold (Figuur 3.10). Het verder verlagen van de P-beschikbaarheid in de bodem door het toedienen van bufferstoffen zou dan ook ongewenst zijn, zowel voor de bodemfauna als voor de Zomereik zelf. Uit de bodemchemische metingen kwam naar voren dat de Soilfeed-behandeling de fosfaatconcentraties in zowel de FH-laag als de bovenste 10 cm minerale bodem significant verlaagde (Figuur 3.4). Echter verergerden de steenmeelbehandelingen het tekort aan P in het blad van de bomen niet; de Eifelgold-behandeling zorgde zelfs voor een lichte toename in blad P-concentraties (Figuur 3.10). Om te achterhalen of er een vastlegging van P door Al of Ca optreedt bij toedienen van steenmeel werd er een P-fractionering uitgevoerd aan een deel van de bodemmonsters die eind 2024 (5^e effectjaar) verzameld zijn.

3.6.1 Methode P-fractionering

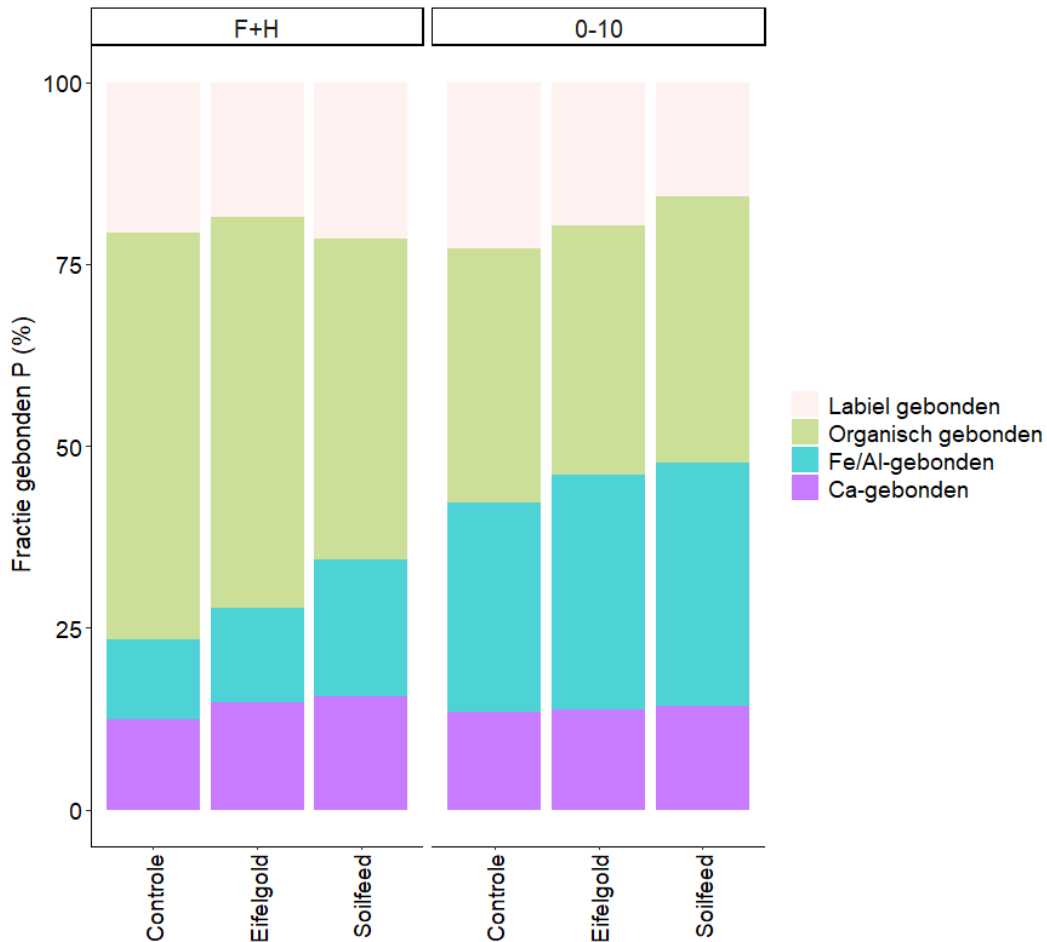
De P-fractionering werd uitgevoerd op de bodemonsters van zes van de tien proeflocaties (Maanschoten, Stroese Bergen I en II, Keulerbosch, en Woeste Hoeve I en II) waar ook de mineralisatie- en uitspoelingsmetingen gedaan zijn. Hierbij werden 18 monsters van de 0-10 cm minerale bodemlaag geanalyseerd (alle drie de proefvlakken per proeflocatie) en 10 monsters van de FH-laag aangezien in sommige proefvlakken de FH-laag afwezig was (n=4 voor controle, n=3 voor Eifelgold en Soilfeed). Met een sequentiële P-fractionering (naar Golterman 1996) werd bepaald aan welke bodemfractie het P gebonden is. De P-fracties die hiermee bepaald werden zijn de fracties Fe/Al-gebonden, Ca-gebonden, organisch gebonden en labiel gebonden P.

3.6.2 Statistische analyses

Statistische modellen werden apart voor de FH-laag en de 0-10 cm minerale bodemlaag gerund. Om te toetsen of de steenmeelbehandelingen een significant effect hadden ($P < 0,05$) op de verschillende P-fracties werden Linear Mixed-effect Models (LMM's) gebruikt voor de bovenste 10 cm minerale bodem, met proeflocatie als 'random' variabele. Voor de FH-laag werden Linear Models (LM's) gebruikt, want hier kon proeflocatie niet meedoen als random variabele omdat er geen data was van alle drie de proefvlakken per proeflocatie. Paarsgewijze vergelijkingen tussen steenmeelbehandelingen (controle, Eifelgold, Soilfeed) werden geëvalueerd met *emmeans*. Volledige modelresultaten zijn weergegeven in Bijlage 1.4.

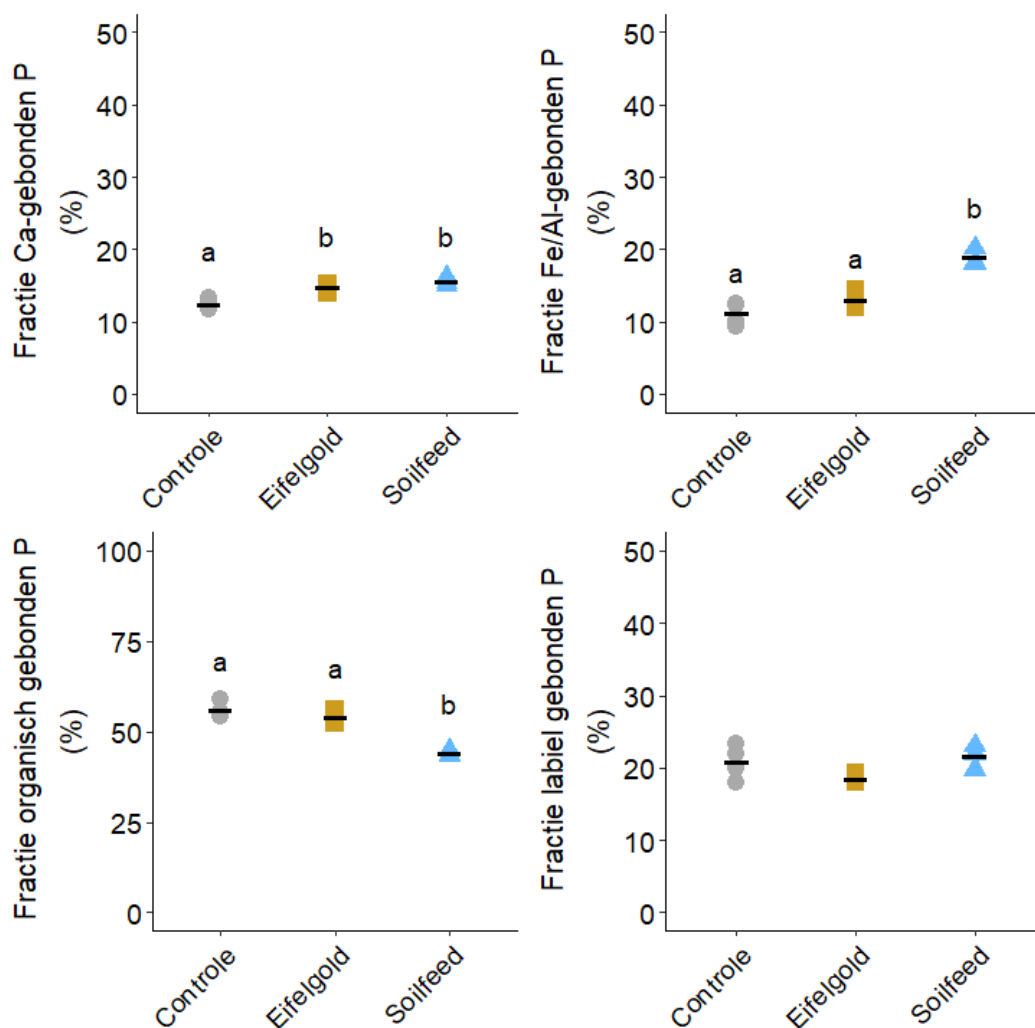
3.6.3 Resultaten

In de FH-laag werd een twee keer zo hoge totaal-P concentratie gemeten (12,8 $\mu\text{mol/g}$) dan in de bovenste 10 cm minerale bodem (6,1 $\mu\text{mol/g}$). Ook verschilde de grootte van de P-fracties tussen de FH-laag en de bovenste 10 cm minerale bodem. In de FH-laag was het grootste aandeel aan P organisch gebonden (ruim 50%) terwijl in de bovenste 10 cm bodem dit slechts 35% was (Figuur 3.18). In de minerale laag was de Fe/Al-gebonden fractie ongeveer even groot als de organisch gebonden fractie (ca. 32%) terwijl deze slechts 14% bedroeg in de FH-laag. Dit is logisch omdat de FH-laag voornamelijk uit (nog onafgebroken of deels afgebroken) organisch materiaal (strooisel) bestaat waar veel P in opgeslagen zit, terwijl de bodemlaag daaronder voornamelijk bestaat uit silicaatmineralen die Fe en/of Al bevatten. De Ca-gebonden en labiel gebonden fracties waren in beide bodemlagen min of meer gelijk, respectievelijk 14 en 20%.



Figuur 3.18 Verdeling van de P-fracties (%) in de FH-laag (links) en bovenste 10 cm minerale bodemlaag (rechts) in de controleproefvlakken en de Eifelgold- en Soilfeed-behandelde proefvlakken.

Effecten van de steenmeelbehandelingen op de verschillende P-fracties werden alleen gevonden in de FH-laag en niet in de 0-10 cm minerale bodemlaag, en vooral de toediening van Soilfeed had een effect (Bijlage 1.4). In de Soilfeed-behandelde proefvlakken werd in de FH-laag een afname van 12% in de organisch gebonden fractie gemeten vergeleken met de controleproefvlakken (van 7,3 naar 4,3 $\mu\text{mol/g}$), terwijl de Fe/Al-gebonden fractie met 8% toenam (van 1,4 naar 1,8 $\mu\text{mol/g}$) en de Ca-gebonden fractie met 3% (van 1,6 naar 1,5 $\mu\text{mol/g}$) (Figuur 3.19). In de Eifelgold-behandelde proefvlakken werd alleen een toename van 2% in de Ca-gebonden fractie gevonden in de FH-laag (van 1,6 naar 2,3 $\mu\text{mol/g}$). Er treedt dus inderdaad vastlegging van P door Al/Fe en Ca op bij toedienen van steenmeel, maar dit effect is beperkt tot de FH-laag en afhankelijk van het type steenmeel.



Figuur 3.19 Grootte van de verschillende P-fracties gemeten in de FH-laag in de controleproefvlakken (n=4) en Eifelgold- (n=3) en Soilfeed-behandelde (n=3) proefvlakken. De gemiddelde waarden per behandeling worden aangegeven met een horizontale zwarte lijn. Als de behandelingen significant van elkaar verschillen ($P < 0,05$) wordt dit aangegeven met een andere letter. Er werden geen verschillen in de fracties label gebonden P gevonden tussen de steenmeelbehandelingen.

3.7 Sporenelementen/zware metalen (onderdeel 4.6)

Met het toedienen van steenmeel worden naast Ca, K, Mg en P ook andere elementen opgebracht, waaronder sporenelementen. Sporenelementen zijn elementen die in (zeer) lage concentraties nodig zijn voor de groei van organismen (bijv. planten), en kunnen ook (zware) metalen zijn. De term zware metalen verwijst doorgaans naar elementen met een dichtheid groter dan $5,0 \text{ g/cm}^3$ en omvat metalen en metalloïden die worden geassocieerd met vervuiling en toxiciteit, maar soms zijn het ook sporenelementen die in lage concentraties noodzakelijk zijn voor organismen (zoals koper en zink). In dit hoofdstuk wordt de term sporenelementen gebruikt voor alle onderzochte elementen. Ecotoxicologische effecten van sporenelementen treden op wanneer ze zich in een biologisch beschikbare vorm bevinden. In dit onderzoek werden totaal concentraties aan sporenelementen in de bodem verkregen via een HNO_3 -destructie; dit omvat ook de fractie die niet biologisch beschikbaar is. Daarom zijn conclusies op basis van deze dataset beperkt als het gaat om uitspraken over effecten op bodemleven of planten. Echter, aanvullend op de bodemanalyses zijn ook sporenelementen in het blad van Zomereik en Blauwe bosbes geanalyseerd. Hierdoor kan er wel iets gezegd worden over de opname

door planten en mogelijke toxische waarden in het blad. Dit biedt inzicht in de biologische beschikbaarheid van sporenelementen en mogelijke effecten op vegetatie.

In de gebruikte steenmeeltypen Eifelgold en Soilfeed zijn de hoeveelheden van de belangrijkste sporenelementen over het algemeen laag. Ze liggen onder de opgestelde grenswaarden voor 'liming material' van de EU-verordening 'EU Fertilising Products Regulation (EU) 2019/1009' (Tabel 3.5). Om te achterhalen of er toch een verhoging van sporenelementen optreedt bij toedienen van steenmeel – en of deze verhoging een kritische grenswaarde voor toxiciteit passeert – werden totaal concentraties van de sporenelementen uit Tabel 3.5 gemeten in de bodem- en bladmonsters van meetjaren 2021 t/m 2024 (zie 3.2.2 voor uitleg lab analyses).

Tabel 3.5 Overzicht van de totaal concentraties van de belangrijkste sporenelementen en (zware) metalen in de steenmeeltypen Eifelgold en Soilfeed. Concentraties zijn gemeten aan de hand van een HNO_3 -destructie. Grenswaarden komen uit de EU-verordening 'EU Fertilising Products Regulation (EU) 2019/1009' (<https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2019/1009/oj/eng>) voor 'liming material'.

Element	Type	Eifelgold	Soilfeed	Grenswaarde
		(mg/kg droge stof)		
Co (kobalt)	Sporenelement	21	9	
B (boor)	Sporenelement	81	59	
Fe (ijzer)	Sporenelement/metaal	11192	14668	
Mn (mangaan)	Sporenelement/metaal	255	428	
Zn (zink)	Sporenelement/metaal	22	22	800
Cu (koper)	Sporenelement/metaal	5	26	300
Mo (molybdeen)	Sporenelement/metaal	0,03	0,6	
Ni (nikkel)	Sporenelement/zwaar metaal	22	54	90
Cr (chromium)	Sporenelement/zwaar metaal	49	41	
As (arseen)	Zwaar metaal	0,0	1,0	40
Hg (kwik)	Zwaar metaal	0,0	0,0	1
Cd (cadmium)	Zwaar metaal	0,0	0,0	2
Pb (lood)	Zwaar metaal	24	29	120

3.7.1 Statistische analyses

Er werden Generalized Linear Mixed-effect Models (GLMM's) gebruikt om de effecten van bodemdiepte, steenmeelbehandeling en hun interactie op de totaal concentraties van de sporenelementen over de vijf effectjaren te toetsen, met proeflocatie en effectjaar als 'random' variabelen. De modellen gebruikten een gammaverdeling met log-linkfunctie. Om de effecten van de steenmeelbehandeling binnen elke bodemdiepte te evalueren, werd het *emmeans*-pakket gebruikt om geschatte marginale gemiddelden te extraheren en paarsgewijze vergelijkingen uit te voeren tussen de drie steenmeelbehandelingen (controle, Eifelgold, Soilfeed) op elke bodemdiepte. In de bodemdataset lag totaal kwik (Hg) over het algemeen onder de detectielimiet, waardoor er onvoldoende gegevens waren om dit element te analyseren. Volledige modelresultaten zijn weergegeven in Bijlage 1.5.1.

Om het effect van de steenmeelbehandelingen te toetsen op de totaal concentraties van sporenelementen in de bladeren van Zomereik en Blauwe bosbes werden ook GLMM's gebruikt, met proeflocatie en effectjaar als 'random' variabelen. Paarsgewijze vergelijkingen tussen steenmeelbehandelingen (controle, Eifelgold, Soilfeed) werden opnieuw geëvalueerd met *emmeans*. Volledige modelresultaten zijn weergegeven in Bijlagen 1.5.2 (Zomereik) en 1.5.3 (Blauwe bosbes).

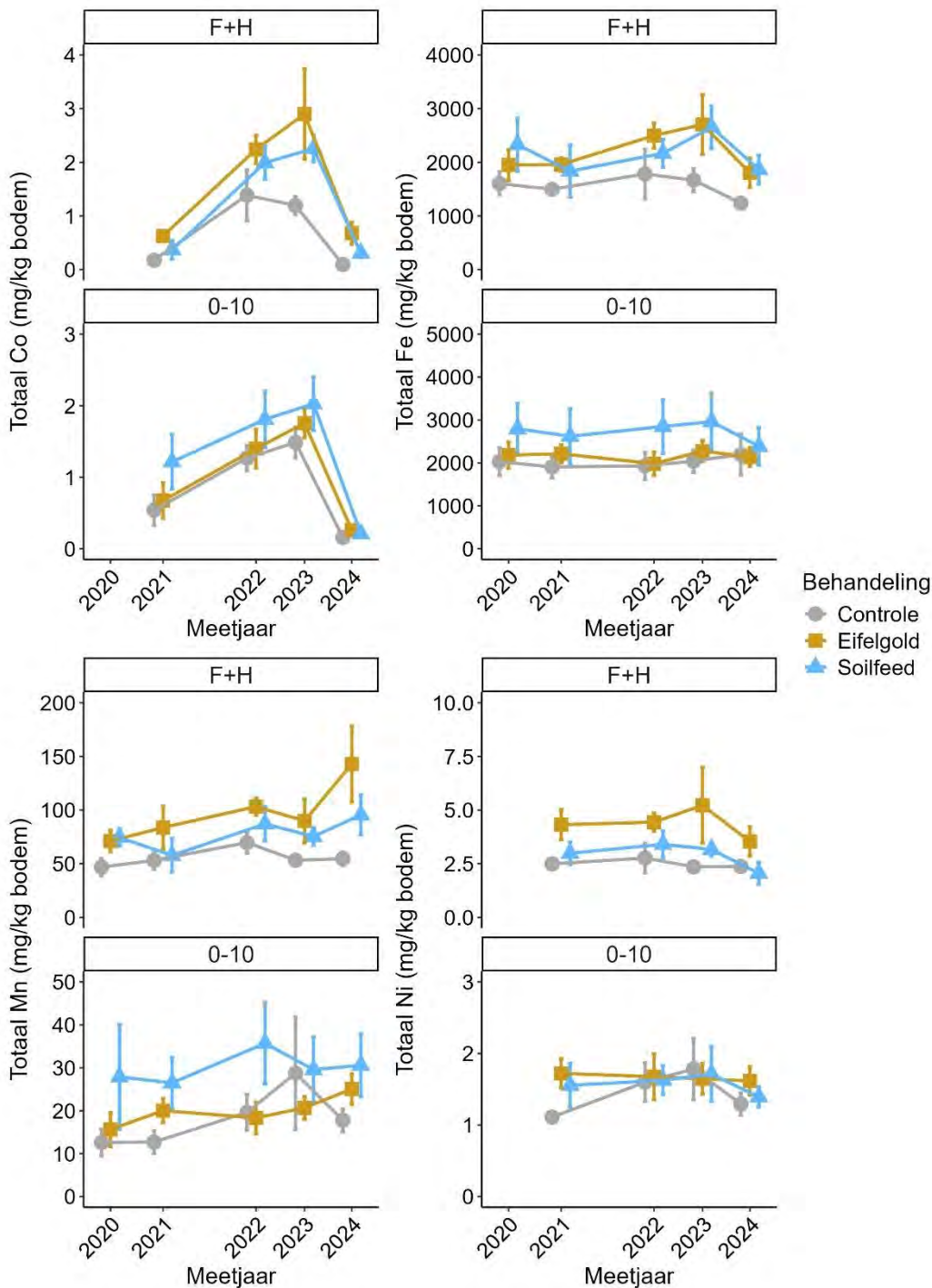
3.7.2 Resultaten

Effecten steenmeelbehandelingen op sporenelementen in de bodem

In de FH-laag verhoogden beide steenmeelbehandelingen de totaal concentraties van kobalt (Co), ijzer (Fe), mangaan (Mn), nikkel (Ni) en chroom (Cr) (Tabel 3.6; Figuur 3.20; Bijlage 1.5.1). De concentraties lagen gemiddeld 1,2x (Cr) tot 2x (Co) hoger in de steenmeelbehandelde proefvlakken vergeleken met de controle. De hoogste Ni-concentraties werden gemeten in de Eifelgold-behandeling, met gemiddeld 1,8x hogere waarden dan in de controleproefvlakken, terwijl de Soilfeed-behandeling leidde tot een toename van 1,2x. In de bovenste 10 cm van de minerale bodem had de Eifelgold-behandeling geen effect op de concentraties van sporenelementen. De Soilfeed-behandeling leidde daarentegen tot licht verhoogde totaal concentraties van Co, Fe, Mn, arseen (As) en cadmium (Cd) (Tabel 3.6; Figuur 3.20). Voor boor (B), zink (Zn), koper (Cu), molybdeen (Mo) en lood (Pb) werd geen effect van de steenmeelbehandelingen gemeten, noch in de FH-laag, noch in de minerale bodemlaag (0-10 cm) (Tabel 3.6).

Tabel 3.6 Totaal concentraties aan sporenelementen (gemiddelde \pm standaardfout) gemeten in de FH-laag en de bovenste 10 cm minerale bodem in de controleproefvlakken en de proefvlakken behandeld met Eifelgold of Soilfeed over de meetperiode van 5 jaar. Geel en groen gemarkeerde concentraties geven aan dat in de steenmeelbehandelde proefvlakken respectievelijk significant hogere of lagere concentraties werden gemeten dan in de controleproefvlakken (zie Bijlage 1.5.1 voor de statistische resultaten).

Sporenelement	FH-laag			0-10 cm		
	Controle	Eifelgold	Soilfeed	Controle	Eifelgold	Soilfeed
Totaal Co (mg/kg)	0,7 \pm 0,1	1,8 \pm 0,3	1,5 \pm 0,2	0,8 \pm 0,1	1,0 \pm 0,1	1,3 \pm 0,2
Totaal B (mg/kg)	8,0 \pm 1	8,5 \pm 1	9,1 \pm 2	7,5 \pm 1	7,2 \pm 1	7,8 \pm 1
Totaal Fe (mg/kg)	1458 \pm 79	2302 \pm 188	2243 \pm 190	1951 \pm 156	2152 \pm 116	2704 \pm 289
Totaal Mn (mg/kg)	56 \pm 4	103 \pm 11	80 \pm 7	19 \pm 4	21 \pm 2	31 \pm 4
Totaal Zn (mg/kg)	20 \pm 1	20 \pm 1	18 \pm 1	10 \pm 1	8 \pm 1	9 \pm 1
Totaal Cu (mg/kg)	6,2 \pm 0,4	6,9 \pm 0,5	5,4 \pm 0,5	2,4 \pm 0,3	2,5 \pm 0,2	2,3 \pm 0,1
Totaal Mo (mg/kg)	0,32 \pm 0,12	0,29 \pm 0,08	0,16 \pm 0,05	0,18 \pm 0,06	0,16 \pm 0,04	0,13 \pm 0,03
Totaal Ni (mg/kg)	2,3 \pm 0,1	4,5 \pm 0,6	3,0 \pm 0,3	1,4 \pm 0,11	1,7 \pm 0,1	1,6 \pm 0,1
Totaal As (mg/kg)	1,4 \pm 0,1	1,6 \pm 0,2	1,8 \pm 0,3	2,2 \pm 0,2	2,4 \pm 0,2	3,1 \pm 0,4
Totaal Cd (mg/kg)	1,4 \pm 0,5	2,1 \pm 0,8	1,4 \pm 0,7	0,5 \pm 0,1	0,8 \pm 0,2	0,9 \pm 0,2
Totaal Pb (mg/kg)	25 \pm 2	28 \pm 4	24 \pm 2	20 \pm 1	21 \pm 1	21 \pm 1
Totaal Cr (mg/kg)	2,8 \pm 0,2	3,7 \pm 0,2	3,5 \pm 0,3	3,3 \pm 0,1	3,4 \pm 0,1	3,5 \pm 0,2



Figuur 3.20 Gemiddelde en standaardfout ($n = 10$) van totaal Co (linksboven), Fe (rechtsboven), Mn (linksonder) en Ni (rechtsonder) gemeten in de bodem. Er zijn geen metingen aan Co en Ni gedaan in meetjaar 2020 (nulmeting). Zie de legende van Figuur 3.1 voor meer details.

In bijna alle gevallen lagen de gemeten concentraties van sporenelementen (ruim) onder de toxiciteitsgrenswaarden voor Nederlandse bodems (Lamé et al. 2004; van der Veer 2006) en Duitse bosbodems (Wellbrock & Bolte 2019) op zandgronden (Tabel 3.7). De verhogingen als gevolg van de Soilfeed-behandeling in de minerale bodem leiden dus niet tot toxische niveaus. Een uitzondering hierop vormt mogelijk Cd: de gemeten Cd-concentraties lagen net binnen of net boven de toxiciteitsgrenswaarden. Bovendien waren deze Cd-waarden ongeveer 4x hoger dan het gemiddelde in bossen die deel uitmaken van het ICP Forests-netwerk. Ter vergelijking lagen de concentraties van de

overige sporenelementen in de proeflocaties juist 3-4x lager dan in de ICP-bossen, of vielen binnen de daar gemeten range (Pb) (Tabel 3.7).

Tabel 3.7 Gemiddelde range aan totaal concentraties van sporenelementen gemeten in de minerale bodemlaag (0-10 cm) in de proeflocaties (Oude Eikenbossen, zowel controle als steenmeelbehandelingen) in vergelijking tot Nederlandse grenswaarden op zandgronden, Duitse grenswaarden specifiek voor bosbodems op zandgronden, en de gemiddelde range die werd gemeten in de bossen gelegen in de Atlantische zone van ICP Forests.

Sporenelement	Oude eikenbossen	Nederland ^{1,2}	Duitsland ³	ICP Forests ⁴
	Gemiddelde range	Grenswaarde	Grenswaarde	Gemiddelde range
Totaal Co (mg/kg)	0,8-1,3	9		
Totaal B (mg/kg)	7,2-7,8	10		
Totaal Fe (mg/kg)	1951-2704	4480		
Totaal Mn (mg/kg)	19-31	191		
Totaal Zn (mg/kg)	8-10	140	60	24-29
Totaal Cu (mg/kg)	2,3-2,5	36	20	5,7-7
Totaal Mo (mg/kg)	0,13-0,18	3		
Totaal Ni (mg/kg)	1,4-1,7	35	15	6-7,4
Totaal As (mg/kg)	2,2-3,1	29	10	
Totaal Hg (mg/kg)	0,05-0,1	0,3	0,2	0,06-0,09
Totaal Cd (mg/kg)	0,5-0,9	0,8	0,4	0,16-0,20
Totaal Pb (mg/kg)	20-21	85	40	27-31
Totaal Cr (mg/kg)	3,3-3,5	100	30	12-15

¹(Lamé et al. 2004), ²(van der Veer 2006), ³(Wellbrock & Bolte 2019), ⁴(Bommaré et al. 2021)

Effecten steenmeelbehandelingen op sporenelementen in blad van Zomereik

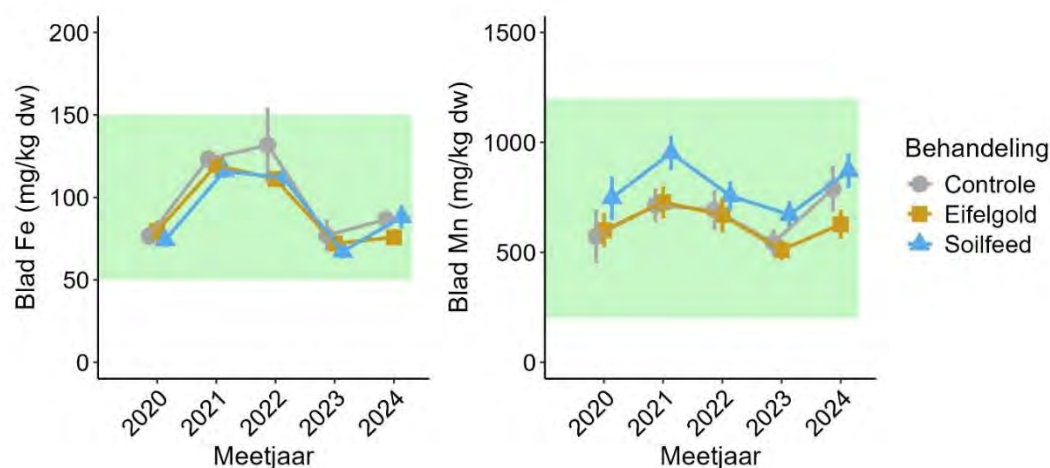
De steenmeelbehandelingen hadden over het algemeen een zeer beperkt effect op de concentraties sporenelement in het blad van Zomereik. Wanneer er wel een effect werd waargenomen, betrof dit meestal een verlaging van de concentraties. Gedurende de vijf effectjaren werd een afname gemeten in de concentraties van B, Hg en Pb bij toediening van Soilfeed, en een afname in Fe en Pb bij toediening van Eifelgold (Tabel 3.8; Figuur 3.21; Bijlage 1.5.2). Een uitzondering hierop vormde Mn, waarvan de concentraties gemiddeld 128 µg/g hoger lagen in de Soilfeed-behandelde proefvlakken ten opzichte van de controle (Tabel 3.8; Figuur 3.21). Voor de overige onderzochte sporenelementen – Co, Zn, Cu, Mo, Ni, As, Cd en Cr – werd geen significant effect van de steenmeelbehandelingen gemeten (Tabel 3.8).

Voor de sporenelementen waarvoor referentiewaarden beschikbaar zijn in de literatuur, lagen de gemeten bladconcentraties binnen het normale bereik (Tabel 3.8; Figuur 3.21). Dit wijst erop dat er geen sprake was van tekorten of overschotten aan sporenelementen, ook niet in gevallen waar de steenmeelbehandelingen tot een lichte verhoging of verlaging van de concentraties leidden. Daarnaast kwamen de gemeten concentraties grotendeels overeen met waarden uit een vergelijkende studie in Zweden en Denemarken waarin eveneens eikenblad werd geanalyseerd (Tabel 3.8; Hagen-Thorn & Stjernquist 2005). Allen de Mn-concentraties lagen in de proeflocaties gemiddeld iets lager dan in die studie.

Tabel 3.8 Totaal concentraties aan sporenelementen (gemiddelde \pm standaardfout) gemeten in blad van Zomereik in de controleproefvlakken en de proefvlakken behandeld met Eifelgold of Soilfeed over de meetperiode van 5 jaar. Geel en groen gemarkeerde concentraties geven aan dat in de steenmeelbehandelde proefvlakken respectievelijk significant hogere of lagere concentraties werden gemeten dan in de controleproefvlakken (zie Bijlage 1.5.2 voor de statistische resultaten). In vergelijking staat het normale bereik aan deze sporenelementen in Zomereik en de gemiddelde range die werd gemeten in bossen in Zweden en Denemarken.

Sporenelement	Controle	Eifelgold	Soilfeed	Normale bereik ¹⁻³	Noord-Europa ³
Totaal Co (mg/kg)	0,13 \pm 0,02	0,17 \pm 0,04	0,13 \pm 0,02		
Totaal B (mg/kg)	39 \pm 2	36 \pm 3	36 \pm 3	20-60	48 \pm 6
Totaal Fe (mg/kg)	105 \pm 6	95 \pm 3	96 \pm 3	50-150	101 \pm 8
Totaal Mn (mg/kg)	685 \pm 39	634 \pm 30	813 \pm 34	200-1200	1126 \pm 620
Totaal Zn (mg/kg)	27 \pm 1	27 \pm 1	28 \pm 1	20-50	24 \pm 5
Totaal Cu (mg/kg)	7,9 \pm 0,1	7,7 \pm 0,2	7,9 \pm 0,2	5-15	8,8 \pm 0,6
Totaal Mo (mg/kg)	0,13 \pm 0,04	0,14 \pm 0,04	0,08 \pm 0,03	0,1-1,0	
Totaal Ni (mg/kg)	3,5 \pm 0,2	3,5 \pm 0,3	3,1 \pm 0,2	0,1-5,0	
Totaal As (mg/kg)	0,23 \pm 0,03	0,24 \pm 0,04	0,21 \pm 0,03		
Totaal Hg (mg/kg)	1,9 \pm 0,9	2,4 \pm 1,1	0,6 \pm 0,3		
Totaal Cd (mg/kg)	1,7 \pm 0,4	2,3 \pm 0,5	3,0 \pm 0,6		
Totaal Pb (mg/kg)	0,32 \pm 0,07	0,19 \pm 0,05	0,19 \pm 0,04		
Totaal Cr (mg/kg)	0,43 \pm 0,05	0,48 \pm 0,06	0,40 \pm 0,04		

¹(Bergmann 1992), ²(Marschner 2012), ³(Hagen-Thorn & Stjernquist 2005)



Figuur 3.21 Gemiddelde en standaardfout ($n=5$) van ijzer (links) en mangaan (rechts) gemeten in het blad van Zomereik. Metingen werden uitgevoerd in de jaren 2021, 2022, 2023 en 2024 in de controleproefvlakken (grijze stippen), de proefvlakken behandeld met Eifelgold (gouden vierkanten) en de proefvlakken behandeld met Soilfeed (blauwe driehoeken). Het groene vlak geeft het normaal bereik weer gemeten in Zomereik uit Tabel 3.8.

Effecten steenmeelbehandelingen op sporenelementen in blad van Blauwe bosbes

Voor Blauwe bosbes, werd een verlaging van de Mn- en Zn-concentraties gevonden in het blad bij Eifelgold-toediening en een verlaging in de B-concentraties bij Soilfeed-toediening (Bijlage 1.5.3). Voor deze soort zijn er geen referentiewaarden bekend.

3.7.3 Conclusies sporenelementen

De steenmeelbehandelingen hadden een (zeer) beperkte invloed op de concentraties van sporenelementen in bodem en blad. De effecten beperkten zich voornamelijk tot de FH-laag. In de minerale bodem had de Eifelgold-behandeling nauwelijks effect, terwijl de Soilfeed-behandeling slechts

lichte stijgingen veroorzaakte in een aantal elementen (Co, Fe, Mn, As en Cd). De gemeten waarden bleven in alle gevallen (behalve Cd voor Soilfeed) ruim onder de toxiciteitsgrenzen, wat erop wijst dat de verhogingen ecologisch veilig zijn. In het blad van Zomereik en Blauwe bosbes waren de effecten gering: beide steenmeelbehandelingen leidden voornamelijk tot lichte verlagingen in bepaalde sporenelementen (zoals Fe, Pb en Hg). De bladconcentraties van Zomereik bleven binnen normale, niet-toxische bereiken, wat duidt op geen risico op ophoping of tekorten.

3.8 Conclusies spoor 1

- De steenmeelbehandelingen van 10 ton per hectare – van zowel Eifelgold als Soilfeed – verbeterden binnen vijf jaar de bodemchemie door verhoging van de pH, basenverzadiging en beschikbaarheden van Ca, K en Mg.
- Deze bodemchemische veranderingen gingen gepaard met verbeteringen in de bladnutriëntenconcentraties van Zomereik, vooral voor Ca, K en Mg. Ook de nutriëntenonbalans werd minder in de bladeren van de Zomereik.
- De verhogingen in bodembuffering en bladnutriënten zijn niet voldoende om te spreken van volledig abiotisch herstel; daarvoor liggen de gemeten waarden nog onder de referentiewaarden. Wel zorgden de steenmeelbehandelingen voor een aanzienlijke verschuiving in de buffering van de ernstig verzuurde Oude Eikenbossen richting beter gebufferde referentiebossen.
- Er werden subtiele verschillen tussen de steenmeelbehandelingen gemeten die gekoppeld kunnen worden aan hun mineralogische samenstelling: Eifelgold werkt over het algemeen sneller en verhoogt Mg sterker, terwijl Soilfeed mogelijke duurzamere effecten heeft op Ca-opname. Deze verschillen kunnen op lange termijn belangrijker worden.
- Een voorzichtige conclusie over de verwerking van steenmeel is dat het in ieder geval 10-20 jaar werkt (en wellicht langer), waarbij de snelheid van verwerking en het aanhoudende effect afhangen van het type steenmeel en de omgevingscondities.
- Concluderend hebben de steenmeelbehandelingen een mitigerend effect op de verzurende effecten van de voortdurende atmosferische N-depositie. Ze zijn echter niet in staat om de eutrofiërende effecten te beperken aangezien er geen verlagend effect op N-beschikbaarheid werd gevonden.
- In de controleproefvlakken werd een zeer hoge nitrificatie (gemiddeld 62 kg N/ha/jaar) en een hoge nitraatuitspoeling (gemiddeld 24 kg N/ha/jaar) gemeten en de sterke correlatie tussen deze twee parameters wijst op een overmaat aan stikstof. Tevens komt de gemeten nitraatuitspoeling overeen met de N-depositie op de Veluwe (20-29 kg N/ha/jaar), wat betekent dat het systeem in hoge mate en al langdurig N-verzadigd is.
- De steenmeelbehandelingen verhoogden niet de netto mineralisatie van stikstof, die zeer hoog was (78-165 kg N/ha/jaar) maar wel de nitrificatie, wat leidde tot extra nitraatuitspoeling van 10-12 kg N/ha/jaar in deze proefvlakken. Dit is positief voor het bos (verwijdering van overmatig N).

Zijn er risico's op negatieve (neven) effecten?

- Er werd een geringe toename in beschikbaar Al gemeten in de FH-laag met toediening van Soilfeed maar deze bleef ruim onder de toxische grens en vormt hoogstwaarschijnlijk geen ecologisch risico (Al/Ca-ratio bleef ruim onder de kritische toxiciteitsdrempel).
- Toediening van Soilfeed verlaagde de fosfaatbeschikbaarheid in de bodem, en in de FH-laag werd er vastlegging van P door Al/Fe en Ca waargenomen. Ondanks deze chemische veranderingen werd geen verergering van P-tekorten in het blad van Zomereik waargenomen, waardoor dit effect waarschijnlijk geen direct ecologisch risico vormt voor de bomen of voor herbivore fauna die afhankelijk is van bladkwaliteit. Voor delen van het bodemvoedselweb kan dit echter anders liggen. In situaties waarin het systeem al P-gelimiteerd is, kan extra vastlegging van P in de FH-laag leiden tot een verdere beperking van de P-beschikbaarheid voor schimmels en mesofauna. Daarnaast is het onduidelijk in hoeverre de waargenomen P-vastlegging een

cumulatief effect kan hebben over langere tijd. De binding van P aan Al wordt waarschijnlijk (deels) gedreven door de fijnere fracties van Soilfeed die snel reageren in de FH-laag. Het is onduidelijk of er in latere jaren nog een vergelijkbare hoeveelheid Al beschikbaar komt om P aan te binden, of dat het risico op P-vastlegging geleidelijk afneemt naarmate het reactieve deel van het steenmeel is uitgewerkt. De omvang en relevantie van dit risico vormen op dit moment dus een belangrijke kennislacune (zie ook 9.5).

- De toename in buffering door de steenmeelbehandelingen, verhoogden de nitrificatie (omzetting van ammonium naar nitraat) maar leidde niet tot een hogere N-beschikbaarheid (ammonium en nitraat) of tot het afgaan van de 'stikstofbom' in deze bossen. Hierbij wordt één van de belangrijkste nadelen van te hoge bekalking in stikstof-verzadigde bosesystemen vermeden. Er werd wel een verhoogde nitraatuitspoeling gemeten wat een risico vormt voor het grondwater (overschrijding drinkwaternormen in sommige maanden) en grondwatergevoede ecosystemen.
- Toediening van Soilfeed leidde slechts tot een beperkte verhoging van bepaalde sporenelementen in de minerale bodem, zonder overschrijding van toxische grenswaarden. Ook in het bladmateriaal van Zomereik bleven de elementenconcentraties binnen het optimale bereik, wat aangeeft dat steenmeeltoediening binnen vijf effectjaren geen risico vormt voor accumulatie of toxiciteit.
- In de eerdere steenmeelproeven (de Vries et al. 2019) werd een afname in Mg-concentratie in het blad van Zomereik bij de Soilfeed-behandeling als mogelijk risico van het toedienen van dit type steenmeel gevonden. Dat negatieve effect werd in deze proef in zijn geheel niet gevonden.
- Als er enige ecologische risico's aanwezig zijn, is dit eerder bij het toedienen van Soilfeed dan Eifelgold.

Is toediening van steenmeel een bruikbare maatregel voor herstel van het habitatype Oude Eikenbossen?

Op basis van de resultaten van spoor 1 lijkt de toepassing van steenmeel veelbelovend als een laag-risico, mineraal-gebaseerde herstelmaatregel voor het habitatype Oude Eikenbossen. Binnen de looptijd van de proef (vijf jaar) is er echter nog geen sprake van volledig abiotisch herstel: de gemeten bodem- en bladcondities liggen nog buiten de gewenste referentiewaarden. In vergelijking met bekalking werkt steenmeel trager en geleidelijker. De langzame afgifte van basische kationen en andere nutriënten sluit echter beter aan bij de natuurlijke, langzame dynamiek van bosesystemen. Bovendien vergroot steenmeel de bufferende capaciteit van de bodem en draagt het bij aan een verbeterde nutriëntenbalans, zonder het risico op plotselinge pH-stijgingen of interne eutrofiëring. Hoewel de volledige ecologische voordelen zich waarschijnlijk pas op langere termijn zullen manifesteren, biedt steenmeel een duurzame en natuurgerichte strategie om de negatieve effecten van atmosferische stikstofdepositie wat bodemverzuring betreft te beperken en zo bij te dragen aan het herstel en behoud van meer soortenrijke, voedselarme eikenbossen.

Tabel 3.9 Overzicht van de significante effecten van de twee steenmeeltypen op de bodemchemie, bladchemie, en stikstofhuishouding.

+	Toename	Ongewenst effect, maar klein
-	Afname	Ongewenst effect, groot
	Gewenst effect, maar klein	Onbekend of effect gewenst is of niet
	Gewenst effect, duidelijke verbetering	Geen effect

Bodemchemie	Eifelgold	Soilfeed
pH-NaCl	+	+
Basenverzadiging	+	+
Beschikbaar Ca	+	+
Beschikbaar K	+	+
Beschikbaar Mg	+	+
Al/Ca-ratio	-	
P-beschikbaarheid	-PO ₄	-OlsenP
N-beschikbaarheid		
Sporenelementen		+Co, +Fe, +Mn, +Hg, +Cd
P-vastlegging		-
Bladchemie	Eifelgold	Soilfeed
Basische kationen Zomereik	+Ca, +K, +Mg	+Ca, +K, +Mg
Basische kationen Blauwe bosbes	-Ca	-Ca, -Mg
P Zomereik	+	
P Blauwe bosbes		
N/basische kationen-ratio's Zomereik	-N/Ca, -N/K, -N/Mg	-N/Ca, -N/K, -N/Mg
N/P-ratio Zomereik	-N/P	
N/basische kationen-ratio's Blauwe bosbes		+N/Mg
Sporenelementen Zomereik	-Fe, -Pb	-B, +Mn, -Hg, -Pb
Sporenelementen Blauwe bosbes	-Mn, -Zn	-B
Stikstofhuishouding	Eifelgold	Soilfeed
Mineralisatie		
Nitrificatie	+	+
Nitraatuitspoeling	(+)	

() Betekent net geen significant effect

4 Microbiële samenstelling van de bodem (spoor 2)

4.1 Verandering van microbiële gemeenschappen onder invloed van steenmeel (onderdeel 5.2)

Om veranderingen in de microbiële bodemgemeenschappen onder invloed van steenmeeltoediening in Oud Eikenbos te bepalen, werden de 30 proefvlakken in totaal 3x bemonsterd voor DNA analyse:

1. één keer bij start van het experiment (2020; nulmeting),
2. In het 2^e effectjaar (2022) en,
3. in het 3^e effectjaar (2023).

Moleculaire analyses werden uitgevoerd op dezelfde mengmonsters van de drie PQ's per proefvlak die verzameld werden voor de bepaling van bodemchemie (zie spoor 1). Dit laat toe om veranderingen in bodemchemie rechtstreeks te koppelen aan veranderingen in de microbiële gemeenschap. Alle bodemmonsters werden bewaard bij -30°C en zijn opgestuurd naar Universiteit Antwerpen. Er is DNA geïsoleerd uit monsters van de 0-10 cm minerale bodemlaag. Daarnaast is ook DNA geïsoleerd van monsters van de FH-laag van een aantal proefvlakken behandeld met Eifelgold uit 2020 (nulmeting) en 2023 (effectmeting). Het gaat hier om de locaties Keulerbosch, Woeste Hoeve I en II en Maanschoten. In de locatie Stroese Bergen I is in 2020 de FH-laag van de Eifelgold-behandeling geanalyseerd en in 2023 de FH-laag van de Soilfeed-behandeling omdat er geen FH-laag in de Eifelgold-behandeling werd gevonden vanwege het wroeten van zwijnen. Deze FH-lagen werden geanalyseerd om te kunnen vergelijken met de minerale toplaag en te verifiëren dat effecten van de steenmeelbehandelingen consistent zijn tussen de twee bodemlagen (zie hiervoor Figuur 4.6).

Naast de 10 proeflocaties op de Veluwe, is ook DNA geïsoleerd uit bodems van de 12 Franse referentiebossen (verzameld in 2021), en de 8 Drentse referentiebossen (verzameld in het voorjaar van 2024). Voor deze referentiebossen is zowel de FH-laag als de minerale (0-10 cm) bodemlaag afzonderlijk bemonsterd. Elk van de deze monsters is ook gebruikt voor de chemische bepalingen in spoor 1 en dus maximaal vergelijkbaar.

4.1.1 DNA-metabarcoding van schimmel- en bacteriegemeenschappen

Mengmonsters werden nauwkeurig gesubsampled, gevriesdroogd, en DNA werd geëxtraheerd uit 0,1–0,2 g hiervan met de DNeasy PowerSoil Kit Pro (Qiagen, Venlo, Nederland), en schoongemaakt via de OneStep PCR inhibitor removal kit (Zymo Research). DNA-concentraties werden gekwantificeerd met de dsDNA Assay Kit en Qubit fluorometer (Invitrogen). Sequencing richtte zich op de schimmel- en bacteriegemeenschap (formeel gaat het in dit laatste geval om „prokaryoten“, dus naast bacteriën ook archaea, maar we zullen hiernaar refereren als „bacteriën“ voor de leesbaarheid).

Metabarcoding van DNA-sequencing van bodemmonsters levert duizenden Amplicon Sequencing Variants (ASV's) op. Daarbij wordt voor schimmels en bacteriën aangenomen dat we deze genetische varianten ongeveer op "soortniveau" kunnen onderscheiden. Voor een groot deel van deze ASV's is echter nog onbekend welke soort het exact betreft, omdat veel soorten nog niet wetenschappelijk beschreven zijn. Toch kan metabarcoding dergelijke onbekende ASV's vaak als unieke "varianten" identificeren, zonder dat de soortnaam bekend is. Op basis van DNA en overeenkomsten met bekende taxa kan meestal wel worden vastgesteld tot welke hogere taxonomische groep, zoals stam of familie, de ASV's behoren. Het aantal "reads" van een ASV in de bodem kan vervolgens een ruwe indicatie geven van de (relatieve) abundantie van de betreffende ASV.

Voor schimmels werd de ITS1-regio geamplificeerd met primers ITS1f en ITS2 (Smith & Peay 2014). Voor bacteriën werd de V4-regio van het 16S rRNA-gen geamplificeerd met primers F515 en R806 (Caporaso

et al. 2011). PCR-reacties bevatten 5-10 ng DNA, 0,5 μ M forward en reverse primer, 1X PCR-buffer, 200 μ M dNTPs, 1 U Phusion High-Fidelity DNA-polymerase (New England Biolabs, Ipswich, MA, USA) en 1 μ l BSA aangevuld tot 25 μ l met Nuclease-free water (Qiagen, Venlo, Nederland). De PCR-condities waren: initiële denaturatie bij 98°C (60 s), gevolgd door 30 cycli (16S: 25 cycli) van denaturatie bij 98°C (30 s), annealing bij 55°C (30 s), extensie bij 72°C (30 s), en een extra extensie bij 72°C (10 min). PCR-succes werd bevestigd op een 1,5% agarosegel. PCR-producten werden 50x verdund en onderworpen aan een tweede PCR met primers met dubbele barcode en Illumina-adapters (2,5 μ l verdund PCR-product, 0,1 μ M primers). Deze reactie had 12 cycli: 98°C (10 s), 63°C (30 s), 72°C (30 s), gevolgd door een extra extensie (72°C, 5 min). Succesvolle PCR-producten werden gezuiverd en gecombineerd tot één bibliotheek per marker (16S of ITS). De bibliotheek werd op gel gezet, en gezuiverd met de Macherey-Nagel QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen, Venlo, Nederland) en gekwantificeerd via qPCR (KAPA Library Quantification Kits, Kapa Biosystems). Sequencing vond plaats op een Illumina MiSeq platform (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) met 2x300 cycli voor forward en reverse reads.

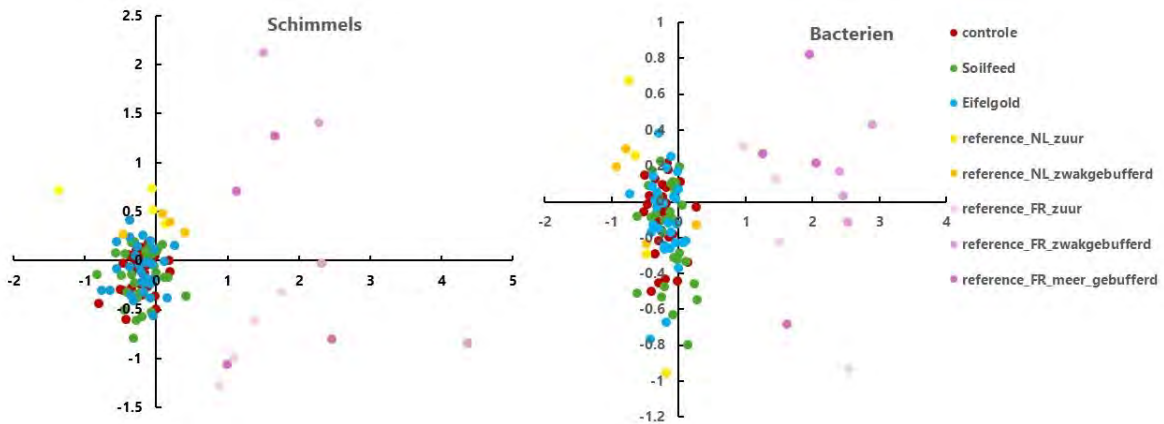
Concreet werd er een detailanalyse gemaakt van de samenstelling van de schimmelgemeenschap en van de bacteriële gemeenschap met DNA metabarcoding. Met behulp van korte genetische markers werden hierbij relatieve hoeveelheden van operationeel taxonomische eenheden (= "soorten") in de bodem gekwantificeerd. Voor de bacteriële gemeenschap lag de focus op de V4 regio van het 16S rRNA gen (primers F515/R806), en voor de schimmelgemeenschap op de ITS1 regio (primers ITS1f/ITS2). Het sequencen gebeurde op het Illumina MiSeq platform. De verkregen taxonomische eenheden werden vervolgens gekoppeld aan bestaande taxonomische databases. Met behulp van deze methodologie kon vervolgens met hoge mate van detail bepaald worden welke schimmels en bacteriën precies in de bodem voorkomen, in welke relatieve hoeveelheden, en wat de microbiële diversiteit is. De aangetroffen taxa konden ook geclassificeerd worden in ecologisch relevante groepen (bv. voor schimmels: arbusculaire en ecto-mycorrhiza, saprotrofen, pathogenen, enz.). Op deze manier kan er vastgesteld worden of de toediening van steenmeel leidt tot veranderingen in de microbiële bodemgemeenschap, en zo ja, in welke richting. Door deze gegevens te koppelen aan de gegevens verkregen in onderdeel 5.3 kan ook bepaald worden wat dat dan concreet betekent voor ecosysteem-functioneren.

4.1.2 Statistische analyses

Statistische analyses werden uitgevoerd in R versie 4.3.2 (R Core Team 2024). Significantie werd geaccepteerd bij P kleiner dan 0,05. Data-analyse van de ruwe sequentiegegevens werd uitgevoerd met de Dada2-pipeline (Callahan et al. 2016). De 16S-ASV's werden geïdentificeerd met de "assign taxonomy" functie en de SILVA-database (v138). Schimmel-ASV's werden vergeleken met dezelfde functie tegen de UNITE-database (v040424). Niet-schimmel- en niet-bacteriesequenties werden verwijderd. Schimmel-ASV's werden verder in functionele groepen ingedeeld door geslachten te matchen aan de "FungalTraits" database (Pöhlme et al. 2020). Voor vergelijkingen werden samples gesubsampled naar 10.000 reads (16S) en 5.000 reads (ITS1) via rarefaction. Gegevens over bacteriële en schimmelgemeenschappen werden wortel-getransformeerd om relatief meer waarde te geven aan zeldzamere soorten, die vaak indicatief zijn voor goed ontwikkelde vegetatietypen. We gebruikten nonmetric multidimensional scaling (NMDS, $k = 2$) gebaseerd op Bray-Curtis dissimilarity voor de sample x ASV matrix om verschillen tussen behandelingen te visualiseren. Om te testen of deze verschillen statistisch significant waren, werd permutatievariantieanalyse (Permanova, 999 iteraties) uitgevoerd met "adonis" in vegan (Oksanen et al. 2013). Om rekening te houden met de experimentele opzet en de verschillende meetjaren hebben we proflocatie als blokfactor ('strata') in het model opgenomen.

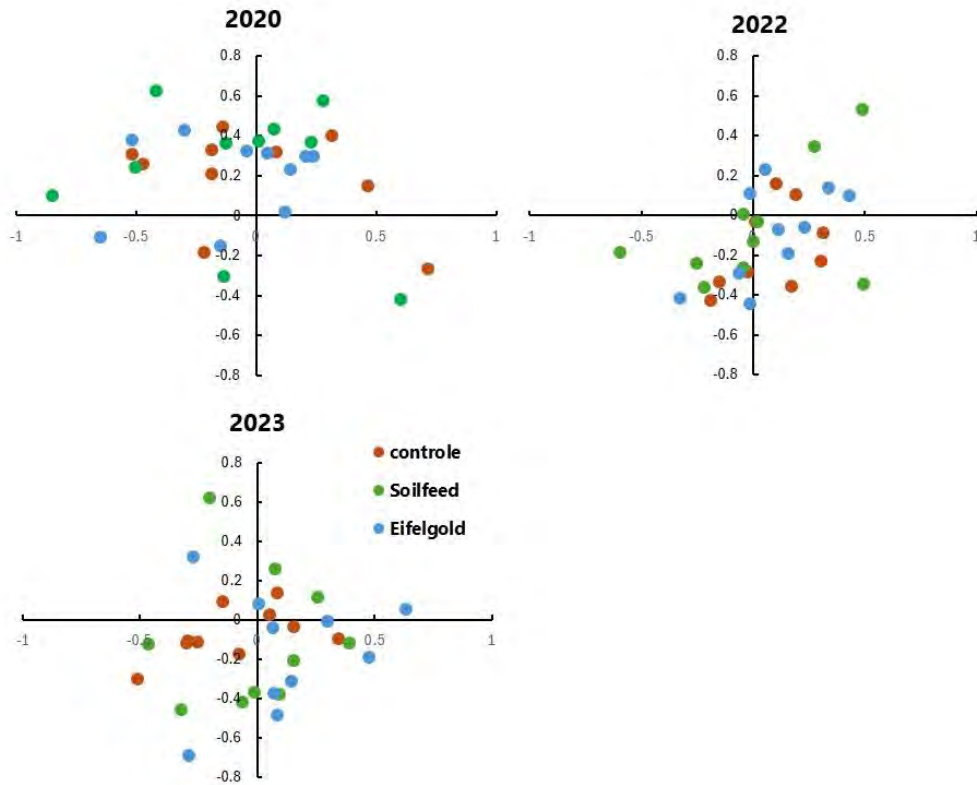
4.1.3 Resultaten

Allereerst werd er gekeken in hoeverre microbiële gemeenschappen globaal variëren over de verschillende typen systemen. Enerzijds de Oude Eikenbossen in de proeflocaties, anderzijds de verschillende referenties uit Nederland (NL) en Frankrijk (FR). Zoals te zien in Figuur 4.1, is de situatie voor beide groepen micro-organismen ongeveer gelijk: de bodems van de proeflocaties vormen door de jaren heen een duidelijk cluster, en overlappen nagenoeg niet met andere Nederlandse locaties en zeker niet met de Franse locaties. Deze laatste worden dan ook gekenmerkt door grotere variatie in zowel vegetatie als bodemtypen en zijn (zoals ook vermeld toen ze werden geïntroduceerd in 3.1.3) niet de beste 'referentie' voor de proeflocaties.

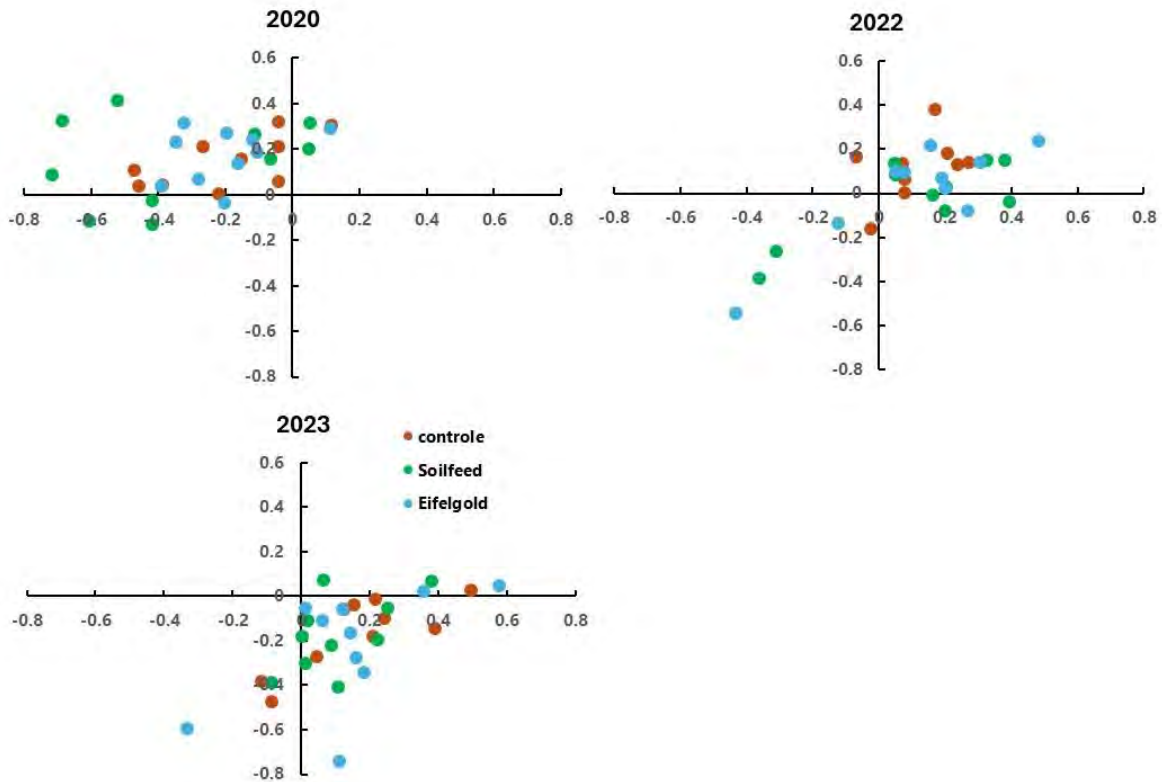


Figuur 4.1 NMDS ordinatie van schimmel en bacteriegemeenschappen in de proeflocaties Oude Eikenbossen (data van jaar 2020, 2022 en 2023) gekleurd per behandeling (controle, Soilfeed, Eifelgold), in vergelijking met referenties in binnen- en buitenland (schimmels: stress = 0.19 met $k = 2$; bacteriën stress = 0.13 met $k = 2$).

Vervolgens werd er ingezoomd op de dynamiek van enkel de proeflocaties, en werd dezelfde multivariate ordinatie uitgevoerd, en gekeken naar de dynamiek die ze vertonen door de tijd heen o.i.v. de verschillende steenmeelbehandelingen. Hierbij kwam het volgende beeld naar voren: zowel schimmels (Figuur 4.2) als bacteriën (Figuur 4.3) zijn dynamisch door de tijd heen (de groep punten verschuift duidelijk elk meetjaar), maar vertonen geen groepering m.b.t. steenmeelbehandeling. Dit werd ondersteund door een permutatieve ANOVA (PERMANOVA), waar in geen van de jaren een statistisch effect van steenmeelbehandeling op de gemeenschapssamenstelling te zien was (schimmels: 2020: $R^2 = 0.045$, $P = 0.85$; 2022: $R^2 = 0.052$, $P = 0.69$; 2024: $R^2 = 0.063$, $P = 0.44$; bacteriën: 2020: $R^2 = 0.06$, $P = 0.27$, 2022: $R^2 = 0.048$, $P = 0.84$; 2024: $R^2 = 0.053$, $P = 0.58$).

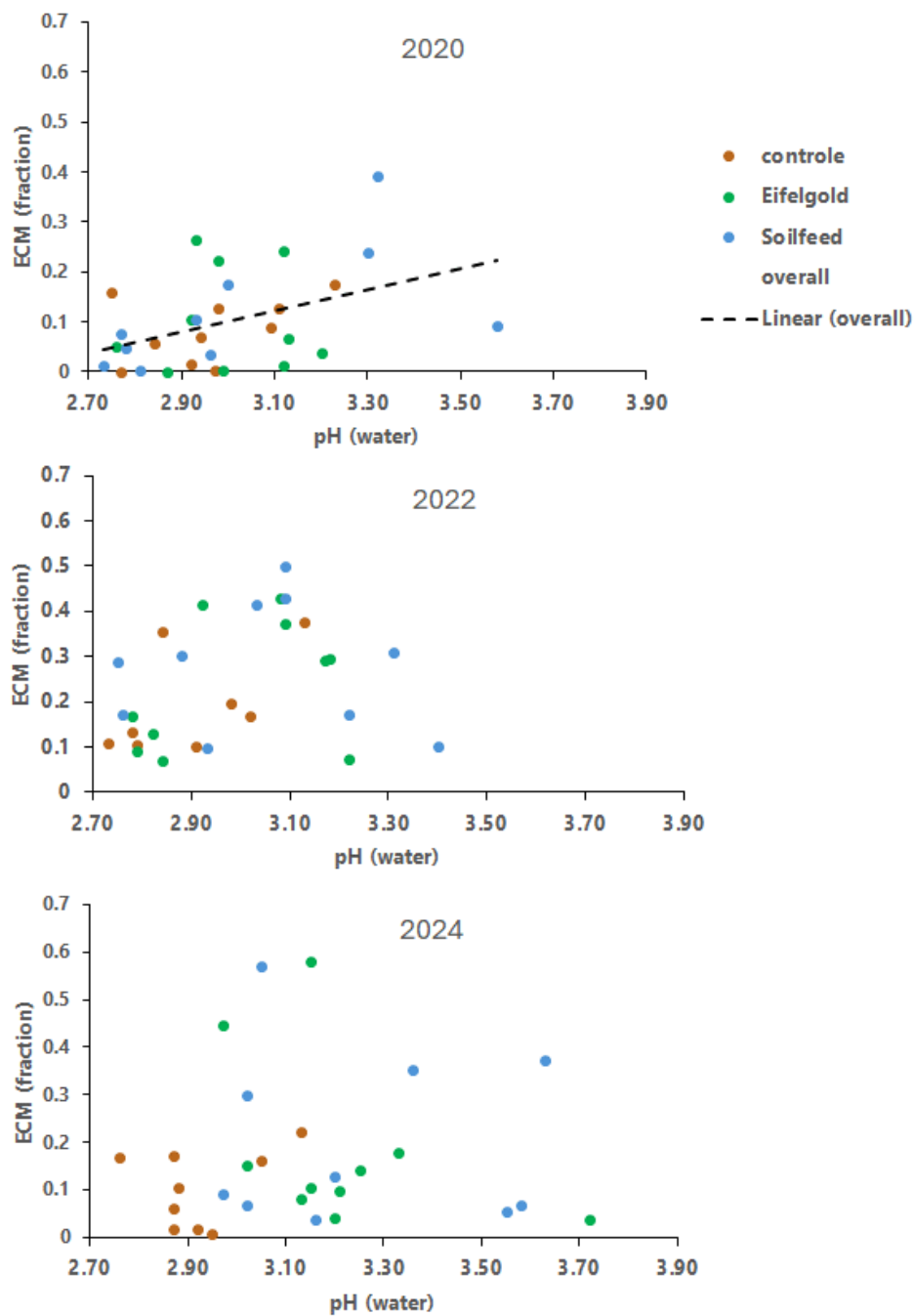


Figuur 4.2 NMDS ordinatie van schimmelmilieus (stress = 0.19 met $k = 3$ (3^{de} as niet getoond)) per meetjaar. De verschillende steenmeelbehandelingen zijn gegroepeerd per kleur.



