

De invloed van bosbeheer op de microbiële bodemgemeenschap

Kato VAN CRIEKINGE

Promotor: Dr. Ir. Ellen Desie

Copromotor: Prof Dr. Ir. Karen Vancampenhout

Masterproef ingediend tot het behalen van de
graad van master of Science in de
biowetenschappen: *land- en tuinbouwkunde,
optie toegepaste omgevingswetenschappen*

Academiejaar 2022-2023

© Copyright KU Leuven

Zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van zowel de promotor(en) als de auteur(s) is overnemen, kopiëren, gebruiken of realiseren van deze uitgave of gedeelten ervan verboden. Voor aanvragen i.v.m. het overnemen en/of gebruik en/of realisatie van gedeelten uit deze publicatie, kan u zich richten tot KU Leuven Campus Geel, Kleinhoefstraat 4, B-2440 Geel, +32 14 72 13 00 of via e-mail iiw.geel@kuleuven.be.

Voorafgaande schriftelijke toestemming van de promotor(en) is eveneens vereist voor het aanwenden van de in deze masterproef beschreven (originele) methoden, producten, schakelingen en programma's voor industrieel of commercieel nut en voor de inzending van deze publicatie ter deelname aan wetenschappelijke prijzen of wedstrijden.

Voorwoord

Deze masterproef is het laatste loodje met oog op het behalen van mijn masterdiploma industrieel ingenieur in de biowetenschappen: land- en tuinbouwkunde optie omgevingswetenschappen. Het is het resultaat van een jaar lang interessant maar soms niet zo makkelijk en tijdrovend onderzoek.

Als eerste wil ik graag mijn promotor en begeleider Ellen Desie bedanken voor haar hulp tijdens het veldwerk en kritische feedback achteraf. Ik kon voor hulp en raad altijd bij haar terecht zodat ik de thesis tot een goed einde heb kunnen brengen. Ik zou ook Sascha Nijdam, Yarissa, Julie en Bodine willen bedanken voor de samenwerking tijdens het veldwerk, zonder jullie zou het niet zo gezellig geweest zijn en had alles veel langer geduurd. Ik zou ook graag Kim Vekemans bedanken voor de introductie van de respiratieproef in het labo van Geel en Sofie Thijs van UHasselt voor het onderzoeken van mijn stalen voor de eDNA-analyse en het protocol met uitleg ervan.

Ik bedank graag mijn schoolvrienden. In het bijzonder dank ik Dagmar, Liane, Lennert en Alexander voor hun hulp en steun tijdens het schrijven en bij het labowerk. Ik ben blij dat ik hen kon lastigvallen met mijn vragen en frustraties.

Ten slotte wil ik graag de leden van mijn gezin en dat van Tom bedanken voor de steun en toeverlaat gedurende mijn hele studiercarrière. In het speciaal wil ik Wendy bedanken voor het nalezen van mijn thesis en mijn ouders voor de kansen en hulp die ik gekregen heb de voorbije vijf jaar.

Samenvatting

In het verleden waren er op de zandbodems in België en Nederland grote gemengde bossen met een hoge nutriëntenbeschikbaarheid. Door de overexploitatie van de bossen in de middeleeuwen, ontstonden er heidevlaktes op de 'outfields'. Toen die niet meer nodig waren voor de landbouw door de komst van machines, kunstmest... werden er op de oude heidevlaktes vaak naaldbomen aangeplant. Door de productieve naaldbossen konden er toch nog opbrengsten uit die gronden gehaald worden. De nutriënten in de bodem verdwenen met de bomen in de middeleeuwen maar kwamen niet terug door de aanplant van de naaldbossen.

Zandgronden hebben door hun textuur een lage buffercapaciteit. Ze verzuren dus sneller dan andere texturen. De arme en verzuurde zandgronden zijn niet meer in staat om vocht en voedingsstoffen vast te houden waardoor ze nog kwetsbaarder worden aan de klimaatverandering.

Monoculturen hebben een lagere resistentie tegen ziektes en plagen. Daarom wordt er gestreefd naar gemengde bossen met rijkstrooiselsoorten. Rijkstrooisel verteert makkelijk en is voedselrijk, het wordt gebruikt als strategie om de bodemverzurende effecten te verminderen en nutriënten te herstellen.

In dit onderzoek wordt gekeken naar de invloed van het bosbeheer op de microbiële bodemgemeenschap. De micro-organismen zijn de microfauna en -flora die je niet met het blote oog kunt zien. Ze worden op verschillende manieren ingedeeld; vooral op grootte maar ook op functie of op tot welk rijk ze behoren. De nadruk ligt in dit onderzoek vooral op het rijk van de fungi, daartoe behoren de schimmels maar ook de gisten en de paddenstoelen. Voor het bosbeheer wordt er gekeken naar welke soorten er staan in de verschillende sites. Er zijn drie bostypes in dit onderzoek; rijke, arme en referentiebossen die op drie verschillende dieptes onderzocht worden; de organische laag (de humuslaag), van 0 tot 10 cm in de minerale bodem en van 10 tot 20 cm in de minerale bodem.

In de rijke bossen komen vooral rijkstrooiselsoorten voor zoals linde, vogelkers en hazelaar. In de arme bossen staan vooral armstrooiselsoorten zoals grove den, Corsicaanse den en eik. De armstrooiselsoorten zijn vooral naaldbomen waarvan de naalden niet goed verteerd worden door het bodemleven.

Hoe hoger tegen het bodemoppervlak, hoe meer CO₂ er gevonden wordt in de respiratieproef. In de organische laag wordt er de hoogste respiratie gemeten. Er is ook een verschil gemeten tussen de verschillende bostypes. De referentieplots hadden de hoogste respiratie.

De abundanties zijn niet bepalend om verschillen te vinden tussen de bostypes in het rijk van de fungi. De Shannon diversity index toont aan dat er geen verschil is in soortendiversiteit van de schimmels tussen de arme, rijke en referentieplots.

Abstract

In the past, there were large mixed forests with high nutrient availability on the sandy soils in Belgium and the Netherlands. Due to the overexploitation of the forests in the Middle Ages, heathlands emerged on the "outfields". When they were no longer needed for agriculture due to the advent of machinery, fertilizers... often coniferous trees were planted on the old heathlands. The productive coniferous forests still allowed yields to be obtained from those lands. The nutrients in the soil disappeared with the trees in the Middle Ages and did not return due to the coniferous forests.

Sandy soils have a low buffering capacity due to their texture. They therefore acidify faster than other textures. The poor and acidic sandy soils are no longer able to retain moisture and nutrients, making them even more vulnerable to climate change.

Monocultures have lower resistance to diseases and pests. Therefore, mixed forests with rich litter species are aimed for. Rich litter decomposes easily and is nutrient-rich, it is used as a strategy to reduce soil acidifying effects and restore nutrients. However, a lot of rich litter needs to be mixed before it has an effect.

This research focuses on the influence of forest management on the microbial soil community. The microorganisms are the microfauna and flora that cannot be seen with the naked eye. They are classified in different ways; mainly by size but also by function or to which kingdom they belong. The emphasis is mainly on the fungi kingdom in the research, which includes fungi but also yeasts and mushrooms. For forest management, the species in the different sites are examined. There are three forest types in this study; rich, poor, and reference forests, which are investigated at three different depths: the organic layer (the humus layer), from 0 to 10 cm in the mineral soil, and from 10 to 20 cm in the mineral soil.

The rich forests mainly contain rich litter species such as lime, wild cherry, and hazel. The poor forests mainly contain poor litter species such as Scots pine, Corsican pine, and oak. The poor litter species are mainly coniferous trees whose needles are not well decomposed.

The higher the depth from the soil surface, the more CO₂ is found in the respiration test. The highest respiration is measured in the organic layer. A difference has also been measured between the different forest types. The reference plots had the highest respiration.

The abundances are not decisive in finding differences between the forest types in the fungi kingdom. The Shannon diversity index shows that there is no difference between the poor, rich and reference plots.

Keywords: forest management, sandy soils, microbial soil community, environmental DNA, respiration

INHOUD

Voorwoord	iv
Samenvatting	v
Abstract	vi
Lijst met afkortingen	ix
Lijst met figuren	x
1 Inleiding	12
2 Literatuurstudie	14
2.1 <i>Bodembiota</i>	14
2.1.1 Classificeren van bodembiota	15
2.2 <i>Microfauna en -flora</i>	17
2.2.1 Indeling van de schimmels	20
2.3 <i>Mesofauna</i>	22
2.4 <i>Macro-en megafauna</i>	23
2.5 <i>Bosbeheer</i>	23
2.5.1 Boomsoortkeuze	24
2.5.2 Bostypes	24
2.5.3 Strooiselsoorten	27
2.6 <i>Invloed van bosbeheer op het bodemleven</i>	27
3 Materiaal en methode	29
3.1 <i>Studiegebied</i>	29
3.2 <i>Studieontwerp</i>	29
3.3 <i>Studiesites</i>	31
3.3 <i>Veldcampagne</i>	38
3.3.1 Algemene informatie	38
3.3.2 Bodemstalen voor eDna en chemische analyse.....	38
3.3.3 Bodemstalen voor micro-biota analyse en respiratie	38
3.4 <i>In het labo</i>	39
3.4.1 Respiratieproef.....	39
3.4.2 eDNA analyse	40
3.5 <i>Statistiek</i>	42
3.5.1 Respiratie.....	42

3.5.2 eDNA	42
4 Resultaten.....	43
4.1 <i>Respiratieproef</i>	43
4.2 <i>eDNA-analyse</i>	45
4.2.1 Shannon diversity index	45
4.2.2 Totale abundantie	46
4.2.3 Relatieve abundantie	49
5 Discussie	51
5.1 <i>Respiratie</i>	51
5.2 <i>eDNA</i>	52
6 Besluit.....	54
Referenties.....	55

Lijst met afkortingen

C koolstof

°C graden Celsius

CEC kationen

cm centimeter

CO₂ koolstofdioxide

g gram

H waterstof

N stikstof

O zuurstof

P fosfor

S zwavel

Lijst met figuren

Figuur 1: De classificatie van de bodemorganismen op basis van lichaamsbreedte. Er zijn drie grote groepen: microfauna- en flora, mesofauna en macro-en megafauna(Swift et al., 1979).	15
Figuur 2: De classificatie van schimmels op stamniveau. De cijfers achter de phyla staan voor het aantal klassen dat er in elk phylum zit. De rode namen geven de wetenschappelijke naamgeving van organismen die als dier worden beschouwd weer. De groene namen zijn de niet-officiële namen van onbeschreven grote clades. De paars-blauwe namen geven de namen weer van de oude classificatie en van de taxonomische super- en subrang. De beige namen zijn de taxa die overeenkomen met de rang van het subrijk (Tedersoo et al., 2018).	21
Figuur 3: De landgebruiksveranderingen doorheen de tijd in de Kempen hebben een effect op de nutriëntenbeschikbaarheid in de bodem. Tijdens het Atlanticum overheersten de gemengde bossen met hazelaar, eik, linde, olm en den. Als gevolg van de toenemende druk op de bossen werd eik steeds dominant. De overexploitatie leidde tot ontstaan van heidevlaktes en bracht bodemdegradatie met zich mee in de middeleeuwen. De gedegradeerde heidebodems werden bebost met naaldhout. Naaldhout verhoogde het organisch stofgehalte maar de nutriëntenbeschikbaarheid verbeterde niet aanzienlijk. De huidige eiken-berkenbossen met bijmenging van den kunnen de verzuringsprocessen niet voldoende omkeren. Om de nutriëntenbeschikbaarheid in de bodem te verbeteren, zouden bossen van rijkstrooiselsoorten aangeplant kunnen worden (Nyssen et al., 2018).....	25
Figuur 4: Het verschil tussen de arme en rijke plots. Links staat het plot Kasterlee arm en rechts het plot Kasterlee rijk. In de arme plots is er veel meer naaldhout (en dus ook armstrooiselsoorten) ten opzichte van bij de rijke plots waar vooral rijkstrooiselsoorten staan.	30
Figuur 5: Locaties die bemonsterd zijn met de ontwikkelingsfases waarin het zich bevindt. Op elke locatie werd een arme en een rijke plots bemonsterd. In Veldhoven en Kasterlee worden er ook stalen genomen bij de referentieplots.	31
Figuur 6: Kaart van de ligging van de studiesites.....	32
Figuur 7: De cumulatieve respiratie ($\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{dag})$) in functie van de tijd in dagen per diepte-interval in de verschillende bostypes gemeten. De volle lijnen geven het gemiddelde per bostype weer.	44
Figuur 8: De cumulatieve respiratie ($\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{dag})$) in functie van de tijd in dagen per bostype in de verschillende dieptelagen gemeten. De volle lijnen geven het gemiddelde per diepte weer.	45
Figuur 9: De Shannon diversity index van stalen voorgesteld in de verschillende bostypes en dieptelagen.....	46
Figuur 10: Totale abundanties van de organische laag. De kleuren geven de verschillende hoeveelheden weer van de DNA-sequenties per stam (fylum) per staal.	47

Figuur 11: Totale abundanties van het diepte-interval 0-10 cm. De kleuren geven de verschillende hoeveelheden weer van de DNA-sequenties per stam (fyllum) per staal.48

Figuur 12: Totale abundanties van het diepte-interval 10-20 cm. De kleuren geven de verschillende hoeveelheden weer van de DNA-sequenties per stam (fyllum) per staal.49

Figuur 13: De relatieve abundantie van de fyyla die meer dan 2% voorkomen in de stalen....50

1 INLEIDING

De meest complexe biologische gemeenschap is die dat we vinden onder onze voeten: de bodemgemeenschap. Onder bodembiota vallen alle organismen, van micro-organismen tot planten en dieren. In de bodem komen verschillende organismen voor zoals regenwormen, nematoden (aaltjes), protozoa, insecten en spinnen, planten en micro-organismen zoals schimmels, algen en bacteriën (Fortuna, 2012). De grotere dieren zoals woelmuizen en mollen behoren ook tot de bodembiota maar zijn niet talrijk aanwezig en worden daarom soms niet opgenomen in bodembiodiversiteitswerken (Pulleman et al., 2012). In dit onderzoek wordt er vooral gefocust op de schimmelgemeenschap van de bodem.

Bodemorganismen dragen bij tot verschillende ecosysteemdiensten die essentieel zijn voor de duurzame functie van natuurlijke en beheerde ecosystemen. Er zijn verscheidene bodemorganismen die allemaal een eigen functie hebben (Barrios, 2007). Het bodemleven kan directe en indirecte gevolgen hebben op productiviteit van het land. Directe gevolgen hebben directe invloed op de bomen. Een voorbeeld van een directe invloed is de symbiose die de bomen met de schimmels in de bodem aangaan. Indirecte effecten zijn interacties die ecosysteemdiensten genereren die uiteindelijk de productiviteit van de gewassen beïnvloeden. Het zijn bijvoorbeeld de organismen die bodemstructuur opbouwen, deelnemen aan de nutriëntenkringloop, het mineraliseren (geheel afbreken) en humificeren (gedeeltelijk afbreken) van organische stof, bodemverdichting tegengaan of de waterzuivering reguleren (Pulleman et al., 2012) (Barrios, 2007).

De biodiversiteit in de bodem is overweldigend: in een schep zwarte tuingrond is de biodiversiteit vergelijkbaar met die van de bovengrondse flora en fauna van het Amazone-regenwoud (de Jong et al., 2015). Ecologen zijn het er over eens: meer biodiversiteit leidt tot een beter functionerend ecosysteem en zorgt voor een buffer tegen de negatieve effecten van de klimaatverandering (Mommer, 2016). De bodem is de basis voor wat er boven de grond gebeurt en moet dus beschermd worden voor volgende generaties. Er is nog niet veel onderzoek gedaan naar bodembiodiversiteit, maar er is al wel bekend dat het een heel belangrijke rol speelt. Over het algemeen geldt: hoe kleiner de taxa, hoe minder onderzoek er naar gedaan is (Decaëns et al., 2006). Er is ook al geweten dat het beheer de bodem beïnvloedt maar niet in welke mate. Dat wordt in dit onderzoek verder uitgediept voor bossen op zandgrond.

Bossen op zandgronden in België en Nederland hebben veel veranderingen ondergaan doorheen de tijd. De afgelopen 200 jaar zijn het bosareaal, de omvang, de eigendomssituatie en de samenstelling van bossen veranderd. Deze ontwikkelingen hangen samen met interacties tussen omgevingsfactoren en menselijke tussenkomst (Oosthoek & Richard Hölzl, 2018). In de middeleeuwen waren er in deze streken niet veel bossen doordat het hout gekapt werd om huizen mee te bouwen of om te dienen als brandstof. De heidevlaktes die dan tevoorschijn kwamen en zo onderhouden werden, werden gebruikt in de potstal (Simon Klingen, 2020).

Met de komst van hulpmiddelen in de landbouw zoals kunstmest en tractoren, werden de heidevlaktes overbodig. Er werden bomen, vooral naaldhout, aangeplant als inkomstenbron op de heidevlaktes of ze werden omgevormd tot landbouwgrond. De hedendaagse bossen liggen daardoor heel verspreid en zijn meestal dennenplantages of gemengd bos (Simon

Klingen, 2020). De bomen van productiebossen worden gebruikt in verschillende sectoren zoals de bouw van huizen, omheiningen, meubels... (Oosthoek & Richard Hölzl, 2018).

In het verleden kwamen in Nederland gemengde bossen voor met daarin vooral linde (*Tilia* sp.) , eik (*Quercus* sp.), iep (*Ulmus* sp.), zoete kers (*Prunus avium*) en hazelaar (*Corylus avellana*). Door de bossen veel te gebruiken maar vooral leeg te halen werd de bodemsamenstelling ernstig verstoord. Er werd eik en beuk (*Fagus sylvatica*) aangeplant omdat deze houtsoorten nuttig waren en de eikels en beukenootjes als voedselbron konden dienen voor de zwijnen. Daarna werd er meer geogst dan er bijgroeide en veranderden de bossen tot stuifzand en heide. Bosherstel kwam er met het aanplanten van naaldbomen die dan productiebossen werden. Productiebossen krijgen te maken met verschillende factoren die hun vitaliteit laten dalen. Vooral de zwavel en -stikstofdepositie komt via de lucht terecht in de bossen en laten de bodem meer verzuren. Zandgrond is extra gevoelig doordat het een lagere buffercapaciteit heeft. Daardoor zijn er nu arme en verzuurde zandgronden die niet meer in staat zijn om voldoende vocht en voedingsstoffen vast te houden. De gedegradeerde bodem maakt de bossen kwetsbaar voor verschillende factoren zoals klimaatverandering, droogte en ziektes. Dit is te zien door eikensterfte, forse stormschade en de gevolgen van de extreme droogte. De bossen kunnen zichzelf onvoldoende beschermen en zijn zichtbaar niet goed bestand tegen de veranderende omstandigheden (Bosgroepen, 2020) (Hitchmough & Vera, 2002) (Oosthoek & Richard Hölzl, 2018) (Osman, 2013).

Deze bodemdegradatieprocessen hebben ook gevolgen voor de bodemgemeenschap en haar diversiteit. De textuur van zandbodems zorgt voor een lagere buffercapaciteit waardoor de bosbodems in een zuurder buffersysteem terechtkomen. In de bodem zitten verschillende componenten die constant op elkaar inwerken zoals ijzer, aluminium, fosfaten, oxiden... Sommige componenten zoals de zandkorrels zijn bijna inert maar er zijn ook deeltjes die continue dynamische reacties ondergaan zoals aluminium. De natuurlijke verzuring van bosbodems wordt versneld door de zwavel- en stikstofdepositie van de lucht. De zuren hebben een invloed op de chemische structuur van bodems en planten. Ze lossen voedingsstoffen als magnesium, kalium en calcium op terwijl aluminium vrijgemaakt wordt uit mineralen en giftig wordt (Osman, 2013).

Het giftige aluminium heeft negatieve effecten op fauna en flora, het zorgt voor lage vitaliteit van de bossen, veel eikensterfte en ook de fauna ondervindt hinder van de verzuring (Osman, 2013). De diversiteit en hoeveelheid van fauna en biota (bacteriën, schimmels..) worden gelinkt aan externe drivers zoals welk soort bos het is (naald-, gemengd of loofbos), alsook hoe het geogst wordt.

Het is dus belangrijk om de bodembiodiversiteit zo groot mogelijk te houden zodat het bodemvoedselweb in evenwicht is, om zich te wapenen tegen de klimaatverandering en de veerkracht van het bos hoog te houden (de Jong et al., 2015). In dit onderzoek wordt gezocht naar wat de invloed is van het bosbeheer, specifiek de boomsoortkeuze, op de microbiota in de bodem.

