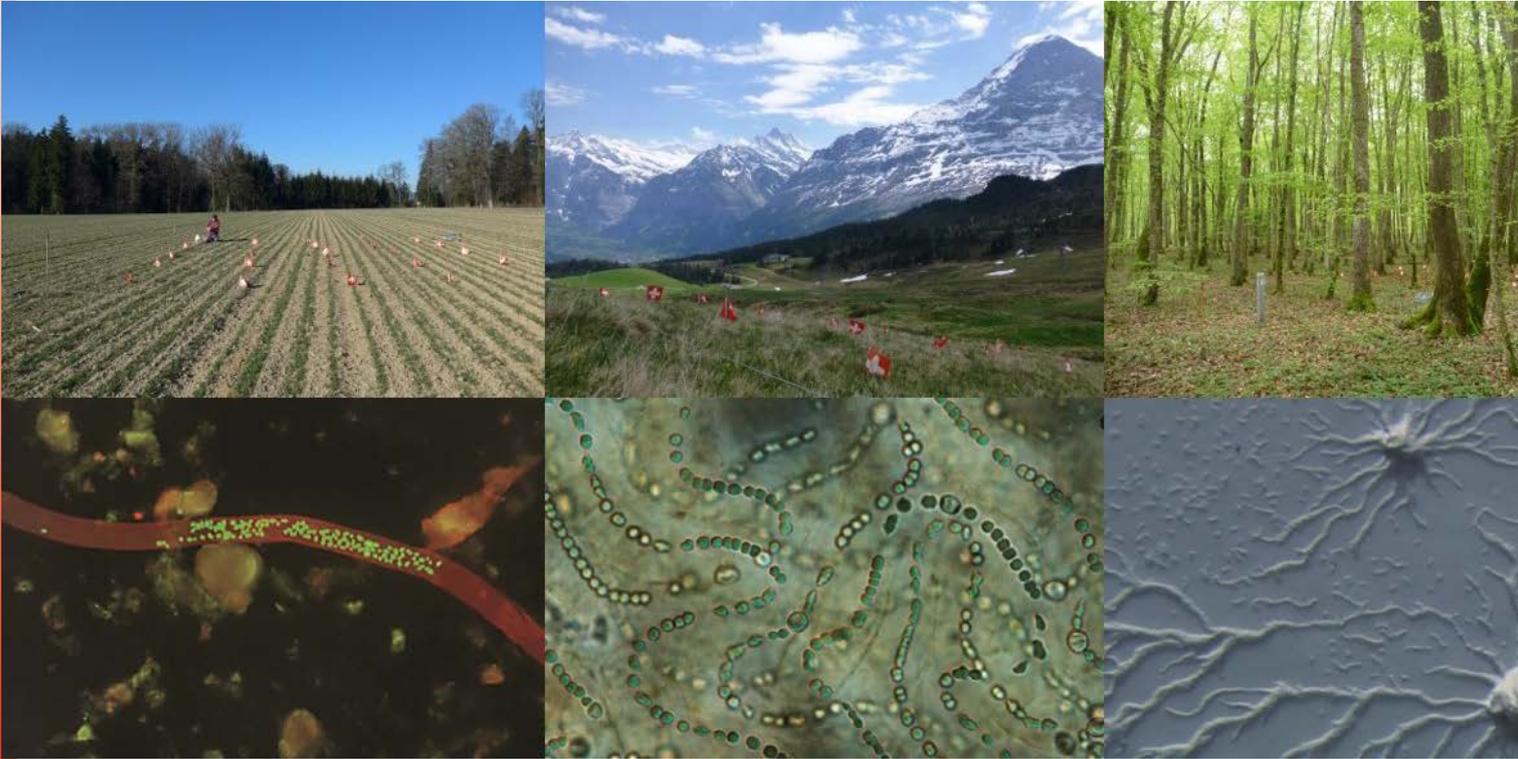


Umwelt

Agroscope Science | Nr. 63 / 2018



NABObio – Bodenbiologie in der Nationalen Boden- beobachtung

Ergebnisse 2012–2016

Handlungsempfehlungen und Indikatoren

Autoren

Anna-Sofia Hug, Andreas Gubler, Florian Gschwend,
Franco Widmer, Hansruedi Oberholzer, Beat Frey
und Reto Giulio Meuli



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für
Wirtschaft, Bildung und Forschung WBF
Agroscope

Impressum

Herausgeber:	Agroscope Reckenholzstrasse 191 8046 Zürich www.agroscope.ch
Auskünfte:	Anna-Sofia Hug anna-sofia.hug@agroscope.admin.ch
Titelbild	NABO-Standorte: NABO-Gruppe; Bodentierchen: European Atlas of Soil Biodiversity, EU, 2010
Download	www.agroscope.ch/science
Copyright:	© Agroscope 2018
ISSN:	2296-729X
ISBN:	978-3-906804-52-1

Inhalt

Zusammenfassung	4
Fakten NABObio	5
Empfehlungen für das Betreiben eines bodenbiologischen Monitorings	5
Résumé	7
Facts NABObio	8
Recommandations pour la gestion d'un monitoring de la biologie du sol	8
Summary	10
NABObio Facts	11
Recommendations for operators of a soil biological monitoring program	11
Abkürzungsverzeichnis	13
1 Bodenbiologie in der Nationalen Bodenbeobachtung	14
2 Das bedeutende und weitgehend unbekanntes Universum des Bodens	15
2.1 Mikrobiologische Parameter – Menge und Aktivität der Bodenlebewesen	15
2.1.1 Korrelationen zwischen mikrobiologischen Parametern, Boden- und Standorteigenschaften	18
2.1.2 Welche Muster zeigen die mikrobiologischen Parameter über die Zeit?	20
2.2 Mikrobielle Diversität - die Organismengemeinschaften der NABObio Standorte	22
2.2.1 OTU-Reichtum und Alphadiversität der NABObio-Standorte	23
2.2.2 Standorttypische Gemeinschaftsstrukturen	24
2.2.3 Gezieltes Monitoring von ausgewählten Organismen	25
2.3 Bodenbiologie – Produkt und Edukt eines Bodens	26
2.3.1 Das Klima	26
2.3.2 Bodenbeschaffenheit während der Probenahme	27
2.3.3 Einfluss der Bewirtschaftung	28
3 Qualitätssicherung des Messsystems	30
4 NABObio-Daten im weiteren Kontext	33
4.1 Bodenmikroorganismen und Bodenfunktionen	33
Anhang	41
1.1 Beprobung	42
1.2 Repräsentativität der ausgewählten NABObio Standorte	42
1.3 Analysen	44
1.4 Ermittlung mikrobiologischer Gemeinschaften mit molekularen Methoden	45
1.5 Metadaten	46
1.5.1 Bewirtschaftungsdaten	47
1.5.2 Klimadaten	47
2 Daten NABObio 2012 – 2016	49
3 Verzeichnisse	51
3.1 Abbildungsverzeichnis	51
3.2 Tabellenverzeichnis	52
3.3 Literaturverzeichnis	52

Zusammenfassung

Bodenorganismen spielen für das Ökosystem Boden und zahlreiche Bodenfunktionen eine zentrale Rolle. So ist die Produktionsfunktion direkt abhängig von einer aktiven und in grosser Menge vorhandenen Biomasse. Die Verordnung über Belastungen des Bodens (VBBo, 1998) verlangt, die Fruchtbarkeit des Bodens langfristig zu erhalten. Damit wird die Nationale Bodenbeobachtung NABO beauftragt, Aussagen über Zustand und Entwicklung des Lebens im Boden zu machen. Seit 2012 misst die NABO im Rahmen des bodenbiologischen Monitorings NABObio an 30 ausgewählten Standorten mikro- und molekularbiologische Parameter. Diese liefern Informationen über Aktivität, Menge und Qualität des Mikrobioms. Zur umfassenden Interpretation der bodenbiologischen Messungen werden sowohl chemische und physikalische Begleitparameter, als auch Informationen über das Klima und die Bewirtschaftung erfasst. Mit NABObio sollen auch die erforderlichen methodischen Kriterien für eine Dauerbeobachtung weiter erarbeitet und überprüft werden.

Die Ergebnisse der ersten fünf Jahre zeigen nutzungsbedingte Unterschiede. Ackerstandorte weisen dabei tiefere Gehalte an Biomasse, Basalatmung und DNS-Menge auf als die Grasland- und Waldstandorte. Die mikrobiologischen Werte zeigen über die fünf Jahre eine gute Wiederholbarkeit. Auch die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaften (Betadiversität) blieb während der letzten fünf Jahre stabil. Damit können für alle NABObio-Standorte die standorttypischen mikrobiellen Gemeinschaften definiert werden. Aufgrund der guten Wiederholbarkeit können sowohl die mikro- als auch die molekularbiologischen Werte als Basiswerte oder *baselines* verwendet werden. Es hat sich gezeigt, dass signifikante Veränderungen von bodenbiologischen Messwerten erst innerhalb einer langen Zeitreihe und nur zusammen mit Zusatzinformationen über den Standort interpretiert werden können. Die Veränderungen über die Zeit sind meist relativ klein, dies im Gegensatz zur Variabilität zwischen den Standorten.

Die relativ hohen Korrelationskoeffizienten ($r=0.82-0.91$) zwischen den Summenparametern der mikrobiologischen (FE_C, SIR) und molekularbiologischen Biomasse (DNS-Menge) weisen auf redundante Informationen über die Menge der Bodenmikroorganismen hin. In Zukunft wird in NABObio die Biomasse nur noch mit der Fumigation-Extraktion Methode bestimmt. Die Diversitätsuntersuchungen der DNS-Extrakte haben gezeigt, dass sich die Bestimmung des mikrobiellen Artenreichtums (Alphadiversität) nur beschränkt für die Dauerbeobachtung eignet, da dieser wenig mit anderen Umweltfaktoren korreliert und nicht nutzungstypisch ist – dies im Gegensatz zur Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaften. Ändern sich in Zukunft die mikrobiellen Gemeinschaften an einem Standort, können mit Hilfe der Zusatzinformationen mögliche Ursachen festgestellt und Veränderung qualitativ beurteilt werden. Die konservierten DNS-Extrakte ermöglichen zudem neue Fragestellungen, wie z. B. Einflüsse von Pflanzenschutzmitteln, Antibiotika oder des Klimawandels mit spezifischen Analysen zu bearbeiten.

Basierend auf den Ergebnissen von 2012 – 2016 formulieren wir Handlungsempfehlungen, die für die Betreiber von bodenbiologischen Dauerbeobachtungsprogrammen als Entscheidungsgrundlage dienen können. Diese beziehen sich auf das Design der Probenahme, den Zeitpunkt der Beprobung, die Messgrößen und Methoden sowie die Qualitätssicherung des Messsystems und die Auswertung der Daten. Zudem stellen wir bodenbiologische Indikatoren für die Umweltberichterstattung vor: Anhand standorttypischer Werte lassen sich die mikrobiologischen Messwerte klassieren (sehr tief bis sehr hoch). Die Verteilung innerhalb dieser Klassen und deren zeitliche Entwicklung geben Auskunft über die Qualität des Bodens und machen negative Entwicklungen frühzeitig erkennbar.

Die jährliche Beprobung wird an den Acker- und Graslandstandorten weitergeführt. Zudem sind weitere Schritte geplant, um den Zusammenhängen zwischen Boden, der Bodenbiologie und ihrer Diversität, seiner Nutzung, seiner Produktivität und Fruchtbarkeit weiter auf die Spur zu kommen. Dies wird der NABO ermöglichen, die vorliegenden bodenbiologischen Indikatoren für die Bodenqualität zu überprüfen und zu verfeinern.

Fakten NABObio

- An 30 NABO-Standorten werden seit 2012 jährlich die mikrobielle Biomasse, die Basalatmung, die DNS-Menge, der Artenreichtum und die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft bestimmt.
- Die gemessenen bodenbiologischen Parameter der NABObio-Standorte sind über die 5 Jahre von 2012 – 2016 stabil geblieben.
- Ackerstandorte weisen tiefere Biomasse- und Basalatmungswerte auf als Grasland- und Waldstandorte.
- Die Biomassegehalte der Ackerstandorte liegen, abgesehen von einzelnen Schwankungen, alle in einem zu erwartenden nutzungs- und standorttypischen Bereich. Die Gehalte können mit berechneten standorttypischen Werten qualitativ beurteilt werden - alle werden mit *normal* bis *hoch* bzw. *sehr hoch* bewertet.
- Da eine ausreichend vorhandene mikrobielle Biomasse Voraussetzung für die Produktionsfunktion ist, können die Böden der NABObio-Ackerstandorte diese Funktion wahrnehmen.
- Die Basalatmungswerte der Ackerstandorte werden als normal bis sehr hoch beurteilt.
- Die mikrobiologischen Gehalte für Grasland- und Waldstandorte liegen alle in einem Bereich, der mit anderen Studien vergleichbar ist.
- Molekularbiologische Methoden wurden erfolgreich in das bodenbiologische Monitoring integriert – dabei konnten für jeden Standort die mikrobiellen Lebensgemeinschaften (β -Diversität) mit einer sehr guten zeitlichen Wiederholbarkeit bestimmt werden. Damit konnten für alle NABObio-Standorte standorttypische Lebensgemeinschaften (β -Diversität) des Mikrobioms definiert werden. Diese werden in Zukunft als Basiswerte bzw. *baselines* verwendet.
- Der OTU-Reichtum (α -Diversität) der NABObio-Standorte korreliert wenig mit Standorteigenschaften und verändert sich zwischen den Jahren relativ stark. Als Indikator für die Biodiversität eignet sich die α -Diversität innerhalb eines Monitorings deshalb nicht.
- Die DNS-Mengen von feldfrischen Bodenproben schwanken zwischen den Jahren relativ stark. Um Aussagen machen zu können, wie sich die Menge der mikrobiellen Biomasse längerfristig entwickelt, sollte die DNS-Menge mit einer klassischen Messmethode der Biomasse ergänzt werden.