Figuur 4.3 NMDS ordinatie van bacteriegemeenschappen (stress = 0.15 met $k = 3$ (3^{de} as niet getoond)) per meetjaar. De verschillende steenmeelbehandelingen zijn gegroepeerd per kleur.

Binnen de schimmels kunnen de gemeenschappen verder onderverdeeld worden in functionele groepen a.h.v. hun taxonomische identiteit. Hier ligt de focus met name op de groep van ectomycorrhiza (ECM) schimmels, die in een goed functionerend eikenbos normaal gesproken een significant aandeel uitmaken van het totaal van bodemschimmels (zie ook latere Figuur 4.5 voor aandeel ECM in referenties). Daarnaast kijken we ook naar schimmels die verantwoordelijk zijn voor afbraak (schimmels die bekende afbrekers zijn van hout, strooisel, of organisch materiaal in de bodem). De ECM in de bodem zijn belangrijk omdat ze een indicatie geven van het mycelium dat de bodem koloniseert en daar exploreert voor voedingsstoffen. Het aandeel ECM was laag in de proeflocaties, gemiddeld ongeveer 10% van alle schimmels in 2020. Uit de data komt naar voren dat er veel variatie is tussen proeflocaties en meetjaren. Dit hangt mogelijk samen met bodemvariatie tussen proeflocaties, en in hoeverre steenmeel daarop aangrijpt. Daarom werd in Figuur 4.4 het verband geplot tussen bodem-pH en de abundantie van ECM. Zoals verwacht werd er in 2020 een significant verband gevonden; bodems met een hogere pH hadden gemiddeld een hoger aandeel ECM in de bodem. Echter, dit verband was in de volgende meetjaren (dus na behandeling met steenmeel) niet meer significant. Dus hoewel sommige proeflocaties, met een op het oog overrepresentatie van proefvlakken behandeld met steenmeel, een toename van ECM laten zien, is dit niet te verklaren door uitsluitend de pH toename. De sites met het hoogste aandeel ECM zijn Woeste Hoeve I (Soilfeed en Eifelgold 2022 en 2023), Keulerbosch (enkel 2022), Eikenheg (2022 beiden, 2023 enkel Eifelgold). Consistent laag is Kroondomein. Er is een trend dat zowel de abundantie van schimmels als het aandeel ECM gemiddeld hoger is in de steenmeelbehandelingen (Figuur 4.5), in zowel 2022 als 2023, maar dit geldt slechts voor een beperkt aantal proeflocaties waardoor de spreiding hoog is en het effect dus niet significant.



Figuur 4.4 Proportie van ECM schimmels als fractie van het totaal schimmels, als indicatie van hun dominantie in de bodem (0-10 cm minerale bodem). Voor de behandeling met steenmeel (2020) was er een significante positieve correlatie tussen pH en ECM ($R^2 = 0.43$, $P = 0.018$), maar in andere jaren niet meer ($P > 0.05$).

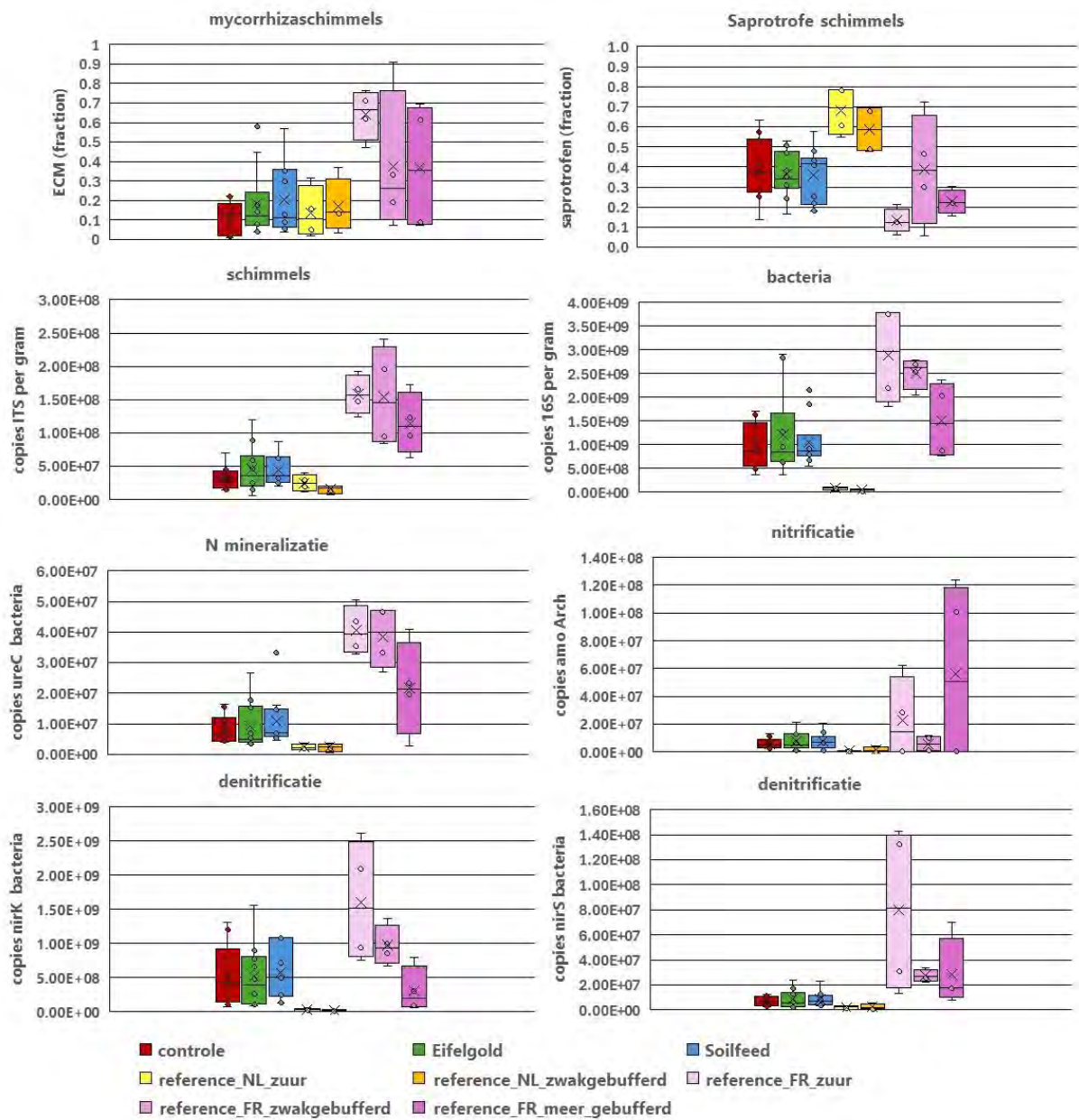
4.2 Kwantitatieve effecten van steenmeel op stikstof-cyclerende microben en op totaalabundantie van bacteriën en schimmels (onderdeel 5.3)

Nitrificerende microben (zowel in archaea en bacteriën) zijn verantwoordelijk voor de omzetting van ammonium naar nitraat. Zeer recent onderzoek heeft aangetoond dat er een positieve correlatie bestaat tussen de vitaliteit van individuele eiken en de abundantie van nitrificerende microben in de bodem (Scarlett et al. 2021), waarbij overmatige bodemverzuring mogelijk de primaire drijvende factor is: de abundantie en activiteit van de (de-)nitrificerende microbiële gemeenschap wordt immers sterk geremd bij lage pH. Deze processen kunnen uiteindelijk leiden tot overmatige ammoniumaccumulatie in de

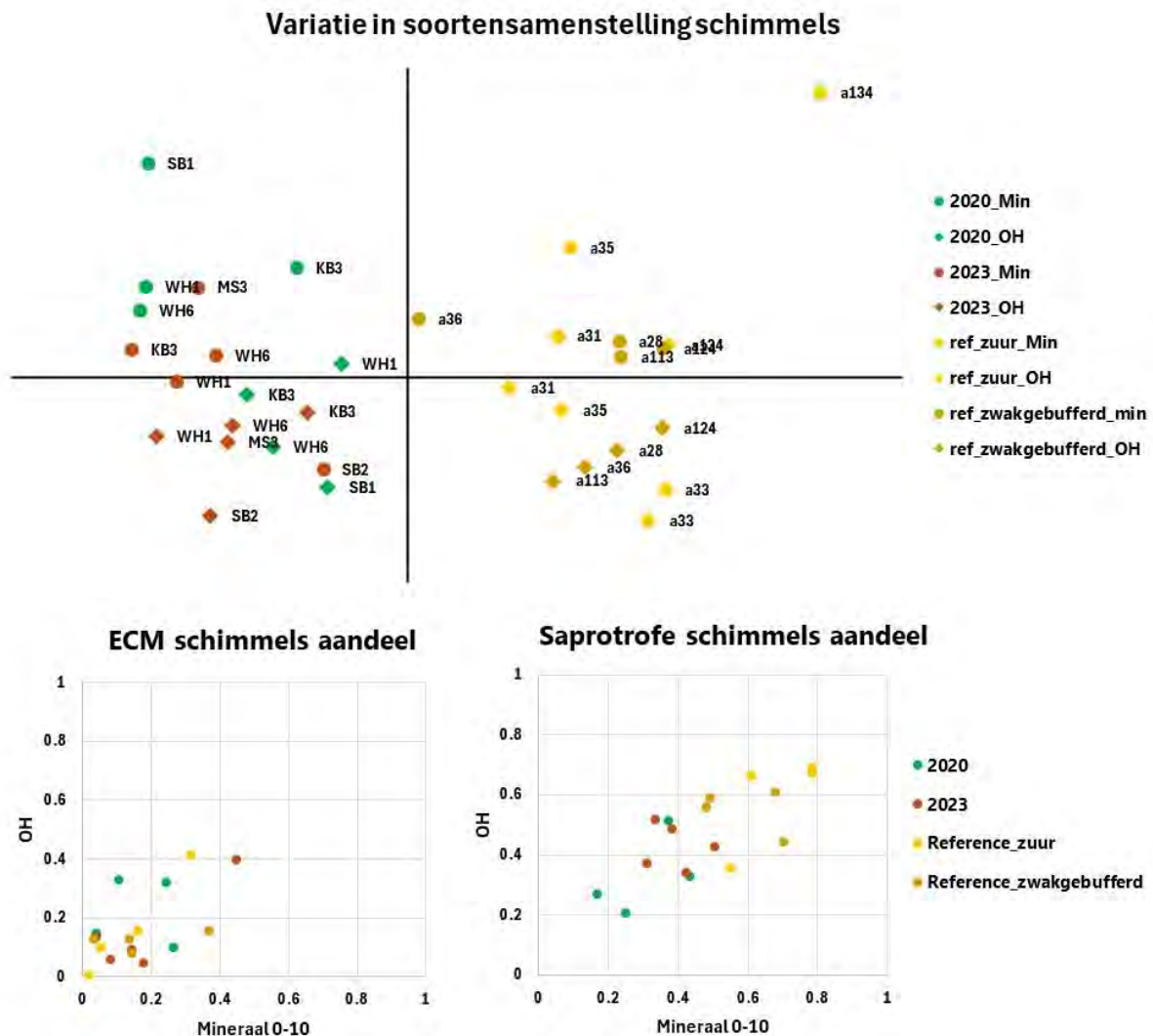
bosbodem, met potentieel negatieve effecten op de vegetatie- en schimmelmilieus. Resultaten van spoor 1 laten zien dat beide steenmeelbehandelingen de pH in de toplaag van de bodem verhoogden gedurende de 5 meetjaren (2021-2024) (Figuur 3.1). Als voorgaande processen inderdaad een rol spelen in verzuurde eikenbossen, dan is de verwachting dat deze toename in pH door toediening van steenmeel zal leiden tot een hogere abundantie en activiteit van N-cyclerende microben. Dit komt overeen met een hogere nitrificatiesnelheid die werd gevonden in de proefvlakken behandeld met steenmeel in spoor 1, en dat er een hogere totale hoeveelheid N werd genitrificeerd over een heel jaar (Figuur 3.12). Ter aanvulling van deze directe nitrificatie-activiteit bepaald in spoor 1, werd in dit spoor in alle proefvlakken ook de abundantie van groepen microben gemeten die in staat zijn tot mineralisatie, nitrificatie en denitrificatie met qPCR. Concreet werd de abundantie van het *ureC* gen (Fisher et al. 2017) het *amoA* gen (Veresoglou et al. 2019; Monteux et al. 2020)(Veresoglou et al. 2019; Monteux et al. 2020), en de *nirS* en *nirK* genen (Kandeler et al. 2006) bepaald, verantwoordelijk voor respectievelijk mineralisatie van urea (een belangrijke organische N-verbinding die vrijkomt bij afbraak van organisch materiaal en eiwitten), nitrificatie en denitrificatie. Absolute waarden van deze genen werden vervolgens ook vergeleken met de totaalabundantie van bacteriën (16S rRNA) en schimmels (ITS), waaruit ook schimmel:bacterie ratio's berekend werden. Met behulp van deze gegevens kan de vraag beantwoord worden of steenmeeltoediening rechtstreeks ingrijpt op de abundantie van N-cyclerende bacteriën, alle bacteriën (totaal) en alle schimmels (totaal) in de bodem, wat doorwerkt op de afbraak van organisch materiaal (snelheid en dominante decomposers) en op de N cyclus. Omdat er mogelijk een verband bestaat tussen de vitaliteit van eiken en de aanwezigheid van een actief nitrificerend consortium, is deze stap verder noodzakelijk om straks mechanistische verklaringen aan te kunnen reiken die verwachte verschuivingen in nutriëntenhuishouding mede zullen verklaren.

4.2.1 Resultaten

De abundantie van de verschillende microbiële groepen die werden onderscheiden worden getoond in Figuur 4.5. Net als in de andere aspecten van de gemeenschap hierboven getoond, waren er ook hier geen significante verschillen tussen de verschillende steenmeelbehandelingen in de verschillende meetjaren ($P > 0,05$). Wel zijn er enkele interessante trends waar te nemen: Voor alle microbiële groepen is het aandeel in de Franse 'referentielocaties' consistent hoger dan in de Nederlandse locaties. Zoals verwacht is de abundantie van nitrificeerders, en met name bacteriën t.o.v. Archaea, laag in deze zure bodems. Enkel voor nitrificerende bacteriën laten de Franse referentielocaties een toenemende trend zien van zuur, via zwak gebufferd, naar meer gebufferd. Opvallend is verder dat voor de abundantie van alle microbiële groepen, de Nederlandse referenties in Drenthe zeer lage getallen laten zien. Dit komt overeen met de bodemchemische gegevens van deze locaties; ze waren ook ernstig verzuurd en waren niet te onderscheiden van de controleproefvlakken in de Oude Eikenbossen (Figuur 3.7). Het kan ook zijn dat het moment van monstername net ongelukkig is geweest – door hun relatief snellere groei en turnover reageren bacteriën vaak sneller op omgevingsvariatie dan bijvoorbeeld schimmels en andere bodemorganismen.



Figuur 4.5 Abundantie van verschillende relevante microbiële groepen. Voor de overzichtelijkheid is voor de proeflocaties enkel de data van 2023 getoond. In de boxplots is met een "x" het gemiddelde aangegeven, alsmede met cirkels de individuele datapunten. ECM is uitgerekend a.h.v. taxonomische identiteit op genus-niveau, alle andere data zijn bepaald d.m.v. een kwantitatieve PCR van het specifieke gen genoemd op de y-as.



Figuur 4.6 Variatie in schimmels tussen de organische laag (OH) en 0-10 cm minerale laag (Min) in enkele steenmeelplots voor (2020) en na (2023) behandeling. Boven: NMDS ordinatie (stress = 0.13, k = 3) laat zien dat er een duidelijk onderscheid is tussen 0-10 en OH in soortensamenstelling, maar dat beiden in dezelfde mate veranderen (matig) o.i.v. steenmeel. Beneden: het aandeel van ECM schimmels en saprotrofe schimmels is vergelijkbaar tussen de verschillende plots, hoewel soms het aandeel hoger is in OH maar soms ook omgekeerd.

4.3 Conclusies spoor 2

Met behulp van deze resultaten kunnen we enkele conclusies trekken over de Oude Eikenbossen in het algemeen en wat betreft het effect van de toediening van steenmeel op het (microbiële) bodemleven:

- In vergelijking met de referentielocaties, en met name de Franse bossen, wijken de microbiële gemeenschappen in de Oude Eikenbossen op de Veluwe duidelijk af. Deze bossen worden gekenmerkt door een lage abundantie van belangrijke functionele groepen, zoals ectomycorrhiza-schimmels en nitrificerende micro-organismen. Dit wijst op een relatief verstoorde microbiële gemeenschap en een beperkte functionele capaciteit van de bodem. In het bijzonder suggereert het lage aandeel ectomycorrhiza-schimmels (~10%) dat de symbiotische relaties tussen bomen en schimmels mogelijk onder druk staan, wat consequenties kan hebben voor nutriëntenopname en de algehele vitaliteit van het boscysteem.

- De effecten van de steenmeelbehandelingen waren bescheiden wat tot uiting kwam in (veel) grotere variatie tussen proeflocaties dan tussen behandelingen, waardoor er geen significante verschillen waar te nemen waren. Dit is enerzijds bemoedigend: het is niet de bedoeling om de bodem zo ver te transformeren dat het een volledig ander type ecosysteem wordt.
- Enkele beoogde positieve effecten zoals een toename van het aandeel (ECM-) schimmels, en een toename van nitrificerende bacteriën en archaea, zijn ook niet waargenomen. Bij elk van deze "doelgroepen" valt op dat de trend wel de goede kant op gaat voor sommige proeflocaties, maar dat het altijd slechts voor een beperkt aantal locaties geldt. De verklaring hiervoor is niet (alleen) bodem-pH, zoals hierboven verkend voor ECM-schimmels. Hoewel we in deze studie meerdere variabelen gemeten hebben die mogelijk de locatie-variantie verklaren, zoals bijvoorbeeld Al-beschikbaarheid, kwaliteit en kwantiteit van bodem-organisch materiaal, is de hoeveelheid proeflocaties te beperkt om een statistisch onderscheid te maken tussen hun individuele bijdragen.
- De conclusie is dus dat de toediening van steenmeel (Eifelgold of Soilfeed) ofwel geen, ofwel een positief effect heeft op doel-microbiële groepen, met weinig risico's. Potentierijk vervolgonderzoek zou moeten kijken naar het effect van hogere doses, en een diepere analyse van locatie-gebonden variatie die ten grondslag ligt aan aan-of afwezigheid van effecten.

5 Strooiselafbraak en de rol van de bodemmesofauna (spoor 3)

5.1 Diversiteit van bodemfauna (onderdeel 6.1)

5.1.1 Nulmeting

In 2020 zijn bodemmonsters genomen in de proeflocaties voordat de steenmeelbehandelingen werden toegediend om de diversiteit van de microarthropoden vast te stellen (nulmeting). Als gevolg van onvoorziene logistieke complicaties binnen het beheer en de verwerking van de monsters, zijn niet alle verzamelde bodemmonsters beschikbaar gebleven voor analyse. Dit heeft geleid tot een onvolledige dekking van de nulmeting over de proeflocaties. In totaal zijn er 33 bodemmonsters genomen in de proeflocaties van Eikenheg (N=1), Heidensberg (N=4), Keulerbosch (N=1), Kroondomein (N=9), Maanschoten (N=6), Stroese Bergen I (N=6), Stroese Bergen II (N=5), Woeste Hoeve II (N=1) en 9 in een extra locatie Spelderholt. Er zijn dus geen bodemmonsters van de proeflocaties Woeste Hoeve I en Hoog Baarlo. Hoewel dit resulteert in een minder volledige dekking dan oorspronkelijk beoogd, biedt de dataset nog steeds een voldoende brede steekproef om de biodiversiteit van bodemmesofauna goed te karakteriseren (5082 individuen verdeeld over 144 soorten). De soortendiversiteit van de proeflocaties is vergeleken met vergelijkbare referentielocaties: oude bosbodems in de Veluwe bemonsterd in 1994 (N=12) en 2023 (N=12), oude houtwalbodems bemonsterd in 1996 (N= 40) en jonge bosbodems verzameld voor het Bodembologisch meetnet van de RIVM in 2000 (N=76). Vanuit historische bronnen (ten Houte de Lange 1977) is bekend dat de oude bosbodems en de oude houtwalbodems al bosbodems zijn sinds de middeleeuwen. De drie oude bosbodemlocaties (Loenen, Hoenderloo en Ugchelen) zijn zowel in 1994 en 2023 bemonsterd en bij deze locaties is er dus een jaareffect. De jonge bosbodems van het Bodembologisch meetnet zijn herbebest vanuit heide tussen 1880 en 1930. Ter vergelijking met de nulmeting van de proeflocaties, beslaan de referentielocaties van oude bosbodems in totaal 12 monsters (3879 individuen verdeeld over 108 soorten in 1994 en 2186 individuen over 90 soorten in 2023). In Sitters et al. (2024) staan de methoden en resultaten in meer detail.

In dit rapport zijn de belangrijkste resultaten samengevat in Tabel 5.1 en de volledige modelresultaten zijn weergegeven in Bijlage 1.6.1. Hier is te zien dat er in de proeflocaties sprake was van een verarmde bodemfauna, maar dat ook in de oude bosbodemlocaties (waar de proeflocaties mee werden vergeleken) het aantal en de soortenrijkdom van de microarthropoden flink achteruit is gegaan sinds 1994. Voornamelijk de schimmelgrazende mijten zijn flink verarmd in de proeflocaties en oude bosbodems in 2023. Deze groep mijten heeft een belangrijke rol in de strooiselafbraak aangezien ze in staat zijn om schimmelcelwanden af te breken. In dit proces komen veel voedingsstoffen vrij wat o.a. microbiële groei stimuleert (Siepel & Maaskamp 1994). Met de lage aantallen schimmelgrazende mijten wordt een ineffectieve afbraak van strooisel in de proeflocaties en in de huidige oude bosbodem locaties verwacht.

Tabel 5.1 Bodemmesofauna parameters van de nulmeting van de proeflocaties vergeleken met oud bos monsters van 1994 en 2023. Tussen haken staat de standaardfout beschreven. De data is vergeleken met een ANOVA-model; een dikgedrukte P-waarde is <0,05 en geeft aan dat er verschillen tussen de groepen werden gevonden.

Boscategorie	Nulmeting Proeflocaties 2020	Oud bos 1994	Oud bos 2023	P-waarde
Aantal monsters (N)	42	12	12	n. a
Gemiddeld aantal microarthropoden in monster	120,57 (119,72)	314,50 (209,95)	182,00 (115,76)	<0,001
Soortenrijkdom microarthropoden	24,26 (11,71)	40,67 (10,04)	28,08 (9,01)	<0,001
Soortenrijkdom schimmelgrazende mijten	5,74 (4,72)	13,08 (3,87)	6,83 (2,66)	<0,001
Proportie schimmelgrazende mijten (%)	26,70 (17,62)	41,52 (15,34)	23,86 (15,15)	0,018

5.1.2 Effectmeting

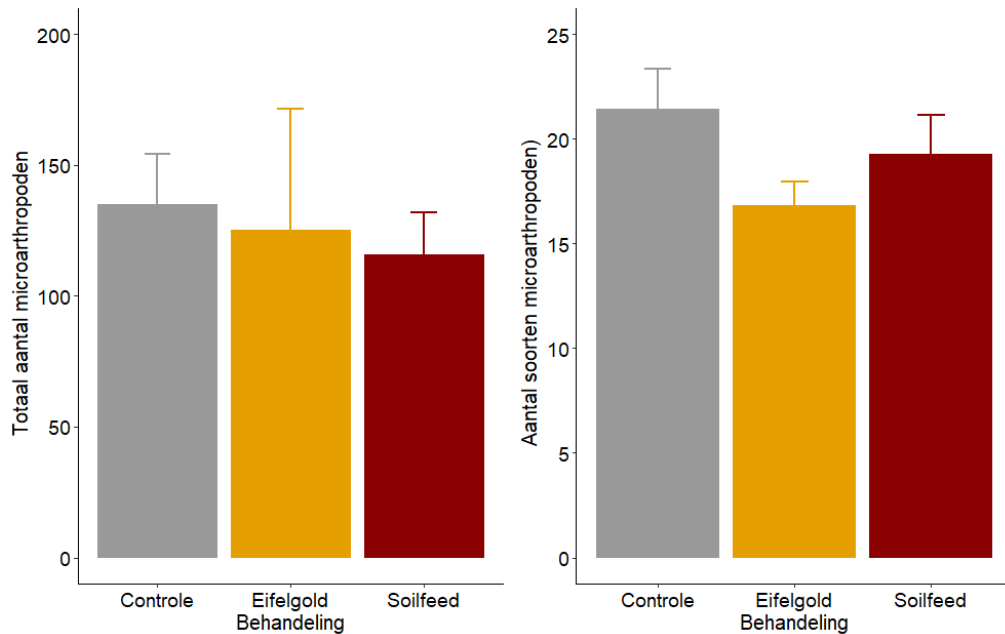
Op 27 januari 2025 vond de eindbemonstering van de proefvlakken plaats ongeveer vijf jaar na toediening van de steenmeeltypen Eifelgold en Soilfeed. In alle proefvlakken op de 10 proeflocaties werden 3 monsters genomen (in de 3 PQ's per proefvlak) met een grondboor met een taartvorm met een diameter van 5 cm. Deze monsters bestonden uit de strooisellaag en de eerste 5 cm minerale bodemlaag. Hierna is de bodemmesofauna geëxtraheerd met een Berlese-Tullgren installatie en bewaard in 70% ethanol. Deze individuen zijn vanuit het ethanol verplaatst naar een objectglaasje met 30% melkzuur voor identificatie. Alle individuen zijn zoveel mogelijk naar soort gedetermineerd en alle mijten zijn een voedselgilde toegewezen volgens Siepel & Ruiter-Dijkman (1993).

In de eindbemonstering zijn in totaal 11.306 individuen bemonsterd en tot op soort gedetermineerd. Dit leverde 130 soorten op, waarbij mijten (*Acari*) en springstaarten (*Collembola*) de meeste soorten telden met respectievelijk 104 en 21 soorten. Van de overige groepen microarthropoden: boekenschorpioenen, oer insecten, dubbelstaartjes, wortelduizendpoten en weinigpotigen zijn elk slechts één soort aangetroffen. De soorten zijn verdeeld over voedselgildes volgens Siepel & De Ruiter-Dijkman (1993), gebaseerd op hun enzymactiviteiten in het maagdarmkanaal, dus aangevend wat ze kunnen verteren: fungivore grazers, fungivore browsers, herbofungivore grazers, opportunistische herbofungivoren, herbivore browsers, herbivore grazers, omnivoren, algemene predatoren en bacterivoren. Grazers kunnen celwanden afbreken en browsers kunnen alleen de inhoud van cellen verteren. Voor fungivoren betekent dit dat de grazers een per saldo positief effect hebben op de afbraak van organische stof door schimmels (stimulering van de schimmelactiviteit, zie Siepel & Maaskamp 1994) en browsers vooral optreden in situaties met sterke schimmelgroei.

Totaal aantal microarthropoden

De steenmeelbehandelingen hadden over het algemeen geen effect op het totaal aantal microarthropoden (Figuur 5.1; $P = 0,422$). Door de grote variatie in aantallen per proeflocatie was geen enkele vergelijking tussen de nulbemonstering en eindbemonstering significant (Figuur 5.2). Het is wel opvallend dat de eindbemonstering naast gemiddeld lagere aantallen veel meer echt opvallende pieken had; het totaal aantal microarthropoden in 1 van de 3 monsters per proefvlak was meer dan 2 keer zo groot als het gemiddelde van de 3 monsters per proefvlak. In Tabel 5.2 zijn de piekwaarden en de

dominante soorten verantwoordelijk voor die piekwaarde gegeven voor de nulbemonstering en in Tabel 5.3 voor de eindbemonstering.

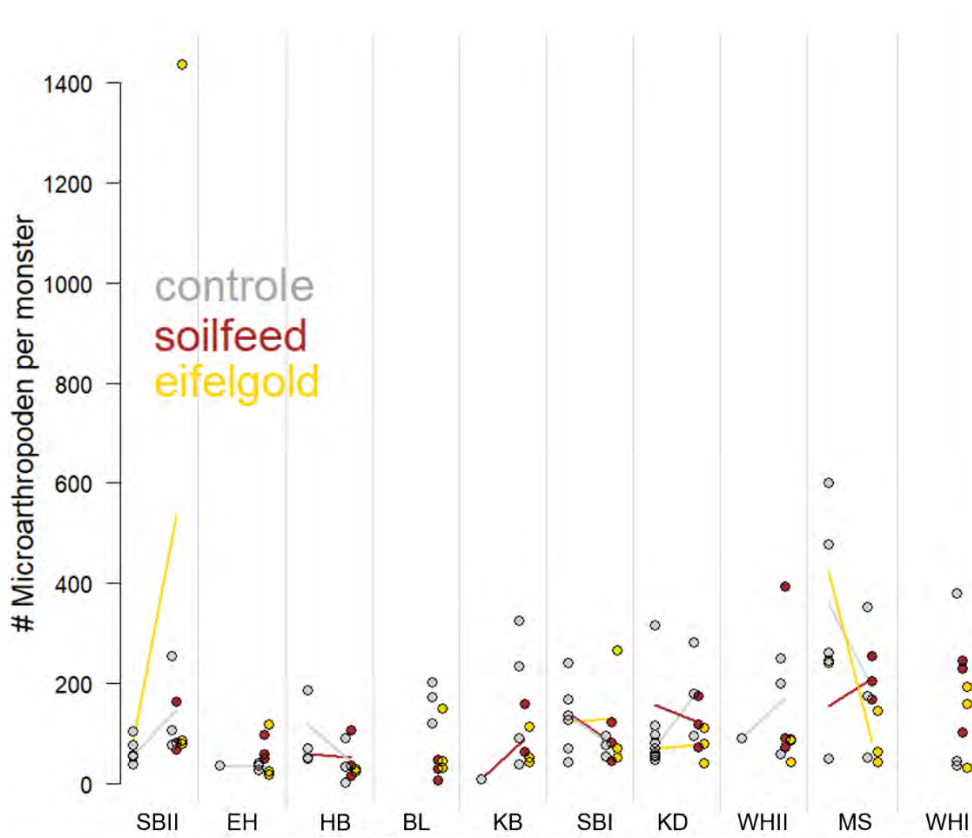


Figuur 5.1 Gemiddelde en standaardfout van het totaal aantal microarthropoden (links) en het aantal soorten microarthropoden (rechts) gevonden tijdens de effectmeting in de verschillende proefvlakken van alle 10 de proeflocaties.

Tabel 5.2 Piekwaarden (>2 x gemiddelde) in het totaal aantal microarthropoden en de dominante soort en voedselgilde voor de nulbemonstering.

Locatie	Behandeling	Aantal	Dominante soort	Voedselgilde
Kroondomein	n.v.t. (Soilfeed)	316	<i>Tectocephus velatus</i>	ohf
Maanschoten	n.v.t. (Controle)	478	<i>Suctobelbella subcornigera</i>	fb
Maanschoten	n.v.t. (Eifelgold)	601	<i>Oppeia nova</i>	fg

ohf = opportunistische herbofungivoren, fb = fungivore browsers, fg = fungivore grazers



Figuur 5.2 Aantal microarthropoden gevonden tijdens de nulmeting (grijze stippen links) en tijdens de effectmeting in de controleproefvlakken (grijze stippen rechts), en de proefvlakken behandeld met Soilfeed (rode stippen) en Eifelgold (gele stippen) per proeflocatie. Per steenmeelbehandeling zijn er 3 monsters genomen op elke proeflocatie. SBII = Stroese Bergen II, EH = Eikenheg, HB = Heidensberg, BL = Hoog Baarlo, KB = Keulerbosch, SBI = Stroese Bergen I, KD = Kroondomein, WHII = Woeste Hoeve II, MS = Maanschoten, WHI = Woeste Hoeve I. Tijdens de nulmeting was het niet gelukt om bodemmonsters van elk proefvlak in elke proeflocatie te analyseren (zie tekst bij nulmeting voor de aantallen per proeflocatie). De lijnen geven de gemiddelde verandering weer van nulmeting naar effectmeting per behandeling binnen elke proeflocatie en ontbreken in gevallen waar voor de betreffende behandeling geen nulmetingen beschikbaar waren. Geen van de weergegeven veranderingen is statistisch significant.

In de nulbemonstering zijn slechts drie piekwaarden vastgesteld, de behandeling is n.v.t., maar op basis van het proefvlaknummer is de latere behandeling toegekend. Het betreft hier allemaal fungivore Oribatida, soorten met een wat langere levenscyclus. Bij de eindbemonstering (Tabel 5.3) zijn 8 piekwaarden vastgesteld. Opvallend is de frequentie van *Platynothrus peltifer*, een herbivore grazer, die sterk reageert op de eetbaarheid van het strooisel zelf (Petersdorf et al. 2026). Een mogelijke andere verklaring is dat de waarden van deze soort piekten door het lagere gemiddelde in de eindbemonstering. Wat ook kan gelden voor *Microtritia minima*, een soort die mineert in door schimmel aangetaste bladstelen. De echt hoge piek wordt bereikt door *Pediculaster mesembrinae*, een kleine prostigmaten mijt met zeer korte levenscyclus (enkele weken) en goede verspreiding (foretisch). Deze soort reageert op de toegenomen schimmelgroei in de Eifelgold-behandeling. Dezelfde soort is ook verantwoordelijk voor de significante stijging in de Eifelgold-behandeling van de combinatie van inoculatie en steenmeelbehandeling (zie 5.4).

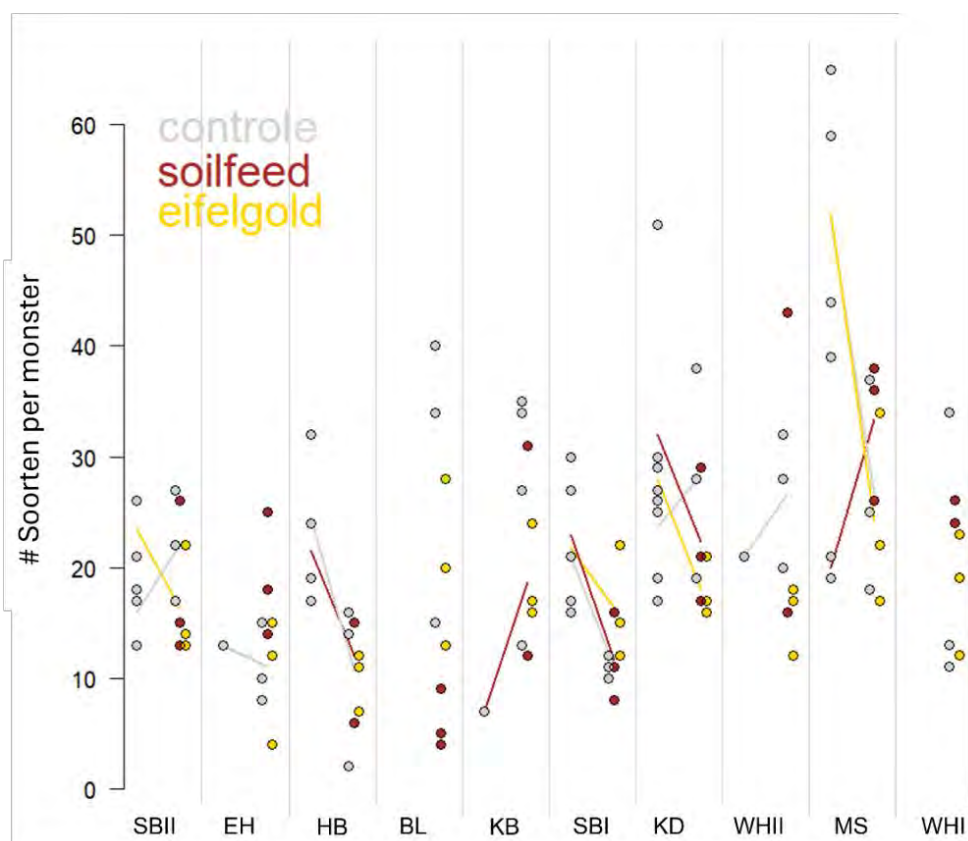
Tabel 5.3 Piekwaarden (>2 x gemiddelde) in het totaal aantal microarthropoden en de dominante soort(en) en voedselgilde voor de eindbemonstering.

Locatie	Behandeling	Aantal	Dominante soort	Voedselgilde
Stroese Bergen II	Eifelgold	1437	<i>Pediculaster mesembrinae</i>	fb
Stroese Bergen II	Controle	255	<i>Platynothrus peltifer</i>	hg
Keulerbosch	Controle	325	<i>Platynothrus peltifer</i>	hg
Stroese Bergen I	Eifelgold	265	<i>Platynothrus peltifer</i>	hg
Kroondomein	Controle	283	<i>Platynothrus peltifer</i>	hg
Maanschoten	Controle	353	<i>Platynothrus peltifer</i>	hg
Maanschoten	Soilfeed	255	<i>Platynothrus peltifer</i>	hg
Woeste Hoeve I	Controle	379	<i>Schwiebea talpa</i>	fb
Woeste Hoeve I	Controle	379	<i>Microtritia minima</i>	hfg
Woeste Hoeve I	Soilfeed	393	<i>Parisotoma notabilis</i>	fb

fb = fungivore browsers, hg = herbivore grazers, hfg = herbofungivore grazers

Aantal soorten microarthropoden

Aantallen soorten (Figuur 5.3) daalden tussen nul- en eindbemonstering over de hele linie, of bleven hoogstens ongeveer gelijk. Vooral Maanschoten, het soortenrijkste gebied in de nulbemonstering daalde sterk, van gemiddeld 41,2 soorten naar 28,1. Ook Stroese Bergen I (van 22,0 naar 13,0), Heidensberg (van 23,0 naar 10,9) en Kroondomein (van 27,9 naar 22,9) daalden sterk. Dalingen gelden voor zowel de steenmeelbehandelingen als de controles. Ook op het aantal soorten microarthropoden werd er geen significant effect van de steenmeelbehandelingen gevonden (Figuur 5.3; P = 0,08).



Figuur 5.3 Aantal soorten microarthropoden gevonden tijdens de nulmeting (grijze stippen links) en tijdens de effectmeting in de controleproefvlakken (grijze stippen rechts), en de proefvlakken behandeld met Soilfeed (rode stippen) en Eifelgold (gele stippen) per proeflocatie. Per steenmeelbehandeling zijn er 3 monsters genomen op elke proeflocatie. SBII = Stroese Bergen II, EH = Eikenheg, HB = Heidensberg, BL = Hoog Baarlo, KB = Keulerbosch, SBI = Stroese Bergen I, KD = Kroondomein, WHII = Woeste Hoeve II, MS = Maanschoten, WHI = Woeste Hoeve I. Tijdens de nulmeting was het niet gelukt om bodemmonsters van elk proefvlak in elke proeflocatie te analyseren (zie tekst bij nulmeting voor de aantallen per proeflocatie). De lijnen geven de gemiddelde verandering weer van nulmeting naar effectmeting per behandeling binnen elke proeflocatie en ontbreken in gevallen waar voor de betreffende behandeling geen nulmetingen beschikbaar waren. Geen van de weergegeven veranderingen is statistisch significant.

Resumerend en concluderend kan worden gesteld dat de bodemmesofauna een enkele positieve reactie laat zien op toediening van Eifelgold (stijging van fungivore browsers, dus activering van de decompositie), maar dat overwegend weinig respons is gemeten. Ten dele komt dit door (toegenomen) variatie in de bemonstering, maar ten dele ook door de parallele algehele achteruitgang van de aantallen, en vooral van de soortenrijkdom van de bodemmesofauna zelfs al gedurende de relatief korte periode van dit onderzoek. Ook Bruggink et al. (2025) konden al laten zien dat de oude eikenbossen er slecht voor stonden wat betreft de soortenrijkdom van vooral de schimmelelers, maar ook dat de wat rijkere bossen (Wintereikenbeukenbos met Hulst) in soortenaantal sterk waren teruggelopen tussen referentiemonsters uit 1996 en recente bemonsteringen (2022) van dezelfde locaties. Ook hier waren het vooral de schimmelelers die achteruit gingen. Gezien de beperkte dispersiecapaciteit van deze soorten betekent verlies doorgaans lokaal uitsterven met zeer kleine kans op hervestiging, terwijl juist deze schimmelelers van groot belang zijn voor de stimulering van de decompositie en daarmee het weer recirculeren van nutriënten in de bosbodems.

5.2 Effect van C/N, N/P en C/P ratio's op de decompositiesnelheid (onderdeel 6.2)

5.2.1 Methode

De litterbags zijn in november 2022 geplaatst en in augustus 2024 zijn de laatste bemonsterd. De litterbags zijn gesloten zakjes van plastic met een gaas grootte van twee mm om grotere fauna uit te sluiten. Elke litterbag is gevuld met ten minste vijf gram droog bladmateriaal van verschillende boomsoorten en seizoenen (zie Tabel 5.4 voor een overzicht van de behandelingen). Dit experiment is uitgevoerd in Beekbergen (52.08516, 5.57433) op een standplaats met Zomereiken. Op deze locatie zijn in november 2022 in totaal 360 litterbags uitgezet met zes behandelingen (Tabel 5.4). Tot en met augustus 2024 zijn er op acht bemonsteringsmomenten per behandeling vijf litterbags verzameld. Bij deze litterbags zijn microarthropoden geëxtraheerd met de Berlese-Tullgren methode en opgevangen in 70% ethanol. Deze ethanol monsters zijn later op objectglasjes gezet met 30% melkzuur voor identificatie. De litterbags zijn daarna gedroogd in een stoof op 70°C voor 24 uur waarna het drooggewicht is gemeten. Daarna zijn de litterbags naar Onderzoekcentrum B-ware gestuurd voor bladchemische bepalingen (C/N analyse, totaal elementen zoals P, Ca, K en Mg). Van deze bladmonsters is een klein gedeelte achtergehouden voor DNA-identificatie van de schimmels in deze litterbags. Hiermee kan een relatie worden gelegd met enerzijds de activiteit van de schimmels in de afbraak en anderzijds met de diversiteit van de (schimmeletende) bodemmesofauna.

Tabel 5.4 Verklaring afkorting behandelingen litterbagexperiment

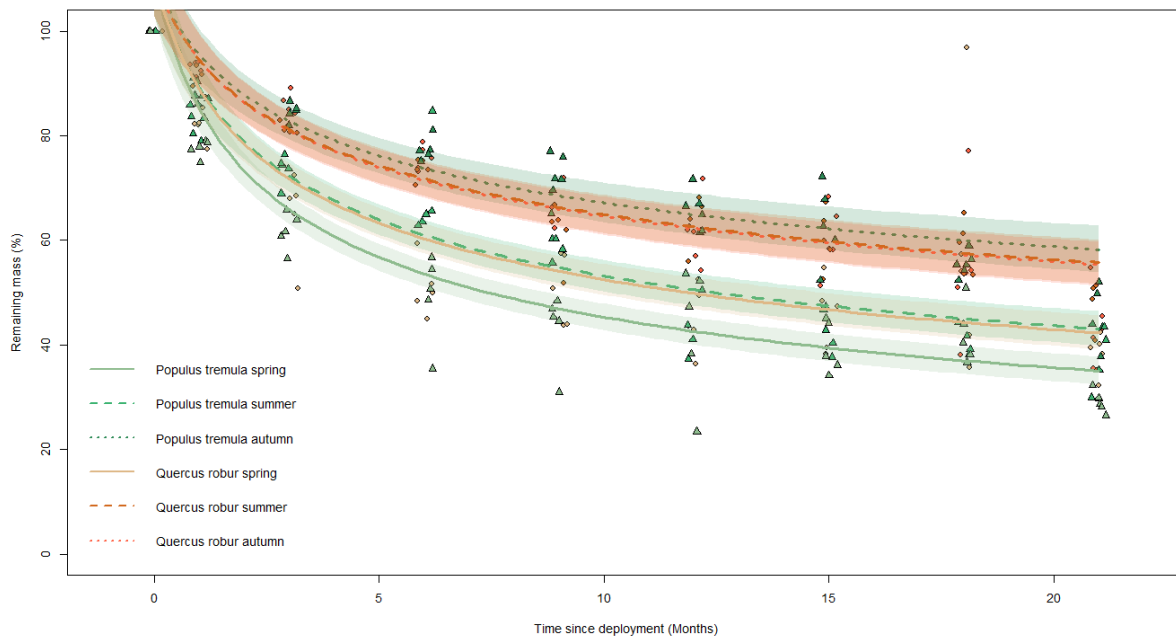
Behandeling	Betekenis
PV	<i>Populus tremula</i> Voorjaarsblad
PZ	<i>Populus tremula</i> Zomerblad
PN	<i>Populus tremula</i> Najaarsblad
QV	<i>Quercus robur</i> Voorjaarsblad
QZ	<i>Quercus robur</i> Zomerblad
QN	<i>Quercus robur</i> Najaarsblad

5.2.2 Resultaten

Decompositie bladeren

Voorjaarsblad van de Ratelpopulier (*Populus tremula*) (PV) brak het snelst af, gevolgd door voorjaarsblad van de Zomereik (*Quercus robur*) (QV) en zomerblad van de Ratelpopulier (PZ) (Figuur 5.4). De behandelingen zomerblad en najaarsblad van Zomereik (QZ en QN) en het najaarsblad van Ratelpopulier (PN) braken het langzaamst af. Uit voedselexperimenten met een herbivore grazer mijt (zie volgende hoofdstuk) blijkt dat het voorjaarsblad van Ratelpopulier het meest verteerbaar is en dus ook hier het snelst afbreekt. Daarnaast werd het herfstblad van de Zomereik het langzaamste afgebroken. Deze

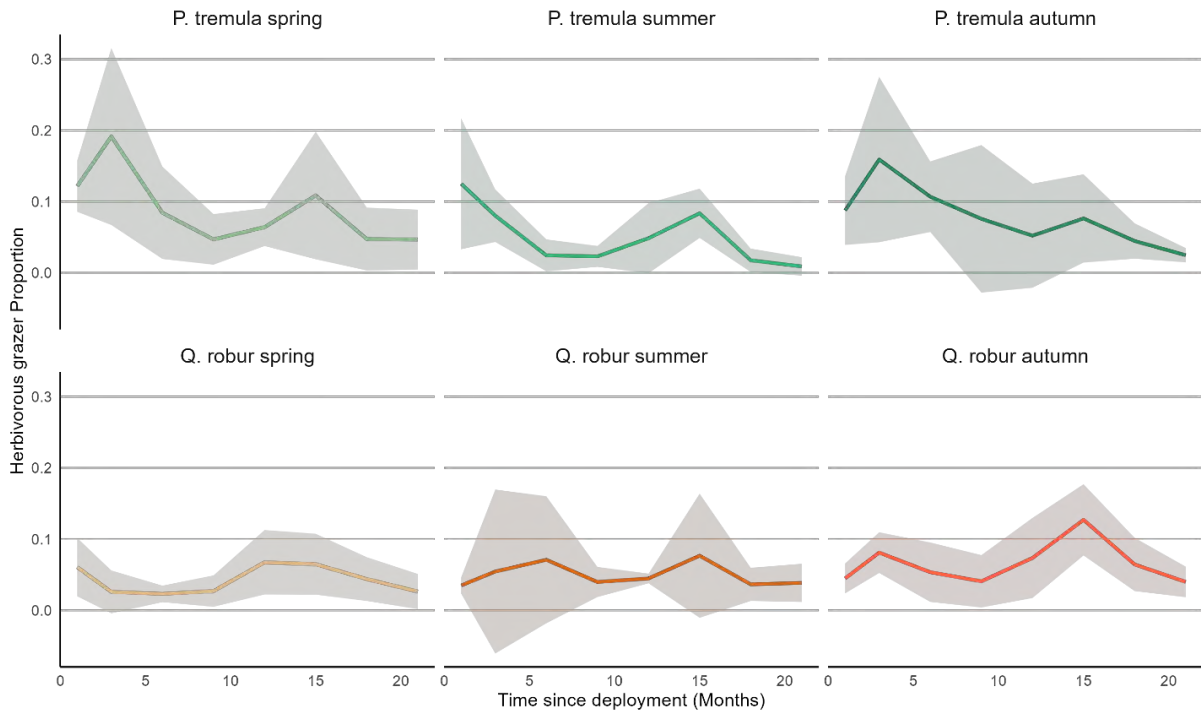
bladsoort bleek ook in het voedingsexperiment het moeilijkst verteerbaar te zijn voor mijten.



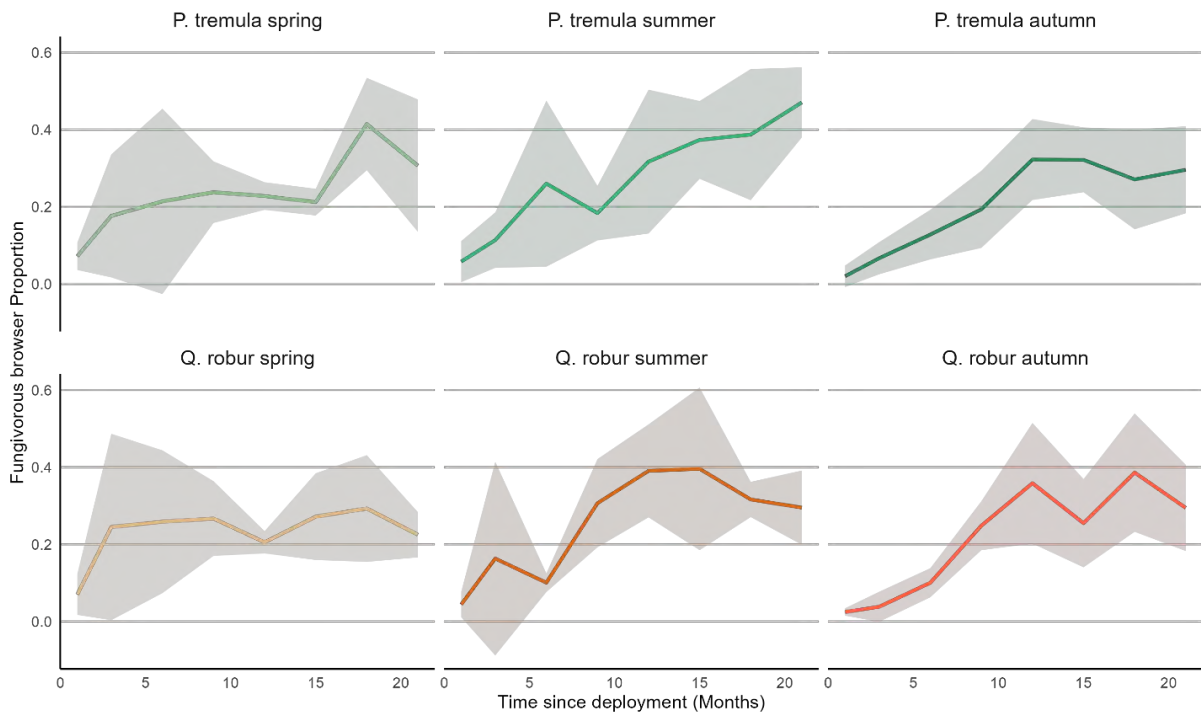
Figuur 5.4 Gemiddelde overgebleven gewicht van litterbags (gram) voor alle behandelingen over tijd met standaardfout.

Samenstelling microarthropoden gemeenschap

Herbivore microarthropoden zijn vooral aan de start van de strooiselafbraak betrokken, met het grootste deel bij voorjaarsbladeren van de Ratelpopulier (PV) (Figuur 5.5). De herbivore microarthropoden eten de makkelijk verteerbare delen van verse bladeren en dragen hierdoor direct bij aan de strooiselafbraak. Fungivore microarthropoden nemen over de tijd toe in alle behandelingen (Figuur 5.6). Ze zijn enkel indirect bij de strooiselafbraak betrokken, omdat ze de schimmels eten die de moeilijk verteerbare stoffen van het strooisel afbreken.



Figuur 5.5 Gemiddeld aandeel van herbivore microarthropoden (grazers en browsers samen) gevonden in de litterbags per maand per behandeling.



Figuur 5.6 Gemiddeld aandeel van fungivore microarthropoden (browsers, grazers en herbo-fungivore grazers samen) gevonden in de litterbags per maand per behandeling.

Mijt kweekexperiment op verschillend voedsel

In dit laboratoriumexperiment werd de invloed van voedselkwaliteit op de reproductie van de oribatide mijt *Platynothrus peltifer* onderzocht. Mijten werden verzameld uit mos in een bos bij Nijmegen en onder gecontroleerde omstandigheden in een klimaatkamer gehouden. Vervolgens werden zij gedurende 60 dagen blootgesteld aan zeven behandelingen: zes bladtypes (Zomereik en Ratelpopulier, elk uit drie

seizoenen: voorjaars-, zomer- en najaarsblad) en een controle zonder voedsel. De bladeren werden gedroogd, gemalen en geanalyseerd op nutriënten (o.a. C, N, P) en sporenelementen.

Per behandeling werden replicaten opgezet met meerdere individuen, en wekelijks werd het aantal gelegde eieren geregistreerd. De reproductie werd uitgedrukt als 'productiviteit' (aantal eieren gecorrigeerd voor overleving). Met behulp van lineaire modellen is de relatie tussen voedselkwaliteit en reproductie geanalyseerd.

De voedselkwaliteit verschilde duidelijk per boomsoort en seizoen, met variaties in onder andere stikstof-, fosfor- en fenolgehalten. Mijten produceerden de meeste eieren wanneer zij gevoed werden met jonge (voorjaars)bladeren van Ratelpopulier, en deze behandeling was significant productiever dan meerdere andere behandelingen en de controle.

Over het algemeen waren voorjaarsbladeren productiever dan zomer- en najaarsbladeren. Uit de modellen bleek dat stikstof en fosfor een positieve invloed hadden op de eiproductie, terwijl koolstof en fenolen een negatieve invloed hadden. Fosfor lijkt de belangrijkste beperkende factor voor reproductie. Daarnaast hadden kalium (positief effect) en silicium (negatief effect) een significante invloed op de productiviteit. De resultaten tonen aan dat de reproductie van *Platynothrus peltifer* sterk wordt beïnvloed door de nutriëntensamenstelling van het voedsel, waarbij fosfor waarschijnlijk een beperkende factor is.

Voor meer informatie zie de publicatie Petersdorf et al. 2024 (<https://www.mdpi.com/1424-2818/16/6/340>).

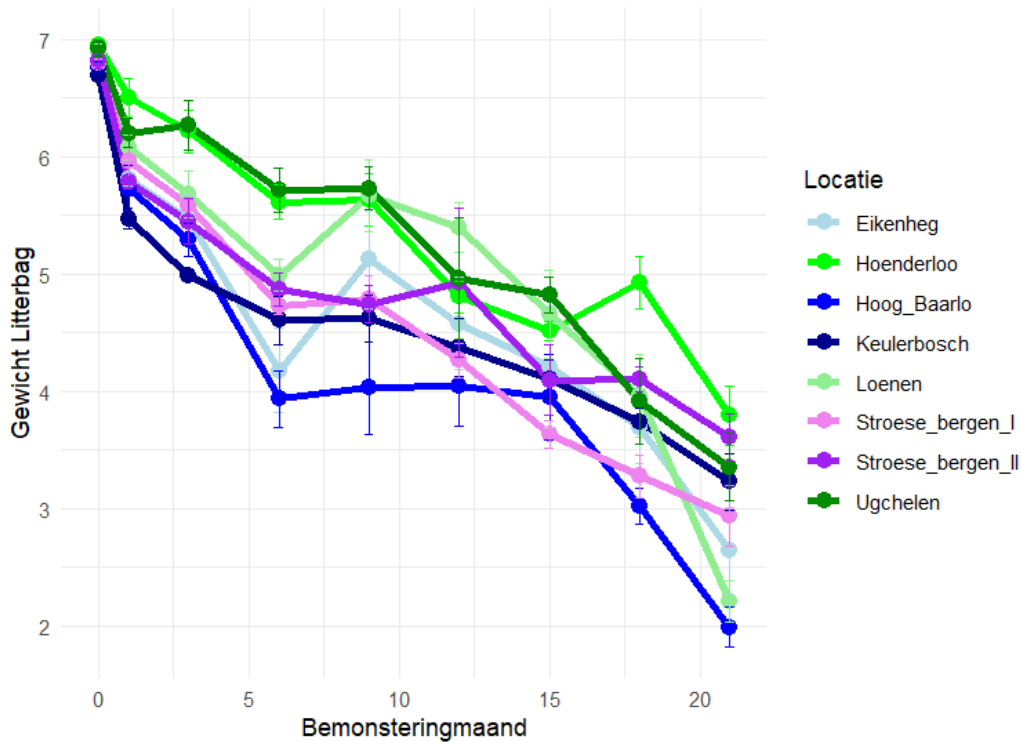
5.3 Effect van standplaats op de decompositiesnelheid (onderdeel 6.3)

5.3.1 Methode

Net als het litterbagexperiment van onderdeel 6.2, is dit experiment in november 2022 ingezet en is in augustus 2024 voor het laatst bemonsterd. De litterbags zijn gesloten zakjes van plastic met een gaas grootte van twee mm om grotere fauna uit te sluiten. Elke litterbag is gevuld met ten minste vijf gram droog bladmateriaal. In dit experiment werd hetzelfde bladmateriaal gebruikt (najaarsblad van de Zomereik) en werden litterbags op acht verschillende locaties begraven. Deze locaties zijn vijf proeflocaties (Eikenheg, Hoog Baarlo, Keulerbosch, Stroese Bergen I en Stroese Bergen II) en drie oude bosbodem locaties (Hoenderloo, Loenen en Ugchelen). In elk locatie zijn in totaal 60 litterbags begraven. In de proeflocaties werden de litterbags begraven in de enclosure van het controleproefvlak. Tot en met augustus 2024 zijn er op acht bemonsteringsmomenten per behandeling vijf litterbags verzameld. Bij deze litterbags zijn microarthropoden geëxtraheerd met de Berlese-Tullgren methode en opgevangen in 70% ethanol. Deze ethanol monsters zijn later op objectglasjes gezet met 30% melkzuur voor identificatie. De litterbags zijn daarna gedroogd in een stoof op 70°C voor 24 uur waarna het drooggewicht is gemeten. Daarna zijn de litterbags naar Onderzoekcentrum B-ware gestuurd voor bladchemische bepalingen (C/N analyse, totaal elementen zoals P, Ca, K en Mg).

5.3.2 Resultaten

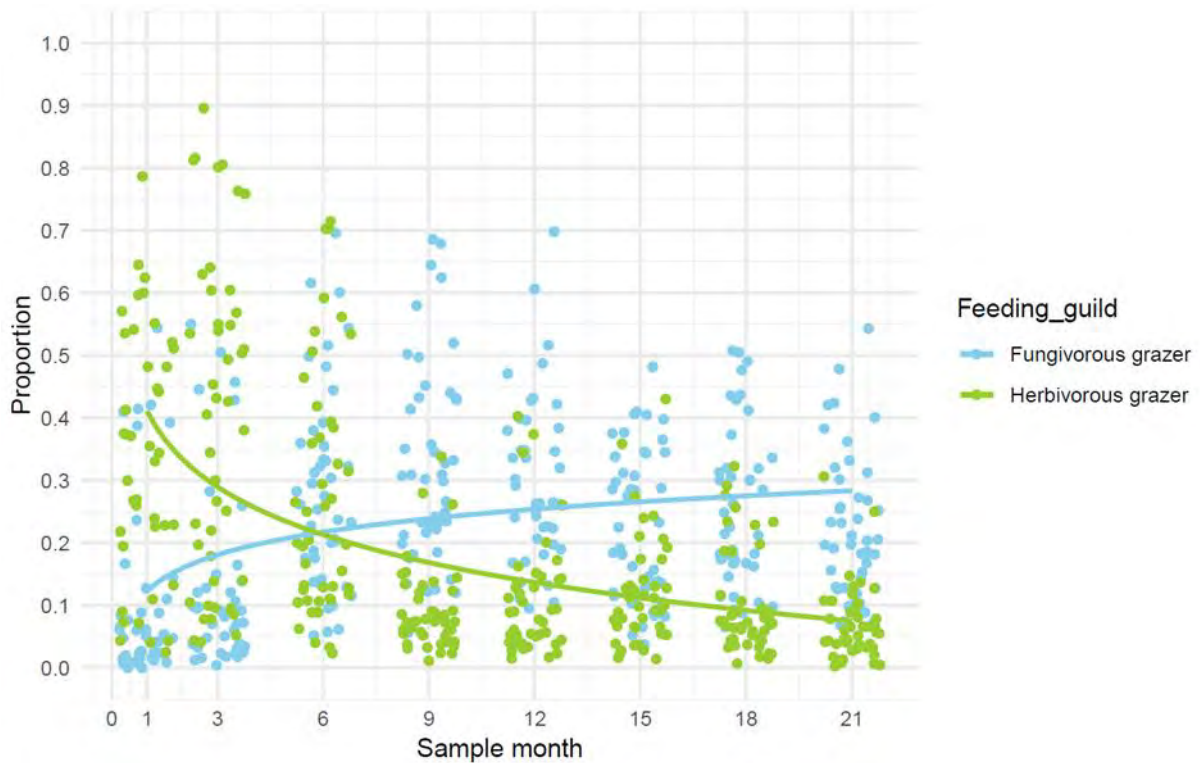
Litterbags in de proeflocaties hadden een gemiddeld hoger gewichtsverlies vergeleken met de oud boslocaties (lm, est=0,494, t-value=6,905, $P < 0,001$; Figuur 5.7). Binnen de proeflocaties waren significante verschillen tussen locaties (ANOVA, df=4, $F=5,181$, $P < 0,001$). Hoog Baarlo had een significant hoger gewichtsverlies dan de locaties Eikenheg (TukeyHSD, $P = 0,033$) en Stroese Bergen II (TukeyHSD, $P < 0,001$). Volledige modelresultaten zijn weergegeven in Bijlage 1.6.2.



Figuur 5.7 Gewichtsverlies (gram) in litterbags op de acht locaties. De drie oud bosbodem locaties zijn in groene kleuren weergegeven en de proeflocaties in blauwe of paarse kleuren. Bij elke bemonsterpunt is het gemiddelde gewicht afgebeeld met de standaardfout.

De ontwikkeling van de voedingsgilden wordt weerspiegeld in de verhoudingen tussen herbivore grazers en fungivore grazers in de litterbags. Herbivore grazers begonnen dominant met een gemiddeld aandeel van $34,04 \pm 3,11\%$ in de eerste maand, maar hadden aan het einde van het experiment nog maar $6,93 \pm 0,88\%$ (ANOVA, $F_1, 338 = 235,08$, $P < 0,001$; **Figuur 5.8**). Fungivore grazers vertoonden het tegenovergestelde patroon, beginnend met een aandeel van slechts $10,81 \pm 2,25\%$, maar met een piek

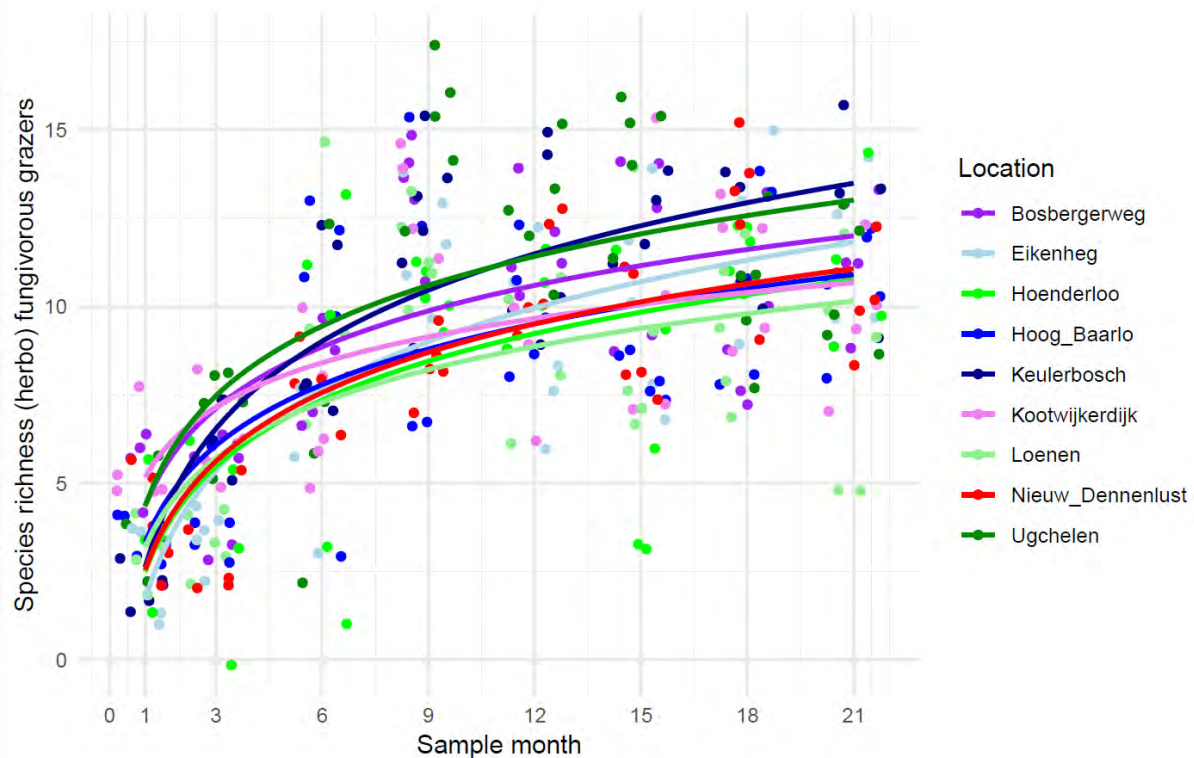
van $32,46 \pm 2,87\%$ na 21 maanden (ANOVA, $F_1, 339 = 101,97$, $p < 0,001$). De kruising tussen de twee voedingsgilden is na 6 maanden.



Figuur 5.8 Het aantal microarthropoden in de litterbags op de acht locaties tijdens de bemonsteringmomenten.