In deze thesis wordt er geprobeerd om op de volgende onderzoeksvragen een antwoord te vinden:

- Hebben de boomsoorten een invloed op het ondergrondse bodemleven?
- Op welke diepte leven er de meeste micro-organismen?
- Is er een grotere variatie in schimmelsoorten in arme of rijke bodems?
- Op welke diepte komen de meeste schimmelsoorten voor?

2 LITERATUURSTUDIE

2.1 Bodembiota

Bodems hebben een enorme biodiversiteit, een vierde van alle levende soorten op aarde brengt (gedeeltelijk) hun leven door in de bodem (van der Putten et al., 2010). In een theelepel vruchtbare grond zitten alle drie de domeinen van het leven: de Bacteriën, Archaea en Eukarya en de elementen die het leven bevatten. Zes elementen zijn essentieel voor leven op aarde: koolstof (C), zuurstof (O), zwavel (S), stikstof (N), fosfor (P) en waterstof (H). De Archaea is het domein van de eencellige micro-organismen die fylogenetisch verschillend zijn van de bacteriën. Ze zijn prokaryoot: ze hebben geen celkern en bevatten weinig andere cellulaire structuren. Al die elementen worden omgezet in de bodem door bodembiota of bodemorganismen (Fortuna, 2012).

De diversiteit en activiteit van de bodembiota zijn afhankelijk van de biotische en abiotische factoren. De abiotische factoren met de meeste invloed zijn: het klimaat (waaronder temperatuur en neerslag), structuur en textuur van de bodem, pH en zoutgehalte. Bij hogere temperaturen en vochtgehalte nemen hun activiteit en groei toe. De omstandigheden in de bodem wisselen sterk doorheen het jaar afhankelijk van de seizoenen maar de bodemorganismen variëren ook in hun ideale vocht- en temperatuurbereik naarmate hun stadia veranderen. Larven kunnen andere optima hebben dan volwassen organismen (van der Putten et al., 2010).

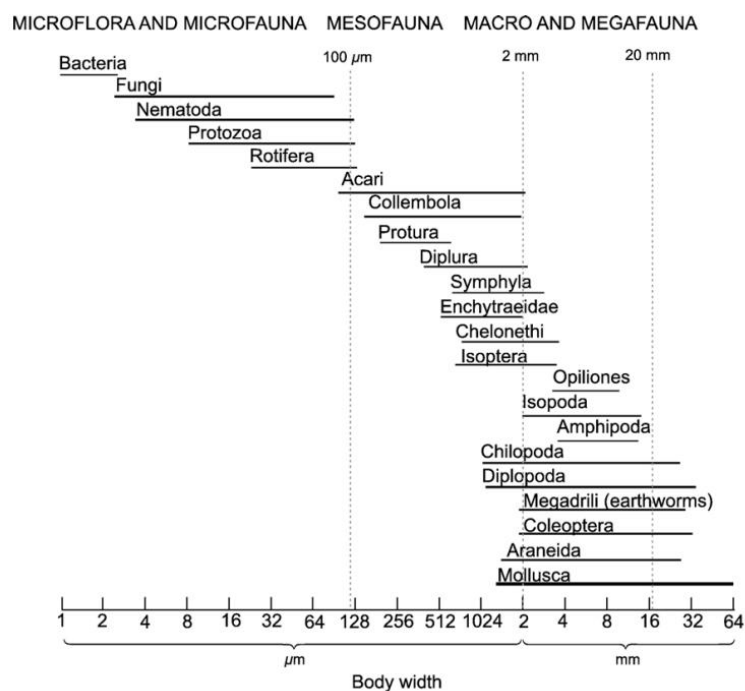
Per gram grond zitten er ongeveer 600.000 bacteriën en 400.000 schimmels in de bodem. De bacteriën hebben de grootste biomassa, ze wegen ongeveer 10.080 kg per hectare. De groep met dan de meeste biomassa zijn de schimmels met 10.000 kg per hectare. De protozoa wegen 379 kg per hectare en de nematoden 50 kg per hectare. Dat zijn ongeveer 1.551.000 protozoën per liter grond en 50.000 nematoden. Springstaarten hebben een gemiddelde van 6,5 kg en mijten van ongeveer 4,4 kg per hectare. Dat komt overeen met 220 springstaarten per liter bodem en 150 mijten. Twintig duizendpoten, insecten en spinnen per liter grond hebben een biomassa van 67 kg per hectare. Twee regenwormen per liter grond komen overeen met 4.000 kg per hectare. Mollen wegen een kg per hectare. Een mol weegt gemiddelde 88 g en dus zijn er gemiddeld twaalf mollen per hectare (Bokhorst, z.d.) (Moolenaar & Hanegraaf, z.d.).

Het zoutgehalte in de bodem neemt toe naar het grondoppervlak en kan leiden tot uitdroging van sommige bodemorganismen. Andere bodemorganismen houden van het verhoogde zoutgehalte en dan kan het positieve effecten hebben zoals meer organische stof beschikbaar maken. De pH in de bodem is ook van belang want dit kan het metabolisme van organismen beïnvloeden doordat het metabolisme van bepaalde enzymen beïnvloed wordt. Dat kan leiden tot een mindere beschikbaarheid van voedingsstoffen en kan dodelijk zijn. De beschikbaarheid van fosfor is maximaal bij een pH tussen 5,5 en 7,5 (van der Putten et al., 2010).

2.1.1 Classificeren van bodembiota

Alle levende wezens kunnen verdeeld worden in twee groepen: de eukaryoten en de prokaryoten. De prokaryoten zijn wat minder ontwikkeld dan de eukaryoten. Ze hebben een minder complexe celstructuur en geen echte celkern. De eukaryoten hebben een echte kern en meer celorganellen dan de prokaryoten. Bodembiota omvat alle organismen die hun leven volledig of gedeeltelijk in de bodem of pedosfeer doorbrengen (Barrios, 2007). Ze kunnen nog verder ingedeeld worden dan pro- of eukaryoot. Ze kunnen worden ingedeeld op basis van lichaamsbreedte, lichaamslengte, functionele activiteit of op basis van koninkrijk. De classificatie van lichaamslengte en -breedte worden het meest gebruikt.

2.1.1.1 Classificatie op basis van lichaamsbreedte



Figuur 1: De classificatie van de bodemorganismen op basis van lichaamsbreedte. Er zijn drie grote groepen: microfauna- en flora, mesofauna en macro- en megafauna (Swift et al., 1979).

De bodemorganismen worden meestal gegroepeerd op lichaamsbreedte (figuur 1). Er zijn drie grote groepen: microflora en -fauna, mesofauna en macro- en megafauna. De microfauna hebben een lichaamsbreedte tussen de drie en honderdtwintig µm en zijn bijvoorbeeld de protozoa en de nematoden. De mesofauna zijn tussen de tachtig µm en twee mm breed en tot die categorie behoren de springstaarten en de mijten. De laatste groep zijn de macrofauna met een breedte van vijfhonderd µm tot vijftig mm en zijn bijvoorbeeld regenwormen, termieten, slakken en spinachtigen. Er zijn ook nog twee plantencategorieën: de microflora en de vasculaire planten. De microflora hebben een breedte tussen de één en de honderd µm. Tot die groep behoren bijvoorbeeld de bacteriën en de fungi (Barrios, 2007).

2.1.1.2 Classificatie op basis van lichaamsgrootte

Bodemorganismen kunnen ook op basis van lichaamsgrootte ingedeeld worden. Dat komt overeen met de categorieën op basis van lichaamsbreedte. De categorie van de kleinste organismen is de categorie van de microflora. Die hebben een lengte minder dan een mm. Voorbeelden die tot die categorie behoren zijn de bacteriën, algen, schimmels en actinomyeten. De categorie van de microfauna zijn de kleinste dieren. Ze zijn kleiner dan

twee mm. Daaronder vallen de protozoa en de nematoden. De mesofauna zijn de dieren van twee tot tien mm lang, bijvoorbeeld de springstaarten of de mijten. Tot de categorie van de macrofauna behoren die organismen die groter zijn dan tien mm zoals de regenwormen, termieten, slakken en spinachtigen (Ibigweh & Asawalam, 2017).

2.1.1.3 Classificatie op basis van activiteit

Een andere manier van classificeren van de bodemfauna is op basis van hun activiteit. Er zijn zes groepen: de carnivoren, de herbivoren, de saprofagen, symbionten, microbivoren en de omnivoren.

Tot de categorie van de carnivoren of vleeseters behoren de predatoren en de dierlijke parasieten zoals sommige nematoden.

Voorbeelden van herbivoren zijn organismen die bovengronds plantaardig materiaal, wortelstelsels en/of houtmateriaal eten. Ze hebben zo een invloed op de primaire productie van terrestrische ecosystemen (de Jong et al., 2015).

De saprofagen of afvaleters zijn de organismen die ook detrivoren genoemd worden. Het zijn organismen die leven van verterend, dood organisch materiaal waar nog enige weefselstructuur in zit en wat detritus genoemd wordt (*Detritus* | *Ecopedia*, z.d.). Een saprofaag is een organisme dat leeft van verterend, dood organisch materiaal zoals dood hout of afgevalen bladeren (Roskams & De Haeck, z.d.). Voorbeelden van saprofagen zijn mieren, mestkevers, regenwormen en paddenstoelen.

Microbivoren beïnvloeden de mineralisatie van nutriënten door zich te voeden met het begrazen van bacteriën en schimmels (van Straalen, 2019).

Tot de groep van de symbionten behoren de endofyten. Het is een groep die een samenwerking met andere organismen aangaat om zo makkelijk voedingsstoffen te krijgen. De laatste groep is de groep van de omnivoren of alleseters. Hun voeding hangt af van wat er op een bepaalde plaats en tijd aanwezig is (Ibigweh & Asawalam, 2017).

2.1.1.4 Classificatie op basis van koninkrijk

Levende organismen worden soms ook geclassificeerd op basis van koninkrijk. Alle levende wezens worden ingedeeld in een van de vijf fundamentele koninkrijken van het leven. Deze zijn de Moriera, Protista, Fungi, Plantae en Animalia. Ze zijn allemaal goed vertegenwoordigd in het bodemecosysteem (Ibigweh & Asawalam, 2017).

De Moriera omvatten prokaryoten-eencellige organismen die geen kern hebben bijvoorbeeld bacteriën, actinomyceten en blauwgroene algen.

Tot de Protista behoren eencellige organismen die wel een kern bezitten zoals algen met kernen en slijmmodules.

De derde groep zijn de Fungi. Tot deze groep behoren niet-beweeglijke eukaryoten die flagella missen en sporen ontwikkelen zoals gist, schimmels en paddenstoelen.

In het koninkrijk van de Plantae zijn er de eukaryoten die zich ontwikkelen uit embryo's en chlorofylachtige mossen en vaatplanten gebruiken.

Het laatste koninkrijk is dat van de Animalia. Daartoe behoren de meercellige eukaryoten die zich ontwikkelen uit een blastula. Dat is een holle bal van cellen die tijdens het delen van een bevruchte eicel ontstaat (Ibigweh & Asawalam, 2017).

2.2 Microfauna en -flora

De microflora van een bodem zijn een belangrijk onderdeel van de organische stof in de bodem. Een deel van de organische stof is het colloïdale deel van humus dat voor een groot stuk uit levende en dode microbiële cellen of hun desintegrerende resten bestaat (Allison, 1973). Het heet colloïdale humus doordat het van colloïdale aard is. Het kan tot tien keer zijn eigen gewicht vasthouden in water. Nog andere kenmerken ervan zijn dat het een hoge kationuitwisselingscapaciteit heeft, tussen de 300 en 800 meq per honderd gram en dat het plakkerig en lijmachtig is. Het aggregeert andere bodemcomponenten, bijvoorbeeld zand en klei, waardoor tilth ontstaat. Een ander kenmerk van colloïdale humus is dat het resistent is tegen biologische ontbinding. Het kan tien tot honderd jaar meegaan, maar vaak ook duizend jaar (Callaghan, 2016). Het resterende deel van de organische stof, bestaande uit resterende ontledingsproducten van dierlijke en plantaardige weefsels, dankt zijn eigenschappen voornamelijk aan de activiteiten van de microflora (Allison, 1973).

De microfauna hebben een lichaamsgrootte tussen de drie en honderdtwintig μm (Barrios, 2007). De microflorapopulatie van de bodem bestaat uit vier groepen organismen, anders dan virussen. Dit zijn de groepen van de bacteriën, actinomyceten, schimmels en algen. Elk van deze groepen bestaat uit vele geslachten en honderden soorten (Allison, 1973).

De mate van microbiële activiteit geeft een indicatie van de werkelijke opbouw of afbraak van organische stof en de beschikbaarheid van nutriënten in de bodem. Bij het bepalen van de microbiële diversiteit wordt informatie over het functioneren van ecosysteemdiensten gewonnen. Hoe meer koolstofbronnen er beschikbaar zijn, hoe groter de functionele diversiteit zal zijn en hoe stabiel het bodemecosysteem zal zijn (Zanen et al., 2011).

Microfauna en -flora hebben een rol in de organische stofvorming en de afbraak ervan. De kenmerken en hoeveelheid van organisch materiaal in een bepaalde bodem zijn afhankelijk van de aard van de microflora en hun biochemische transformaties, zodat geen enkele discussie over de rol van organisch bodemmateriaal bij plantengroei compleet zou zijn zonder rekening te houden met deze microflorapopulatie (Allison, 1973).

De microbiële biomassa heeft een korte omzettijd, van 0,2 tot zes jaar, die een snelle indicatie geeft van de beschikbare nutriënten en van een toekomstige toe- of afname van het organische stofgehalte. Een nadeel van deze parameter is dat hij sterk afhankelijk is van abiotische factoren zoals pH, vochtgehalte, temperatuur en toediening van meststoffen (Zanen et al., 2011).

Voorbeelden van microfauna zijn de protozoa en de nematoden (Barrios, 2007). Nematoden behoren tot de meest talrijke groep van bodemdieren. Ze hebben een belangrijke rol in het bodemvoedselweb doordat ze er verschillende posities bekleden (Kardol et al., 2009). Nematoden reguleren het aantal bacteriën en schimmels, maken nutriënten beschikbaar en spelen een rol bij ziektevering. Ze komen in alle soorten bodems voor. Van de 1.200 soorten die in Nederlandse bodems aanwezig zijn, zijn ongeveer vijftig soorten potentieel schadelijk voor landbouwgewassen (Zanen et al., 2011). Er zijn verschillende types van nematoden; planteneters maar ook nematoden die bacteriën en schimmels eten of omnivore en carnivore nematoden (Kardol et al., 2009).

Bacteriën en schimmels zijn concurrenten van planten om gemakkelijk opneembare (minerale) stikstof, zoals ammonium en nitraat op te nemen. Als bacteriën en schimmels gestimuleerd worden om te groeien, nemen ze minerale stikstof op en bouwen de stikstof in in hun cellen.

De minerale stikstof die opgenomen is door de schimmels is niet meer beschikbaar voor de planten met als gevolg dat de competitie in de plantengemeenschap in het voordeel van de 'doelsoorten' kan uitvallen (van der Wal et al., 2006).

De groeibevorderende middelen voor bacteriën en schimmels zijn koolstofs substraten, zoals houtzaagsel en stro (van der Wal et al., 2006). Bij het ontstaan van bossen domineren snelgroeiende grassen en kruiden de vegetatie en de vestiging van traaggroeiende planten, waartoe doelsoorten vaak behoren, wordt verhinderd. Het moment van kolonisatie van planten bij nieuwe bossen, en daaruit volgend de concurrentiepositie ten opzichte van andere planten, lijkt een zeer bepalende factor te zijn voor de verdere ontwikkeling van de vegetatie (Van der Wal & De Boer, 2008) (Kardol et al., 2009).

Het bodemleven begint allemaal bij de bacteriën en schimmels die een belangrijke rol spelen in de voedingsstoffenkringloop. Ze zetten plantaardige of dierlijke organische resten om naar voedingsstoffen voor het ander bodemleven maar concurreren met planten om makkelijke opneembare (minerale) stikstof, zoals ammonium en nitraat. De bacteriën en schimmels zijn zelf ook voedsel voor bijvoorbeeld mijten, springstaarten, protozoa en aaltjes (Kardol et al., 2009). Protozoa zijn kleine ééncellige, heterotrofe eukaryoten (Florin-Christensen & Schnittger, 2018).

In licht zure bodems wordt een eerste afbraak vooral gedaan door schimmels, die voeding zijn voor mijten en springstaarten die daarbij vooral weer nutriënten produceren voor schimmels door de vertering van het oude hyphenmateriaal. Hoe meer schimmels er aanwezig zijn, hoe sneller de afbraak van organische stof want hoe meer schimmeleers er zijn. Een grotere biodiversiteit en/of dichtheid aan schimmeleers zorgt voor een grotere beschikbaarheid aan nutriënten voor de bomen. Bij de schimmeleers zijn er twee groepen: browsers en grazers. Als browsers in grote dichtheden in de bodem zitten, hebben ze een negatief effect op de schimmelgroei. Grazers zijn altijd goed doordat ze bijvoorbeeld chitine uit de schimmelcelwand kunnen verteren en zo komt de stikstof die daarin zit weer beschikbaar in de kringloop (Siepel, 2015).

Planten spelen een belangrijke rol omdat de plantenwortels en -resten de belangrijkste bron van koolstof zijn voor de heterotrofe bodembiota (Pulleman et al., 2012).

De mycorrhiza zijn schimmels die samenleven met bepaalde planten om te overleven. De schimmels geven nutriënten en water aan de plant en krijgen in ruil extra energie voor de afbraak van de meer resistente organische stof van de plant in de vorm van eenvoudige suikers. Ze zijn te verdelen in twee groepen: ectomycorrhiza en de endomycorrhiza. De endomycorrhiza zijn de grootste groep met ongeveer 200.000 plantsoorten waaronder de es en esdoorn waarmee ze een symbiose vormen. Endomycorrhizae groeien in de wortelcellen en worden vaak geassocieerd met grassen, rijgewassen, groenten en struiken. Arbusculaire mycorrhiza-schimmels (AM-schimmels) vallen onder de soort endomycorrhiza-schimmels (Elaine R. Ingham, z.d.).

Boomsoorten vormen meestal met ectomycorrhizae een symbiose doordat ze op de oppervlaktelagen van de wortels groeien (Elaine R. Ingham, z.d.). Voorbeelden van ectomycorrhiza zijn de vliegenzwam, het eekhoortjesbrood of de gewone hanenkam. Tot de symbionten van de ectomycorrhiza behoren 6000 plantensoorten waaronder de beuk, linde, eik en spar (van der Heijden et al., 2015) (Heděnc et al., 2020) (Siepel, 2015).

De planten die met ectomycorrhiza in symbiose gaan hebben een hogere fungale biomassa terwijl degene die met arbusculaire in contact staan een hogere bacteriële groei hebben. De

soort mycorrhiza is afhankelijk van verschillende strooiselkwaliteiten die afhankelijk zijn van een andere bodem C/N-verhouding en andere bodem-pH. Die twee variabelen zijn de belangrijkste variabelen om microbiële gemeenschappen vorm te geven. Ze hebben een negatief effect op de groeisnelheid van schimmels en een positief op de groeisnelheid van bacteriën, dat betekent dus dat de activiteit van de microbiële gemeenschap een belangrijke invloed heeft op de verschillen van de verticale koolstofverdeling in de bodem (Heděnec et al., 2020).

Bodemschimmels kunnen geclassificeerd worden op basis van op welke manier ze hun energie krijgen. Ze worden in drie groepen ingedeeld: de afbrekers, de mutualisten en de parasieten of pathogenen (Elaine R. Ingham, z.d.).

De afbrekers, ook wel de saprofytische schimmels genoemd, zetten dood organisch materiaal om in koolstofdioxide (CO₂), schimmelbiomassa en kleine moleculen, zoals organische zuren. Deze schimmels verbruiken complexe substraten, zoals cellulose en lignine in hout, en zijn essentieel bij het afbreken van de koolstofringstructuren in sommige verontreinigende stoffen. Sommige schimmels gebruiken dezelfde eenvoudige substraten zoals veel bacteriën. Een belangrijke rol voor zowel bacteriën als schimmels is het immobiliseren of vasthouden van voedingsstoffen in de bodem. Veel van de secundaire metabolieten van schimmels zijn organische zuren. Ze helpen dus de ophoping van humuszuurrijk organisch materiaal dat bestand is tegen afbraak en honderden jaren in de bodem kan blijven te vergroten (Elaine R. Ingham, z.d.).