Empfehlungen für das Betreiben eines bodenbiologischen Monitorings

Jährlich drei Mischproben aus 100m²: Insbesondere bei heterogenen Standorten sollte die beprobte Fläche die von der NABO vorgeschlagenen 100 m² aufweisen. Dies ist vor allem bei Wald- und Ackerstandorten von Bedeutung. Zudem ist bei Pilzen bekannt, dass sie ein punktuell Vorkommen aufweisen und im Gegensatz zu Bakterien weniger homogen über die Fläche verteilt sind. Die relativ gute Übereinstimmung und geringe Streuung der drei Mischproben à 25 Einstichen pro Standort zeigen, dass dieses Probenahmedesign die Fläche repräsentativ erfasst. Um eine Streuung der Messungen ausweisen zu können, sind pro Standort mindestens drei Replikate zu entnehmen. Damit Proben aus verschiedenen Landnutzungen miteinander in Beziehung gesetzt werden können, sind die Proben alle aus derselben Tiefe zu entnehmen. Aufgrund der hohen Sensibilität von Bodenorganismen auf Umwelteinflüsse wird zumindest in den ersten fünf bis zehn Jahren eine jährliche Beprobung empfohlen. Damit lassen sich pro Standort Basiswerte definieren.

Immer zum selben Zeitpunkt: Das Mikrobiom des Bodens reagiert sehr sensibel auf sich ändernde Umweltbedingungen, wie zum Beispiel auf unterschiedliche Jahreszeiten. Die Beprobung zu stets derselben Jahreszeit ist Voraussetzung für die Vergleichbarkeit der Resultate zwischen den Jahren. In NABObio wird davon ausgegangen, dass mit dem Beprobungszeitpunkt im Frühjahr vor der ersten Düngung bzw. Bearbeitung der Boden am wenigsten gestört und der Einfluss der Kultur gering ist. Damit widerspiegelt das Mikrobiom einen möglichst typischen und stabilen Zustand des Bodens. Dieser Zeitpunkt hat den Nachteil, dass für die Beprobung häufig nur ein enges Zeitfenster zur Verfügung steht. Sobald die Böden genügend abgetrocknet und damit geeignet zur Beprobung sind, werden diese meist auch bereits das erste Mal ge-

düngt bzw. bearbeitet. Eine gute Zusammenarbeit mit den Bewirtschaftern ist dabei von grossem Vorteil. Bewährt haben sich finanzielle Anreize und eine zielgruppengerechte Kommunikation der (interpretierten) Messergebnisse.

Als Messgrössen werden ein Aktivitätsparameter (Basalatmung), ein Summenparameter (Biomasse) und ein Diversitätsparameter empfohlen: Um die Bodenqualität beurteilen zu können, sind Kenntnisse über die *Quantität, Aktivität* und *Qualität der mikrobiellen Biomasse* zwingend notwendig. Als Messmethoden für die Biomasse wird die Fumigation-Extraktion (Biomasse FE) oder Substratinduzierte Respiration (Biomasse SIR) empfohlen. Mit der Bestimmung der Basalatmung als Aktivitätsparameter kann zudem der metabolische Quotient (BA/mikrobielle Biomasse) gebildet werden. Mit den für das Metabarcoding benötigten DNS-Extrakten wird die DNS-Menge quantifiziert und die standorttypischen mikrobiellen Lebensgemeinschaften bestimmt. Die DNS-Extrakte können zudem tiefgefroren gelagert und für weitere Fragestellungen erneut analysiert werden.

Verwenden von standardisierten Methoden: Aus Gründen der Vergleichbarkeit zwischen den Jahren sollen die Methoden nicht geändert werden: SOPs (standard operation procedures) werden dringend empfohlen. Aus Gründen der nationalen Vergleichbarkeit sind bei der Konzeption eines Monitorings die VBBO, die Empfehlungen der VBB und die Referenzmethoden der Eidg. Landw. Forschungsanstalten (FAL, FAW, RAC, 1996) als Grundlage heranzuziehen. Für die DNS-Extraktion wird das Verwenden eines nicht kommerziellen Protokolls empfohlen. Diese können selber hergestellt werden und stehen deshalb uneingeschränkt zur Verfügung.

Zusätzliche Standortinformationen sind zwingend notwendig: Zur umfassenden Beschreibung des Lebensraumes des Bodenbioms müssen ebenfalls physikalische und chemische Bodenparameter bekannt sein. Für die Interpretation der bodenbiologischen Parameter sollten dies im Minimum die Körnung (Tongehalt), der pH-Wert, der C_{org} -Gehalt und das C/N-Verhältnis sein. Die Lagerungsdichte und der Wassergehalt liefern zudem wichtige Informationen über den Zustand des Bodens während der Probenahme. Je mehr zusätzliche Information über den Standort vorhanden ist, desto besser können beobachtete Veränderungen einer bodenbiologischen Grösse verstanden und interpretiert werden. Informationen über das Klima (Temperatur und Niederschlag) und zur Bewirtschaftung (Fruchtfolge, Dünger, Pflanzenschutzmittel) müssen wenn immer möglich bekannt sein.

Zur Prüfung der Stabilität des Messsystems über die Jahre sind regelmässige Analysen einer Referenzprobe durchzuführen. Wir empfehlen, auf eine Korrektur der Messwerte zu verzichten, solange die Referenzprobe(n) zeigt, dass die Abweichungen zwischen den Jahren innerhalb der üblichen langjährigen Streuung der Analytik liegen. Bei der Beurteilung der Messkurve der Referenzprobe(n) über die Zeit muss berücksichtigt werden, dass die Lagerung das Mikrobiom der Probe beeinflusst.

Bei der statistischen Auswertung von Monitoring-Daten ist zu beachten, dass die wiederholten Messungen pro Standort keine unabhängigen Beobachtungen darstellen. Anstelle einer klassischen Regression müssen deshalb hierarchische Modelle verwendet werden. Diese berücksichtigen, dass die Daten hierarchisch organisiert sind und die wiederholten Erhebungen pro Standort nicht unabhängig voneinander sind. Eine Hierarchieebene stellt die verschiedenen Standorte dar, die nächste Ebene die Anzahl Erhebungen pro Standort. Sehr häufig werden in solchen Fällen gemischte Modelle verwendet. Geht es in einem ersten Schritt darum, die Daten explorativ (und damit vor allem graphisch) zu evaluieren, sollten zentrierte Daten verwendet werden. Wir empfehlen, die statistische Auswertung der Daten bereits bei der Konzeption des Monitoring-Programms mit einem Experten zu planen.

Résumé

Les organismes du sol jouent un rôle essentiel pour l'écosystème sol et de nombreuses fonctions du sol. Ainsi, la fonction de production dépend directement de la présence en grande quantité d'une biomasse active. L'ordonnance sur les atteintes portées au sol (OSol, 1998) exige que la fertilité du sol soit être garantie à long terme. Aussi l'Observatoire national des sols (NABO) a-t-il pour mandat de livrer des informations sur l'état et le développement de la vie dans le sol. Depuis 2012, le NABO mesure des paramètres microbiologiques et biomoléculaires sur 30 sites sélectionnés dans le cadre du monitoring biologique du sol NABObio. Ces paramètres fournissent des informations sur l'activité, la quantité et la qualité du microbiome. Pour que les mesures biologiques du sol puissent être interprétées de manière plus approfondies, des paramètres annexes chimiques et physiques ainsi que des informations sur le climat et l'exploitation sont également relevés. Un autre objectif de NABObio est de poursuivre le développement et de contrôler les critères méthodologiques nécessaires à l'observation à long terme du sol.

Les résultats des cinq premières années révèlent des différences liées à l'utilisation du sol. Pour les paramètres microbiologiques et biomoléculaires, les sites de grandes cultures présentent ainsi des teneurs en biomasse, respiration basale et quantité d'ADN inférieures à celles des sites d'herbages et de forêt. Les valeurs microbiologiques relevées durant ces cinq années montrent une bonne reproductibilité. La composition des communautés microbiennes (diversité bêta) est elle aussi restée stable tout au long des cinq dernières années. Il est donc possible de définir pour tous les sites de NABObio les communautés microbiennes typiques du site. En raison de cette bonne reproductibilité, les valeurs microbiologiques et biomoléculaires peuvent être utilisées comme valeurs de base ou *baselines*. On a constaté que les modifications significatives de valeurs biologiques du sol ne pouvaient être interprétées que sur une période prolongée et en association avec des informations complémentaires sur le site. Contrairement à la variabilité entre les sites, les modifications survenant au fil du temps sont en général relativement faibles.

Les coefficients de corrélation relativement élevés ($r=0.82-0.91$) entre les paramètres globaux des biomasses microbiologiques (FE_C, SIR) et biomoléculaires (quantités d'ADN) indiquent la présence d'informations redondantes sur la quantité de microorganismes du sol. À l'avenir, NABObio n'utilisera plus que la méthode de fumigation-extraction pour déterminer la biomasse. Les analyses de la diversité des extraits d'ADN ont montré que la détermination de la richesse spécifique microbienne (diversité alpha) ne se prête que partiellement à une observation à long terme, car elle ne présente qu'une faible corrélation avec les autres facteurs environnementaux et n'est pas typique de l'exploitation, contrairement à la composition des communautés microbiennes. Si les communautés microbiennes d'un site devaient se modifier à l'avenir, les informations complémentaires serviront à établir les causes possibles et à effectuer une évaluation qualitative des changements. D'autre part, les extraits d'ADN conservés permettront de traiter de nouvelles problématiques, comme l'influence des produits phytosanitaires, des antibiotiques ou du changement climatique, au moyen d'analyses spécifiques.

Sur la base des résultats de 2012 à 2016, nous formulons des recommandations pouvant servir d'outil de décision pour la gestion de programmes d'observation à long terme de la biologie du sol. Ces recommandations portent sur le modèle d'échantillonnage, l'époque de prélèvement des échantillons, les paramètres et les méthodes ainsi que sur l'assurance qualité du système de mesure et l'interprétation des données. Nous présentons des indicateurs biologiques qui fournissent des informations sur la qualité du sol, et permettent ainsi d'élargir les rapports sur l'environnement.

L'échantillonnage annuel des sites de grandes cultures et d'herbages se poursuivra. D'autres étapes sont également prévues afin de mieux connaître les corrélations existantes entre le sol, sa biologie et sa diversité biologique, son utilisation, sa productivité et sa fertilité. Ce qui permettra au NABO de contrôler et d'affiner les indicateurs biologiques de la qualité du sol présentés dans ce rapport.

Facts NABObio

- Depuis 2012, la biomasse microbienne, la respiration basale, la quantité d'ADN, la richesse spécifique et la composition de la communauté microbienne sont analysées chaque année sur 30 sites du NABO.
- Les paramètres biologiques du sol mesurés sur les sites de NABObio sont restés stables pendant les cinq années considérées (2012 à 2016).
- Les sites de grandes cultures présentent des valeurs de biomasse et de respiration basale inférieures à celles relevées dans les sites d'herbages et de forêt.
- Hormis quelques fluctuations, les teneurs en biomasse des sites de grandes cultures se situent toutes dans une plage attendue typique pour l'utilisation et le site.
- Les teneurs peuvent être évaluées qualitativement à l'aide de valeurs calculées typiques pour le site – selon cette évaluation, toutes sont considérées comme normales à élevées, voire très élevées.
- La présence d'une biomasse microbienne suffisante est une condition nécessaire à la fonction de production, de sorte que les sols des sites de grandes cultures de NABObio sont en mesure de remplir cette fonction.
- L'évaluation des valeurs de respiration basale des sites de grandes cultures montre que celles-ci sont normales à très élevées.
- Les teneurs microbiologiques pour les sites d'herbages et de forêt se situent toutes dans une plage comparable à d'autres études.
- Des méthodes microbiologiques ont été intégrées avec succès dans le monitoring de la biologie du sol, ce qui a permis de déterminer les biocénoses microbiennes (diversité β) de chaque site avec une très bonne reproductibilité dans le temps.
- Il a ainsi été possible de définir pour tous les sites de NABObio des biocénoses typiques du site (diversité β) au sein du microbiome. Celles-ci serviront à l'avenir de valeur de base ou *baseline*.
- La richesse OTU (diversité α) des sites de NABObio ne présente qu'une faible corrélation avec les propriétés des sites et varie assez fortement d'une année à l'autre.
- Elle n'est donc pas appropriée pour servir d'indicateur de la biodiversité dans le cadre d'un monitoring.
- Les quantités d'ADN relevées dans les échantillons de sol frais fluctuent assez fortement d'une année à l'autre. Pour pouvoir tirer des conclusions sur la quantité de biomasse microbienne, la quantité d'ADN doit être complétée par une méthode classique microbiologique de mesure de la biomasse.