Soortenrijkdom van herbivoren en fungivoren

Ondanks het feit dat herbivoren de eerste 6 maanden het meest talrijk waren, nam de soortenrijkdom van herbivore grazers in de loop van de tijd significant toe (ANOVA, $F_1, 331 = 3,20$, $P = 0,002$). De soortenrijkdom van de fungivore grazers nam in de loop van de tijd sterk toe (ANOVA, $F_1, 331 = 279,12$, $P < 0,001$; Figuur 5.9) en verschilde tussen locaties (ANOVA, $F_8, 331 = 6,543$, $P < 0,001$). Een vergelijkbaar patroon werd gevonden bij herbivore grazers, waarvan de soortenrijkdom in de loop van de tijd toenam (ANOVA, $F_1, 331 = 154,59$, $P < 0,001$) en tussen locaties verschilde (ANOVA, $F_8, 331 = 154,90$, $P < 0,001$). Er was een significante interactie tussen locatie en bemonsteringsmaand bij herbivore grazers (ANOVA, $F_8, 331 = 4,190$, $P = 0,001$).



Figuur 5.9 Soortenrijkdom van fungivore grazers in de litterbags tijdens de bemonsteringmomenten. Bosbergerweg = Stroese Bergen II, Kootwijkerdijk = Stroese Bergen I, Nieuw Dennenlust is geen onderdeel van de proeflocaties of oud bosbodem locaties.

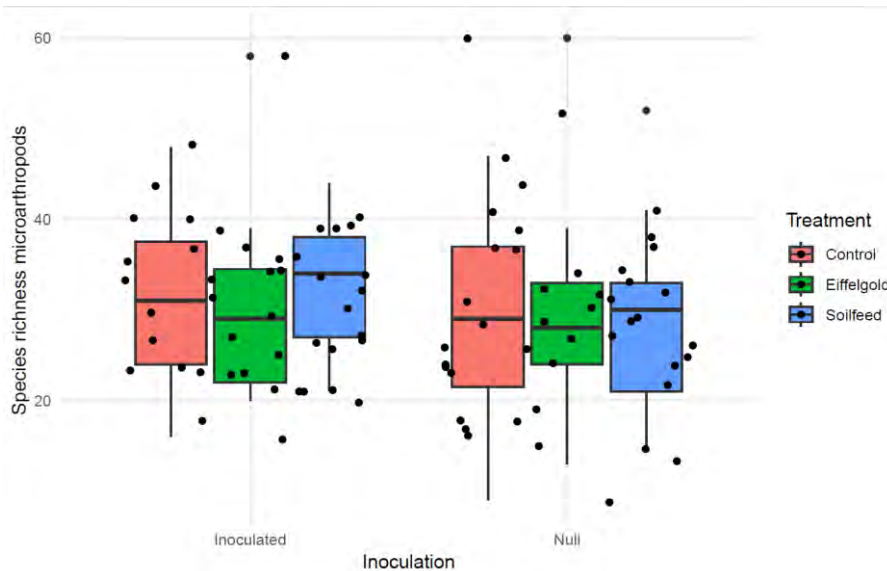
5.4 Gecombineerd effect van steenmeel en diversiteit van de bodemmesofauna (onderdeel 6.4)

Dit onderdeel betreft het bodementing (bodeminoculatie) experiment. Dit is in oktober 2023 ingezet is in maart 2025 bemonsterd. In totaal is er 30 m² bosbodem verzameld in de oude bosbodem locatie Ugchelen. Deze bodem is daarna verplaatst naar vijf proeflocaties voor het experiment (Eikenheg, Hoog Baarlo, Keulerbosch, Stroese Bergen I en Stroese Bergen II). In de exclusies van elk proefvlak zijn twee kleinere plots gemaakt van 2x2 meter. Bij één van deze plots is 2 m² oude bosbodem toegevoegd en bij de andere niets (controle). Hierdoor ontstaat er een full factorial opstelling met een steenmeelbehandeling van Eifelgold of Soilfeed of geen steenmeelbehandeling én wel of geen bodementing. Bij de eindbemonstering werd in elk plot vier bodemmonsters genomen voor microarthropoden extractie. Na bodemextractie werd een mengmonster gemaakt voor elke plot voor bodemchemische bepalingen (basenverzadiging, beschikbare concentraties aan kationen, etc.).

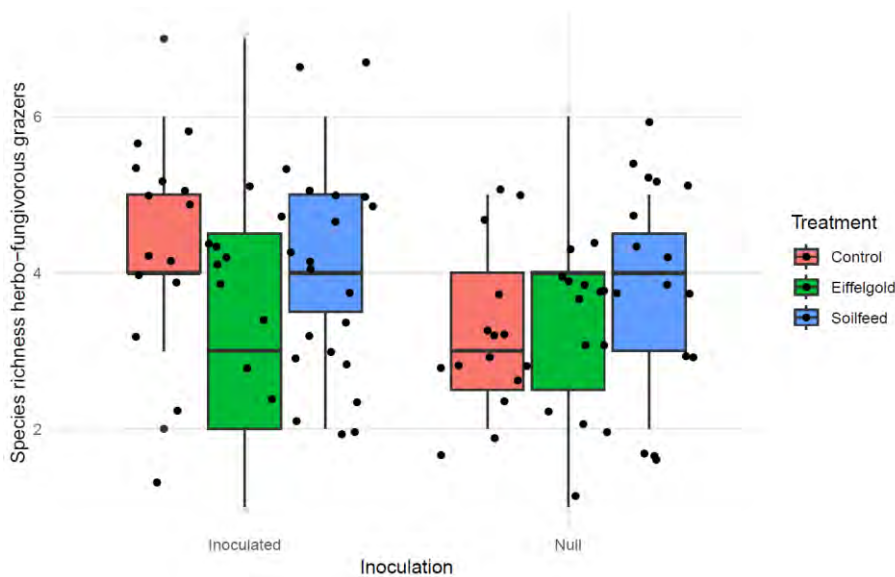
Effect van inoculatie op soortenrijkdom

De soortenrijkdom van microarthropoden (Figuur 5.10) werd niet significant beïnvloed door bodeminoculatie (ANOVA, F3, 90 = 0,899, P = 0,346) of behandeling met steenmeel (ANOVA, F3, 90 = 0,065, P = 0,937). Er werd ook geen effect van inoculatie gevonden op de soortenrijkdom van fungivore grazers (ANOVA, F3, 90 = 0,200, P = 0,656; Figuur 5.11). Geïnoculeerde plots hadden weliswaar een hogere rijkdom aan herbivoren en fungivoren dan initiële plots (geïnoculeerd: \bar{x} = 4,00, SE = 0,20; nul: \bar{x} = 3,49, SE = 0,17; Figuur 5.11), maar dit was net niet significant (ANOVA, F3, 90 = 3,869, P = 0,053). Het effect van inoculatie op de rijkdom aan herbivore en fungivore soorten verschilde tussen de behandelingen, waarbij de controleplots het sterkste effect hadden (geïnoculeerd: \bar{x} = 4,47, SE = 0,31; nul: \bar{x} = 3,40, SE = 0,29) en de Eifelgold-plots geen effect van inoculatie hadden (geïnoculeerd: \bar{x} = 3,40, SE = 0,41; nul: \bar{x} = 3,40, SE = 0,34). De interactieterm van inoculatie en behandeling met steenmeel was

echter niet significant (ANOVA, $F = 1,412$, $P = 0,250$). Deze hogere soortenrijkdom aan herbivore en fungivore soorten (Figuur 5.11) komt tot uiting in het feit dat meerdere soorten vaker voorkwamen in de geënte plots vergeleken met de nulplots: *Nanhermannia nana* (geënt: 25 monsters, nul: 18 monsters), *Microtritia minima* (geënt: 23 monsters, nul: 16 monsters) en *Pergalumna nervosa* (geënt: 8 monsters, nul: 2 monsters).



Figuur 5.10 Soortenrijkdom van de bodemmicroarthropoden van geënte en nulplots van de controleproefvlakken en de proefvlakken behandeld met Eiffelgold of Soilfeed.

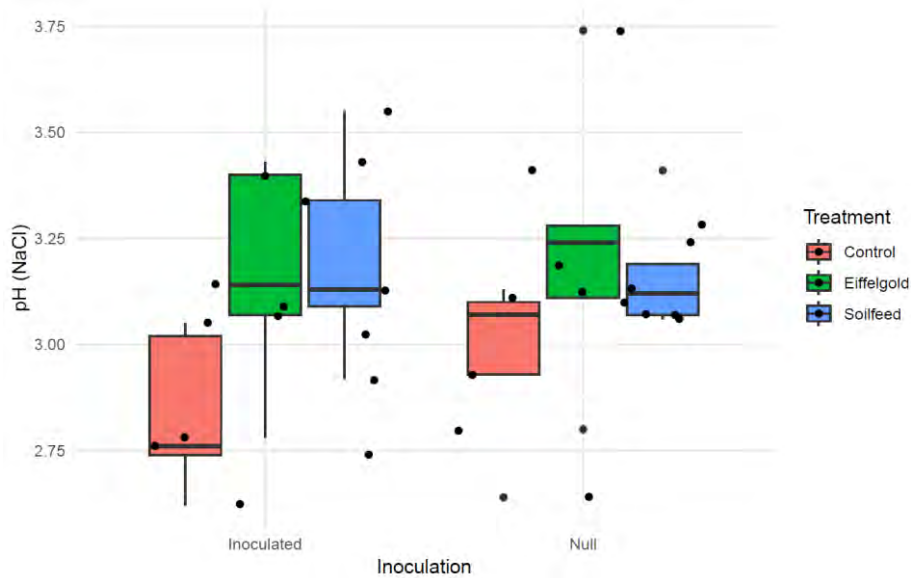


Figuur 5.11 Soortenrijkdom van alleen de fungivore en herbofungivore grazers van geënte en nulplots van de controleproefvlakken en de proefvlakken behandeld met Eiffelgold of Soilfeed.

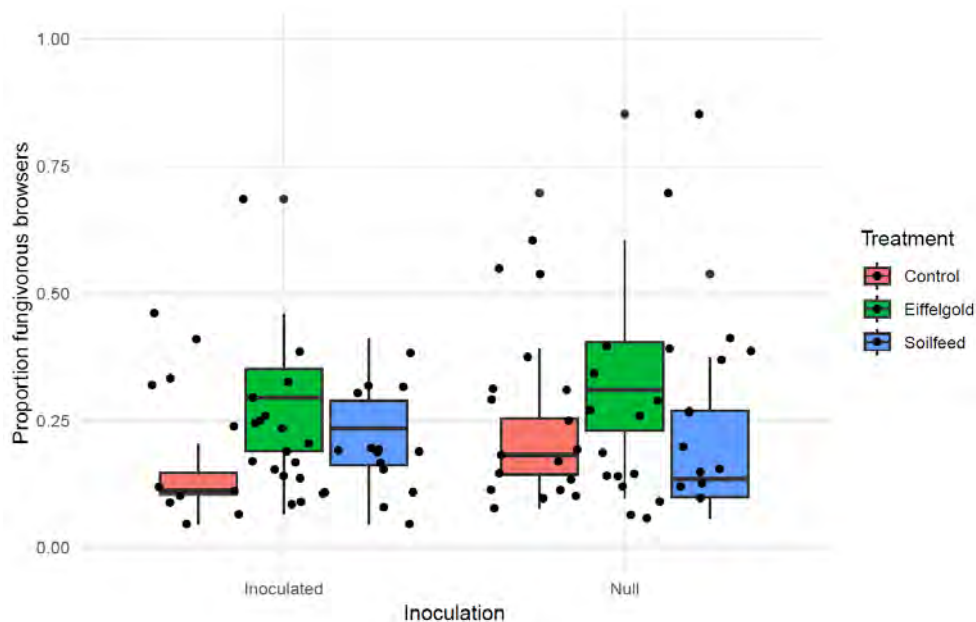
Effect van steenmeelbehandeling

Behandeling met steenmeel verhoogde de pH van de bodem significant met een gemiddelde waarde van 0,3 eenheden in beide steenmeelbehandelingen (ANOVA, $F = 7,390$, $P = 0,004$, Figuur 5.12). Het aandeel schimmelende browsers verschilde sterk tussen de steenmeelbehandelingen (ANOVA, $F_3, 90 = 10,089$, $P < 0,001$; Figuur 5.13). De Eiffelgold-behandelde proefvlakken hadden een 1,5 keer hoger aandeel aan schimmelende browsers ($\bar{x} = 0,32$, $SE = 0,03$) dan zowel de controleproefvlakken ($\bar{x} = 0,18$, $SE = 0,02$) als de Soilfeed-behandelde proefvlakken ($\bar{x} = 0,20$, $SE = 0,02$). Het effect van steenmeel op

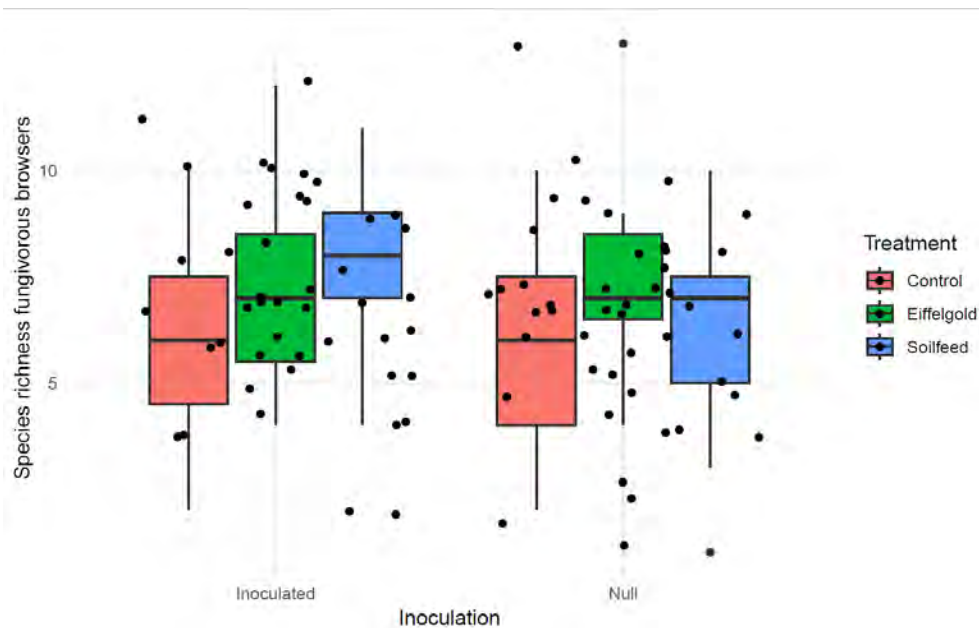
het aandeel fungivore browsers hing enigszins af van de inoculatie, aangezien er een licht insignificante interactieterm was (ANOVA, $F = 2,843$, $P = 0,064$). Vooral de controleproefvlakken werden beïnvloed door bodeminoculatie (geïnoculeerd: $\bar{x} = 0,12$, $SE = 0,01$; nul: $\bar{x} = 0,23$, $SE = 0,04$). De soortenrijkdom van fungivore browsers verschilde ook tussen de behandelingen met steenmeel, waarbij Soilfeed het hoogste gemiddelde aantal soorten had, maar dit was niet significant (ANOVA, $F_{3, 90} = 2,421$, $P = 0,095$, Figuur 5.14).



Figuur 5.12 pH van de bodem (NaCl) zoals beïnvloed door bodeminoculatie (geïnoculeerd en nul) of behandeling met steenmeel (controle, Eiffelgold en Soilfeed).

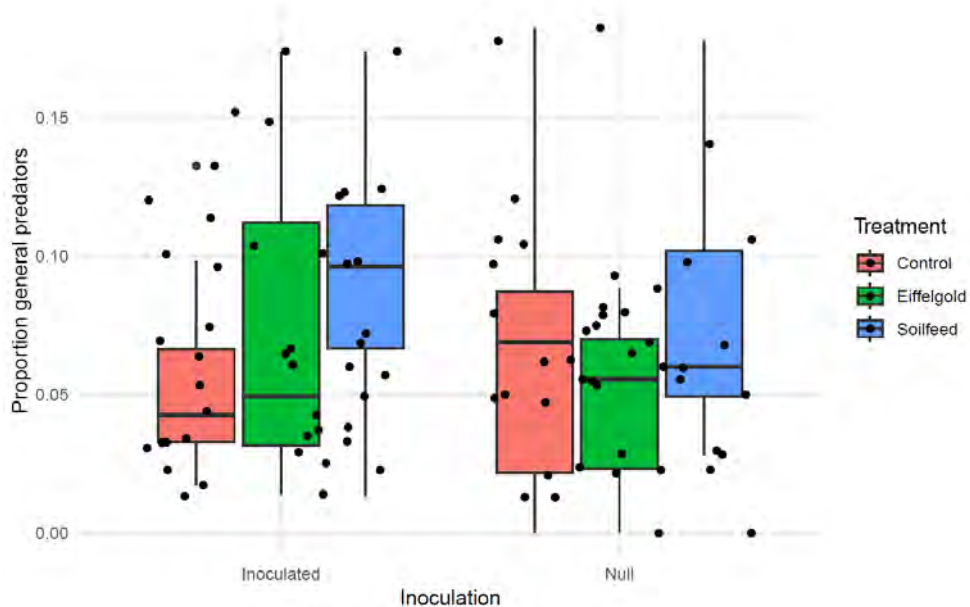


Figuur 5.13 Het aandeel fungivore browsers zoals beïnvloed door bodementen (geïnoculeerd en nul) of behandeling met steenmeel (controle, Eiffelgold en Soilfeed).



Figuur 5.14 De soortenrijkdom van fungivore browsers zoals beïnvloed door bodementen (geïnoculeerd en nul) of behandeling met steenmeel (controle, Eifelgold en Soilfeed).

Het aandeel predatoren onder de microarthropoden verschilde ook tussen de steenmeelbehandelingen (ANOVA, F3, 90 = 4,840, P = 0,010; Figuur 5.15). De Soilfeed-behandelde proefvlakken hadden significant hogere percentages predatoren (\bar{x} = 0,086, SE = 0,001) dan zowel de controleproefvlakken (\bar{x} = 0,060, SE = 0,001; TukeyHSD, t = -2,672, P = 0,025) als de Eifelgold-behandelde proefvlakken (\bar{x} = 0,060, SE = 0,001; TukeyHSD, t = -2,717, P = 0,022). Het verschil tussen Soilfeed en Eifelgold was sterker in zowel geënte als nulplots, hoewel er geen significante interactie was tussen steenmeel en enting (ANOVA, F3, 90 = 0,705, P = 0,497). Soilfeed had ook een hogere soortenrijkdom aan predatoren, hoewel dit niet significant was (ANOVA, F3, 90 = 1,781, P = 0,175).



Figuur 5.15 Het aandeel predatoren onder de microarthropoden - beïnvloed door bodementing (geïnoculeerd en nul) of behandeling met steenmeel (controle, Eifelgold en Soilfeed).

5.5 Conclusies spoor 3

Met behulp van bovenstaande resultaten kunnen we enkele conclusies trekken wat betreft de microarthropoden gemeenschap in het algemeen en het effect van bodementing en toediening van steenmeel op deze gemeenschap:

- In de proeflocaties is de microarthropoden fauna sterk verarmd, met name de schimmelgrazende mijten. Ook in de referentielocaties is sinds 1994 een duidelijke achteruitgang zichtbaar in zowel aantallen als soortenrijkdom. Deze achteruitgang lijkt zelfs in de relatie korte looptijd van dit onderzoek verder te zijn doorgezet.
- De verarming van schimmelgrazende mijten heeft vermoedelijk geleid tot een verminderde strooiselafbraak in zowel proef- als referentielocaties, gezien hun sleutelrol in het afbreken van schimmelcelwanden en daarmee hun stimulerende werking op de afbraak van organisch materiaal door schimmels.
- De bladkwaliteit blijkt bepalend voor de afbraaksnelheid en de activiteit van microarthropoden: bladeren met hogere fosforgehalten worden sneller afgebroken en stimuleren de reproductie van herbivore mijten. In de vroege fasen van strooiselafbraak domineren herbivore grazers; in latere fasen nemen fungivore soorten de afbraak over, maar in de boslocaties zijn dat dus verarmde fauna-elementen.
- De bodementing met oude bosbodem leidde niet tot een significante toename in soortenrijkdom van microarthropoden, hoewel er trends waren richting iets hogere diversiteit van herbivoren en fungivoren. Dit komt mogelijk doordat de soortendiversiteit in de donorlocatie inmiddels ook sterk is afgenomen. De bodementing op zichzelf zorgt wel voor een extra zetje in de decompositie, mogelijk door het opschudden van het strooisel tijdens de handeling zelf.
- De steenmeelbehandelingen in het bodementing experiment hadden wel duidelijke effecten op de bodemchemie en de mesofauna:
 - Beide typen steenmeel verhoogden de bodem-pH met gemiddeld 0,3 eenheden.
 - Behandeling met Eifelgold verhoogde het aandeel schimmel-etende (fungivore) browsers met ca. 1,5x t.o.v. controle en behandeling met Soilfeed. Dit wijst op een gunstig effect voor organismen betrokken bij schimmelafbraak, mogelijk dankzij het extra P aandeel in Eifelgold.
 - Behandeling met Soilfeed leidde tot hogere aandelen en (niet-significant) hogere soortenrijkdom van predatoren, wat duidt op een versterkte hogere trofische laag binnen de microarthropoden gemeenschap.
- De verschillen tussen de behandeling met Eifelgold en Soilfeed suggereren dat de specifieke minerale samenstelling van het steenmeel bepalend is voor de respons van de microarthropoden gemeenschap.
- De combinatie van steenmeeltoediening en bodementing vertoonde geen significante interactie, maar de trends wijzen erop dat enting het effect van steenmeel op schimmel-etende soorten enigszins kan versterken.

De resultaten wijzen erop dat de steenmeelbehandelingen — met name Eifelgold — de bodemchemie licht verbeteren en selectieve effecten hebben op de bodemmesofauna, vooral op fungivoren en predatoren. Hoewel de totale soortenrijkdom nog niet herstelt, lijkt de functionele samenstelling van de gemeenschap in de behandelde bodems te verschuiven richting een actiever en mogelijk effectiever decompositiesysteem. De resultaten van de effectmeting benadrukken dat de algemene achteruitgang van de bodemmesofauna waarschijnlijk een belangrijk deel van het beperkte behandelingsrespons verklaart, waardoor herstelmaatregelen zoals steenmeeltoediening slechts gedeeltelijk effect kunnen sorteren.

6 Macrofauna (spoor 4)

6.1 Macrodetritivoren respons – veldrespons miljoenpoten op steenmeeltoediening (onderdeel 7.1.1)

6.1.1 Methoden

Gedurende het voorjaar en de zomer is de diversiteit en activiteit van miljoenpoten, samen met die van de spinnen en loopkevers (zie verder in dit hoofdstuk) in alle proefvlakken bemonsterd door middel van potvallen. De bemonsteringsperiode vond plaats tussen 1 mei en 26 september 2021, 17 april en 20 september 2023 en 17 april en 11 september 2024 met voor elk jaar 7 leeggronden. Op iedere vaste PQ (3 per proefvlak) werden 3 potvallen ingegraven en gevuld met een laagje 4% formaldehyde oplossing als conserveringsmiddel. Om bijvangst van gewervelden (muizen, reptielen en amfibieën) te beperken en om overmatige verdamping tegen te gaan werden alle potvallen met een dakje afgeschermd. Van deze potvalmonsters zijn alle spinnen, miljoenpoten en loopkevers gescheiden en later tot soort gebracht en geteld.

Interpretatie van aantallen individuen die in potvalbemonsteringen worden aangetroffen is niet eenduidig. Aantallen individuen die in potvallen worden aangetroffen zijn niet zonder meer te vertalen als dichtheden, aangezien de vangkans van deze individuen met deze methode ook afhankelijk is van de mobiliteit en activiteit van het desbetreffende individu. Daarom wordt voor potvalonderzoek gerefereerd naar 'activiteitsdichtheid' als verschillen in aantallen in de potvallen aangetroffen individuen worden besproken. *All else equal* kan een positief effect van steenmeel op activiteitsdichtheid nog steeds op twee manieren geïnterpreteerd worden: 1) een effect op de dichtheid of 2) een effect op de activiteit. Voor relatief laag mobiele, detritivore miljoenpoten zullen gemeten activiteitsdichtheden doorgaans sterker door dichtheid van miljoenpoten dan door de activiteit bepaald worden in contrast tot actief jagende predatoren zoals loopkevers of spinnen.

6.1.2 Statische analyses

Statistische analyses zijn uitgevoerd met het programma R versie 4.4.2 (R Core Team 2023). Voor de berekening van de soortenrijkdom is uitgegaan van het totaal aantal soorten per monster, waarbij uitsluitend individuen die tot op soortniveau konden worden gedetermineerd zijn meegenomen.

Miljoenpoten leven in vochtig, ruw strooisel. De afwezigheid van een goed ontwikkelde strooisellaag, vooral op locaties waar de doorwoeling door zwijnen groot was, had als gevolg dat op die locaties ook nauwelijks miljoenpoten in de potvallen werden aangetroffen. Locaties waar structureel weinig of geen miljoenpoten werden gevangen waren Eikenheg, Maanschoten, Heidensberg, Stroese Bergen I en Stroese Bergen II. Voor de analyse van de activiteitsdichtheid en soortenrijkdom van miljoenpoten zijn daarom alléén de locaties met voldoende strooisel, en daarmee geschikt leefgebied, meegenomen in de analyse. Het gaat om Hoog Baarlo, Keulerbosch, Kroondomein, Woeste Hoeve I en Woeste Hoeve II.

Het effect van de steenmeelbehandelingen op zowel de activiteitsdichtheid als de soortenrijkdom is eerst steeds per jaar afzonderlijk getoetst met generalized linear mixed models (GLMM's) met een Poisson-verdeling, waarbij locatie als random factor is opgenomen. Indien er sprake was van significante overdispersie, is overgestapt naar een negative binomial model. Vervolgens is ook een gecombineerde analyse over alle jaren getoetst. Hierbij zijn twee modelvarianten toegepast: één met 'jaar' als random factor en één met 'jaar' als fixed factor, in beide modellen werd 'proeflocatie' als random factor in het model opgenomen. De volledige modelresultaten zijn weergegeven in Bijlagen 1.7.2 en 1.7.3.

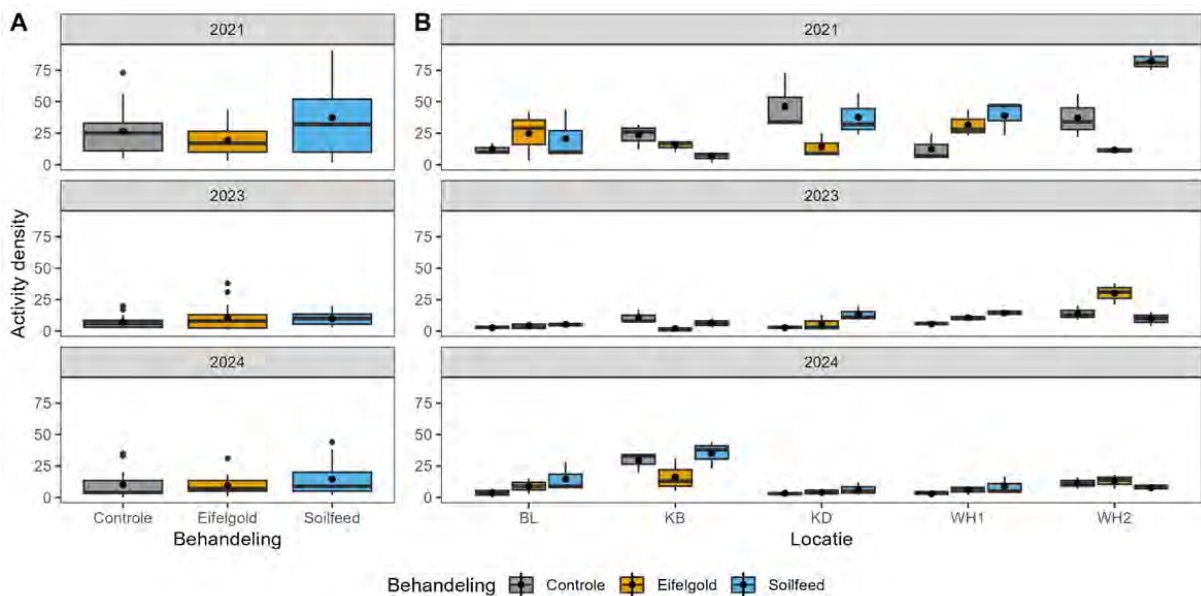
6.1.3 Resultaten

In totaal (voor alle proeflocaties en over alle jaren) zijn 2448 miljoenpoten bemonsterd, verdeeld over acht soorten. Veruit de meest algemene soort was *Polydesmus angustus* (1886 individuen; 77% van het totaal), gevolgd door *Julus scandinavicus* (222 individuen; 9%) *Cylindroiulus punctatus* (221 individuen; 9%), en *Glomeris marginata* (107 individuen; 4%). De overige vier soorten: *Proteroiulus fuscus*, *Ommatoiulus sabulosus*, *Polydesmus inconstans* en *Enantiulus nanus* werden slechts incidenteel aangetroffen. De volledige aantallen per soort en behandeling zijn weergegeven in Bijlage 1.7.5.

Activiteitsdichtheid

In alle drie de meetjaren (2021, 2023 en 2024) verschilden de dichtheden duidelijk tussen de proeflocaties en tussen de jaren waren eveneens grote verschillen zichtbaar. In 2021 werden de hoogste activiteitsdichtheden gevonden (gemiddeld 26,3, 19,5 en 37,3 voor respectievelijk controle, Eifelgold en Soilfeed), terwijl dit in 2023 (controle: 7,2; Eifelgold: 10,5; Soilfeed: 9,8) en 2024 (controle: 10,1; Eifelgold: 9,7; Soilfeed: 14,5) duidelijk lager was (Figuur 6.1). In 2021 en 2023 werden geen significante effecten van de steenmeelbehandelingen gevonden op activiteitsdichtheid. In 2024 was in de behandeling met Soilfeed een significant hogere activiteitsdichtheid van miljoenpoten ten opzichte van de controle ($P = 0,033$), terwijl Eifelgold geen significant effect liet zien.

De gecombineerde analyses over alle jaren bevestigden dat behandeling met Soilfeed gemiddeld genomen leidde tot een hogere dichtheid van miljoenpoten dan de controle ($P = 0,014$), terwijl Eifelgold geen significant effect had. Dit effect was zichtbaar in beide modelvarianten (met jaar als random factor en met jaar als vaste factor). Daarnaast kon uit het fixed-effect model worden vastgesteld dat de dichtheid in 2023 en 2024 significant lager was dan in 2021 (beide $P < 0,001$). Concluderend werd de dichtheid van miljoenpoten sterk beïnvloed door jaarschommelingen, maar er trad ook een significante toename in de activiteitsdichtheid van miljoenpoten op bij toediening van Soilfeed.

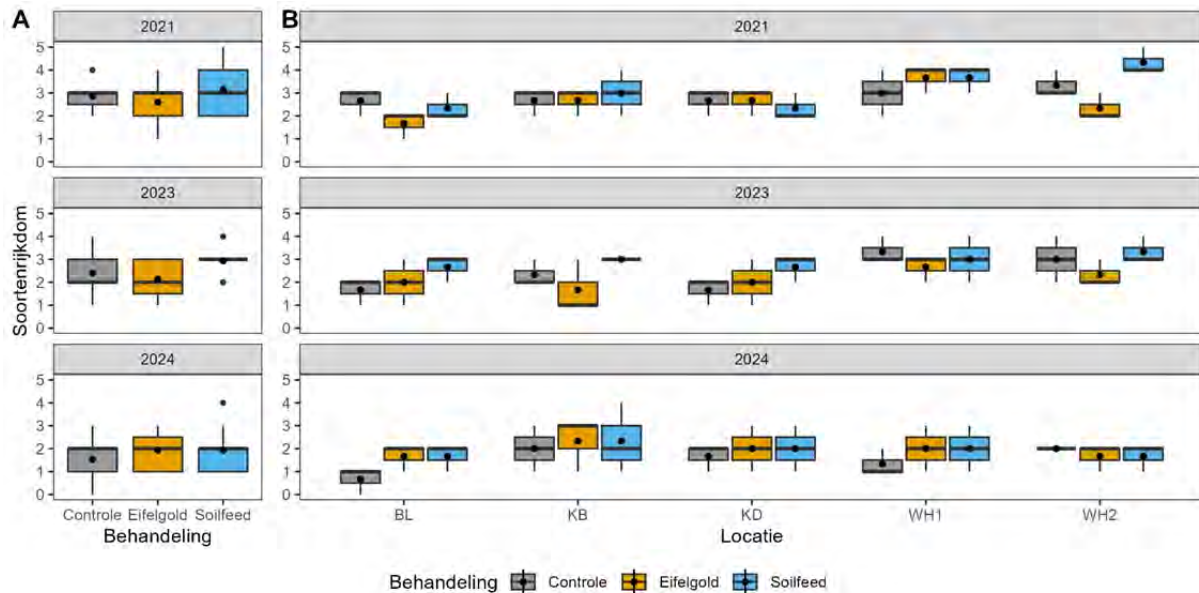


Figuur 6.1 Box- en whiskerplots van de activiteitsdichtheid van miljoenpoten (som van de drie bemonsteringsmomenten) voor de subset van locaties met voldoende strooisel (Hoog Baarlo, Keulerbosch, Kroondomein, Woeste Hoeve I en Woeste Hoeve II). A: uitgesplitst over de behandelingen (alle geselecteerde proeflocaties samen). B: uitgesplitst over de verschillende proeflocaties en behandelingen.

Soortenrijkdom

In alle drie de meetjaren (2021, 2023 en 2024) waren er nauwelijks verschillen waarneembaar in soortenrijkdom tussen de proeflocaties (Figuur 6.2; gemiddeld aantal soorten in 2021: controle: 2,9;

Eifelgold: 2,6; Soilfeed: 3,1. In 2023: controle: 2,4; Eifelgold: 2,1; Soilfeed: 2,9. In 2024: controle: 1,6; Eifelgold: 1,9; Soilfeed: 1,9). In geen van de afzonderlijke jaren had steenmeeltoediening een significant effect op de soortenrijkdom ten opzichte van de controle. De gecombineerde modellen over alle jaren bevestigen dit beeld. Op basis van het model waarin jaar als *fixed* factor werd meegenomen kon wel geconcludeerd worden dat er een significant lagere soortenrijkdom in 2024 ten opzichte van 2021 ($P < 0,001$) in de potvallen was aangetroffen.



Figuur 6.2 Box- en whiskerplots van de soortenrijkdom van miljoenpoten (som van de drie bemonsteringsmomenten) voor de subset van locaties met voldoende strooisel (Hoog Baarlo, Keulerbosch, Kroondomein, Woeste Hoeve 1 en Woeste Hoeve 2). A: uitgesplitst over de behandelingen (alle geselecteerde proeflocaties samen). B: uitgesplitst over de verschillende proeflocaties en behandelingen.

6.2 Macrodetritivoren respons – experiment mortaliteit miljoenpoten (onderdeel 7.1.2)

6.2.1 Opzet

In het najaar van 2022 is het effect van verschillende steenmeeltypen in verschillende concentraties getest op de overleving en gewichtontwikkeling van miljoenpoten.

Verzamelen van miljoenpoten en strooisel

De Knotskronkel (*Cylindroiulus punctatus*) is een veelvoorkomende soort miljoenpoot in Nederlandse droge bossen en is in deze proef gebruikt als modelorganisme. Alle in dit experiment onderzochte miljoenpoten zijn bij de Duivelsberg bij Berg en Dal verzameld door boomschors van omgevallen bomen te verwijderen en de individuen hier achter vandaan te halen. Voor deze proef zijn alleen volwassen dieren gebruikt. Bladstrooisel is verzameld uit het controleproefvlak van de proeflocatie Woeste Hoeve I. Al het verzamelde strooisel werd eerst 48 uur gedroogd in Tullgren trechters, zodat er geen spinnen, insecten en andere dieren meer in zaten. Bij het drogen met behulp van Tullgren trechters wordt de temperatuur van het strooisel niet te hoog zodat schimmels, welke kunnen dienen als voedsel voor de miljoenpoten, in het strooisel overleven.

Experimentele opstelling

In dit experiment zijn petrischalen met een oppervlakte van 150 cm² en een hoogte van 4 cm gebruikt om de overleving van individuele miljoenpoten te kunnen volgen. Aan de petrischalen werd een laag van 80 g (\pm 2mm) fijn droog zand toegevoegd, die vervolgens bevochtigd werd met een plantenspuit.

Deze laag zand diende als een vochtbuffer om te voorkomen dat het strooisel/steenmeel mengsel volledig uit zou drogen. Als voedsel voor de miljoenpoten werd 13-15 g gedroogd en verkruid eikenbos strooisel afgewogen, waarna dit gemengd werd met verschillende afgewogen hoeveelheden Eifelgold of Soilfeed om veldcondities na steenmeeltoediening na te bootsen (Tabel 6.1). In het veld wordt meestal 10 ton/ha steenmeel gebruikt. Deze hoeveelheid is daarom gebruikt als middelste behandeling in deze proef. Om mogelijke effecten van hogere of lagere doseringen te kunnen bepalen is daarnaast ook een 5 en 20 ton/ha steenmeelbehandeling ingezet. De controlebehandeling bestond uit petrischalen waar alleen fijn zand en gedroogd en verkruid eikenbos strooisel aan was toegevoegd. Bij alle behandelingen werd na het toedienen van het strooisel/steenmeel mengsel het geheel opnieuw bevochtigd met een plantenspuit. Tenslotte werd in iedere petrischaal een miljoenpoot toegevoegd. Voorafgaand werd het gewicht van iedere afzonderlijke miljoenpoot bepaald. Elke afzonderlijke behandeling is gestart met 15 miljoenpoten.

Alle petrischalen met miljoenpoten werden geplaatst in klimaatkasten met een temperatuur tussen de 14-16°C. Gedurende het overlevingsexperiment stonden de petrischalen constant in het donker bij een luchtvochtigheid van rond de 85% (75%-95%). De luchtvochtigheid en temperatuur in de klimaatkasten werd gemonitord met EL-USB-2 RH/temperature dataloggers (Lascar electronics, Wiltshire, UK).

Tabel 6.1 Opstelling van de proef bestaande uit 7 behandelingen, elk met 15 herhalingen.

Behandeling	Dosis steenmeel	Aantal miljoenpoten
Controle	Geen steenmeel	15
Eifelgold 5 ton/ha	7,5 g steenmeel (0,05 g per cm ²)	15
Eifelgold 10 ton/ha	15 g steenmeel (0,10 g per cm ²)	15
Eifelgold 20 ton/ha	30 g steenmeel (0,20 g per cm ²)	15
Soilfeed 5 ton/ha	7,5 g steenmeel (0,05 g per cm ²)	15
Soilfeed 10 ton/ha	15 g steenmeel (0,10 g per cm ²)	15
Soilfeed 20 ton/ha	30 g steenmeel (0,20 g per cm ²)	15

Monitoren van overleving

Gedurende een periode van 6 weken zijn elke week alle petrischalen gecontroleerd of de miljoenpoten nog in leven waren. De gevonden miljoenpoten zijn elke week gewogen en na het opnieuw bevochtigen van het steenmeel/strooisel mengsel zijn de levende individuen teruggeplaatst in de bijbehorende petrischaal. Bij sterfte werd de miljoenpoot gewogen en uit het experiment verwijderd. Als miljoenpoten niet konden worden teruggevonden werden zij gemarkeerd als 'onvindbaar' en werden de petrischalen op een later tijdstip opnieuw gecontroleerd. Wanneer miljoenpoten definitief niet meer terug te vinden waren, zijn ze gemarkeerd als 'levend' tot het laatste moment van waarnemen. De uiteindelijke status van deze miljoenpoten is niet als 'dood', maar als 'onvindbaar' gemarkeerd.

6.2.2 Statistische analyses

De survival package (Therneau 2024) in R is gebruikt om het effect van steenmeeltype en dosis op de overleving van de miljoenpoten te bepalen en een overlevingscurve te maken. Door gebruik te maken van de survfit functie uit deze package kunnen miljoenpoten die gedurende de proef als 'onvindbaar' zijn gemarkeerd toch meegenomen worden tot het laatste moment dat ze levend zijn waargenomen. Een logrank test is gedaan om de verschillende overlevingscurves te vergelijken en te bepalen of er (significante) verschillen tussen de behandelingen te zien waren. Hierna is het Cox proportional hazard model gebruikt om na te gaan of de overleving voorspeld kon worden aan de hand van de behandeling

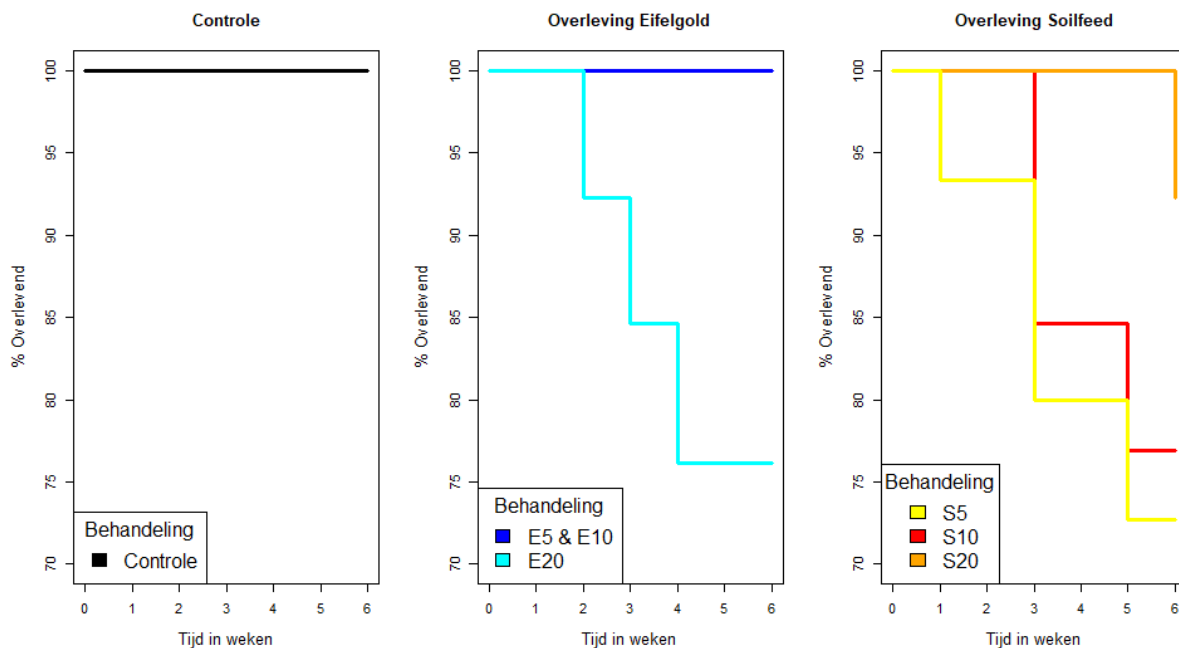
of het startgewicht van de miljoenpoten. Effecten van steenmeeltype en dosis op het gemiddelde gewicht van de miljoenpoten gedurende de proef is getoetst op significantie met behulp van een Generalized Linear Model (GLM) met een Gamma verdeling met log link. Effecten van behandeling zijn getoetst door de interactie tussen behandeling en week in het model te toetsen op significantie. Volledige modelresultaten zijn weergegeven in Bijlage 1.7.4.

6.2.3 Resultaten

Overleving

Tijdens de 6 weken durende overlevingsproef nam bij verschillende behandelingen het aantal levende miljoenpoten af en bleef bij sommige behandelingen gelijk (Figuur 6.3).

De sterkste afname na 6 weken is te zien bij Soilfeed 5 ton/ha (71% overleving), Eifelgold 20 ton/ha (75% overleving) en Soilfeed 10 ton/ha (77% overleving). Bij enkele behandelingen is de overleving gedurende het gehele experiment 100% gebleven (controle, Eifelgold 5 ton/ha en Eifelgold 10 ton/ha). Tenslotte was in de hoogste dosering van Soilfeed (20 ton/ha) de sterfte relatief laag (92% overleving). Uit de logrank test werden geen significante verschillen gevonden ($P = 0,1$) in de overleving van de miljoenpoten tussen de verschillende behandelingen. Ondanks dat er bij verschillende behandelingen wel meer sterfte van miljoenpoten was dan bij de controle behandeling, is dit verschil niet significant. De uitkomsten van het Cox proportional hazard model geven weer dat de overleving van de miljoenpoten niet voorspeld kon worden op basis van de behandeling of het startgewicht (alle P-waarden liggen ver boven 0,05).

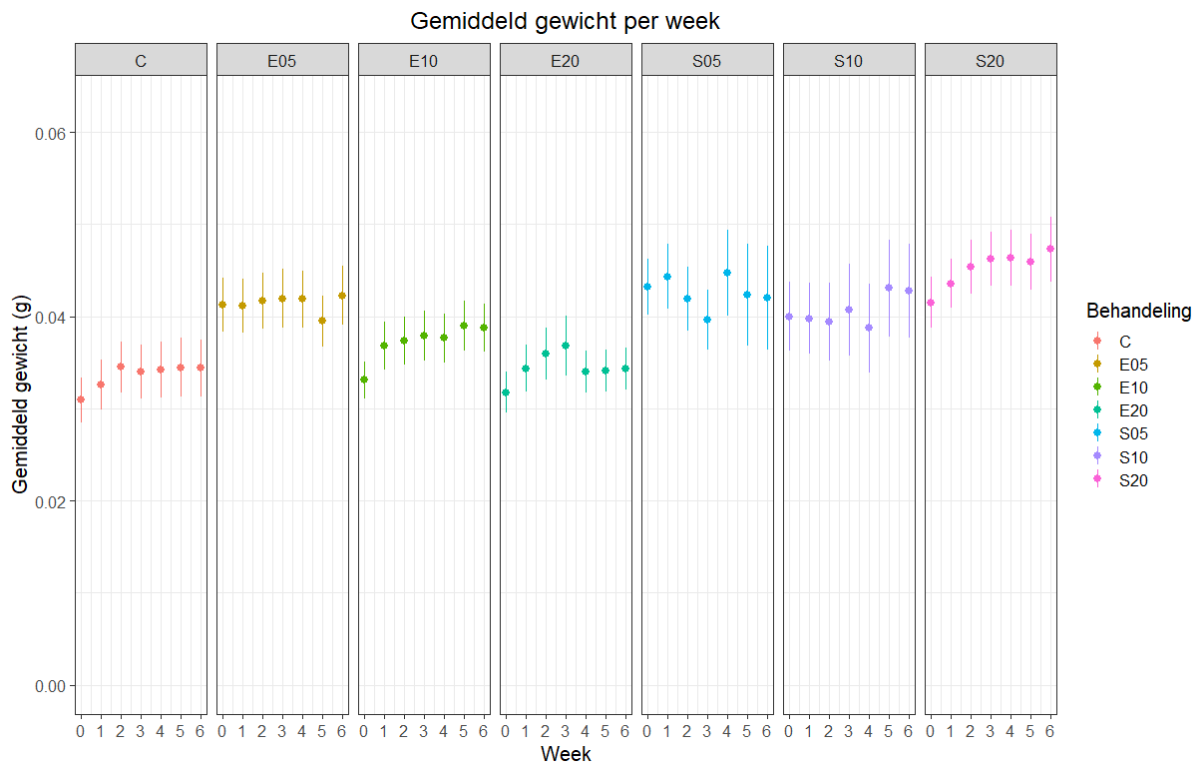


Figuur 6.3 De percentages levende miljoenpoten per week bij verschillende behandelingen gedurende een periode van 6 weken. E=Eifelgold, S=Soilfeed, cijfers geven doseringen aan (5, 10 en 20 ton/ha).

Gewichtsveranderingen

Tijdens de proef veranderde het gewicht van de miljoenpoten (Figuur 6.4). Bij elk van de behandelingen is het gemiddelde gewicht van nog levende exemplaren in 6 weken toegenomen behalve bij behandeling Soilfeed 5 ton/ha. Daarnaast bleek het gemiddelde startgewicht van de miljoenpoten te verschillen van de controle: deze was significant hoger in de behandelingen Eifelgold 5 ton/ha, Eifelgold 10 ton/ha, Soilfeed 5 ton/ha, Soilfeed 10 ton/ha en Soilfeed 20 ton/ha (Figuur 6.4). Er werden geen

significante interactie effecten gevonden voor de behandelingen met week, wat betekent dat er geen verschillen in gewichtsonwikkelingen waren ten opzichte van de controle in de steenmeelbehandelingen.



Figuur 6.4 De gemiddelde gewichten van de miljoenpoten per week per behandeling. Bij elk punt is de standaardafwijking van het gemiddelde aangegeven. E=Eifelgold, S=Soilfeed, cijfers geven doseringen aan (5, 10 en 20 ton/ha).

6.2.4 Conclusies macrodetritivoren respons (onderdeel 7.1)

Veldrespons

Uit het veldonderzoek blijkt dat de toediening van steenmeel, en dan met name Soilfeed, een klein maar significant positief effect heeft gehad op de activiteitsdichtheid van miljoenpoten in de proefvlakken met voldoende strooisel. De toename in activiteitsdichtheid wijst waarschijnlijk op een hogere dichtheid van miljoenpoten, gezien hun beperkte mobiliteit en de aard van de potvalmethode. Behandeling met Eifelgold liet daarentegen geen significant effect zien op de activiteitsdichtheid. Tevens werd de soortenrijkdom van miljoenpoten niet beïnvloed door steenmeeltoediening, hoewel er tussen de jaren wel natuurlijke variatie optrad. Samenvattend toont het onderzoek aan dat Soilfeed een bescheiden gunstig effect kan hebben op de aanwezigheid van detritivore miljoenpoten, wat mogelijk duidt op verbeterde bodemomstandigheden of strooiselkwaliteit, maar het heeft zeker nog niet geleid tot een volledig herstel. Stašiov et al. (2021) vonden met dezelfde bemonsteringstechnieken in een niet verzuurde bosbestand gedomineerd door moseik (*Quercus cerris*) een totaal van 97 individuen, verdeeld over 6 soorten. Met een gemiddelde van 1,6 tot 3,1 soorten is de miljoenpoot populatie in de Veluwe bosbestanden duidelijk soortenarmer. Ook de activiteitsdichtheden zijn met 7,2-37,3 individuen, zelfs bij toediening van Soilfeed, beduidend lager.

Overlevingsexperiment

In de overlevingsproef blijken er geen duidelijke directe lethale effecten van steenmeel (Eifelgold noch Soilfeed) op de overleving te hebben opgetreden. De overleving van miljoenpoten in de

steenmeelbehandelde individuen was weliswaar lager, maar niet significant verschillend van de controle. In de Soilfeed-behandelingen werd bovendien een hogere overleving in de hoogste dosering gevonden, dus er is voor dat type ook geen duidelijke dosis-effect relatie aangetoond. Voor Eifelgold werd alleen bij de hoogste dosering mortaliteit gevonden, maar dit verschil was te klein om als significant te kunnen beoordelen. Ook werd er geen effect van de steenmeeltypen gevonden op de gewichtsontwikkeling van de miljoenpoten, waardoor we concluderen dat er geen directe lethale of sub-lethale effecten op miljoenpoten ontstaan als gevolg van steenmeeltoediening.

Toch is de 100% overleving in de controle behandeling opvallend. Wellicht is dit toch een indicatie dat er op de langere termijn wel aantoonbaar hogere sterfte onder miljoenpoten optreedt bij toediening van steenmeeltypen. Om dit aan te kunnen tonen zou de proef voor een veel langere periode gemonitord moeten worden en zijn er idealiter ook meer herhalingen nodig.

Aanvullende inzichten

Uit vervolgonderzoek uitgevoerd in samenwerking met Bosgroep Zuid-Nederland (Vogels & de Graaf 2025) is uitgebreider kennis opgedaan over de overleving van miljoenpoten bij blootstelling aan verschillende doses en soorten steenmeel. Uit een veel langer lopende proef werd het effect van beide soorten steenmeel op de overleving van de Grote platrug (*Polydesmus angustus*) onderzocht. Dit vervolgonderzoek omvatte meer herhalingen en een veel langere looptijd van 6 maanden. Deze proef levert daardoor een betrouwbaarder (langdurig effect versus korte termijn) beeld van de effecten van steenmeel op de overleving van miljoenpoten. In dit vervolgonderzoek is een andere veelvoorkomende soort als modelorganisme gebruikt, *Polydesmus angustus*. Deze soort komt veel voor in bosgronden in het noordwesten van Europa, zowel op leem- als zandgronden. *Polydesmus angustus* is bijzonder tolerant voor zure omstandigheden en is één van de weinige miljoenpootsoorten die ook in bossen op arme zandgronden kan overleven (ook in deze studie was het de meest talrijk aangetroffen soort). De in deze studie gebruikte knotskronkel komt ook algemeen in deze bossen voor, maar in lagere dichtheden (zie de vorige paragraaf).

De resultaten van dit aanvullende experiment lieten zien dat er duidelijk sprake is van een hogere mortaliteit bij beide typen steenmeeltypen in vergelijking met de controle. Vooral de Eifelgold-behandeling vertoont een significant hogere mortaliteit en dit effect was ook dosis-afhankelijk. Maar ook bij Soilfeed toediening was de mortaliteit in dit experiment significant hoger dan bij de controle, een dosis-effect relatie kon hier niet worden aangetoond en het effect was minder sterk dan bij Eifelgold. Deze resultaten geven aan dat langdurige blootstelling aan steenmeel een grotere invloed op de overleving van miljoenpoten kan hebben dan in dit project uitgevoerde kortdurende experiment is waargenomen. Dit effect is bovendien al waarneembaar bij lage doseringen van 5 ton/ha.

6.3 Predatoren respons – loopkevers en spinnen (onderdeel 7.2)

6.3.1 Methoden

Potvalbemonstering

Gedurende het voorjaar en de zomer is de diversiteit en activiteit van predatoren in alle proefvlakken bemonsterd door middel van potvallen (loopkevers en spinnen). De bemonsteringsperiode door middel van potvallen vond plaats tussen 1 mei en 26 september 2021, 17 april en 20 september 2023 en 17 april en 11 september 2024 met voor elk jaar 7 leeggronden. Op iedere vaste PQ (3 per proefvlak) werden 3 potvallen ingegraven en gevuld met een laagje 4% formaldehyde oplossing als conserveringsmiddel. Om bijvangst van gewervelden (muizen, reptielen en amfibieën) te beperken en om overmatige verdamping tegen te gaan werden alle potvallen met een dakje afgeschermd. Van deze potvalmonsters zijn alle spinnen, miljoenpoten en loopkevers gescheiden en later tot soort gebracht en geteld.

Door de zeer hoge aantallen in de monsters aangetroffen individuen van spinnen en loopkevers (in één enkele monsterronde in 2021 werden in totaal ca. 22.000 spinnen en loopkevers aangetroffen) is van deze bemonsteringmethode besloten om een subset van de monsters uit te werken. Voor loopkevers zijn voor alle jaren één voorjaarsronde, één zomerronde en één najaarsronde voor alle locaties uitgewerkt. Voor spinnen werden dezelfde rondes genomen maar gezien de nog hogere aantallen van deze groep is dit verder ingeperkt door alléén de individuen in centraal in de proefvlakken gelegen potval tot soort te brengen. Uiteindelijk werden voor beide groepen meer dan 23.000 individuen op naam gebracht en deze gegevens werden gebruikt voor verdere analyse.

Interpretatie van aantallen individuen die in potvalbemonsteringen worden aangetroffen is niet eenduidig. Aantallen individuen die in potvallen worden aangetroffen zijn niet zonder meer te vertalen als dichtheden, aangezien de vangkans van deze individuen met deze methode ook afhankelijk is van de mobiliteit en activiteit van het desbetreffende individu. Actiever jagende individuen worden daardoor in hogere aantallen bemonsterd dan minder mobiele soorten. Andere parameters die de activiteit (en dus vangkans) van grondactieve jagers beïnvloeden zijn het weer (in natte jaren vang je minder) en de hoeveelheid vegetatie in de ondergroei (een dichtere vegetatie leidt tot meer 'vegetatieweerstand' en dus lagere aantallen). Daarom wordt voor potvalonderzoek gerefereerd naar 'activiteitsdichtheid' als verschillen in aantallen in de potvallen aangetroffen individuen worden besproken. *All else equal* kan een positief effect van steenmeel op activiteitsdichtheid nog steeds op twee manieren geïnterpreteerd worden: 1) een effect op de dichtheid of 2) een effect op de activiteit. Beide zijn overigens te interpreteren als een relevant effect, bekend is dat loopkevers een hogere activiteit vertonen op locaties waar meer voedsel beschikbaar is (Vogels et al. 2013). Voor actief jagende spinnen is eenzelfde respons te verwachten, voor minder mobiele soorten is een toename in dichtheid een logische verklaring.

Sleepnetbemonstering

In alle proefvlakken is in 2021, 2023 en 2024 de dichtheid van spinnen in de kruid- en struiklaag door middel van een gestandaardiseerde sleepnetbemonstering bepaald.

Op drie momenten in 2021, 2023 en 2024 (Tabel 6.2) is een sleepnet monster van 4 x 25 slagen verzameld. Sleepnetmonsters zijn op dezelfde dag in de vriezer opgeslagen voor uitsorteren en determinatie op een later moment. Alle aanwezige spinnen zijn in het lab uit de monsters gesorteerd en op naam gebracht. De locatie Maanschoten bleek moeilijk met een sleepnet te kunnen worden bemonsterd, omdat hier een dichte ondergroei van Vuilboom en Amerikaanse vogelkers aanwezig was. Dit had ook als gevolg dat hier geen lage struiklaag in de proefvlakken aanwezig was. De locaties Eikenheg, Heidensberg, Hoog Baarlo en Stroese Bergen I en II waren in alle drie de jaren sterk door activiteit van wilde zwijnen beïnvloed, waardoor ook hier grote delen van de bodem omgewoeld waren en derhalve geen of nauwelijks een lage struiklaag bezaten. Dit heeft sterk invloed uitgeoefend op de uitkomsten van de bemonsteringen, in deze locaties werden veel minder spinnen verzameld.

Tabel 6.2 Overzicht bemonsteringsdata sleepnetmonsters

Ronde	2021	2023	2024
1	1-6-2021	16-5-2023	9-5-2024
2	14-6-2021	20-7-2023	19-6-2024
3	14-9-2021	20-9-2023	11-9-2024

6.3.2 Statistische analyses

De gegevensanalyse met betrekking tot (activiteits)dichtheid en soortenrijkdom is volgens dezelfde methode toegepast als beschreven bij de macrodetrivoren respons (paragraaf 6.1.2), maar hier wel voor alle 10 de onderzochte locaties.

De effecten van de steenmeelbehandelingen zijn daarnaast geanalyseerd op de samenstelling van de bemonsterde gemeenschap. Dit is uitgevoerd door middel van NMDS (Non-metric multidimensional scaling) ordinatie van een bray-curtis distance matrix van hellinger getransformeerde vangstdata. Als start werd een 4 dimensioneel model toegepast, en bij het vinden van een stabiele oplossing werd nagegaan of een model met minder dimensies een vergelijkbaar resultaat opleverde. Voor beide soortgroepen bleek een model met drie dimensies de beste oplossing te genereren, met relatief goed onderscheidend vermogen (stress < 0,20). Effecten van behandeling op de soortensamenstelling werd getoetst door middel van een PERMANOVA analyse op dezelfde bray-curtis distance matrix, waarbij jaar, behandeling, locatie en de interactie-effecten tussen jaar en locatie, locatie en behandeling en jaar en behandeling werden opgenomen in het model. Voorafgaand aan de analyse werd nagegaan of er grote verschillen in variantie tussen jaren, behandelingen en locaties bestonden; bij inhomogene variatie zijn PERMANOVA analyses minder betrouwbaar. In geen van de gevallen werd inhomogene variatie als gevolg van behandeling gevonden, maar wel als gevolg van bemonsterlocatie. Een met zekerheid significant steenmeel effect wordt aangenomen als er een significant interactie effect tussen jaar en steenmeelbehandeling gevonden wordt. Een significant overall effect van steenmeel toediening is minder eenduidig hier aan toe te schrijven, aangezien dit ook veroorzaakt kan zijn door verschillen in locaties voorafgaand aan de toepassing van steenmeel (ten tijde van de bemonstering in 2021 was steenmeel al overal toegediend).

Bij de sleepnet locaties werden in locaties met hoge zwijnenactiviteit (als gevolg van het ontbreken van een struiklaag) vaak nul of minder dan 3 individuen bemonsterd. Deze lage aantallen bleken een sterke invloed uit te oefenen op de uitkomsten van de NMDS analyse. Voor die dataset is besloten om alle monsters met minder dan 3 individuen niet mee te nemen in de analyse. Alle resultaten van de analyses zijn weergegeven in Bijlagen 1.7.9-1.7.17.

6.3.3 Resultaten: Loopkevers

In totaal zijn 23.905 individuen bemonsterd, verdeeld over 43 soorten. Algemeenst aangetroffen waren *Carabus problematicus* (6916 individuen), *Nebria brevicollis* (3796), *Pterostichus oblongopunctatus* (2798), *Notiophilus rufipes* (2576) en *Carabus nemoralis* (1625). Dit zijn allen typische bossoorten (Turin 2000; Turin et al. 2023; *N. brevicollis* en *C. problematicus* kennen een wat bredere ecologische range) en samen maken deze soorten 74% van de individuen uit. *Bembidion lampros*, *Carabus nemoralis*, *Notiophilus palustris*, *Cychrus caraboides*, *Notiophilus biguttatus*, *Carabus violaceus*, *Nebria salina*, *Calathus fuscipes*, *Amara communis* en *Calosoma inquisitor* waren eveneens algemeen (met tussen 46 en 1625 individuen) aangetroffen over de drie jaren (2021, 2023 en 2024) samen. *C. nemoralis*, *C. caraboides*, *N. biguttatus* en *C. inquisitor* zijn eveneens als karakteristiek voor bossen genoemd (Turin 2000; Turin et al. 2023). De overige soorten zijn meer geassocieerd met droge heide en/of graslanden. De resterende 28 soorten werden slechts sporadisch in de vangpotten aangetroffen, met gezamenlijk 1734 individuen, wat neerkomt op 6,9% van het totale aantal. In Bijlage 1.7.6 is de volledige tabel met alle soorten en aantallen per behandeling weergegeven.

Activiteitsdichtheid

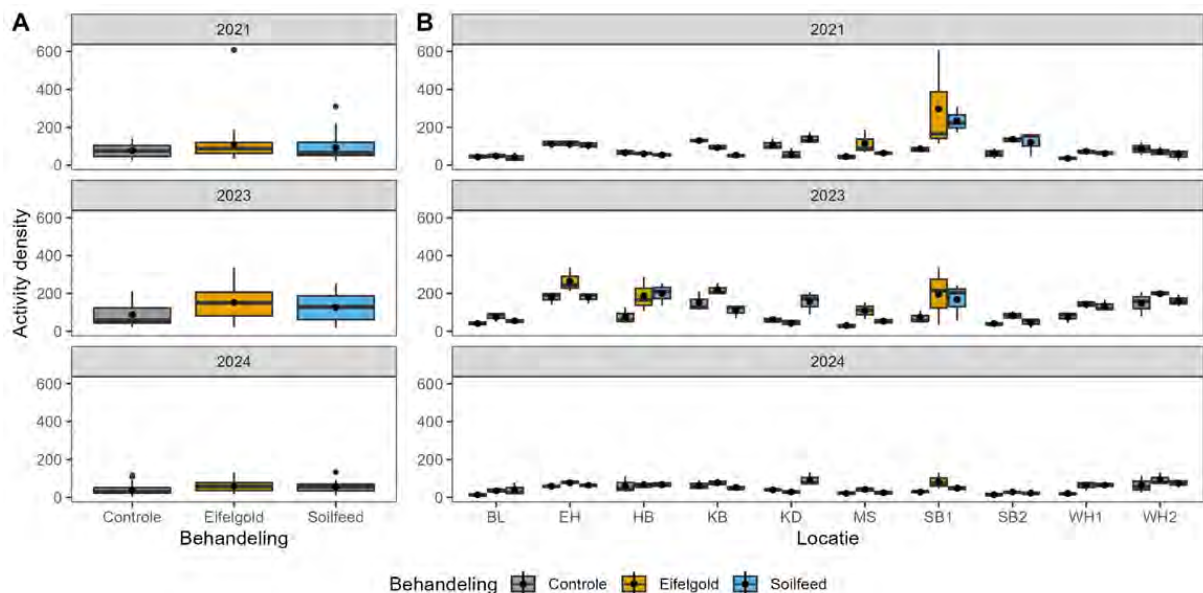
In alle drie de meetjaren (2021, 2023, 2024) werd een duidelijk verschil in activiteitsdichtheid van loopkevers waargenomen tussen de verschillende proeflocaties. Ook tussen de jaren traden grote fluctuaties op: de activiteitsdichtheid was in 2023 het hoogst, gevolgd door 2021, terwijl deze in het zeer natte (voor)jaar van 2024 duidelijk lager lag.

In Figuur 6.5 is de activiteitsdichtheid van loopkevers per jaar weergegeven, uitgesplitst naar jaar en behandeling (A), en naar locatie en behandeling (B). Op basis van de verdeling per locatie is zichtbaar dat de activiteitsdichtheid grote verschillen vertoont tussen de verschillende onderzoekslocaties, met voor alle jaren lage activiteitsdichtheid in Baarlo, Maanschoten en Woeste Hoeve I en II, fluctuerende

waarden in Eikenheg, Heidensberg, Keulerbos, Kroondomein en Stroese Bergen II en opvallend hoge activiteitsdichtheid in Stroese Bergen I (maar in het 'magere' jaar 2024 ook hier laag). In 2021 verhoogde de behandeling met Eifelgold de dichtheid van loopkevers ten opzichte van de controle (Bijlage 1.7.9; $P = 0,033$), en in 2023 en 2024 hadden beide behandelingen een significant positief effect op de dichtheid van loopkevers ten opzichte van de controle (Bijlage 1.7.9; beide behandelingen $P < 0,001$). Wanneer naar de per locatie waarden gekeken wordt (Figuur 6.5B) is dit effect met name bepaald door de respons in Stroese Bergen I en II, Maanschoten (Eifelgold), Kroondomein (Soilfeed), Woeste Hoeve I en II en in 2023 aanvullend ook Eikenheg (Eifelgold), Heidensberg (Beide typen) en Keulerbos (Eifelgold).