De mycorrhiza-schimmels zijn mutualisten. Ze werken samen met de plantenwortels. De planten geven koolstof in ruil voor dat de schimmels fosfor kunnen oplossen en bodemvoedingsstoffen (fosfor, stikstof, micronutriënten en misschien water) naar de plant kunnen brengen (Elaine R. Ingham, z.d.).

De derde groep schimmels zijn de ziekteverwekkers of parasieten. Ze veroorzaken verminderde productie of zelfs sterfte wanneer ze wortels en andere organismen koloniseren. *Verticillium*, *Pythium* en *Rhizoctonia* zijn wortelpathogene schimmels en veroorzaken jaarlijks grote economische verliezen in de landbouw. Toch kunnen parasiterende schimmels helpen ziekten onder controle te houden. Bijvoorbeeld nematodenvangende schimmels parasiteren ziekteverwekkende nematoden en schimmels die zich voeden met insecten kunnen nuttig zijn als biologische bestrijdingsmiddel (Elaine R. Ingham, z.d.).

Bodemmicroben spelen een belangrijke rol in de productiviteit en diversiteit van planten en dat vooral in voedselarme ecosystemen. Daarin zijn de plantensymbionten (mycorrhizaschimmels en stikstofbindende bacteriën) verantwoordelijk voor het opnemen van de beperkte voedingsstoffen die in die bodems aanwezig zijn. Zo nemen ze in grasland en savanne vijf tot twintig procent van alle stikstof op en in gematigde en boreale bossen tot tachtig procent. De plantensymbionten nemen ook tot 75 procent van alle fosfor op die een plant nodig heeft. Andere microben helpen de planten dan weer door voedingsstoffen te mineraliseren. Bodemmicroben, inclusief microbiële pathogenen hebben ook nog andere belangrijke functies zoals de dynamiek van de plantgemeenschappen mee te bepalen door het vergemakkelijken van invasie door exotische planten. Er wordt gesuggereerd dat er ongeveer 20.000 plantensoorten afhankelijk zijn van microbiële symbionten. Ze zorgen voor groei en overleving en regelen dus de rijkdom aan plantensoorten op aarde (Van der Heijden et al., 2008).

Ecosystemen die door bacteriën gedomineerd worden, hebben meestal een hoge graad van verstoring, een hoge nutriëntenbeschikbaarheid en een neutrale tot licht zure pH. Ze hebben

meestal ook een lager organisch stofgehalte doordat er verhoogde biologische activiteit is. Ertegenover staan de ecosystemen die door schimmels gedomineerd worden. Dat zijn meestal zure bodems met een hoog organisch stofgehalte, een lage graad van verstoring en hebben een lage graad van hulpbronnen. De twee bodems kunnen wisselen als de omgeving wisselt, bacteriegedomineerd wordt schimmelgedomineerd tijdens primaire successie (Bardgett et al., 2005), andersom, van schimmel- naar bacteriegedomineerd gebeurt door nutriëntenverrijking en intensivering van de landbouw (de Vries et al., 2006).

Bacteriegedomineerde bodems verhogen de beschikbaarheid van voedingsstoffen voor planten en de snelheid van mineralisatie van voedingsstoffen. Schimmelgedomineerde bodems bevorderen een trage en zeer conservatieve kringloop van voedingsstoffen (Wardle et al., 2004). In een eerder onderzoek van Bardgett et al. (2006) werd aangetoond dat de aanwezigheid van de hemiparasiet *Rhinanthus minor* in grasland leidt tot een verschuiving in de samenstelling van de microbiële gemeenschap naar een meer bacteriegedomineerde bodem en dat leidt naar een grotere plantendiversiteit doordat er meer stikstof in de bodem zat (Van der Heijden et al., 2008).

Er zijn veel verschillen tussen bacterie- en schimmelgedomineerde bodems. Bij een schimmelgedomineerd voedselweb is er een gesloten nutriëntencyclus, bij een bacteriegedomineerd een open nutriëntencyclus, er is nutriënten aan-en afvoer. Zoals eerder al vermeld is er bij de schimmels een trage doorgang en een lage beschikbaarheid van nutriënten (Van der Heijden et al., 2008).

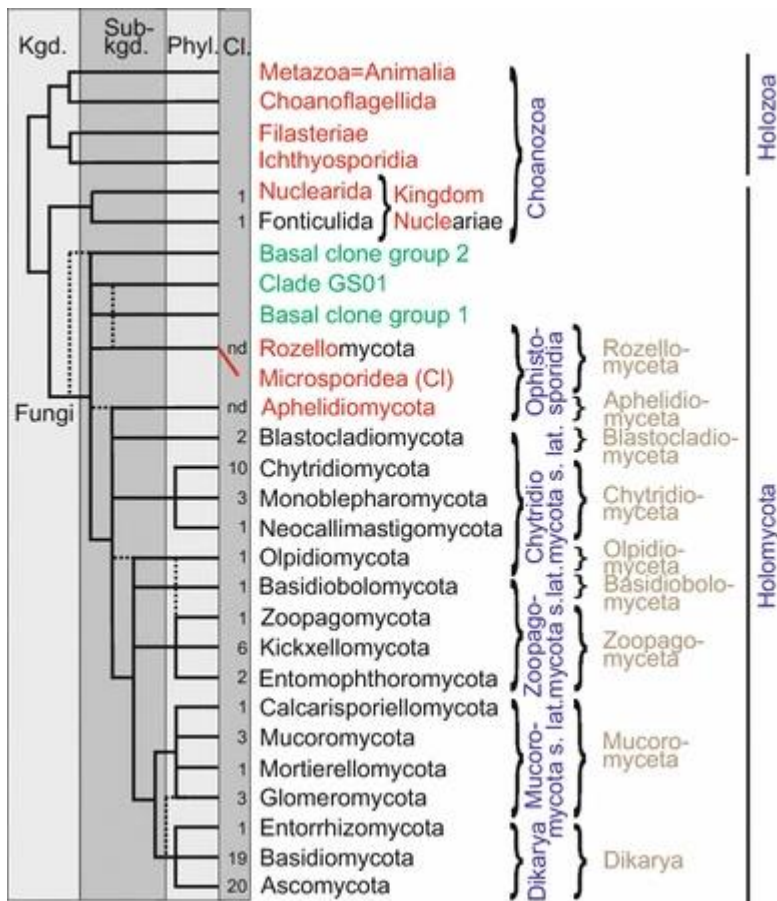
De planten die op schimmelgedomineerde bodems groeien zijn traaggroeiende planten ten opzichte van bij bacteriegedomineerde waar er snelgroeiende soorten groeien. Schimmelgedomineerde voedselwebben hebben een lage bladafvalkwaliteit en een lage hulpbronkwaliteit. Bacteriegedomineerde voedselwebben hebben een hoge bladafval- en hulpbronkwaliteit. De bacteriegedomineerde bodems zijn onderontwikkeld en arm aan organische stof en hebben een vroege successie (Van der Heijden et al., 2008).

2.2.1 Indeling van de schimmels

Schimmels vallen onder het rijk (regnum) van de fungi. Dat zijn de schimmels en zwammen die zich voeden met organisch materiaal door het absorberen van organisch materiaal (Joris Michiels & Katrijn Ingels, 2020). Hoe het rijk verder is onderverdeeld is afhankelijk van welke bron er geraadpleegd wordt (figuur 2). De ontwikkeling van de indeling van de schimmels evolueert constant doordat er met nieuwe methodes, nieuwe soorten gevonden worden en dus ook de indeling ervan verandert (Tedersoo et al., 2018).

Het rijk van de fungi wordt onderverdeeld in vier grote subrijken. De zoösporische fungi, de zygomycetische fungi, de Dikarya en de fungi incertae sedis. Volgens Spatafora zijn er 8 stammen (phyla), 12 substammen (subphyla) en 46 klassen in het rijk van de fungi. De 8 verschillende phyla zijn: de Cryptomycota (wat een synoniem is voor de Rozellomycota), Microsporidia, Blastocladiomycota, Chytridiomycota, Zoopagomycota, Mucoromycota, Ascomycota en Basidiomycota (Spatafora et al., 2017).

Volgens Naranjo-Ortiz en Gabaldón zijn er 9 stammen. De 9 phyla zijn: Opisthosporidia, Chytridiomycota, Neocallimastigomycota, Blastocladiomycota, Zoopagomycota, Mucoromycota, Glomeromycota, Basidiomycota and Ascomycota (Naranjo-Ortiz & Gabaldón, 2019).



Figuur 2: De classificatie van schimmels op stamniveau. De cijfers achter de phyla staan voor het aantal klassen dat er in elk phylum zit. De rode namen geven de wetenschappelijke naamgeving van organismen die als dier worden beschouwd weer. De groene namen zijn de niet-officiële namen van onbeschreven grote clades. De paars-blauwe namen geven de namen weer van de oude classificatie en van de taxonomische super- en subrang. De beige namen zijn de taxa die overeenkomen met de rang van het subrijk (Tedersoo et al., 2018).

In de plots die onderzocht worden, komen soorten uit zeven verschillende phyla voor. Deze worden hieronder besproken.

Phylum Basidiomycota: De stam van de Basidiomycota vormt samen met de Ascomycota het subkoninkrijk Dikarya. Er behoren meer dan 31000 soorten fungi tot de stam van de Basidiomycota. De fungi die in de groep van de Basidiomycota zitten, zijn parasitair of saprotroof op planten of insecten. Ze onderscheiden zich doordat ze basidiosporen produceren op het einde van speciale knotsvormige structuren, de basidia. Basidiomycota planten zich meestal seksueel voort. Voorbeelden van soorten die tot deze stam behoren zijn paddenstoelen, oesterzwammen, roest... (Taylor et al., 2015) (*Fungus - Annotated Classification | Britannica*, z.d.).

Phylum Ascomycota: De stam van de Ascomycota is een van de vier stammen die pathogene organismen bevatten in het rijk van de fungi. De stam bevat de meeste soorten die besmettelijk zijn voor mensen die geen verzwakte gezondheid hebben. De Ascomycota hebben een zak waarin sporen geproduceerd worden, die zak heet de ascus. De soorten die tot deze stam behoren, planten zich meestal ongeslachtelijk voort maar er zijn er ook die zich geslachtelijk voortplanten. Het is de grootste stam, er zijn al meer dan 33000 soorten die behoren tot de stam van de Ascomycota. Enkel degenen die geslachtelijk voortplanten, hebben een ascus.

Voorbeelden die tot deze stam behoren zijn kopschimmels, zadelschimmels, truffels en gisten (Berman, 2012) (*Fungus - Annotated Classification | Britannica*, z.d.) (Money, 2016).

Phylum Mucoromycota: De stam van de Mucoromycota zijn schimmels die interageren met planten als onderdeel van de plantenmicrobiota. De Mucoromycota zijn vroeg divergerende schimmels die een brede rol hebben in gunstige of pathogene interacties met planten, afhankelijk van de fylogenetische positie (Bonfante & Venice, 2020).

Phylum Mortierellomycota: De stam van de Mucoromycota plant zich ongeslachtelijk voort via sporangia en sporangiolen. De sporangia zijn bolvormig en meersporig. De soorten die onder de stam vallen zijn meestal saprotrofen die in de bodem leven. Ze nemen organisch materiaal op uit andere dode organismen (Tedersoo et al., 2018).

Phylum Chytridiomycota: Onder de stam van de Chytridiomycota vallen vooral in het water levende schimmels. Ze worden ook wel chitriden genoemd omdat ze celwanden van chitine hebben. Ze planten zich vooral ongeslachtelijk voort door zoösporen in het water (McConnaughey, 2014) (*Fungus - Annotated Classification | Britannica*, z.d.).

Phylum Rozellomycota: De stam van de Rozellomycota en de stam van de Cryptomycota zijn dezelfde omdat Rozella het enige geslacht in de groep van de Cryptomycota is. Ze komen vooral voor als parasieten in aquatische systemen en in bodemecosystemen. De stam kan op efficiënte wijze koolstof en energie overbrengen van hun gastheren naar grazend zoöplankton en andere tertiaire consumenten. Ze zijn zelf de secundaire consumenten en de primaire consumenten zijn de planten, de gastheren (Gleason et al., 2012).

Phylum zoopagomycota: De stam van de Zygomycota omvat enkel de klasse van de zygomyceten. De zygomycota worden ook wierzwammen genoemd. Ze doen aan geslachtelijke voortplanting door zygosporen of ongeslachtelijk door sporangia. In deze stam zijn er vooral mycorrhizaschimmels maar ook wortelendofyten en afbrekers van plantaardig materiaal (Spatafora et al., 2016).

2.3 Mesofauna

De mesofauna zijn de ongewervelde organismen tussen de tachtig μm en twee mm groot. Tot die categorie behoren de springstaarten, de mijten en de enchytraeidae, waaronder de potwormen vallen (Barrios, 2007). Ze komen vrijwel in elke bodem voor. Sommige mesofauna eten algen, bacteriën of schimmels, anderen eten organisch materiaal. De functies van de mesofauna zijn de stimulering van micro-organismen, de afbraak van organische stof en de afzetting van fecaliën om de bodemvruchtbaarheid te verhogen (Soil-Net.com - Macrofauna and Mesofauna, z.d.).

Voorbeelden van mesofauna zijn mijten en springstaarten. Ze maken dus ook nutriënten beschikbaar door het afbreken van organische stof, reguleren schimmel- en bacteriepopulaties en verbeteren de bodemstructuur door humus- en aggregaatvorming. Aantallen variëren van veertig tot 120 duizend individuen per vierkante meter; In Nederland komen minstens 600 soorten voor (Zanen et al., 2011).

Potwormen behoren ook tot deze groep. Ze zijn complementair met regenwormen omdat potwormen bij een veel lagere pH-waarde kunnen leven dan regenwormen. De rol die regenwormen bij hogere pH-waarden spelen, nemen de potwormen over bij lagere pH-

waarden. Ze zorgen voor de afbraak van organisch materiaal en verbeteren de bodemstructuur door het graven van gangen en de vorming van bodemaggregaten. Meestal gebruiken ze wel bestaande gangen. De meeste potwormsoorten komen vooral in de bovenste 15 cm van de bouwvoor voor. Potwormen komen bijna in elke bodem voor. Hun dichtheid varieert van enkele honderden tot een paar miljoen per vierkante meter. Er komen in Nederland ruim vijftig soorten voor. Als de grondbewerkingsintensiteit toeneemt, nemen de potwormen in aantal af (Bokhorst, z.d.) (Zanen et al., 2011).

Springstaarten hebben een optimale temperatuur tussen de 20°C en de 50°C maar sommige bacteriën kunnen wel tot 100°C overleven. Bodemstructuur en -textuur zijn ook heel belangrijk voor het bodemleven, leem- en kleigronden met een gemiddelde textuur zijn ideaal voor regenwormen terwijl zandgronden met lager waterretentiepotentieel minder ideaal zijn (van der Putten et al., 2010).

2.4 Macro-en megafauna

De laatste groep zijn de macro-en megafauna met een grootte van 500 µm tot 50 mm. Het zijn bijvoorbeeld regenwormen, termieten, slakken en spinachtigen (Barrios, 2007).

In sommige ecosystemen dragen de macrofauna substantieel bij aan het functioneren van het bodemvoedselweb en zijn ze verantwoordelijk voor het grootste deel van de totale dierlijke biomassa in de bodem. De macrofauna kunnen tot de meest diverse groep in het bodemmilieu behoren. Een paar macrofaunasoorten zoals de regenwormen worden beschouwd als ecosysteemingenieurs die onderzoeksfocus aantrekken, terwijl studies over de meeste andere macrofauna in de bodem verspreid en ongelijkmatig blijven (Gongalsky, 2021).

Net zoals bij de potwormen komen van de regenwormen de meeste soorten vooral in de bovenste 15 cm van de bouwvoor voor. Regenwormenaantallen variëren van geen tot duizend per vierkante meter. In Nederland zijn ongeveer 25 soorten bekend (Zanen et al., 2011). Ze zijn zeer nuttig omdat ze plantenresten eten en bodemorganisch materiaal injecteren in verschillende stadia van ontbinding. Ze eten ook minerale deeltjes van de bodem mee op en nadat hun voedsel verteerd is, is hun uitscheiding vaak goed geaggregeerd en voedzaam. Zo komen voedingsstoffen vrij en zijn ze beschikbaar voor groeiende planten (Zanen et al., 2011).

Er zitten ook mieren in de bodem die zich voeden met dode organische resten. Sommige mieren zijn herbivoren en enkele zijn roofdieren op andere bodemorganismen. Mieren hebben, net zoals regenwormen, de neiging om de grond te beluchten en te mengen, waardoor de bodemdrainage toeneemt (*Soil-Net.com - Macrofauna and Mesofauna*, z.d.).

2.5 Bosbeheer

In België bestaat het grondgebied voor 23 procent uit bos, dat is iets meer dan 700.000 hectare. Er is wel een groot onevenwicht tussen de drie gewesten. Van het totale bosarsenaal ligt 78,9% in Wallonië, 20,7% in het Vlaamse Gewest en 0,3% in het Brussels Hoofdstedelijk Gewest ('De Belgische bossen — Koninklijke Belgische Bosbouwmaatschappij', z.d.). In Nederland is het grondgebruik voor 11% bos. In totaal heeft Nederland een oppervlakte van 363.801 ha aan bos. Bijna de helft van het bos ligt daar in de provincies Noord-Brabant en

Gelderland (*Oppervlakte bos in Nederland, 1970-2021 | Compendium voor de Leefomgeving, z.d.*) (Mart-Jan Schelhaas et al., 2021).

De bossen die in dit onderzoek bemonsterd werden, zijn allemaal gelegen op dekzanden. Dekzanden zijn ontstaan in de laatste ijstijd, het Weichselien. Het dekzand is gevormd onder invloed van wind en smeltwater dat zanden verstuift en verspoelt toen het klimaat omsloeg van koud en nat naar zeer koud en droog. Toen het zeer koud en droog werd, kon er niks meer groeien waardoor het zand los kwam te liggen. De naam dekzand is afkomstig van dat het over oudere afzetting heen ligt (Drenthe, z.d.) (Mieke Kokshoorn, z.d.).

Doordat de meeste bossen op dekzanden geplant zijn, is er een probleem in de nutriëntenhuishouding; de basische kationen zoals calcium, magnesium, natrium en kalium zijn uitgespoeld maar aan stikstof is er een overschot (Desie, Vancampenhout, Nyssen, et al., 2020). De overschot aan stikstof zorgt ervoor dat sommige stikstofminnende soorten een voordeel krijgen bij de groei en het bos gaan overheersen. De afname van fauna en flora boven de grond is gelinkt aan de bodemdegradatie en aan de verminderde vitaliteit van de bossen (Diekmann & Falkengren-Grerup, 2002).

2.5.1 Boomsortkeuze

De boomsortkeuze heeft effect op de biodiversiteit en de ecosysteemdiensten. In Zweden hebben ze onderzoek gedaan in productiebossen waar normaal grove den (*Pinus sylvestris*) verbouwd wordt maar nu geregenereerd zijn met fijnspar (*Picea abies*). Dat leidt tot voordelen zoals verminderde vraat op standniveau door herbivoren. Het mengen van soorten geeft ook goede dingen voor de biodiversiteit, productie, verminderde kwetsbaarheid door storm-, vorst- en droogteschade. Het mengen van soorten geeft ook minder risico op uitbraken van plagen en van ziekteverwekkers (Felton et al., 2020).

Williston en LaFayette hebben onderzoek gedaan naar welke bomen best groeien op welke grond. Dat heeft aangetoond dat de meeste boomsoorten kunnen groeien over een brede pH-range (Williston & LaFayette, 1978). Er zijn ook boomsoorten die een smal bereik hebben; de Europese lork geeft de voorkeur aan bodems met een pH tussen de 6 en 7. Gematigde bosbodems hebben een pH tussen de 3 en de 5 (Osman, 2013).

De boomsortkeuze heeft invloed op de bodemverzuring. De kwaliteit van het strooisel kan de verzuring versnellen of tegengaan. Er moet wel veel rijkstrooisel toegevoegd worden om effect te hebben. Als er aan meer dan 30% van het basisoppervlak rijkstrooisel toegevoegd wordt, verbetert de bovengrond. Voor rijkstrooisel zijn er 3 dingen belangrijk: strooiselkwaliteit - strooiselaandeel – locatiekwaliteit (Desie, Vancampenhout, van den Berg, et al., 2020).

De boomsortkeuze kan ook bepalen welke andere soorten kunnen kiemen. Dat kan belangrijk zijn als oude boomsoorten terug kolonisatiekansen krijgen (Thomaes et al., 2011).

Het is bij de keuze van boomsoorten heel belangrijk dat er boomsoorten gekozen worden met complementaire boven-en ondergrondse eigenschappen zodat de boomdiversiteit en de productiviteit bevorderd worden (Jing et al., 2021).