Recommandations pour la gestion d'un monitoring de la biologie du sol

Trois échantillons composés par année sur une surface de 100 m² : La surface d'échantillonnage devrait être de 100 m², conformément aux recommandations du NABO, surtout lorsque les sites sont hétérogènes. C'est particulièrement important pour les sites de forêt et de grandes cultures. On sait en outre que les champignons n'apparaissent que de manière ponctuelle et que - contrairement aux bactéries - leur répartition sur la surface n'est pas homogène. La relativement bonne concordance et la faible dispersion des trois échantillons composés de 25 carottes par site montre que ce modèle de prélèvement permet un relevé représentatif de la surface. Pour pouvoir mettre en évidence une dispersion des mesures, il faut prélever au moins trois échantillons par site. Le prélèvement doit toujours se faire à la même profondeur, de manière à pouvoir établir des corrélations entre les échantillons provenant des différentes catégories d'utilisation. Les organismes du sol étant très sensibles aux influences climatiques, il est recommandé d'effectuer un échantillonnage annuel au moins pendant les cinq à dix premières années. Ce qui permet de définir des valeurs de base pour chaque site.

Toujours à la même époque : Le microbiome du sol est très sensible aux modifications des conditions climatiques et notamment aux différences saisonnières. Prélever les échantillons à la même saison est donc une condition indispensable pour la comparabilité des résultats d'une année à l'autre. Dans le cadre de NABObio, on part du principe que l'époque de prélèvement où le sol est le moins perturbé et où

l'influence de la culture se fait moins ressentir est le printemps, avant la première fumure et le premier travail du sol. Le microbiome reflète ainsi un état aussi typique et stable que possible du sol. L'inconvénient de cette période est que le temps à disposition pour le prélèvement des échantillons est souvent très limité. En effet, les sols sont généralement fertilisés et préparés dès qu'ils sont suffisamment ressuyés, or c'est précisément à ce moment qu'ils seraient prêts à être échantillonnés. Une bonne collaboration avec les exploitants se révèle à cet égard très utile. Les incitations financières et une communication des résultats (interprétés) adaptée aux groupes cibles sont des instruments qui ont fait leurs preuves.

Les grandeurs de mesure recommandées comprennent un paramètre de l'activité (respiration basale), un paramètre global (biomasse) et un paramètre de la diversité : Pour pouvoir évaluer la qualité du sol, des connaissances sur la *quantité*, l'*activité* et la *qualité de la biomasse microbienne* sont indispensables. Les méthodes de mesure recommandées pour la biomasse sont la fumigation-extraction (biomasse FE) ou la respiration induite par le substrat (biomasse SIR). La détermination de la respiration basale comme paramètre de l'activité permet en outre d'établir le quotient métabolique (RB/biomasse microbienne). Les extraits d'ADN nécessaires pour le metabarcoding sont utilisés pour quantifier la quantité d'ADN et déterminer la biocénose microbienne typique du site. Ils peuvent en outre être stockés à l'état congelé et réanalysés ultérieurement pour l'étude de nouvelles problématiques.

Utilisation de méthodes standardisées : Pour des raisons de comparabilité entre les années, les méthodes ne doivent pas être modifiées : il est vivement recommandé de se baser sur les SOPs (standard operation procedures). Afin d'assurer la comparabilité au niveau national, l'OSol, les recommandations du BSA/VBB et les méthodes de référence des stations fédérales de recherches agronomiques (FAL, FAW, RAC, 1996) doivent servir de base pour la conception d'un monitoring. Pour l'extraction de l'ADN, il est recommandé de recourir à un protocole non commercial. Ceux-ci peuvent être établis de façon autonome et sont donc disponibles de manière illimitée.

Il est indispensable de disposer d'informations complémentaires sur le site : Pour pouvoir décrire de façon complète le milieu abritant le biome du sol, certains paramètres physiques et chimiques du sol doivent être connus. Les données requises pour l'interprétation des paramètres biologiques du sol devraient au moins comprendre la texture (teneur en argile), le pH, la teneur en C_{org} et le rapport C/N. La densité apparente et la teneur en eau fournissent en outre des indications importantes sur l'état du sol au moment du prélèvement de l'échantillon. Les variations observées d'un paramètre biologique du sol peuvent être d'autant mieux comprises et interprétées, que les informations complémentaires disponibles sur le site sont nombreuses. Dans la mesure du possible, les données relatives au climat (température et précipitations) et à l'exploitation (assolement, engrais, produits phytosanitaires) doivent être connues.

Des analyses régulières d'un échantillon de référence sont nécessaires pour contrôler la stabilité du système de mesure au fil des années : Nous recommandons de ne pas effectuer de correction des valeurs de mesure tant que l'échantillon/les échantillons de référence montre(nt) que les écarts entre les années se situent dans le cadre de la dispersion usuelle à long terme de la méthode d'analyse. Pour l'évaluation dans le temps des courbes de mesure de l'échantillon ou des échantillons de référence, il faut tenir compte du fait que le stockage influence le microbiome de l'échantillon.

Lors de l'évaluation statistique des données du monitoring, il faut garder à l'esprit que les mesures répétées sur un site ne constituent pas des observations indépendantes : Il convient par conséquent d'utiliser des modèles hiérarchiques. Ceux-ci tiennent comptes du fait que les données sont organisées de manière hiérarchique et que les relevés répétés sur un site donné ne sont pas indépendants des autres. Un niveau hiérarchique représente les différents sites, le niveau suivant les x relevés par site. Dans ce genre de cas, il est très courant d'utiliser des modèles mixtes. S'il s'agit dans une première étape d'évaluer les données de manière exploratoire (et donc surtout avec des graphiques), il faudrait utiliser des données centrées. Nous recommandons de planifier avec un expert l'interprétation statistique des données, et cela déjà lors de la conception du programme de monitoring.

Summary

Soil organisms play a central role in the soil ecosystem and enable numerous soil functions. The production function and thus fertility of soil directly depend on an active, large biomass. Therefore, the Swiss Ordinance Relating to Impacts on the Soil (OIS; German: VBBo) (VBBo, 1998) stipulates a nationwide long-term maintenance of soil fertility, and the Swiss National Soil Monitoring Network NABO is amongst others responsible for evaluating the condition and development of soil organisms. Since 2012, the NABO program Soil Biology Monitoring NABObio has been measuring microbiological parameters at 30 selected NABO sites. These parameters provide information on quantity, activity, and quality of the soil microbiome. To allow a comprehensive interpretation of the measurements, the NABO has also recorded chemical and physical soil parameters, weather conditions, and the type of soil management. In addition, NABObio has been responsible for developing and validating methodological criteria that are suitable for long-term soil monitoring.

The results of the first five program years (2012 to 2016) showed land-use-related differences in microbiological parameters. Compared with grassland and forest sites, arable sites had lower values of biomass content, soil respiration, and DNA content. The microbiological data values showed good repeatability over five years. Furthermore, the composition of microbial populations (beta-diversity) remained stable over five years. Thus, site-typical microbial populations could be defined for all NABObio sites. Changes over time were usually small, whereas variability between sites was relatively high. We conclude that the good repeatability allows using the microbiological data values as base values or *baselines*. Furthermore, significant changes in soil biological data values can only be interpreted in the context of a long time series with additional site information.

The relatively high correlation coefficients ($r = 0.82$ to 0.91) between the sum parameters of microbiological (fumigation-extractable carbon, FE_C; substrate-induced respiration, SIR) and molecular biomass (DNA content) indicate redundant information about the quantity of soil microorganisms. Thus, future biomass quantification in NABObio will be done with the microbiological fumigation–extraction method. Diversity analyses of the DNA extracts showed that the assessment of microbial species richness (alpha-diversity) has limited suitability for long-term monitoring because - in contrast to the composition of microbial populations (beta-diversity) - alpha-diversity correlated minimally with other environmental factors and was not land use or site specific. If the composition of microbial populations (beta-diversity) at a site change in the future, information such as environmental and land use data can be used to identify possible causes and qualitatively assess the changes. Furthermore, the stored DNA extracts can be used for specific analyses that address new questions such as impacts of plant protection products, antibiotics, or climate change.

Based on the results obtained from 2012 to 2016, we prepared recommendations for operators of long-term soil biological monitoring programs to facilitate decision making. These recommendations relate to sampling design, timing of sampling, choice of measurement parameters and methods, quality control of the measuring system, and data analysis. Furthermore, we introduced soil biological indicators that provide information about soil quality and thus broaden the means for environmental reporting.

The annual sampling will be continued at the arable and grassland sites of NABObio. In addition, further investigations are planned to elucidate relationships between soil, soil biology and biological diversity, land use, soil productivity, and soil fertility. These investigations will enable the NABO to test and refine the soil biological indicators of soil quality.

NABObio Facts

- Since 2012, 30 selected NABO sites (NABObio sites) have been monitored annually to assess microbial biomass, soil respiration, DNA content, species richness, and composition of the microbial population.
- The soil biological parameters measured at these NABObio sites have remained stable over five years from 2012 to 2016.
- Arable sites had lower values of biomass content and soil respiration than did grassland and forest sites.
- The values of biomass content at arable sites were (except for a few outliers) within an expected range that was typical for the land use and site. Thus, the measured values could be evaluated qualitatively by comparison with calculated site-typical values—all of the measured values of the NABObio sites were *normal to high* or *very high*.
- A sufficiently large microbial biomass is necessary for the production function of soil. Our results show that the soils at the NABObio arable sites can provide this soil function.
- The values of soil respiration at the arable sites were found to be normal to very high.
- The microbial biomass contents at grassland and forest sites had values within a range that is comparable with values found in other studies.
- Molecular methods were successfully integrated in the soil biological monitoring—for each site, the composition of the microbial community (beta-diversity) could be determined with very good temporal repeatability. Thus, we could define a site-typical community of the microbiome for each NABObio site. These data will serve as base values or *baselines* for future assessments.
- The operational taxonomic unit (OTU) richness (alpha-diversity) at the NABObio sites correlated little with site characteristics and changed markedly between the years. Thus, alpha-diversity is not a suitable indicator of biodiversity for soil monitoring.
- The DNA content in fresh soil samples varied markedly between the years. For reliable quantitative statements about the microbial biomass, the DNA content should be complemented with a classical microbiological biomass measuring method.

Recommendations for operators of a soil biological monitoring program

Annually three composite samples from 100 m²: Especially at heterogeneous sites, the sampled area should have a size of 100 m² as recommended by the NABO. This recommendation especially applies to forest and arable sites. Furthermore, fungi are known to have a clustered distribution and thus, in contrast to bacteria, occur less homogeneously across an area. The relatively consistent results and small variation between the three composite samples of 25 cores per sample per site showed that this sampling design adequately assessed the area. To reveal variation between the measurements, at least three replicate samples per site are required. To allow comparisons between land use types, all sites have to be sampled at the same soil depth. Soil organisms are highly sensitive to environmental impacts; therefore, annual sampling is recommended at least during the first five to ten years. This sampling frequency allows defining base values for each site.

Always at the same time: The soil microbiome reacts sensitively to changes in environmental conditions such as seasonal changes. Sampling at the same time of year is therefore mandatory for comparability of the results between years. The NABObio program assumes that soil sampling in the spring, before the first application of fertilizer or soil cultivation, ensures that the soil is the least disturbed and the least influenced by the type of culture. With this timing, the microbiome reflects a typical and stable condition of the soil. A disadvantage of this timing is the small time window during which sampling is possible. As soon as the soil is sufficiently dry for sampling, it usually also is fertilized and cultivated. Good cooperation with the land managers is therefore of great advantage. Financial incentives and target-group-oriented communication of (interpreted) measuring results have proven to be beneficial for a successful program.