De gecombineerde modellen over alle jaren toonden een duidelijk positief effect van de steenmeelbehandelingen op de dichtheid van loopkevers. In het model, waarin 'jaar' als random factor werd opgenomen, hadden zowel de behandeling met Eifelgold als de behandeling met Soilfeed een significant positief effect op dichtheid ten opzichte van de controle (Bijlage 1.7.9; $P < 0,001$). Dit geeft aan dat de steenmeelbehandelingen gemiddeld genomen leiden tot een hogere dichtheid van loopkevers, ongeacht het jaar waarin is bemonsterd. Ook het alternatieve model, waarin 'jaar' als fixed factor werd gemodelleerd, was het effect van beide steenmeeltypen significant (Bijlage 1.7.9) en dit model bevestigde wederom dat er significante verschillen in activiteitsdichtheid tussen de jaren bestonden. In 2023 was de dichtheid van loopkevers significant hoger dan in 2021 (Bijlage 1.7.9; $P = 0,004$), terwijl de dichtheid in 2024 juist significant lager lag dan in 2021 (Bijlage 1.7.9; $P < 0,001$).

Op basis van de resultaten wordt geconcludeerd dat de steenmeelbehandelingen een positief effect hadden op de activiteitsdichtheid van loopkevers. Tegelijkertijd waren er gedurende de onderzoeksperiode forse ruimtelijke en jaarlijkse variaties in activiteitsdichtheid aanwezig, die het gevolg zijn van verschillen in weersomstandigheden, vegetatieweerstand (wel of geen bosbes dominantie) en/of voedselbeschikbaarheid.

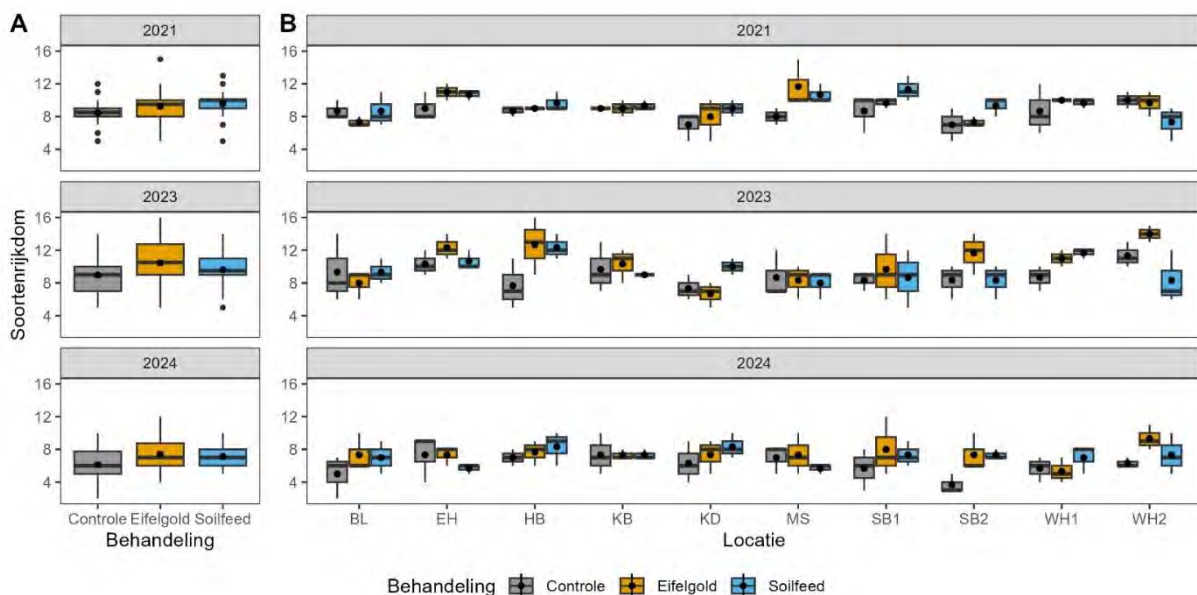


Figuur 6.5 Box- en whiskerplots van de activiteitsdichtheid van loopkevers (som van de drie bemonsteringsmomenten per jaar). A: uitgesplitst over de behandelingen (alle proeflocaties samen). B: uitgesplitst over de verschillende proeflocaties en behandelingen.

Soortenrijkdom

Soortenrijkdom was in 2024 lager dan in de voorgaande jaren (2021 en 2023; Figuur 6.6A), waarschijnlijk een effect van beduidend lagere aantallen vangsten in dat jaar. In alle drie de meetjaren (2021, 2023 en 2024) waren er kleine verschillen in soortenrijkdom tussen de locaties (Figuur 6.6B).

In 2021 had geen van de behandelingen een significant effect op de soortenrijkdom ten opzichte van de controle. In 2023 en 2024 werd een zwak (niet significant) positief effect van Eifelgold waargenomen (Bijlage 1.7.10). De gecombineerde modellen over alle jaren lieten een consistent beeld zien. In het 'jaar' als random factor model hadden zowel Eifelgold ($P = 0,006$) als Soilfeed ($P = 0,032$) een significant positief effect op soortenrijkdom ten opzichte van de controle (Bijlage 1.7.10). Dit duidt erop dat de behandelingen gemiddeld genomen leiden tot een toename in soortenrijkdom van loopkevers. Het 'jaar' als fixed-factor model toonde gaf dezelfde effecten (Bijlage 1.7.10; Eifelgold: $P = 0,006$; Soilfeed: $P = 0,032$), en bevestigde het beeld van een significant lagere soortenrijkdom in 2024 ten opzichte van 2021 (Bijlage 1.7.10; $P < 0,001$). Voor het jaar 2023 werd geen significant verschil gevonden ten opzichte van 2021. Op basis van deze resultaten wordt geconcludeerd dat beide steenmeelbehandelingen hebben geleid tot een significante toename van het aantal in de potvallen aangetroffen soorten loopkevers.



Figuur 6.6 Box- en whisker plots van de soortenrijkdom van loopkevers (som van de drie bemonsteringsmomenten per jaar). A: uitgesplitst over de behandelingen (alle proeflocaties samen). B: uitgesplitst over de verschillende proeflocaties en behandelingen.

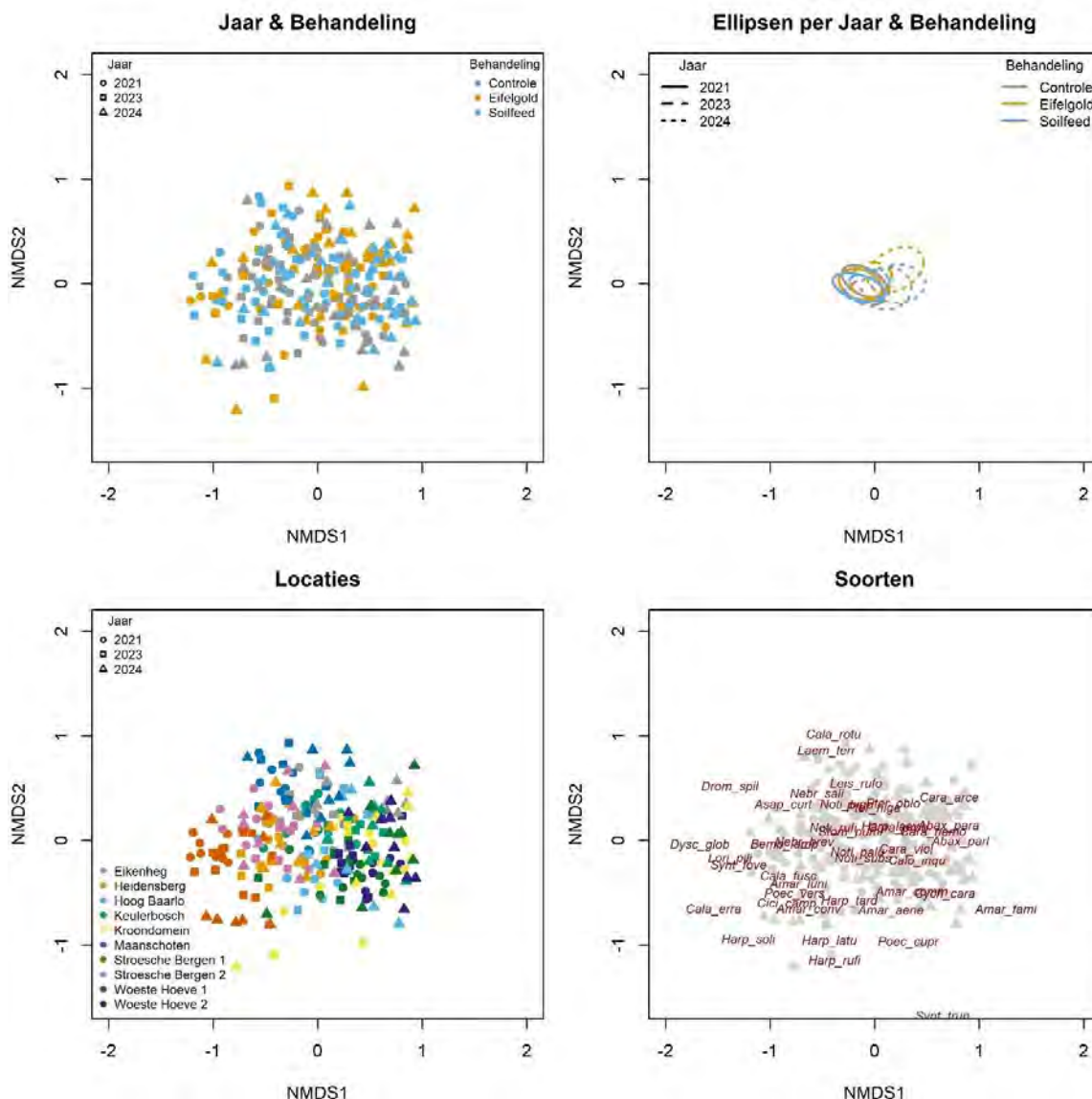
Samenstelling van de loopkevergemeenschap

Uit de NMDS-ordinatie (Figuur 6.7) is te zien dat de soortensamenstelling van de loopkevergemeenschap vooral verschilde tussen de meetjaren (bovenste grafieken) en proeflocaties (linksonder). Een klein behandelingseffect is evenwel ook waarneembaar (grafiek rechtsboven), vooral in 2023 en 2024.

De variatie in de loopkevergemeenschap verschilde significant tussen de onderzochte proeflocaties en jaren (Bijlage 1.7.11), wat te verwachten was gezien de eerder beschreven verschillen in soortenrijkdom tussen locaties en jaren eerder in deze paragraaf. De variatie binnen de behandelgroepen (controle, Eifelgold, Soilfeed) verschilde niet significant en ook niet per jaar afzonderlijk (Bijlage 1.7.11).

De soortensamenstelling verschilde significant tussen de proeflocaties, jaren, behandelingen, en in de locaties door de jaren heen. Een significante interactie tussen steenmeel en locatie indiceerde evenwel

dat het effect van steenmeel significant verschilde tussen verschillende proeflocaties (Bijlage 1.7.11; PERMANOVA: $P < 0,001$; totale verklaarde variatie: 69%). Verreweg de meeste variatie werd verklaard door verschillen tussen locaties (42%), gevolgd door jaren (7%). Steenmeelbehandeling had een klein maar significant effect op de samenstelling (2,8% overall; Eifelgold: 1,2%, Soilfeed: 1,6%). De verklarende variatie van de interactie effecten jaar x locatie (7%) en locatie x steenmeel (9%) waren vergelijkbaar met het jaar tot jaar effect. Een significante interactie tussen jaar en steenmeelbehandeling werd niet gevonden op de samenstelling, maar benaderde wel significantie (PERMANOVA, verklarende variatie $< 1\%$; $P = 0,06$, en dit effect was vooral door een wat sterkere deviatie in 2024 bepaald). Hieruit wordt geconcludeerd dat steenmeeltoediening een bescheiden, maar significant effect heeft uitgeoefend op de loopkeversamenstelling, maar dat locatie-, jaar- en interactie effecten (totale verklaarde variatie: 56%) een veel grotere invloed uitoefenen op de samenstelling van de gemeenschap dan de toediening van steenmeel (verklaarde variatie: 2,8%) of jaar x steenmeel interactie ($< 1\%$).



Figuur 6.7 NMDS ordinatie van de eerste 2 assen op basis van in de potvallen aangetroffen soorten loopkevers in 2021, 2023 en 2024. Data hellinger getransformeerd, $k=3$ en stress = 0,16. Linksonder: plaatsing van de verschillende proeflocaties in alle jaren, ongeacht behandeling. Rechtsboven: 95% betrouwbaarheidsintervallen van de centroids van de behandelingen per jaar, weergegeven als ellipsen rond de centroid van elk jaar-behandelingscombinatie. Linksonder: plaatsing van de verschillende behandelingen in alle jaren. Rechtsboven: plaatsing van de soorten in relatie tot de proeflocaties.

6.3.4 Resultaten: Spinnen

Bodemactieve spinnen

In totaal zijn 23.218 individuen bemonsterd, verdeeld over 106 soorten. Algemeenste soorten in de potvallen waren *Pardosa saltans* (verreweg het meest bemonsterd, met 17.077 individuen), *Trochosa terricola* (1823), *Tenuiphantes flavipes* (902), *Piratula hygrophila* (419) en *Coelotes terrestris* (250). Samen maken deze soorten 88% van de individuen uit. *Pardosa saltans*, *Tenuiphantes flavipes* en *Coelotes terrestris* zijn uitgesproken bossoorten, *Trochosa terricola* en *Piratula hygrophila* kennen een bredere ecologische range. De subdominant voorkomende soorten bestaan ook voor een groot deel uit (min of meer) karakteristieke bossoorten (*Zelotes subterraneus*, *Haplodrassus sylvestris*, *Microneta viaria*, *Euryopis flavomaculata*, *Diplostyla concolor*, *Xysticus lanio*, *Xerolycosa nemoralis*, *Macrargus rufus*, *Walckenaeria acuminata*) en soorten met een wat bredere range, maar vaak wel met een voorkeur voor relatief vochtige beschaduwde (strooiselrijke) habitats (*Phrurolitus festivus*, *Euophrys frontalis*, *Trachyzelotes pedestris*, *Eratigena atrica*, *Micrargus herbigradus*, *Walckenaeria alticeps*, *Agroeca brunnea*, *Enoplognatha thoracica*, *Robertus lividus*, *Centromerus sylvaticus*). De vondst van de krabspinn *Xysticus luctator* is vermeldenswaard aangezien deze soort voor meer dan 130 jaar niet meer in Nederland gemeld was (Vogels & Hiddes 2023). Ook in deze bemonstering blijkt de zeldzaamheid, ze werd enkel in het Kroondomein gevonden en lijkt in verspreiding beperkt te zijn tot de oudste bosrelicten (Kroondomein locatie is gelegen in het al op de oude kaarten aangegeven Meerveldsche bosch, waarvan ze meer dan 130 jaar geleden ook van is gemeld). De soorten die in lagere aantallen werden gevonden zijn ofwel meer karakteristiek voor open gebieden als grasland en droge heide (oa. *Xysticus bifasciatus*, *Zelotes petrensis*, *Xysticus erraticus*, *Thanatus formicinus*) of zijn weinig tot niet bodemactief maar wel karakteristiek voor bossen (deze soorten worden in veel hogere aantallen aangetroffen in de sleepnetten en worden daar verder behandeld). In Bijlage 1.7.7 is de volledige tabel met alle soorten en aantallen per behandeling weergegeven.

In vegetatie levende spinnen

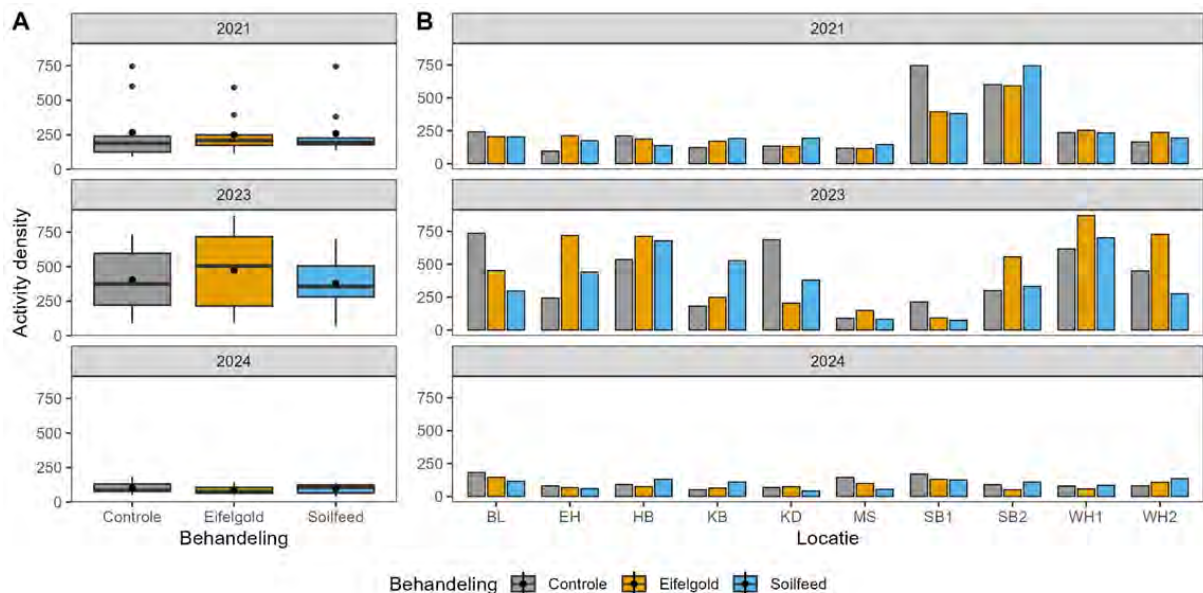
In totaal zijn 5310 individuen bemonsterd, verdeeld over 97 soorten. Algemeen aangetroffen soorten in de sleepnetmonsters waren de webbouwende soorten *Linyphia triangularis*, *Linyphia hortensis*, *Neriene peltata*, *Gonatium rubellum*, *Tenuiphantes flavipes*, *Metellina menzei*, *Mangora acalypha*, *Zilla dioida*, *Enoplognatha ovata*, *Paidiscura pallens*, *Anelosimus vittatus* en de actief jagende of sit-and-wait predatoren *Evarcha falcata*, *Ballus chalybeius*, *Tmarus piger*, *Philodromus dispar* en *Xysticus lanio*. De webbouwende soorten kennen allen een relatief brede ecologische range maar hebben allen wel een voorkeur voor relatief vochtige en schaduwrijke omgeving en het is logisch dat zij in hoge aantallen vertegenwoordigd zijn. *Paidiscura pallens* is wel een typische bossoort, maar komt ook hoger in de kroonlaag voor. Van de actieve jagers is *Xysticus lanio* een typische bossoort die zowel in de ondergroei als in de kroonlaag van bossen jaagt. *Tmarus piger* is een sit-and-wait predator die zich op dunne takken positioneert en zich aldaar camoufleert als onderdeel van de tak. Ze lijkt daarvoor een sterke voorkeur te hebben voor bosbesondergroei. Dit maakt de soort relatief zeldzaam voor Nederland als geheel maar de bosbesrijke vegetaties op de Veluwe (zoals zure eikenbossen) zijn voor Nederland hét bolwerk van deze soort.

Tussen de jaren zijn er overigens opvallende verschillen in dominantiestructuur op te merken. Deels zal dit te maken hebben met verschillen in bemonsteringsmomenten tussen de meetjaren in, maar het lijkt niet de volledige verklaring te zijn voor de sterke verschuivingen. Mogelijk spelen ook hier jaarlijkse schommelingen in neerslaghoeveelheden een rol (zowel het optreden van droogte als uitermate natte perioden). In Bijlage 1.7.8 is de volledige tabel met alle soorten en aantallen per behandeling weergegeven.

Activiteitsdichtheid bodemactieve soorten

Activiteitsdichtheid verschilde tussen jaren en locaties. 2021 bleek met een totaal aantal bemonsterde individuen van 7766 een intermediair jaar. In 2023 was de activiteitsdichtheid met een totaal van 12572 individuen hoog op de meeste locaties, behalve in Maanschoten en Stroese Bergen I. In 2024 was, net zoals bij loopkevers het geval was, de activiteitsdichtheid met slechts 2881 individuen op vrijwel alle locaties laag (Figuur 6.8; Bijlage 1.7.12).

In alle drie de meetjaren (2021, 2023, 2024) verschilden de activiteitsdichtheden van spinnen duidelijk tussen de proeflocaties (Figuur 6.8B). In geen van de afzonderlijke jaren werden significante effecten van de steenmeelbehandelingen gevonden ten opzichte van de controle (Bijlage 1.7.12). De gecombineerde analyse over alle jaren liet ook geen significant effect van de behandelingen zien, maar wel duidelijke jaarverschillen. In vergelijking met 2021 was de activiteitsdichtheid van spinnen in 2023 significant hoger (Bijlage 1.7.12; $P < 0,001$) en in 2024 was deze significant lager (Bijlage 1.7.12; $P < 0,001$). Samenvattend werd de variatie in activiteitsdichtheid van spinnen grotendeels bepaald door proeflocatie- en jaareffecten, steenmeelbehandelingen hadden hier geen effect op.

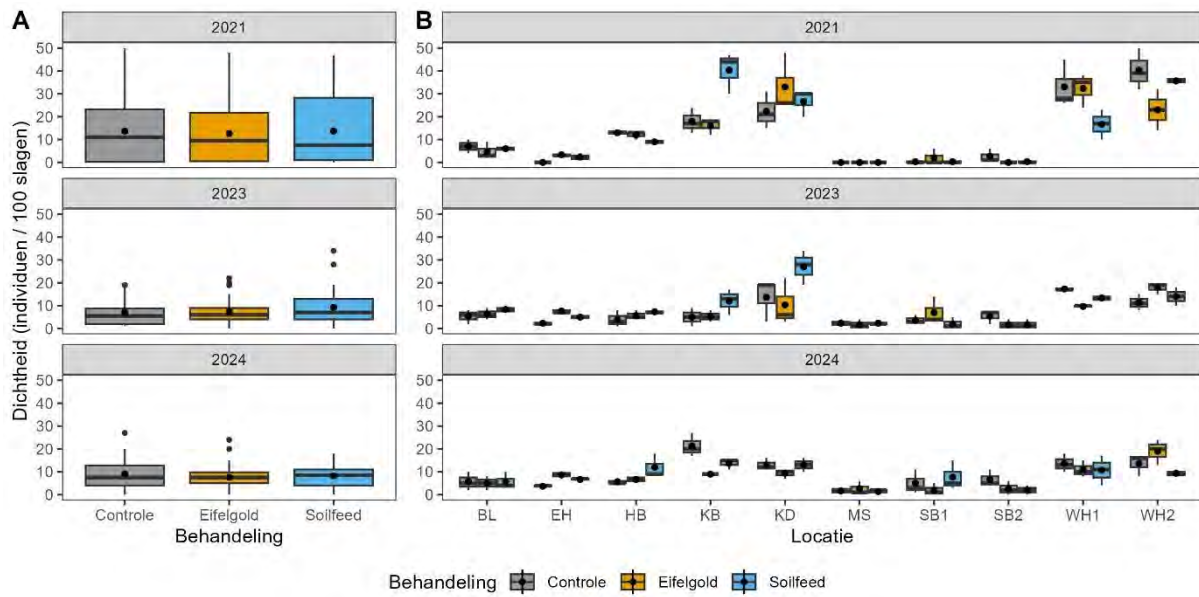


Figuur 6.8 Box- en whiskerplots (A) en barplots (B) van de activiteitsdichtheid van bodemactieve spinnen (som van de drie bemonsteringsmomenten). A: uitgesplitst over de behandelingen (alle proeflocaties samen). B: uitgesplitst over de verschillende proeflocaties en behandelingen. Omdat voor spinnen per locatie en behandeling alléén de middelste potvalserie is meegenomen in de analyse, zijn barplots weergegeven.

Dichtheid in vegetatie levende soorten

De dichtheid van in de vegetatie levende spinnen verschilde tussen jaren en locaties. 2021 kende met een totaal aantal van 1201 bemonsterde individuen hogere dichtheden dan 2023 (710) en 2024 (744) (Figuur 6.9; Bijlage 1.7.13).

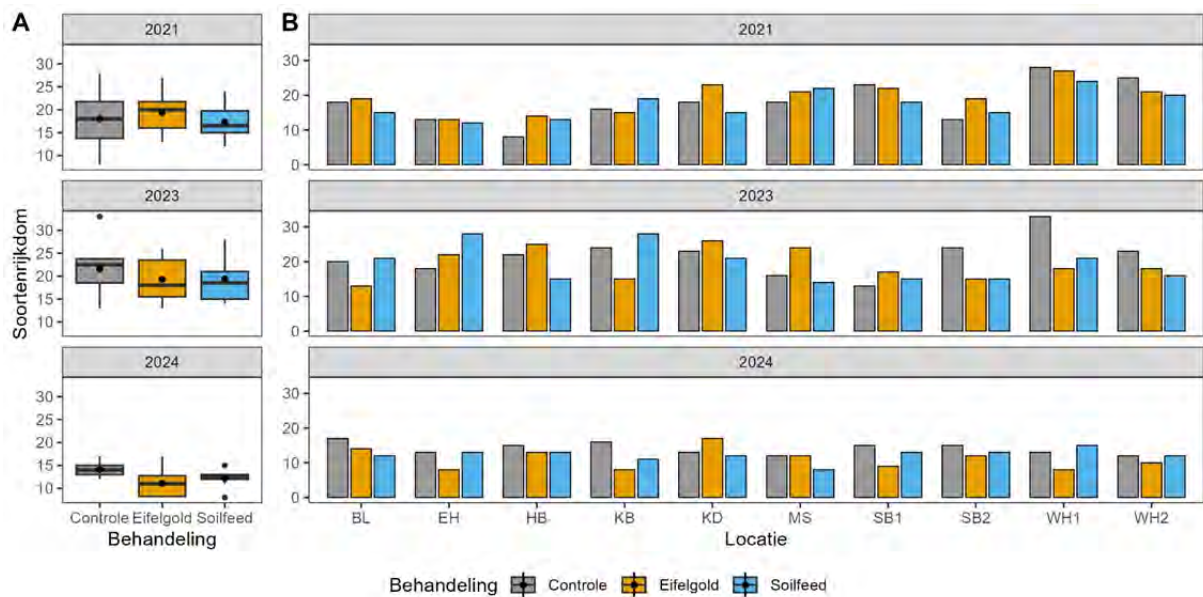
In alle drie de meetjaren (2021, 2023, 2024) verschilden de dichtheden van spinnen duidelijk tussen de proeflocaties (Figuur 6.9B). In geen van de afzonderlijke jaren werden significante effecten van de steenmeelbehandelingen gevonden ten opzichte van de controle (Bijlage 1.7.13). De gecombineerde analyse over alle jaren liet ook geen significant effect van de behandelingen zien, maar wel duidelijke jaarverschillen. In vergelijking met 2021 was de activiteitsdichtheid van spinnen in 2023 significant lager (Bijlage 1.7.13; $P < 0,01$) en in 2024 was deze net niet significant lager (Bijlage 1.7.13; $P < 0,1$). Samenvattend werd de variatie in dichtheid van in de vegetatie levende spinnen grotendeels bepaald door proeflocatie- en jaareffecten, steenmeelbehandelingen hadden hier geen effect op.



Figuur 6.9 Box- en whiskerplots (A) en barplots (B) van de dichtheid van in de vegetatie levende spinnen (som van de drie bemonsteringsmomenten). A: uitgesplitst over de behandelingen (alle proeflocaties samen). B: uitgesplitst over de verschillende proeflocaties en behandelingen.

Soortenrijkdom bodemactieve soorten

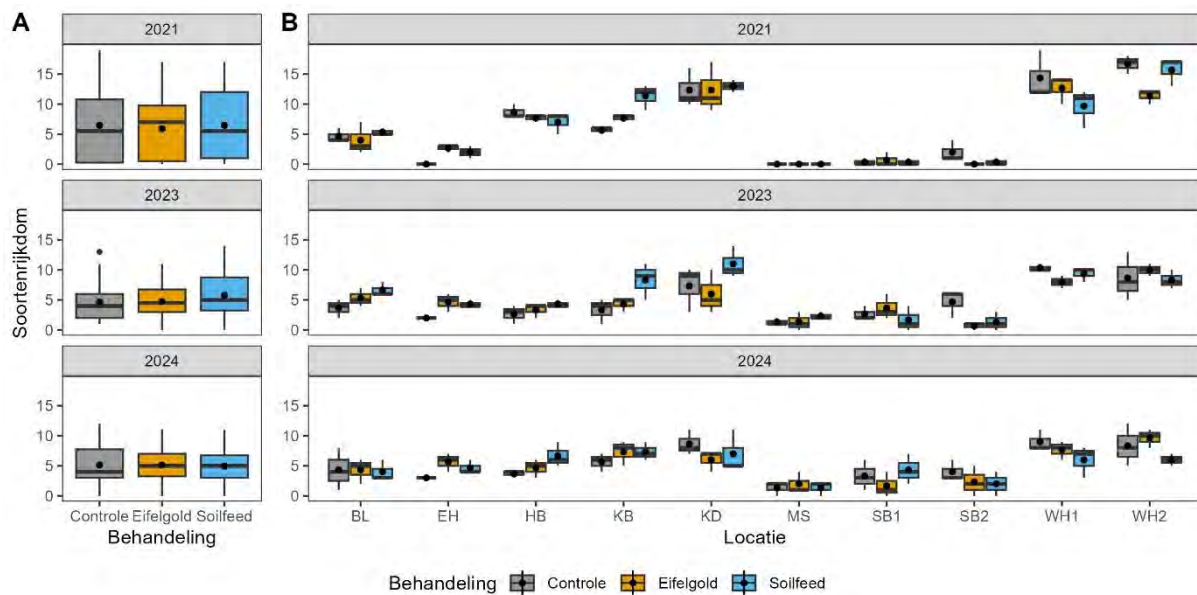
In alle drie de meetjaren (2021, 2023 en 2024) verschilde de soortenrijkdom van spinnen relatief weinig tussen de verschillende proeflocaties (Figuur 6.10B). In geen van de afzonderlijke jaren werden significante effecten van de steenmeelbehandelingen op soortenrijkdom ten opzichte van de controle gevonden (Bijlage 1.7.14). De gecombineerde analyse over alle jaren liet eveneens geen significant effect van Eifelgold of Soilfeed zien op soortenrijkdom. Wel kwamen duidelijke jaarverschillen naar voren: in vergelijking met 2021 was de soortenrijkdom in 2024 significant lager (Bijlage 1.7.14; $P < 0,001$), terwijl 2023 niet significant verschilde ten opzichte van 2021. Geconcludeerd wordt dat de variatie in soortenrijkdom van spinnen vooral bepaald wordt door jaareffecten, zonder een effect van de steenmeelbehandelingen. Duidelijk is ook dat er in jaren met weinig vangsten er ook weinig soorten werden gevonden. Dit is een effect van de bemonsteringsmethode, bij hogere activiteit van spinnen neemt de kans op het vangen van minder algemeen voorkomende soorten toe. Hetzelfde patroon is ook waarneembaar bij de loopkevers.



Figuur 6.10 Box- en whiskerplots (A) en barplots (B) van de soortenrijkdom van bodemactieve spinnen (soms van de drie bemonsteringsmomenten). A: uitgesplitst over de behandelingen (alle proeflocaties samen). B: uitgesplitst over de verschillende proeflocaties en behandelingen. Omdat voor spinnen per locatie en behandeling alléén de middelste plot is meegenomen in de analyse, zijn barplots weergegeven.

Soortenrijkdom in de vegetatie levende soorten

In tegenstelling tot de bodemactieve spinnen bestond er een duidelijk verschil in soortenrijkdom tussen de gebieden, en dit effect was consistent voor alle drie de meetjaren (Figuur 6.11B). Ook was de soortenrijkdom hoger in 2021 ten opzichte van 2023 en 2024 (Figuur 6.11A; Bijlage 1.7.15). Dit patroon correleert sterk met de dichtheid van aangetroffen spinnen, en is waarschijnlijk sterk bepaald door de hoeveelheid vegetatie (zwijnen activiteit) enerzijds en seizoenseffecten (weersomstandigheden) anderzijds. In de afzonderlijke jaren werd alleen voor 2023 een near-significant positief effect van Soilfeed behandeling op soortenrijkdom ten opzichte van de controle gevonden (Bijlage 1.7.15). De gecombineerde analyse over alle jaren liet evenwel geen significant effect van Eifelgold of Soilfeed zien op soortenrijkdom. Wel kwamen duidelijke jaarverschillen naar voren: in vergelijking met 2021 was de soortenrijkdom in 2023 en 2024 significant lager (Bijlage 1.7.15; $P < 0,001$). Geconcludeerd wordt dat de variatie in soortenrijkdom van spinnen vooral bepaald werd door jaareffecten, zonder een effect van de steenmeelbehandelingen. Nog meer dan bij de potvallen is duidelijk dat er in jaren en proeflocaties met weinig vangsten er ook weinig soorten worden gevonden.



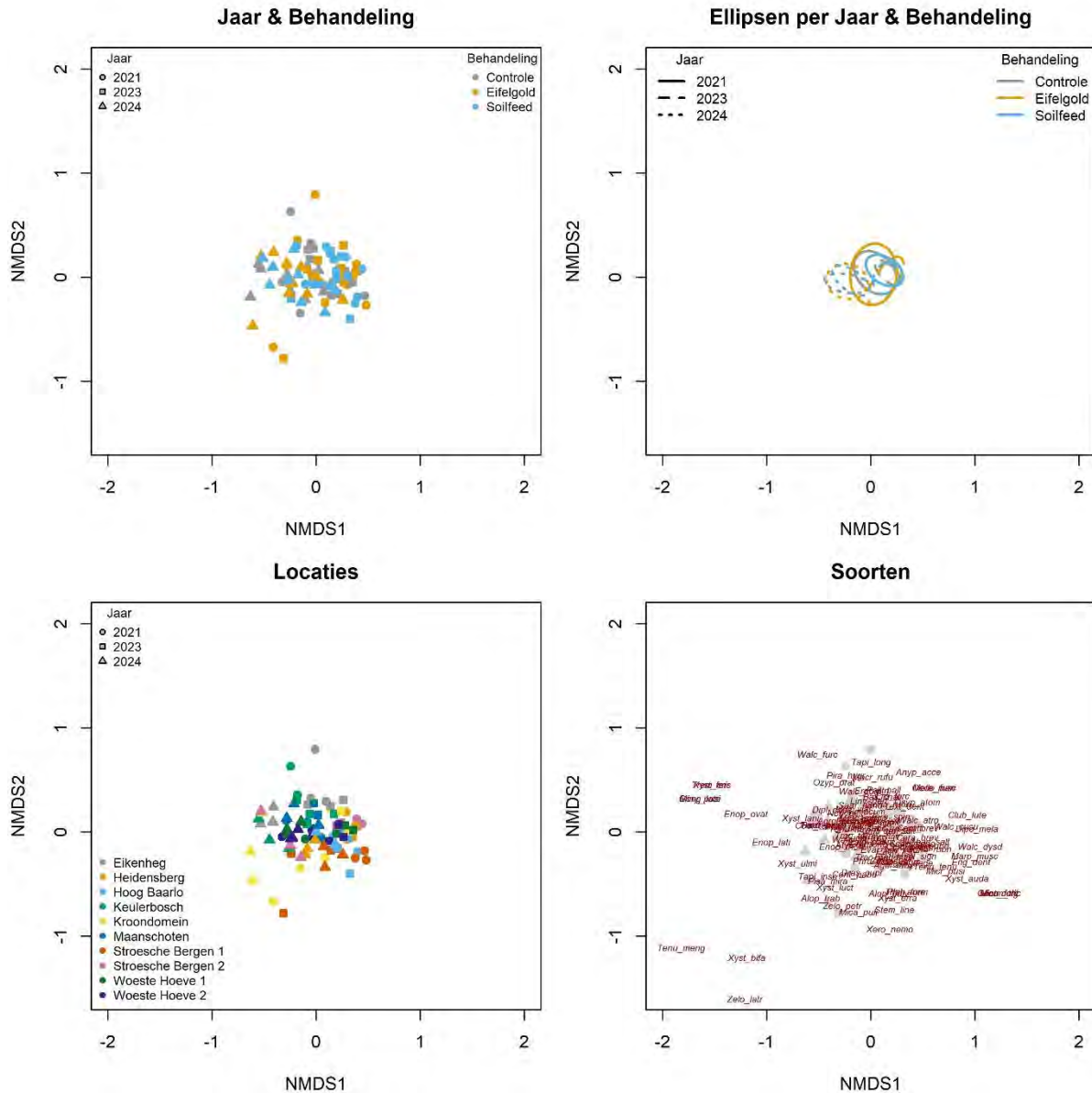
Figuur 6.11 Box- en whiskerplots (A) en barplots (B) van de soortenrijkdom van in de vegetatie levende spinnen (som van de drie bemonsteringsmomenten). A: uitgesplitst over de behandelingen (alle proeflocaties samen). B: uitgesplitst over de verschillende proeflocaties en behandelingen.

Samenstelling van de bodemactieve spinnengemeenschap

In de NMDS-ordinaties (Figuur 6.12) is te zien dat de soortensamenstelling van de bodemactieve spinnengemeenschap het sterkst varieerde tussen de verschillende proeflocaties (grafiek linksonder) en meetjaren (bovenste twee grafieken). Uitgesplitst over de jaren lagen de centroiden van de verschillende steenmeelbehandelingen en controle dicht bij elkaar (grafiek linksboven).

De variatie in de samenstelling van de spinnengemeenschap verschilde significant tussen de onderzochte proeflocaties maar niet tussen jaren, (Bijlage 1.7.16). De variatie binnen de behandelgroepen (controle, Eifelgold, Soilfeed) verschilde niet significant en ook niet per jaar afzonderlijk (Bijlage 1.7.16).

De soortensamenstelling verschilde significant tussen de proeflocaties, jaren, behandelingen en in de locaties door de jaren heen. Een significante interactie tussen steenmeel en locatie indiceerde dat het effect van steenmeel significant verschilde tussen verschillende gebieden (Bijlage 1.7.16; PERMANOVA: $P < 0,001$ voor alle afzonderlijke factoren en interacties, $P < 0,019$ voor steenmeelbehandeling, totale verklaarde variatie: 84%). Verreweg de meeste variatie werd verklaard door verschillen tussen locaties (32%), gevolgd door jaren (12%) en een bescheiden effect van steenmeelbehandeling (1,5%; Eifelgold: 0,6% (n.s.); Soilfeed: 0,9%, $P < 0,03$). De interactie effecten jaar x locatie (21%) en locatie x steenmeelbehandeling (15%) droegen eveneens bij aan het verklaren van de variatie. Een significante interactie tussen jaar en steenmeelbehandeling werd niet gevonden op de samenstelling (PERMANOVA, verklarende variatie $< 2\%$; $P = 0,63$). Hieruit wordt geconcludeerd dat de Soilfeed-behandeling een bescheiden, maar significant effect heeft uitgeoefend op de samenstelling van de spinnengemeenschap, maar dat locatie-, jaar- en interactie effecten (totale verklaarde variatie: 81%) een veel grotere invloed uitoefent op de samenstelling van de gemeenschap dan de toediening van steenmeel (1,5% verklaarde variatie) of jaar-steenmeel interacties (1,6% verklaarde variatie).

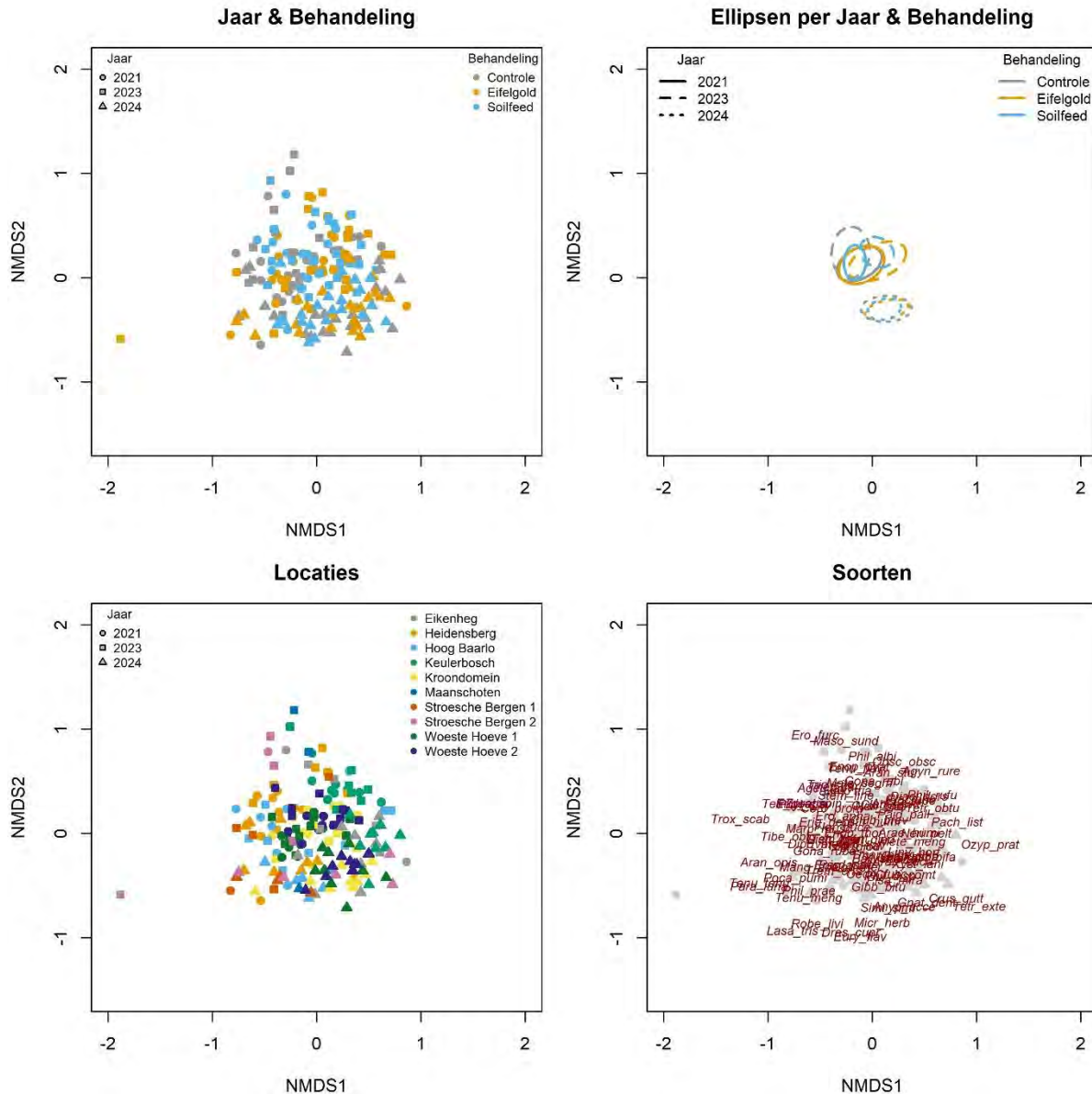


Figuur 6.12 NMDS ordinatie op basis van in de potvallen aangetroffen soorten spinnen in 2021, 2023 en 2024. Data hellingler getransformeerd, $k=3$ en stress = 0.17. Linksboven: plaatsing van verschillende behandelingen in alle jaren. Rechtsboven: 95% betrouwbaarheidsintervallen van de centroiden van de behandelingen per jaar, weergegeven als ellipsen rond de centroid van elk jaar-behandelingscombinatie. Linksonder: plaatsing van de verschillende proeflocaties in alle jaren, ongeacht behandeling. Rechtsonder: plaatsing van de soorten in relatie tot de proeflocaties.

Samenstelling van de in de vegetatie levende spinnengemeenschap

In de NMDS-ordinaties (Figuur 6.13) is te zien dat de soortensamenstelling van de in de vegetatie levende spinnengemeenschap ongeveer even sterk varieerde tussen de verschillende proeflocaties (grafiek linksonder) als de verschillende meetjaren (bovenste twee grafieken). Uitgesplitst over de jaren lagen, afgezien van meetjaar 2023, de centroiden van de verschillende steenmeelbehandelingen en controle dicht bij elkaar (grafiek rechtsboven).

De variatie in de samenstelling van de spinnengemeenschap verschilde significant tussen de onderzochte proeflocaties en jaren (Bijlage 1.7.17). De variatie binnen de behandelgroepen (controle, Eifelgold, Soilfeed) verschilde niet significant en ook niet per jaar afzonderlijk (Bijlage 1.7.17).



Figuur 6.13 NMDS ordinatie op basis van in de sleepnetmonsters aangetroffen soorten spinnen in 2021, 2023 en 2024. Data hellinger getransformeerd, $k=3$ en stress = 0.20. Linksboven: plaatsing van verschillende behandelingen in alle jaren. Rechtsboven: 95% betrouwbaarheidsintervallen van de centroïds van de behandelingen per jaar, weergegeven als ellipsen rond de centroid van elk jaar-behandelingscombinatie. Linksonder: plaatsing van de verschillende proeflocaties in alle jaren, ongeacht behandeling. Rechtsonder: plaatsing van de soorten in relatie tot de proeflocaties.

De soortensamenstelling verschilde significant tussen de proeflocaties, jaren, en in de locaties door de jaren heen. Een significante interactie tussen steenmeel en locatie indiceerde dat het effect van steenmeel significant verschilde tussen verschillende locaties, maar steenmeelbehandelingen verschilden over de locaties niet significant (Bijlage 1.7.17; PERMANOVA: $P < 0,001$ voor alle afzonderlijke factoren en interacties, totale verklaarde variatie: 45%). Verreweg de meeste variatie werd verklaard door verschillen tussen gebieden (20%), gevolgd door jaren (11%). De interactie effecten jaar x locatie (11%) en locatie x steenmeelbehandeling (9%) droegen eveneens bij aan het verklaren van de variatie. Er werd geen significant effect van steenmeel of interactie tussen jaar en steenmeelbehandeling gevonden op de samenstelling (PERMANOVA, verklarende variatie $< 2\%$; $P = 0,22$). Hieruit wordt geconcludeerd dat de steenmeelbehandelingen geen significant effect hebben uitgeoefend op de samenstelling van de in de vegetatie levende spinnengemeenschap.

6.3.5 Conclusies predatoren respons (onderdeel 7.2)

Op basis van de veldgegevens kan worden geconcludeerd dat steenmeeltoediening een duidelijk positief effect heeft gehad op loopkevers, maar nauwelijks invloed heeft op spinnen. Voor loopkevers leidde zowel behandeling met Eifelgold als Soilfeed tot een significant toename in activiteitsdichtheid en soortenrijkdom ten opzichte van de controleproefvlakken. Dit effect was consistent over meerdere jaren en proeflocaties, wat erop wijst dat steenmeel de leefomstandigheden voor deze groep predatoren verbetert. Een mogelijke verklaring is dat er toch subtiele veranderingen in strooiselafbraak zijn opgetreden bij toediening van steenmeel, wat heeft geleid tot een toename van detritivore fauna (vliegenlarven, potwormen, etc) die op haar beurt heeft geleid tot een toename van de activiteit of dichtheid van loopkevers, of een combinatie van beiden. Ook de samenstelling van de loopkevergemeenschap werd in beperkte mate beïnvloed door steenmeel, al bleken locatie- en jaareffecten veel dominanter.

Voor spinnen was het beeld anders. Zowel bij bodemactieve als in de vegetatie levende soorten werd geen significant effect van steenmeeltoediening gevonden op activiteitsdichtheid, soortenrijkdom of gemeenschapssamenstelling. De variatie in spinnenaantallen en -soorten werd vooral bepaald door verschillen in vegetatiestructuur, zwijnenactiviteit en weersomstandigheden. Alleen bij bodemactieve spinnen werd een klein maar significant effect van Soilfeed op de soortensamenstelling gevonden, maar dit effect was beperkt in omvang en werd overschaduwed door locatie- en jaareffecten.

Samenvattend kan gesteld worden dat steenmeeltoediening een positief ecologisch effect heeft op loopkevers, wat duidt op een toename van strooiselafbraak en bijgevolg toename van detritivore prooidieren. Voor spinnen is het effect verwaarloosbaar, wat suggereert dat deze groep minder gevoelig is voor veranderingen in bodemchemie of prooiaanbod en sterker reageert op vegetatiestructuur, openheid van de bodem en microklimaatveranderingen – allen factoren die sterk beïnvloed werden door zwijneninvloed op de hoeveelheid ondergroei en strooisel.

6.4 Herbivoren respons – rupsendichtheid (onderdeel 7.3.1)

6.4.1 Methoden

Blad- en rupsenbemonstering kroonlaag

In alle proefvlakken is in 2021, 2023 en 2024 een bemonstering van rupsen in de kroonlaag uitgevoerd. In 2021 (7 juni) en 2024 (14 en 15 mei) is dit uitgevoerd toen de bladeren van de meeste bomen volledig ontplooid waren. In 2023 (24, 25 en 26 mei) was de ontwikkeling van de bladeren nog in een vroeger stadium. Tussen de meetjaren zijn er dus sterke verschillen in het moment waarop de bomen in blad kwamen en waarop het blad volledig ontplooid was; een effect dat vooral bepaald leek te zijn door de temperatuur in de winter en het vroege voorjaar (persoonlijke observatie), met een zeer late ontwikkeling in 2021 en een zeer vroege ontwikkeling in 2024. Dit bemoeilijkte de planning voor het moment van bemonsteren. Voorafgaand aan bemonstering werden vijf bomen in ieder vlak random geselecteerd en gemarkeerd. Door middel van een snoeischaar op telescoopstok met vangzak zijn in ieder per proefvlak van iedere gemarkeerde boom steeds vijf kleine takken met jonge bladeren verzameld (Afbeelding 6.1) en meegenomen naar het determinatie- en sorteerlab van de Radboud Universiteit Nijmegen. Van deze monsters zijn alle rupsen verzameld en in de vriezer bewaard voor latere determinatie. Vervolgens werden de rupsen in het determinatielab op naam gebracht.

Van elk van de verzamelde takken werd de mate van vraat bepaald. Dit werd gestandaardiseerd uitgevoerd door middel van de volgende methode: van elke geknipte tak werd door middel van een random nummer generator (www.random.org) tweemaal een zijtak geselecteerd. Vervolgens werd van deze zijtakken het vijfde blad (van te top van de tak gerekend) uitgenomen. Van deze bladeren werd de mate van vraat bepaald (in vraatscore variërend van 0-10; 0=0% van het blad opgegeten; 10=100% van

het blad gegeten). Vervolgens werden al deze bladeren op een wit A4 vel gelegd en samen met monstercode gefotografeerd. In totaal werden in de meeste gevallen (soms werden minder of juist meer dan 10 takken in de monsters gevonden) zo 10 bladeren per bemonsterde boom verzameld. Deze verzamelde bladeren werden daarna in een papieren zak verzameld en vervolgens voor 48 uur op 60 °C gedroogd in een droogstoof. Na drogen werd het totaalgewicht van de bladmonsters bepaald op een precisiebalans. De bladmonsters zijn vervolgens per behandeling in een proeflocatie samen gepooled (vijf monsters per proeflocatie per behandeling zijn samengevoegd) en vervolgens bij Onderzoekcentrum B-WARE geanalyseerd op totale concentraties van elementen (via C/N analyse en HNO₃-destructie; zie paragraaf 3.3.1).



Afbeelding 6.1 Met een aangepaste snoeischaar op een telescoopstok wordt een tak verzameld voor bepaling van bladontwikkeling en het aantal aanwezige rupsen.

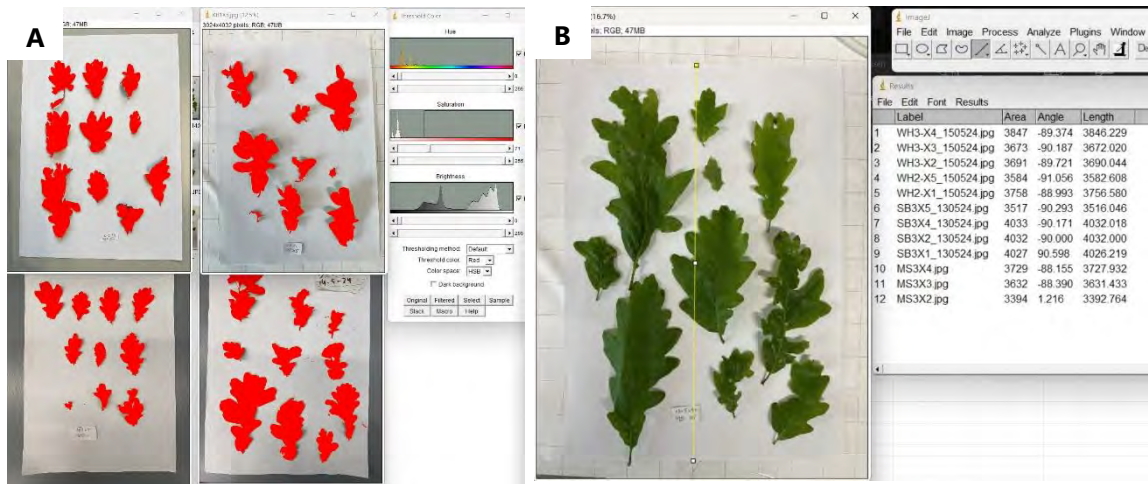
Van alle gefotografeerde bladmonsters werd door middel van het programma ImageJ (Schneider et al. 2012) het totale bladoppervlakte in aantal pixels bepaald, door middel van de "color threshold" methode (Afbeelding 6.2A). Oppervlakte in cm² werd berekend door middel van het kalibreren van elke foto. Dit werd gedaan door het meten van de lengte van het A4tje (=29,7 cm) in pixels (Afbeelding 6.2B). Gemiddeld bladoppervlakte werd dan berekend via:

$$opp_{cm^2} = \frac{\left(\frac{29.7}{lA4_{pix}}\right)^2 \cdot LSA_{pix}}{n_{blad}}$$

Waarbij: $lA4_{pix}$ = gemeten lengte van A4tje in pixels

LSA_{pix} = gemeten totaaloppervlakte van bladeren in pixels

n_{blad} = totaal aantal bladeren.



Afbeelding 6.2 Bepaling bladoppervlakte van bladmonsters. A: door middel van color thresholding werd het aantal pixels in de afbeelding van bladeren bepaald. B: door per foto de lengte van het A4-tje in aantallen pixels weer te geven, werd vervolgens het bladoppervlakte berekend.

Rupsendichtheid bepaling door middel van uitwerpselen

Om een beeld te krijgen van de rupsendichtheid inclusief de rupsen in de hoge kroonlaag zijn onder vijf aanvullend geselecteerde bomen trechtersvallen van 1m² oppervlakte opgehangen (Afbeelding 6.3). Deze vallen vingen alle uitwerpselen van rupsen op. De uitwerpselen zijn verzameld op drie momenten. De datumseries met de grootste hoeveelheid uitwerpselen zijn vervolgens gedroogd, opgeschoond van plantaardige vervuiling en gewogen.



Afbeelding 6.3 Voor een bepaling van dichtheid van hoger in de kroonlaag aanwezige rupsen zijn trechtersvallen opgehangen. De in de trechtersvallen opgevangen uitwerpselen geven een maat van de dichtheid van rupsen over de gehele boomlaag.

Rupsendichtheid in kruid- en struiklaag

In alle proefvlakken is in 2021, 2023 en 2024 de dichtheid van rupsen in de kruid- en struiklaag door middel van een gestandaardiseerde sleepnetbemonstering bepaald, in samenhang met het onderdeel predatoren respons spinners.

Op drie momenten in 2021, 2023 en 2024 (Tabel 6.3) is een sleepnet monster van 4 x 25 slagen verzameld. Sleepnetmonsters zijn op dezelfde dag in de vriezer opgeslagen voor uitsorteren en determinatie op een later moment. Alle aanwezige rupsen zijn in het lab uit de monsters gesorteerd en

op naam gebracht. De locatie Maanschoten bleek moeilijk met een sleepnet te kunnen worden bemonsterd, omdat hier een dichte ondergroei van Vuilboom en Amerikaanse vogelkers aanwezig was. Dit had ook als gevolg dat hier geen lage struiklaag in de proefvlakken aanwezig was. De locaties Eikenheg, Heidensberg, Hoog Baarlo en Stroese Bergen I en II waren in alle drie de jaren sterk door activiteit van wilde zwijnen beïnvloed, waardoor ook hier grote delen van de bodem omgewoeld waren en derhalve geen of nauwelijks een lage struiklaag bezaten. Dit heeft sterk invloed uitgeoefend op de uitkomsten van de bemonsteringen.

Tabel 6.3 *Overzicht bemonsteringsdata sleepnetmonsters.*

Project onderdeel	Bemonstering	Ronde	2021	2023	2024
1.3 Herbivoren respons	Sleepnet	1	1-6-2021	16-5-2023	9-5-2024
	Sleepnet	2	14-6-2021	20-7-2023	19-6-2024
	Sleepnet	3	14-9-2021	20-9-2023	11-9-2024

6.4.2 Statistische analyses

Bladmonsters

Om de invloed van de steenmeelbehandelingen op de gemiddelde bladoppervlakte en het bladgewicht over de verschillende jaren te analyseren, is een lineair mixed model toegepast. Het model werd gefit met de Restricted Maximum Likelihood (REML)-methode, waarbij t-toetsen zijn uitgevoerd volgens de Satterthwaite-methode. Een complexer model is toegepast om te onderzoeken of het verschil in bladoppervlakte het gevolg was van verschillen in de mate van rupsenvraat tussen de steenmeelbehandelingen. Hierbij werd de gemiddelde vraatscore of het aantal in de monsters aangetroffen rupsen als covariabele meegenomen. Dit model evalueerde het verband tussen de mate van rupsenvraat en bladoppervlakte. De analyses toonden aan dat dit verband het beste kon worden gemodelleerd met een kwadratische curve. Volledige modelresultaten zijn weergegeven in Bijlagen 1.7.18, 1.7.20, 1.7.21 (bladoppervlakte met en zonder correcties) en 1.7.19, 1.7.22, 1.7.23 (bladgewicht met en zonder correcties).

De invloed van steenmeelbehandelingen op de elementgehalten en -verhoudingen in de bemonsterde bladeren over alle jaren is geanalyseerd met een lineair model. Hierin werden de elementconcentraties en -verhoudingen gemodelleerd als afhankelijke variabelen en de behandelingen als onafhankelijke variabelen. Volledige modelresultaten zijn weergegeven in Bijlagen 1.7.24 (element gehalten) en 1.7.25 (element ratio's).

Om de effecten van steenmeelbehandelingen op het aantal aangetroffen rupsen en poppen in de bladmonsters in verschillende jaren te analyseren, werd een gegeneraliseerd lineair mixed model (GLMM) gebruikt. Omdat de data overdispersie vertoonden bij toepassing van een Poisson-verdeling, is een negatieve binomiale distributie toegepast voor een betere modellering. Volledige modelresultaten zijn weergegeven in Bijlage 1.7.28.

Rupsendichtheid bepaling door middel van uitwerpselen

Om de invloed van steenmeelbehandelingen op het gewicht van rupsenuitwerpselen in trechtere vallen over verschillende jaren te analyseren, is een gegeneraliseerd lineair mixed model (GLMM) gebruikt. Hierbij is gebruikgemaakt van een Gamma-verdeling met een log-linkfunctie om de scheve verdeling van het gewicht van de uitwerpselen te modelleren. Volledige modelresultaten zijn weergegeven in Bijlage 1.7.29.

Soortenrijkdom en dichtheid vlinderrupsen

Voor het bepalen van de soortenrijkdom van vlinderrupsen in zowel de kroonlaag als de kruid- en struiklaag is de term SRmax gehanteerd. SRmax werd berekend door het maximaal aantal aanwezige

soorten in een monster vast te stellen. Wanneer een rups slechts tot op familie- of genusniveau gedetermineerd kon worden en er in dat monster nog geen soort uit dezelfde familie of genus was gevonden, werd de identificatie op familieniveau meegeteld als een extra soort in de berekening van de soortenrijkdom.

Het effect van de steenmeelbehandelingen op de dichtheid van vlinderrupsen in zowel de kroonlaag als de kruid- en struiklaag is per jaar afzonderlijk getoetst door middel van een negatieve binomial generalized linear mixed model met proeflocatie als random factor.

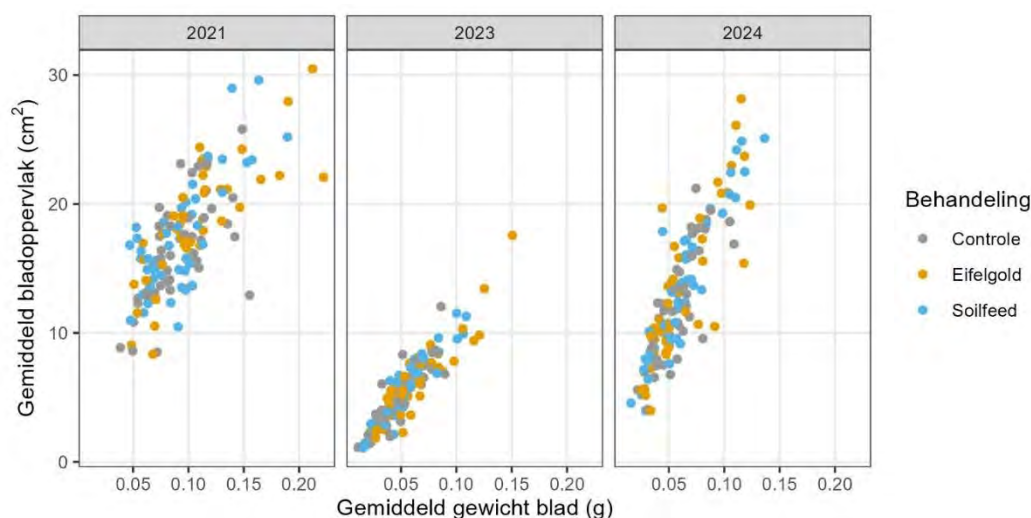
Effecten van verschillende behandelingen op de maximale soortenrijkdom en dichtheid van vlinderrupsen over de jaren werden getoetst door middel van twee variaties op een poisson generalized linear mixed model met een log-linkfunctie. In het eerste model werd 'jaar' als random factor opgenomen, terwijl in het tweede model 'jaar' als vaste factor werd gemodelleerd. Beide modellen gebruiken 'locatie' als random factor. Overdispersie van dit model werd gecontroleerd met de functie 'overdisp_fun' om te bevestigen dat een poisson-verdeling geschikt was voor de analyse. Volledige modelresultaten zijn weergegeven in Bijlagen 1.7.30 (kroonlaag), 1.7.32 en 1.7.33 (kruid- en struiklaag).

Om na te gaan of het opbrengen van steenmeel invloed had op de samenstelling van de vlinderrupsengemeenschap in de kroonlaag en kruid- en struiklaag van de eikenbossen is een NMDS ordinatie van hellinger getransformeerde aantalsgegevens per soort uitgevoerd, waarbij in de NMDS ordinatie de verschillen tussen elke afzonderlijk monster werd berekend over drie assen ($k=3$). Monsters zonder rupsen kunnen niet worden geïntegreerd in een NMDS-analyse, daarom zijn bladmonsters met nulwaarnemingen uitgesloten van de analyse.

6.4.3 Resultaten kroonlaag

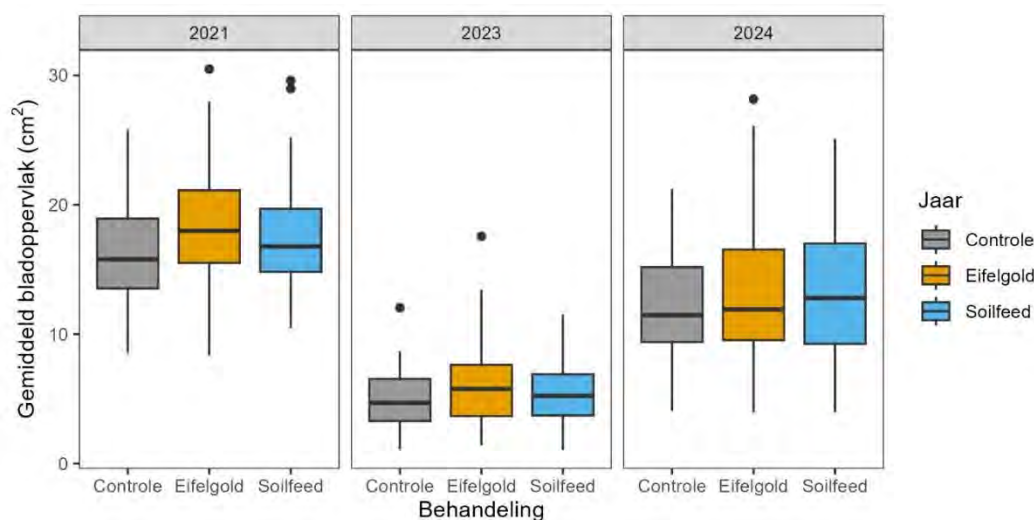
Bladmonsters

In Figuur 6.14 is per meetjaar het gemiddelde bladgewicht uitgezet tegen het gemiddelde bladoppervlakte. Het effect van seizoensverschillen is hier goed te zien; bladgewicht en oppervlakte waren in 2023 beduidend lager dan in de meetjaren 2021 en 2024. Voor alle jaren werd er een duidelijk verband gevonden tussen bladgewicht en oppervlakte, al was de spreiding in 2021 wat groter dan in de latere meetjaren. Wat ook opvalt is dat de bladen uit Eifelgold- en in mindere mate ook Soilfeed-behandeling voor een deel hogere waarden lieten zien in zowel gewicht en oppervlakte ten opzichte van de bladeren uit controle behandelingen. Om na te gaan of er een effect van steenmeelbehandelingen heeft opgetreden op de bladontwikkeling, is dit nader onderzocht.



Figuur 6.14 Scatterplots van gemiddeld bladgewicht versus gemiddeld bladoppervlakte van bladmonsters verzameld in de proeflocaties, verdeeld over meetjaar.