2.5.2 Bostypes

De bostypes zijn doorheen de jaren gewijzigd doordat zowel de omgevingsfactoren als de menselijke tussenkomst wijzigden. Met de verschillende grondgebruiken (en bostypes),

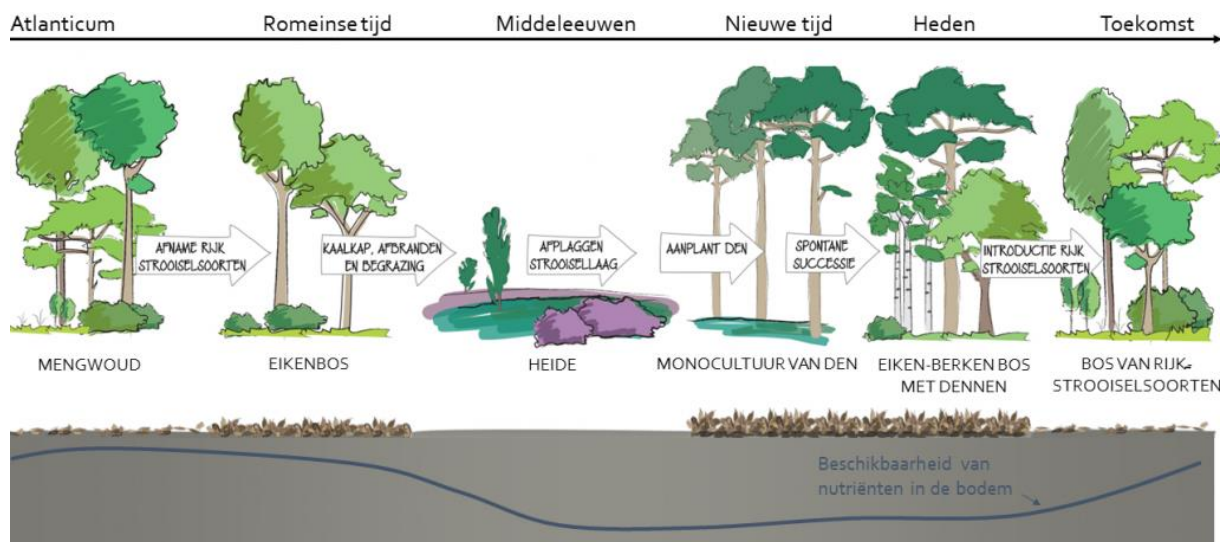
verandert ook de beschikbaarheid van nutriënten in de bodem (figuur 3) (Oosthoek & Richard Hölzl, 2018).

Tijdens het Atlanticum waren er in Nederland vooral gemengde bossen met daarin linde (*Tilia* sp.), eik (*Quercus* sp.), iep (*Ulmus* sp.), zoete kers (*Prunus avium*) en hazelaar (*Corylus avellana*). Door de bossen veel te gebruiken maar vooral leeg te halen werd de bodemsamenstelling ernstig verstoord. Tijdens de Romeinse tijd werd eik en beuk (*Fagus sylvatica*) aangeplant omdat deze houtsoorten nuttig waren. De eikels en beukenootjes konden als voedselbron dienen voor de zwijnen. Er werd meer hout geoogst dan er bijgroeide en de bossen veranderden tot stuifzand en heide (Bosgroepen, 2020).

In de middeleeuwen werden veel bossen gekapt omdat hout werd gebruikt om huizen mee te bouwen of als brandstof. Er ontstonden dan heidevlaktes die gebruikt werden als outfields (Simon Klingen, 2020).

In de nieuwe tijd werden de heidevlaktes overbodig. Er kwam bosherstel doordat er dan naalddhout aangeplant werd op de heidevlaktes als productiebos of het werd omgevormd tot landbouwgrond (Simon Klingen, 2020). Productiebossen krijgen te maken met verschillende factoren die hun vitaliteit laten dalen. Vooral de zwavel en -stikstofdepositie die via de lucht komt, komt terecht in de bossen en laten de bodem meer verzuren. Een verzuurde bodem is niet meer in staat om voldoende vocht en voedingsstoffen vast te houden.

De gedegradeerde bodem maakt de bossen kwetsbaar voor verschillende factoren zoals klimaatverandering, droogte en ziektes. Dit is te zien door eikensterfte, forse stormschade en de gevolgen van de extreme droogte. De bossen kunnen zichzelf onvoldoende beschermen en zijn zichtbaar niet goed bestand tegen de veranderende omstandigheden (Bosgroepen, 2020) (Hitchmough & Vera, 2002) (Oosthoek & Richard Hölzl, 2018) (Osman, 2013).



Figuur 3: De landgebruiksveranderingen doorheen de tijd in de Kempen hebben een effect op de nutriëntenbeschikbaarheid in de bodem. Tijdens het Atlanticum overheersten de gemengde bossen met hazelaar, eik, linde, olm en den. Als gevolg van de toenemende druk op de bossen werd eik steeds dominant. De overexploitatie leidde tot ontstaan van heidevlaktes en bracht bodemdegradatie met zich mee in de middeleeuwen. De gedegradeerde heidebodems werden bebost met naalddhout. Naalddhout verhoogde het organisch stofgehalte maar de nutriëntenbeschikbaarheid verbeterde niet aanzienlijk. De huidige eiken-berkenbossen met bijmenging van den kunnen de verzuringsprocessen niet voldoende omkeren. Om de nutriëntenbeschikbaarheid in de bodem te verbeteren, zouden bossen van rijkstrooiselsoorten aangeplant kunnen worden (Nyssen et al., 2018).

Alle bossen zijn ingedeeld in 39 bosplantengemeenschappen. Die zijn ingedeeld in tien bostypegroepen en dertig bostypes. Sommige bostypes worden nog verder ingedeeld in bossubtypes. De tien bostypegroepen zijn vernoemd naar de meest typische boomsoorten die erin voorkomen. Die namen worden voor de bostypes aangevuld met een of twee bepalende soorten uit de kruidlaag. Hetzelfde gebeurt om een bossubtype te benoemen (*Cursus Natuurgids CVN - Hoofdstuk 12: Bos, z.d.*).

De bostypes kunnen ook op een andere manier ingedeeld worden, namelijk in rijk-en armstrooiselbossen. Bepaalde boomsoorten, vooral naaldbomen, zorgen voor armstrooisel. Andere soorten, die hoge basenconcentraties in hun bladeren hebben, zoals linde, kers, populier en esdoorn zorgen voor rijkstrooisel (Desie, Vancampenhout, Nyssen, et al., 2020). Rijkstrooiselsoorten hebben de strategie waarbij ze hun nutriënten afgeven met hun strooisel. Strooisel is halfverteerd materiaal dat op de minerale bodem ligt. Rijkstrooisel heeft een hogere kwaliteit dan armstrooisel, het verteert sneller dan arm. De strooiselsoort is bepalend voor de successie van de bodemverzuring (Desie, Vancampenhout, van den Berg, et al., 2020) (Ellen Desie et al., 2021).

Het bostype dat het meest voorkomt in Vlaanderen is het dennen-eikenbos. Het maakt twee derde van het Vlaamse bosareaal uit. Het dennen-eikenbos komt voor op de Vlaamse zandrug en op de voedselarme, droge, zure zandgronden in de Kempen. De soorten die van nature dit bostype domineren zijn ruwe berk en zomereik, maar die soorten zijn op de meeste plaatsen vervangen door twee andere boomsoorten: de grove den en de Corsicaanse den. Die laatste soorten zijn vaak aangeplant op plaatsen die ooit heidegebieden waren. Spontaan-vestigende loofboomsoorten zijn vaak Amerikaanse eik en Amerikaanse vogelkers. De kruiden die er te vinden zijn, zijn bochtige smele, brede stekelvaren en pijpenstrootje. Soms vormt blauwe bosbes een dwergstruiklaag (*Cursus Natuurgids CVN - Hoofdstuk 12: Bos, z.d.*).

Het essen-eikenbos is een gemengd loofbos waarin gewone es, zomereik en soms gewone esdoorn typische soorten zijn. Het gaat dikwijls om oude bossen waarin dan ook 'oudbossoorten' groeien zoals bosanemoon, gele dovenetel, gewone salomonszegel, wilde hyacint en witte klaverzuring. Het Essen-eikenbos is ontstaan op plaatsen die ofwel te nat zijn voor beuk ofwel waar deze soort door eeuwenlang hakhout- of middelhoutbeheer is weggehouden (*Cursus Natuurgids CVN - Hoofdstuk 12: Bos, z.d.*).

Een kenmerk van het eiken-beukenbos is de afwezigheid van gewone es terwijl beuk er wel een belangrijk aandeel in heeft. Beuk domineert niet door de menselijke ingrepen ten voordele van eik. In de kruidlaag zijn adelaarsvaren, dalkruid, lelietje-van-dalen, ruige veldbies en valse salie te vinden. Wanneer de standplaats verdroogt kan een Eiken-beukenbos ontwikkelen uit een Essen-eikenbos (*Cursus Natuurgids CVN - Hoofdstuk 12: Bos, z.d.*).

Op natte, voedselarme en zure standplaatsen komt het berken-elzenbos voor. De typische boomsoorten zijn zachte berk, zomereik en zwarte els. In de kruidlaag is pijpenstrootje de meest voorkomende soort. Het bostype heeft een goed ontwikkelde moslaag die verschillende veenmossoorten bevat. De struik wilde gagel domineert vaak de open plekken in het Berken-elzenbos (*Cursus Natuurgids CVN - Hoofdstuk 12: Bos, z.d.*).

2.5.3 Strooiselsoorten

Het grote doel van strooisel is het opslaan of capteren van koolstof in de bodem. Vocht en temperatuur hebben een belangrijke invloed op de vroege afbraaksnelheid van strooisel maar vooral de aanwezige planten zijn bepalend. Er zijn rijkstrooiselsoorten en armstrooiselsoorten. Rijkstrooisel verteert makkelijk en is voedselrijk, het wordt gebruikt als strategie om de bodemzurende effecten te verminderen en nutriënten te herstellen (Desie, Vancampenhout, Nyssen, et al., 2020) (Prescott, 2010).

Stabiele organische stof wordt gecreëerd door microbiële en biochemische transformaties van materialen in nieuwe weerbarstige verbindingen. Vaak leidt het toevoegen van stikstof tot een grotere stabilisatie in humus door een samenwerking van enzymremming en chemische reacties. Om meer koolstof te capteren moet er strooisel omgezet worden in humus. Dat gebeurt door microbiële en chemische reacties en als het omgezet is, moet het chemisch of fysisch beschermd worden in de minerale bodem. Dit kan bijvoorbeeld door stikstof toe te voegen in de bodem via stikstoffixerende planten of door stikstof als bemesting (Prescott, 2010).

Een ander probleem is de verzuring in de bodem. Vooral in zandgrond is dat een probleem omdat die een minder bufferend vermogen heeft van zichzelf. Zoals hierboven al staat, zijn de plantensoorten bepalend voor de bodem. Voedselrijk strooisel toevoegen om verzuurde bosbodems te herstellen kan leiden tot een betere productiviteit, veerkracht en vitaliteit van het bos. Het doel is eigenlijk dat de rijkstrooiselsoorten de nutriëntenstatus kunnen verbeteren in de bodem. De hoeveelheid strooiselbasiskationen zijn de bepalende eigenschap voor het bufferen van de bodem. Er wordt rekening gehouden met de wet van Liebig: De stof die het minst aanwezig is, bepaalt de groei van planten en is dus de limiterende factor. Als er dan meer wordt toegevoegd van een voedingsstof die niet te weinig is, dan heeft dit geen enkele invloed op de groei (*De ene meststof is de andere niet - Deel 2, z.d.*). Als dus stikstof niet de beperkende invloed is in de bodem, worden de kationen calcium, magnesium en kalium bepalende factoren. Daarom is het inbrengen van boomsoorten die rijkstrooisel veroorzaken een goede zaak voor het saneren van verzuurde bodems die veel stikstof ontvangen hebben via de lucht (Desie, Vancampenhout, Nyssen, et al., 2020).

2.6 Invloed van bosbeheer op het bodemleven

Er is een recente ontwikkeling naar het steeds meer oogsten van het takhout bij houtoogst. Daardoor blijft er in vergelijking met alleen stamhout oogsten minder tak- en top hout achter dat door vertering wordt toegevoegd aan het organische materiaal en de nutriëntenvoorraad in de bodem. Deze ontwikkeling kan leiden tot een verarming voor bepaalde nutriënten. Over de compenserende maatregelen voor behoud of herstel van bosbodemmilieu en nutriëntenvoorraad is nog weinig bekend. Het is duidelijk dat zowel in bossen met houtoogst als in natuurbossen op zandgronden belangrijke bufferende mineralen uit het bosbodemmilieu verdwijnen. Dit kan invloed hebben op de vitaliteit van de bomen maar ook op de dierlijke voedselketens. Een bos is een vegetatievorm die vele decennia ontwikkeling nodig heeft om tot volle wasdom te komen. Het herstel van de bosbodem is dus niet alleen afhankelijk van compensatie van nutriënten op één moment (de Jong et al., 2015).

Als er hout wordt geoogst om bijvoorbeeld biobrandstof te maken, wordt er aan de beschikbaarheid van kationen, fosfor en stikstof geraakt. Het heeft ook een groot effect op de ontwikkeling en functies van de ectomycorrhizae dat dan weer een effect heeft op de nutriëntenopname van andere planten en de groei ervan. Studie in een 35-jarig oud sparrenbos waar herhaaldelijk dode (of afgezaagde) takken uit het bos gehaald worden, toont aan dat er een significante daling is in de dikte van de humuslaag en in het aantal ectomycorrhiza-wortelpunten, zowel per eenheid humusvolume als per meter wortellengte. Er zijn dus weinig tot geen veranderingen in de mycorrhizaestammen door het oogsten. De houtresten wegnemen heeft enkel effect op de hoeveelheid en de ontwikkeling van de ectomycorrhiza-wortels in de organische horizon (Mahmood et al., 1999).

Eerder onderzoek heeft al aangetoond dat er tot wel bijna 400.000 springstaarten en mijten per vierkante meter in bosbodems kunnen zitten en dat er geen significant verschil is in de hoeveelheden bij jonge en oude bossen. Op aantal soorten is er wel een significant verschil, het aantal soorten bij een jong bos ligt tussen 22 en 38, bij een oud bos tussen 38 en 53. Dat grote verschil in soorten aantal is te wijten aan de vele verschillende soorten schimmelelers die enkel voorkomen in oude bossen. De aantallen die gelijk zijn in jonge en oude bossen zijn te wijten aan de grote aantallen herbivoren (algen en eters van dode bladeren) die zich in jonge bossen bevinden. In jonge bossen bevinden zich significant meer herbivoren. In oude bossen is er een relatief groot aandeel van schimmelelers (85%) in de totale bodemfauna ten opzichte van bij jonge bossen, daar is het aandeel minder dan vijftig procent en dat wordt aangevuld met herbivoren omdat de organische stof vermoedelijk nog makkelijker verteerbaar is (Siepel, 2015).

In dat onderzoek werd ook gekeken of de mate van houtoogst bepalend is voor de diversiteit van de bodemfauna. Dit leidde tot een opvallend resultaat: als de bodem intact bleef maar er bovenop wel bramen en/of brandnetels groeiden, bleef de bodembiodiversiteit gelijk. Het is dus zo dat vooral bodembewerkingen storing van de bodemfauna veroorzaken. Weghalen van vegetatie in het voorjaar of zomer speelt ook een belangrijke rol, want dit zorgt voor uitdroging van de bodem waar vooral schimmeletende soorten slecht of niet tegen kunnen. De hoeveelheid die geoogst wordt is niet zo bepalend, wel de manier waarop. De bodem moet zo veel mogelijk met rust gelaten worden dus niet met zwaar materiaal erop dat diepe sporen achterlaat. Het beste voor de bodembiodiversiteit en de oogst is geen grootschalige oogsten doen tijdens het groeiseizoen en dan geen zwaar materiaal gebruiken dat sporen achterlaat (Siepel, 2015).

De aanwezigheid van meso- en macrofauna verhoogde de algehele afbraaksnelheid van het strooisel, ondanks het remmen van de afbraak door microfauna, bacteriën en schimmels door indirecte effecten (Bradford et al., 2002).

3 MATERIAAL EN METHODE

Dit onderzoek bestaat uit 2 delen; na het veldwerk dat uitgevoerd werd tussen 26/9/2022 en 4/10/2022, werd er een respiratieproef uitgevoerd in het labo in Geel en werd het eDNA uitgelezen in Hasselt. eDNA is environmental DNA, het is dus DNA dat geëxtraheerd wordt uit omgevingsmonsters waarbij vooraf geen doelorganisme geïsoleerd moet worden (Foscari et al., 2022). Bronnen van eDNA zijn onder meer uitgescheiden ontlasting, slijm en gameten; huid en haar afwerpen; en karkassen. (David S. Pilliod et al., 2013)

3.1 Studiegebied

Het studiegebied omvat de zandige streken in Zuid-Nederland in de provincie Noord-Brabant en het noordwesten van Vlaanderen, provincies Antwerpen en Limburg (figuur 6). De bezochte bossen hebben allemaal zandbodems. De mens heeft door de jaren heen de bossen gedegradeerd door onder andere strooiselroof, eenzijdige boomsoortkeuze, overexploitatie en overmatige depositie van stikstof en zwavel. Al deze factoren leiden tot een versnelde bodemverzuring (Augusto et al., 2002). Doordat de meeste bossen op dekzanden geplant zijn, is er een probleem in de nutriëntenhuishouding; de basische kationen zoals calcium, magnesium, natrium en kalium zijn uitgespoeld maar aan stikstof is er een overschot (Desie, Vancampenhout, Nyssen, et al., 2020). De afname van fauna en flora boven de grond is gelinkt aan de bodemdegradatie en aan de verminderde vitaliteit van de bossen. Door de introductie van rijkstrooiselsoorten, kan de verzuring tegengaan worden en de vitaliteit terug beter worden (Diekmann & Falkengren-Grerup, 2002).

3.2 Studieontwerp

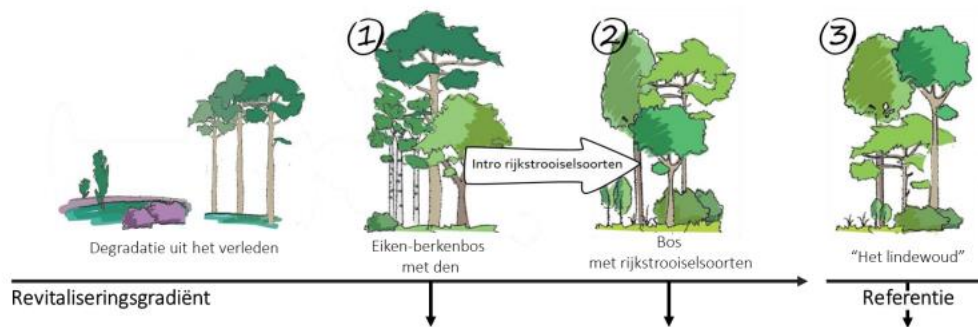
Er worden vijf paren van bestanden en twee referentieplots bemonsterd (figuur 5). In elk paar is er een plot met rijkstrooiselsoorten en een met armstrooiselsoorten. De armstrooiselplots zijn gelegen in fase 1: eiken-berkenbos met den. Na invoering van rijkstrooiselsoorten komt het bos in fase 2: bos met rijkstrooiselsoorten. Daartoe behoren de rijke plots. De bezochte referentieplots komen zo dicht mogelijk overeen met het 'lindewoud' maar de referentie, het lindewoud bestaat eigenlijk niet. In de referentieplots staan er verschillende rijkstrooiselsoorten op een bodem die minder gedegradeerd is door bijvoorbeeld voormalig landbouwgebruik. De referentieplots hebben een speciale boomsoortsaamenstelling. Het referentieplot van Kasterlee is gelegen op een plaggenbodem, en is dus gebruikt voor landbouw, maar door de saamenstelling is er toch beslist het als referentiebos te beschouwen. In Veldhoven heeft het referentieplot een boomsoortsaamenstelling met veel hazelaar en ligt het op een bodem waarop nooit landbouw is uitgevoerd.

De plots worden in paren verdeeld om zo veel mogelijk omgevingsfactoren uit te sluiten zodat enkel de boomsoorten die op de percelen staan een variabele zijn. Er werd ook telkens gecontroleerd of het bodemtype hetzelfde was om die factor van verschil uit te sluiten.