Recommended measurement parameters include a sum parameter (biomass content), an activity parameter (soil respiration), and a diversity parameter: To assess soil quality, knowledge of *quantity*, *activity*, and *quality of the microbial biomass* is mandatory. As methods for measuring biomass content, we recommend fumigation extraction (FE biomass) or substrate-induced respiration (SIR biomass). Determination of soil respiration (SR) as an activity parameter furthermore allows calculating the metabolic quotient (SR/microbial biomass). With DNA extracts, which are required for DNA metabarcoding, the DNA content can be quantified and the site-typical microbial communities can be determined. Furthermore, DNA extracts can be stored in a deep freezer and re-analyzed to address further questions.

Use of standardized methods: To ensure comparability between years, the methods must not be changed. Standard operating procedures (SOPs) are highly recommended. To guarantee nationwide comparability, future concepts of soil monitoring programs must adhere to the Swiss Ordinance Relating to Impacts on the Soil (OIS; German: VBBo), the recommendations of the VBB, and the reference methods of the Swiss Federal Agricultural Research Stations (FAL, FAW, RAC, 1996). For DNA extraction, we recommend using a non-commercial protocol because the reagents can be prepared individually and thus are always available.

Additional site information is absolutely essential: A comprehensive description of the soil biome habitat is impossible without physical and chemical soil parameters. For a meaningful interpretation of biological soil parameters, at least texture (clay content), pH value, organic C (C_{org}) content, and C/N ratio should be known. Furthermore, bulk density and water content provide important information about the soil condition during sampling. The more additional information about the site is available, the better the observed changes of a soil biological parameter can be understood and interpreted. Information about weather conditions (temperature and precipitation) and land use management (crop rotation, fertilizer, plant protection products) should be recorded whenever possible.

Periodic analyses of a reference sample are necessary to test the stability of the measuring system over time. We recommend refraining from data correction as long as the reference sample(s) shows that the variation between years lies within the usual long-term variation of the analytical methods. When evaluating the measuring curve of the reference sample(s) over time, a possible influence of storage on the microbiome needs to be considered.

The statistical analysis of monitoring data must consider that repeated measurements per site are not independent observations. Monitoring data do not allow classical regression analysis. Instead, hierarchical models must be applied. These models factor in the hierarchical order of the data and the interdependency of the repeated measurements per site. The first hierarchy level represents the different sites, and the next level represents the number of measurements per site. Often, mixed models are applied in such cases. For an initial exploratory (and thus mainly graphical) data evaluation, centered data should be used. We recommend consulting a statistician to plan the statistical data analysis during conception of a monitoring program.

Abkürzungsverzeichnis

BA: Basalatmung ($\text{mg CO}_2\text{-C kg}^{-1}$ Boden TS h^{-1})

BM-FE (C): mikrobielle Biomasse (Kohlenstoff), bestimmt mit der Fumigation-Extraktions-Methode (mg kg^{-1} Boden TS)

BM-SIR: mikrobielle Biomasse (Kohlenstoff), bestimmt mit der Methode substratinduzierte Respiration (mg kg^{-1} Boden TS).

C/N-Verhältnis: organischer Kohlenstoff-Stickstoff-Verhältnis

C_{org} : Organischer Kohlenstoff (%)

DNS: Desoxyribonukleinsäure

OTU: Operational Taxonomic Unit, Annäherung an Arten

PCR: Polymerase chain reaction

PSM: Pflanzenschutzmittel

RG: Raumgewicht (Feinerde)

SOP: Standard operation procedure

NABO: Nationale Bodenbeobachtung

NABObio: Bodenbiologisches Monitoring der Nationalen Bodenbeobachtung.

$qC_{\text{mik}}/C_{\text{org}}$: Verhältnis mikrobiell gebundener Kohlenstoff zum organischen Kohlenstoff ($\text{mg } C_{\text{mik}} \text{ g}^{-1} C_{\text{org}}$)

$q\text{CO}_2$: metabolischer Quotient, Verhältnis der Basalatmung zur mikrobiellen Biomasse ($\text{mg CO}_2\text{-C g}^{-1} C_{\text{mik}}$)

VBBö: Verordnung über Belastungen des Bodens

VBB: Vollzug Bodenbiologie (Arbeitsgruppe)

WG: Wassergehalt

1 Bodenbiologie in der Nationalen Bodenbeobachtung

Bodenorganismen spielen für viele Prozesse im Ökosystem Boden eine zentrale Rolle. Durch den Auf- und Abbau von Biomasse sind sie in der Nahrungsmittelproduktion hauptverantwortlich für die Bereitstellung von Nährstoffen für das Pflanzenwachstum. Sie halten Krankheitserreger in Schach und reinigen unser Grundwasser. Bodentiere verkitten Bodenkrümel zu einem stabilen Gefüge mit einem Porensystem, das auch grosse Niederschlagsmengen auffangen und versickern lassen kann. Als Pool mit der höchsten genetischen Diversität auf Erden stellt die mikrobielle Biomasse ein bedeutendes Reservoir an potentiell nutzbaren Eigenschaften für die Menschheit dar.

Diese Ökosystemleistungen sind für das Fortbestehen der Menschheit grundlegend und absolut schützenswert. Daher verlangt die Verordnung über Belastungen des Bodens (VBBo, 1998), dass die Fruchtbarkeit des Bodens langfristig zu erhalten ist. Ein Boden gilt als fruchtbar, wenn die biologisch aktive Lebensgemeinschaft, (...) für seinen Standort typisch ist und er eine ungestörte Abbaufähigkeit aufweist. Dies bedeutet, dass der bodenbiologische Zustand der Standorte beurteilt und Aussagen über die standorttypischen Lebensgemeinschaften gemacht werden müssen. Damit erhält die Nationale Bodenbeobachtung NABO den gesetzlichen Auftrag, ein bodenbiologisches Monitoring zu betreiben. Zudem verlangt die Strategie Biodiversität Schweiz (SBS), dass die Überwachung der Veränderung von Ökosystemen, Arten und der genetischen Vielfalt (...) bis 2020 sichergestellt sein muss (Strategisches Ziel 10; BAFU, 2012).

Um Aussagen über den Zustand und die Veränderung bodenbiologischer Eigenschaften zu machen, wurde im Jahr 2012 das bodenbiologische Monitoring NABObio gestartet. Dieses misst an 30 ausgewählten NABO-Standorten mikrobiologische Parameter wie die mikrobielle Biomasse, Basalatmung, DNS-Menge und mikrobielle Diversität. Zusätzlich werden chemische und physikalische Bodeneigenschaften erhoben. Mit NABObio sollen zudem die erforderlichen methodischen Kriterien für eine Dauerbeobachtung weiter erarbeitet und überprüft werden.

NABObio wird in Zusammenarbeit mit den Gruppen *Molekulare Ökologie* und *Bodenfruchtbarkeit und Bodenschutz* von Agroscope durchgeführt. Die Waldstandorte wurden in Zusammenarbeit mit der Gruppe *Rhizosphären-Prozesse* der Eidgenössischen Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft WSL analysiert.

In diesem Bericht erläutern wir die Ergebnisse der Jahre 2012 – 2016. Darauf basierend formulieren wir Handlungsempfehlungen, die für Betreiber von bodenbiologischen Dauerbeobachtungsprogrammen als Entscheidungsgrundlage dienen können. Details zur Probenahme und den Messmethoden können dem Kapitel *Material und Methoden* und aus Hug et al. (2015) entnommen werden.

Das bodenbiologische Monitoring im Rahmen von NABObio wird ab 2017 mit jährlichen Erhebungen an 9 Acker- und 10 Graslandstandorten fortgesetzt. Die mikrobielle Biomasse wird seit 2017 nur noch mit der Methode der Chloroform-Fumigation-Extraktion bestimmt. Die Methode ist international weit verbreitet und robuster als die SIR-Methode. Zusätzlich lässt sich damit der mikrobielle Stickstoff bestimmen. Im Rahmen einer Stuserhebung werden 2018 – 2022 für das gesamte Messnetz der NABO die mikrobielle Biomasse, die Basalatmung, die DNS-Menge und die mikrobiellen Gemeinschaftsstrukturen bestimmt. Damit kann die NABO ab 2023 Auskunft über die Aktivität, Menge und Zusammensetzung des Mikrobioms aller 111 Standorte geben. Des Weiteren wird an ausgewählten NABO-Standorten der Zusammenhang zwischen bestimmten Bodenfunktionen und der Bodenbiologie untersucht. Die langjährigen Bewirtschaftungsdaten für die Standorte erlauben uns, mögliche Einflüsse der Bewirtschaftung auf die Bodenfunktionen zu untersuchen. Weiter dienen die Daten von NABObio dazu, bodenbiologische Indikatoren für die Qualität des Bodens herzuleiten. Hierfür können die NABObio-Daten mit den vergleichbaren kantonalen bodenbiologischen Daten ergänzt werden.

2 Das bedeutende und weitgehend unbekanntes Universum des Bodens

Die mikrobielle Biomasse gilt als ein Indikator für die Qualität des Bodens als Lebensraum und Pflanzenstandort und widerspiegelt die Einflüsse unterschiedlicher Bewirtschaftungsweisen. Sie ist ein Speicher von leicht mineralisierbaren Nährstoffen (N, P, K und S) und funktioniert als biologischer Puffer gegenüber diversen Belastungen. So sind Böden mit einer hohen Biomasse und Biodiversität suppressive Böden, in denen sich bestimmte pilzliche Schaderreger und pflanzenparasitäre Nematoden nicht oder nur schwer entwickeln können (Ottow, 2011). Als Pool mit der höchsten genetischen Diversität auf Erden stellt sie ein bedeutendes Reservoir an potentiell nutzbaren Eigenschaften für die Menschheit dar. Obwohl allein die Bakterien und Archaeen im Boden etwa 60-70 % der belebten Biomasse stellen, sind die meisten Mikroorganismen bis heute weder bekannt noch kultivierbar (Ottow, 2011). In NABObio kombinieren wir standardisierte und erprobte klassische Methoden der Mikrobiologie mit jenen der Molekularbiologie. Die Entwicklung der molekularbiologischen Analysemethoden ermöglicht immer detailliertere Einblicke in diese unbekanntes mikrobiologische Vielfalt. Im Folgenden präsentieren wir die Ergebnisse der ersten fünf Messjahre von NABObio.

2.1 Mikrobiologische Parameter – Menge und Aktivität der Bodenlebewesen

Die nutzungsbedingten Unterschiede der Acker-, Grasland- und Waldstandorte zeigen sich bei allen mikrobiologischen Messgrößen. Der tiefere organische Kohlenstoffgehalt der Ackerstandorte (1.2 - 3.2 %) im Vergleich mit den Grasland- (2.8 – 6.1 %) und Waldstandorten (2.4 – 15.5%) beeinflusst auch die weiteren mikrobiellen Größen wie die Biomasse, Basalatmung und DNS-Menge. Die Graslandstandorte stellen die homogenste Gruppe dar und weisen für alle Parameter engere Wertebereiche auf als die Acker- und -Waldstandorte. Die Wertebereiche der mikrobiologischen Messgrößen der Acker- und Graslandstandorte sind weitgehend mit den Ergebnissen anderer Studien vergleichbar (Fließbach et al, 2007; VBB, 2009; Oberholzer und Scheid, 2007; Anderson und Domsch, 2010). Die Waldstandorte unterscheiden sich aufgrund der hohen C/N-Verhältnisse und Basalatmungswerte (Abbildung 2, Abbildung 3). Dies lässt auf einen hohen Anteil der pilzlichen Biomasse bei Waldstandorten schließen (Blume et al., 2011).

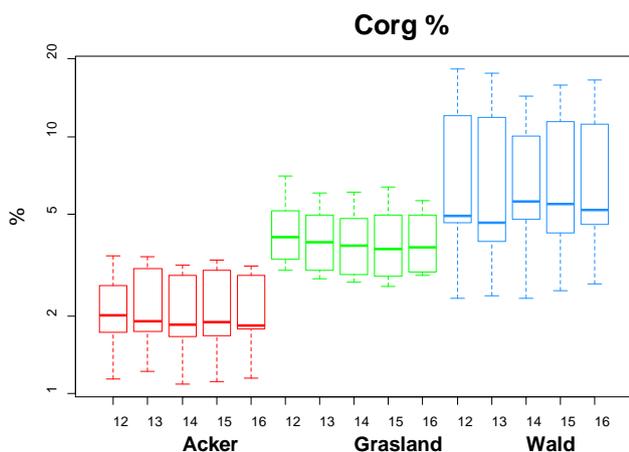


Abbildung 1: Organischer Kohlenstoffgehalt (%) der Acker- (rot), Gras- (grün) und Waldstandorte (blau) über die Jahre 2012 bis 2016; n=150, 30 Standorte à 5 Jahresmittelwerte = 150. Boxplot mit Medianen, Box enthält 50% der Werte; y-Achse log-transformiert.