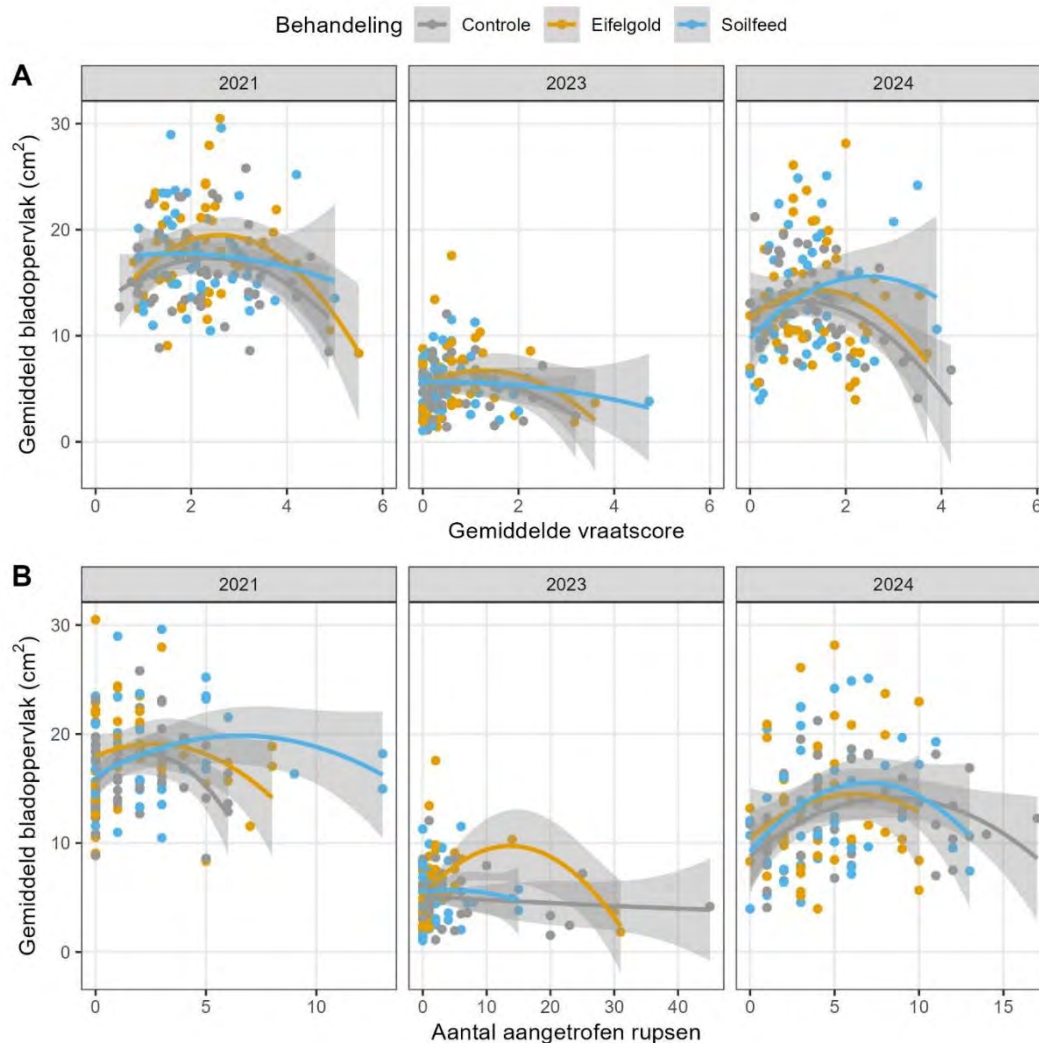
In Figuur 6.15 is het gemiddeld bladoppervlakte in de vorm van box- en whisker plots uitgezet. Voor de jaren 2021 en 2023 is het gemiddelde bladoppervlakte in Eifelgold-behandelingen wat hoger dan de controle, voor Soilfeed is dit effect minder sterk. Dit verschil bleek significant te zijn voor Eifelgold in 2021 en 2023, echter niet voor 2024. Voor Soilfeed bleek in geen van de jaren een significant verschil in bladoppervlakte ten opzichte van de controle. Hetzelfde patroon werd gevonden in bladgewicht (Bijlagen 1.7.18 en 1.7.19), met significant hogere bladgewichten in de Eifelgold-behandelingen in 2021 en 2023.



Figuur 6.15 Box- en whisker plots van gemiddeld bladoppervlakte van bladmonsters uitgesplitst over de meetjaren.

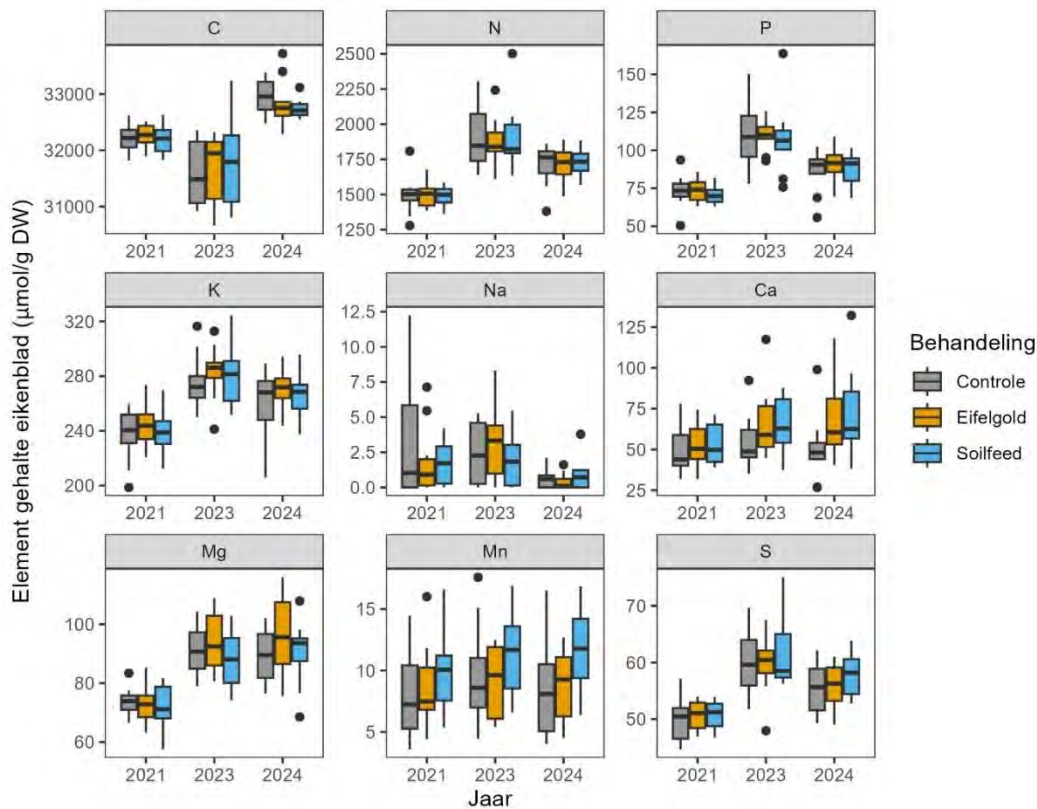
Bladoppervlakte en bladgewicht worden echter niet alleen door groei bepaald, ook de mate van vraat door rupsen kan invloed uitoefenen op het bladoppervlakte en het gewicht. Een verband tussen beide parameters en bladoppervlakte bleek inderdaad te bestaan (Figuur 6.16). De kwadratische relatie tussen rupsenvraat en bladoppervlakte suggereert dat bij jongere en kleinere bladeren de mate van rupsenvraat aanvankelijk laag is. Naarmate het blad ouder wordt en het bladoppervlakte toeneemt, neemt de hoeveelheid vraat cumulatief toe. In monsters met hoge vraatscores of een groot aantal rupsen werd een verlaging van het gemeten bladoppervlakte waargenomen.

Ook wanneer op deze wijze gecorrigeerd werd op de hoeveelheid vraat en aantal aangetroffen rupsen was het gemiddelde bladoppervlakte significant groter in de Eifelgold-behandelingen in meetjaren 2021 en 2023 (Bijlagen 1.7.20 en 1.7.21). Ook voor bladgewicht (Bijlagen 1.7.22 en 1.7.23) werd hetzelfde verband met vraat en rupsendichtheid gevonden. Het effect van Eifelgold op bladgewicht ten opzichte van controle in 2021 en 2023 was met gebruik van dezelfde toetsparameters significant wanneer aantallen rupsen werden meegenomen als covariabele, maar net niet significant als de vraatscore werd meegenomen. In 2024 werd, net als voor bladoppervlakte, voor geen van de steenmeeltypen een significant effect.



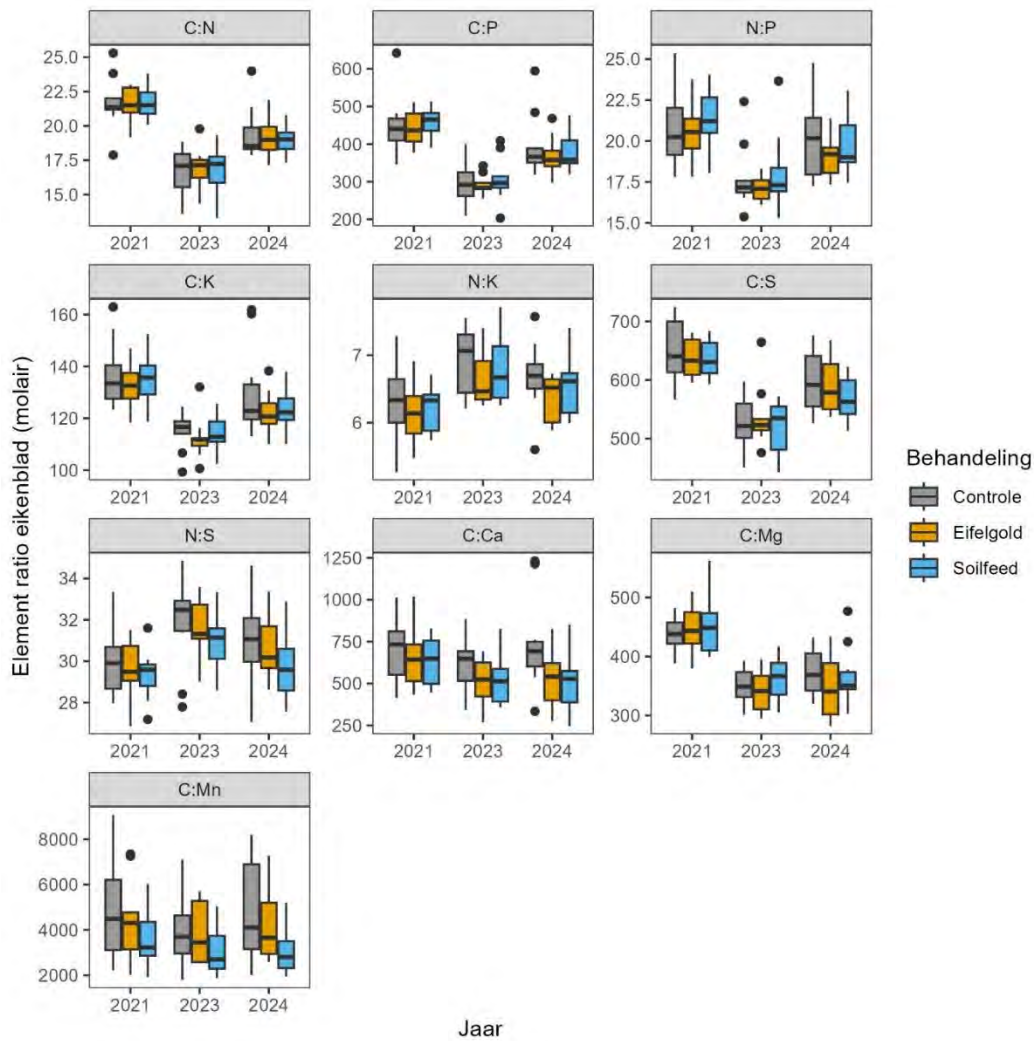
Figuur 6.16 Bladoppervlakte als functie van gemiddelde vraatscore (boven) of aantal aangetroffen rupsen (onder) per afzonderlijk meetjaar. De relatie vertoonde een kwadratisch verloop.

Het elementgehalte van het bemonsterde eikenblad liet de sterkste verschillen zien tussen de meetjaren (Figuur 6.17) en dit reflecteert vooral verschillen in ontwikkelingsstadium – als gevolg van jaarlijkse seizoensschommelingen – van het eikenblad ten tijde van bemonstering. Het jongere blad uit 2023 had duidelijk hogere N-, P-, K- en S-gehalten vergeleken met 2021 en 2024, en de waarden in 2024 zijn doorgaans ook hoger dan die in de bladen die in 2021 verzameld werden (in dat jaar werd het blad ook later in het seizoen verzameld). Dit beeld werd nog duidelijker als naar element ratio's werd gekeken (Figuur 6.18); beduidend lagere C/N-, C/P-, N/P- en C/K-ratio's in 2023 vergeleken met 2021 en 2024 indiceren een jonger blad met relatief hoge gehalten aan N, P en K in dit blad.



Figuur 6.17 Box- en whisker plots van elementgehalte van het bemonsterde eikenblad uit de rupsenbemonstering (alle waarden in $\mu\text{mol/g DW}$), uitgesplitst over meetjaar en behandeling.

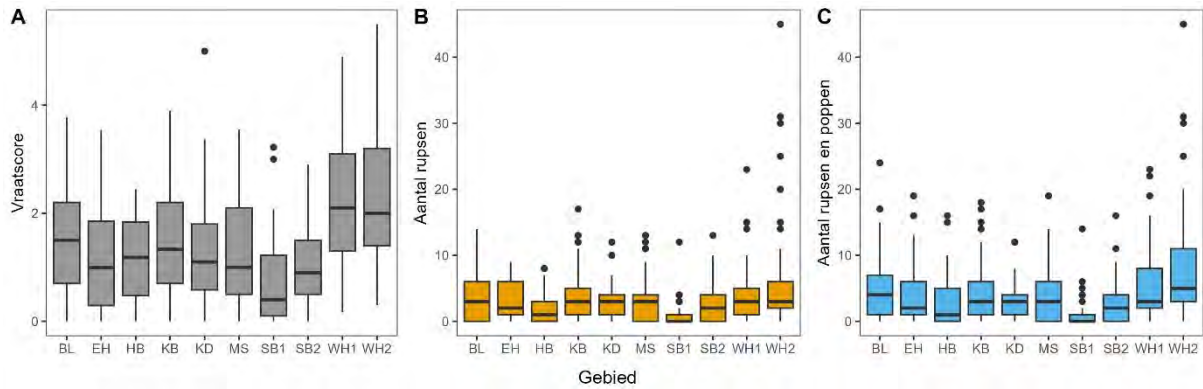
Verschillen tussen behandelingen zijn alléén betekenisvol te analyseren door per jaar naar de verschillen te kijken. In de steenmeelbehandelingen is het gehalte van K, Ca, Mg en Mn in alle afzonderlijke jaren hoger dan in de controleproefvlakken voor tenminste één van de twee steenmeeltypen, maar dit effect is subtiel en (in deze beperkte dataset, $N = 10$) voor géén van de genoemde elementen significant (net niet significant voor Ca en Mn in Soilfeed-behandeling in 2024). Binnen de meetjaren werd er geen verschil gevonden in de element ratio's tussen de behandelingen. De elementen die uitgedrukt in $\mu\text{mol/g}$ net niet significant verschilden waren in C/element ratio's uitgedrukt significant lager in de Soilfeed-behandeling ten opzichte van de controle, maar alleen in meetjaar 2024.



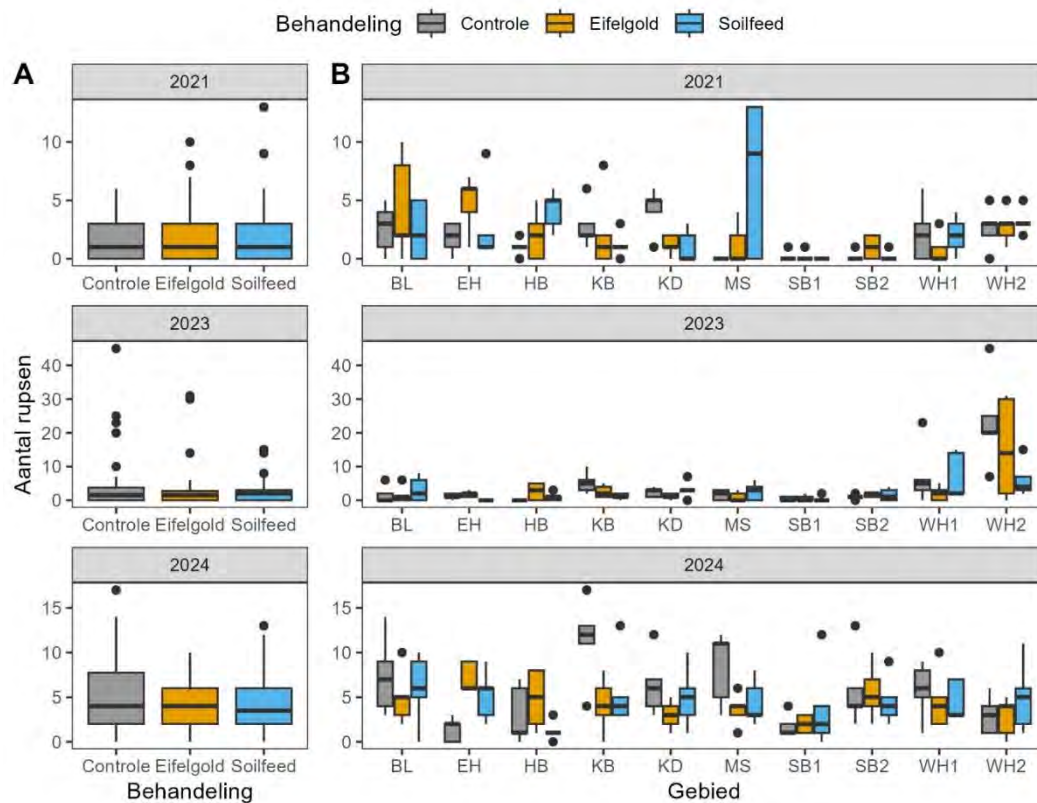
Figuur 6.18 Box- en whisker plots van element ratio's (molair) van het bemonsterde eikenblad uit de rupsenbemonstering, uitgesplitst over meetjaar en behandeling.

Effecten van behandelingen op rupsendichtheid

Tussen proeflocaties werden verschillen in rupsendichtheid gevonden (Figuur 6.19). In Stroese Bergen I (SB1) was deze voor alle jaren en alle drie de meetparameters laag ten opzichte van de andere locaties. Een andere locatie met relatief lage rupsendichtheden was Heidensberg (HB). In Woeste Hoeve I en II (WH1 en WH2) was de rupsendichtheid en/of vraatscore voor alle jaren juist relatief hoog. Dit was met name duidelijk in 2023 (Figuur 6.20). In dat jaar traden lokaal plagen op van de Groene eikenbladroller (*Tortrix viridana*) en deze behaalde vooral op de Woeste Hoeve hoge dichtheden.

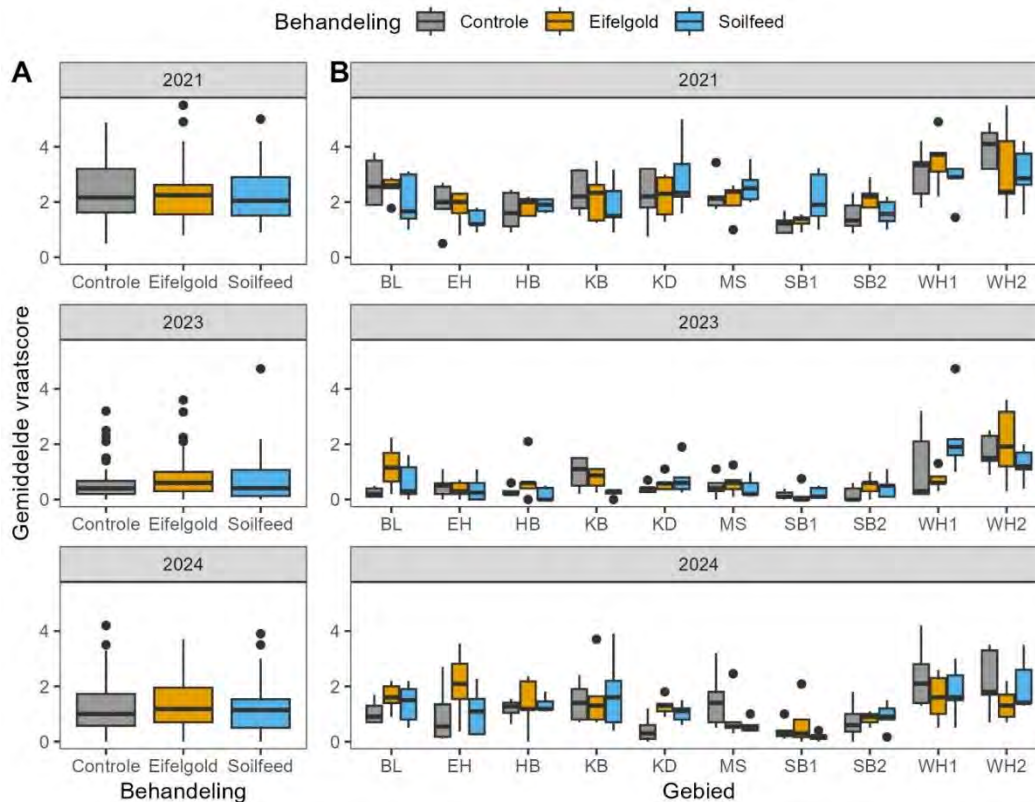


Figuur 6.19 Box- en whisker plots van vraatscore (A), aantal rupsen (B) en rupsen inclusief poppen (C) aangetroffen in de proeflocaties, alle meetjaren en behandelingen samengenomen. Afkortingen van proeflocaties: BL = Hoog Baarlo, EH = Eikenheg, HB = Heidensberg, KB = Keulerbosch, KD = Kroondomein, MS = Maanschoten, SB = Stroese Bergen (I en II), WH = Woeste Hoeve (I en II).



Figuur 6.20. Box- en whisker plots van het aantal aangetroffen rupsen in de bladmonsters, verdeeld over de meetjaren en behandelingen. A: Alle proeflocaties samen. B: uitgesplitst per proeflocatie. Voor afkortingen van de proeflocaties zie Figuur 6.19. Let op: schaal op de x-as verschilt tussen de jaren.

Een tweede belangrijke factor was het jaartal van bemonstering. Tussen de drie meetjaren was een verschil aanwezig in vraatscore, aantal in de monsters aangetroffen rupsen en aantal rupsen inclusief poppen (Bijlage Figuur 1.4). Voor geen van de drie meetjaren werd een significant effect gevonden van de steenmeelbehandelingen op rupsendichtheid (Figuur 6.20; Bijlage 1.7.26), vraatscore (Figuur 6.21; Bijlage 1.7.27) of het aantal rupsen inclusief poppen (Bijlage Figuur 1.5; Bijlage 1.7.28).

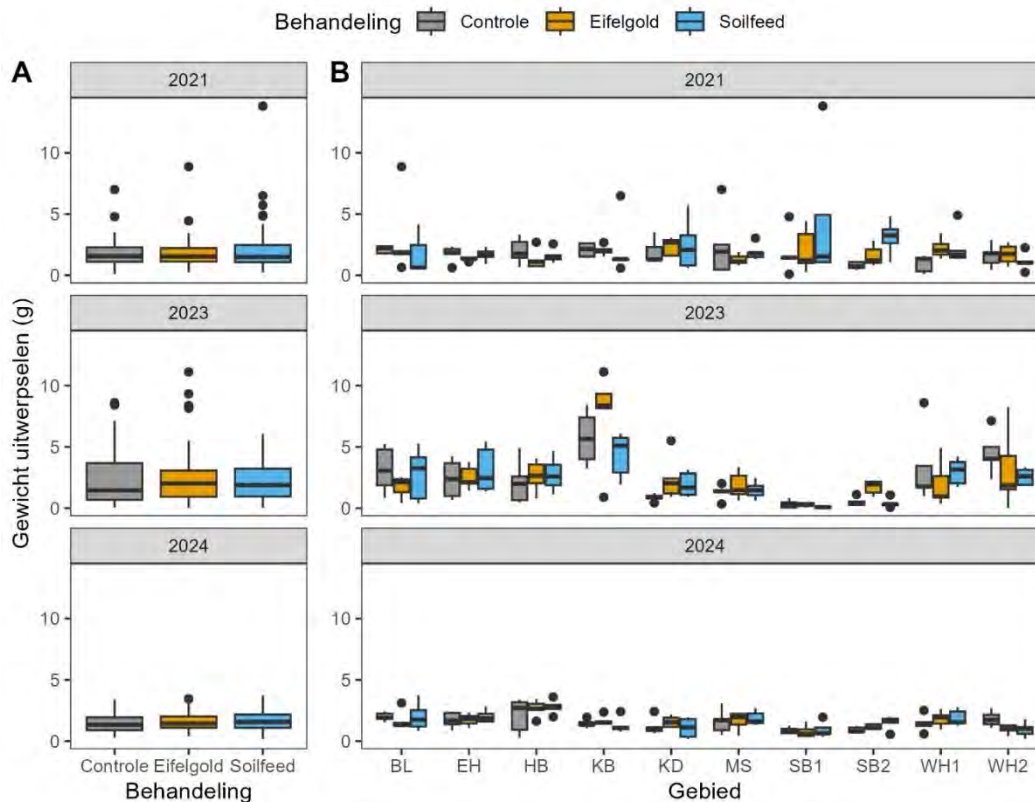


Figuur 6.21 Box- en whisker plots van de vastgestelde vraatscore in de bladmonsters, verdeeld over de meetjaren en behandelingen. A: Alle proeflocaties samen. B: uitgesplitst per proeflocatie. Voor afkortingen van de proeflocaties zie Figuur 6.19. Let op: schaal op de x-as verschilt tussen de jaren.

Rupsendichtheid bepaling door middel van uitwerpselen

Zoals ook bij vraatscore en rupsendichtheid aangetoond, bestonden er verschillen in de hoeveelheid rupsenuitwerpselen tussen de verschillende proeflocaties (Figuur 6.22B), vooral duidelijk in 2023 maar ook in 2024. Dit patroon was behoorlijk consistent met de andere gebruikte meeteenheden weergegeven van Figuur 6.19. Geconcludeerd kan dan ook worden dat de methoden waarop in dit onderzoek rupsenvraat en -dichtheden zijn bepaald de werkelijkheid accuraat weergeven. Ook kan geconcludeerd worden dat een bemonstering van blad en rupsen in de onderste kroonlaag doorgaans voldoende is om de dichtheden en/of mate van vraat voor de gehele kroonlaag te kunnen vaststellen.

Ook in lijn met de eerder gerapporteerde resultaten met betrekking tot vraatscore en aantal aangetroffen rupsen is de afwezigheid van een behandelingseffect: in geen van de jaren werd een effect gevonden van de steenmeelbehandelingen op het gewicht van de rupsenuitwerpselen (Figuur 6.22A).



Figuur 6.22 Box- en whisker plots van het gewicht van rupsuitwerpselen in de trechtere vallen, verdeeld over de meetjaren en behandelingen. A: Alle proeflocaties samen. B: uitgesplitst per proeflocatie. Voor afkortingen van de proeflocaties zie Figuur 6.19.

Effecten van behandelingen op soortenrijkdom rupsengemeenschap

De soortenrijkdom is hier gedefinieerd als het aantal verschillende vlinderrupssoorten per vijf bemonsterde takken (zie methode Blad- en rupsenbemonstering 6.4.1). Tussen 2021 en 2023 waren er slechts kleine verschillen in soortenrijkdom waarneembaar tussen de verschillende proeflocaties (Figuur 6.23). In 2021 varieerde de soortenrijkdom gemiddeld tussen 0 en 1,8 soorten per locatie, terwijl deze in 2023 licht steeg met een gemiddelde tussen 0,3 en 2,4 soorten. In 2023 was Woeste Hoeve II een duidelijke uitschieter met een aanzienlijk hogere soortenrijkdom van gemiddeld 2,4 soorten in de bladmonsters. Dit is een duidelijk verschil ten opzichte van de overige proeflocaties dat jaar, waar de soortenrijkdom tussen de 0,3 en 1,4 soorten lag. In 2024 lag het gemiddelde aantal soorten op alle locaties beduidend hoger en was tussen 0,9 en 2,6. Opvallend is dat de hoogste soortenrijkdom in dit jaar niet waargenomen werd op Woeste Hoeve II (gemiddeld 1,4 soorten), maar op Keulerbosch met een gemiddeld aantal soorten van 2,6. In Stroese Bergen I en II was de soortenrijkdom in alle jaren laag tot zeer laag in vergelijking tot de andere locaties.

Het eerste model liet zien dat er enige variabiliteit in de soortenrijkdom over de verschillende jaren aanwezig was, maar er werden geen significante effecten van de steenmeelbehandelingen gevonden. Het tweede model toonde een significante stijging van de soortenrijkdom in 2024 ten opzichte van 2021, maar geen significante verschillen voor de steenmeelbehandelingen. Voor 2023 waren er geen verschillen in soortenrijkdom vergeleken met 2021. De resultaten laten zien dat er in 2024 meer soorten aanwezig waren dan in 2021, maar de steenmeelbehandelingen zelf hadden geen significant effect op de soortenrijkdom.

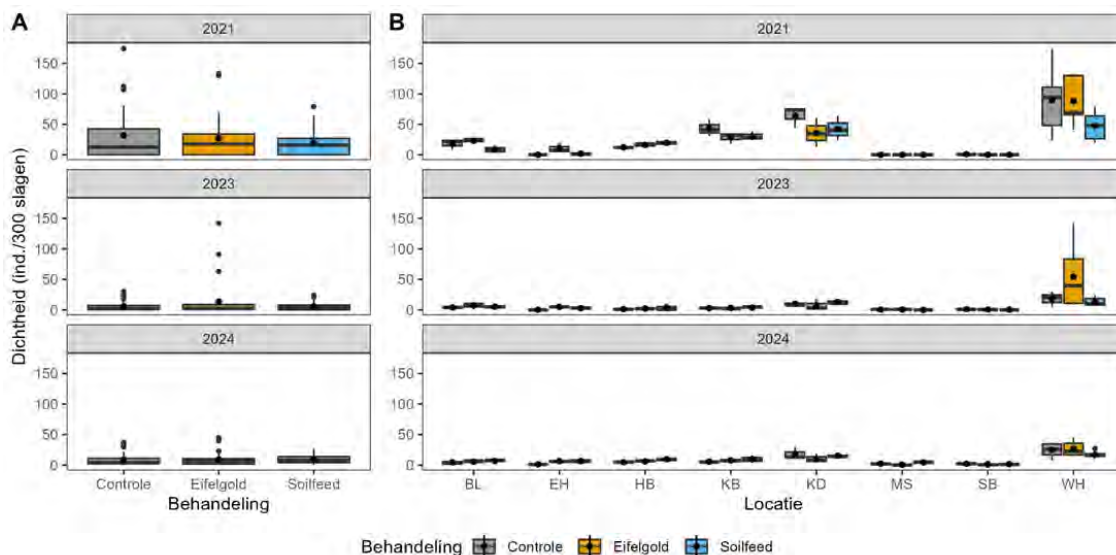
Zomereik als waardplant. Voorjaarsboomspanner (*Alsophila aescularia*), Melkwitte/Spaansgroene zomervlinder (*Jodis* sp.), Grote voorjaarsspanner (*Agriopis marginaria*), Najaarsspanner (*Agriopis aurantiaria*), Kleine voorjaarsspanner (*Agriopis leucophaearia*) en Eiken/voorjaarsdwergspanner (*Eupithecia abbreviata/dodoneata*) namen tussen 0,7% en 4,3% van het totaal aantal aangetroffen individuen in. Deze soorten zijn eveneens allen algemeen en leven onder meer van eik (*A. leucophaearia*, *E. abbreviata/dodoneata*), andere loofbomen (*A. aescularia*, *A. marginaria*, *A. aurantiaria*) en/of bosbes (*Jodis* sp., *A. aurantiaria*). Samen met individuen die niet tot op soort konden worden gebracht nam deze groep 85% van het totaal aantal bemonsterde individuen in.

Soorten die in lage dichtheden werden gevonden maar wel regelmatig werden gevonden, waren Eikenooglapmot (*Bucculatrix ulmella*), Hyena (*Cosmia trapezina*), bosbesbruintje (*Macaria brunneata*), Oranje iepentakvlinder (*Angerona prunaria*) en bosbesdwergspanner (*Pasiphila debiliata*).

Bosbesbruintje is zeldzaam, maar kan algemeen voorkomen op de hogere zandgronden. Bosbesdwergspanner staat als enige van deze genoemde soorten vermeld met de status 'kwetsbaar' op de voorlopige Rode lijst van macronachtvlinders (Ellis et al. 2013). Beide soorten leven met name van bosbes. De overige soorten werden slechts incidenteel of slechts een aantal keer in de monsters aangetroffen. Van deze soorten hebben 21 de status gevoelig tot bedreigd op de voorlopige Rode Lijst van macronachtvlinders (Ellis et al. 2013), geen van deze Rode Lijst-soorten werd in hoge aantallen aangetroffen.

Effecten van behandelingen op rupsendichtheid

In alle jaren (2021, 2023, 2024) was er een groot verschil in de dichtheid van vlinderrupsen tussen de verschillende proeflocaties waarneembaar. Ook tussen de jaren zijn opvallende verschillen te zien: 2023 en 2024 vertonen gelijkenissen, maar 2021 wijkt duidelijk af. Eikenheg, Maanschoten en Stroese Bergen (beide locaties) werden in alle jaren gekenmerkt door lage dichtheden, en Keulerbosch, Kroondomein en Woeste Hoeve (beide locaties) werden duidelijk gekenmerkt door hogere dichtheden van vlinderrupsen. Dit effect is zeer waarschijnlijk het gevolg van verschillen in (Blauwe bosbes) bedekking.



Figuur 6.26 Box- en whisker plots van de dichtheid van vlinderrupsen (som van de drie bemonsteringsmomenten), uitgedrukt in aantal individuen per totaal aantal slagen, per meetjaar. A: uitgesplitst over de behandelingen (alle proeflocaties samen). B: uitgesplitst over de verschillende proeflocaties en behandelingen. Voor afkortingen van de proeflocaties zie Figuur 6.19.

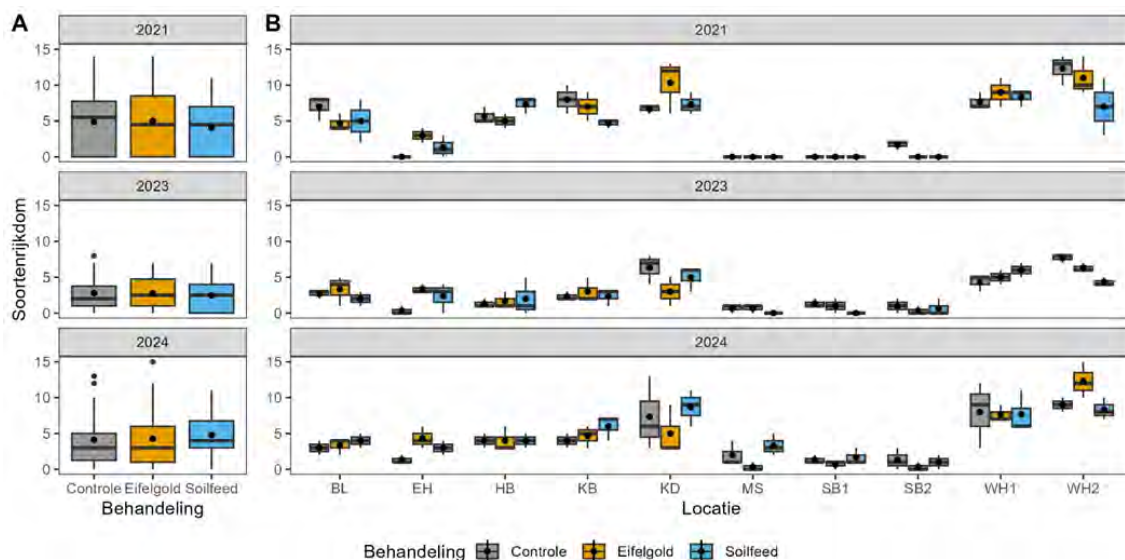
In 2021 was de dichtheid van vlinderrupsen significant lager in de Soilfeed-behandeling ten opzichte van de controle. In Figuur 6.26 is dit niet evident zichtbaar in de totaal figuur (A), maar wel in de figuur

uitgesplitst over de afzonderlijke proeflocaties (B). Hier was de dichtheid lager in Hoog Baarlo, Keulerbosch, Kroondomein en Woeste Hoeve I en II. Behandeling met Eifelgold had in 2021 geen significant effect op dichtheid ten opzichte van de controle. In 2023 werd een significant positief effect van behandeling met Eifelgold op dichtheid ten opzichte van controle gevonden, en geen effect van behandeling met Soilfeed. Ook hier is dit niet evident in de totaalfiguur (A), en in de figuur uitgesplitst over de afzonderlijke proeflocaties (B) leek dit effect sterk beïnvloed te zijn door de meetwaarden in Woeste Hoeve, waar de dichtheid beduidend hoger was in de Eifelgold-behandeling. In 2024 hadden zowel de behandeling met Eifelgold als de behandeling met Soilfeed geen significant effect op de dichtheid van vlinderrupsen vergeleken met de controle.

De effecten van de steenmeelbehandelingen over de jaren toonden geen significante verschillen in rupsdichtheid in vergelijking met de controle in het eerste model. Het tweede model toonde een significante daling van de rupsdichtheid in 2023 en 2024 ten opzichte van 2021, maar geen significante verschillen tussen de steenmeelbehandelingen. De resultaten laten zien dat de dichtheid van vlinderrupsen in 2023 en in 2024 lager was dan in 2021, maar de behandelingen zelf hadden geen significant effect op de dichtheid.

Effecten van behandelingen op soortenrijkdom rupsengemeenschap

In alle meetjaren (2021, 2023 en 2024) was er een groot verschil in soortenrijkdom tussen de verschillende proeflocaties waarneembaar (Figuur 6.27). Deze was laag in Eikenheg, Maanschoten en Stroese Bergen I en II, gemiddeld tussen 0 en 2,9 soorten over alle jaren. Heidensberg, Hoog Baarlo en Keulerbosch scoorden beter met gemiddeld tussen 1,7 en 6,6 soorten over alle jaren. De soortenrijkdom van Kroondomein en Woeste Hoeve I en II was het hoogst met gemiddeld 4,8 tot 9,2 soorten over alle jaren. Geen van de steenmeelbehandelingen had een significant effect op het aantal aangetroffen soorten ten opzichte van de controle. Dit gold zowel voor 2021 als 2024. De resultaten van de twee gebruikte modellen tonen wel aan dat de soortenrijkdom van vlinderrupsen in 2023 lager was dan in 2021 als in 2024.

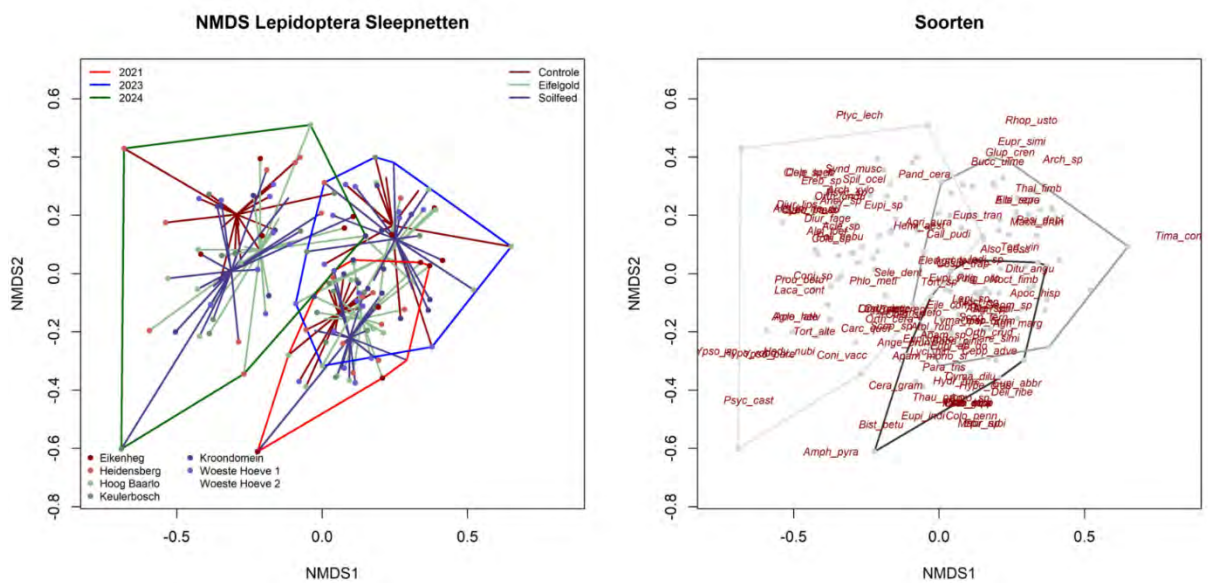


Figuur 6.27 Box- en whisker plots van de soortenrijkdom van vlinderrupsen (sommige van de drie bemonsteringsmomenten), per meetjaar afzonderlijk. A: uitgesplitst over de behandelingen (alle proeflocaties samen). B: uitgesplitst over de verschillende proeflocaties en behandelingen. Voor afkortingen van de proeflocaties zie Figuur 6.19.

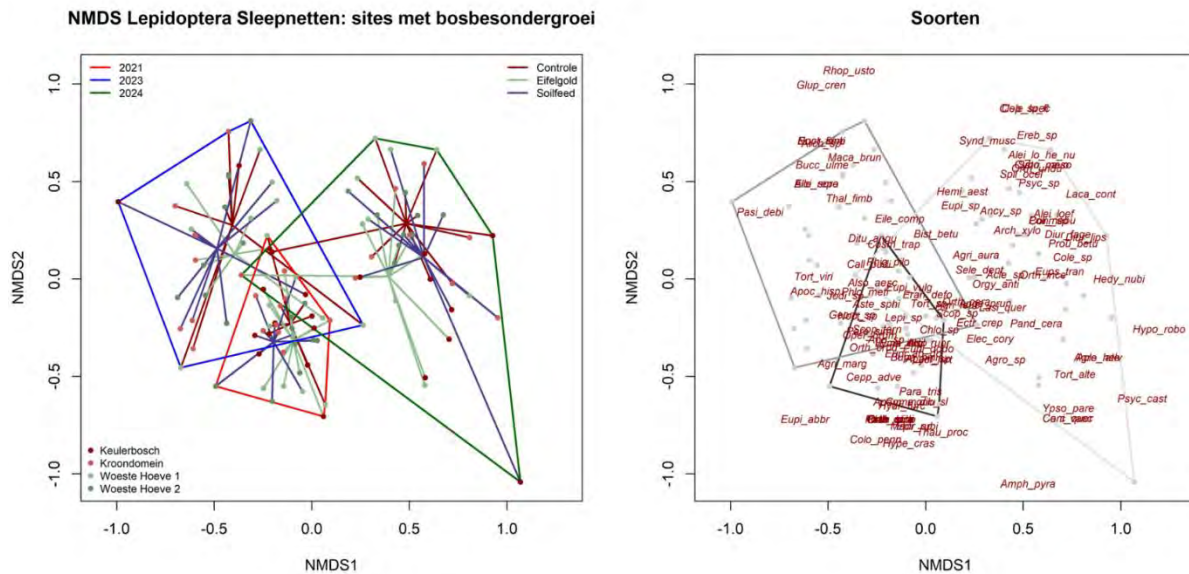
Effecten van behandelingen op soortensamenstelling rupsengemeenschap

Omdat rupsen volledig of grotendeels ontbraken in Maanschoten en Stroese Bergen I en II, zijn deze proeflocaties niet meegenomen in de NMDS ordinaties. Dit was waarschijnlijk het gevolg van het ontbreken van een lage ondergroei met Blauwe bosbes. Aangezien deze ook (gedeeltelijk) ontbrak in de proeflocaties Eikenheg, Heidensberg en Hoog Baarlo, is ook een aparte NMDS analyse uitgevoerd met enkel de locaties waar een hoge mate van Blauwe bosbesbedekking aanwezig was (Keulerbosch, Kroondomein en Woeste Hoeve I en II). Dit om na te gaan of 'ruis' geïntroduceerd door de bedekking van Blauwe bosbes een eventueel effect op samenstelling van de rupsengemeenschap zou verhullen.

Uit de algehele NMDS ordinatie (Figuur 6.28) is op te maken dat verschillen in samenstelling met name het gevolg waren van verschillen in samenstelling tussen meetjaren en verschillen tussen locaties. In alle bemonsteringsmeetjaren (2021, 2023 en 2024) was er geen verschil in samenstelling tussen de behandelingen controle, Eifelgold en/of Soilfeed aanwezig. Ook in de ordinatie met alleen de locaties met hoge Blauwe bosbesbedekking (Figuur 6.29) waren geen aanwijzingen voor een andere samenstelling in de met steenmeelbehandelde proefvlakken ten opzichte van de controleproefvlakken.



Figuur 6.28 NMDS ordinatie op basis van in de sleepnetten aangetroffen soorten vlinderrupsen in de sleepnetten in 2021, 2023 en 2024. Linker grafiek: plaatsing van de verschillende proeflocaties uitgesplitst over behandelingen (verbindende lijnen) en proeflocatie (verschillend gekleurde punten). Rode, blauwe en groene lijnen geven plaatsing van proeflocaties uit verschillende jaren weer. Rechter grafiek: plaatsing van de soorten in relatie tot de proeflocaties. Voor gebruikte soortafkortingen zie Bijlage 1.7.34.



Figuur 6.29 NMDS ordinatie op basis van in de sleepnetten aangetroffen soorten vlinderrupsen in de sleepnetten in 2021, 2023 en 2024, alléén voor de proeflocaties met een hoge bedekking van Blauwe bosbesondergroei. Voor gebruikte soortafkortingen zie Bijlage 1.7.34.

6.5 Herbivoren respons – kweekproeven met vlinderrupsen (onderdeel 7.3.2)

6.5.1 Methoden

In het voorjaar van 2024 (de eerste twee weken van mei) werden in het veld jonge rupsen van Kleine wintervlinder (*Opheroptera brumata*) verzameld van Zomereiken in de omgeving van de Radboud Universiteit Nijmegen (Afbeelding 6.4). Rupsen werden verzameld door boven een klopscherm eikentakken uit te schudden en alle jonge rupsen mee te nemen naar het determinatielab. Jonge rupsen van deze soort waren in het veld moeilijk te onderscheiden van jonge rupsen van de Kleine voorjaarsspanner (*Agriopsis leucophaeria*). In het determinatielab van de Radboud Universiteit werden vervolgens de rupsen tot soort gebracht en gewogen. Alleen individuen die lichter waren dan 0,03 gram werden in het experiment opgenomen. Op basis van het aantal individuen dat aan deze criteria voldeden is besloten om zowel Kleine voorjaarsspanner als Kleine Wintervlinder in het experiment op te nemen.



Afbeelding 6.4. Boven: (Werk)studenten assisteren met het verzamelen van rupsen in het voorjaar van 2024. Links: Opstelling in klimaatkamer van een deel van de rupsen. Rupsen werden samen met verzameld eikenblad in doorzichtige potten geplaatst. In de deksels was een rond gat aangebracht, deze werd met fijn gaas bedekt om luchtuitwisseling mogelijk te maken.

In totaal werden 51 rupsen van Kleine wintervlinder en 44 rupsen van Kleine voorjaarsspanner in het experiment opgenomen, en als volgt verdeeld over zes verschillende behandelingen:

- Slecht rupsenhabitat – Stroese Bergen I
 - o Controle
 - o Eifelgold
 - o Soilfeed
- Normaal rupsenhabitat - Kroondomein
 - o Controle
 - o Eifelgold
 - o Soilfeed

Bladmateriaal werd elke week nieuw verzameld in de genoemde proeflocaties. Blad werd verzameld door gehele takken af te knippen. Deze takken werden vervolgens in de koelcel in het kassencomplex van de Radboud universiteit opgeslagen. Van elke bemonsteringsronde werden vijf willekeurige bladeren verzameld, voor 48 uur op 60°C gedroogd in een droogstoof en bewaard en later geanalyseerd door Onderzoekcentrum B-WARE op totale concentraties van elementen (via C/N analyse en HNO₃-destructie; zie paragraaf 3.3.1).

Het kweekexperiment werd uitgevoerd in een temperatuur gecontroleerde ruimte in de kas van de Radboud Universiteit Nijmegen. Temperatuur werd constant gehouden op 20°C en relatieve luchtvochtigheid lag tussen 65 en 75%. Licht/donker ritme was 16/8 uur. Tweemaal per week werden alle nog levende rupsen gewogen op een microbalans. Wanneer rupsen niet meer in leven waren of wanneer deze verpopt waren werd dit ook op deze momenten genoteerd. Op elk van deze

weegmomenten werd het bladmateriaal ververst. Steeds werden bladeren van de in die week verzamelde takken gebruikt. Op deze manier werd de rupsen steeds vers blad aangeboden met een leeftijd en ontwikkelingsstadium die zo veel mogelijk correspondeerde met de veldsituatie op dat moment.

6.5.2 Statistische analyses

Voor de analyse van overlevende individuen in verschillende categorieën (soorten, locaties en behandelingen) zijn Pearson's Chi-kwadraat toetsen uitgevoerd. Afhankelijk van de aard van de vergelijking werd de toets uitgevoerd met of zonder Yates' continuïteitscorrectie. Volledige modelresultaten zijn weergegeven in Bijlage 1.7.35.

Het startgewicht van de rupsen was niet voor alle individuen gelijk, en is daarom meegenomen als co-variabele in het toetsen van behandelingseffecten op maximaal gewicht, eindgewicht en ontwikkelingsduur. Maximaal gewicht en popgewicht zijn getoetst door middel van lineaire regressie modellen, duur tot verpopping door middel van een poisson GLM met log link. Toetsing is uitgevoerd voor iedere soort en voor ieder gebied afzonderlijk. Volledige modelresultaten zijn weergegeven in Bijlagen 1.7.36 (maximaal behaald gewicht), 1.7.37 (tijd tot verpopping) en 1.7.38 (popgewicht).

6.5.3 Resultaten

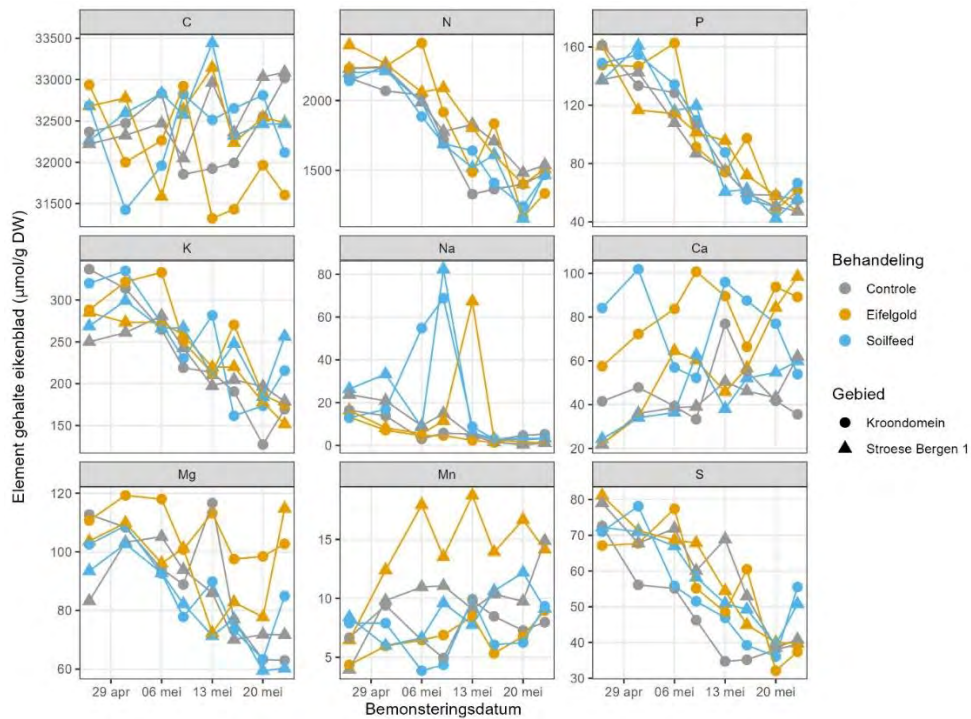
Bladchemie

Eikenblad vertoonde duidelijke temporele trends in elementgehalten en -ratio's gedurende het experiment, wat een gevolg was van de leeftijd van het blad. In het vroege voorjaar wanneer het blad net ontplooid was, waren de gehalten van N, P, K, S en in mindere mate ook Mg duidelijk hoger dan die van later verzamelde monsters (Figuur 6.30). C:N, C:P, N:P en C:K ratio's waren in de eerste bemonsteringsweken eveneens duidelijk lager dan in de latere weken (Figuur 6.31). Zowel de C:N (<16) als de N:P ratio's (<15) waren in de eerste weken dusdanig laag dat het onwaarschijnlijk is dat de groei van de rupsen in die periode door een van deze elementen gelimiteerd werd. Later in het seizoen was een trend van hogere N:P ratio's in Stroese Bergen I ten opzichte van Kroondomein waarneembaar.

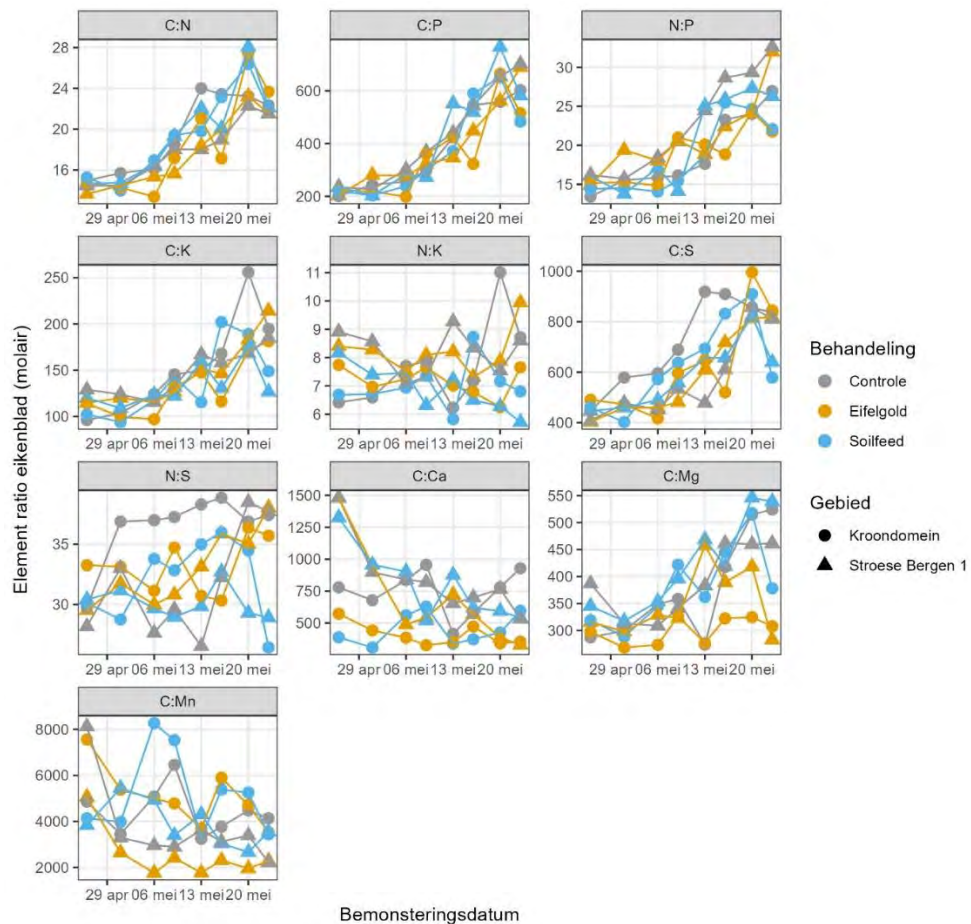
In de eerste weken waren verschillen in elementgehalten relatief klein, met uitzondering van Ca en in mindere mate K en Mg (in de eerste twee bemonsteringsmomenten), welke in Stroese Bergen I steeds lager lagen dan in Kroondomein. C:Ca, C:K en N:K ratio's waren in Stroese Bergen I in deze periode ook lager dan in Kroondomein. Later in het seizoen was de N:P ratio in Kroondomein lager dan die van Stroese Bergen I. Deze verschillen tussen de gebieden waren in lijn met de aanname dat Stroese Bergen I sterker gedegenereerd was dan Kroondomein.

Effecten van Soilfeed en Eifergold waren subtieler dan de gebiedsverschillen. In Stroese Bergen I was een trend waarneembaar van hogere Ca (Eifergold), K (Soilfeed), en Mg (Eifergold) gehalten bij blad verzameld in de latere bemonsteringsmomenten. Mn was in de Eifergold-behandeling in de monsternmomenten tussen de eerste en laatste datum beduidend hoger ten opzichte van de controle, in controle nam dit gehalte in het laatste meetmoment sterk toe. Bij element ratio's zijn lagere N:P, C:K, N:K en N:S in de Soilfeed-behandeling gevonden, C:Ca en C:Mg waren lager in de Eifergold-behandeling. Voor Kroondomein werden hogere K en Ca gehalten in Soilfeed en hogere Ca en Mg in Eifergold behandeling gemeten in ouder wordend blad. N:P ratio volgde tot het voorlaatste bemonsteringsmoment die van controle en enkel in de laatste bemonstering in zowel de Soilfeed- als Eifergold-behandelingen lager. C:Mg en C:Ca waren in de Eifergold-behandeling over de hele periode lager in Kroondomein, en voor de Soilfeed-behandeling was dit in mindere mate ook het geval voor C:Ca.

Effecten van steenmeel op plant elementaire samenstelling zijn dus aanwezig maar de verschillen tussen de behandelingen zijn (met uitzondering van Ca en Mg, en Mn in Stroese Bergen I) klein ten opzichte van de controle.



Figuur 6.30 Elementgehalten van eikenblad gedurende de loop van het experiment, uitgesplitst over behandeling en donorgebied.



Figuur 6.31 Element ratio's van eikenblad gedurende de loop van het experiment, uitgesplitst over behandeling en donorgebied.

Overleving, ontwikkelingsduur en groei

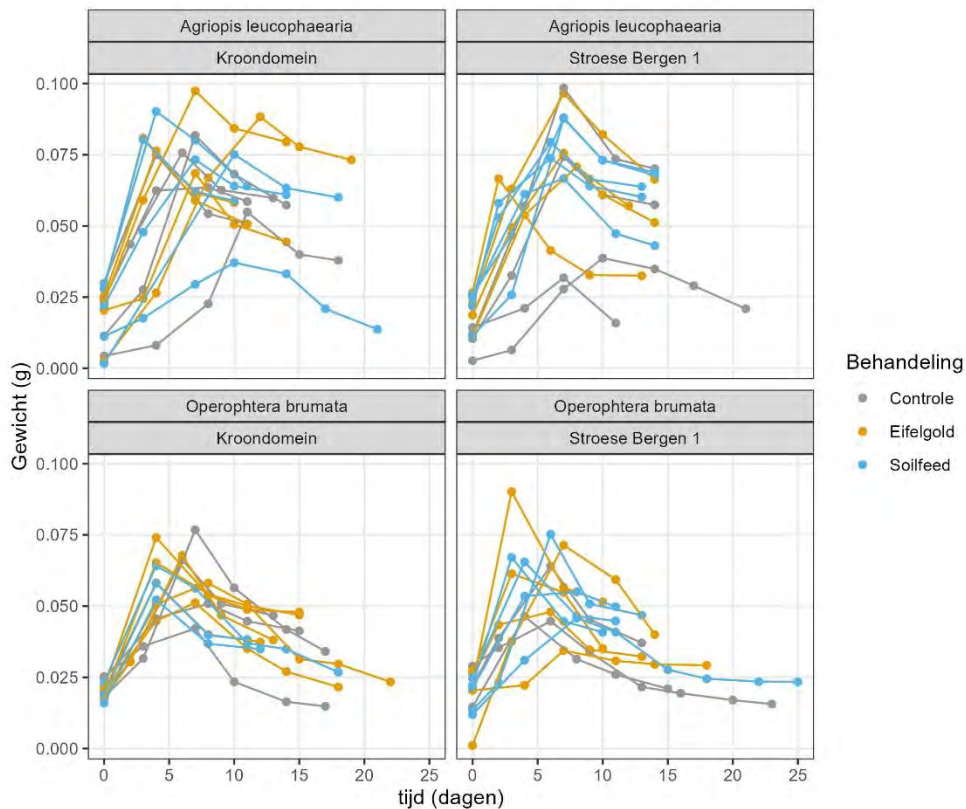
Niet alle rupsen overleefden de proef tot het behalen van het popstadium. In Tabel 6.4 is een overzicht gegeven van het aantal individuen dat het popstadium bereikten en het aantal dat voortijdig overleed. Kleine Voorjaarsspanner wist zich wat beter in het experiment te handhaven dan Kleine wintervlinder, met 63% versus 54% van de individuen die het popstadium behaalde. Tussen de gebieden was geen verschil in overleving, met gemiddeld 58% in Kroondomein en 59% in Stroese Bergen I. Voor beide soorten en locaties samen was de overleving gemiddeld 51% in controle, 65% in Eifelgold- en 58% in Soilfeed-behandeling. Hoewel er dus een wat hogere overleving was in beide steenmeelbehandelingen, was dit verschil niet significant. Ook wanneer er gedifferentieerd werd over soort en locatie werd er geen significant behandelingseffect gevonden op rupsoverleving.

Tabel 6.4 Overzicht van aantal individuen dat voor het popstadium stierf (Overleefd = 'Nee') en individuen die popstadium bereikten (Overleefd = 'Ja'), verdeeld naar soort, locatie en behandeling.

Soort	Proeflocatie	Overleefd	Controle	Eifelgold	Soilfeed
<i>A. leucophaearia</i>	Kroondomein	Nee	2	3	2
		Ja	5	5	5
	Stroese Bergen I	Nee	3	3	3
		Ja	4	4	5
<i>O. brumata</i>	Kroondomein	Nee	5	2	6
		Ja	4	6	3
	Stroese Bergen I	Nee	5	3	2
		Ja	3	6	5

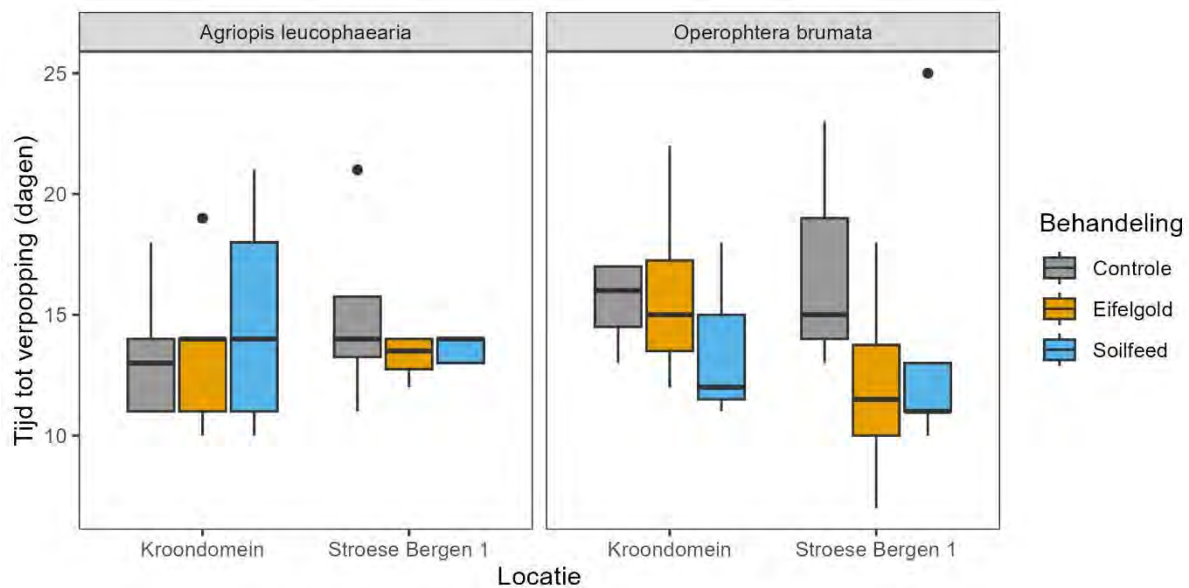
De rupsen in de kweek namen in de eerste dagen van het experiment sterk toe in gewicht, gevolgd door een geleidelijke afname in gewicht voorafgaand aan het bereiken van het popstadium (Figuur 6.32). Uit deze grafiek is ook op te maken dat rupsen van Kleine voorjaarsspanner een hoger maximaal en eindgewicht behaalden dan die van Kleine wintervlinder. Ook is bij de rupsen die voedsel van Stroese Bergen I ontvingen, een verschil in trend zichtbaar tussen controle en steenmeelbehandeling in het gewichtsverloop naar maximaal en eindgewicht. Ook leken sommige individuen een langere ontwikkelingsduur naar popstadium te hebben in controle versus steenmeelbehandelingen.

Maximaal gewicht verschilde bij Kleine voorjaarsspanner niet tussen de behandelingen in beide locaties (Bijlage Figuur 1.6; Bijlage 1.7.36). Voor Kleine wintervlinder was dit lager in de controlebehandeling in Stroese Bergen I ten opzichte van Kroondomein, en nam toe bij de Eifelgold- resp. Soilfeed-behandeling, maar de spreiding was groot en het verschil was niet significant (Bijlage Figuur 1.6; Bijlage 1.7.36).