Het verschil tussen de arme en rijke plots zijn de strooiselsoorten (figuur 4). Aan de linkerkant staat een foto van het plot Kasterlee arm en plot Kasterlee rijk staat aan de rechterkant. In de arme plots is er veel meer naaldhout (en dus ook armstrooiselsoorten) ten opzichte van bij de rijke plots waar vooral rijkstrooiselsoorten staan.



Figuur 4: Het verschil tussen de arme en rijke plots. Links staat het plot Kasterlee arm en rechts het plot Kasterlee rijk. In de arme plots is er veel meer naaldhout (en dus ook armstrooiselsoorten) ten opzichte van bij de rijke plots waar vooral rijkstrooiselsoorten staan.



Locaties:

Hechtel-Eksel	X	X	
Kasterlee	X	X	X
Maashorst	X	X	
Veldhoven	X	X	X
Grote heide	X	X	

Figuur 5: Locaties die bemonsterd zijn met de ontwikkelingsfases waarin het zich bevindt. Op elke locatie werd een arme en een rijke plots bemonsterd. In Veldhoven en Kasterlee worden er ook stalen genomen bij de referentieplots.

3.3 Studiesites

Deze studie omvat 14 plots van ongeveer 10m x 10m op verschillende plaatsen in België en Nederland: zes met rijkstrooisel, zes met armstrooisel en twee referentieplots. De site Someren wordt niet meegenomen in de verdere analyses omdat bij de veldcampagne bleek dat beide bostypes op andere uitgangssituaties zijn gelegen (tabel 1). Het was echter de eerste site die werd bemonsterd en ideaal was als een eerste test van het protocol.

De rijkstrooiselsoorten die voorkomen in de plots zijn linde (*Tilia* sp.), winterlinde (*Tilia cordata*), Hollandse linde (*Tilia x europaea*), hazelaar (*Corylus avellana*), zoete kers (*Prunus avium*), Europese vogelkers (*Prunus padus*), haagbeuk (*Carpinus betulus*), ruwe berk (*Betula pendula*) en Amerikaanse vogelkers (*Prunus serotina*), gewone esdoorn (*Acer pseudoplatanus*), Noorse esdoorn (*Acer platanoides*) wilde of gewone lijsterbes (*Sorbus aucuparia*), vuilboom of spork (*Frangula alnus*), tamme kastanje (*Castanea sativa*), es (*Fraxinus excelsior*), boswilg (*Salix caprea*) (Natuurbeheer, z.d.) (Ellen Desie et al., 2021) (de Jong et al., 2015). De douglas spar (*Pseudotsuga menziesii*) en tamme kastanje (*Castanea sativa*) zitten tussenin, de soorten hebben rijker strooisel dan de gemiddelde naaldboomsoort (Sofia Opfer, z.d.).

De armstrooiselsoorten die voorkomen in de plots zijn lork (*Larix* sp.) en grove den (*Pinus sylvestris*) maar ook zomer- winter- en Amerikaanse eik (*Quercus robur*, *Quercus petraea* en *Quercus rubra*), beuk (*Fagus sylvatica*) (P.W.F.M. Hommel & R.W. de Waal, 2004).



Figuur 6: Kaart van de ligging van de studiesites.

Tabel 1: informatie over de studiesites.

Site	Type	Coördinaat	Bodemtype (bodemkaart)	Hoofdboom soort	Boomsoortsamenvestelling	overschermings graad	Grondvlak hoofdboomsoort
Someren	Rijk	N51°25'55,7" E5°39'13,1"	zEZ21 Hoge zwarte enkeerd- gronden; leemarm en zwak lemig fijn zand	Amerikaanse vogelkers	<ul style="list-style-type: none"> • Amerikaanse vogelkers • Zomereik • Gewone esdoorn • Grove den • Amerikaanse eik • Wilde lijsterbes • Spork 	Licht	9,5 m ² /ha
Someren	Arm	N51°25'56,0" E5°39'21,3"	Zd21 Duinvaag- gronden; leemarm en zwak lemig fijn zand	Grove den	<ul style="list-style-type: none"> • Grove den • Vogelkers • Ruwe berk • Wilde lijsterbes 	Licht	13 m ² /ha
Hechtel Eksel	Rijk	N51°10'12,9" E5°23'43,3"	Sbf1z Droge lemig zandbodem met weinig duidelijke ijzer en/of humus B horizont	Linde	<ul style="list-style-type: none"> • Linde • Zomereik • Wintereik • Tamme kastanje 	Normaal/licht	7 m ² /ha
Hechtel Eksel	Arm	N51°10'10,8" E5°23'44,3"	Sbf1z Droge lemig zandbodem met weinig duidelijke ijzer	Grove den	<ul style="list-style-type: none"> • Grove den • Ruwe berk • Amerikaanse vogelkers • Wilde lijsterbes 	Ijl	11 m ² /ha

			en/of humus B horizont				
Kasterlee	Rijk	N51°13'57,8" E4°58'7,7"	X Duingrond of landduin	Grove den	<ul style="list-style-type: none"> • Grove den • Hazelaar • Hollandse linde • Noorse esdoorn • Amerikaanse vogelkers • Haagbeuk • Zomereik • Wilde lijsterbes • Esdoorn zaailing • Kastanje 	Licht	17 m ² /ha
Kasterlee	Arm	N51°13'59,2" E4°58'13,6"	X Duingrond of landduin	Grove den	<ul style="list-style-type: none"> • Grove den • Zomereik • Ruwe berk • Hazelaar • Linde • Wilde lijsterbes • Amerikaans eik 	Ijl	16 m ² /ha
Kasterlee	Referentie	N51°13'28,2" E4°55'49,7"	Zbm Droge zandbodem met dikke antropogene humus A horizont	Winterlinde	<ul style="list-style-type: none"> • Winterlinde • Zoete kers • Haagbeuk • Zomereik • Noorse esdoorn • Gewone vogelkers 	Normaal	16 m ² /ha
Maashorst	Rijk	N51°43' 24,0" E 5°36' 15,3"	gHd30 Haarpodzolgro nden Grof zand	Amerikaanse vogelkers	<ul style="list-style-type: none"> • Amerikaanse vogelkers • Grove den • Zomereik 	Licht	23 m ² /ha

Maashorst	Arm	N51°43' 24,0" E5° 36' 18,0"	gHd30 Haarpodzolgronden; Grof zand	Grove den	<ul style="list-style-type: none"> • Grove den • Amerikaanse Vogelkers • Zomereik 	Licht	9 m ² /ha
Veldhoven	Rijk	N51°25'1,1" E5°22'14,5"	zEZ23 Hoge zwarte enkeerdgronden; lemig fijn zand	Amerikaanse vogelkers	<ul style="list-style-type: none"> • Amerikaanse vogelkers • Grove den • Eik • jonge esdoorn 	ljl	26 m ² /ha
Veldhoven	Arm	N51°25'04,0" E5°22'16,1"	zEZ23 Hoge zwarte enkeerdgronden; lemig fijn zand	Grove den	<ul style="list-style-type: none"> • Grove den • Amerikaanse vogelkers • Zomereik • Berk • Wilde lijsterbes 	Licht	13 m ² /ha
Veldhoven	Referentie	N51°25'1,9" E5° 22' 22,4"	Hd21 Haarpodzolgronden; leemarm en zwak lemig fijn zand	Amerikaanse Vogelkers en Hazelaar	<ul style="list-style-type: none"> • Hazelaar • Amerikaanse Vogelkers • Zomereik • Wilde lijsterbes 	Licht	7 m ² /ha
Grote heide (Heeze)	Rijk	N51°23' 17,9" E5° 33' 6,3"	Hn23 Veldpodzolgronden; lemig fijn zand	Gewone esdoorn	<ul style="list-style-type: none"> • Gewone esdoorn • Boswilg • Gewone es • Douglas spar • Beuk • Hazelaar • Lork sp. • Haagbeuk 	Licht	15 m ² /ha

Grote heide (Heeze)	Arm	N51°23' 12,1" E 5° 33' 0,6"	Hn23 Veldpodzolgro nden; lemig fijn zand	Grove den	<ul style="list-style-type: none"> • Grove den • Ruwe berk • Spork • Lijsterbes • Zomereik • Douglas spar 	ljl	23m ² /ha

3.3 Veldcampagne

3.3.1 Algemene informatie

Er werden plots van 10 m x 10 m aangeduid in het veld. Binnen dit oppervlak werd informatie verzameld zoals de coördinaten (met Garmin gps), het bodemtype volgens de bodemkaart, de boomsoortsamenstelling van het plot (met bitterlich plaatje), het grondvlak van de hoofdboomsoort...(tabel 1). De overschermingsgraad werd geschat. De overschermingsgraad is gedrongen als die groter is dan 100 %, normaal bij een dichtheid van 80 à 100 %, licht bij 60 à 80 % en ijl bij minder dan 60 %. Er worden telkens foto's getrokken van het bestand en de omgeving. Er wordt ook een schets gemaakt van het bestand met indicatie van de toegangsweg en de bemonsterde punten.

Voor het bodemtype van de sites die in Nederland liggen, wordt de website van het PDOK (Publieke Dienstverlening Op de Kaart) gebruikt. Voor de Belgische plots wordt de website 'Geopunt' gebruikt.

3.3.2 Bodemstalen voor eDna en chemische analyse

In elke plot worden willekeurig 10 verschillende gutsprikken genomen om samen een mengstaal te vormen voor de organische laag (OF+OH) en de minerale bodemlagen van 0-10 cm en 10-20 cm. De guts wordt ontsmet met ethanol en een aansteker. In deze thesis wordt gefocust op de eDNA-analyse.

De OF- en de OH-laag zitten onder de OL-laag. De OL laag, is de litterhorizont, de bovenste horizont waar de relatief verse, dode plantendelen te vinden zijn. De horizont bevat geen tot zeer weinig uitwerpselen van bodemfauna en geen wortels. In de horizont zitten geen tot weinig gefragmenteerde delen (Imboschberg & Mekking, 2001).

De OF-laag is de fermentatiehorizont. De laag bestaat uit macroscopisch herkenbare resten van plantenweefsels. De fijn verdeelde organische stof, die eigenlijk de bij OH-laag hoort, is er ook wel maar is qua hoeveelheid ondergeschikt aan de herkenbare resten. De horizont is doorworteld en bevat soms schimmels (Imboschberg & Mekking, 2001).

De 3^e laag is de OH-laag, de humushorizont. Dit is de laag die net boven de minerale bodem zit. Doordat die laag er net boven zit, mengen ze ook. Zolang er minder dan 70% gewicht minerale delen zijn, behoort het tot de OH-laag. De laag bestaat uit fijn verdeelde organische stof gemengd met macroscopische herkenbare plantendelen maar die komen voor in mindere hoeveelheden (Imboschberg & Mekking, 2001).

3.3.3 Bodemstalen voor micro-biota analyse en respiratie

Zoals bij de bodemstalen voor eDNA worden er hier ook 10 gutsprikken genomen op 3 verschillende dieptes (OF+OH, 0-10cm en 10-20 cm). Voor de microbiota-analyse wordt er ook nog een extra staal genomen van de minerale bodem. Hierbij moet dus ook eerst de guts ontsmet worden met ethanol en een aansteker. De stalen worden bewaard in de koelkast. Ze

worden ook nog gesplit. Het spitten wordt gedaan door telkens het staal in vier groepen te verdelen en daar telkens twee diagonaal van weg te nemen. De twee groepen die dan diagonaal er nog liggen, worden dan ook weer terug samen gedaan en terug in vier groepen gelegd. Dit gaat zo door tot nog de gewenste hoeveelheid overblijft. Dat splitten gebeurt zo omdat dan het hele staal gemengd zit en je dus een representatief staal krijgt van alle gutschikken samen per plot. Een deel wordt gebruikt voor de respiratieproef en het andere deel voor te vriesdrogen. In deze thesis wordt gefocust op de respiratie analyse.

3.4 In het labo

3.4.1 Respiratieproef

Bij de respiratieproef wordt er gemeten hoeveel CO₂ er vrijkomt per staal.

De proef begint met het afwegen van 10g vers bodemstaal. Dat wordt dan 1 nacht gedroogd op 105°C. Er wordt 3 keer 10g per staal gedroogd. Na het drogen wordt het bodemstaal terug gewogen en gekeken hoeveel massa er nog overblijft. Die massa's worden gebruikt voor de berekening van het vochtgehalte met de formule die hieronder is weergegeven. Ten slotte wordt het gemiddelde van de 3 vochtgehaltenes per staal berekend en daarmee wordt verder gedaan.

$$\text{Vochtgehalte [\%]} = \frac{m_1 - m_2}{m_2} * 100\%$$

Waarbij: m_1 = massa van het verse bodemstaal [g]

m_2 = massa van het droge bodemstaal na 1 nacht drogen bij 105°C [g]

Als tweede grote stap wordt er in elk potje 100 gram droge bodem toegevoegd. Er is nog vocht aanwezig in de bodemstalen dus wordt dit omgerekend naar vers gewicht met de onderstaande formule. Het vochtgehalte dat hierin gebruikt wordt is het gemiddelde van de 3 vochtgehaltenes die per staal bepaald werden hierboven.

$$\text{Massa verse bodem [g]} = 100g * \left(1 + \left(\frac{\text{vochtgehalte}}{100\%} \right) \right)$$

Er moet 60 % van het totale poriënvolume gevuld worden met water. Om te weten hoeveel extra water er toegevoegd moet worden, wordt eerst het totale poriënvolume berekend met onderstaande formule.

$$\text{Totale poriënvolume [\%]} = \left[1 - \left(\frac{\text{bulkdensiteit}}{\text{densiteit van de bodemmineralen}} \right) \right] * 100\%$$

Daarna wordt dan het totale poriënvolume maal 60% gedaan.

Er wordt met vochtige bodemstalen gewerkt dus er moet rekening gehouden worden met de hoeveelheid water dat al aanwezig is.

Dan worden de verse bodemstalen aangevuld met water dat 2 weken wordt geïncubeerd op 25°C zonder het deksel.

De dag voor de meting worden de potjes terug dicht gedaan en wordt de dag erna gemeten met een draagbare gasmeter, de PBI Dansensor CheckPoint ||, waarmee het CO₂ gehalte

gemeten wordt in %. De meting heeft in totaal 18 dagen geduurd waarvan er op 8 dagen gemeten is.

De eerste week wordt het CO₂ gehalte gemeten op dag 1, 2, 3 en 4. De deksels blijven die week constant op de potjes. Na 4 dagen gaan de deksels eraf en dan gaan de potjes enkel dicht de dag voor de meting. Ze blijven dan dus maximaal 24 uur dicht, de tijd wordt genoteerd. De tweede week wordt er 2 keer per week gemeten, de 3^e week nog maar 1 keer. Het water moet ongeveer constant blijven, dat wordt gecontroleerd aan de hand van het gewicht van de potjes dat ongeveer constant moet zijn.

Ten slotte wordt het aantal microgram koolstof berekend dat vrijkomt per dag en per gram grond uit de gemeten CO₂-percentages. De volgende vergelijking wordt daarvoor in Excel ingegeven:

$$\mu\text{g C} / (\text{dag} * \text{g grond}) = (0,007195 * (\% \text{CO}_2 / 100) / 100 * 12 * 1000000) / \text{aantal uur dicht} * 24$$

De 0,007195 is het aantal mol lucht dat zich in het potje bevindt. Het CO₂-percentage / 100 is de berekening van het aantal mol CO₂ in het potje waar 100 gram grond in zit. Daarom wordt het nog gedeeld door 100, om het aantal mol CO₂ per gram grond te berekenen. De vermenigvuldiging met 12 is afkomstig van het aantal gram koolstof dat wordt omgezet met de molaire massa van koolstof. 1 000 000 Wordt gebruikt voor de omrekening van gram C naar $\mu\text{g C}$. Het aantal uur dicht is het aantal uur dat het potje dicht is geweest, dit is tot en met de vierde meetdag een optelling, erna is dat telkens ongeveer 24 uur. Omdat het aantal microgram koolstof per dag en per gram wordt uitgedrukt, wordt het nog vermenigvuldigd met 24 om de uren in dagen om te zetten.

Om bij de respiratieproef een cumulatieve respiratiecurve te maken worden de resultaten van de hoeveelheid koolstof die vrijgekomen is gebruikt. De curve wordt opgesteld aan de hand van volgende formule:

$$\text{Som } \mu\text{g C vorige meting} + (\mu\text{g C nieuwe meting} * \text{aantal dagen verschil tussen de meting}).$$

3.4.2 eDNA analyse

Nadat de stalen in het bos steriel genomen zijn, worden ze gesplit zoals bij de respiratieproef. Het splitsen gebeurt om een representatief substaal te hebben voor de verdere analyses zodat er delen van het hele plot (dus van alle gutsprikken) gemengd worden. Het volledige staal wordt in 4 groepen gedeeld, waarbij telkens de 2 diagonaal overstaande groepen weggehaald worden. De 2 groepen die er dan nog liggen, worden terug in 4 groepen verdeeld waarvan er dan weer 2 weggehaald worden. Dat wordt herhaald tot er ongeveer 10 gram gemengd staal overblijft. Dat wordt dan gedroogd op 37°C om het DNA niet te beschadigen. Het is daarbij belangrijk dat er voor elk staal nieuwe handschoenen gedragen worden zodat er niet gemengd wordt met eigen DNA of met dat van andere stalen.

De eDNA analyse begint met een DNA-extractie uit de gedroogde bodemstalen waarvan 250 mg genomen wordt. De extractie wordt uitgevoerd met behulp van het DNeasy PowerSoil Protocol. De DNA-stalen worden gecontroleerd op kwaliteit door de Nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, Verenigde Staten) en bewaard bij -20°C.

Daarna wordt het interne getranscribeerde spacer DNA getarget en geamplificeerd. Daarvoor worden de volgende primers gebruikt: voorwaartse primer (gITS86F-adaptor): TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG GTG ART CAT CGA RTC TTT GAA; omgekeerde primer (ITS4R-adaptor): GTC TCG TGG GCT CGG AGA TGT GTA TAA GAG ACA GTC CTC CGC TTA TTG ATA TGC. De amplificatie van de stalen wordt uitgevoerd met behulp van een Techne TC-5000 thermocycler (Bibby Scientific Limited, Staffordshire, UK) en onder de volgende omstandigheden: initiële denaturatie bij 98°C gedurende 3 minuten, gevolgd door 30 cycli van denaturatie bij 98°C gedurende 30 seconden, annealing bij 53°C gedurende 30 seconden en extensie bij 72°C gedurende 30 seconden, met een laatste extensie bij 72°C gedurende 7 minuten.

De PCR-reacties worden uitgevoerd in reactievolumes van 25 µl met behulp van de Q5 Hot Start High-Fidelity DNA Polymerase (NEB, Massachusetts, VS). Elke reactie bevat 5 x Q5-reactiebuffer, 10 mM dNTP's, 10 µM van elke primer, Q5 Hot Start High-Fidelity DNA Polymerase (2U/µl) en 1 µl DNA-staal. Na bevestiging door gelelektroforese en PCR-opruiming wordt een tweede PCR-reactie uitgevoerd. Daarbij worden de Nextera-indexen (Nextera XT Index Kit v2 Set A; FC-131-2001, en D; FC-131-2004, Illumina, België) bevestigd. Voor deze PCR-reacties wordt 5 µl van het gezuiverde PCR-product gebruikt in een reactievolume van 25 µl en bereidt volgens de Amplicon Metagenomic Sequencing Library Preparation Guide van Illumina. De PCR-omstandigheden zijn hetzelfde als hierboven maar het aantal cycli verandert naar 20 en er werd een annealing-temperatuur van 55°C gebruikt. Daarna worden de PCR-producten gereinigd met behulp van de Agencourt AMPure XP-kit en vervolgens gekwantificeerd met behulp van de Qubit dsDNA HS assay kit (Invitrogen) en de Qubit 2.0 Fluorometer (Invitrogen).

De monsters worden verdund tot 4 nM met behulp van 10 mM Tris pH 8,5 voorafgaand aan de sequencing op de Illumina Miseq. De monsters worden gesequenced met behulp van de Miseq Reagent Kit v3 (600 cyclus) (MS-102-3003) en 15% PhiX Control v3 (FC-110-3001). Voor kwaliteitscontrole worden een DNA-extractieblanco en PCR-blanco opgenomen gedurende het proces, en een op maat gemaakte Fungal Mock Community wordt gebruikt als positieve controle.

Als laatste is er de verwerking van de metagenomische gegevens. Dat wordt uitgevoerd in R. Cutadapt wordt gebruikt om de primers bij te snijden, gevolgd door de dada2 ITS-pijplijn. Om de AVS-tabel te construeren, worden fungale reads gerefereerd aan de UNITE algemene FASTA-database v9.0.