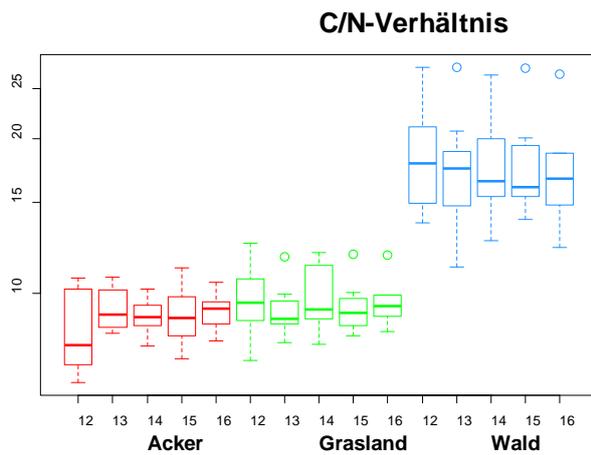


Abbildung 2: C/N-Verhältnisse der Nutzungskategorien Acker (rot), Grasland (grün) und Wald (blau) über die Jahre 2012 bis 2016; $n=150$, 30 Standorte à 5 Jahresmittelwerte = 150. Boxplot mit Medianen, Box enthält 50% der Werte; y-Achse log-transformiert.

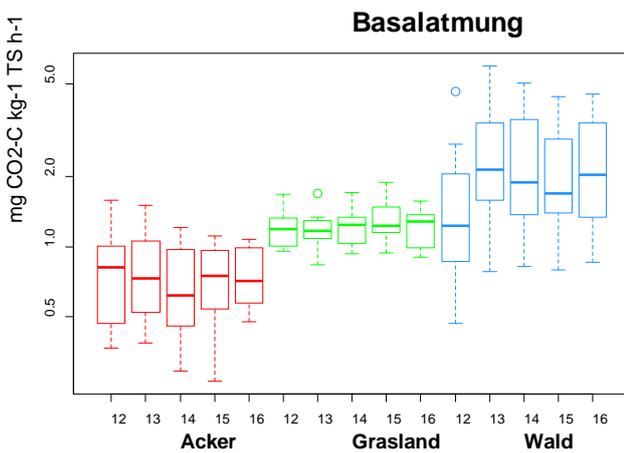


Abbildung 3: Basalatmung der Nutzungskategorien Acker (rot), Grasland (grün) und Wald (blau) über die Jahre 2012 bis 2016; $n=150$, 30 Standorte à 5 Jahresmittelwerte = 150. Boxplot mit Medianen, Box enthält 50% der Werte; y-Achse log-transformiert.

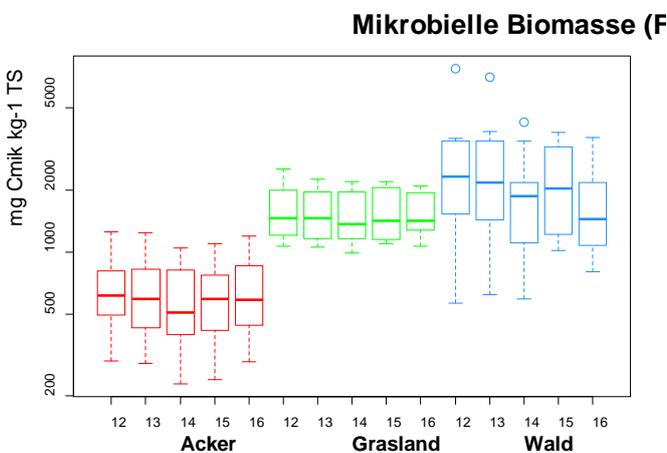


Abbildung 4: Mikrobielle Biomasse (FE-C) der Nutzungskategorien Acker (rot), Grasland (grün) und Wald (blau) über die Jahre 2012 bis 2016; $n=150$, 30 Standorte à 5 Jahresmittelwerte = 150. Boxplot mit Medianen, Box enthält 50% der Werte; y-Achse log-transformiert.

Die mikrobielle Biomasse SIR zeigt zwischen den Jahren im Vergleich zur BM-FE grössere Schwankungen (Abbildung 5). Die substratinduzierte Respiration (Biomasse SIR) als Basis für die mikrobielle Biomasse ist, obwohl gut reproduzierbar, eine sehr empfindliche Methode (Heinemeyer et al., 1989). Zur Quantifizierung der Biomasse wird die Bodenprobe mit der Menge Glucose vermischt, die für die maximale Atmung der vorhandenen Biomasse erforderlich ist. Da jedoch viele Bakterien nicht auf Glucose als Energiequelle angewiesen sind, widerspiegelt der gemessene Wert oft nicht die Atmung des tatsächlich vorhandenen Mikrobioms. Zudem sollte die Biomasse frisch gedüngter Böden nicht mit der SIR-Methode bestimmt werden, da in diesem Fall die Glucose von rasch wachsenden glucoseverwertenden Mikroorganismen genutzt und so das Resultat verfälscht wird. Obwohl bei der Probenahme darauf geachtet wird, dass diese vor der ersten Düngung stattfindet, gab es einzelne Fälle, wo die Probenahme erst danach erfolgen konnte oder Reste von organischen Düngern vorhanden war. Dies kann ein Grund für die grösseren Schwankungen zwischen den Jahren sein.

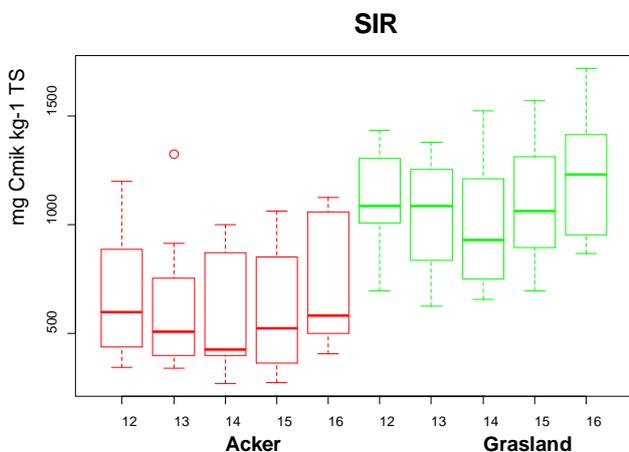


Abbildung 5: Mikrobielle Biomasse (SIR) der Nutzungskategorien Acker (rot) und Grasland (grün) über die Jahre 2012 bis 2016; $n=100$, 20 Standorte à 5 Jahresmittelwerte = 100. Boxplot mit Medianen, Box enthält 50% der Werte; y-Achse log-transformiert.

Die DNS-Mengen zeigen im Vergleich zu den mikrobiellen Biomassen SIR und FE eine grössere Variabilität zwischen den Jahren (Abbildung 6). Dies könnte darauf beruhen, dass die DNS gemäss SOP innerhalb von 48 h nach der Probenahme aus den Bodenproben extrahiert wird und sich der Messwert, im Gegensatz zur Biomasse SIR und FE, auf Proben bezieht, die nicht equilibriert sind.

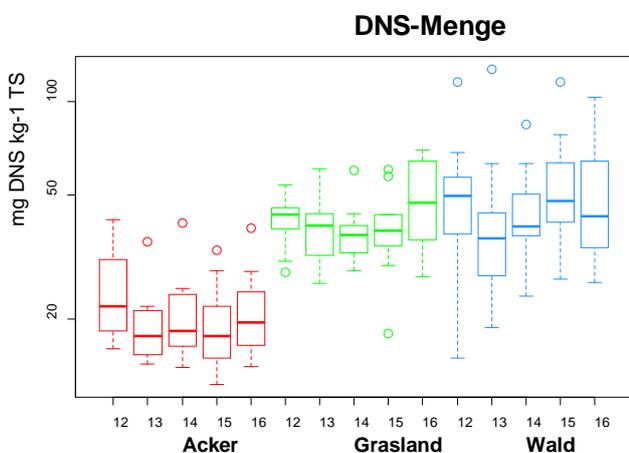


Abbildung 6: DNS-Mengen der Nutzungskategorien Acker, Grasland und Wald über die Jahre 2012 bis 2016; $n=150$, 30 Standorte à 5 Jahresmittelwerte = 150. Boxplot mit Medianen, Box enthält 50% der Werte; y-Achse log-transformiert.

2.1.1 Korrelationen zwischen mikrobiologischen Parametern, Boden- und Standorteigenschaften

Zwischen den erhobenen mikrobiologischen Parametern wurden für alle Kombinationen signifikante Korrelationen festgestellt (Abbildung 7). Die relativ hohen Korrelationskoeffizienten ($r=0.82-0.91$) zwischen den Summenparameter der mikro- und molekularbiologischen Biomassen (FE_C, SIR und DNS-Menge) deuten auf redundante Informationen über die Menge der Bodenmikroorganismen hin. Deutlich zu erkennen ist auch die grosse Bedeutung des organischen Kohlenstoffs für die Mikroorganismen. Zudem ist der bekannte Zusammenhang zwischen pH-Wert, Tongehalt und Mikrobiologie feststellbar. Die Höhe des Standortes über Meer, welche ein Indikator für das Klima ist, beeinflusst die Mikrobiologie ebenfalls.

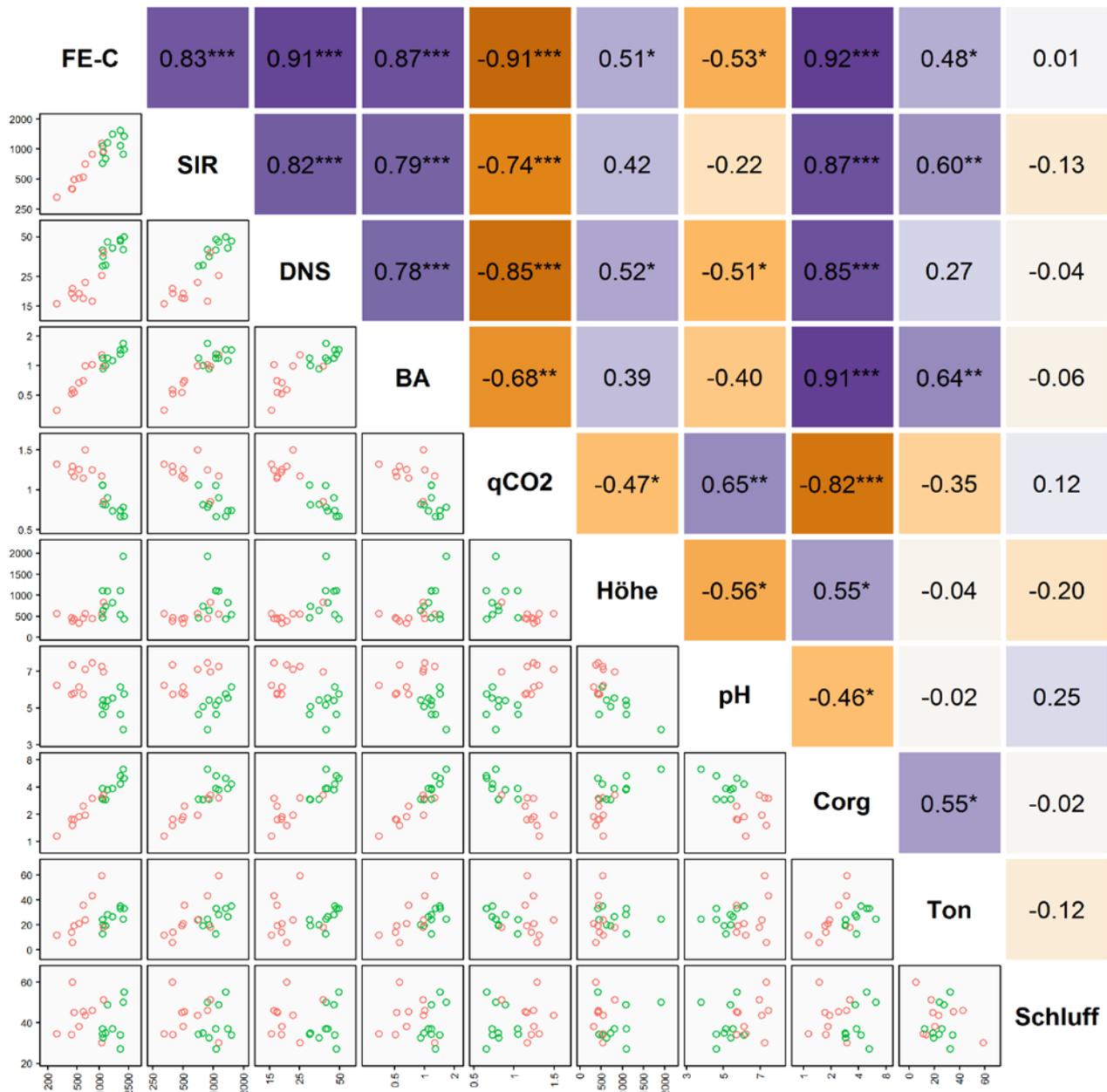


Abbildung 7: Streudiagramme und Korrelationen (robust nach Spearman; * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$) zwischen den NABObio-Standorten für mikrobiologische Parameter, Boden- und Standorteigenschaften. Farbe der Quadrate: violett = positive Korrelationen, orange = negative Korrelationen, grau = keine bzw. sehr geringe Korrelationen. Je intensiver der Farbton, desto höher ist r . Pro Messgrösse ist jeweils der Mittelwert 2012-2016 pro Standort dargestellt. Die Farben der Kreise zeigen die Landnutzung: rot: Acker; grün: Grasland.