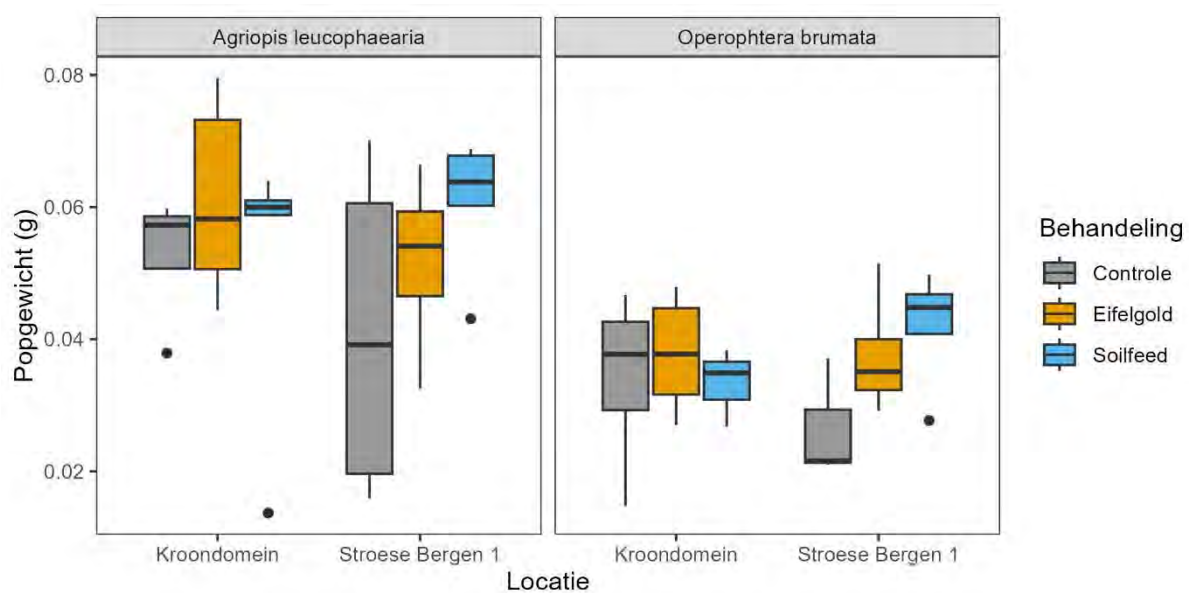
Figuur 6.32 Verloop van rupsgewicht gedurende de loop van het voedselexperiment. Voor ieder individu dat het popstadium bereikte is het gewichtsverloop weergegeven door de tijd, uitgesplitst over soort en donorlocatie van het aangeboden voedsel. Met kleuren is aangegeven welke behandeling het blad in het veld had ondergaan (Controle, Eifelgold of Soilfeed).

Duur tot ontwikkeling van het popstadium was langer in Kleine wintervlinder vergeleken met Kleine voorjaarsspanner en bij Kleine wintervlinder was een neiging tot kortere ontwikkelingsduur waarneembaar in de Eifelgold- en Soilfeed-behandelingen in beide locaties (Figuur 6.33). Bij individuen die blad afkomstig van Stroese Bergen I ontvingen was dit effect het grootst, en significant bij de Eifelgold-behandeling. Dit effect was bij de meeste individuen ook aanwezig bij de Soilfeed-behandeling, maar één individu kende hier een zeer lange ontwikkelingstijd (zie de outlier in Figuur 6.33).



Figuur 6.33 Box- en whisker plots van de tijdsduur tot het behalen van het popstadium van *Agriopsis leucophaearia* en *Operophtera brumata* voor Kroondomein en Stroese Bergen 1, uitgesplitst per behandeling van het aangeboden voedsel.

Het popgewicht van Kleine voorjaarsspanner en Kleine wintervlinder was niet verschillend tussen de behandelingen bij rupsen die voedsel ontvingen van Kroondomein (Figuur 6.34). Bij de rupsen die voedsel ontvingen van Stroese Bergen I was het popgewicht bij beide soorten lager in de controles vergeleken met Kroondomein, maar de spreiding was groot bij Kleine voorjaarsspanner, en verschillen tussen behandelingen bij rupsen die voedsel ontvingen van Stroese Bergen I waren niet significant voor deze soort. Bij Kleine wintervlinder was de spreiding veel beperkter. Hier was popgewicht significant hoger in de Soilfeed-behandeling ten opzichte van controle (Figuur 6.34). Bij de Eifelgold-behandeling lag het popgewicht tussen die van controle en de Soilfeed-behandeling in, maar verschilde niet significant van de controle.



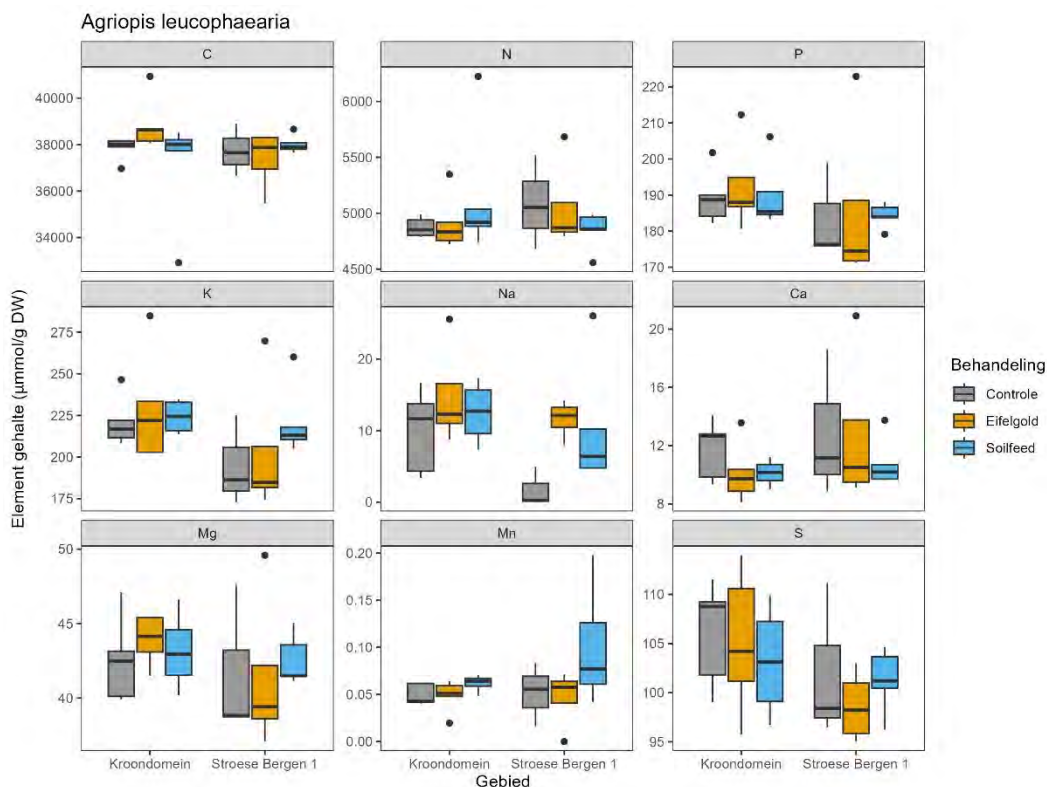
Figuur 6.34 Box- en whisker plots van het gewicht bij behalen van het popstadium van Kleine voorjaarsspanner (*Agriopsis leucophaearia*) en Kleine wintervlinder (*Operophtera brumata*) voor Kroondomein en Stroese Bergen 1, uitgesplitst per behandeling van het aangeboden voedsel.

Elementensamenstelling poppen

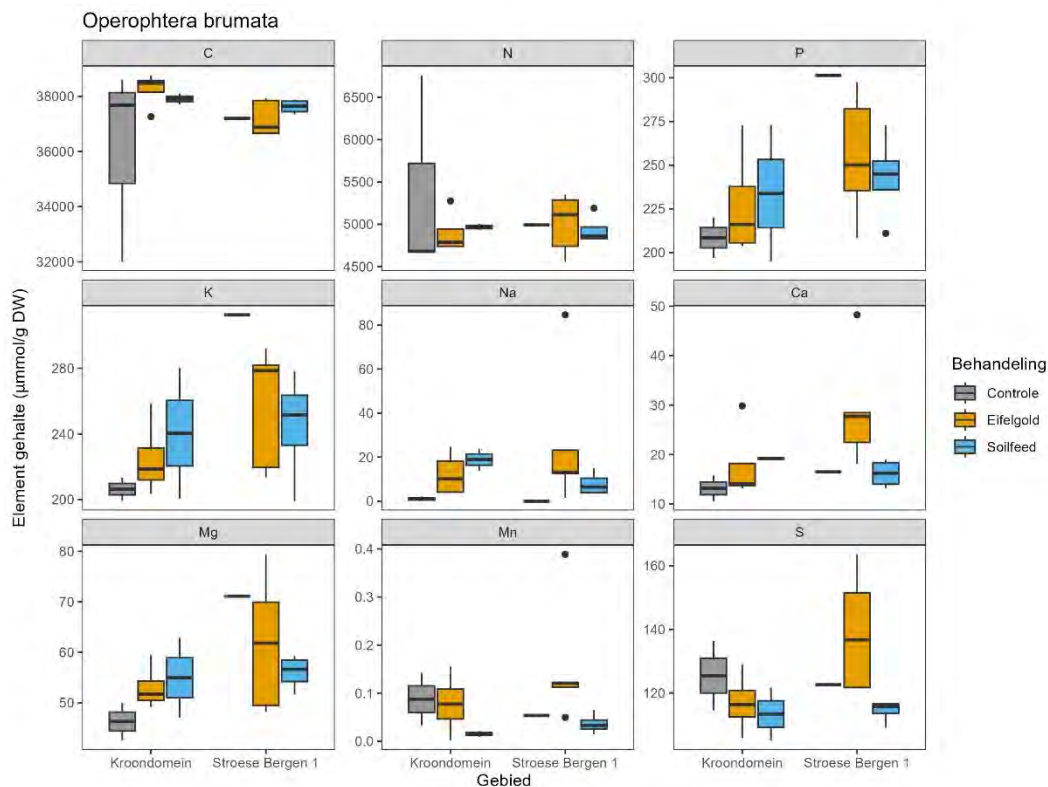
Van niet alle poppen kon de elementsamenstelling worden geanalyseerd: de lichtste exemplaren konden niet geanalyseerd worden. Daardoor is het aantal replica's per behandeling soms zeer laag en moeten de resultaten met voorzichtigheid worden geïnterpreteerd. Ook speelt mee dat vlinders een verschillende groeirespons lieten zien. In absolute zin kunnen rupsen dus effectief meer elementen hebben opgenomen dan in relatieve zin zichtbaar is. Om deze redenen is gekozen om de verschillen niet te toetsen op significantie, en de resultaten te beschouwen als hypothesevormend bewijs voor het verklaren van de gevonden behandelingseffecten op groei van de rupsen.

Voor de macro-elementen C, N en P is bij Kleine voorjaarsspanner geen duidelijk verschil in samenstelling gevonden tussen de locaties of behandelingen (Figuur 6.35). Voor Kleine wintervlinder is een hoger gehalte van P gevonden in de groep die voedsel uit de steenmeelbehandelingen van het Kroondomein ontvingen (Figuur 6.36). In Stroese Bergen I is dit patroon echter niet evident, maar hier is een vergelijking met de controle zeer moeilijk omdat er slechts één exemplaar uit de controlebehandeling meetbare resultaten opleverde.

Voor de andere elementen wordt bij Kleine voorjaarsspanner weinig verschil in elementgehalten gevonden tussen de behandelingen in beide locaties (Figuur 6.35). Voor Kleine wintervlinder wordt een hoger gehalte van de elementen K, Na, Ca en Mg gemeten ten opzichte van de controle in de individuen die voedsel uit Kroondomein kregen. Voor de individuen die voedsel uit Stroese Bergen I ontvingen is dit patroon echter heel anders. De gemeten waarden zijn voor P, K en Mg duidelijk hoger dan in Kroondomein, en er is geen hoger gehalte van deze elementen gevonden ten opzichte van de controle (enkele gemeten waarde).



Figuur 6.35 Box- en whisker plots van elementgehalten in poppen van Kleine voorjaarsspanner (*Agriopsis leucophaearia*) verdeeld over locatie en behandeling.



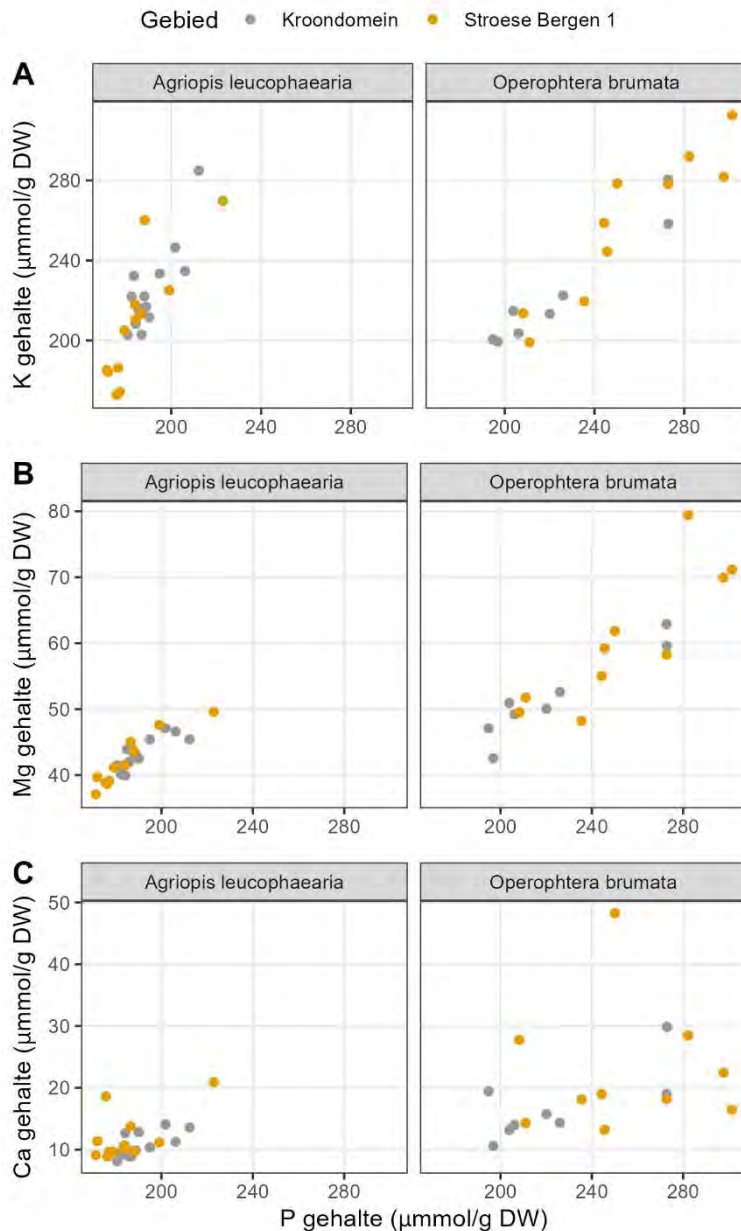
Figuur 6.36 Box- en whisker plots van elementgehalten in poppen van Kleine wintervlinder (*Operophtera brumata*) verdeeld over locatie en behandeling.

Wat vooral opvalt uit de gemeten waarden bij Kleine wintervlinder is dat de patronen voor P, Mg en K opvallende gelijkenissen vertonen. Dit is geen toeval, maar verklaarbaar uit fundamentele fysiologische processen: Mg en K worden gebruikt voor het stabiliseren van de molecuulstructuur van ribosomen, en er bestaat doorgaans een duidelijk verband tussen ribosoomgehalte en het gehalte van deze elementen (Nierhaus 2014).

Wanneer deze elementen voor beide soorten tegen elkaar uitgezet worden (met als aanvullende referentie het element Ca (Figuur 6.37) is duidelijk dat dit voor de onderzochte soorten ook duidelijk het geval is: voor zowel K als Mg zijn heel sterke verbanden met P aanwezig. Het bestaan van dit verband over de gehele range van P-gehalten indiceert dat een hoger gehalte van P geïnterpreteerd kan worden als een hoger ribosoomgehalte in de cellen van het gemeten individu. Tussen de soorten zijn duidelijke verschillen te zien, met hogere P-waarden in Kleine wintervlinder in vergelijking met kleine voorjaarsspanner (indicerend dat poppen van de eerstgenoemde soort hogere ribosoomgehalten hebben). Uit Figuur 6.37 is op te maken dat ribosoomgehalte in Kleine wintervlinder hoger is dan in Kleine voorjaarsspanner, en dat kleine voorjaarsspanner relatief meer K bevat dan kleine wintervlinder (gelet op het verschil in relatieve verhoudingen). Ook is te zien dat er subtiele verschillen bestaan in K gehalten tussen Kroondomein en Stroese Bergen I bij Kleine voorjaarsspanner, en dat dit effect omkeert bij Kleine wintervlinder.

Ook is duidelijk dat er tussen de groep die voedsel ontving uit Kroondomein en de groep die voedsel ontving uit Stroese Bergen I er een verschil bestaat in P, K en Mg gehalte (en dus ribosoomgehalte). Echter, dit verschil is tussen beide soorten omgekeerd: Kleine voorjaarsspanner heeft hogere gehalten in de Kroondomein voedselgroep, terwijl Kleine Wintervlinder hogere gehalten heeft in de Stroese Bergen I voedselgroep. Dit is met name duidelijk bij K en in mindere mate bij P. Tussen de behandelingen is geen duidelijk patroon zichtbaar in pop elementgehalten (Bijlage Figuur 1.7) en in het blad werd juist een hoger gehalte van K gemeten in Kroondomein vergeleken met dat van Stroese Bergen I. Er is dan

ook geen eenduidige conclusie te trekken over het effect van de behandelingen en donorlocaties op elementgehalten van de poppen en/of het waargenomen effect van de behandelingen op de groei en groeisnelheid van de rupsen. Wel is duidelijk dat er verschillen bestaan tussen beide soorten in elementgehalten, wat waarschijnlijk herleidbaar is naar soortspecifieke verschillen in ribosoomgehalten van de poppen, en dat het voedsel dat ze aangeboden hebben gekregen effect heeft gehad op deze gehalten. Dit effect is echter niet direct herleidbaar tot een hoger of lager gehalte van het desbetreffende element in het voedsel. Dit wijst erop dat er een andere niet gemeten kwaliteitsfactor verantwoordelijk is voor de gemeten verschillen. Een logische kandidaat die nader onderzoek verdient is een verschil in antivraatstoffen tussen de locaties, die de soorten meer of minder goed in staat stelt om elementen op te nemen. Of dit in deze proef een rol heeft gespeeld kan echter niet met zekerheid worden gesteld.



Figuur 6.37 Het gehalte van kalium (figuur A), magnesium (figuur B) en calcium (figuur C) uitgezet tegen het gehalte van fosfor gemeten in de vlinderpoppen uit het voedselexperiment.

6.5.4 Conclusies herbivoren respons (onderdeel 7.3)

Bladgroei

Uit de metingen uitgevoerd aan de bladmonsters voor de rupsen bleek een positief effect van de Eifelgold-behandeling ten opzichte van de controle op de groei van bladeren te hebben opgetreden in de meetjaren 2021 en 2023. Dit effect werd echter in 2024 niet meer waargenomen. Er zijn dus aanwijzingen dat Eifelgold toediening in de eerste jaren een positief effect op de bladgroei van de Zomereikenbomen als gevolg heeft gehad. Een verklaring hiervoor kan gezocht worden in het opheffen van een micronutriënt limitatie als gevolg van de behandelingen, of dat Eifelgold heeft gezorgd voor een toename van de mineralisatiesnelheid van organisch materiaal, wat vervolgens resulteert in een hogere opname van voedingsstoffen en bijgevolg toename van bladgroei. Effecten ervan waren echter subtiel en dit effect werd vier jaar na toediening van het steenmeel niet meer gevonden.

Uit de resultaten van bladchemie kan worden geconcludeerd dat het steenmeel geen of slechts relatief subtiele effecten heeft gehad in het voorjaarsblad. Opgemerkt moet hierbij worden dat de geanalyseerde dataset relatief klein is ($N = 10$ per behandeling); in de reguliere bodem- en bladbemonstering zijn meer monsters afzonderlijk geanalyseerd (zie daarvoor paragraaf 3.3.3) en de resultaten van die studie zijn dan ook robuuster. Daar werd wel een toename in het zomerblad gevonden van Ca, K en Mg in de steenmeelbehandelingen met als gevolg een afname in N/Ca-, N/K- en N/Mg-ratio's. Daardoor kunnen de resultaten van dit spoor met zekerheid niet worden gezien als bewijs dat er geen verhoogde opname van elementen heeft opgetreden in de bomen. In 2021 en 2023 zijn immers wel significant positieve effecten op bladgewicht en bladgroei vastgesteld. Meer bladgroei zonder tekenen van groeiverdunning van de geanalyseerde elementen (Figuur 6.17) betekent dat er in absolute zin meer opname van die elementen heeft plaatsgevonden.

Rupsendichtheid en -samenstelling

In geen van de meetjaren werd een significant effect gevonden op rupsendichtheid. De dichtheid van rupsen op bemonsterd blad in de proefvlakken behandeld met Eifelgold of Soilfeed was niet significant anders dan die in de controlebehandeling. Ook werd er geen significant effect gevonden op de dichtheid van rupsen in de kruid- en struiklaag. De dichtheid van vlinderrupsen in deze laag was in 2023 en in 2024 lager dan in 2021, maar de behandelingen zelf hadden geen significant effect op de dichtheid. Tussen proeflocaties bleken grotere verschillen aanwezig te zijn dan tussen steenmeelbehandelingen binnen de locaties, met opvallend lage dichtheden in de meest aangetaste deelgebieden (Stroese Bergen I en II) en in minstens één van de meetjaren ook wat lagere dichtheden in Eikenheg, Heidensberg en Kroondomein. In alle jaren was de dichtheid in de deelgebieden Woeste Hoeve I en II hoog en dat was ook duidelijk zichtbaar in de gemeten vraatscore. Het Eikenbladroller plaagjaar 2023 was vooral in Woeste Hoeve duidelijk zichtbaar met hier hoge aantallen groene Eikenbladrollers in de bladmonsters (en lage aantallen van andere soorten).

De resultaten van de trechtere vallen lieten een vergelijkbaar beeld zien: grote verschillen tussen locaties, maar geen behandelingseffect van de onderzochte steenmeeltypen voor alle meetjaren. De locatieverschillen waren voor de verschillende meetmethoden consistent; lage waarden voor de sterk gedegenereerde bossen Stroese Bergen I en II en doorgaans hogere waarden in de relatief 'betere' bossen Woeste Hoeve I en II en Keulerbosch.

De soortenrijkdom van vlinderrupsen in de kroonlaag vertoonde tussen 2021 en 2023 slechts kleine variaties tussen de proeflocaties, maar in 2024 was er een aanzienlijke stijging in de soortenrijkdom op alle locaties. De analyse van het effect van steenmeelbehandelingen op de soortenrijkdom in de kroonlaag toonde geen significante effecten in 2021, 2023 of 2024. De enige significante bevinding was een toename in soortenrijkdom in 2024 ten opzichte van 2021. Dit effect bleek niet het gevolg van de

steenmeelbehandelingen, maar van jaarlijkse variaties. De soortenrijkdom van vlinderrupsen in de kruid- en struik laag was in 2023 significant lager dan in 2021 en 2024, maar ook dit effect was niet te wijten aan de steenmeelbehandelingen, maar aan de variatie tussen jaren.

De NMDS-ordinatie analyse toonde aan dat de samenstelling van de vlinderrupsengemeenschap in de kroonlaag van de eikenbossen voornamelijk werd beïnvloed door verschillen tussen meetjaren en locaties, en niet door steenmeelbehandelingen. In alle meetjaren (2021, 2023 en 2024) was er geen verschil in samenstelling tussen de controle en de behandelingen met Eifelgold of Soilfeed. Ook in de specifieke analyse voor alleen 2024 werd geen afwijkende samenstelling gevonden in de met steenmeel behandelde proefvlakken in vergelijking met de controle. Ook de NMDS-ordinatie analyse van de samenstelling van de vlinderrupsengemeenschap in de kruid en struiklaag liet zien dat verschillen in samenstelling met name veroorzaakt werden door variaties in meetjaren en verschillen tussen locaties. In alle meetjaren (2021, 2023 en 2024) was er geen verschil in samenstelling tussen de behandelingen controle, Eifelgold en/of Soilfeed aanwezig. Ook in de ordinatie met alleen de locaties met hoge Blauwe bosbesbedekking waren geen aanwijzingen voor een andere samenstelling in de met steenmeel behandelde proefvlakken ten opzichte van de controleproefvlakken.

Voor de veldproef kan dus gesteld worden dat steenmeeladditie niet heeft geleid tot een significante toename van rupsen in de (onderste) kroonlaag van Zomereik of ondergroei, noch van een verandering in de samenstelling van de rupsengemeenschap in beide vegetatielagen. De resultaten van de trechtere vallen geven geen aanleiding om te vermoeden dat dit in de hogere kroonlaag anders is. Verschillen tussen proeflocaties met duidelijke verschillen in mate van aantasting van de Zomereiken geven echter wel aanleiding tot zorg: bij een sterke aftakeling van het bos, zoals duidelijk waarneembaar in Stroese Bergen I en II, is wel degelijk sprake van een zeer lage rupsendichtheid en soortenrijkdom. Hier zijn een gebrek aan eetbaar blad of een ander niet gemeten kwaliteitsaspect van het blad mogelijk causaal gerelateerd aan dit verschijnsel. In de volgende paragraaf wordt hier verder op ingegaan.

Rupsengroei

Uit het voedsel experiment met rupsen kan het volgende geconcludeerd worden:

1. Effecten van steenmeel op de groei van rupsen zijn aanwezig, maar dit effect is context specifiek:
 - a. Alléén rupsen die voedsel uit een sterk aangetaste donorlocatie ontvingen lieten een betere groei zien bij steenmeeltoediening in diezelfde locatie;
 - b. Tussen de onderzochte soorten was dit patroon weliswaar vergelijkbaar, maar alléén significant voor één van de twee soorten.
2. Chemische analyse van blad en rupsen indiceren verschillen in respons met betrekking tot elementaire samenstelling van blad en rupsenpoppen, maar die verschillen zijn niet eenvoudig te interpreteren als causale verklaring voor die gevonden verschillen:
 - a. Respons van poppen op elementaire samenstelling staat haaks op de respons van bladchemie;
 - b. Tussen de twee soorten is de respons van elementaire samenstelling van de poppen omgekeerd.

Feit blijft dat onder de meest verzuurde omstandigheid, er een significant positief effect is gevonden op de groeisnelheid (Eifelgold) of popgewicht (Soilfeed) op één van de onderzochte soorten, en wordt er geconcludeerd dat het toedienen van steenmeel in elk geval een bescheiden bijdrage levert aan het opheffen van voedselkwaliteitsproblemen voor deze soort. Welk kwaliteitsaspect er exact verbeterd is voor de onderzochte rupsensoorten is echter niet opgehelderd op basis van deze studie. Dit kan wijzen op een verandering van een niet gemeten kwaliteitsaspect, zoals een afname van niet eiwitgebonden stikstof (Non-Protein Nitrogen NPN), veranderingen in aminozuursamenstelling of veranderingen in gehalten C-gebaseerde anti-vraatstoffen (Vogels et al. 2023) in het blad als gevolg van de behandelingen. Het zou interessant zijn om dat nader te onderzoeken.

6.6 Effecten op hogere trofische niveaus (onderdeel 7.4)

Een stabiele gemeenschap van herbivoren, detritivoren en predatoren vormt een essentiële basis voor het functioneren van voedselarme bosecosystemen. Deze groepen zijn niet alleen van belang voor decompositie en nutriëntencycli, maar vervullen ook een sleutelrol als prooiaanbod voor insectivore zangvogels. Perioden van schaarste in één groep kunnen bijvoorbeeld door een andere groep ondervangen worden (Naef-Daenzer et al. 2000). Vooral detritivoren zoals miljoenpoten en slakken leveren een disproportioneel hogere hoeveelheid Ca per g lichaamsgewicht dan andere ongewervelde groepen, wat cruciaal is gebleken voor de succesvolle overleving van insectivore zangvogels (Graveland & Vangijzen 1994).

In sterk aangetaste Oude Eikenbossen is deze functionele diversiteit vaak verstoord, met als gevolg een afname van de vogelstand. Steenmeeltoediening is beoogd als herstelmaatregel, waarbij niet alleen abiotisch bodemherstel wordt nagestreefd, maar ook een meetbare verbetering van het voedselaanbod voor hogere orden predatoren. Hoewel de schaal van de proefvlakken geen broedbiologisch onderzoek toelaat, bieden de resultaten uit onderzoeksporen 6.1 t/m 6.3 wel inzicht in de effecten op dichtheid, en taxonomische en functionele diversiteit van potentiële prooigroepen.

6.6.1 Resultaten en interpretatie

Op basis van de resultaten kan worden geconcludeerd dat steenmeeltoediening slechts bescheiden positieve effecten heeft op de onderzochte, voor broedvogels relevante macrofaunagroepen, met name in sterk gedegradeerde bossen. In het veld werd er een positief effect van Soilfeed gevonden op de activiteitsdichtheid van miljoenpoten en een positief effect van beide steenmeelbehandelingen op de dichtheid en soortenrijkdom van loopkevers. Ook wijst de verbeterde rupsengroei in een kweekproef op potentiële verbetering van de voedselkwaliteit in sterk gedegradeerde bossen. In deze context lijkt Soilfeed een gunstiger profiel te hebben dan Eifelgold, met positieve veldrespons en minder duidelijke risico's (zoals verhoogde mortaliteit bij miljoenpoten). Echter, significantie van resultaten is wat anders dan de behaalde effectgrootte. Deze behaalde effectgrootte was dermate klein dat het onwaarschijnlijk is dat er een wezenlijke verbetering van het voedselaanbod voor insectenetende zangvogels heeft opgetreden. Wel lijken er kansen te ontstaan in sterk gedegradeerde bossen, waar de veldsituatie gekenmerkt wordt door lage rupsendichtheden en slechte groei. Hier kan steenmeeltoediening mogelijk bijdragen aan herstel op de langere termijn, zoals gesuggereerd door verbeterde rupsengroei in de kweekproef. Dit (lange termijn effect) uitte zich echter nog niet in hogere rupsendichtheden in de veldsituatie, dus ook dit mogelijke effect is nog met veel onzekerheid omgeven.

Voor de minder sterk verzuurde of anderszins aangetaste bossen zijn de effecten minder duidelijk en kunnen er zelfs risico's optreden, met name bij toepassing van Eifelgold. De mortaliteitsproeven (deze en recent uitgevoerde proef: Vogels & de Graaf 2025) tonen aan dat langdurige blootstelling negatieve effecten kan hebben op miljoenpoten, een belangrijke calciumbron voor zangvogels zoals de Bonte vliegenvanger. Hoewel Soilfeed in het veld een bescheiden significante toename in activiteitsdichtheid laat zien, is de ecologische relevantie van dit effect discutabel, gezien de geringe effectgrootte ervan.

Samenvattend bieden de resultaten signalen en richting voor herstel mogelijkheden, maar vormen nog geen robuust bewijs voor een verbeterd prooiaanbod. Verdere monitoring en opschaling zijn noodzakelijk om de ecologische impact op hogere trofische niveaus betrouwbaar te kunnen beoordelen.

6.7 Conclusies spoor 4

Hieronder wordt kort toegelicht wat de voornaamste conclusies zijn over het effect van steenmeeltoediening op macrofauna:

Detritivoren (miljoenpoten)

- In proefvlakken met voldoende strooisel werd bij toediening van Soilfeed een significante toename in activiteitsdichtheid van miljoenpoten vastgesteld. Dit wijst op een mogelijke vermindering van zuurstress en verbetering van strooiselkwaliteit.
- Toediening van Eifelgold had geen significant effect in het veld.
- In een aanvullend langlopend experiment werd echter een dosisafhankelijke verhoogde mortaliteit vastgesteld bij langdurige blootstelling aan Eifelgold, wat wijst op risico's bij steenmeeltoediening op deze soortgroep. Dit risico is vooral ecologisch relevant in bossen die minder sterk verzuurd zijn en waar miljoenpoot populaties nog enige omvang hebben (zoals het Mastbos in het onderzoek van de Vries et al. 2019).

Predatoren (loopkevers en spinnen)

- Voor loopkevers werd een consistente toename in activiteitsdichtheid en soortenrijkdom vastgesteld bij beide steenmeeltypen. Dit duidt op verbeterde bodemcondities en voedselbeschikbaarheid, wat relevant is voor zangvogels die ook deze groep van predatore insecten benutten als voedselbron.
- De samenstelling van de loopkevergemeenschap werd licht beïnvloed door steenmeel, maar locatie- en jaareffecten waren dominant.
- Voor spinnen werd geen consistent significant effect gevonden op dichtheid, soortenrijkdom of gemeenschapssamenstelling.
- Alleen bij bodemactieve spinnen werd een klein, significant effect van Soilfeed op soortensamenstelling gevonden, in lijn met de loopkevers maar minder sterk aanwezig

Herbivoren (vlinderrupsen)

- In het veld werd geen significant effect van steenmeel op rupsdichtheid, soortenrijkdom of samenstelling gevonden.
- Wel werden er grote verschillen tussen locaties gevonden, met lage dichtheden in sterk gedegradeerde bossen (Stroese Bergen I en II).
- In een kweekproef met rupsen uit een sterk gedegraderd bos (Stroese Bergen I) werd een verbeterde groei vastgesteld bij de steenmeelbehandelingen. Dit wijst op een potentiële verbetering van voedselkwaliteit onder ernstig verzuurde omstandigheden, maar dit vertaalt zich nog niet in een hogere veldabundantie.

Samenvattend toont het onderzoek aan dat steenmeeltoediening slechts bescheiden positieve effecten heeft op bepaalde macrofaunagroepen, met name in sterk gedegradeerde bossen. In deze context lijkt Soilfeed een gunstiger profiel te hebben dan Eifelgold, met positieve veldrespons en minder duidelijke risico's.

7 Grote herbivoren observaties

Eén van de mogelijke (onbedoelde) effecten van steenmeeltoediening is verhoogde begrazing van de vegetatie door hoefdieren. Steenmeeltoediening kan de chemische samenstelling en daarmee de voedingswaarde en smakelijkheid van bladeren veranderen (onderzocht in spoor 1), wat vervolgens hertachtigen en andere planteneters zou kunnen aantrekken. In theorie zou verhoogde begrazing positieve effecten van steenmeeltoediening teniet kunnen doen.

Om na te gaan of dit effect optreedt in de proeflocaties, is op 9 van de 10 locaties (niet in Kroondomein) in 2023 het gebruik van de plots door hoefdieren gemeten. Dit gebeurde met behulp van wildcamera's (Reconyx HF2) die op 10 punten in elk van de 27 proefvlakken gedurende 3 weken alle activiteit van wilde dieren registreerden. Dit gebeurde in vijf rondes gedurende eind maart tot begin juni, met 2 wildcamera's per proefvlak. De 270 bemonsteringen waren op één na allemaal succesvol. Het fotomateriaal werd verzameld, geannoteerd en gearhiveerd in Agouti (www.agouti.eu), een applicatie voor onderzoek met cameravallen die wordt beheerd door Wageningen Universiteit. Annotatie bestond uit het aanmerken van soort, aantal en gedrag (foeragerend of passerend).

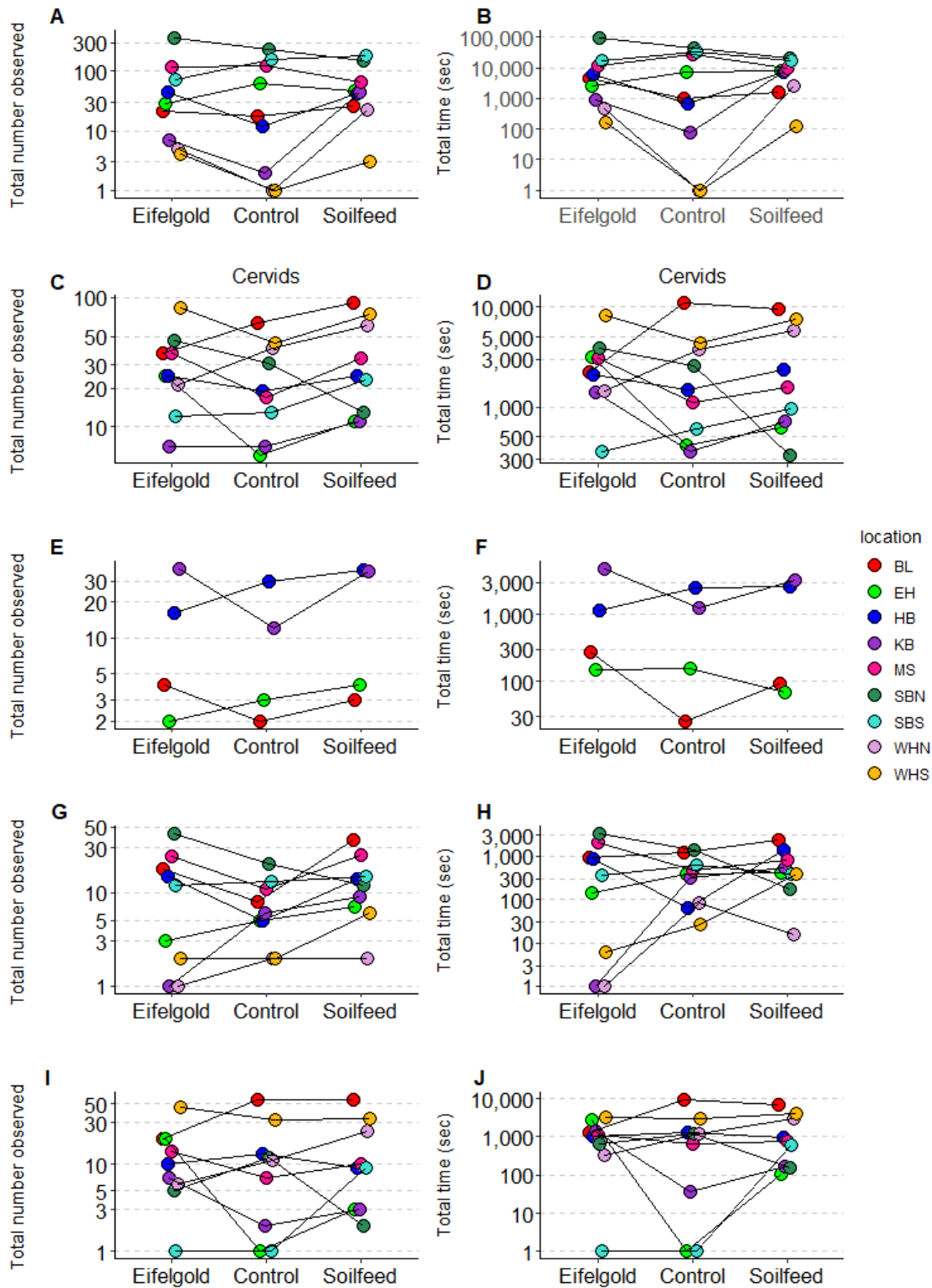
De vier maanden registratie leverden 4.501 observaties op van in totaal 6.466 dieren, waaronder 3.234 wild zwijnen (*Sus scrofa*), 1.152 edelherten (*Cervus elaphus*), 889 reeën (*Capreolus capreolus*), 484 damherten (*Dama dama*), 244 vossen (*Vulpes vulpes*), 66 wolven (*Canis lupus*), 40 hazen (*Lepus europaeus*), 42 dassen (*Meles meles*), 37 boommarters (*Martes martes*) en 20 muizen (Muridae) (Figuur 7.1). Voor de eerste vier algemeenste soorten – de hoefdieren – werd getoetst of de frequenties van foerageren en van totaalbezoek hoger waren voor de twee proefvlakken behandeld met steenmeel dan voor de controleproefvlakken. Hiervoor werden generalized linear mixed models gebruikt, met locatie als random factor.

Er waren grote verschillen in de frequenties tussen de proefvlakken, maar die kwamen vooral voort uit verschillen tussen de locaties. Eenmaal daarvoor gecorrigeerd waren de frequenties tamelijk vergelijkbaar tussen de proefvlakken. De frequentie van bezoek en foerageren was niet significant hoger in de steenmeelbehandelingen dan in de controleproefvlakken, in tegenstelling tot de verwachting (Figuur 7.2). Dit betekent dat er geen aanwijzing is dat steenmeeltoediening de begrazing van de ondergroei van Oude Eikenbossen op de Veluwe in het voorjaar verhoogt. Het blijft nog wel mogelijk dat begrazing door hertachtigen en wroeten door zwijnen in herfst en winter hoger is bij steenmeeltoediening. Om dit uit te sluiten, zou dezelfde bemonstering in deze seizoenen moeten worden uitgevoerd.

Dit onderzoek werd uitgevoerd door de Wildlife Ecology & Conservation groep van Wageningen Universiteit, door MSc studente Moniek Heurman met hulp van studenten en stafleden, onder begeleiding van Patrick Jansen, buiten de begroting van het project. Voor meer informatie zie de publicatie Heurman et al. 2026 (<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/rec.70321>).



Figuur 7.1 Foto's van een aantal diersoorten van de wildcamera's op de proeflocaties. Van linksboven naar linksonder: wild zwijn (*Sus scrofa*), edelhert (*Cervus elaphus*), ree (*Capreolus capreolus*), damhert (*Dama dama*), vos (*Vulpes vulpes*) en wolf (*Canis lupus*).



Figuur 7.2 Aantal foeragerende individuen gevonden in de controleproefvlakken en de proefvlakken behandeld met Eifelgold of Soilfeed in negen proeflocaties (m.u.v. Kroondomein). BL = Hoog Baarlo, EH = Eikenheg, HB = Heidensberg, KB = Keulerbosch, MS = Maanschoten, SBN = Stroese Bergen I, SBS = Stroese Bergen II, WHN = Woeste Hoeve I, WHS = Woeste Hoeve II. De linkergrafieken geven de relatie weer tussen het totale aantal foerageergebeurtenissen en de behandeling en de rechtergrafieken geven de relatie weer tussen de totale foerageertijd en de behandeling. A & B: wild zwijn, C & D: hertachtigen (groep), E & F: damhert, G & H: ree en I & J: edelhert.

8 Vegetatieopnamen en paddenstoelentellingen

8.1 Vegetatieopnamen (onderdeel 8.1)

Binnen de 30 proefvlakken zijn drie permanente kwadraten (PQ's) per proefvlak uitgezet. De PQ's zijn cirkelvormig met als middelpunt een PQ-paaltje of een gemarkeerde boom. De PQ's hebben een oppervlak van 100 m². In totaal zijn dus 90 PQ's uitgezet. Binnen deze PQ's is tussen 1 juli en 19 augustus 2021 de vegetatiesamenstelling vastgesteld. Tussen 9 juli en 13 augustus 2024 zijn de vegetatieopnamen herhaald. In de nabijheid van het middelpunt van de PQ's is een vlak uitgezet van 5x1 m, waarbinnen een rastertelling is uitgevoerd.

Op negen locaties zijn binnen de proefvlakken ook exclusures gemaakt (niet in proeflocatie Kroondomein). Het oppervlak van de exclusures varieerde van 30,25 tot 38,4 m². Ook hier zijn vegetatieopnamen en rastertellingen uitgevoerd. Deze worden niet verder in dit onderzoek betrokken, want die vallen buiten de begroting van dit project.

8.1.1 Werkwijze

Vegetatieopnamen

De vegetatieopnamen zijn gemaakt met de verkorte schaal van Londo (zie Tabel 8.1). Er is onderscheid gemaakt in verschillende lagen. De bedekking van de verschillende vegetatielagen is geschat. Ook zijn per laag de soorten met bedekking genoteerd. De kruidlaag heeft een hoogte van 0 tot 1,5 m, de struiklaag tussen 1,5 en 5 m, houtige gewassen hoger dan 5 m zijn tot de boomlaag gerekend. De bedekkingswaarde is een schatting van de reële (de inwendige) bedekking van dat moment. Zowel hogere planten als mossen zijn opgenomen. Epifytische mossen en korstmossen zijn niet opgenomen, evenals mossen op dood hout. Op elke locatie is daarnaast genoteerd hoeveel procent van de bodem recent is omgewoeld door zwijnen.

Tabel 8.1 Verkorte schaal van Londo.

CODE	BEDEKKING	AANTALSKLASSE	AANTALSKLASSE MOSSEN	OMGEZET IN BEREKENINGEN
R	<5%	Sporadisch, 1-2	Zeldzaam	1
P	<5%	Weinig talrijk, 3-20	Occasional	2
A	<5%	Talrijk, 21-100	Frequent	3
M	<5%	Zeer talrijk, >100	abundant	4
1	5-15%			10
2	15-25%			20
3	25-35%			30
4	35-45%			40
5	45-55%			50
6	55-65%			60
7	65-75%			70
8	75-85%			80
9	85-95%			90
10	95-100%			95

Rastertellingen

Daarnaast zijn rastertellingen uitgevoerd. Hiervoor is langs een lijn van 5 m een fictief raster uitgezet van 1 bij 5 m met een gridgrootte van 10 cm. De lijn lag tussen twee bomen, waarvan minstens 1 boom was gemarkeerd met een stukje metaal en/of roze verf (Figuur 8.1). Het raster lag in het centrum van het PQ. Het meetlint lag in het midden van het raster, dus het grid lag 50 cm aan weerszijde ervan. De ligging van het raster is vastgelegd met foto's en er is een schets gemaakt.

Binnen deze 5 m² is een telling gedaan van het aantal gridcellen waarin een bepaalde soort voorkomt. Daarbij is gekeken naar de totale bereik van de projectie, met uitzondering van bloeistengels. Vooral bij Bochtige smele kunnen de bloeistengels nogal eens ver buiten de pol reiken. In de rastertellingen zijn alle soorten opgenomen, evenals boomstammen en dik dood hout. De boomlaag is echter buiten beschouwing gelaten.



Figuur 8.1 Een boom is gemarkeerd met een metalen plaatje om de ligging van de rastertelling terug te kunnen vinden.

8.1.2 Uitwerking

De vegetatieopnamen en rastertellingen zijn ingevoerd in Turboveg2. De Turbovegbestanden zijn gecontroleerd op volledigheid en eventuele fouten in soorten. Daarbij is ook gelet op de vergelijkbaarheid van alle bestanden. Zo zijn er afspraken gemaakt over de notatie van enkele verzamelsoorten. Dit geldt voor:

- Paardenbloem: *Taraxum species*
- Braam: *Rubus sectie rubus*
- Gewoon klauwtjesmos: *Hypnum cupressiform/andoi*
- Gewoon pluisjesmos/Boskronkelsteeltje zijn genoteerd als Gewoon pluisjesmos (het meeste is Gewoon pluisjesmos, maar de bedekking van de aparte soorten is moeilijk in te schatten).

In 2021 en 2024 zijn 90 vegetatieopnamen gemaakt. Het aantal rastertellingen in 2021 was ook 90. In 2024 zijn 89 rastertellingen uitgevoerd. Drie locaties van de rastertelling zijn niet teruggevonden, omdat in 2021 niet altijd een foto of schets voor handen was en de markering verdwenen was. Een locatie was niet meer geschikt, omdat er een dikke tak op was gevallen die een groot deel van het proefvlak bedekte. Na onderling overleg is besloten om dan een vervangende locatie uit te zetten. Dit was voor WH6-3 echter te laat.

8.1.3 Analyse

Om een vergelijking mogelijk te maken is gekeken naar een aantal kenmerken van de opnamen:

- % oppervlakte omgewoeld door zwijnen
- Soortenrijkdom (soorten in boom-, struik- en kruidlaag zijn samengevoegd)
- Ellenberg licht en voedselrijkdom (indicatiewaarden berekend door Turboveg 2.166, Tabel 8.2).
- Bedekking soorten in de kruidlaag (PQ-Londo): soorten van zure eikenbossen en rijke bossen, zoomsoorten, stringsoorten en pioniers, graslandsoorten, soorten van heischraal grasland en heide met en zonder Blauwe bosbes. In Bijlage 1.8.1 is een lijst opgenomen met de soorten en hoe ze ingedeeld zijn. Per soortgroep zijn alle bedekkingswaarden bij elkaar opgeteld.
- Aantal vlakken in gridtelling (à 5m²) met: grassen en schijngrassen, zaailingen en boompjes, Gewoon klauwtjesmos, Blauwe bosbes, Bochtige smele, Gewoon pluisjesmos, Fraai haarmos, Pilzegge, Grove den, Zomereik

De boomlaag en de struiklaag zijn in de berekeningen in deze eerste meetronde buiten beschouwing gelaten, omdat daar nog geen effect te verwachten is.

Tabel 8.2 Ellenberg-indicatorwaarde voor plantensoorten.

ELLENBERG- WAARDE	STIKSTOF/TROFIE (N)	ZUURGRAAD (PH)	LICHT (L)
1	Extreem onvruchtbare plaatsen	Extreem zure bodem	Diepe schaduw
2	Tussen 1 en 3	Tussen 1 en 3	Tussen 1 en 3
3	Min of meer onvruchtbare plaatsen	Zure bodems, uitzonderingen op bijna neutraal	Schaduwplant
4	Tussen 3 en 5	Tussen 3 en 5	Tussen 3 en 5
5	Intermediaire vruchtbare plaatsen	Matig zure bodem, soms op zeer zuur, neutraal of licht basisch	Halfschaduw
6	Tussen 5 en 7	Tussen 5 en 7	Tussen 5 en 7
7	Zeer vruchtbare plaatsen	Zwakzure tot zwakbasische bodem	Goed belicht, soms schaduw
8	Tussen 7 en 9	Tussen 7 en 9	Tussen 7 en 9
9	Extreem rijke plaatsen	Basische bodems	Volle zon

Statistische analyse

De analyse is uitgevoerd met negatieve binomial Generalized Lineair Mixed Models en Poisson Generalized Lineair Mixed Models, voor zover mogelijk. Voorafgaand aan de toetsing van de data is

gekeken welke verdeling van toepassing is. Alleen die sets zijn getest die voldoende data hebben. Volledige modelresultaten zijn weergegeven in Bijlage 1.8.2.

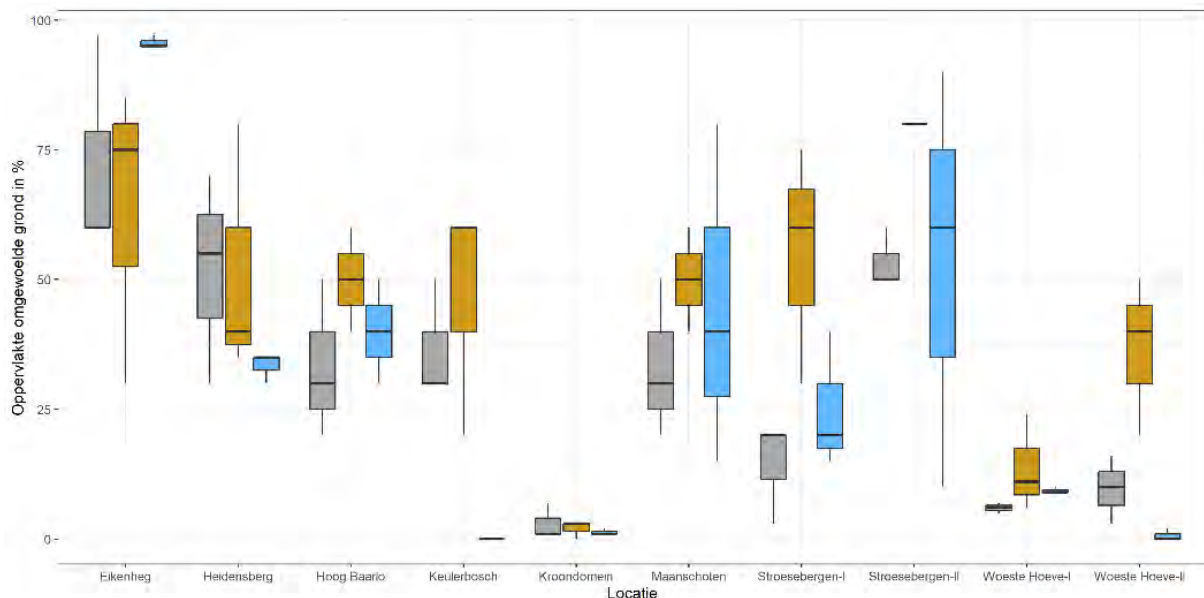
8.1.4 Resultaten

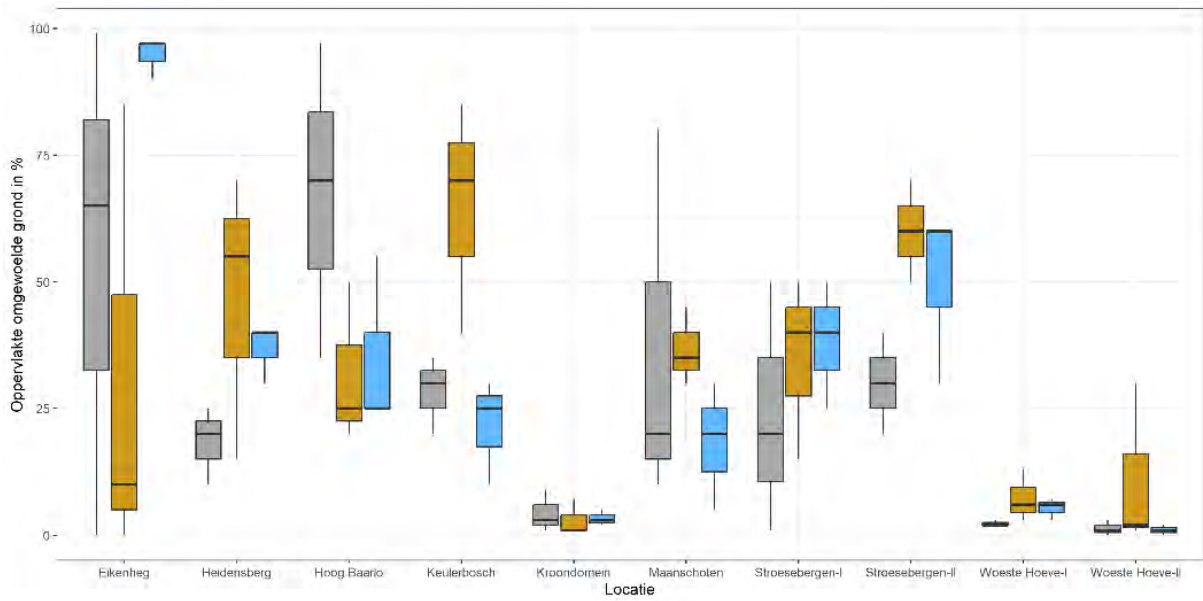
Vegetatieopnamen

In de vegetatieopnamen en rastertellingen zijn in totaal 121 soorten aangetroffen. Dit zijn veelal zeer algemene soorten van droge bossen op vrij voedselarme bodem. Enkele bijzonderheden zijn Stekelbrem (1x, alleen 2021), Fraai hertshooi (1x alleen 2024), Dalkruid (11x), Hengel (12x), Drienerfmuur (2x) en Gewone eikvaren (1x). Stekelbrem en Fraai hertshooi staan op de Rode Lijst (2012). Van deze soorten lijken Hengel en Drienerfmuur (licht) te reageren op steenmeel.

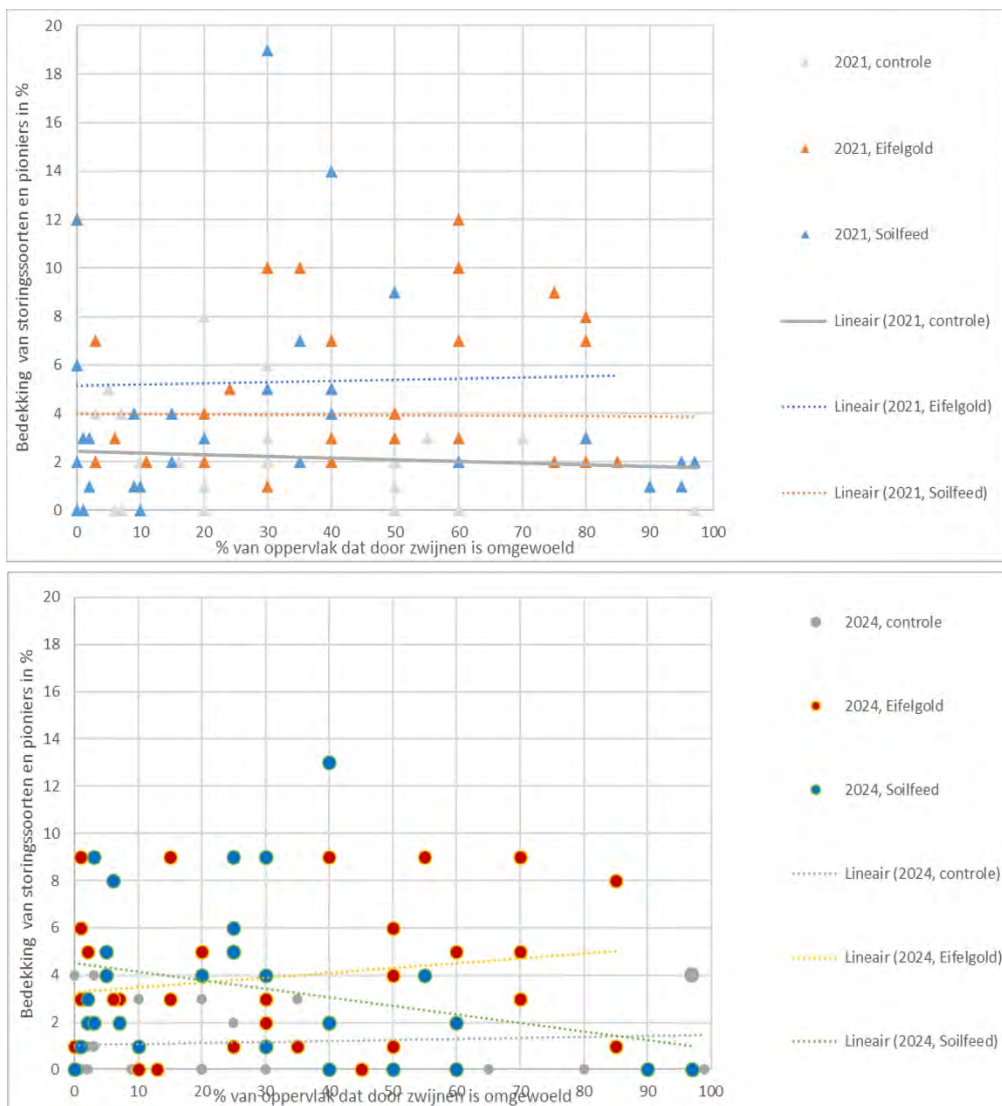
De vegetaties op de proeflocaties behoren tot de associatie van Berken-Eikenbos (r45Aa3) en meer specifiek de subassociatie van Bochtige smele (r45Aa3a), de subassociatie typicum (r43Aa3b), of een associatiefragment van het Eiken-Berkenbos. De hoofdboomsoort is Zomereik en komt vaak in combinatie voor met Grove den en/of Berk. Constante soorten in de kruidlaag zijn Blauwe bosbes (niet op alle locaties van Stroese Bergen I en Maanschoten), Bochtige smele en Pilzegge. Blauwe bosbes heeft soms hoge bedekkingen, terwijl Bochtige smele en Pilzegge meestal in lage aantallen aanwezig zijn. Veel voorkomende soorten zijn verder zaailingen van Zomereik, Grove den en Amerikaanse vogelkers, Smalle stekelvaren, Rankende helmbloem, Gewoon struisgras en Pijpenstrootje. Constante soorten in de moslaag zijn Gewoon klauwtjesmos, Fraai haarmos en Gewoon pluisjesmos/Boskronkelsteeltje. Andere regelmatig voorkomende soorten zijn Groot gaffeltandmos en Kussentjesmos. De overige soorten komen uit uiteenlopende ecotopen en zijn minder frequent. In Bijlage 1.8.1 is de soortenlijst toegevoegd.

Zwijnen hebben in veel proefvlakken de bodem omgewoeld. In 2021 was de wildstand aan zwijnen zeer hoog, met uitzondering van Woeste Hoeve en Kroondomein. In 2024 was deze wat lager. Dit is terug te vinden in de opnamegegevens in Figuur 8.2. Er is geen duidelijke relatie te zien tussen omgewoelde bodems en het voorkomen van storingssoorten en pioniers (Figuur 8.3).





Figuur 8.2 Percentage van oppervlakte dat omgewoeld is door zwijnen per proeflocatie en per steenmeelbehandeling in 2021 (boven) en 2024 (onder).

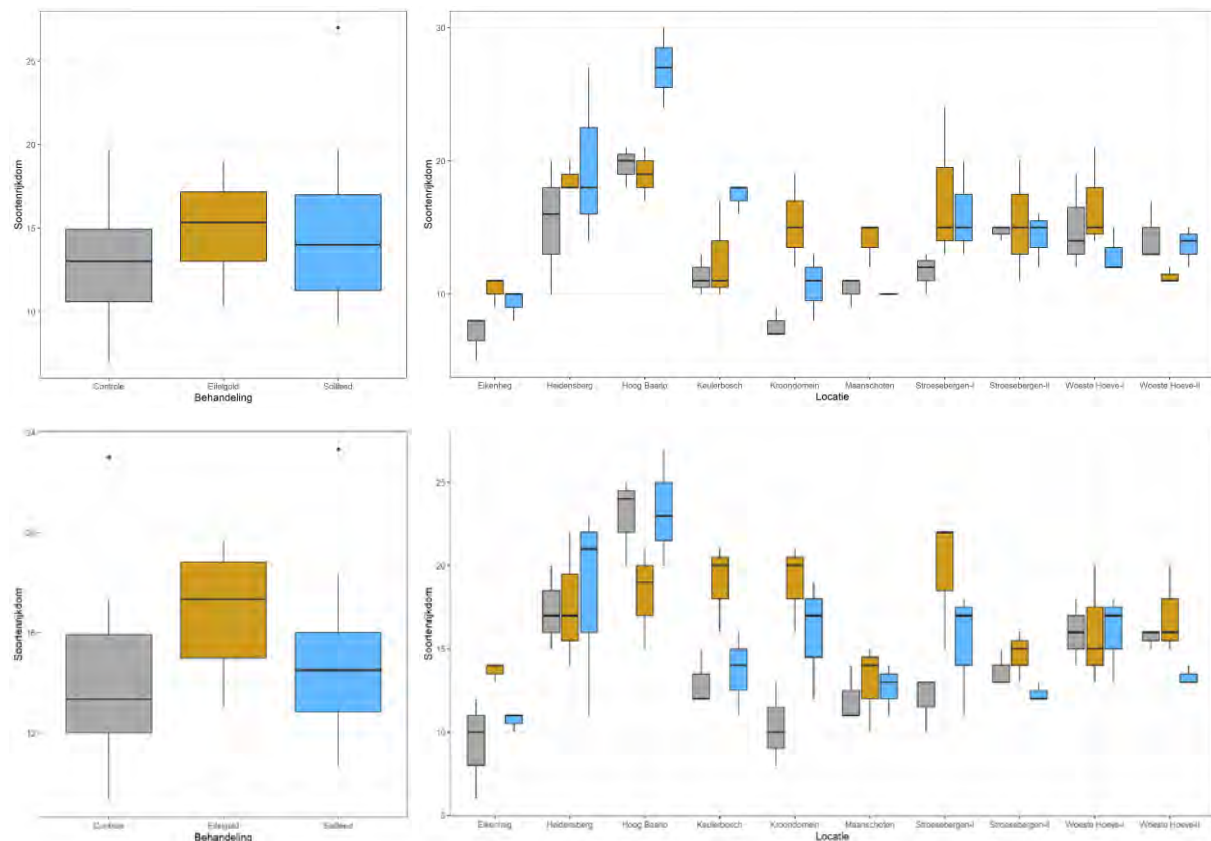


Figuur 8.3 Bedekking van storingssoorten en pioniers versus omgewoelde oppervlakte door zwijnen, in 2021 en 2024.

Soortenrijkdom

De soortenrijkdom van de opnamen (inclusief struik- en boomlaag) loopt in 2021 sterk uiteen van 5 tot 30 soorten in een proefvlak, de gemiddelden liggen tussen 13 en 16. De soortenrijkste proeflocaties waren Hoog Baarlo en Heidensberg. De soortenarmste proeflocaties waren Eikenheg en Maanschoten (Figuur 8.4).

In 2024 lag het gemiddelde van de soortenrijkdom in alle behandelingen met 15,4 iets hoger dan in 2021 met 14,3, en was de spreiding minder groot. Dit kan overigens ook een waarnemerseffect zijn, omdat bij de tweede ronde al bekend is welke soorten aanwezig kunnen zijn. Het aantal soorten was in de Eifelgold-behandelde proefvlakken toegenomen van 15,1 in 2021 naar 16,8 in 2024. In de Soilfeed-behandelde proefvlakken is deze toegenomen van 15,1 naar 15,2. De toename in de controle was nog het grootst, van 12,7 naar 14,2. De verschillen tussen de behandelingen zijn niet significant.



Figuur 8.4 Gemiddelde soortenrijkdom per locatie en per behandeling in 2021 (boven) en in 2024 (onder).

Indicatoren-Ellenberg stikstof en licht

Turbogeg heeft voor elke opname een indicatiewaarde berekend voor stikstof (trofie) op basis van de indicatiegegevens voor plantensoorten van Ellenberg (Hill et al. 1999). De Ellenbergwaarden kunnen een globale ontwikkeling in abiotiek op basis van de vegetatiesamenstelling zichtbaar maken.

De Ellenberg stikstofwaarde (indicatief voor het trofie-niveau) van de opnamen lag in 2024 rond de 3 (de gemiddelde soort komt vaker voor op voedselarme locaties dan op middelmatige locaties en slechts uitzonderlijk op voedselrijkere locaties). Een waarde van rond de 3 is vergelijkbaar met heide en heideachtige vegetaties. Heide en heideachtige vegetaties zijn sterk fosfaat-gelimiteerd, dus een toename van stikstof leidt niet direct tot een vegetatie met een hogere Ellenbergwaarde voor stikstof. De controleproefvlakken scoorden hierin iets lager dan beide steenmeelbehandelingen, ook in 2021, maar het verschil is niet significant.