Er werd 1 staal, dat van Hechtel-Eksel van het arme plot van de 0-10 cm diepte, niet in de resultaten meegenomen omdat er iets misgelopen is bij de staalname of bij de verwerking

ervan waardoor er een onvoldoende soorten gedetecteerd zijn om mee verder te nemen in de analyse.

Met de data van de metagenomische gegevens worden de abundantie, de relatieve abundantie en de Shannon diversity index bepaald.

De abundantie is hoeveel een bepaalde sequentie voorkomt. Het is dus eigenlijk hoe veel reads per sequentie. Hoe hoger de abundantie, hoe meer die soort voorkomt in het monster. De totale abundantie is dus hoe veel alle sequenties samen geteld zijn. Hoe hoger de totale abundantie, hoe meer sequenties er gevonden zijn en hoe meer DNA er gevonden werd. Dat betekent niet dat er ook meer organismen van die soort in het monster zitten (*DNA-technieken voor waterbeheerders*, z.d.).

De Shannon diversity staat voor hoe veel diversiteit er is. Het houdt rekening met het aantal soorten die voorkomen en in welke mate. Een dataset waar 1 soort veel voorkomt, heeft een lagere Shannon diversity index dan een dataset waar veel soorten voorkomen maar in mindere mate. Hoe hoger de Shannon diversity index, hoe meer diversiteit er is in het monster (Kumar et al., 2022).

3.5 Statistiek

Voor de statistische verwerking wordt R studio en R gebruikt, versie 4.2.3 (2023-03-15 ucrt). Alle gegevens die verzameld zijn, worden samengebracht in Microsoft Excel (Versie 2303 Build 16.0.16227.20202). De significantie wordt bepaald op een niveau van 0,05.

3.5.1 Respiratie

Voor de respiratie worden er verschillende packages gebruikt. De cumulatieve respiratie is niet normaal verdeeld en daardoor wordt er gewerkt met Generalized linear mixed model (GLMM) uit de packages nlme en lme4. Voor de cumulatieve respiratie wordt Generalized Linear Mixed-Effects Models (glmer) gebruikt, voor de niet cumulatieve respiratie wordt Linear Mixed-Effects Models (lme). De meeste variabelen die in rekening worden gebracht, zijn categorisch. De diepte en het bostype zijn de variabelen die gebruikt worden. De site wordt als random factor meegenomen. De tijd is een continue variabele. Voor de visualisatie van de resultaten wordt het package ggplot2 gebruikt. Er werd Fischer LSD gebruikt om de significantie te controleren tussen de groepen.

3.5.2 eDNA

Voor de eDNA-analyse wordt er gebruik gemaakt van de packages phyloseq en vegan. Om de significantie te controleren wordt er gebruik gemaakt van anova en Fischer LSD test. Er wordt telkens een significantieniveau van 0,05 gebruikt. Voor het visueel voorstellen wordt plot_bar gebruikt wat ook uit het package phyloseq afkomstig is.

4 RESULTATEN

4.1 Respiratieproef

De respiratiewaarden zijn onderverdeeld per dieptelaag (figuur 7). De metingen van de organische laag staan op het linkse deel, de eerste 10 cm van de minerale bodem staan in het middelste deel en de volgende 10 cm van de minerale bodem, van 10 tot 20 cm, staan in het rechtse deel.

Bij de cumulatieve respiratiewaarden van de organische laag in $\mu\text{g C} / (\text{dag} * \text{g grond})$ zijn zowel diepte ($p < 2\text{e-}16$) als bostype ($p = 3,62\text{e-}10$) significante factoren (figuur 7 en figuur 8).

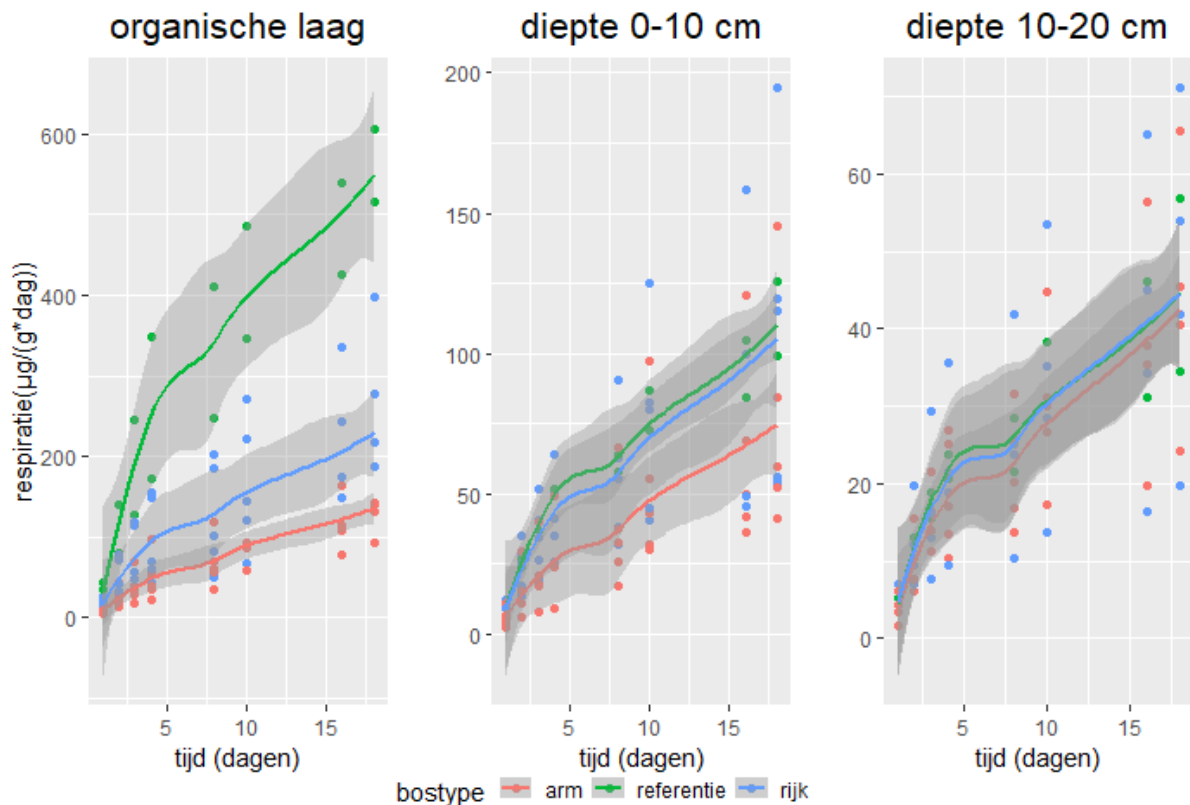
In de organische laag zijn de cumulatieve respiratiewaarden van de referentieplots significant verschillend van de arme en rijke plots ($p = 0,06$). In de referentieplots wordt de hoogste respiratie gemeten.

In het diepte-interval van 0-10 cm is het bostype een licht significante factor ($p = 0,04$) voor de respiratie. Tussen de bostypes wordt er geen verschil gemeten ($p > 0,05$).

In het diepte-interval van 10-20 cm is het bostype geen significante factor ($p = 0,81$). De bostypes zijn niet significant verschillend van elkaar ($p > 0,05$).

De organische laag verschilt dus van de twee andere dieptelagen, de lagen in de minerale bodem. Enkel bij de organische laag is er een significant verschillende cumulatieve respiratie tussen de referentiebossen en de arme en rijke plots. In de minerale bodem is er geen verschil gemeten tussen de bostypes voor de cumulatieve respiratie.

De bostypes hebben geen invloed in de minerale bodem op de cumulatieve respiratie (figuur 7). De respiraties bij de arme, rijke en referentieplots zijn dus niet verschillend in de minerale bodem.



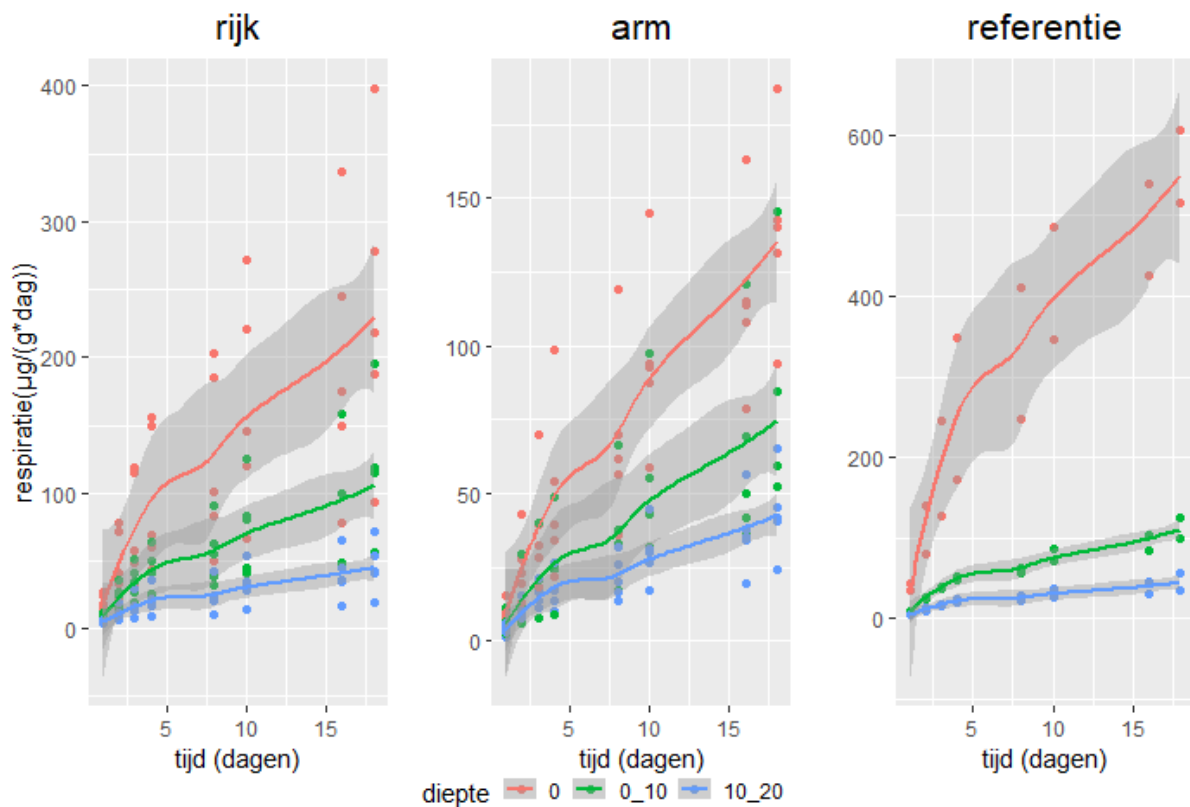
Figuur 7: De cumulatieve respiratie ($\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{dag})$) in functie van de tijd in dagen per diepte-interval in de verschillende bostypes gemeten. De volle lijnen geven het gemiddelde per bostype weer.

De cumulatieve respiratie ($\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{dag})$) wordt weergegeven in functie van de tijd in dagen per bostype in de verschillende dieptelagen gemeten (figuur 8).

In de rijke plots is diepte een sterk significante factor ($p < 0,001$). De verschillen tussen de organische laag en de diepte-intervallen van de minerale bodem is significant. De verschillen tussen de diepte-intervallen van de minerale bodem zijn niet significant ($p = 0,06$).

In de arme plots is de diepte een significante factor voor de cumulatieve respiratie ($p = 2,04 \times 10^{-7}$). De verschillende dieptelagen zijn bij de arme plots significant verschillend. De minerale bodem heeft een lagere respiratie dan de organische laag. In de minerale bodem, de diepte-intervallen van 0-10 cm en 10-20 cm, is er geen significant verschil ($p = 0,15$).

Zoals bij de rijke en arme plots is bij de referentieplots de diepte ook een significante factor ($p = 6,96 \times 10^{-9}$). Net zoals bij de rijke plots hebben de arme plots enkel een significant verschil met de organische laag ten opzichte van de stalen van de minerale bodem ($p = 0,65$).



Figuur 8: De cumulatieve respiratie ($\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{dag})$) in functie van de tijd in dagen per bostype in de verschillende dieptelagen gemeten. De volle lijnen geven het gemiddelde per diepte weer.

4.2 eDNA-analyse

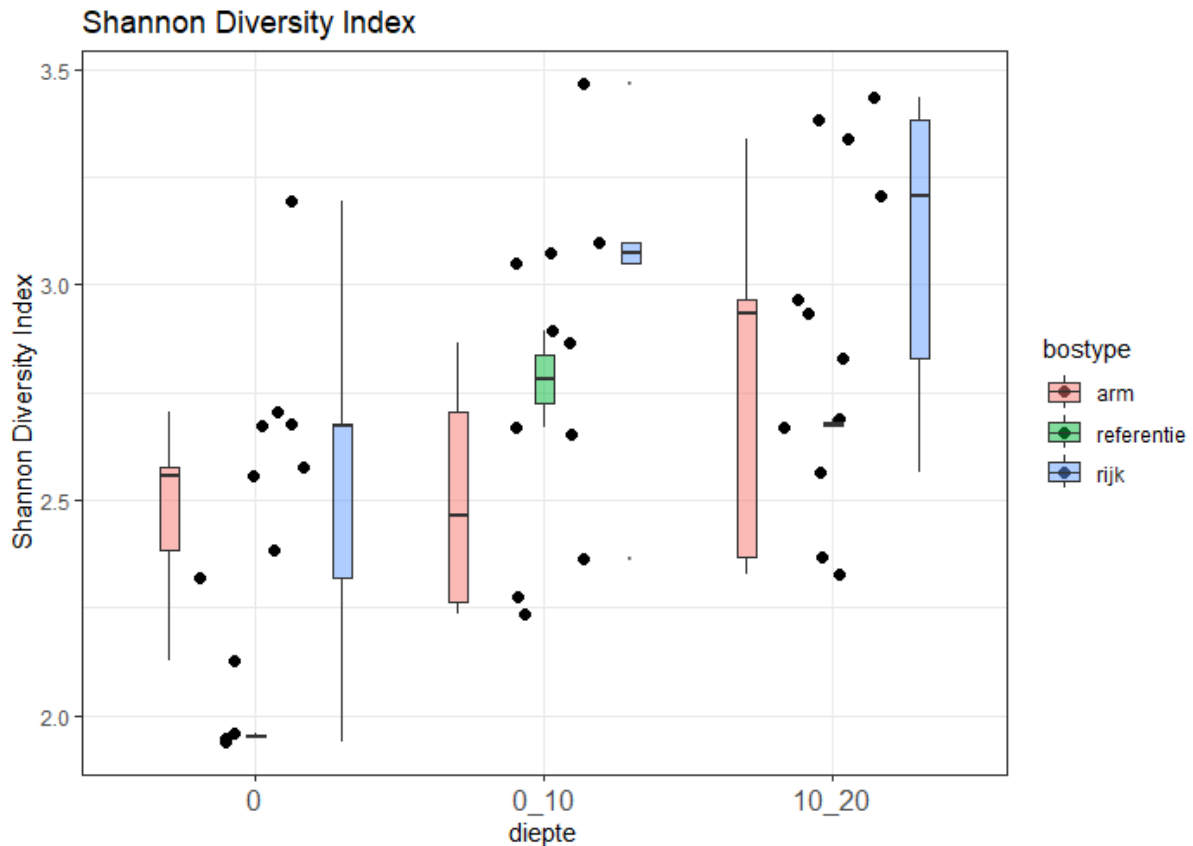
4.2.1 Shannon diversity index

De Shannon diversity index wordt per diepte en bostype weergegeven (figuur 9).

Zowel de diepte ($p= 0,014$) als het bostype ($p0,062$) hebben een significant effect op de shannon diversity index .

De rijke plots hebben een significant hogere index dan de referentieplots maar de arme plots zijn niet significant verschillend van de rijke of van de referentieplots.

De organische laag (diepte 0) heeft een significant lagere Shannon diversity index dan de 2 dieptelagen in de minerale bodem. De dieptelagen 0-10 cm en 10-20 cm zijn niet significant verschillend.

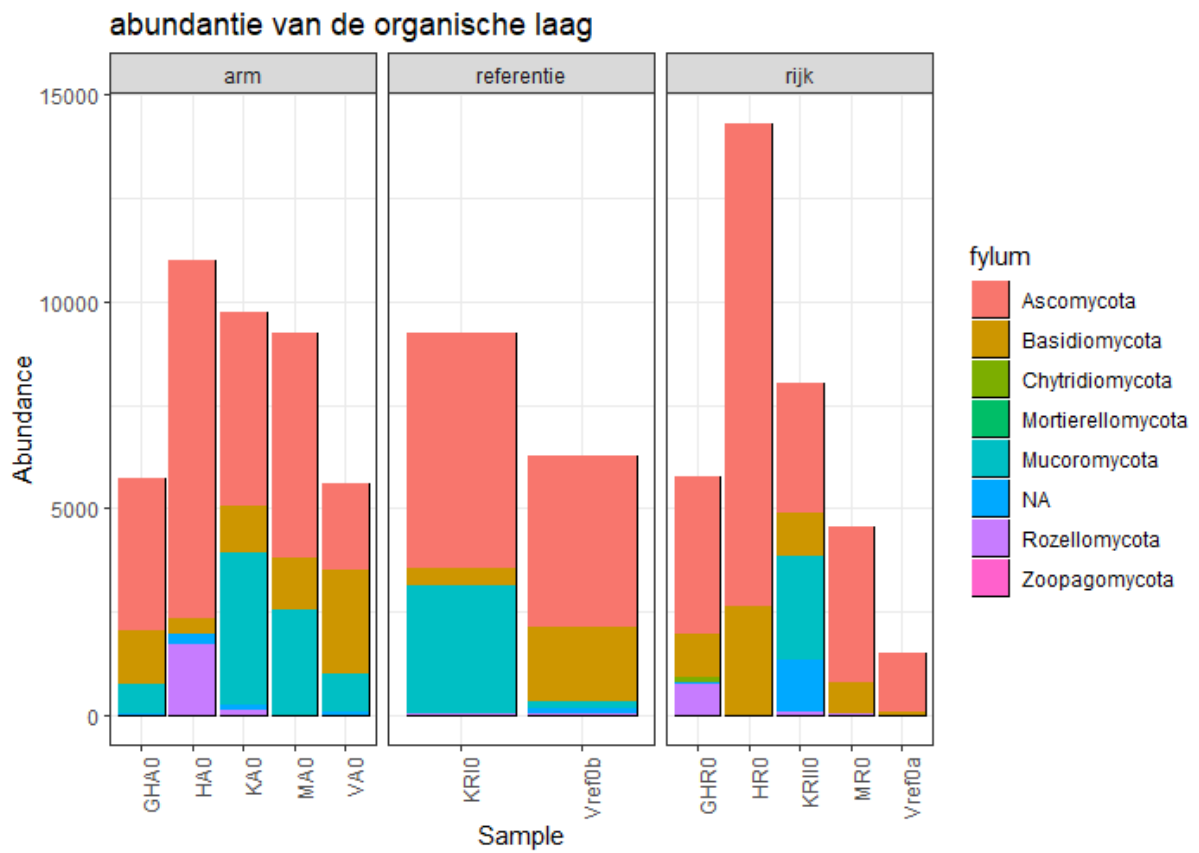


Figuur 9: De Shannon diversity index van stalen voorgesteld in de verschillende bostypes en dieptelagen.