Nachdem in Abbildung 7 die Unterschiede zwischen den Standorten im Vordergrund steht, zeigen die Grafiken in Abbildung 8, ob die Messungen von einzelnen Jahren signifikant vom Jahr 2012 abweichen (vgl. dazu auch die Information im Kasten *Analyse von zeitlichen Veränderungen*). Im Allgemeinen weisen die Messungen der mikrobiologischen Parameter eine gute Wiederholbarkeit über die 5 Jahre auf. Die Schwankungen zwischen den Jahren liegen in einem zu erwartenden Bereich (vgl. Oberholzer und Scheid, 2007) und sind z.B. mit dem bodenmikrobiologischen Monitoring des Kanton Aargau vergleichbar (Mösch und Hunziker, 2015).

Auffällig ist das Jahr 2014. Insbesondere die Werte der Biomasse SIR liegen in diesem Jahr signifikant tiefer als 2012. Diese Entwicklung kann auch bei der Biomasse FE und, jedoch weniger ausgeprägt, bei der Basalatmung an den Ackerstandorten beobachtet werden. Als Ursache kommen neben der erwähnten Empfindlichkeit der SIR-Methode besondere klimatische Bedingungen in Frage: der wärmere und niederschlagsreiche Winter 2013/2014 wirkte sich auf die mikrobiologischen Gehalte im Frühjahr aus (vgl. Kapitel 2.3). Die Werte zeigen nach 2014 wieder eine Zunahme. Eine negative Entwicklung hin zu einem Verlust an Biomasse erscheint daher wenig wahrscheinlich. Die Basalatmungswerte der Waldstandorte zeigen ebenfalls einen auffälligen Verlauf: die Werte von 2012 liegen signifikant tiefer als alle darauffolgenden (Abbildung 8). Aufgrund der weiteren Messpunkte im zeitlichen Verlauf wird vermutet, dass diese Abweichung auf Fehler im Messprozess zurückzuführen sind (Probenahme, Transport, Lagerung, Aufbereitung, Analytik etc.).

Dies zeigt, dass die Interpretierbarkeit von zeitlichen Veränderungen von (bodenbiologischen) Messwerten mit der Verlängerung der Zeitreihe einhergeht. Zusätzliche Informationen über den Standort helfen zudem, die Veränderungen einzuordnen bzw. zu beurteilen.

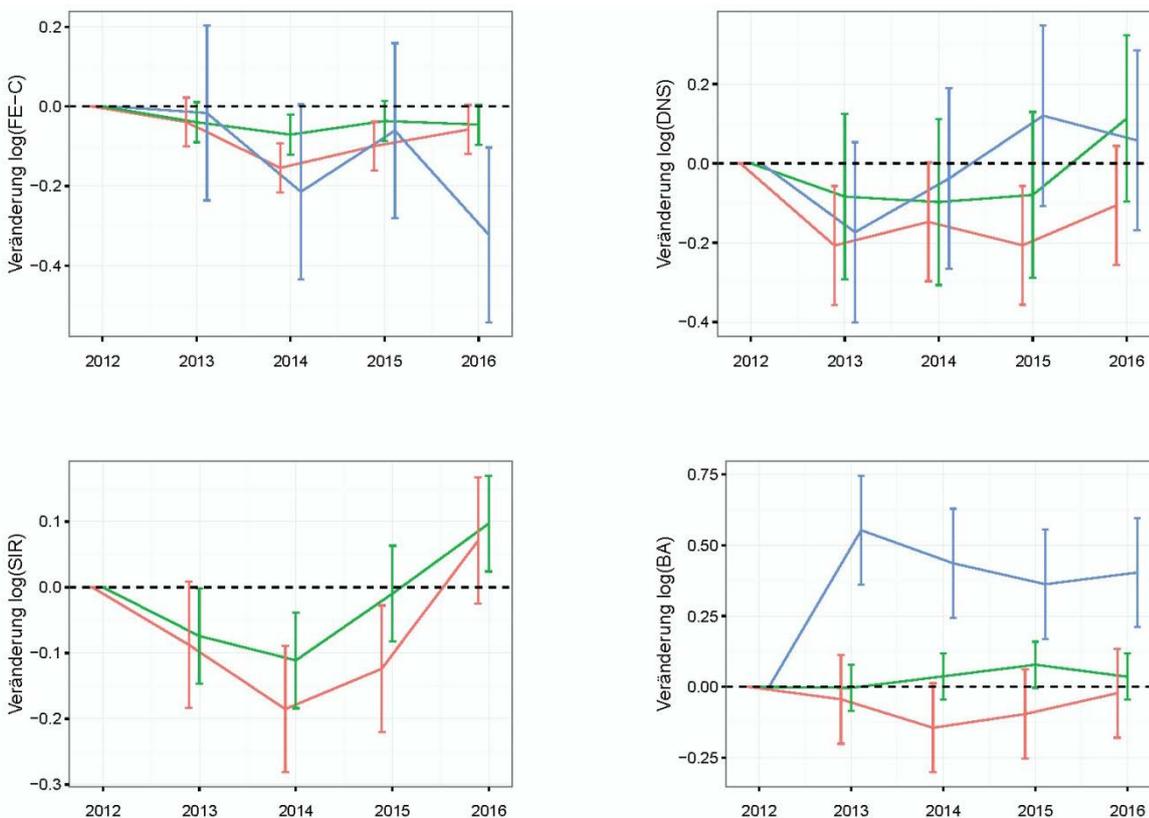


Abbildung 8: Veränderung der Biomasse FE-C, der DNS-Menge, der Biomasse SIR und der Basalatmung (inkl. Vertrauensintervall) 2012 - 2016 pro Landnutzung, geschätzt mit gemischtem Modell. Rot: Acker, grün: Grasland, blau: Wald. Erkennbar ist, ob die Messungen von einzelnen Jahren signifikant vom Jahr 2012 abweichen. Eine signifikante Veränderung besteht, wenn das entsprechende Vertrauensintervall nicht den Wert 0.0 einschliesst (Jahr 2012).

Analyse von zeitlichen Veränderungen

Werden dieselben Standorte wiederholt beprobt, entsteht ein Datensatz mit mehreren Messungen pro Standort zu verschiedenen Zeitpunkten. Solche Daten können mit hierarchischen Modellen, z.B. einem gemischten Modell, ausgewertet werden. Diese berücksichtigen, dass mehrere Messungen zusammengehören - da sie vom selben Standort stammen - und deshalb nicht unabhängig voneinander sind. Dies im Gegensatz zu einer klassischen Regression.

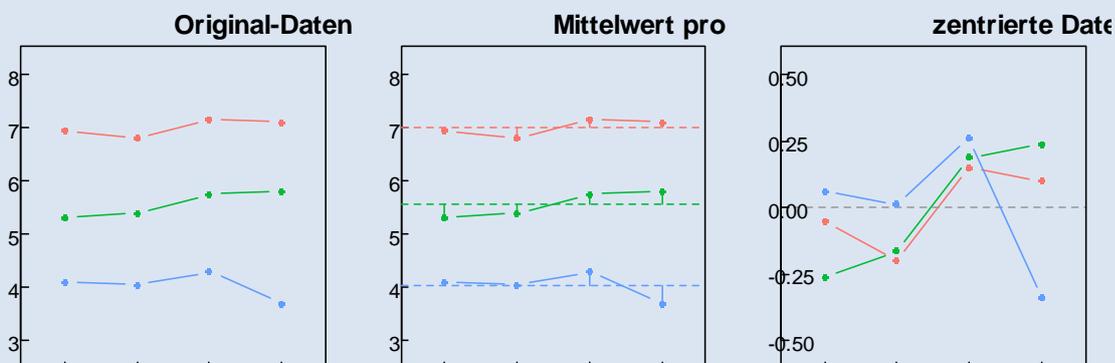
Die NABObio-Daten wurden mit einem gemischten Modell analysiert, wobei die Zeit (d. h. das Jahr der Beprobung) als kategorielle Variable definiert wurde. Somit beantwortet das Modell die Frage (jeweils separat pro Parameter): weichen einzelne Jahre signifikant von den anderen ab? In den Grafiken dieses Kapitels sind die Effekte des Faktors Zeit dargestellt. Der Effekt zeigt für jede Landnutzung an, um wie viel sich der Parameter im Vergleich zur ersten Erhebung 2012 verändert hat — und wie gross das Vertrauensintervall ist (vertikale Balken). Da im Modell mit log-transformierten Daten gerechnet wurde (natürlicher Logarithmus), sind die Resultate als relative Veränderungen bezogen auf die Originaldaten zu verstehen - eine Veränderung um 0.1 entspricht dabei grob einer Veränderung um 10 % der untransformierten Daten.

2.1.2 Welche Muster zeigen die mikrobiologischen Parameter über die Zeit?

Vergleicht man die Mittelwerte der mikrobiologischen Messwerte der verschiedenen Standorte, zeigen diese alles signifikante Korrelationen (Abbildung 7). Interessiert jedoch in erster Linie die zeitliche Entwicklung, drängt sich eine andere Frage auf: Zeigen die verschiedenen mikrobiologischen Parameter identische oder unterschiedliche Muster über die Jahre? Dies lässt sich am einfachsten beurteilen, indem man die Daten auf den Standort-Mittelwert der Jahre 2012-16 zentriert (siehe Kasten *Was sind zentrierte Daten? Und was sagen sie uns?*). Dadurch betrachtet man die Veränderung der einzelnen Standorte über die Zeit.

Was sind zentrierte Daten? Und was sagen sie uns?

Wie oben gezeigt wurde, variieren die Messwerte zwischen den unterschiedlichen Standorten stark. Betrachtet man Messungen über mehrere Jahre, ist es oft schwierig, Muster für die zeitliche Entwicklung zu erkennen, denn: Die Veränderungen zwischen den Jahren sind meist relativ klein im Vergleich zu den Unterschieden zwischen den Standorten. In solchen Fällen empfiehlt es sich, die Werte der einzelnen Standorte zu zentrieren. Dies bedeutet: Für jeden Standort und jeden Parameter wird der Mittelwert über alle Erhebungen berechnet. Der Mittelwert wird anschliessend von den Original-Messwerten subtrahiert (siehe Schema).



Nach dem Zentrieren kann die absolute Höhe der Messwerte nicht mehr beurteilt werden. Es lässt sich beispielsweise nicht mehr erkennen, welcher Standort mehr Biomasse, mehr Kohlenstoff, etc. enthält. Dafür sind die Unterschiede der einzelnen Erhebungen deutlicher erkennbar. Weiter lässt sich beurteilen, ob verschiedene Standorte oder Parameter ähnliche oder unterschiedliche Verläufe zeigen. Auch

Anomalien in einzelnen Messreihen lassen sich besser erkennen, beispielsweise der letzte Wert der blauen Messreihe im Schema.

Eine weitere Option ist, zuerst den Logarithmus der ursprünglichen Messwerte zu berechnen und anschliessend die log-transformierten Daten zu zentrieren. So erhält man die proportionale oder relative Abweichung der Original-Daten vom Mittelwert. Unterschiedliche Parameter sind dann meist besser vergleichbar.

Das Streudiagramm mit den zentrierten Daten der Acker- und Graslandstandorte zeigt deutlich, dass die Veränderungen von FE-C, SIR und Basalatmung auch über die gesamte Beobachtungsperiode stark korrelieren ($r = 0.62 - 0.63$; Abbildung 9). Die DNS-Menge zeigt jedoch eine geringere Korrelation zu den drei anderen Parametern ($r = 0.16 - 0.38$). Dies könnte, wie in Kap. 2.1 bereits erwähnt, durch den unterschiedlichen Zustand der Proben zum Zeitpunkt der Analysen verursacht werden: Die DNS wird innerhalb von 48 h nach Probenahme extrahiert. Die BM-FE, BM-SIR und Basalatmung werden mit sogenannten equilibrierten Proben bestimmt. Während der Equilibration wird der Wassergehalt der Probe standardisiert und die Proben über mehrere Wochen gelagert. Diese Vermutung müsste anhand der DNS Quantifizierung von equilibrierten Bodenproben untersucht werden. Da die Variabilität der DNS-Mengen zwischen den Jahren grösser ist als bei der BM-FE und BM-SIR (vgl. Abbildung 6) und wegen der geringeren Korrelation mit der Biomasse über die Zeit sollte die mikrobielle Biomasse innerhalb eines Monitorings nicht nur anhand der DNS-Extraktion quantifiziert werden.

Die Veränderungen des metabolischen Quotienten werden vor allem durch die Basalatmung dominiert ($r = 0.84$), die Korrelation zu FE-C ist relativ klein.