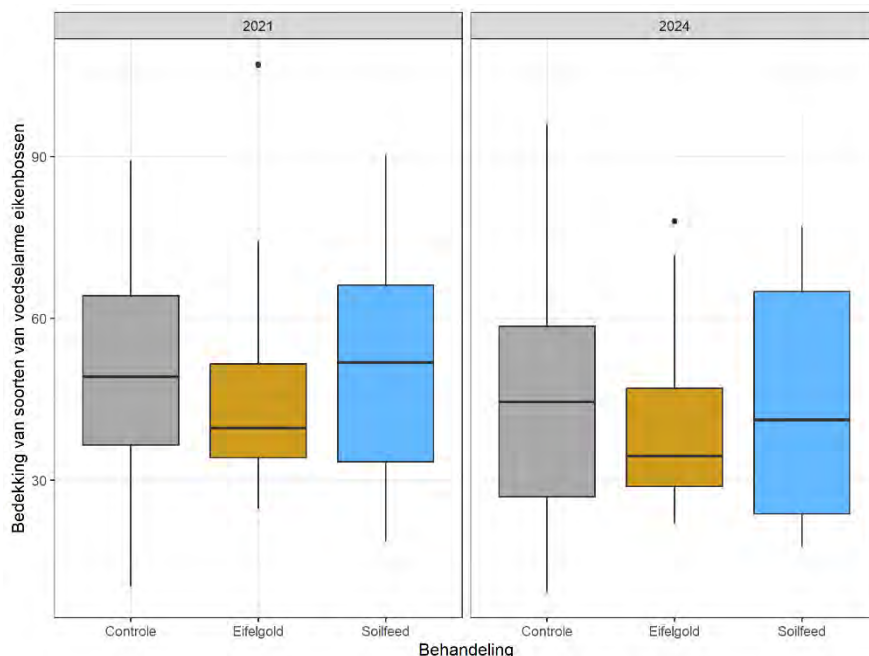
De Ellenbergwaarden voor licht duiden op een gemiddelde in alle groepen tussen de 6 en 6,5, dus de gemiddelde ellenbergwaarde duidt op halfschaduw tot aan goed verlicht, maar tolerant voor gedeeltelijke beschaduwing. Hier zijn geen duidelijke verschillen te zien, niet in de tijd en niet tussen de behandelingen.

Bedekking van soortgroepen

De bedekking van soorten van **voedselarme eikenbossen** in de kruid- en moslaag vertoonde een aanzienlijke spreiding. Er werd vooral veel verschil tussen de proeflocaties gevonden: Heidensberg, Stroese Bergen I en II en Eikenheg zitten aan de lage kant, Woeste Hoeve I en II en Kroondomein zitten aan de andere kant van het spectrum. Dit wordt vooral verklaard door het hoge aandeel van blauwe bosbes in Woeste Hoeve en Kroondomein.

Er werd geen duidelijk verschil tussen de steenmeelbehandelingen gevonden (Figuur 8.5) en tussen 2021 en 2024 traden geen verschuivingen op.

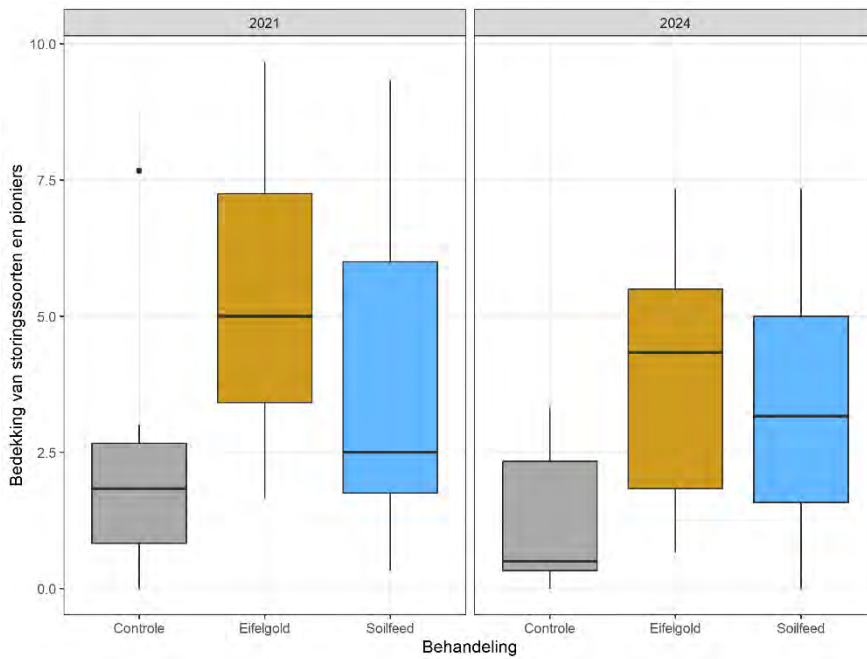
De gezamenlijke bedekking van soorten van de wat **rijkere bossen** was met hooguit enkele procenten zeer laag. Er werden geen significante verschillen waargenomen tussen steenmeelbehandelingen.



Figuur 8.5 Boxplots van de cumulatieve bedekking van soorten van voedselarme bossen.

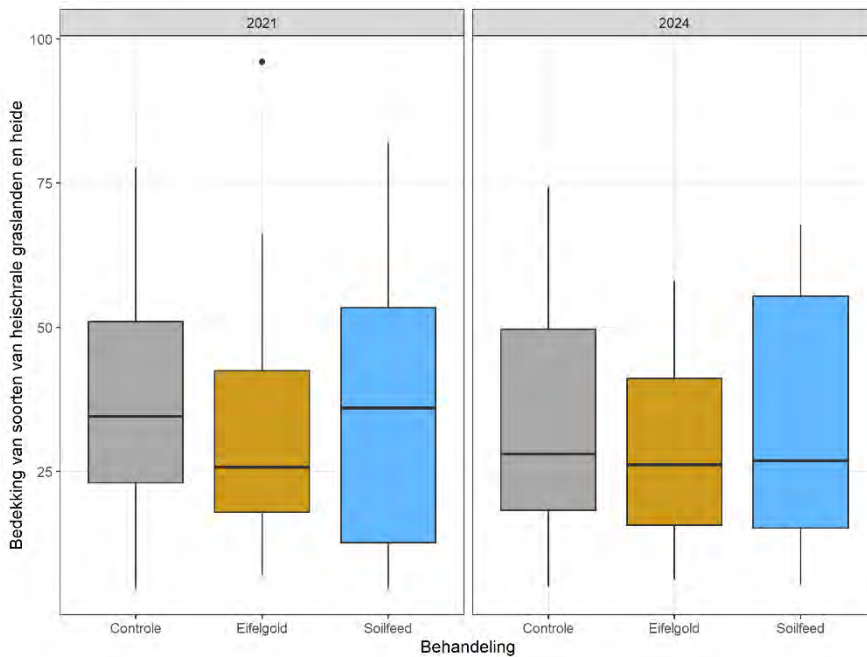
De gezamenlijke bedekking van **storingsoorten en pioniers** was laag en lag meestal onder de 10%. Beide steenmeelbehandelingen scoorden zowel in 2021 als in 2024 hoger dan de controleproefvlakken (Figuur 8.6). Dit effect was sterker in 2021 dan in 2024. Indien het voorkomen van de storingsoorten in de behandelde vlakken vóór de behandeling met steenmeel net zo laag was als in de controle, dan is aannemelijk dat met name Eifelgold een duidelijk effect heeft op de abundantie van storingsoorten in 2021. Helaas zijn er geen vegetatieopnames gedaan voordat het steenmeel is toegediend.

De gezamenlijke bedekking van **graslandsoorten** lag zeer laag in 2021 en 2024, in alle behandelingen, met een gemiddelde van 2%. Omdat er veel 0-waarnemingen waren en veel soorten incidenteel voorkwamen is er niet getoetst op deze groep. Wel lijkt Gewoon struisgras wat toe te nemen op de locaties waar deze soort al voorkwam en waar Eifelgold of Soilfeed toegediend is.



Figuur 8.6 Boxplots van de cumulatieve bedekking van storingssoorten en pioniers.

De **soorten van heischraal grasland en heide** vormen een groep met veel variatie in bedekking. Het gemiddelde van de gezamenlijke bedekking lag tussen 25 en 35%. Opmerkelijk is dat in 2024 behandeling met Eifelgold een negatief effect had (GLMM $z=-2,605$, $P < 0,01$). Dit wordt voor een deel verklaard door de afname van de bedekking van Blauwe bosbes, die het sterkst was in de Eifelgold-behandeling. Blauwe bosbes neemt in deze groep een groot aandeel in. Als deze uit de analyse weggelaten wordt, dan lagen de gemiddelden tussen de 8 en 11%. Er treedt daarbij geen duidelijke verschuiving op in de verschillende behandelingen.



Figuur 8.7 Gemiddelde en standaarddeviatie van de cumulatieve bedekking van soorten van heischraal grasland en heide.

Gridtelling

In een gridtelling van 1 bij 5 m (=500 gridcellen) zijn alle soorten geteld. De meest frequente, kleine, soorten worden hier toegelicht: Gewoon klauwtjesmos, Bochtige smele, Gewoon pluisjesmos, Fraai haarmos en Pilzegge.

In de gridtellingen zijn alle soorten genoteerd. De meest frequente soorten worden hier apart uitgelicht. Bij geen enkele soort of groep zijn de verschillen tussen de behandelingen significant.

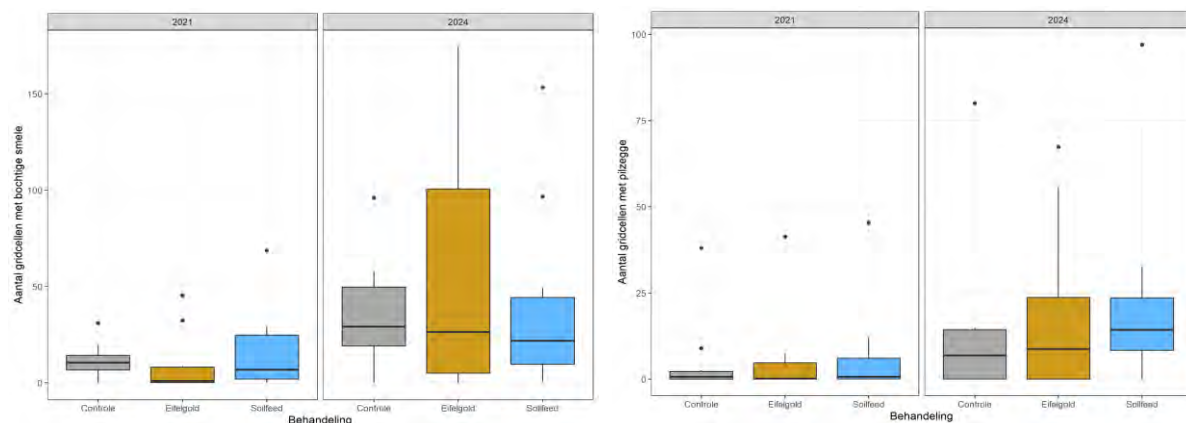
Bochtige smele kwam in 2021 met gemiddeld 11% van de gridcellen in de controle, 10% bij Eifelgold en 17% bij de Soilfeed voor (Figuur 8.8). In 2024 nam het gemiddeld aantal gridcellen met Bochtige smele sterk toe: in de controle is een toename van 11 naar 35% te zien, in de Eifelgold-behandeling gemiddeld van 10% naar 51%, en in de Soilfeed-behandeling van 17% naar 40%.

Pilzegge kwam in alle behandelingen in 2021 in een vrij gering aantal gridcellen voor: gemiddeld ongeveer tussen de 5 en 7% (Figuur 8.8). In 2024 was een sterke toename te zien in het aantal gridcellen met Pilzegge, naar gemiddeld 14% in de controle, 18% in de Eifelgold-behandeling en 22% in de Soilfeed-behandeling.

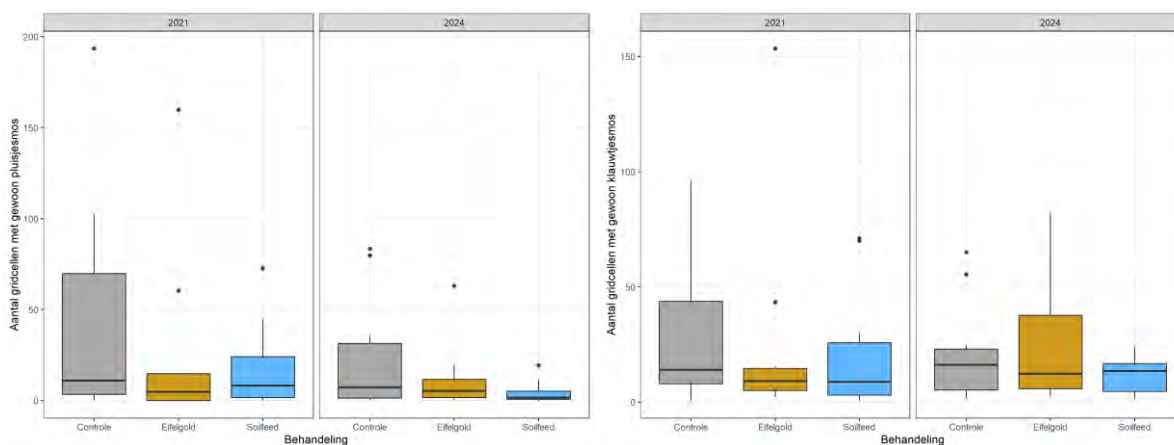
Gewoon pluisjesmos had een grote spreiding voor wat betreft het aantal gridcellen. De aanwezigheid in gridcellen van deze mossoort was in 2021 gemiddeld 43% in de controle, 26% in de Eifelgold-behandeling en 19% in de Soilfeed-behandeling (Figuur 8.9). In 2024 is het aantal gridcellen met Pluisjesmos in alle behandelingen sterk afgenomen. De afname van Pluisjesmos was in de Soilfeed-behandeling relatief het grootst (van 19% naar 4,5%).

Gewoon klauwtjesmos kwam in 2021 gemiddeld tussen 20 en 30% van de gridcellen voor (Figuur 8.9). In ongestoorde vlakken kan de soort echter hogere bedekkingen halen. De spreiding in 2024 is iets groter, maar de gemiddelden liggen nog steeds op hetzelfde niveau.

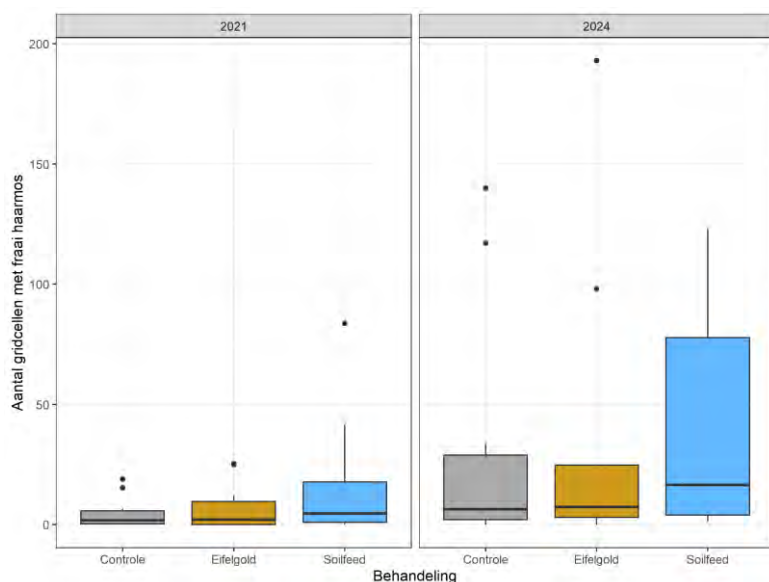
Fraai haarmos kwam in 2021 in de controle gemiddeld in 5% van de gridcellen voor, 7% in de Eifelgold-behandeling en in 17% in de Soilfeed-behandeling (Figuur 8.10). Het aantal gridcellen met Fraai haarmos is in 2024 sterk toegenomen, vooral in de Eifelgold-behandeling. In 2024 is het aantal gridcellen met Fraai haarmos gemiddeld 32% in de controle, 40% in de Eifelgold-behandeling en 38% in de Soilfeed-behandeling.



Figuur 8.8 Links: boxplots van aantal gridcellen met Bochtige smele. Rechts: Boxplots van aantal gridcellen met Pilzegge.



Figuur 8.9 Links: boxplots van aantal gridcellen met Gewoon pluigjesmos. Rechts: Boxplots van aantal gridcellen met Gewoon klauwtjesmos.



Figuur 8.10 Boxplots van aantal gridcellen met Fraai haarmos.

8.1.5 Relatie met bodemparameters

Middels een oppervlakkige check is gekeken of er een correlatie gevonden kon worden tussen verschillende bodemparameters en soortgroepen uit de vegetatieopnamen (Tabel 8.3). Voor deze correlatie is het gemiddelde van de 3 vegetatie-PQ's per proefvlak genomen, en de bodemmetingen van de toplaag van de bodem (0-10) van hetzelfde meetjaar. Deze variabelen zijn tegen elkaar uitgezet en er is gekeken naar correlaties. De patronen zijn verder niet statistisch onderzocht.

De bodemparameters die duidelijk beïnvloed worden door de steenmeelbehandelingen, zoals de pH, beschikbaar calcium en magnesium, laten nog geen effect zien op de vegetatie. Ook in de overige combinaties van de soorten en soortgroepen met de bodemdata komen geen duidelijke correlaties naar voren.

Tabel 8.3 Overzicht van vegetatie en bodemparameters waar een correlatie voor onderzocht is.

Vegetatiedata versus-----	Bodemdata
Richness	Organische stof
Bedekking soorten voedselarme eikenbossen	pH NaCl *
Bedekking soorten rijke bossen	NO ₃ NaCl
Bedekking zoomsoorten	NH ₄ NaCl
Bedekking storingssoorten en pioniers	Al NaCl
Bedekking graslandsoorten	Ca NaCl *
Bedekking soorten heischraal en hei	Fe NaCl
Bedekking soorten heischraal zonder vaccinium	K NaCl *
Bedekking vaccinium	Mg NaCl *
Bedekking overige soorten	Mn NaCl
	P NaCl
	S NaCl
	Si NaCl
	Zn NaCl
	AlCa NaCl
	Basenverzadiging
	CEC

8.2 Monitoring paddenstoelen (onderdeel 8.2)

In grote delen van de gematigde zone is bos de climaxvegetatie. In de loop van de successie ontstaat een uitgebalanceerd ecosysteem met complexe relaties tussen soorten. Schimmels spelen op diverse plaatsen in dit netwerk een belangrijke rol. Voor dit project is gekeken naar de bodem bewonende paddenstoelen, de vruchtlichamen van een deel van deze schimmels. De vruchtlichamen zijn een vrij goede afspiegeling van de ondergrondse schimmelsamenstelling voor zover het vruchtlichaam vormende soorten betreft (Smit et al. 2003). Er is gekeken naar de volgende groepen en ecologische functies:

- Samenwerking met de dominante boomsoorten (Eik, Berk, Den), waarbij de schimmel voedingsstoffen of water levert en/of de boomwortels beschermt tegen ziektes en extreme bodemomstandigheden, en in ruil daarvoor suikers van de boom ontvangt. Dit zijn ectomycorrhiza (EM) – schimmels, hierna EM-fungi genoemd.
- Afbreken van strooisel, waarbij onderscheid gemaakt kan worden in strooiselspecialisten (op vers strooisel, soorten vaak gespecialiseerd op bepaalde boomsoorten of onderdelen van bladeren/vruchten/twijgen), afbrekers van ruwe humus en afbrekers van fijne, al ver afgebroken humus.
- Met mos samenlevende soorten, de aard van de samenleving is nog onvoldoende bekend.
- De overige soorten kunnen allerlei ecologische functies hebben, zoals parasieten, graslandpaddenstoelen en specialisten van brandplekken. Hout afbrekende soorten zijn niet in het onderzoek betrokken.

De samenwerking met bomen is onder druk komen te staan door stikstofdepositie. Door deze stikstofaanvoer bestaat er voor de boom minder aanleiding om samen te werken met EM-fungi om zodoende voldoende stikstof te bemachtigen. Er wordt dan minder in deze samenwerking geïnvesteerd, waardoor EM-fungi achteruit gaan. Daarnaast werkt stikstofdepositie en de hiermee samenhangende verzuring remmend op de strooiselafbraak, mede doordat het blad meer toxische polyfenol-stikstof complexen bevat bij stikstofdepositie (Ozinga et al. 2013). Hierdoor wordt het voor schimmels moeilijker om de ruwe humus verder af te breken.

In dit onderzoek is gekeken naar paddenstoelen, de vruchtlichamen van schimmels. Van steenmeeltoediening kunnen grofweg twee effecten worden verwacht.

1. Steenmeel kan invloed hebben op de hoeveelheid en soortensamenstelling van EM-paddenstoelen. De betere bufferstatus kan leiden tot herstel van soorten die gevoelig zijn voor verzuring maar kan ook leiden tot het vrijkomen van meer voedingsstoffen en daarmee een afname van EM-paddenstoelen. Resultaten van spoor 2 laten zien dat er n.a.v. DNA analyses van de bodemonsters, een trend werd gevonden in dat het aandeel EM-fungi gemiddeld hoger was in de steenmeelbehandelingen (in 2022 en 2024), maar dat gold slechts voor een beperkt aantal proeflocaties, waardoor het effect dus niet significant was. Hier wordt gekeken of de EM-paddenstoelen hetzelfde of een ander patroon laten zien.
2. Verder is de verwachting dat steenmeel de humusafbraak stimuleert, en daarmee ook de strooisel afbrekende paddenstoelen.

8.2.1 Methoden

In de proefvlakken is het voorkomen van paddenstoelen bekeken middels een gestandaardiseerde methode. Er is een looproute gevolgd waarbij eerst de omtrek is gevolgd op 5 tot 10 meter binnen de grenzen van het vlak van 70x70 meter. Daarna is in het centrale deel nog een kleiner rondje gemaakt. Van alle aangetroffen soorten is het aantal vruchtlichamen geschat middels de volgende categorieën:

1 = 1-9 vruchtlichamen

2 = 10-99 vruchtlichamen

3 = 100-999 vruchtlichamen

4 = 1000 of meer vruchtlichamen

Soorten die niet in het veld op naam konden worden gebracht zijn meegenomen voor microscopische controle. In principe zijn alle vruchtlichamen van bodem bewonende schimmels geteld. Dit met uitzondering van kleine zakjeszwammen (ascomyceten, meest < 1 mm), korstzwammen en slijmzwammen. Ook houtbewonende soorten zijn niet geteld, maar wel de soorten op twijgen, takjes en vruchten (dennenappels, eikenapjes e.d.) die zich in het strooisel bevonden.

In 2021 (1^e effectjaar) is een kleine verkennende ronde uitgevoerd langs een deel van de proeflocaties. Op 16 en 17 oktober 2023 (4^e effectjaar), en op 30 september t/m 2 oktober 2024 (5^e effectjaar) is op vrijwel alle proeflocaties geteld. Daarnaast zijn er op enkele locaties extra tellingen verricht eind oktober/begin november 2024 (zie Tabel 8.4). Bij een bezoek zijn alle drie de proefvlakken met de verschillende steenmeelbehandelingen (controle, Eifelgold, Soilfeed) bekeken. De locaties zijn alleen bezocht bij gunstige weersomstandigheden; voldoende neerslag vooraf. Alle locaties zijn minstens 2x bezocht.

Tabel 8.4 Datus waarop de proeflocaties zijn bezocht. EH = Eikenheg, HB = Heidensberg, MS = Maanschoten, BL = Hoog Baarlo, KD = Kroondomein, KB = Keulerbosch, SB1 = Stroese Bergen I, SB4 = Stroese Bergen II, WH1 = Woeste Hoeve I, WH4 = Woeste Hoeve II.

Proefvlak	Bezoekdata 2021-2024				
SB1-3		16-10-2023		30-9-2024	
SB4-6		16-10-2023		30-9-2024	
EH	11-10-2021	16-10-2023		30-9-2024	20-10-2024
HB	11-10-2021	16-10-2023		30-9-2024	20-10-2024
MS	11-10-2021	16-10-2023		1-10-2024	20-10-2024
WH1-3		17-10-2023	12-9-2024	1-10-2024	
WH4-6		17-10-2023	12-9-2024		
BL		17-10-2023		2-10-2024	
KD		17-10-2023			1-11-2024
KB		17-10-2023		2-10-2024	1-11-2024

Voor de analyse zijn de gegevens van alle bezoekdata opgeteld. Sommige locaties zijn wat vaker bezocht dan anderen, maar de drie steenmeelbehandelingen per locatie zijn altijd even intensief bekeken. De gegevens leveren geen volledig beeld op, daarvoor is het nodig om gedurende meerdere jaren meerdere veldbezoeken per jaar in een gunstige tijd af te leggen. Met de afgelegde bezoeken is wel een meerderheid van de voorkomende soorten in beeld gebracht.

8.2.2 Resultaten

De mycoflora van eikenbossen is eind jaren zeventig van de vorige eeuw beschreven door Jansen (1981). Vanuit het Biologisch station in Wijster, Drenthe, zijn in die perioden veel vegetatietypen mycologisch gekarakteriseerd. Er is destijds onderscheid gemaakt in een pionierfase op stuifzand (Dicrano-Quercetum), oude locaties met Eiken-Berkenbos (Betulo-Quercetum), en een variant op iets beter gebufferde bodem (Violo-Quercetum). Uit deze laatste variant zijn inmiddels door verzuring plantensoorten als witte klaverzuring en grote muur vrijwel verdwenen en zijn er vooral relatief voedselrijke varianten (met veel Klimop) en zure varianten (met Adelaarsvaren) over. De proeflocaties op de Veluwe vertonen de meeste overeenkomst met het klassieke Eiken-Berkenbos. Bovendien gaat het in beide gevallen om oude bossen, die in 1850 al aanwezig waren. De toenmalige situatie in Drenthe en de huidige situatie op de Veluwe zijn met elkaar vergeleken om een idee te krijgen van de temporele ontwikkeling van de mycoflora van eikenbossen.

Vergelijking mycoflora Oud Eikenbos 1976-1979 en 2023-2024

In de afgelopen 50 jaar hebben de jonge eikenbossen zich verder ontwikkeld. Door humusophoping zijn strooiselarme, voedselarme plekken verdwenen, en daarmee ook een grote groep EM-fungi. Maar ook heeft de bosbodem zich verder ontwikkeld, waardoor soorten van latere successiestadia zich mogelijk hebben uitgebreid. Stikstofdepositie heeft de achteruitgang van EM-fungi versneld en versterkt, waardoor honderden soorten momenteel op de rode lijst staan. Grote groepen EM-fungi, met name gordijnzwammen (*Cortinarius*), ridderzwammen (*Tricholoma*) en stekelzwammen (*Hydnum*, *Sarcodon*, *Phellodon*), zijn stikstofgevoelig, terwijl slechts enkele soorten positief op stikstof reageren, zoals enkele franjezwammen (*Thelephora*) en fopzwammen (*Laccaria*) (Lilleskov et al. 2019). In de Oude Eikenbossen had ook in 1976-1979 al een vrij lange bodemontwikkeling plaatsgevonden, waardoor de hierboven genoemde soorten al niet meer aanwezig waren. In het zelfde onderzoek waren deze deels nog wel aanwezig in jongere bossen met weinig of geen humus.

Ondanks de gevoeligheid voor stikstof en verzuring, en de al decennia lang voortdurende overschrijdingen van de kritische depositiewaarde in de Veluwe eikenbossen, laat de vergelijking met de oude Drentse referentiesituatie geen verschil in aantal EM-fungi zien. Zowel in de 8 Drentse locaties, die meerdere jaren meermaals zijn bezocht, als in de 10 Veluwe proeflocaties zijn in totaal ongeveer 30

soorten EM-fungi aangetroffen (Tabel 8.5). Wel was er een lichte verschuiving van minder zuur- en stikstoftolerante soorten zoals gordijnzwammen (*Cortinarius* spp.) en Zwavelmelkzwam (*Lactarius chrysorrheus*), naar sterk zuurtolerante soorten als Braakrussula (*Russula emetica*) en Kastanjeboleet (*Imleria badia*).



Afbeelding 8.1 Gele aardappelbovist (*Scleroderma citrinum*) was de meest voorkomende EM-fungi in de proeflocaties. Hier zichtbaar als lichte vlekken tussen de Blauwe bosbes (*Vaccinium myrtillum*).

Tabel 8.5 Overzicht van de ectomycorrhiza-paddenstoelen (EM-fungi) die zijn aangetroffen in het Eiken-Berkenbos (*Betulo-Quercetum*) in 8 referentielocaties in Drenthe in de jaren 1976-1979, en in de 10 controleproefvlakken van het Eiken-Berkenbos op de Veluwe in 2023-2024. De frequentie is weergegeven in 10 klassen; 1 = in 0 tot 10% van de proefvlakken, 10 = in 100% van de proefvlakken.

Soort	Ref.	Oud eik		Ref.	Oud eik
<i>Amanita citrina</i>	4	7	<i>Laccaria proxima</i>	9	3
<i>Amanita fulva</i>	3	4	<i>Laccaria proxima/laccata</i>		10
<i>Amanita gemmata</i>		1	<i>Lactarius camphoratus</i>	7	3
<i>Amanita rubescens</i>	8	6	<i>Lactarius chrysorrheus</i>	3	
<i>Boletus edulis</i>		1	<i>Lactarius hepaticus</i>		2
<i>Clavulina cristata</i>	2		<i>Lactarius quietus</i>	10	8
<i>Cortinarius spec.</i>	3	1	<i>Lactarius theiogalus</i>	9	9
<i>Cortinarius decipiens</i>	7		<i>Paxillus involutus</i>	10	7
<i>Cortinarius eburneus</i> ss		1	<i>Russula cyanoxantha</i>	2	2
<i>Cortinarius elatior</i>	3		<i>Russula emetica</i> sl.		9
<i>Cortinarius fusisporus</i>	2		<i>Russula fragilis</i>	3	
<i>Cortinarius orellanoides</i>	2		<i>Russula nigricans</i>	2	3
<i>Cortinarius paleaceus</i>	2	1	<i>Russula ochroleuca</i>	9	4
<i>Cortinarius paleifer</i>		1	<i>Russula parazurea</i>		4
<i>Hebeloma calyptosporum</i>	2		<i>Russula vesca</i>	2	
<i>Imleria badia</i>	5	9	<i>Scleroderma areolatum</i> ss		3
<i>Inocybe napipes</i>	4	8	<i>Scleroderma citrinum</i>	10	10
<i>Inocybe stellatospora</i>	2	2	<i>Suillus bovinus</i>		1
<i>Inocybe ovaticystis</i>		1	<i>Thelephora terrestris</i>		2
<i>Inocybe xanthomelas</i>	2		<i>Tylopilus felleus</i>	3	3
<i>Laccaria amethystina</i>	5	3	<i>Xerocomellus cisalpinus</i>		1
<i>Laccaria bicolor</i>		4	<i>Xerocomus chrysenteron</i> sl.	3	
<i>Laccaria laccata</i>	4	4	<i>Xerocomus subtomentosus</i>	3	

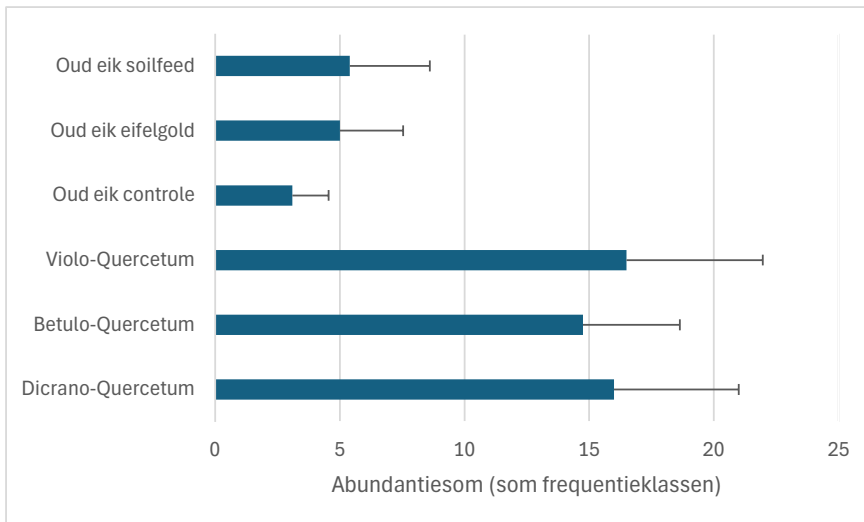
De subtiele verschillen in de EM-fungi staan in scherp contrast met de grote verschillen in de groep van de strooiselafbrekers. Deze groep valt grofweg uiteen in drie groepen. Strooiselspecialisten, meestal soorten met kleine vruchtlichamen, breken makkelijk afbreekbare stoffen af in vers gevallen bladeren, takjes en vruchten. Vervolgens vindt de afbraak van het bulkmateriaal plaats door strooiselafbrekers met doorgaans grote vruchtlichamen. Daarna ontstaat een fijne, donkere humus, die nog verder afgebroken wordt door soorten met kleinere vruchtlichamen. Deze laatste groep is schaars in zure bosbodems. Onder de strooiselspecialisten lijken de verschillen met de referentiesituatie gering, maar de verschillen onder de afbrekers van ruwe humus zijn onverwacht groot.

Omdat ook in de referentielocaties een abundantieschatting van grote strooiselafbrekers is gemaakt, kon de abundantiesom van de toenmalige locaties worden vergeleken met die in de Oude Eikenbossen (Figuur 8.11). Deze lag gemiddeld ongeveer een factor 5 lager in de Oude Eikenbossen! Het verschil tussen de controleproefvlakken in de proeflocaties en de referenties uit Drenthe is zeer significant (tweezijdige t-test, ongelijke variantie; $P < 0,001$). Van het grote geslacht der Trechterzwammen (*Clitocybe*) werd geen enkele soort aangetroffen. En ook andere grote strooiselafbrekers zoals Breedplaatstreephoed (*Oudemansiella platyphylla*), Botercollybia (*Rhodocollybia butyracea*) en Grote stinkzwam (*Phallus impudicus*) zijn veel minder gevonden. Alleen Eikenbladzwammetje (*Gymnopus dryophilus*) werd iets abundanter aangetroffen. Valse hanekam (*Hygrophoropsis aurantiaca*) werd in enkele Oude Eikenbossen gevonden, maar werd niet vermeld in het Drentse onderzoek. Overigens is dit ontbreken van grote strooiselafbrekers geen algemeen geldend beeld; in de eikenbossen van het Mastbos en op de Hamert werden recent wél vrij veel grote strooiselafbrekers waargenomen (Brouwer et al. 2022). De nog wel doorlopende afbraak lijkt hier wel tot gevolg te hebben dat er minder EM-fungi zijn in de controleproefvlakken (Maasduinen 7 soorten, Mastbos 9-16 soorten, tegen 8-25 soorten in de Oude Eikenbossen die niet zwaar door zwijnen zijn omgewoeld) (Figuur 8.12). Daarentegen hebben 3 controleproefvlakken van OBN onderzoek op de Kemperberg in NPHV 16-21 EM-fungi per proefvlak; hier zijn ook heel weinig grote strooiselafbrekers te vinden. Het lijkt er op dat deze stilvallende afbraak

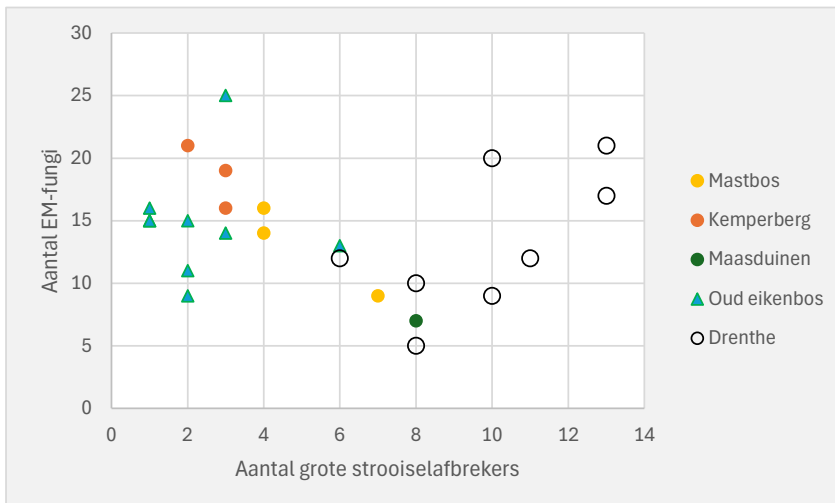
er toe leidt dat voedingsstoffen niet meer beschikbaar komen voor de vegetatie, en de bomen daarom meer gebruik moeten maken van EM-fungi. Kennelijk heeft dit grotendeels gecompenseerd voor de toegenomen stikstofdepositie, want de beide reeksen op de Veluwe hebben niet minder EM-fungi dan de referentielocaties uit Drenthe!



Foto 8.1 Gewone fopzwam (*Laccaria laccata*, boven), Amethistzwam (*Laccaria amethystina*, onder) en Zwartwordende stuifzwam (*Lycoperdon nigrescens* (beide foto's) in een Eifelgold-behandeld proefvlak bij Woeste Hoeve. De eerste twee zijn pionierende ectomycorrhiza-vormers, de derde is een strooiselafbreker. De drie soorten zijn het meest waargenomen in proefvlakken behandeld met steenmeel.



Figuur 8.11 Voorkomen van grote strooiselafbrekers in eikenbossen in referentielocaties in Drenthe uit de periode 1976-1979 (Gaffeltand-Eikenbos (*Dicrano-Quercetum*), 3x, Eiken-berkenbos (*Betulo-Quercetum*) 8x, zwak gebufferd eikenbos (*Violo-Quercetum*), 10x, (Jansen 1981)), en in de 3 steenmeelbehandelingen van de proeflocaties (oud eik). Weergegeven is het gemiddelde van de som der frequentieklassen, plus standaarddeviatie.



Figuur 8.12 Verhouding tussen aantal soorten EM-fungi en aantal soorten grote strooiselafbrekers in controleproefvlakken die meerdere jaren goed bekeken zijn. Kemperberg = Nationaal park Hoge Veluwe.

Voor de EM-fungi is gekeken naar de taken die de momenteel dominante soorten kunnen vervullen voor bomen. Ofschoon verreweg de meeste EM-soorten achteruitgaan wanneer de stikstofbeschikbaarheid in de bodem toeneemt, behoorden de 5 talrijkste EM-paddenstoelen in de proeflocaties allen tot het selecte groepje van stikstofminnende soorten, zoals vermeld in de standaardlijst van Nederlandse paddenstoelen (Arnolds & Van de Berg 2013). Uitgedrukt als percentage van de abundantiesom (aantal waarnemingen x klasse voor aantal vruchtlichamen), behoort 82% van de vruchtlichamen bij de nitrofiële soorten en slechts 13% bij de nitrofobe soorten. Die laatste zijn vooral Gele knolamaniet (*Amanita citrina*) en Braakrussula. De gordijnzwammen (*Cortinarius* spp.) zijn de meest soortenrijke groep en op enkele soorten na zijn deze nitrofoob. In de controleproefvlakken zijn slechts 5x gordijnzwammen waargenomen. Van andere grote nitrofobe groepen, zoals stekelzwammen en ridderzwammen, is zelfs geen enkele soort waargenomen. In vergelijking met de Drentse referentie is er een lichte verschuiving richting de nitrofiële soorten.

EM-paddenstoelen zijn door de hoge stikstofbeschikbaarheid veel minder nodig voor de boom. Maar er zijn wel andere essentiële functies die de resterende soorten kunnen vervullen:

- Voor gele aardappelbovist (*Scleroderma citrinum*) (Afbeelding 8.1) zijn er bewijzen dat deze soort de boom voorziet van water (Kebert et al. 2023). Dit wordt ook vermoed van de kastanjeboleet (*Imleria badia*).
- Verschillende soorten kunnen in zekere mate organisch materiaal afbreken. Gewone krulzoom (*Paxillus involutus*) kan zelfs sterk vergaan hout afbreken, dat voor een groot deel bestaat uit afgestorven mycelia van eerdere houtafbrekers (Akroume et al. 2019). Rimpelige melkzwam (*Lactarius tabidus*) en Parelamaniet (*Amanita rubescens*) bezitten enzymen die organische bestanddelen kunnen afbreken (Courty et al. 2007). De Amethystzwam, die eenjarige mycelia vormt, kan zelfs grotendeels van organisch materiaal leven. Indien EM-fungi zelf in een deel van hun koolstof voorzien, betekent dit een minder grote koolstof-investering voor de boom.
- Verschillende soorten hebben een hoge tolerantie tegen metalen, die in zure bodems in versterkte mate vrijkomen. Bijvoorbeeld gewone krulzoom en aardappelbovist (Rudawska & Leski 1998).
- Naast stikstof kan een EM-soort ook bijvoorbeeld fosfaat leveren aan de boom. Hiervoor zijn aanwijzingen bij Gewone krulzoom en Kastanjeboleet.
- Ook helpen veel soorten bij het onderdrukken van plantpathogenen. Dit is bijvoorbeeld aangetoond voor Gele aardappelbovist.

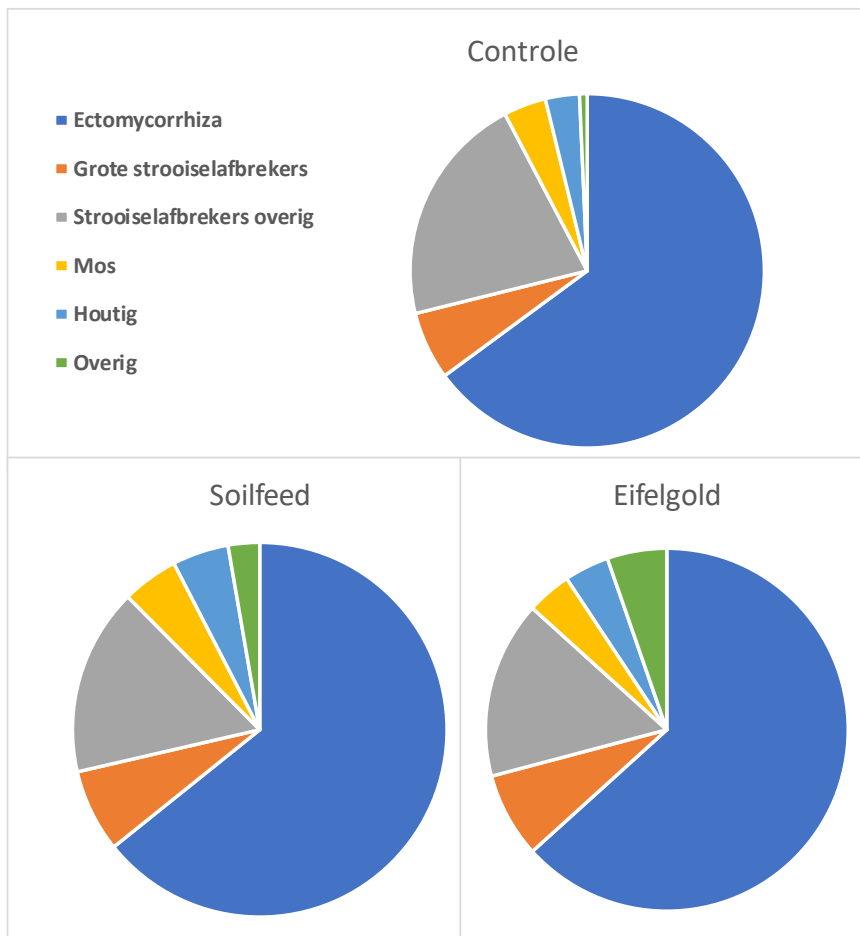
Samengevat bestaat het nog resterende groepje aan EM-paddenstoelen voornamelijk uit stikstoftolerante soorten, en zijn er aanwijzingen dat deze paddenstoelen vooral andere functies vervullen in de samenwerking met bomen zoals vochtvoorziening, fosfaatlevering en bescherming tegen door verzuring vrijkomende metalen. Wel is er nog een kleine minderheid aan nitrofobe EM-paddenstoelen aanwezig, die waarschijnlijk nog wel een grotere rol spelen in de stikstof-acquisitie van de boom.

Effecten steenmeeltoediening

De grote achteruitgang in vruchtlichamen van strooiselafbrekers werd door toediening van steenmeel vooralsnog maar voor een klein deel ongedaan gemaakt (Figuur 8.11). Door de wat betere buffering wordt de activiteit van strooiselafbrekers wel gestimuleerd. Het gaat dan vooral om meer vruchtlichamen van soorten die ook in de controleproefvlakken nog gevonden werden, met name Tweekleurige trechterzwam (*Clitocybe metachroa*) en Zwartwordende stuifzwam (*Lycoperdon nigrescens*) (Foto 8.1). Maar de overige in de referentie zo rijk vertegenwoordigde trechterzwammen keren niet terug en ook de Botercollybia (*Rhodocollybia butyracea*) blijft vrij schaars.

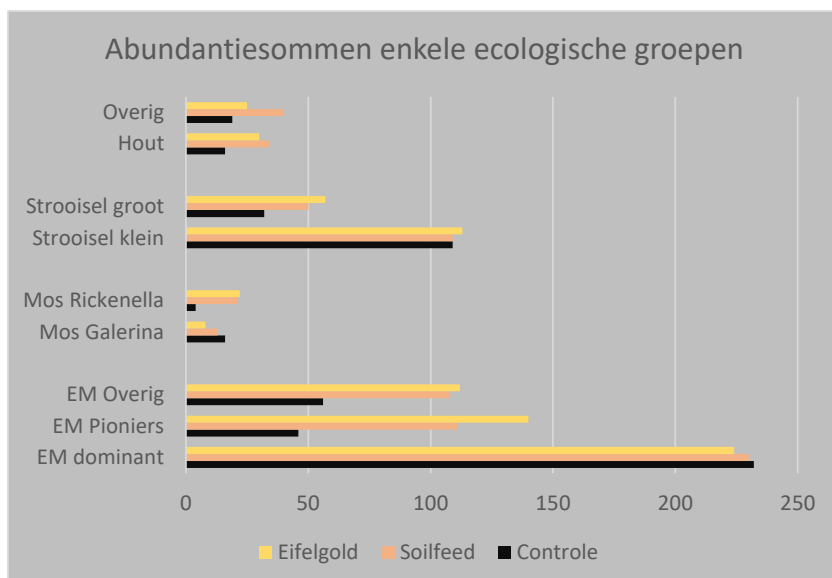
Toedienen van steenmeel stimuleert de activiteit van paddenstoelen. Zowel het aantal soorten als het aantal vruchtlichamen neemt toe. Uitgedrukt als abundantiesom neemt deze toe van 530 in de controleproefvlakken naar 720, respectievelijk 735 na toedienen van Soilfeed of Eifelgold. Ook de DNA-analyse van de minerale toplaag (spoor 2; hoofdstuk 4.1.3) liet soms een toename zien in activiteit van EM-fungi na toediening van steenmeel. Zo op het eerste gezicht heeft toediening van steenmeel weinig effect op de onderlinge verhoudingen tussen de belangrijkste ecologische groepen van paddenstoelen in de proeflocaties (Figuur 8.13). EM-paddenstoelen zijn dominant, gevolgd door de strooiselafbrekers. Daarnaast is er een kleine groep mosbewonende soorten. Houtpaddenstoelen zijn niet geteld; enkele soorten van zeer klein of zeer oud hout zijn in de categorie "houtig" opgenomen.

Waar het aandeel EM-fungi in het aantal getelde vruchtlichamen rond de 60% lag, is dat in de DNA-analyse slechts 10-15%. Er van uitgaande dat beide metingen representatief zijn, zou een 5x lager aandeel in de bovengrondse vruchtlichamen betekenen dat het grootste deel van de aanwezige schimmels in de minerale toplaag bestaat uit soorten die geen of alleen ondergrondse vruchtlichamen vormen.



Figuur 8.13 Aandeel van diverse ecologische groepen paddenstoelen in het totaal, voor de drie steenmeelbehandelingen.

Het beeld werd anders als de grote groepen wat verder werden onderverdeeld (Figuur 8.14; Tabel 8.6). Onder de EM-paddenstoelen waren er geen zichtbare veranderingen onder de dominante soorten met steenmeeltoediening. De toename in EM-paddenstoelen komt geheel van enkele pioniersoorten, met name fopzwammen (*Laccaria* spp.), en van de groep "overig". Fopzwammen staan vaak al bij hele jonge bomen en zijn dus goed in staat om zich snel te vestigen; de Amethystzwam is zelfs eenjarig. Op zijn minst van deze laatste soort is bekend dat deze ook strooisel af kan breken. Onder de overigen valt vooral op dat het aantal waargenomen soorten groter was. Van de ook in controleproefvlakken waargenomen soorten werd er na steenmeeltoediening meer Grofplaatrussula (*Russula nigricans*), Berijpte russula (*R. parazurea*) en de kensoort Regenboogrussula (*R. cyanoxantha*) geteld, allen soorten van iets minder zure bodem of op zijn minst bodems met iets beter afbrekend strooisel. Verder is er een zeer sterke toename van Kleine aardappelbovist (*Scleroderma areolatum*), een soort van wat verstoorde en voedselrijke bodems. Onder de "nieuwe" soorten bevinden zich er veel die op iets betere afbraak en/of iets minder zure condities wijzen. Dit zijn met name Kleine knolvezelkop, (*Inocybe assimilata*), Vale knolvezelkop (*I. xanthomelas*), Fijnplaatrussula (*Russula densifolia*), Broze russula (*R. fragilis*) en Smakelijke russula (*R. vesca*). Zeer opmerkelijk is dat meermaals Amandelrussula (*R. grata*) is waargenomen in het Soilfeed-behandelde proefvlak van Woeste Hoeve; een zeldzame soort van duidelijk beter gebufferde omstandigheden. Het is niet duidelijk of het bij de "nieuwe" soorten om werkelijk nieuwe vestigingen gaat, of om het opleven van nog aanwezige mycelia.



Figuur 8.14 Som van alle frequentieklassen van waargenomen soorten van bepaalde groepen, uitgesplitst naar steenmeelbehandeling.

Ook onder de mosbewoners vinden grote verschuivingen plaats. Het aantal waarnemingen van mosklokjes (*Galerina* spp.) was lager na steenmeeltoediening en daar tegenover stond een toename van trechtertjes (*Rickenella* spp.). Dit lijkt een effect van buffering; veel mosklokjes prefereren zure omstandigheden, terwijl trechtertjes over een brede pH-range voorkomen maar wat minder op de meest zure bodems.

Voor de grote strooiselafbrekers van ruwe humus was al geconstateerd dat deze in de controleproefvlakken veel minder zijn waargenomen dan in referentielocaties in Drenthe in de jaren 1976-1979 (Figuur 8.11). Na toediening van steenmeel vond enig herstel plaats, maar lang niet tot het niveau in de referentie (Figuur 8.12). De toename was voor beide typen steenmeel significant (t-test, 1-zijdig, gelijke variantie; $P = 0,03$), wanneer de verwachting getest werd dat steenmeeltoediening leidt tot een toename van EM-fungi. Onder de kleine strooiselafbrekers, meestal specialisten van vers strooisel, werd geen verschuiving waargenomen. Soorten die fijne, ver afgebroken (mull-)humus afbreken waren in de controleproefvlakken vrijwel afwezig. Na toediening van steenmeel vertoonden deze een lichte opleving, met name enkele soorten breeksteeltjes (*Conocybe* spp.) (Tabel 8.6). Ten slotte ging toediening van steenmeel samen met een toename van soorten van klein of zeer oud hout. Deze toename laat zich moeilijk verklaren.

Tabel 8.6 Som van frequentieclassen van waargenomen paddenstoelen in het Oud Eikenbos, uitgesplitst naar behandeling en ecologische groep. In de laatste kolom de gemiddelde verandering van beide typen steenmeel samen ten opzichte van de controleproefvlakken.

	Controle	Soilfeed	Eiffelgold	% toe/-afname
	Abundantiesom			door steenmeel
EM dominant	232	230	224	-2
EM Pioniers	46	111	140	173
EM Overig	56	108	112	96
Strooisel klein	109	109	113	2
Strooisel groot	32	50	57	67
Mos <i>Galerina</i>	16	13	8	-34
Mos <i>Rickenella</i>	4	21	22	438
Hout	16	34	30	100
Mull humus	0	4	6	>1000
Overig	19	40	25	71
<hr/>				
Aantal soorten EM	31	43	41	35
Aantal soorten overig	35	48	42	29

8.2.3 Conclusies paddenstoelenmonitoring

Een verrassend gegeven is dat de diversiteit in ectomycorrhiza-fungi in de Oude Eikenbossen op de Veluwe niet lager is dan in Drenthe in de periode 1976-1979, nog voor de piek in zuur- en stikstofdepositie. Wel had er toen waarschijnlijk ook al een afname in diversiteit plaatsgevonden. Maar misschien wel net zo verrassend is dat er wél een afname heeft plaatsgevonden van algemene, grote afbrekers van ruwe humus. Mogelijk hangen beide trends met elkaar samen. Toename van stikstofbeschikbaarheid leidt tot een toename van moeilijk afbreekbare verbindingen in de bladeren (Ozinga et al. 2013), waardoor doorsnee humusafbrekers het moeilijk krijgen. Dit leidt er ook toe dat voedingsstoffen zich in toenemende mate ophopen in deze ruwe humus en niet meer beschikbaar zijn voor de vegetatie. De nood aan samenwerking met ectomycorrhiza neemt hierdoor waarschijnlijk toe. Dit is vergelijkbaar met het laan-effect; in lanen waait strooisel weg waardoor ook de nutriëntenkringloop wordt doorbroken. Dergelijke lanen zijn vaak de laatste uitwijkplaatsen voor paddenstoelen die uit het bos verdwenen zijn. Daar waar de strooiselafbraak nog wat beter verloopt, zijn meer grote strooiselafbrekers aanwezig, maar juist minder EM-fungi. Wellicht omdat uit de afbraak weer meer voedingsstoffen vrijkomen en de nood van bomen aan ectomycorrhiza afneemt. Zo bezien is het voor de mycoflora van hedendaagse eikenbossen op de zandgronden kiezen uit twee kwaden; een vastlopende strooiselafbraak waardoor strooiselafbrekers het moeilijk krijgen, of een nog wel doorlopende afbraak waardoor EM-fungi het moeilijk krijgen.

In het licht van het bovenstaande zou een verbetering van de omstandigheden voor strooiselafbraak (steenmeel op de organische laag) in de Oude Eikenbossen op de Veluwe dus kunnen leiden tot meer strooiselafbrekers en minder EM-fungi. Het eerste zien we wel enigszins gebeuren, maar die toename is vooral te danken aan maar twee soorten. Het tweede zien we niet gebeuren. Sterker nog, er vindt juist een toename in diversiteit en activiteit van EM-fungi plaats. Dit kan verklaard worden door een toegenomen activiteit of vitaliteit van de bomen; er wordt een toename van het aantal fijne wortels waargenomen. Ook de minder zure omstandigheden kunnen bijdragen aan uitbreiding van EM-fungi van niet extreem zure bodems. Het lichte herstel van zowel strooiselafbrekers als EM-fungi is een stap in de goede richting; de mycologische afbraak is wat gestimuleerd, zonder dat dit vooralsnog tot een afname van EM-fungi leidt. Deze resultaten worden grotendeels ondersteund door de DNA-analyses van spoor 2.

8.3 Conclusies vegetatie- en paddenstoelenontwikkeling

Vegetatie

Uit de proef komen de volgende tendensen naar voren:

- Er is (nog) weinig effect van de steenmeelbehandelingen merkbaar op de samenstelling en bedekking van de vegetatie of individuele soorten. Op een relatief korte termijn van vijf jaar na toediening is een duidelijke respons op de vegetatie echter ook nog niet te verwachten.
- Twee soortgroepen met een kleine omvang vormen daarop een uitzondering:
 - De eerste is een opvallende toename van storingssoorten in het eerste jaar na steenmeeltoediening (2021). Dit effect is weggeëbd in het 5^e effectjaar (2024). Dit is waarschijnlijk een resultaat van de omwoeling door wilde zwijnen die vooral werd aangetroffen in 2021 en 2022. In de bodemchemische data werd ook gevonden dat het effect van de zwijnen vooral aanwezig was in 2021 en dat vanaf 2023 het effect nagenoeg was verdwenen.
 - De tweede is een lichte, niet significante toename van Pilzegge en Gewoon struisgras in de proefvlakken behandeld met steenmeel. Dit fenomeen treedt ook op in de steenmeelproef op de Hoge Veluwe (Vogels et al. 2025). Deze soorten zijn in staat om sneller te profiteren van het toegenomen mineralenaanbod.

Voor het meten van een effect op de vegetatie is het voortzetten van de proef zinvol. In de steenmeelproef in het NPHV in heide en heischraal grasland werd pas na acht jaar na aanbrengen van steenmeel duidelijk effect gemeten (Vogels et al. 2025).

Paddenstoelen

De belangrijkste conclusies van de tellingen van de vruchtlichamen van paddenstoelen zijn:

- Het aantal ectomycorrhiza (EM) vormende paddenstoelen in de Oude Eikenbossen op de Veluwe is ten opzichte van Drenthe 1976-1979 niet afgenomen. Wel heeft er enige verdere verschuiving richting nitrofiële, zuurtolerante soorten plaatsgevonden.
- Toedienen van steenmeel heeft geen effect op de dominante EM-fungi. Wel nemen hierdoor enkele pionierssoorten sterk toe en is er een lichte toename van minder zuurtolerante soorten.
- Het aantal afbrekers van ruw strooisel is wel sterk afgenomen. Dit wijst op remming van de strooiselafbraak.
- Toediening van steenmeel leidt tot enige terugkeer van afbrekers van ruw strooisel. De aantallen van de referentiesituatie worden bij lange na niet gehaald, wat mogelijk wijst op een moeizamere afbraak door de aanwezigheid van stikstofverbindingen (fenolen).

9 Synthese en conclusies

9.1 Urgentie in perspectief: bosconditie en de rol van steenmeel als herstelmaatregel

Oude Eikenbossen op zeer voedselarme zandgronden (H9190) verkeren op de Veluwe in een ernstig gedegradeerde toestand als gevolg van decennialange verzuring en zeer hoge stikstofdepositie. Uit metingen van dit onderzoek op tien verspreid gelegen locaties blijkt dat alle onderzochte plekken te maken hebben met sterke bodemverzuring, nutriëntenonbalans in bladeren van Zomereik, slechte boomvitaliteit, en een structureel gedegrademd bodemvoedselweb. Ook langjarige gegevens van o.a. microarthropoden laten een sterke ecologische degradatie zien ten opzichte van de jaren '90 van de vorige eeuw. Dit patroon is niet beperkt tot enkele probleemplekken, maar wordt breed waargenomen in bossystemen die langdurig aan stikstofdepositie zijn blootgesteld.

Deze bevindingen onderstrepen dat herstelmaatregelen urgent zijn. Zonder ingrijpen zal de achteruitgang naar verwachting voortschrijden. Steenmeeltoediening kan bijdragen aan het herstellen van de buffercapaciteit en het verminderen van zuurstress, en past daarmee binnen de set van herstelopties zolang dit zorgvuldig, plaatsgericht en binnen ecologische randvoorwaarden wordt toegepast.

Tegelijkertijd geldt dat steenmeeltoediening slechts een symptoombestrijdende maatregel is: het pakt de structurele oorzaak – de hoge stikstofdepositie – niet aan. Ook is het duidelijk dat steenmeeltoediening niet alle effecten van verhoogde N-depositie kan mitigeren, de negatieve effecten worden slechts 'gedempt'. Zolang de depositie niet substantieel daalt, blijft het risico bestaan dat herstelprocessen worden afgeremd of teniet gedaan. Herstelmaatregelen mogen daarom nooit een vervanging of vertraging van bronmaatregelen vormen, maar zijn aanvullend op een noodzakelijke structurele vermindering van stikstofdepositie.

Binnen dit rapport wordt, conform de afbakening van de opdracht, geen volledig afwegingskader opgesteld met baten, risico's en kosten. Wel brengt dit synthesehoofdstuk de relevante bevindingen samen die nodig zijn om de effectiviteit en veiligheid van steenmeeltoediening te beoordelen binnen deze bredere degradatiecontext.

9.2 Doel van het onderzoek

Deze studie had tot doel inzicht te verkrijgen in de effectiviteit van steenmeel als maatregel tegen verzuring in Oude Eikenbossen. De volgende drie kennisvragen vormden de basis voor dit onderzoeksproject:

1. Is toedienen van steenmeel een bruikbare maatregel voor herstel van het habitatype Oude Eikenbossen?
2. Treden er negatieve bijeffecten op en zo ja, welke zijn dit, en zijn deze te voorkomen?
3. Hoe kan steenmeel met optimaal effect worden toegediend, en met minimale risico's op bijwerkingen? Kan hiervoor een richtlijn worden opgesteld?

Om deze vragen te beantwoorden is sinds begin 2020 onderzoek uitgevoerd naar de effecten van steenmeeltoediening (Eifelgold en Soilfeed) op de bodemchemie, bladchemie, bodemleven (bacteriën, schimmels en mesofauna), macrofauna, vegetatiesamenstelling en paddenstoelen. Door WENR werd onderzoek gedaan naar de effecten op bosstructuur, boomvitaliteit, bodem- en humusprofielen en mycorrhiza en fijne wortels. De tien proeflocaties bevinden zich in het habitatype Oud Eikenbos op de Veluwe, waar Zomereik de dominante boomsoort is. Binnen iedere locatie zijn drie proefvlakken (0,5 ha) geselecteerd die vergelijkbaar waren in bodemopbouw, reliëf en vegetatiestructuur. Er is gekozen voor éénmalig toediening van 10 ton steenmeel/ha (Eifelgold of Soilfeed), aangebracht op de bestaande

strooisellaag tussen half februari en half april 2020, zonder inwerking in de bodem. Deze dosering sluit aan bij eerdere toepassing binnen het OBN-project herstel loofbossen (de Vries et al. 2019) en is gebaseerd op mineralogisch onderzoek op Veluwe zandgronden (Weijters et al. 2018). De gemeten effecten zijn vergeleken met een onbehandelde controle die op elke proeflocatie aanwezig was, zodat verschillen éénduidig aan de steenmeeltoediening konden worden toegeschreven. De behandelingen werden per toeval verdeeld over de drie proefvlakken.

9.3 Beoordeling van de steenmeeleffecten

9.3.1 Bodemchemie en bladchemie

Om aan te kunnen geven of veranderingen in de bodemchemie door steenmeeltoediening gewenst of ongewenst waren, werden enkele belangrijke indicatoren van bodemverzuring gebruikt. Deze graadmeters omvatten de beschikbare concentraties Ca, K en Mg, de Al/Ca-ratio, de bodem-pH, en de basenverzadiging in de toplaag van de minerale bodem. Voor een verbetering van de bodemchemie is het wenselijk dat de concentraties van beschikbaar Ca, K en Mg toenemen, gecombineerd met een afname in de beschikbare Al/Ca-ratio. Een Al/Ca-ratio hoger dan 1 wordt als problematisch beschouwd, omdat dit geassocieerd is met verminderde boomgroei en afname van de vitaliteit in Europese bossen (Sverdrup & Warfvinge 1993; Cronan & Grigal 1995). In bosbodems neemt de mobilisatie van Al sterk toe bij pH-waarden onder 4,5, waarbij rond pH 4-4,5 de buffering omschakelt van basische kationen naar Al (Blume et al. 2016; Rahman et al. 2018). Voor een duurzaam herstel van het habitatype Oude Eikenbossen wordt een basenverzadiging van 30% aangehouden (Schlutow & Huebener 2004). Daarnaast werd er gekeken naar de nutriëntenconcentraties en -ratio's van het blad van Zomereiken. Een gewenst effect van steenmeeltoediening is dat deze bladparameters verschuiven richting de waardes die binnen het normale bereik vallen zoals beschreven door Mellert & Göttlein (2012).

Omdat in de sterk verzuurde en met stikstof opgeladen bodems een grote voorraad aan stikstof in de strooisel- en bovenste bodemlaag aanwezig kan zijn, was er een risico aanwezig op het versneld vrijkomen van stikstof na steenmeeltoediening. Een sterke toename in stikstofbeschikbaarheid of sterke verruiging van de vegetatie werd als ongewenst gedefinieerd.

9.3.2 Microbiële samenstelling van de bodem

Voor de microbiologie is het op dit moment niet mogelijk om een éénduidig hersteldoel of een concrete referentie vast te stellen. Wat wél bekend is, is dat langdurige bodemverzuring en hoge stikstofdepositie in bos vaak leiden tot een afname in de diversiteit en activiteit van ectomycorrhiza- (ECM) schimmels, en tot verminderde nitrificatie, wat negatieve gevolgen kan hebben voor de nutriëntenkringloop en de vitaliteit van Zomereiken. Binnen het kader van herstel van Oude Eikenbossen werd een toename van ectomycorrhiza- (ECM) schimmels en nitrificerende bacteriën/archaea dus als positief beoordeeld, en deze groepen waren in de beter gebufferde Franse referentiebossen ook duidelijk sterker vertegenwoordigd. Herstel van deze functionele micro-organismen wordt daarom gezien als een gewenste ontwikkeling. Ook kan worden gesteld dat sterke verschuivingen in de verhouding tussen schimmels en bacteriën en/of duidelijke veranderingen in de samenstelling van microbiële gemeenschappen als ongewenst worden beschouwd. Dergelijke veranderingen duiden erop dat bodemprocessen die essentieel zijn voor de nutriëntenkringloop en strooiselafbraak te sterk worden verstoord.

9.3.3 Bodemmesofauna

Microarthropoden, in het bijzonder mijten en springstaarten, vormen een essentiële functionele groep in de bodem. Dankzij hun korte generatietijd reageren zij snel op veranderingen in milieuomstandigheden, waardoor zij waardevolle indicatoren zijn voor de effecten van beheeringrepen. Ook voor de microarthropoden geldt dat sterke verschuivingen in aantallen, soortensamenstelling of de onderlinge verhoudingen tussen voedselgildes als ongewenst worden beschouwd of in elk geval

potentieel risicovol, omdat dit duidt op verstoring van bodemprocessen. Binnen het herstell kader voor Oude Eikenbossen werd een toename in abundantie en diversiteit van schimmelende mijten en springstaarten gezien als een gewenste ontwikkeling. Het is aangetoond dat juist deze soorten bijdragen aan de stimulering van de afbraak van organische stof. Bovendien is de totale soortenrijkdom van de microarthropoden in bosbodems de afgelopen jaren sterk afgenomen, waardoor een herstel van deze microarthropoden niet alleen functioneel waardevol is, maar ook bijdraagt aan het verhogen van de algehele biodiversiteit in verarmde bosbodems.