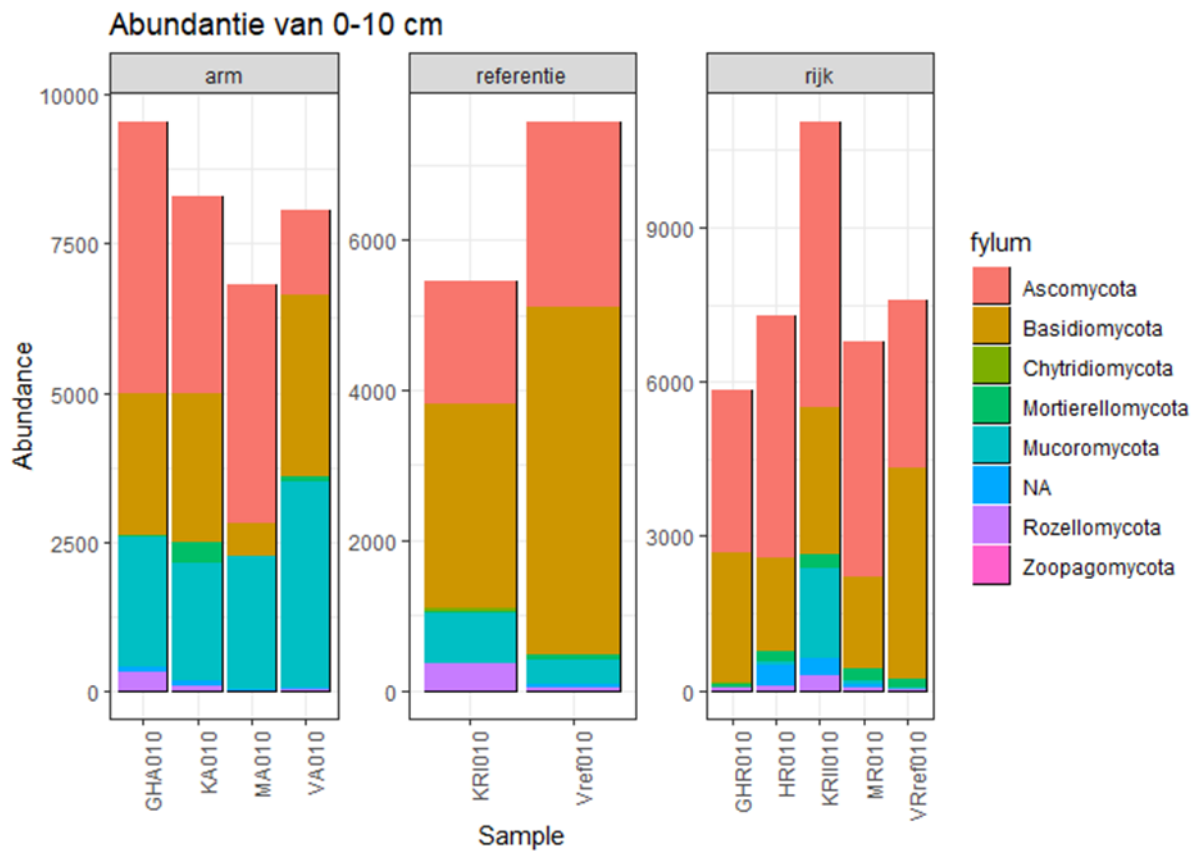
4.2.2 Totale abundantie

Zowel de diepte als het bostype zijn niet significant voor de totale abundantie. In elke diepte en in elk bostype is er evenveel DNA gevonden. Er is geen verschil tussen de verschillende dieptes of de verschillende bostypes. Er worden overall ongeveer evenveel schimmels geteld (figuur 10, 11 en 12).

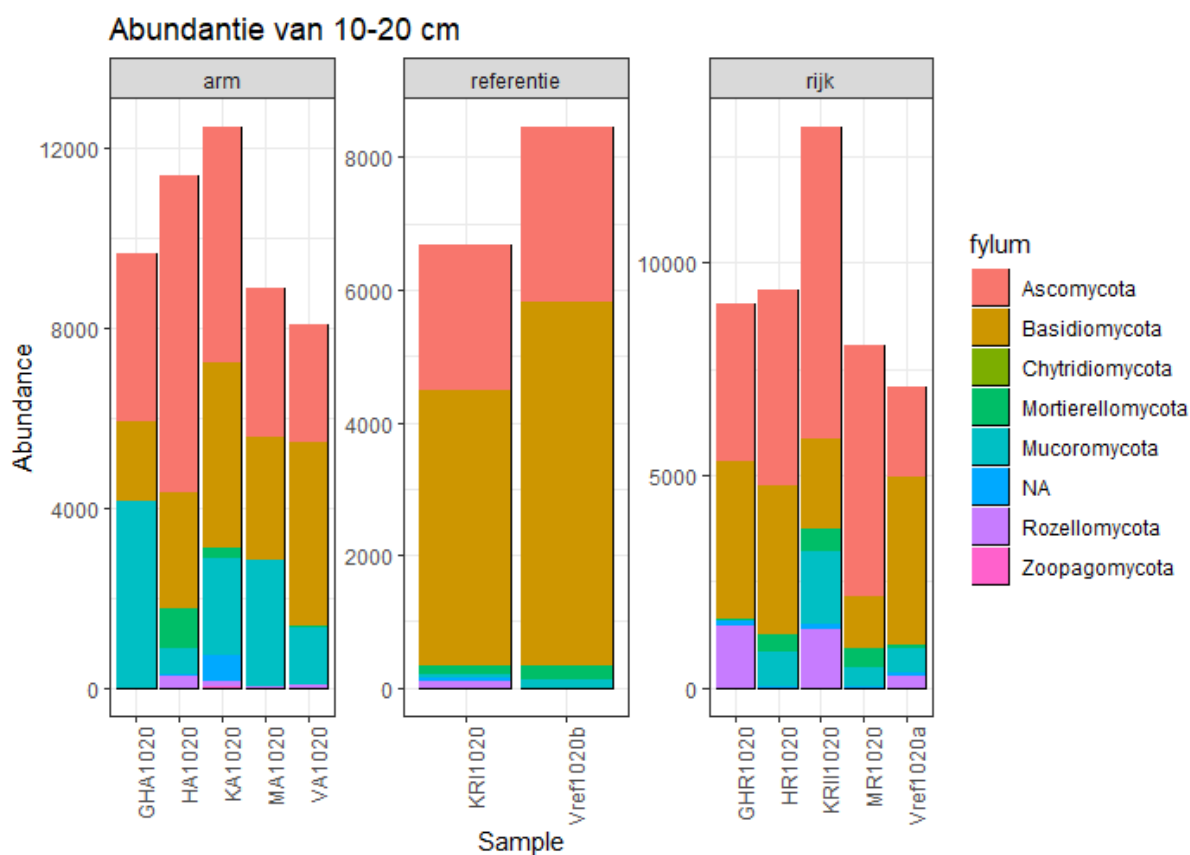
De abundanties zijn per plot uitgezet. De eerste letters GH (Grote Heide), K (Kasterlee), H (Hechtel-Eksel), M (Maashorst), V (Veldhoven) staan voor waar het plot gelegen is. Het tweede deel staat voor welke bostype het is. De R| staat voor referentie, net zoals ref. De A staat voor arm en de R voor rijk. Het laatste deel is telkens de diepte; 0 is de organische laag, 010 is van 0 tot 10 cm in de minerale bodem en van 10 tot 20 cm wordt voorgesteld als 1020 (figuur 10,11 en 12).



Figuur 10: Totale abundanties van de organische laag. De kleuren geven de verschillende hoeveelheden weer van de DNA-sequenties per stam (fyllum) per staal.



Figuur 11: Totale abundanties van het diepte-interval 0-10 cm. De kleuren geven de verschillende hoeveelheden weer van de DNA-sequenties per stam (fyllum) per staal.



Figuur 12: Totale abundanties van het diepte-interval 10-20 cm. De kleuren geven de verschillende hoeveelheden weer van de DNA-sequenties per stam (fyllum) per staal.

4.2.3 Relatieve abundantie

De relatieve abundantie van de stammen (fyla of phyla) die meer dan 2% voorkomen (figuur 13).

Bij diepte van de organische laag (diepte 0), op de bovenste rij, is de abundantie van de Ascomycota het grootst, daarna van de Basidiomycota en de Mucoromycota (die niet significant van elkaar verschillen) en dan van de overige groepen.

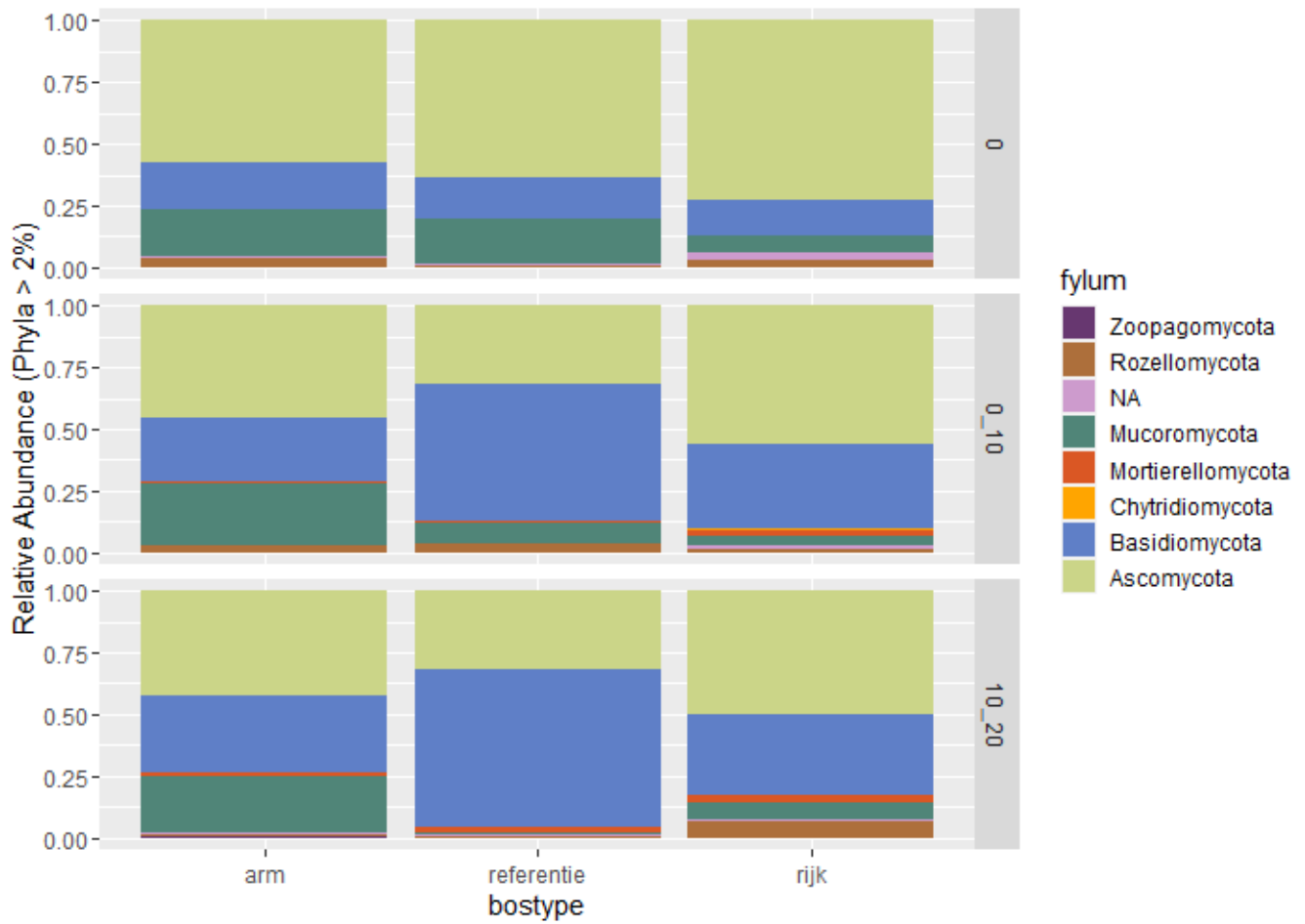
Bij de monsters van 0-10 cm in de minerale bodem is ook abundantie van de Ascomycota het grootst. De abundantie van de Basidiomycota is significant verschillend van die van de Mucoromycota en die is significant verschillend van de andere groepen.

Bij de stalen van de dieptelaag 10-20 cm is de abundantie van de Ascomycota en de Basidiomycota het grootst. De abundantie van stam van de Mucoromycota is significant verschillend van de andere abundanties.

Bij de rijke plots heeft ook de Ascomycota de grootste abundantie. Die abundantie verschilt significant van die van de Basidiomycota. De abundantie van de Basidiomycota verschilt significant van die van de andere stammen.

Bij de armstrooiselplots is ook de abundantie van de Ascomycota het grootst. Die van de Basidiomycota en van de Mucoromycota is hetzelfde. De abundantie van de Rozellomycota, Mortierellomycota, NA, Zoopagomycota en Chytridiomycota is bij de arme plots het kleinst.

Bij de relatieve abundantie van de referentieplots zijn er 2 stammen die significant groter zijn dan de anderen. De Basidiomycota en de stam van de Ascomycota komen het meest voor bij de referentieplots.



Figuur 13: De relatieve abundantie van de fylya die meer dan 2% voorkomen in de stalen.

5 DISCUSSIE

De microbiota in de bodem zijn een goede indicator voor de situatie van de bodemconditie. De bodemconditie wordt beïnvloed door wat er bovengronds gebeurt. Zo heeft het bosbeheer invloed op de bodem (Coban et al., 2022).

Voor de abundanties worden enkel de fungi meegenomen. Er zitten natuurlijk ook soorten van andere rijken in de bodem waardoor het een vertekend resultaat geeft. Schimmels hebben een belangrijke rol in de bodem omdat er veel verschillende soorten zijn die verschillende functies hebben. Er zijn schimmels die in symbiose leven met de plantenwortels. De schimmels geven nutriënten en water aan de plant en krijgen in ruil extra energie voor de afbraak van de meer resistente organische stof van de plant in de vorm van eenvoudige suikers (Elaine R. Ingham, z.d.). Een andere functie die schimmels vervullen is de afbraak van plantaardig of dierlijk organisch materiaal zodat het als voedsel kan dienen voor het andere bodemleven. De schimmels zijn zelf ook voedsel voor bijvoorbeeld mijten, springstaarten, protozoa en aaltjes (Kardol et al., 2009).

Het rijk van de fungi komt in 3 verschillende vormen voor; de schimmels, de gisten en de paddenstoelen. De fungi zijn eukaryoot en heterotroof, ze hebben organische stof nodig om hen te voeden (McGinnis & Tying, 1996).

Om te zien of bosbeheer wel degelijk een invloed heeft op de microbiële activiteit zijn er eigenlijk te weinig sites bezocht om echt resultaat te hebben. Er is dus nog verder onderzoek nodig om echt tot een conclusie te komen.

5.1 Respiratie

De geproduceerde hoeveelheid CO₂ werd op regelmatige tijdstippen gedurende 18 dagen gemeten. De temperatuur en het vochtgehalte werden constant gehouden omdat het twee factoren zijn die een invloed hebben op de respiratie. Door de gecontroleerde omstandigheden is de invloed van die factoren minimaal en dus verwaarloosbaar (Carlson et al., 2015).

De boomsoorten hebben invloed op het ondergrondse bodemleven

Bij de cumulatieve respiratie is er in de organische laag een verschil tussen de referentiebossen de twee andere bostypes (de arme en de rijke bossen). In de referentieplots werd er de hoogste cumulatieve respiratie gemeten (figuur 8). Dat kan te wijten zijn aan dat dat de voorbeeldbossen zijn en er dus veel rijkstrooiselsoorten staan die veel microbiota aantrekken door hun lekker strooisel. Hoe meer rijkstrooisel, hoe meer microbiota er zich in de bodem zouden vestigen omdat rijker strooisel ook lekkerder is. Tussen de rijke en arme bossen werd er geen verschil gemeten in de organische laag. Dat kan niet verklaard worden met dat het rijkstrooisel lekkerder zou zijn en zo dus meer microbiota zou aantrekken. Het is hier dus ook niet bewezen dat de naaldgrond zuurder zou zijn door de armstrooiselsoorten en er dus ook minder microbiota in zouden kunnen en willen leven. Het spreekt de literatuur dus tegen. Het is niet te merken dat rijkstrooiselsoorten de nutriëntenstatus verbeteren in de bodem wat de leefomstandigheden voor de microbiota nog beter maakt (Desie, Vancampenhout, Nyssen, et al., 2020).

Er zijn significante verschillen in respiratie tussen de verschillende horizonten

Er is enkel een significant hogere respiratie gemeten bij de organische laag ten opzichte van de dieptelagen in de minerale bodem (figuur 7). Dat wil zeggen dat er vooral bodemleven zit in het bovenste oppervlak van de bodem. Dat komt doordat er in de minerale bodem veel minder voedsel is voor het bodemleven. Het bodemleven leeft van organisch materiaal. Schimmels, bacteriën en ander bodemleven zetten organische stof om tot er onverteerbare resten overblijven. Vooral in de organische laag, de bovenste laag van de bodem, ligt er organische stof omdat de grootste bronnen bladeren, stengels, wortels en dierlijke mest zijn. Die zijn vooral van bovenaf afkomstig (Kor Zwart et al., 2013). Het is daarom dat het leven zich vooral in de organische laag bevindt (de Jong et al., 2015). Het bodemleven heeft ook zuurstof nodig en dat is ook het meest beschikbaar aan de bovenkant van het bodemoppervlak. Als het bodemoppervlak intact blijft, gaat de bodembiodiversiteit niet achteruit want dan worden de microbiota niet verstoord (Siepel, 2015).

Doordat het cumulatieve respiratie is, worden de waarden van de respiratie opgeteld wat zorgt voor een trend in de grafieken van de cumulatieve respiratie. Het wordt een exponentiële curve met een afvlakking wanneer de microbiota verzadigd zijn.

Interactie: het bostype effect is groter in de organische laag dan in de minerale bodem

Het bostype effect is groter in de organische laag doordat daar het verschil zit in de bodem tussen de verschillende gepaarde sites. De sites zijn telkens gepaard om omgevingsfactoren zo veel mogelijk uit te sluiten. Het minerale deel is dus telkens hetzelfde binnen dezelfde locatie. Enkel het deel erop, de organische laag is verschillend.

5.2 eDNA

De gesplitte stalen hebben 9 dagen gedroogd op een temperatuur van 37°C. Het opslagen van DNA-stalen heeft geen significante invloed als de temperatuur onder de 20°C blijft. Na 28 dagen op 40°C blijft er bij de schimmelsoorten bijna geen DNA meer over (Frøslev et al., 2023). Dat kan dus wel een probleem geweest waardoor de DNA-data misschien niet helemaal correct zijn kunnen uitgelezen worden. Dit is wel niet te merken in de uitgelezen data omdat de shannon diversity index toch nog tussen de 1,5 en 3,5 gelegen is (Ortiz-Burgos, 2016). Er zou dus verder onderzoek gedaan kunnen worden naar DNA in de bodem met bodemstalen die gedroogd worden op maximum 20°C.

De gegevens van het eDNA zijn momentopnames, in waterige omstandigheden blijft het DNA maar 7 tot 21 dagen vindbaar (*DNA-technieken voor waterbeheerders*, z.d.). In de bodem kan het DNA van weken tot jaren vindbaar blijven afhankelijk van de omstandigheden. Vooral de temperatuur en de vochtigheid zijn van belang (Carini et al., 2016).

Bij de resultaten staat bij de fyta NA. Dat zijn de schimmels die niet tot op stamniveau geïdentificeerd zijn kunnen worden. Er werd beslist om de stammen die minder dan 2% voorkwamen in de resultaten te schrappen, dit heeft geen invloed gehad omdat alle stammen meer dan 2% voorkwamen in de resultaten.

De soortendiversiteit is niet afhankelijk van het bostype

De rijke plots hebben een significant hogere index dan de referentieplots. Maar de arme plots zijn niet verschillend van de rijke bossen of de referentiebossen. Er is dus geen eenduidig

resultaat. Er kan niet bepaald worden of rijkstrooiselbossen een hogere soortendiversiteit hebben dan bossen met vooral armstrooisel op zandgrond. De Shannon diversity index wordt bepaald door de hoeveelheid soorten en of de soorten evenredig voorkomen. De Shannon diversity index van de arme plots is niet significant verschillend van de rijke of van de referentieplots (figuur 9). Dat wil zeggen dat er eigenlijk niet meer soortenbiodiversiteit bij de rijke of bij de arme plots is. Dat is tegen de verwachtingen in; in zuurdere bodems, degene met veel naaldsoorten, kunnen minder soorten leven. De Shannon diversity index is meestal gelegen tussen de 1,5 en de 3,5. Het gaat uitzonderlijk tot een waarde van 4,5 (Ortiz-Burgos, 2016). Dat klopt dus met de resultaten die in deze proef gevonden werden.

De Shannon Diversity index per diepte

In de organische laag is de Shannon diversity index het laagste ten opzichte van de dieptelagen in de minerale bodem (figuur 9). Dat betekent dat er veel dezelfde soorten voorkomen in de organische laag en in de minerale bodem er meer soortendiversiteit is (Ortiz-Burgos, 2016). Dat is tegen de verwachtingen in doordat er meer respiratie voorkomt in de organische laag, wordt er verwacht dat er daar ook meer soortendiversiteit zou zijn. Dit kan twee redenen hebben; ofwel komen er veel andere soorten dan fungi voor in de organische laag. Ofwel zijn er veel soorten van dezelfde fungi terug te vinden in de organische laag zodat de diversiteit laag blijft.

Totale abundantie

Er is geen verschil tussen de verschillende dieptes of bostypes op vlak van abundantie (figuur 10,11 en 12). Er zitten dus overal hetzelfde hoeveelheid DNA over alle bostypes en alle dieptelagen. De abundantie zegt enkel iets over de hoeveelheid sequenties, niet over het aantal organismen (*DNA-technieken voor waterbeheerders*, z.d.). Er zou verwacht worden dat er in de rijke of de referentieplots hogere abundanties zouden voorkomen omdat de organische lagen en de minerale bodem meer gematigd (minder zuur) zouden zijn zodat er meer organismen zouden kunnen leven.