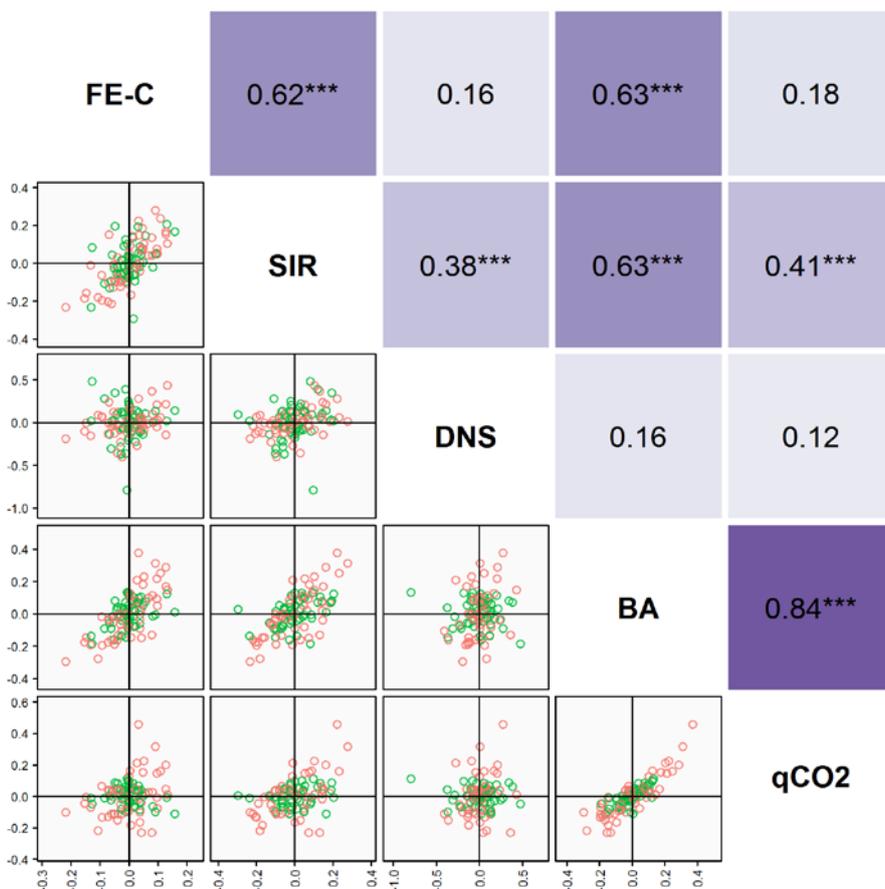


Abbildung 9: Streudiagramme und Korrelationen (robust nach Spearman; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$) der Veränderungen zwischen den Jahren an je 10 Acker- (rot) und Graslandstandorten (grün) für Biomasse FE-C und SIR, die DNS-Menge, die Basalatmung (BA) sowie den Quotienten BA/FE-C (qCO₂, metabolischer Quotient). Die Daten wurden jeweils zentriert auf den Standort-Mittelwert der Jahre 12-16. Für FE-C, SIR, DNS und BA wurden die Daten log-transformiert, d. h. die dargestellten Abweichungen entsprechen relativen Abweichungen der Original-Daten.

2.2 Mikrobielle Diversität - die Organismengemeinschaften der NABObio Standorte

Die klassischen mikrobiologischen Parameter lassen zwar Aussagen über die Menge und Aktivität der mikrobiellen Biomasse zu. Informationen über die Diversität werden damit jedoch keine gewonnen und vertiefte Einblicke ins Bodenökosystem bleiben verborgen. Mit der raschen Entwicklung in der Molekularbiologie stehen der Bodenbeobachtung nun neue Methoden zur Verfügung, um das hochkomplexe Ökosystem Boden ganzheitlicher beschreiben zu können (Fierer, 2017). So werden auch in NABObio mit molekulargenetischen Analysen (Metabarcoding) die Bakterien- und Pilzdiversität der 30-NABObio-Standorte jährlich bestimmt.

Wie funktioniert das Metabarcoding? Was wird gemessen?

Da verschiedene Arten unterschiedliche DNS Sequenzen besitzen, können Organismen durch das Sequenzieren von bestimmten DNS Abschnitten, sogenannten DNS Barcodes, identifiziert werden. Hebert et al. (2003) starteten die internationale Initiative „Barcoding of Life“ (BOL; www.barcodeoflife.org), in der einerseits geeignete DNS Barcodes für alle Organismen entwickelt und andererseits umfassende Referenzdatenbanken angelegt werden. In der Schweiz koordiniert SwissBOL diese Arbeit (www.swissbol.ch). Eine Weiterentwicklung des DNS Barcoding ist das Metabarcoding, bei dem anstelle einzelner Organismen ganze biologische Gemeinschaften beschrieben werden (Taberlet et al. 2012). Dabei wird die gesamte DNS einer Umweltprobe extrahiert und alle darin enthaltenen DNS Barcodes sequenziert. Somit können alle Organismen einer biologischen Gemeinschaft identifiziert und ihre relative Häufigkeit bestimmt werden (Hartmann et al. 2015).

Da insbesondere bei Mikroorganismen die meisten Arten weiterhin unbeschrieben sind (Hawksworth und Lücking, 2017), werden die Sequenzen nach ihrer Ähnlichkeit gruppiert. Die Gruppen sehr ähnlicher Sequenzen, üblicherweise Sequenzen mit mindestens 97% Übereinstimmung, werden als OTUs bezeichnet (technische taxonomische Einheiten; engl. operational taxonomic units). OTUs sind die Grundeinheiten des Metabarcodings und können analog zu Arten analysiert werden, weshalb wir den Begriff OTU Reichtum anstelle des Artenreichtums verwenden. Anhand der Sequenzen können OTUs taxonomisch klassifiziert werden, wobei die Qualität der Klassifikation stark von der benutzten Referenzdatenbank und der Bekanntheit des untersuchten Habitats abhängig ist. Werden Mikroorganismen im Boden untersucht, sind viele davon noch unbekannt. Metabarcoding hat ein sehr breites Anwendungsgebiet und braucht nur kleine Adaptionen, um für verschiedenste Habitate (z.B. Boden, Wasser oder Sedimente) und Zielorganismen (z.B. Bakterien, Pilze, Fische) eingesetzt zu werden. Die Methode ist in der Forschung seit mehreren Jahren in verschiedenen Bereichen etabliert. Hartmann et al. (2015) untersuchten die Reaktion der Bodenmikroorganismen auf organische und mineralische Düngung, Hänfling et al. (2016) bestimmten die Fischdiversität in verschiedenen Seen in England. Vermehrt gibt es auch praktische Anwendungen im Naturschutz- und Monitoringbereich, bei denen Metabarcoding verwendet wird. So wurde die Methode genutzt, um die Verbreitung des invasiven Südlichen Teichmolchs (*Lissotriton vulgaris meridionalis*) im Kanton Genf zu eruieren (Bühler und Dubey, 2017). Auch für die Bodenbeobachtung weist Metabarcoding ein grosses Potential auf.

Für NABObio wurde das Metabarcoding für folgenden drei Bereiche verwendet:

- 1) Erhebung des OTU Reichtums und der Häufigkeitsverteilung der OTUs (Alphadiversität)
- 2) Bestimmung der Gemeinschaftsstrukturen der Bodenorganismen
- 3) Taxonomische Liste der detektierten Organismen.

2.2.1 OTU-Reichtum und Alphadiversität der NABObio-Standorte

Das Metabarcoding der NABObio-Proben resultierte in insgesamt 9'138'143 bakteriellen und 12'021'565 pilzlichen Sequenzen. Diese wurden in insgesamt 21'344 bakterielle und 11'087 pilzliche OTUs gruppiert. Pro Probe ergaben sich durchschnittlich 2'861.2 (+/- 692.9) bakterielle und 591.8 (+/- 141.7) pilzliche OTUs. Somit liegt die mikrobielle Diversität in derselben Größenordnung, wie sie in ähnlichen Studien erhoben wurde (Mayerhofer et al. 2017; Moll et al. 2017).

Tabelle 1: Überblick über die durch Metabarcoding erhaltenen Daten von NABObio (30 Standorte * 5 Beprobungen (2012-2016) * 3 Replikate = 450 Proben).

Organismen- gruppe	Proben	Untersuchte DNS Sequenzen	OTUs	Taxonomisch klassifizierte OTUs [%]	
				Ebene Familie	Ebene Art
Bakterien	450	9'138'143	21'344	71.4	41.1
Pilze	450	12'021'565	11'087	52.1	33.4

An den NABObio-Standorten lieferte die Bestimmung des OTU-Reichtums (Alphadiversität) im Vergleich zur Erhebung der Gemeinschaftsstrukturen nur geringe Informationen. Die einzelnen Umweltvariablen zeigen nur schwache Korrelationen mit dem mikrobiellen OTU Reichtum. Die höchste Korrelation, die mit $r = -0.48$ ($p < 0.001$) allerdings gering ausfällt, zeigt der Bodenkohlenstoff. Noch geringer sind die Korrelationen zwischen den gemessenen Umweltvariablen und dem pilzlichen OTU Reichtum. Kein Wert ist grösser als 0.2, was bedeutet, dass keine (linearen) Zusammenhänge zwischen pilzlichem OTU Reichtum und den gemessenen Umweltvariablen vorliegen. An unterschiedlichen Standorten werden teils sehr ähnliche OTU Reichtumswerte gefunden (Abbildung 10). So weisen der extensiv genutzte Ackerstandort 87, der intensiv genutzte Graslandstandort 35 und der Mischwaldstandort 7 dieselben OTU Reichtumswerte für Bakterien auf. Für pilzliche Gemeinschaften sind diese Unterschiede zwischen den Standorten noch geringer. Dies zeigt, dass aufgrund des OTU Reichtums weder eine Standort- noch Landnutzungstypzuordnung vorgenommen werden kann. Trotzdem ist die Berücksichtigung des OTU Reichtums im Rahmen einer Dauerbeobachtung zu empfehlen, da diese Werte in jeder Metabarcodinganalyse erhoben werden. Sobald längere Zeitreihen zu den Standorten verfügbar sind, können die bereits beschriebenen Tendenzen, wie die geringe Korrelation zum Kohlenstoffgehalt, eventuell erhärtet werden.

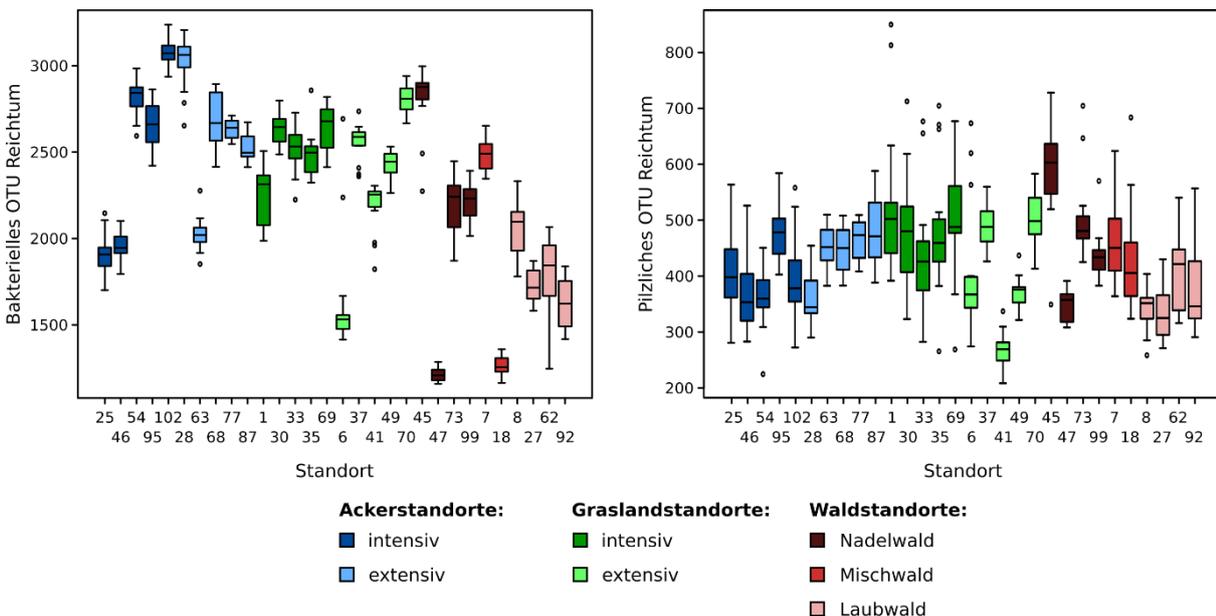


Abbildung 10: OTU Reichtum der Bakterien (links) und Pilze (rechts) der NABObio-Standorte.