9.3.4 Macrofauna

Verzuring en vermessing hebben geleid tot een afname van belangrijke macrofaunagroepen, zoals detritivoren (o.a. miljoenpoten, pissebedden en regenwormen), predatoren (o.a. spinnen) en herbivoren (o.a. rupsen). Hierdoor zijn zowel strooiselafbraak als het voedselaanbod voor insectivoren achteruitgegaan. Een gewenste ontwikkeling is dat steenmeeltoediening leidt tot een toename in abundantie en diversiteit van deze macrofaunagroepen, omdat dit wijst op herstel van bodemprocessen en een verbeterde voedselwebstructuur. Deze toename moet echter evenwichtig blijven: bij herbivoren gaat het bijvoorbeeld om een gematigde versterking, passend bij een verbetering van bladkwaliteit, maar niet om een herstel naar situaties waar rupsenplagen veelvuldig voorkwamen. Een ongewenste ontwikkeling is het optreden van sterke afnames in soorten of aantallen van detritivoren, predatoren of herbivoren, of duidelijke verschuivingen in trofische verhoudingen. Dit duidt op verstoring van het bodemvoedselweb en kan wijzen op negatieve bijeffecten van steenmeeltoediening of een onvoldoende herstel van de bodembuffering.

9.3.5 Grote herbivoren

Als steenmeeltoediening leidt tot lokaal hogere nutriëntenconcentraties in de vegetatie, kan dat in theorie grote herbivoren zoals herten en zwijnen aantrekken. Een ongewenste ontwikkeling is dat door verhoogde begrazing de positieve effecten van steenmeeltoediening op bosverjonging teniet worden gedaan.

9.3.6 Vegetatie en paddenstoelen

De karakteristieke vegetatie van Oud Eikenbos kenmerkt zich door de relatieve soortenarmoede. De ondergroei heeft een grote verwantschap met droge of vochtige heide. Als gewenste ontwikkeling wordt beoogd dat de moslaag goed ontwikkeld is. Ruigte- en storingssoorten zijn afwezig en soorten van rijkere bossen zijn schaars. Gewoon klauwtjesmos, Bochtige smele en Pijpenstrootje kunnen dominant zijn, maar domineren dan niet als enige soort.

Verzuring en vermessing hebben beiden een grote invloed op de samenstelling van de mycoflora (paddenstoelen) in bossen (Ozinga et al. 2013). Door stikstofdepositie kunnen bomen makkelijker aan stikstof komen en investeren zij minder in samenwerking met ectomycorrhiza-paddenstoelen en neemt de diversiteit van deze groep af. Ook is een groot deel van de soorten gevoelig voor de effecten van verzuring. Dat laatste geldt ook voor de grote groep van strooiselafbrekers. Daarnaast vinden er verschuivingen plaats richting zuurtolerante en meer eutrafente soorten. Voor de beoordeling is daarom zowel gekeken naar ontwikkelingen in de soortenrijkdom per groep als naar verschuivingen in soortensamenstelling waarbij herstel van zuur- of stikstofgevoelige soorten als gunstige ontwikkeling wordt beschouwd. Daarbij is ook rekening gehouden met de aantallen vruchtlichamen, die als maat voor activiteit van de waargenomen soorten kan worden gezien.

9.3.7 Bosstructuur en boomvitaliteit

Dit onderdeel is uitgevoerd door WENR (Van Delft et al. 2026). Door voortschrijdende verzuring en stikstofbelasting is de vitaliteit van Zomereiken in het laatste decennium sterk afgenomen, wat onder meer blijkt uit afnemende bladbezetting, groeistagnatie en verhoogde sterfte (Lucassen et al. 2014).

Steenmeeltoediening kan de zuurstress verlichten. Het gewenste effect is een verbetering van de boomvitaliteit, of op zijn minst een duidelijke rem op de huidige verslechtering.

9.3.8 Mycorrhiza en fijne wortels

Dit onderdeel is uitgevoerd door WENR (Van Delft et al. 2026). Zoals beschreven in 9.3.2 leiden langdurige bodemverzuring en hoge stikstofdepositie in bos vaak tot een afname in de diversiteit en activiteit van ECM-schimmels. Ook leiden hoge concentraties opgelost Al tot schade aan (fijne) wortels (Boudot et al. 1994). Een toename van de biomassa van ECM-schimmels, de dichtheid van fijne wortels, en het percentage daarvan dat bezet is met ECM-schimmels, worden als een gewenste ontwikkelingen gezien.

9.4 Synthese van de resultaten

9.4.1 Effecten van de steenmeeltypen Eifelgold en Soilfeed

Vijf jaar na toediening van Eifelgold en Soilfeed kan er geconcludeerd worden dat beide opgebrachte steenmeeltypen overwegend positieve effecten op het bossysteem hebben gehad, maar er zijn ook aandachtspunten en risico's geïdentificeerd. Een samenvatting van de effecten op de verschillende onderzoeksporen wordt hieronder gegeven en in Tabel 9.1.

- De resultaten uit de **bodem- en bladchemie** laten zien dat steenmeeltoediening een duidelijk positief effect heeft op de verzuurde bodems van Oude Eikenbossen. De toepassing van 10 ton/ha leidde tot statistisch significante verbeteringen in de bodemchemie, waaronder verhogingen in de pH, basenverzadiging en de beschikbaarheid van Ca, K en Mg. Deze chemische veranderingen vertaalden zich in hogere concentraties van dezelfde nutriënten in het blad van Zomereik, wat duidt op een gedeeltelijke herstelreactie van de voedingstoestand van deze bomen. Hoewel de waarden na vijf jaar nog niet binnen het bereik van volledige abiotisch herstel liggen, is er sprake van een duidelijke verschuiving richting (wat) meer gebufferde referentiebossen. Een volledig herstel naar de gewenste situatie is echter niet opgetreden binnen de studieperiode. Een potentieel risico vormt de gedeeltelijke vastlegging van fosfaat door Al/Fe en Ca bij Soilfeed-toediening (blijkend uit de P-fractionering), die gepaard ging met een afname van de plantbeschikbare fosfaatfractie. Ondanks deze chemische veranderingen werd geen verergering van P-tekorten in het blad van Zomereik gevonden, waardoor dit waarschijnlijk geen direct ecologisch risico vormt voor bomen of herbivore fauna. Voor het bodemleven kan dit in P-gelimiteerde situaties echter wel nadelige gevolgen hebben. Het is bovendien onzeker of deze P-vastlegging tijdelijk of cumulatief is.
- De **stikstofhuishouding** liet zien dat het boscysteem sterk stikstofverzaagd was, wat bleek uit de hoge nitrificatiesnelheden en de nitraatuitspoeling die ongeveer gelijk was aan de atmosferische stikstofdepositie. Steenmeeltoediening verhoogde de nitrificatie verder zonder de totale stikstofbeschikbaarheid (N-mineralisatie) te vergroten, wat resulteerde in een extra nitraatuitspoeling die bijdraagt aan het afvoeren van overtollig stikstof uit het bossysteem. Hoewel dit een functioneel gunstig effect was voor het bos, vormt de verhoogde uitspoeling tegelijkertijd een risico voor de grondwaterkwaliteit.
- Het **microbiële bodemleven** reageerde slechts beperkt op steenmeeltoediening, waarbij variatie tussen proeflocaties veel groter was dan verschillen tussen behandelingen. Er werden geen ongewenste effecten waargenomen van steenmeel in de eerste vijf jaar op het bodem-microbioom. Eventuele gewenste effecten, zoals een toename van DNA van ECM-schimmels of nitrificerende bacteriën, waren nog niet consistent zichtbaar. Het uitblijven van negatieve veranderingen suggereert dat steenmeel binnen deze tijdschaal een veilige maatregel is voor het bodemleven.
- Binnen de **bodemmesofauna** werden slechts beperkte functionele verschuivingen vastgesteld, maar er zijn wel enkele aanwijzingen voor veranderde activiteit in het bodemvoedselweb.

Toediening van Eifelgold leidde op meerdere locaties tot duidelijke pieken van fungivore browsers, terwijl Soilfeed op enkele locaties een hoger aandeel van herbivore grazers stimuleerde. Hoewel beide steenmeeltypen de pH verhoogden, komt uit de eindbemonstering vooral naar voren dat de respons van de mesofauna sterk varieerde en dat de totale soortenrijkdom zelfs verder daalde ten opzichte van de nulmeting, zowel in de behandelde proefvlakken als in de controles. De waargenomen verschuivingen – zoals de toename van fungivore browsers in Eifelgold-behandelde proefvlakken en toename van incidentele predatoren of grazers in Soilfeed-behandelde proefvlakken – wijzen op lokale veranderingen in het decompositiesysteem, maar vormen nog geen éénduidig herstelbeeld. De algehele afname in aantallen en vooral soortenrijkdom duidt erop dat het bodemvoedselweb van deze Eikenbossen structureel verzwakt blijft, waarbij vooral schimmeleeters kwetsbaar zijn voor lokaal uitsterven.

- Voor de **macrofauna** zijn de effecten eveneens gemengd maar overwegend positief.
 - Loopkevers lieten een toename in zowel activiteitsdichtheid als soortenrijkdom zien bij beide steenmeeltypen, wat duidt op een verhoogd prooiaanbod voor deze groep predatoren. Tevens is dit een indirecte aanwijzing dat strooiselafbrekende fauna positief reageert op steenmeeltoediening. Deze toename heeft mogelijk ook een positieve invloed op hogere trofische niveaus, zoals insectivore vogels.
 - Spinnen en rupsen vertoonden in de veldsituatie geen duidelijke respons, wat erop wijst dat de effecten die gemeten zijn nog subtiel zijn. In experimentele setting werd echter wel een verbetering van de voedselkwaliteit van eikenblad aangetoond bij twee op eik gespecialiseerde rupsensoorten, maar alleen bij Zomereiken die onder de sterkst verzuurde bodemcondities steenmeel toegediend kregen, een aanwijzing dat onder die condities steenmeel mogelijk wel positief kan bijdragen aan herstel van vlinderpopulaties.
 - Miljoenpoten namen in sommige proefvlakken licht toe bij Soilfeed-toediening, wat kan wijzen op minder zuurstress. In een kortdurend labexperiment binnen dit project werd geen effect van blootstelling van steenmeel aangetoond, maar een parallel lopend uitgebreider en langduriger opgezet experiment liet wel duidelijk zien dat blootstelling van met name Eifelgold, maar ook Soilfeed, bij deze groep een verhoogde mortaliteit tot gevolg heeft. Dit maakt een goede afweging van toepassing van steenmeel belangrijk: in sterk verzuurde bosbodems is de huidige zuurstress waarschijnlijk dominant over eventuele negatieve effecten van steenmeelblootstelling, wat de licht positieve respons van miljoenpoten in de bossen verklaart. In minder sterk verzuurde bossen zal dit echter niet het geval zijn en kunnen de negatieve effecten de overhand krijgen. Dit is dus een belangrijke factor die in beheerafwegingen moet worden meegenomen.
- Er waren geen aanwijzingen dat **grote herbivoren** werden aangetrokken tot de behandelde proefvlakken drie jaar na steenmeeltoediening. Het is mogelijk dat dit effect later alsnog optreedt.
- In de **vegetatie** werden in deze vijf jaar nog weinig veranderingen waargenomen, wat verwacht mag worden bij bosccosystemen met trage dynamiek. Tijdelijke toename van storingssoorten in het eerste jaar werd toegeschreven aan wroetactiviteit van wilde zwijnen en houdt waarschijnlijk geen verband met de toediening van steenmeel zelf.
- De **paddenstoelentellingen** wijzen op uiteenlopende effecten voor de twee grote functionele groepen. Onder de ectomycorrhiza-schimmels blijven de al aanwezige soorten dominant, maar een groep pioniersoorten neemt sterk toe. Ook worden minder zuurtolerante soorten weer iets meer waargenomen, waarschijnlijk door het opleven van nog aanwezige mycelia. De respons van strooiselafbrekers is wat groter, met name door toename van enkele soorten van gemiddeld

wat minder zuur en wat voedselrijker substraat. Hoewel referentieniveaus nog lang niet worden bereikt, is dit een relevant en gewenst signaal van beginnend herstel van de strooiselafbraak.







Uit de metingen van WENR (Van Delft et al. 2026) blijkt verder het volgende:

- Er werden geen duidelijke verschillen in **diktegroei** van Zomereiken tussen de behandelingen met of zonder steenmeel gevonden. Bij de controleproefvlakken was er tussen 2021 en 2024 een grotere **toename van vraat** aan de eikenbladeren dan bij de steenmeelbehandelde proefvlakken. In de controleproefvlakken waren er in 2024, vergeleken met de steenmeelbehandelingen, meer bomen met een achteruitgang van bladbezetting ten opzichte van 2021. Maar ook bij de steenmeelbehandelingen is er, hoewel minder, een achteruitgang waargenomen. Bij het merendeel van de proefvlakken was de algehele **vitaliteit** van de bomen in 2024 minder goed dan in 2021 – waarschijnlijk een gevolg van geleidelijke verslechtering van boomvitaliteit, maar ongetwijfeld ook versterkt door het optreden van extreme droogteperioden voorafgaand (2018) en tijdens (2020, 2022) de proefperiode. In de met Eifeldigold-behandelde proefvlakken was de achteruitgang echter minder sterk dan in de controle of de met Soilfeed-behandelde proefvlakken.
- Omdat alleen de uitgangssituatie in 2021 is opgenomen zijn in deze fase voor **bodem- en humusprofielen** nog geen effecten van de steenmeelbehandeling onderzocht. Uit de gevonden bodemkundige variatie kan wel opgemaakt worden dat de effecten in andere sporen, bijvoorbeeld **bodemchemie**, mede door deze variatie beïnvloed zullen worden. Een eerste verkenning (spoor 1; zie 3.2.4) suggereert dat vooral de dikte van de H- en 2H-horizonten samenhang vertoont met de effectiviteit van steenmeelbehandelingen op beschikbaar Ca en K. Deze relaties bieden echter slechts een beperkte verklarende of voorspellende waarde en zijn onvoldoende om verschillen in respons tussen locaties overtuigend te duiden. De toekomstige ontwikkeling van **humusprofielen** onder invloed van de steenmeelbehandeling hangt naar verwachting samen met ontwikkelingen in bodembiologische kenmerken zoals onderzocht in de sporen **microbieel bodemleven, bodemmesofauna, macrofauna** en **mycorrhiza**.
- Binnen de onderzoeksperiode (2022 – 2024) werd er geen significant effect van de steenmeelbehandelingen gevonden op **mycorrhiza en fijne wortels**. De verschillen tussen de jaren waren groter dan tussen de steenmeelbehandelingen en controle. Er is wel een positieve relatie gevonden tussen ECM-biomassa en de dichtheid van fijne wortels.

Met deze resultaten kunnen we de onderzoeksvragen beantwoorden.

Tabel 9.1 Overzicht van de significante effecten van Eifelgold en Soilfeed toediening op de bodemchemie, bladchemie, stikstofhuishouding, bodemleven, fauna, vegetatie- en paddenstoelenontwikkeling.

Bodemchemie	Eifelgold	Soilfeed
pH-NaCl	+	+
Basenverzadiging	+	+
Beschikbaar Ca	+	+
Beschikbaar K	+	+
Beschikbaar Mg	+	+
Al/Ca-ratio	-	
P-beschikbaarheid	-OlsenP	-PO4
N-beschikbaarheid		
Sporenelementen		+Co, +Fe, +Mn, +Hg, +Cd
P-vastlegging		-
Bladchemie	Eifelgold	Soilfeed
Basische kationen Zomereik	+Ca, +K, +Mg	+Ca, +K, +Mg
Basische kationen Blauwe bosbes	-Ca	-Ca, -Mg
P Zomereik	+	
P Blauwe bosbes		
N/basische kationen-ratio's Zomereik	-N/Ca, -N/K, -N/Mg	-N/Ca, -N/K, -N/Mg
N/P-ratio Zomereik	-N/P	
N/basische kationen-ratio's Blauwe bosbes		+N/Mg
Sporenelementen Zomereik	-Fe, -Pb	-B, +Mn, -Hg, -Pb
Sporenelementen Blauwe bosbes	-Mn, -Zn	-B
Stikstofhuishouding	Eifelgold	Soilfeed
Mineralisatie		
Nitrificatie	+	+
Nitraatuitspoeling	(+)	
Bacteriën en schimmels	Eifelgold	Soilfeed
Abundantie bacteriën en schimmels		
Verschuiving samenstelling schimmel- en bacteriegemeenschap		
Aandeel ectomycorrhiza-schimmels	(+)	(+)
Aandeel nitrificerende bacteriën en archaea		
Bodemmesofauna	Eifelgold	Soilfeed
Samenstelling en soortenrijkdom microarthropoden		
Aandeel herbivore grazers		+
Aandeel schimmel-etende browsers	+	
Aandeel predatoren		+
Macrofauna	Eifelgold	Soilfeed
Activiteitsdichtheid miljoenpoten (detritivoren)		+
Soortenrijkdom miljoenpoten		
Activiteitsdichtheid en soortenrijkdom loopkevers	+	+
Samenstelling loopkevergemeenschap		
Activiteitsdichtheid en soortenrijkdom spinnen		
Samenstelling spinnengemeenschap		
Dichtheid en soortenrijkdom rupsen		
Samenstelling rupsengemeenschap		
Grote herbivoren	Eifelgold	Soilfeed
Frequentie van bezoek en foerageren		
Ontwikkeling vegetatie	Eifelgold	Soilfeed
Ontwikkeling moslaag		
Bedekking grassen	(+)	(+)
Aandeel kenmerkende bossoorten		
Ontwikkeling paddenstoelen	Eifelgold	Soilfeed
Abundantie paddenstoelen	+	+
Aandeel grote strooiselafbrekers	+	+
Aandeel ectomycorrhiza-schimmels		

+	Toename		Ongewenst effect, maar klein	()	Net geen significant effect
-	Afname		Ongewenst effect, groot		
	Gewenst effect, maar klein		Onbekend of effect gewenst is of niet		
	Gewenst effect, duidelijke verbetering		Geen effect		

9.4.2 Is toedienen van steenmeel een bruikbare maatregel voor herstel van habitatype Oude Eikenbossen?

Op basis van de resultaten van de verschillende onderzoeksporen kan steenmeel op dit moment worden beschouwd als een matig effectieve, relatief laag-risico maatregel om de verzuring van Oude Eikenbossen te verminderen, zij het dat deze conclusie gebaseerd is op een voor bossen én voor silicaatsteenmeel kortdurende onderzoeksperiode. De toediening van steenmeel leidt tot consistente verbeteringen in de bodem- en bladchemie, en daarnaast wijzen (subtiele) veranderingen in onderdelen van het microbiom (waaronder paddenstoelen) en zowel meso- als macrofauna, op een eerste herstelreactie binnen het (bodem)voedselweb. Volledig ecologisch herstel binnen vijf jaar is echter niet haalbaar, er zijn langere tijdschalen van ten minste tien tot twintig jaar nodig om verdere effecten zichtbaar te maken. Tegelijkertijd moet worden onderkend dat steenmeel vooral de verzuringscomponent adresseert: het beperkt N-eutrofiëring slechts in geringe mate, doordat nitraatuitspoeling iets toeneemt. Desondanks is de algemene richting van verandering overwegend positief en sluit deze aan bij de trage maar gestage herstelverwachting van boscosecosystemen. Echter, zonder een substantiële daling van de stikstofdepositie blijft elke vorm van steenmeeltoediening in essentie een tijdelijke mitigatie van de symptomen van verzuring, terwijl de structurele oorzaak van de ecologische achteruitgang onverminderd blijft doorwerken.

9.4.3 Treden er negatieve bijeffecten op en zo ja, welke zijn dit, en zijn deze te voorkomen?

De toediening van steenmeel heeft enkele potentiële negatieve bijeffecten, hoewel deze over het algemeen en gezien de huidige ecologische toestand beperkt zijn:

- In de FH-laag werd een lichte stijging van beschikbaar Al waargenomen bij de Soilfeed-toediening maar deze bleef ruim onder kritische toxiciteitsgrenzen.
- Toediening van Soilfeed leidde daarnaast tot een vermindering van de fosfaatbeschikbaarheid in de bodem, onder meer door een toename van P-vastlegging door Al/Fe en Ca in de FH-laag. Dit resulteerde echter niet in lagere P-gehalten in het blad van Zomereik, waardoor dit voor de bomen en voor herbivore fauna waarschijnlijk geen relevant ecologisch risico vormt. Voor delen van het bodemvoedselweb kan dit echter anders liggen: in systemen die al P-gelimiteerd zijn, kan verdere vastlegging van P in de FH-laag de P-beschikbaarheid voor bijvoorbeeld mesofauna extra beperken. Tegelijkertijd is het belangrijk op te merken dat veel van deze bossen juist structureel te hoge P-beschikbaarheid kennen (o.a. hoge Olsen-P en P-NaCl), wat de diversiteit van vaatplanten, mossen en paddenstoelen drukt. In die context kan een afname van P-beschikbaarheid voor de (myco-)flora juist gunstig zijn en bijdragen aan herstel van nutriëntenarme condities. Het uitblijven van een respons bij schimmelende mesofauna onder Soilfeed, en het voorzichtige herstel onder Eifelgold (dat een extra P-aandeel bevat), past mogelijk in dit spanningsveld, maar effecten zijn klein en vervolgstudies zijn nodig om deze dynamiek beter te kwantificeren.
- Ook leidde toediening van Soilfeed tot een beperkte verhoging van de sporenelementen koper, ijzer, mangaan, arseen en cadmium in de minerale bodem, zonder overschrijding van toxische grenswaarden.
- Steenmeeltoediening verhoogde de nitrificatie, wat leidde tot verhoogde uitspoeling van nitraat en basische kationen. Hoewel nitraatuitspoeling een potentieel risico vormt voor de grondwaterkwaliteit, kan het in deze stikstofverzadigde boscosecosystemen tegelijk bijdragen aan het afvoeren van overtollige stikstof. De daarmee samenhangende verliezen aan basische kationen benadrukken echter dat een structurele verlaging van de stikstofdepositie essentieel blijft. Herstelmaatregelen zoals steenmeeltoediening kunnen in deze stikstofverzadigde bossen slechts beperkt effectief zijn.
- Door het vrijkomen van voedingsstoffen uit verhoogde afbraak en nitrificatie, en door een vermindering van de verzuring, nemen de groeimogelijkheden van eutrafente planten- en

paddenstoelsoorten van niet sterk zure condities toe. Hierdoor nemen soorten als Bezemkruiskruid, Vingerhoedskruid, Vogelmuur, Gewoon struisgras, Zwartwordende stuifzwam en Parelstuifzwam toe. Dit effect kan moeilijk worden vermeden; bestrijding van extreme verzuring en weer op gang brengen van de strooiselafbraak leidt onvermijdelijk tot een inhaalslag in het vrijkomen van opgehoopt stikstof.

- Onder macrofauna werd bij miljoenpoten een dosisafhankelijke verhoogde mortaliteit bij langdurige blootstelling aan Eifelgold en een niet dosis-afhankelijke mortaliteit bij Soilfeed vastgesteld in een aanvullend langlopend blootstellingsexperiment. Dit kan een risico vormen in minder zure of minder sterk verzuurde bossen waar miljoenpoten nog in hogere dichtheden voorkomen. In de onderzochte bostypen was dit echter niet relevant en is zuurstress de dominante factor die een algeheel lage miljoenpoot dichtheid veroorzaakt.

Op basis van vijf jaar onderzoek kan worden geconcludeerd dat de gevonden negatieve bijeffecten van steenmeeltoediening gering zijn, onder kritische drempels blijven, en naar verwachting slechts een beperkt ecologisch risico vormen, zoals vastgesteld voor de onderzochte steenmeeltypen (Eifelgold en Soilfeed) en de onderzochte dosering van 10 ton/ha. Voor andere typen of doseringen kunnen de effecten afwijken.

9.4.4 Hoe kan steenmeel met optimaal effect worden toegediend, en met minimale risico's op bijwerkingen? Kan hiervoor een richtlijn worden opgesteld?

In deze paragraaf geven we enkele richtlijnen of vuistregels voor toediening van steenmeel in het habitatype Oude Eikenbossen, gebaseerd op de bevindingen uit dit onderzoek. Dit stuk is echter geen volledig afwegingskader of monitoringsadvies. Momenteel wordt er vanuit het OBN-netwerk gewerkt aan een bredere richtlijn voor bufferstofftoediening in het droog zandlandschap, waarin de gegevens uit deze studie gebruikt gaan worden. Om de positieve effecten van steenmeeltoediening te maximaliseren en de (beperkte) risico's verder te minimaliseren, wordt het volgende geadviseerd:

Dosering en toepassing

- Hanteer voorlopig de onderzochte dosering van 10 ton/ha met éénmalige toediening voor de twee in dit onderzoek geteste producten: Eifelgold en Soilfeed. Deze dosering heeft in dit experiment geleid tot een duidelijke verbetering van de bodem- en bladchemie, zonder dat er significante negatieve ecologische effecten zijn vastgesteld
- Voor lagere of hogere doseringen is nog onvoldoende bekend: hogere doseringen zouden mogelijk sterkere positieve effecten kunnen geven, maar de bijbehorende risico's en bijeffecten zijn nog onzeker.

Documentatie en monitoring

- Leg goed vast welke maatregelen er zijn uitgevoerd (wat, hoe, hoeveel, wanneer, waar...) zodat vervolgmonitoring uitgevoerd kan worden als dat wenselijk is.
- Een langdurige monitoring over een periode van 10-20 jaar wordt aanbevolen, zodat subtiele en langzaam optredende effecten – zowel gewenste als mogelijk ongewenste – tijdig kunnen worden gedetecteerd.
- Herhaalde toediening kan overwogen worden nadat effecten over 10-20 jaar gemonitord zijn; dat kan ook in vergelijkbare langjarige experimenten elders (zoals de OBN-studie in Oude Eikenbossen) die waardevolle lange termijn informatie bieden. Belangrijk blijft dat herhaald ingrijpen altijd gebaseerd wordt op voldoende inzicht in de lange termijn dynamiek, hetzij uit dit experiment, hetzij uit andere experimenten.

Keuze van het type steenmeel

- Kies het type steenmeel passend bij de lokale omstandigheden. De keuze voor een passend steenmeelproduct hangt niet alleen af van de gewenste nutriëntenbalans en actuele bodemcondities, maar ook van de maalfractie, omdat die bepalend is voor de snelheid waarmee mineralen vrijkomen.
- De mineralogische en chemische samenstelling bepaalt deels of een product geschikt is voor een specifieke bodem (Tabel 9.2; Tabel 9.3). Zo bevat Eifelgold relatief meer Mg en P dan Soilfeed, wat Eifelgold geschikter maakt voor bodems en bomen die last hebben van Mg- en/of P-tekorten. Soilfeed is daarentegen mogelijk veiliger in te zetten in bossen met gevoelige detritivore macrofauna (zoals miljoenpoten), maar ook hier kleven risico's aan. Dit risico is overigens nagenoeg nihil onder condities waar de zuurgraad van de bodem het belangrijkste knelpunt vormt (zoals in deze en andere studies het geval was). Wel verdient het aanbeveling om bij toepassing van Soilfeed alert te blijven op de mogelijke opbouw van bepaalde sporenelementen (met name Cd), die in specifieke gevallen richting kritische waarden kunnen bewegen.
- De maalfractie speelt daarnaast een rol: een fijner gemalen steenmeel verweert sneller, omdat vooral de fijne fracties aantoonbaar bijdragen aan de verweringsnelheid van bodemmineralen. Uit recent onderzoek naar mineralendepletie blijkt dat juist deze fijne fractie essentieel is voor effectieve verwerking (Sevink & Mert 2024). Een fijnere maalfractie kent echter ook keerzijden. Ze kan bijvoorbeeld gemakkelijker verwaaien, zeker wanneer steenmeel op grote schaal wordt uitgestrooid met helikopters of machines die het product in het terrein 'blazen'. Dat vergroot verlies voordat het product de bodem bereikt, en kan bovendien leiden tot ongewenste depositie in omliggende habitats. Daarom is het zinvol te onderzoeken of toediening in korrelvorm een alternatief kan zijn om dat verwaaiingseffect te beperken. Daarnaast verschilt per product de structuurvorm van de mineralen; zo laat dit onderzoek zien dat de structuur van Eifelgold potentieel schadelijker kan zijn voor bepaalde bodemdieren. Ook dat aspect verdient aandacht bij de keuze voor een geschikt steenmeelproduct.

Tabel 9.2 Chemische samenstelling van de gebruikte steenmeelproducten Eifelgold en Soilfeed. Totaal elementenconcentraties zijn verkregen met een HNO_3 -destructie wat mogelijk een onderschatting geeft, aangezien de zeer moeilijk verweerbare minerale fractie niet wordt mee gemeten. ZNV = Zuur Neutraliserend Vermogen en maalfractie geeft de korrelgrootte weer.

	Eifelgold	Soilfeed
Al (mmol/kg)	1432	1303
Ca (mmol/kg)	358	260
Fe (mmol/kg)	263	212
K (mmol/kg)	632	256
Mg (mmol/kg)	756	135
Na (mmol/kg)	651	900
P (mmol/kg)	64	19
Si (mmol/kg)	89	94
ZNV (meq/kg)	3512	1946
Maalfractie	<90 μm (fijn)	Mix van grof en fijn (micronwaarde onbekend)

Tabel 9.3 Mineralogische samenstelling van de gebruikte steenmeelproducten Eifelgold en Soilfeed. Naar Van der Bauwhede (2025).

Mineraal	Minerale groep	Belangrijkste vrijgekomen nutriënten	Verweringsnelheid	Eifelgold	Soilfeed
Nephelien	Veldspatoïde	K, Na, Al, Si	Zeer snel	8%	20%
Leuciet	Veldspatoïde	K, Al, Si	Snel	10%	
Anorthiet	Veldspaat (Plagioklaas)	Ca, Al, Si	Matig-snel		5%
Diopsiet	Pyroxeen	Ca, Mg, Si	Matig-snel	52%	13%
Hornblende	Amfibool	Ca, Mg, Fe, Si, Al	Matig		18%
Biotiet	Mica	K, Mg, Fe, Al, Si	Matig	7%	12%
K-veldspaat	Veldspaat	K, Al, Si	Langzaam	12%	27%
Albiet	Veldspaat	Na, Al, Si	Langzaam	5%	5%

Ecologische waarden en risicovermindering

- Breng relictpopulaties in beeld van zowel soorten kenmerkend voor zeer zure condities als voor beter gebufferde omstandigheden. Op deze locaties is maatwerk nodig.
- Om het risico op eventueel ongewenste effecten te verkleinen kan overwogen worden om delen van terreinen niet te behandelen.
- Wees voorzichtig met steenmeeltoediening in of nabij hydrologisch gevoelige systemen zoals vennen, kwelafhankelijke bronbossen, (schijn)grondwatergevoede vegetaties en andere locaties die deel uitmaken van een inziggebied van lokale grondwatersystemen. Steenmeeltoediening kan de nitrificatie versterken, wat (tijdelijk) leidt tot verhoogde nitraatuitspoeling. Dit kan de waterkwaliteit van vennen en kwelsystemen negatief beïnvloeden. Overweeg in deze zones een lagere of gefaseerde dosering. Ook hiervoor geldt echter dat de druk op deze systemen als gevolg van doorgaande stikstofdepositie (veel) groter is dan de relatief kleine toename in nitraatuitspoeling als gevolg van steenmeeltoediening.
- Houd rekening met hoge dichtheden van wilde zwijnen. Omwoeling door zwijnen kan de inwerking van steenmeel versnellen, waardoor effecten eerder zichtbaar worden, maar kan lokaal ook tot meer storingssoorten in de vegetatie leiden.
- Vermijd evenwel toediening in bostypen waar de zuurgraad nog (relatief) op orde is, want daar is het risico op schade reëel. Dergelijke locaties zijn vaak juist plekken waar ook andere mogelijke relictpopulaties van bodemmeso- en macrofaunagroepen, en paddenstoelen, nog aanwezig zijn en ook dat is een reden om deze plekken met extra voorzichtigheid te benaderen. Geadviseerd wordt om in die situaties te streven naar verbetering van standplaatscondities in al wel ernstig verzuurde bosstandplaatsen rondom deze relictsituaties, maar om deze relicten zelf vooralsnog niet met steenmeel te behandelen.

9.5 Kennislacunes

Op basis van dit onderzoek blijven de volgende vragen open of zijn ze nieuw gerezen:

Hoe ontwikkelen de effecten van steenmeeltoediening zich op de (middel)lange termijn? Leidt steenmeel op langere termijn tot volledige abiotisch herstel en tot een duidelijke verbetering van de kwaliteit van het habitatype wat betreft vegetatie, paddenstoelen en onder- en bovengrondse fauna?

- Hiervoor is voortzetting van de monitoring over een langere periode (met een lagere meetfrequentie dan in de eerste jaren) nodig. Ook kunnen de resultaten van al wat lager lopend OBN onderzoek in eikenbossen op de Veluwe en het Mastbos hierbij worden betrokken.

Hoe lang blijft de werking van steenmeel aanhouden en hoe is deze afhankelijk van eventuele daling in de N-depositie in de toekomst?

- Hiervoor is voortzetting van de monitoring over een langere periode nodig in combinatie met beschikbare verweringsstudies en gegevens van o.a. KU Leuven, VU en Wageningen Universiteit, die aan soortgelijke projecten werken.

Hoe beïnvloedt steenmeel op langere termijn de nitrificatie en nitraatuitspoeling?

- Herhaling van de huidige N-mineralisatie en uitspoelingsmetingen over meerdere opeenvolgende jaren, bij voorkeur onder verschillende weersomstandigheden, is nodig om deze vraag beter te kunnen beantwoorden.

Waarom worden in sommige bossen sterke (a)biotische effecten van steenmeeltoediening waargenomen, terwijl andere bossen nauwelijks reageren? Zijn sommige bossen al te sterk gedegradeerd waardoor herstel (te) traag verloopt of zijn er aanvullende interventies noodzakelijk?

- Hiervoor is een integrale vergelijking nodig van boslocaties met een sterke en zwakke respons, waarbij zowel bodemchemie, historische belasting, standplaatskenmerken als de structuur en functionaliteit van het bodemvoedselweb worden meegenomen. Langdurige monitoring is noodzakelijk om te bepalen welke factoren herstel belemmeren.

In welke mate leidt steenmeeltoediening tot cumulatieve fosfaatvastlegging en hoe beïnvloedt dit op termijn de P-beschikbaarheid en functionele activiteit van schimmels en (schimmeletende) bodemmesofauna?

- Hiervoor is langdurige monitoring van bodemchemie, schimmelgemeenschappen en bodemmesofauna nodig, aangevuld met periodieke metingen van P-beschikbaarheid en P-fractionering in de bodem.

Wat is de optimale dosering en bestaan er duidelijke dosis-effectrelaties?

- Hiervoor zijn nieuwe experimenten met meerdere doseringen (bijv. 10, 20, 40 ton/ha) en of doseringsmomenten (1, 2 of 4 maal toedienen van 10 ton/ha met tussenposen van meerdere jaren) nodig, inclusief langjarige monitoring.

In hoeverre zijn de resultaten van Oude Eikenbossen vertaalbaar naar andere bostypen, zoals Beuken-eikenbossen met hulst (H9120)?

- Gezien de vaak betere bufferstatus van H9120 is het onduidelijk of vergelijkbare effecten verwacht mogen worden – er zijn wel aanwijzingen dat er grotere risico's aan steenmeeltoediening kleven. Expliciete proeven in dit habitattypen zijn nodig om te bepalen of, en onder welke voorwaarden, steenmeeltoepassing daar effectief en ecologisch verantwoord is. Deze proef in Oude Eikenbossen kan wel dienen als voorbeeld voor een groot deel van de bossen op de droge zandgronden die niet onder een specifiek habitattypen vallen, zoals de grote oppervlakten grove den die steeds meer gemengd raken met loofboomsoorten.

Leidt de combinatie van steenmeeltoediening met een kalkproduct tot sneller en/of sterker herstel dan enkel steenmeel?

- Hiervoor lopen er combinatieproeven in het veld (bijv. in de Ginkel en in terreinen van Bosgroep Zuid Nederland) die opgevolgd worden.

Leidt de combinatie van steenmeeltoediening met een stikstof verwijderingsmaatregel (zoals gedeeltelijke verwijdering van het verzuurde strooiselpakket) tot vermindering van het vermestende effect van langdurige stikstofaccumulatie, en leidt deze combinatiemaatregel tot sneller en/of sterker herstel dan enkel steenmeel?

- Hiervoor zijn nieuwe experimenten met deze combinatiemaatregel nodig, inclusief langjarige monitoring. Hiervoor is recent een experiment gestart in het kader van het OBN-netwerk.

De belangrijkste kennislacunes betreffen de duur en stabiliteit van de steenmeeffecten, de dosis-effectrelaties, de effecten op stikstofprocessen als nitrificatie en uitspoeling, en de generaliseerbaarheid naar andere habitattypen. Deze vragen kunnen vooral worden beantwoord door langere termijn monitoring van bestaande proeven en gericht nieuw onderzoek, vooral in habitattypen waarvoor nu nog geen gegevens beschikbaar zijn.

De inrichting, schaal en opzet van het steenmeeexperiment in Oude Eikenbossen op de Veluwe is uniek, zelfs in Europees verband: met zijn grote proefvlakken (0,5 ha), hoogwaardige nulmetingen, consistente replicatie en vijfjarige monitoring vormt het een uitzonderlijk waardevolle proef waarop blijvende opvolging essentieel is om zowel directe als zich geleidelijk manifesterende trends (ook in de controles) goed te kunnen blijven duiden. Ook is dit een unieke proef doordat er naar heel veel verschillende trofische niveaus wordt gekeken, waarbij interacties tussen verschillende factoren worden verkend (bijvoorbeeld abiotiek met bodemmesofauna, het bodemmicrobioom en bovengrondse vruchtlichamen) en actief wordt gezocht naar verklarende processen die onderzoeksdisciplines overstijgen.

10 Literatuur

- Aarnio T, Rätty M, Martikainen PJ (2003) Long-term availability of nutrients in forest soil derived from fast- and slow-release fertilizers. *Plant Soil* 252:227–239
- Aber J, McDowell W, Nadelhoffer K, Magill A, Berntson G, Kamakea M, McNulty S, Currie W, Rustad L, Fernandez I (1998) Nitrogen saturation in temperate forest ecosystems. *Bioscience* 48:921–934
- Aerts R (1997) Climate, leaf litter chemistry and leaf litter decomposition in terrestrial ecosystems: a triangular relationship. *Oikos* 79:439–449
- Akroume E, Maillard F, Bach C, Hossann C, Brechet C, Angeli N, Zeller B, Saint-André L, Buée M (2019) First evidences that the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* mobilizes nitrogen and carbon from saprotrophic fungus necromass. *Environ Microbiol* 1:197–208
- Arnolds E, Van de Berg A (2013) Beknopte Standaardlijst van Nederlandse Paddenstoelen
- Bates D, Maechler M, Bolker BM, Walker SC (2015) Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *J Stat Softw* 67:1–48
- Battles JJ, Fahey TJ, Driscoll CT, Blum JD, Johnson CE (2014) Restoring Soil Calcium Reverses Forest Decline. *Environ Sci Technol Lett* 1:15–19
- Bergmann W (1992) *Nutritional Disorders of Plants: Development, Visual and Analytical Diagnosis*. Gustav Fischer Verlag, Jena
- Blaser P, Walthert L, Zimmermann S, Pannatier E, Luster J (2008) Classification schemes for the acidity, base saturation, and acidification status of forest soils in Switzerland. *J Plant Nutr Soil Sci* 171:163–170
- Bloem J, van den Berg L, Verbaarschot E, Dimmers W, Polling M, de Groot A, Laros I, de Jong A, Nyssen B, Bobbink R, Weijters M (2022) Verbetering strooiselafbraak. Rapport nummer OBN-2017-103-DZ, Kennisnetwerk OBN, Driebergen
- Bloem J, Verbaarschot E, de Jong A, van Duinen G-J, van den Burg A, van Delft B, de Vries W, Weijters M (2024) Loofboshherstel en steenmeel, tweede tussenrapport. Rapport nummer OBN-2020-115-DZ, Kennisnetwerk OBN, Driebergen
- Blum JD, Klaue A, Nezat CA, Driscoll CT, Johnson CE, Siccama TG, Eagar C, Fahey TJ, Likens GE (2002) Mycorrhizal weathering of apatite as an important calcium source in base-poor forest ecosystems. *Nature* 417:729–731
- Blume H-P, Brümmer GW, Fleige H, Horn R, Kandeler E, Kögel-Knabner I, Kretzschmar R, Stahr K, Wilke B-M (2016) *Scheffer/Schachtschabel Soil Science*. Berlin, Heidelberg: Springer
- Bobbink R, Siepel H, Weijters MJ (2019) Herstel van Oude eikenbossen: kennishiaten, onderzoek en verkenning van maatregelen. Rapportnummer RP-18.082.19.25, Onderzoekcentrum B-WARE, Nijmegen
- Bobbink R, van den Burg A, Brouwer E, van de Riet B, Siepel H (2018) Langetermijneffecten van bosbekalking en – bemesting: de Harderwijkerproef. Monitoring OBN-17-DZ, VBNE, Driebergen
- Bommaré T, Cools N, De Vos B (2021) Heavy metals in forest floors and topsoils of ICP Forests Level I plots. Forest Soil Coordinating Centre of ICP Forests. Report of the Research Institute for Nature and Forest 2021 (5). Research Institute for Nature and Forests, Brussels
- Boudot JP, Becquer T, Merlet D, Rouiller J (1994) Aluminium toxicity in declining forests: a general overview with a seasonal assessment in a silver fir forest in the Vosges mountains (France). *Ann For Sci* 51:27–51. <https://doi.org/10.1051/forest:19940103>
- Brantley SL, White AF (2009) Approaches to modeling weathering rates of silicate minerals. *Rev Mineral*

- Brouwer E, Bobbink R, Lucassen E, Weijters M (2022) Steenmeel op bos en heide; reactie van paddenstoelen. *Levende Nat* 123:222–227
- Bruggink J, Petersdorf M-C, Verberk WCEP, Siepel H (2025) Soil age and soil phosphate content shape microarthropod communities of Dutch forest ecosystems. *Appl Soil Ecol* 207:105918. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2025.105918>
- Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP (2016) DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods* 13:581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-Lyons D, Lozupone CA, Turnbaugh PJ, Fierer N, Knight R (2011) Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proc Natl Acad Sci* 108:4516–4522
- Claessens J, van Gils D, Brussée TJ, van Duijnen R, Oosterwoud M, Vrijhoef A, Plette ACC, Kotte MC, Rozemeijer JC, Ouwekerk K, Gosseling M, Roskam JL, Taconis F (2024) Landbouwpraktijk en waterkwaliteit in Nederland; toestand (2020–2023) en trend (1992–2023). RIVM-rapport 2024-0113, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Bilthoven, Nederland
- Courty P-E, Bréda N, Garbaye J (2007) Relation between oak tree phenology and the secretion of organic matter degrading enzymes by *Lactarius quietus* ectomycorrhizas before and during bud break. *Soil Biol Biochem* 39:1655–1663
- Cronan CS, Grigal DF (1995) Use of Calcium/Aluminum Ratios as Indicators of Stress in Forest Ecosystems. *J Environ Qual* 24:209–226
- Currie WS, Aber JD, Driscoll CT (1999) Leaching of nutrient cations from the forest floor: effects of nitrogen saturation in two long-term manipulations. *Can J For Res* 29:609–620. <https://doi.org/10.1139/x99-033>
- de Jong JJ, Bloem J, van Delft SPJ, Hommel PWF, Oosterbaan A, de Waal RW (2015) Ecologie van bosbodems; Een verkennende studie naar ecologisch functioneren van bosbodems op zandgronden. Alterra-rapport 2657. 90, Alterra Wageningen University & Research, Wageningen
- de Vries W, Weijters MJ, de Jong JJ, van Delft SPJ, Bloem J, van den Burg A, van Duinen GA, Verbaarschot E, Bobbink R (2019) Verzuring van loofbossen op droge zandgronden en herstel mogelijkheden door steenmeeltoediening. Rapport OBN229-DZ, VBNE, Driebergen
- de Wit HA, Eldhuset TD, Mulder J (2010) Dissolved Al reduces mg uptake in Norway spruce forest: results from a long-term field manipulation experiment in Norway. *For Ecol Manage* 259:2072–2082
- Desie E, Van Meerbeek K, De Wandeler H, Bruelheide H, Domisch T, Jaroszewicz B, Joly FX, Vancampenhout K, Vesterdal L, Muys B (2020) Positive feedback loop between earthworms, humus form and soil pH reinforces earthworm abundance in European forests. *Funct Ecol* 34:2598–2610. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13668>
- Diekmann M, Brunet J, Rühling Å, Falkengren-Grerup U (1999) Effects of Nitrogen Deposition: Results of a Temporal-Spatial Analysis of Deciduous Forests in South Sweden. *Plant Biol* 1:471–481
- Dise NB, Matzner E, Gundersen P (1998) Synthesis of nitrogen pools and fluxes from European forest ecosystems. *Water Air Soil Pollut* 105:143–154
- Dise NB, Wright RF (1995) Nitrogen leaching from European forests in relation to nitrogen deposition. *For Ecol Manage* 71:153–161
- Ellis W, Groenendijk D, Groenendijk MM, Huigens ME, Jansen MGM, van der Meulen J, van Nieuwerkerken E, de Vos R (2013) Nachtvliners belicht: dynamisch, belangrijk, bedreigd. De Vlinderstichting en Werkgroep Vlinderfaunistiek, Wageningen, Leiden

- Everaarts-Poll M (1994) *Ecologie de la forêt*. Edition: Centre technique de l'Enseignement de la Communauté française, Frameries.
- Fisher KA, Yarwood SA, James BR (2017) Soil urease activity and bacterial ureC gene copy numbers: Effect of pH. *Geoderma* 285:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2016.09.012>
- Golterman HL (1996) Fractionation of Sediment Phosphate with Chelating Compounds: A Simplification, and Comparison with Other Methods. *Hydrobiologia* 335:87–95
- Graveland J (1998) Effects of acid rain on bird populations. *Environ Rev* 6:41–54
- Graveland J, Drent RH (1997) Calcium availability limits breeding success of passerines on poor soils. *J Anim Ecol* 66:279–288
- Graveland J, van der Wal R (1996) Decline in snail abundance due to soil acidification causes eggshell defects in forest passerines. *Oecologia* 105:351–360
- Graveland J, Vangijzen T (1994) Arthropods and seeds are not sufficient as calcium sources for shell formation and skeletal growth in passerines. *Ardea* 82:299–314
- Gundersen P, Callesen I, de Vries W (1998) Nitrate leaching in forest ecosystems is related to forest floor CN ratios. *Environ Pollut* 102:403–407. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(98\)80060-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0269-7491(98)80060-2)
- Gundersen P, Schmidt IK, Raulund-Rasmussen K (2006) Leaching of nitrate from temperate forests □ effects of air pollution and forest management. *Environ Rev* 14:1–57. <https://doi.org/10.1139/a05-015>
- Hagen-Thorn A, Stjernquist I (2005) Micronutrient levels in some temperate European tree species: a comparative field study. *Trees* 19:572–579
- Hartmann R, Keplin B (2003) Nutrition and Early Growth of *Pinus sylvestris* L. on Extensively Meliorated Sandy Mine Spoil Soils. *Forstwissenschaftliches Cent* 122:205–218
- Haynes RJ (1982) Effects of liming on phosphate availability in acid soils - A critical review. *Plant Soil* 68:289–308
- Heurman MJM, Weijters MJ, Harmsen S, Siepel H, Sitters J, Vogels JJ, Jansen PA (2026) Ungulate responses to the addition of silicate rock powder in acidified oak (*Quercus robur*) forests at the Veluwe, the Netherlands. *Restor Ecol* 34:e70321. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/rec.70321>
- Hill M., Mountford JO, Roy DB, Bunce RG. (1999) Ellenberg's indicator values for British plants. ECOFACT Volume 2 Technical Annex. Huntingdon, Institute of Terrestrial Ecology, 46pp. (ECOFACT, 2a)
- Hodson ME (2006) Does reactive surface area depend on grain size? Results from pH dissolution of diopside powders. *Geochim Cosmochim Acta* 70:1655–1667
- Jansen E (1981) The vegetation and macrofungi of acid oak woods in the Northeast Netherlands. Proefschrift Landbouwhogeschool Wageningen
- Kandeler E, Deiglmayr K, Tscherko D, Bru D, Philippot L (2006) Abundance of narG, nirS, nirK, and nosZ genes of denitrifying bacteria during primary successions of a glacier foreland. *Appl Environ Microbiol* 72:5957–5962. <https://doi.org/10.1128/AEM.00439-06>
- Kebert M, Kosti S, Stojni S, Capelja E, Gavranovic Markic, A. Zoric M, Kesic L, Flors V (2023) A Fine-Tuning of the Plant Hormones, polyamines and osmolytes by ectomycorrhizal fungi enhances drought tolerance in pedunculate oak. *Int J Mol Sci* 24:1–21
- Koňasová T, Kuneš I, Baláš M, Millerová K, Balcar V, Špulák O, Drury M (2012) Influence of limestone and amphibolite application on growth of Norway spruce plantation under harsh mountain conditions. *J For Sci* 58:492–502
- Ladekarl UL, Rasmussen KR, Christensen S, Jensen KH, Hansen B (2015) Groundwater recharge and

- evapotranspiration for two natural ecosystems covered with oak and heather. *J Hydrol* 300:76–99
- Lamé FPJ, Brus DJ, Nieuwenhuis R. (2004) Achtergrondwaarden 2000 Hoofdrapport AW2000 fase 1. TNO-rapport, NITG 04-242-A
- Lenth R, Piaskowski J (2025) emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R package version 2.0.0, <https://rvlenth.github.io/emmeans/>
- Lilleskov EA, Kuyper TW, Bidartondo ML, Hobbie EA (2019) Atmospheric nitrogen deposition impacts on the structure and function of forest mycorrhizal communities: A review. *Environ Pollut* 246:148–162
- Lucas Y (2001) The role of plants in controlling rates and products of weathering: importance of biological pumping. *Annu Rev Earth Planet Sci* 29:135–163
- Lucassen ECHET, van den Berg LJJ, Smolders AJP, Aben RCH, Roelofs JGM, Bobbink R (2014) Bodemverzuring en achteruitgang zomereik. *Landschap* 4:185–193
- MacDonald JA, Dise NB, Matzner E, Armbruster M, Gundersen P, Forsius M (2002) Nitrogen input together with ecosystem nitrogen enrichment predict nitrate leaching from European forests. *Glob Chang Biol* 8:1028–1033
- Mahony N, Nol E, Hutchinson T (1997) Food-chain chemistry, reproductive success, and foraging behaviour of songbirds in acidified maple forests of central Ontario. *Can J Zool* 75:509–517
- Marschner H (2012) Mineral Nutrition of Higher Plants (3rd ed.). Academic Press, London
- Mellert KH, Göttlein A (2012) Comparison of new foliar nutrient thresholds derived from van den Burg's literature compilation with established central European references. *Eur J For Res* 131:1461–1472
- Moilanen M, Pietiläinen P, Issakainen J (2005) Long-term effects of apatite and biotite on the nutrient status and stand growth of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) on drained peatlands. *Suo* 56:115–128
- Mol-Dijkstra J, Reinds GJ (2017) Technical documentation of the soil model VSD+: Status A (2352-2739)
- Monteux S, Keuper F, Fontaine S, Gavazov K, Hallin S, Juhanson J, Krab EJ, Revaillet S, Verbruggen E, Weedon JT, Dorrepaal. E (2020) Carbon and nitrogen cycling in Yedoma permafrost controlled by microbial functional limitations. *Nat Geosci* in press
- Naef-Daenzer L, Naef-Daenzer B, Nager RG (2000) Prey selection and foraging performance of breeding Great Tits *Parus major* in relation to food availability. *J Avian Biol* 31:206–214
- Nierhaus KH (2014) Mg²⁺, K⁺, and the ribosome. *J Bacteriol* 196:3817–3819
- Oksanen J, Blanchet FG, Kindt R, Legendre P, Minchin PR, O'Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Henry M, Stevens H, Wagner H (2013) Vegan: Community Ecology Package. R package version 2.0-10
- Ozinga WA, Arnolds E, Keizer PJ, Kuyper TW (2013) Paddenstoelen in het natuurbeheer. OBN Preadvies paddenstoelen Deel 2
- Petersdorf M-C, Bruggink J, de Nijs E., Siepel H (2024) Reproductive Response of *Platynothrus peltifer* (C.L. Koch, 1839) to Continuous Nitrogen Deposition. *Diversity* 16:340
- Petersdorf M-C, Bruggink J, Weijters MJ, Janssen WLP, Verberk WCEP, Siepel H (2026) Decomposition constraints in acidified oak forests impacted by N deposition: a litterbag study on microarthropods. *Appl Soil Ecol* 218:106734. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2025.106734>
- Piña RG, Cervantes C (1996) Microbial interactions with aluminium. *Biometals* 9:311–316
- Pölme S, Abarenkov K, Henrik Nilsson R, Lindahl BD, Clemmensen KE, Kauserud H, Nguyen N, Kjølner R, Bates ST, Baldrian P, Frøslev TG, Adojaan K, Vizzini A, Suija A, Pfister D, Baral HO, Järv H, Madrid H, Nordén J, Liu JK, Pawlowska J, Pöldmaa K, Pärtel K, Runnel K, Hansen K, Larsson KH, Hyde KD, Sandoval-Denis M, Smith ME, Toome-Heller M, Wijayawardene NN, Menolli N, Reynolds NK, Drenkhan R, Maharachchikumbura SSN, Gibertoni TB, Læssøe T, Davis W, Tokarev Y, Corrales A,

Soares AM, Agan A, Machado AR, Argüelles-Moyao A, Detheridge A, de Meiras-Ottoni A, Verbeken A, Dutta AK, Cui BK, Pradeep CK, Marín C, Stanton D, Gohar D, Wanasinghe DN, Otsing E, Aslani F, Griffith GW, Lumbsch TH, Grossart HP, Masigol H, Timling I, Hiiesalu I, Oja J, Kupagme JY, Geml J, Alvarez-Manjarrez J, Ilves K, Loit K, Adamson K, Nara K, Küngas K, Rojas-Jimenez K, Biteniēks K, Irinyi L, Nagy LL, Soonvald L, Zhou LW, Wagner L, Aime MC, Öpik M, Mujica MI, Metsoja M, Ryberg M, Vasar M, Murata M, Nelsen MP, Cleary M, Samarakoon MC, Doilom M, Bahram M, Hagh-Doust N, Dulya O, Johnston P, Kohout P, Chen Q, Tian Q, Nandi R, Amiri R, Perera RH, dos Santos Chikowski R, Mendes-Alvarenga RL, Garibay-Orijel R, Gielen R, Phookamsak R, Jayawardena RS, Rahimlou S, Karunarathna SC, Tibpromma S, Brown SP, Sepp SK, Mundra S, Luo ZH, Bose T, Vahter T, Netherway T, Yang T, May T, Varga T, Li W, Coimbra VRM, de Oliveira VRT, de Lima VX, Mikryukov VS, Lu Y, Matsuda Y, Miyamoto Y, Kõljalg U, Tedersoo L (2020) FungalTraits: a user-friendly traits database of fungi and fungus-like stramenopiles. *Fungal Divers* 105:1–16. <https://doi.org/10.1007/s13225-020-00466-2>

R Core Team (2023) R: A Language and Environment for Statistical Computing

Rahman MA, Lee SH, Ji HC, Kabir AH, Jones CS, Lee KW (2018) Importance of Mineral Nutrition for Mitigating Aluminum Toxicity in Plants on Acidic Soils: Current Status and Opportunities. *Int J Mol Sci* 19:3073

Roelofs JGM, Kempers AJ, Houdijk ALFM, Jansen J (1985) The effect of air-borne ammonium sulphate on *Pinus nigra* var. *maritima* in the Netherlands. *Plant Soil* 84:45–56

Rudawska M, Leski T (1998) Aluminium tolerance of different *Paxillus involutus* Fr. strains originating from polluted and nonpolluted sites. *Acta Soc Bot Pol* 67

Scarlett K, Denman S, Clark D, Forster J, Vanguelova E, Brown N, Whitby C (2021) Relationships between nitrogen cycling microbial community abundance and composition reveal the indirect effect of soil pH on oak decline. *ISME J* 15:623–635

Schlutow A, Huebener P (2004) The BERN Model: Bioindication for Ecosystem Regeneration towards Natural conditions. Federal Environmental Agency (Umweltbundesamt), Berlin

Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW (2012) NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods* 9:671–675

Sevink J, Mert M (2024) Verarming/verwering in de droge zandgronden van het Goois Natuurreservaat

Siepel H, Bobbink R, van de Riet B, van den Burg A, Jongejans E (2019) Long-term effects of liming on soil physico-chemical properties and micro-arthropod communities in Scotch pine forest. *Biol Fertil Soils* 55:675–683

Siepel H, de Ruiter-Dijkman EM (1993) Feeding guilds of oribatid mites based on their carbohydrase activities. *Soil Biol Biochem* 25:1491–1497

Siepel H, Maaskamp F (1994) Mites of different feeding guilds affect decomposition of organic matter. *Soil Biol Biochem* 26:1389–1394

Sitters J, Weijters M, van Pul D, Bobbink R, Bruggink J, Petersdorf M-C, Siepel H, Vogels J, Jansen P, Verbruggen E, Emsens W-J, Scherpenisse M (2024) Steenmeeltrials voor herstel van Oud eikenbossen op arme zandgronden (H9190), voortgangsrapportage (2023).

Smeenge H, Kieskamp A, van den Berg L, Keuning E, Verbaarschot E, Knigge J, Weijters M, Immerzeel M, Kampherbeek L, Brouwers E (2025) Bosbodemonderzoek Drenthe. Coöperatie Bosgroep Noord-Oost Nederland u.a., 2025, Witharen, Nederland

Smit E, Veenman C, Baar J (2003) Molecular analysis of ectomycorrhizal basidiomycete communities in a *Pinus sylvestris* L. stand reveals long-term increased diversity after removal of litter and humus layers. *Fems Microbiol Ecol* 45:49–57

- Smith DP, Peay KG (2014) Sequence Depth, Not PCR Replication, Improves Ecological Inference from Next Generation DNA Sequencing. *PLoS One* 9:1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090234>
- Stašiov S, Vician V, Benčat T, Pätoprstý V, Lukáčik I, Svitok M (2021) Influence of soil properties on millipede (Diplopoda) communities in forest stands of various tree species. *Acta Oecologica* 113:103793
- Sverdrup H, Warfvinge P (1993) Calculating field weathering rates using a mechanistic geochemical model PROFILE. *Appl Geochemistry* 273–283
- ten Houte de Lange SM (1977) Rapport van het Veluwe-onderzoek: een onderzoek van natuur, landschap en cultuurhistorie ten behoeve van de ruimtelijke ordening en het recreatie beleid. Pudoc. <https://edepot.wur.nl/391322>
- Therneau T (2024) A Package for Survival Analysis in R. R package version 3.8-3. <https://CRAN.R-project.org/package=survival>
- Turin H (2000) De Nederlandse loopkevers. Verspreiding en oecologie (Coleoptera: Carabidae). Nationaal Natuurhistorisch Museum Naturalis, KNNV Uitgeverij & EIS-Nederland, Leiden
- Turin H, Kotze DJ, Müller-Kroehling S, Saska P, Spence J, Heijerman T (2023) Ecology and conservation of the Dutch ground beetle fauna: Lessons from 66 years of pitfall trapping. Wageningen Academic Publishers, Wageningen
- Van Delft B, Dijk P, de Jong A, Edlinger A, Bloem J (2026) Steenmeelproeven in Oud eikenbos in Gelderland; Monitoring eiken, bodembeschrijving, mycorrhiza en wortelgestel. Wageningen Environmental Research, Wageningen, Rapport 3501
- van den Berg L, Schmitz P, Nyssen B, van der Burg R, Sauren P, Smeenge H, Bouwman J (2021) Biodiversiteit van Brabants Bialowieza - Fase 1. Projectnummer 17355180, Bosgroep Zuid Nerderland, Heeze
- van den Burg A, Weijters M (2023) Verzuurde versus van nature zure bossen - hoe doorstaan onze bossen de vergelijking? *Vakbl Nat Bos Landsch* 193:12–15
- Van Der Bauwhede R (2025) Rock dust as a restoration measure for acidified forest: from mineral dissolution to helicopter application. Doctoraatsproefschrift nr. 2007, faculteit Bio-ingenieurswetenschappen KU Leuven, Leuven, België
- Van Der Bauwhede R, Muys B, Vancampenhout K, Smolders E (2024a) Accelerated weathering of silicate rock dusts predicts the slow-release liming in soils depending on rock mineralogy, soil acidity, and test methodology. *Geoderma* 441:116734. <https://doi.org/10.1016/J.GEODERMA.2023.116734>
- Van Der Bauwhede R, Troonbeeckx J, Serbest I, Moens C, Desie E, Katzensteiner K, Vancampenhout K, Smolders E, Muys B (2024b) Restoration rocks: The long-term impact of rock dust application on soil, tree foliar nutrition, tree radial growth, and understory biodiversity in Norway spruce forest stands. *For Ecol Manag* 568 (2024) 122109
- van der Veer G (2006) Geochemical soil survey of the Netherlands. Atlas of major and trace elements in topsoil and parent material; assessment of natural and anthropogenic enrichment factors. Academisch proefschrift Universiteit Utrecht
- van Diggelen R, Bergsma H, Bijlsma RJ, Bobbink R, van den Burg A, Sevink J, Siebel H, Siepel H, Vogels J, de Vries W, Weijters M (2019) Steenmeel en natuurherstel: een gelukkige relatie of een risicovolle combinatie? *Vakbl Nat Bos Landsch* 155:20–23
- Vanguelova E, Pitman R, Benham S (2024) Chapter 11 - Responses of forest ecosystems to nitrogen deposition in the United Kingdom. In: Atmospheric Nitrogen Deposition to Global Forests - Spatial Variation, Impacts, and Management Implications. Academic Press, London, pp 183–203

- Verbaarschot E, Weijters MJ, van de Riet B, Brouwer E, Bergsma H, Vogels JJ, Bobbink R (2020) Effecten van steenmeeltoediening na 5 jaar op de Strabrechtse heide. Rapportnummer RP-17.110.20.17, Onderzoekcentrum B-WARE, Nijmegen
- Veresoglou S, Verbruggen E, Makarova O, Mansour I, Sen R, Rillig M (2019) Arbuscular mycorrhizal fungi alter the community structure of ammonia oxidizers at high fertility via competition for soil NH₄⁺. *Microb Ecol* 78:147–158
- Vogels J, Hiddes C (2023) *Xysticus luctator* L. Koch, 1870 (Araneae, Thomisidae) na 131 jaar weer in Nederland aangetroffen. *Nieuwsbr SPINED* 40:2–7
- Vogels J, Jansman H, Bobbink R, Weijters M, Verbaarschot E, Ten Den P, Versluijs R, Waasdorp S (2013) Herstellen van akkers als onderdeel van een intact heidelandschap. Directie Agrokennis, Ministerie van Economische Zaken, Den Haag, 179 pag
- Vogels J, van der Schoor J, Loeb R, Verbaarschot E, Bobbink R, Scherpenisse M, Felix R, Verbeek P, Verhees J, Siepel H, Findeisen S, Emsens W-J, Verbruggen E, Cammeraat E, Jansen B (2025) Steenmeeltoepassing in het droge heidelandschap - Tweede fase onderzoek steenmeeltoepassing in Het Nationale Park De Hoge Veluwe 2021-2025. Stichting Bargerveen, Nijmegen
- Vogels JJ, de Graaf M (2025) Effecten van steenmeeltoediening op miljoenpoten in zure bossen. Stichting Bargerveen, Nijmegen
- Vogels JJ, Loeb R, Brouwer E, Felix R, Scherpenisse M (2017) Optimaliseren van herstelmaatregelen voor habitattypen van droge heide; De stikstofverwijderingspotentie van de gecombineerde maatregel branden en drukkbegrazen. Stichting Bargerveen, Nijmegen
- Vogels JJ, Van de Waal DB, Wallis de Vries MF, Van den Burg AB, Nijssen M, Bobbink R, Berg MP, Olde Venterink H, Siepel H (2023) Towards a mechanistic understanding of the impacts of nitrogen deposition on producer-consumer interactions. *Biol Rev Camb Philos Soc* 98:1712–1731
- Vogels JJ, Verbaarschot E, Loeb R, Weijters MJ, Bobbink R, Scherpenisse MC, Verbeek PJM, de Jong V (2020) Steenmeeltoepassing ten behoeve van herstel biodiversiteit in Het Nationale Park De Hoge Veluwe - Eindrapport monitoring 2015-2019. Nijmegen
- von Wilpert K, Lukes M (2003) Ecochemical effects of phonolite rock powder, dolomite and potassium sulfate in a spruce stand on an acidified glacial loam. *Nutr Cycl Agroecosystems* 65:115–127
- Weijters MJ, Bobbink R, Siepel H (2020a) Selectie en uitzetten steenmeeltrials voor herstel van Oude Eikenbossen op arme zandgronden. Rapportnummer RP-19.167.20.56, Onderzoekcentrum B-WARE, Nijmegen
- Weijters MJ, Bobbink R, Verbaarschot E, van der Riet B, Vogels JJ, Bergsma H, Siepel H (2018) Herstel van heide door middel van slow release mineralengift – resultaten van 3 jaar steenmeelonderzoek. Rapportnummer OBN222-DZ, Vereniging van Bos- en Natuurterreineigenaren (VBNE), Driebergen
- Weijters MJ, Smits LJPM, Bobbink R (2020b) Metingen bladchemie van Oude Eikenbossen (H9190) in Gelderland. Rapportnummer RP-20.132.20.106, Onderzoekcentrum B-WARE, Nijmegen
- Wellbrock N, Bolte A (2019) Status and dynamics of forests in Germany: results of the national forest monitoring. *Ecological Studies*; Springer International Publishing: Cham, Switzerland



Toernooiveld 1
Mercator III gebouw
6525 ED Nijmegen

IBAN: NL23 RABO 0167 8984 93
BTW: NL 811402496B01
KvK: 09131250

024 212 2200
info@b-ware.eu
www.b-ware.eu

**Biogeochemical Water management
& Applied Research on Ecosystems**