Relatieve abundantie

Zowel bij de organische laag als bij de 0-10 cm diepte komen de Ascomycota relatief het meest voor. Bij de diepte van 10-20 cm komen de Ascomycota en de Basidiomycota relatief evenveel voor. Zowel bij de rijke plots als bij de arme overheersen de Ascomycota. Bij de referentieplots zijn de Basidiomycota en de Ascomycota significant groter dan de anderen.

Over het algemeen komen de ascomycota en de basidiomycota het meest voor. Dat is doordat onder die stammen de meeste soorten vallen (Money, 2016). Het is dus niet echt een representatief.

Dat er bij de referentieplots de basidiomycota mee overheersend zijn, kan te maken hebben met dat er daarbij de meeste houtrottende en strooiselrottende schimmels behoren maar dat verklaart niet waarom die bij de rijke plots dan niet overheersend zijn (Beule et al., 2021).

6 BESLUIT

In dit onderzoek wordt de invloed van bosbeheer onderzocht op de microbiële bodem gemeenschap. De invloed wordt onderzocht op basis van verschillen in respiratie, de Shannon diversity index, de abundantie en de relatieve abundantie van bossen met rijkstrooiselsoorten, armstrooiselsoorten en referentiebossen.

Op basis van de respiratie kan er een besluit gevormd worden dat verwacht was, in de organische laag is de respiratie het hoogst in de referentiebossen. De soorten, en dus het beheer is hierbij bepalend. Hoe dieper in de grond, hoe minder verschil er was tussen de verschillende types. Het bosbeheer heeft dus een invloed op de microbiota.

De Shannon diversity index geeft aan dat de soortendiversiteit tussen rijkstrooiselbossen en armstrooiselbossen niet verschillend is en dat er in de organische laag het minste diversiteit is tussen de soorten. Dat is tegen de verwachtingen in en daarvoor zou nog meer onderzoek nodig zijn.

Op basis van de relatieve abundantie was er geen verschil tussen de verschillende bostypes. Dat kan zijn doordat de fyta van de soorten ongelijk verdeeld zijn. Tot de Ascomycota en de Basidiomycota behoren veel meer soorten dan tot de andere groepen wat dus een vertekend resultaat geeft.

Bij de totale abundantie was er geen verschil tussen de bostypes en de dieptes. Op vlak van de respiratie wel, er wordt meer CO₂ gemeten in de organische laag van de rijke plots. Dat komt omdat er ook andere soorten dan enkel de soorten van de fungi in de bodem zitten.

In dit onderzoek werden er maar 14 sites bezocht, dat is eigenlijk te weinig voor een representatief resultaat. Verder onderzoek is gewenst om er echt een besluit uit te kunnen trekken dat misschien wel meer in lijn met de verwachtingen ligt. Bij het eDNA moet er dan ook gezorgd worden dat de bodemstalen op een lagere temperatuur (<20°C) gedroogd worden.

Referenties

- Barrios, E. (2007). Soil biota, ecosystem services and land productivity. *Ecological Economics*, 64(2), 269-285. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2007.03.004>
- Berman, J. J. (2012). Chapter 36—Ascomycota. In J. J. Berman (Red.), *Taxonomic Guide to Infectious Diseases* (pp. 199-208). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415895-5.00036-2>
- Beule, L., Arndt, M., & Karlovsky, P. (2021). Relative Abundances of Species or Sequence Variants Can Be Misleading: Soil Fungal Communities as an Example. *Microorganisms*, 9(3), 589. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030589>
- Bokhorst, J. (z.d.). *Bodemleven*. Geraadpleegd 17 maart 2022, van <https://www.goedbodembeheer.nl/bodemleven>
- Bonfante, P., & Venice, F. (2020). Mucoromycota: Going to the roots of plant-interacting fungi. *Fungal Biology Reviews*, 34(2), 100-113. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2019.12.003>
- Bosgroepen, N. T., The. (2020, maart 3). *Nature Today | Hoe rijk-strooiselsoorten bijdragen aan een gezonde bosbodem*. <https://www.naturetoday.com/intl/nl/nature-reports/message/?msg=25928>
- Bradford, M. A., Tordoff, G. M., Eggers, T., Jones, T. H., & Newington, J. E. (2002). Microbiota, fauna, and mesh size interactions in litter decomposition. *Oikos*, 99(2), 317-323. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2002.990212.x>
- Carini, P., Marsden, P. J., Leff, J. W., Morgan, E. E., Strickland, M. S., & Fierer, N. (2016). Relic DNA is abundant in soil and obscures estimates of soil microbial diversity. *Nature Microbiology*, 2(3), Article 3. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.242>
- Carlson, K. M., Goodman, L. K., & May-Tobin, C. C. (2015). Modeling relationships between water table depth and peat soil carbon loss in Southeast Asian plantations. *Environmental Research Letters*, 10(7), 074006. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/10/7/074006>

- Coban, O., De Deyn, G. B., & van der Ploeg, M. (2022). Soil microbiota as game-changers in restoration of degraded lands. *Science*, 375(6584), abe0725. <https://doi.org/10.1126/science.abe0725>
- Cursus Natuurgids CVN - Hoofdstuk 12: Bos.* (z.d.). Geraadpleegd 5 mei 2022, van https://www.natuurpunt.be/sites/default/files/images/inline/handboekng12_bos.pdf
- David S. Pilliod, Caren S. Goldberg, Matthew B. Laramie, & Lisette P. Waits. (2013). *Application of Environmental DNA for Inventory and Monitoring of Aquatic Species* (Fact Sheet) [Fact Sheet].
- De Belgische bossen—Koninklijke Belgische Bosbouwmaatschappij. (z.d.). *Société Royale Forestière de Belgique - Koninklijke Belgische Bosbouwmaatschappij*. Geraadpleegd 5 mei 2022, van <https://www.srfb.be/nl/informatie-over-de-bossen/de-belgische-bossen/>
- De ene meststof is de andere niet—Deel 2.* (z.d.). Geraadpleegd 11 november 2022, van <https://www.jbl.de/nl/blog/detail/93/de-ene-meststof-is-de-andere-niet-deel-2?country=be>
- de Jong, J. J., Bloem, J., v. Delft, S. P. J., Hommel, P. W. F. M., Oosterbaan, A., & de Waal, R. W. (2015). *Ecologie van bosbodems: Een verkennende studie naar ecologisch functioneren van bosbodems op zandgronden*. 94.
- Desie, E., Vancampenhout, K., Nyssen, B., van den Berg, L., Weijters, M., van Duinen, G.-J., den Ouden, J., Van Meerbeek, K., & Muys, B. (2020). Litter quality and the law of the most limiting: Opportunities for restoring nutrient cycles in acidified forest soils. *Science of The Total Environment*, 699, 134383. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134383>
- Desie, E., Vancampenhout, K., van den Berg, L., Nyssen, B., Weijters, M., den Ouden, J., & Muys, B. (2020). Litter share and clay content determine soil restoration effects of rich litter tree species in forests on acidified sandy soils. *Forest Ecology and Management*, 474, 118377. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118377>

- Detritus* | *Ecopedia*. (z.d.). Geraadpleegd 21 april 2023, van <https://www.ecopedia.be/encyclopedie/detritus>
- Diekmann, M., & Falkengren-Grerup, U. (2002). Prediction of species response to atmospheric nitrogen deposition by means of ecological measures and life history traits. *Journal of Ecology*, 90(1), 108-120. <https://doi.org/10.1046/j.0022-0477.2001.00639.x>
- DNA-technieken voor waterbeheerders*. (z.d.). STOWA. Geraadpleegd 20 april 2023, van <https://www.stowa.nl/deltafacts/waterkwaliteit/diversen/dna-technieken-voor-waterbeheerders>
- Drenthe. (z.d.). *Dekzand*. Provincie Drenthe; Drenthe. Geraadpleegd 30 maart 2023, van <https://www.provincie.drenthe.nl/onderwerpen/natuur-milieu/bodem/aardkundige-waarden/donderen/dekzand/>
- Elaine R. Ingham. (z.d.). *Soil Fungi* | *NRCS Soils*. Geraadpleegd 4 mei 2022, van https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detailfull/soils/health/biology/?cid=nrcs142p2_053864
- Ellen Desie, Karen Vancampenhout, & Bart Muys. (2021, oktober 14). De donkere kant van het bos: Kansen voor rijkstrooisel. *Bosrevue* 97a, 1-11. <https://bosplus.be/bosrevue/de-donkere-kant-van-het-bos-kansen-voor-rijkstrooisel-2/>
- Felton, A., Petersson, L., Nilsson, O., Witzell, J., Cleary, M., Felton, A. M., Björkman, C., Sang, Å. O., Jonsell, M., Holmström, E., Nilsson, U., Rönnerberg, J., Kalén, C., & Lindblad, M. (2020). The tree species matters: Biodiversity and ecosystem service implications of replacing Scots pine production stands with Norway spruce. *Ambio*, 49(5), 1035-1049. <https://doi.org/10.1007/s13280-019-01259-x>
- Florin-Christensen, M., & Schnittger, L. (Red.). (2018). *Parasitic Protozoa of Farm Animals and Pets*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-70132-5>
- Fortuna, A.-M. (2012). *The Soil Biota* | *Learn Science at Scitable*. <https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/the-soil-biota-84078125/>
- Frøslev, T. G., Ejrnæs, R., Hansen, A. J., Bruun, H. H., Nielsen, I. B., Ekelund, F., Vestergård, M., & Kjøller, R. (2023). Treated like dirt: Robust forensic and ecological inferences

- from soil eDNA after challenging sample storage. *Environmental DNA*, 5(1), 158-174.
<https://doi.org/10.1002/edn3.367>
- Fungus—Annotated classification | Britannica*. (z.d.). Geraadpleegd 26 maart 2023, van
<https://www.britannica.com/science/fungus/Outline-of-classification-of-fungi>
- Gleason, F. H., Carney, L. T., Lilje, O., & Glockling, S. L. (2012). Ecological potentials of species of Rozella (Cryptomycota). *Fungal Ecology*, 5(6), 651-656.
<https://doi.org/10.1016/j.funeco.2012.05.003>
- Heděnc, P., Nilsson, L. O., Zheng, H., Gundersen, P., Schmidt, I. K., Rousk, J., & Vesterdal, L. (2020). Mycorrhizal association of common European tree species shapes biomass and metabolic activity of bacterial and fungal communities in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 149, 107933. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107933>
- Hitchmough, J., & Vera, F. (2002). Grazing Ecology and Forest History. *Garden History*, 30, 263. <https://doi.org/10.2307/1587257>
- Ibigweh, M. N. & Asawalam. (2017). *Evaluation on living organisms and their effects on soil fertility maintenance*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.25236.01926>
- Imboschberg, B., & Mekking, P. (2001). *De bodemgesteldheid van bosreservaten in Nederland*.
- Jing, X., Muys, B., Bruelheide, H., Desie, E., Hättenschwiler, S., Jactel, H., Jaroszewicz, B., Kardol, P., Ratcliffe, S., Scherer-Lorenzen, M., Selvi, F., Vancampenhout, K., van der Plas, F., Verheyen, K., Vesterdal, L., Zuo, J., & Van Meerbeek, K. (2021). Above- and below-ground complementarity rather than selection drive tree diversity–productivity relationships in European forests. *Functional Ecology*, 35(8), 1756-1767.
<https://doi.org/10.1111/1365-2435.13825>
- Joris Michiels & Katrijn Ingels. (2020). *Dierkunde-morfologie-systematiek.pdf*.
<https://www.ugent.be/bw/nl/voor-toekomstige-studenten/voorbeeld-lesmateriaal/cursusmateriaal-biowetenschappen/dierkunde-morfologie-systematiek>

- Kardol, P., van der Wal, A., Bezemer, T. M., de Boer, W., & van der Putten, W. H. (2009). Ontgronden en bodembeestjes: Geen gelukkige combinatie. *De Levende Natuur*, 110(1), 57-61.
- Kor Zwart, Anita Kikkert, Aad Termorshuizen, & Geert Jan van der Burgt. (2013). *Tien vragen en antwoorden over organische stof*. <https://edepot.wur.nl/272641>
- Kumar, P., Dobriyal, M., Kale, A., Pandey, A. K., Tomar, R. S., & Thounaojam, E. (2022). Calculating forest species diversity with information-theory based indices using sentinel-2A sensor's of Mahavir Swami Wildlife Sanctuary. *PLoS ONE*, 17(5), e0268018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0268018>
- Mahmood, S., Finlay, R. D., & Erland, S. (1999). Effects of Repeated Harvesting of Forest Residues on the Ectomycorrhizal Community in a Swedish Spruce Forest. *The New Phytologist*, 142(3), 577-585.
- Mart-Jan Schelhaas, Eric Arets, Sven van Baren, Bas Lerink, Sara Filipek, Henk Kramer, & Stan Los. (2021). Het Nederlandse bos op de kaart. *Vakblad Natuur Bos Landschap*, 3-6.
- McConnaughey, M. (2014). Physical Chemical Properties of Fungi☆. In *Reference Module in Biomedical Sciences*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.05231-4>
- McGinnis, M. R., & Tyring, S. K. (1996). Introduction to Mycology. In S. Baron (Red.), *Medical Microbiology* (4th dr.). University of Texas Medical Branch at Galveston. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8125/>
- Mieke Kokshoorn. (z.d.). *Dekzand—Geologie van Nederland*. Geraadpleegd 30 maart 2023, van <https://www.geologievannederland.nl/landschap/landschapsvormen/dekzand>
- Mommer, L. (2016, februari 24). *Hoe plantenwortels en schimmels verstoppertje spelen*. WUR. <https://www.wur.nl/nl/nieuws/Hoe-plantenwortels-en-schimmels-verstoppertje-spelen.htm>
- Money, N. P. (2016). Chapter 1—Fungal Diversity. In S. C. Watkinson, L. Boddy, & N. P. Money (Red.), *The Fungi (Third Edition)* (pp. 1-36). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382034-1.00001-3>

- Naranjo-Ortiz, M. A., & Gabaldón, T. (2019). Fungal evolution: Diversity, taxonomy and phylogeny of the Fungi. *Biological Reviews*, 94(6), 2101-2137. <https://doi.org/10.1111/brv.12550>
- Natuurbeheer, K. B. (z.d.). *Maatregelen*. Klimaatlim Bos- en Natuurbeheer. Geraadpleegd 14 april 2023, van <https://www.vbne.nl/klimaatlimbosennatuurbeheer/>
- Oosthoek, K. J. & Richard Hölzl. (2018). Managing Northern Europe's Forests: Histories from the Age of Improvement to the Age of Ecology. In *Managing Northern Europe's Forests*. Berghahn Books. <https://doi.org/10.1515/9781785336010>
- Oppervlakte bos in Nederland, 1970-2021 | Compendium voor de Leefomgeving*. (z.d.). Geraadpleegd 30 maart 2023, van <https://www.clo.nl/indicatoren/nl1620-bosareaal>
- Ortiz-Burgos, S. (2016). Shannon-Weaver Diversity Index. In M. J. Kennish (Red.), *Encyclopedia of Estuaries* (pp. 572-573). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-017-8801-4_233
- Osman, K. T. (2013). Chemical Properties of Forest Soils. In K. T. Osman (Red.), *Forest Soils: Properties and Management* (pp. 45-61). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-02541-4_3
- Prescott, C. E. (2010). Litter decomposition: What controls it and how can we alter it to sequester more carbon in forest soils? *Biogeochemistry*, 101(1), 133-149. <https://doi.org/10.1007/s10533-010-9439-0>
- Pulleman, M., Creamer, R., Hamer, U., Helder, J., Pelosi, C., Pérès, G., & Rutgers, M. (2012). Soil biodiversity, biological indicators and soil ecosystem services—An overview of European approaches. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 4(5), 529-538. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2012.10.009>
- P.W.F.M. Hommel & R.W. de Waal. (2004). *Bodem, humus en vegetatie onder verschillende loofboomsoorten op de stuwwal bij Doorwerth*. <https://edepot.wur.nl/37839>
- Siepel, D. H. (2015). *De rol van de bodemfauna in oude bosbodems*. 3.
- Simon Klingen. (2020). *Home—Boslessen*. <https://boslessen.nl/>

- Sofia Opfer. (z.d.). *Nature Today | Rijk strooisel biedt kansen tegen bodemverzuring*. Geraadpleegd 15 april 2023, van <https://www.naturetoday.com/intl/nl/nature-reports/message/?msg=28365>
- Soil-Net.com—Macrofauna and Mesofauna*. (z.d.). Geraadpleegd 28 april 2022, van http://www.soil-net.com/dev/page.cfm?pageid=secondary_intro_livingbeing_b&loginas=anon_secondary
- Spatafora, J. W., Aime, M. C., Grigoriev, I. V., Martin, F., Stajich, J. E., & Blackwell, M. (2017). The Fungal Tree of Life: From Molecular Systematics to Genome-Scale Phylogenies. *Microbiology Spectrum*, 5(5), 5.5.03. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0053-2016>
- Spatafora, J. W., Chang, Y., Benny, G. L., Lazarus, K., Smith, M. E., Berbee, M. L., Bonito, G., Corradi, N., Grigoriev, I., Gryganskyi, A., James, T. Y., O'Donnell, K., Roberson, R. W., Taylor, T. N., Uehling, J., Vilgalys, R., White, M. M., & Stajich, J. E. (2016). A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia*, 108(5), 1028-1046. <https://doi.org/10.3852/16-042>
- Taylor, T. N., Krings, M., & Taylor, E. L. (2015). 9—Basidiomycota. In T. N. Taylor, M. Krings, & E. L. Taylor (Red.), *Fossil Fungi* (pp. 173-199). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387731-4.00009-8>
- Tedersoo, L., Sánchez-Ramírez, S., Kõljalg, U., Bahram, M., Döring, M., Schigel, D., May, T., Ryberg, M., & Abarenkov, K. (2018). High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. *Fungal Diversity*, 90(1), 135-159. <https://doi.org/10.1007/s13225-018-0401-0>
- Thomaes, A., De Keersmaeker, L., De Schrijver, A., Vandekerckhove, K., Verschelde, P., & Verheyen, K. (2011). Can tree species choice influence recruitment of ancient forest species in post-agricultural forest? *Plant Ecology*, 212(4), 573-584. <https://doi.org/10.1007/s11258-010-9847-1>

- Van der Heijden, M., Bardgett, R., & van Straalen, N. M. (2008). The unseen majority: Soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology letters*, 11, 296-310. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x>
- van der Heijden, M. G. A., Martin, F. M., Selosse, M.-A., & Sanders, I. R. (2015). Mycorrhizal ecology and evolution: The past, the present, and the future. *New Phytologist*, 205(4), 1406-1423. <https://doi.org/10.1111/nph.13288>
- van der Putten, W. H., Mudgal, S., Turbé, A., De Toni, A., Lavelle, P., Benito, P., Lavelle, P., & Ruiz, N. (2010). *Soil biodiversity: Functions, threats and tools for policy makers. Final report*. Publications Office. <https://data.europa.eu/doi/10.2779/14571>
- Van der Wal, A., & De Boer, W. (2008). Snel herstel van heide op voormalige landbouwgrond mogelijk? *De Levende Natuur*, 4.
- van der Wal, A., van Veen, J. A., Pijl, A. S., Summerbell, R. C., & de Boer, W. (2006). Constraints on development of fungal biomass and decomposition processes during restoration of arable sandy soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(9), 2890-2902. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.04.046>
- van Straalen, N. M. (2019, november 1). *Microbivoor—De betekenis volgens Nico M. van Straalen*. <https://www.ensie.nl/nico-van-straaalen/microbivoor>
- Williston, H. L., & LaFayette, R. (1978). Species suitability and pH of soils in southern forests. *Forest Management Bulletin*. https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Species+suitability+and+pH+of+soils+in+southern+forests&author=Williston%2C+H.L.&publication_year=1978
- Zanen, M., Belder, P., Cuijpers, W., & Bos, M. (2011). *DEEL 1: Duurzaam bodembeheer & Functionele Agrobiodiversiteit in de bodem DEEL 2: Bodemleven*. <https://edepot.wur.nl/198638>

FACULTEIT INDUSTRIËLE INGENIEURSWETENSCHAPPEN
CAMPUS GEEL
Kleinhoefstraat 4
2440 GEEL, België
tel. + 32 14 72 13 00
iiw.geel@kuleuven.be
www.iw.kuleuven.be