2.2.2 Standorttypische Gemeinschaftsstrukturen

Durch die mehrjährige Erhebung konnte gezeigt werden, dass jeder der 30 NABObio-Standorte eine ihm eigene mikrobielle Gemeinschaftsstruktur aufweist. Zudem weisen auch die verschiedenen Landnutzungstypen (Acker, Grasland und Wald) unterschiedliche mikrobielle Gemeinschaften auf. Sowohl die bakteriellen, als auch die pilzlichen Gemeinschaftsstrukturen unterscheiden sich klar zwischen den Nutzungstypen und den einzelnen Standorten (Abbildung 11). Basierend auf den bakteriellen Gemeinschaftsstrukturen kann jede Probe dem korrekten Nutzungstyp und Standort zugeordnet werden. Dieselben Analysen für die pilzlichen Gemeinschaftsstrukturen ergeben ein sehr ähnliches Bild. Mit zwei Ausnahmen können alle Proben sowohl dem korrekten Nutzungstyp als auch dem korrekten Standort zugeordnet werden. Dies zeigt, dass die NABObio-Standorte standorttypische biologische Gemeinschaften aufweisen.

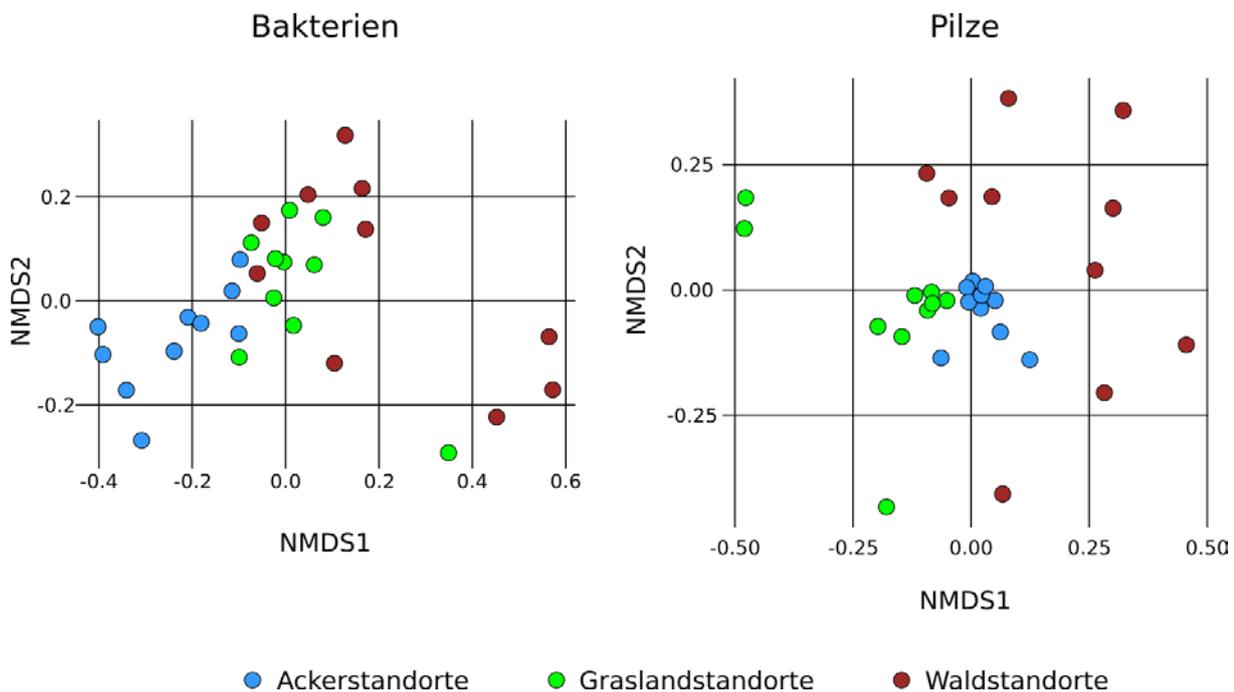


Abbildung 11: Ordinationen der Vergleiche von bakteriellen (links) und pilzlichen (rechts) Gemeinschaftsstrukturen. Jeder Punkt stellt eine ‚mittlere‘ Gemeinschaftsstruktur eines NABObio-Standorts dar, die Farbe gibt den jeweiligen Nutzungstyp an. Je näher sich zwei Punkte sind, desto ähnlicher sind die Gemeinschaftsstrukturen der Standorte.

Im Gegensatz zur eindeutigen Differenzierung der mikrobiologischen Gemeinschaftsstrukturen zwischen den Standorten, ist ihre zeitliche Variabilität über die untersuchten fünf Jahre sehr gering (Tabelle 2). Daraus lässt sich schließen, dass einerseits die Gemeinschaften über längere Zeiträume relativ stabil sind, und andererseits, dass sowohl das verwendete Beprobungsschema, als auch die Analysemethode, robuste Resultate ergeben. Durch die fünfjährige Beprobung und Bestimmung von standorttypischen Gemeinschaftsstrukturen können für die NABObio-Standorte Basiswerte zur mikrobiellen Diversität definiert und als Grundlage zur Beurteilung von weiteren Messwerten verwendet werden.

Tabelle 2: Einfluss des Standorts und des Beprobungsjahres auf bakterielle und pilzliche Gemeinschaftsstrukturen der NABObio-Standorte. Resultate von PERMANOVA Tests (nicht parametrische ANOVA).

	Bakterien		Pilze	
	Erklärte Varianz [%]	p-Wert	Erklärte Varianz [%]	p-Wert
Standort	80.76	0.0001	70.13	0.0001
Jahr	1.02	0.0001	1.07	0.0001
Total	81.78		71.20	

Die mikrobiellen Gemeinschaftsstrukturen reagieren im Vergleich zur Alphadiversität viel stärker auf verschiedene Umweltfaktoren. Resultate einer PERMANOVA zeigten, dass bakterielle Gemeinschaften hauptsächlich durch den pH-Wert beeinflusst (25% erklärte Varianz, $p < 0.0001$) wurden. Weitere signifikante Zusammenhänge zwischen Umweltparametern und bakteriellen Gemeinschaftsstrukturen wurden für den Landnutzungstyp (14% erklärte Varianz, $p < 0.001$), das C/N Verhältnis (7%, $p = 0.002$), den organischen Kohlenstoff (5%, $p = 0.014$) und den Tongehalt (5%, $p = 0.013$) gefunden. Pilzliche Gemeinschaften zeigen einen signifikanten Zusammenhang mit dem Landnutzungstyp (11%, $p = 0.0004$), dem C/N Verhältnis (9%, $p < 0.0001$) und dem pH (6%, $p = 0.0009$).

Die geringe zeitliche Variabilität der mikrobiologischen Gemeinschaftsstrukturen der NABObio-Standorte und die in anderen Studien beschriebene Sensitivität des Metabarcodings auf Umweltveränderungen, wie beispielsweise die Düngung (Hartmann et al. 2015) oder die Bodenverdichtung (Hartmann et al. 2014) sind dies wichtige Voraussetzungen für den Einsatz in der Dauerbeobachtung.

2.2.3 Gezieltes Monitoring von ausgewählten Organismen

Die taxonomischen Listen, welche durch das Metabarcoding erhoben werden, ermöglichen den Aufbau eines gezielten Biomonitorings. Zum Beispiel kann die Verbreitung von seltenen oder prioritären Pilzarten untersucht werden. Voraussetzung ist, dass gute Referenzdatenbanken vorhanden sind, welche die Taxonomie mit den DNS Sequenzdaten verbinden. Zurzeit sind diese aber noch unvollständig. In der UNITE Datenbank (Köljalg et al. 2013), einer Datenbank für DNS Sequenzen von Pilzen, sind nur 42.9%, oder 401 der 943 national prioritären Grosspilze der Schweiz vorhanden (BAFU, 2011). Von diesen 401 national prioritären Grosspilzen können 55 Arten an NABObio-Standorten nachgewiesen werden. Unter anderem werden DNS Sequenzen, welche dem hellblättrigen Samtnabeling (*Camarophylloopsis schulzeri*) zugeordnet werden, in jedem Jahr am Standort Grindelwald detektiert. Diese Art wird in der Roten Liste als kritisch gefährdet aufgeführt (Senn-Irlet et al. 2007) und im Schweizer PilzAtlas werden nur fünf Funde an drei Standorten angegeben (Senn-Irlet et al. 2016). Die Ergebnisse von NABObio deuten also darauf hin, dass dieser unauffällige Pilz ein grösseres Verbreitungsgebiet einnimmt als bisher angenommen und die Beurteilung der Gefährdung überprüft werden muss.



Abbildung 12: *Camarophylloopsis schulzeri*, kritisch gefährdete Art der roten Liste. Foto: Jonas Braennhage, www.swissfungi.ch.

Durch die Weiterentwicklung der Referenzdatenbanken wird es in Zukunft möglich sein, schädliche und nützliche Arten, wie Pflanzenpathogene und Nützlinge zur Schädlingsbekämpfung, zu beobachten und zur Bestimmung der Bodenqualität zu nutzen.

Fazit mikrobielle Diversität:

- Mikrobielle Alphadiversitätsmessungen sind nur beschränkt für Monitoringzwecke geeignet. Die Alphadiversität korreliert wenig mit den untersuchten Umweltfaktoren und ist weder nutzungs- noch standortspezifisch.
- Die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaften der NABObio-Standorte ist während der fünf Jahre stabil. Damit wurden für alle NABObio-Standorte die standorttypischen mikrobiellen Gemeinschaften definiert.
- Ändern sich diese bei einem Standort in Zukunft, können mit Hilfe der Metadaten mögliche Ursachen eingegrenzt werden.
- Arten von grossem Interesse, wie beispielsweise bedrohte oder invasive Arten, sowie Schädlinge oder Nützlinge, können mit Hilfe des Metabarcoding gezielt gesucht werden.
- Molekulare Ansätze erlauben grossflächige Erfassungen, welche nicht auf morphologischen Beschreibungen basieren.
- Für umfassende Untersuchungen müssen die Sequenzdatenbanken ausgebaut werden.

2.3 Bodenbiologie – Produkt und Edukt eines Bodens

Mit dem bodenbiologischen Monitoring NABObio kommen wir der Beobachtung des Bodens als dynamisches Produkt komplexer Wechselwirkungen zwischen Ausgangsgestein, Topographie, Klima, Organismen und dem menschlichen Einfluss einen Schritt näher. Die Bodenorganismen beeinflussen einerseits die physikalischen, chemischen und biologischen Bodeneigenschaften, wie z.B. das Gefüge, die Verfügbarkeit von Nährstoffen oder die Zusammensetzung des Mikro-, Meso- und Makrobioms. Andererseits werden Aktivität, Menge und Vorkommen der Organismen selber von den Standorteigenschaften und dem menschlichen Einfluss geprägt (Griffiths und Philippot, 2013). Deshalb ist es wichtig, möglichst umfassend Zusatzinformationen zu den Standorten zu erheben, um Zustand und Veränderung von bodenbiologischen Messgrössen ganzheitlich interpretieren zu können. Mit der breiten Informationsgrundlage, die für jeden NABObio-Standort vorhanden ist, können die Zusammenhänge zwischen dem Klima, der Bodenbeschaffenheit, den Bedingungen während der Probenahme, der Bewirtschaftung und der Mikrobiologie untersucht werden.

2.3.1 Das Klima

Die durchschnittliche Temperatur, die in den 60 Tagen vor der Probenahme gemessen wurde (T-60), weist einen umgekehrt proportionalen Zusammenhang mit der Biomasse auf (Abbildung 13). Dasselbe gilt für den Niederschlag: Die Menge, die längerfristig (60 Tage) vor der Probenahme gefallen ist (NS -60) zeigt einen Zusammenhang mit den gemessenen Parametern. Gemäss einer Einteilung nach Cohen (1988), der Korrelationskoeffizienten r von Spearman in Effektstärkeklassen unterteilt hat ($r=0.1$: schwacher, $r=0.3$: mittlerer und $r=0.5$: starker Zusammenhang), besteht zwischen NS -60, T-60 und der Biomasse FE-C ein starker Zusammenhang. Im Gegensatz dazu zeigt die kurz zuvor gefallene Regenmenge (NS -5; Niederschlagsmenge, die in den 5 Tagen vor der Probenahme gefallen ist) keinen oder einen schwachen Zusammenhang.

Wie bereits im Kapitel 2.1.1 erwähnt, fällt das Jahr 2014 durch tiefere mikrobiologische Werte und C_{org} -Gehalte auf. In den folgenden Streudiagrammen sind die Messungen aus diesem Jahr rot eingefärbt (Abbildung 13). Erkennbar ist, dass in diesem Jahr insbesondere die Temperaturen (T -60) wärmer und auch die Niederschläge (NS -60) erhöht waren – der wärmere und niederschlagsreichere Winter führte zu tieferen Biomassen SIR und FE. Zudem fand aufgrund der früher einsetzenden Vegetationsperiode die Probenahme früher im Jahr statt.

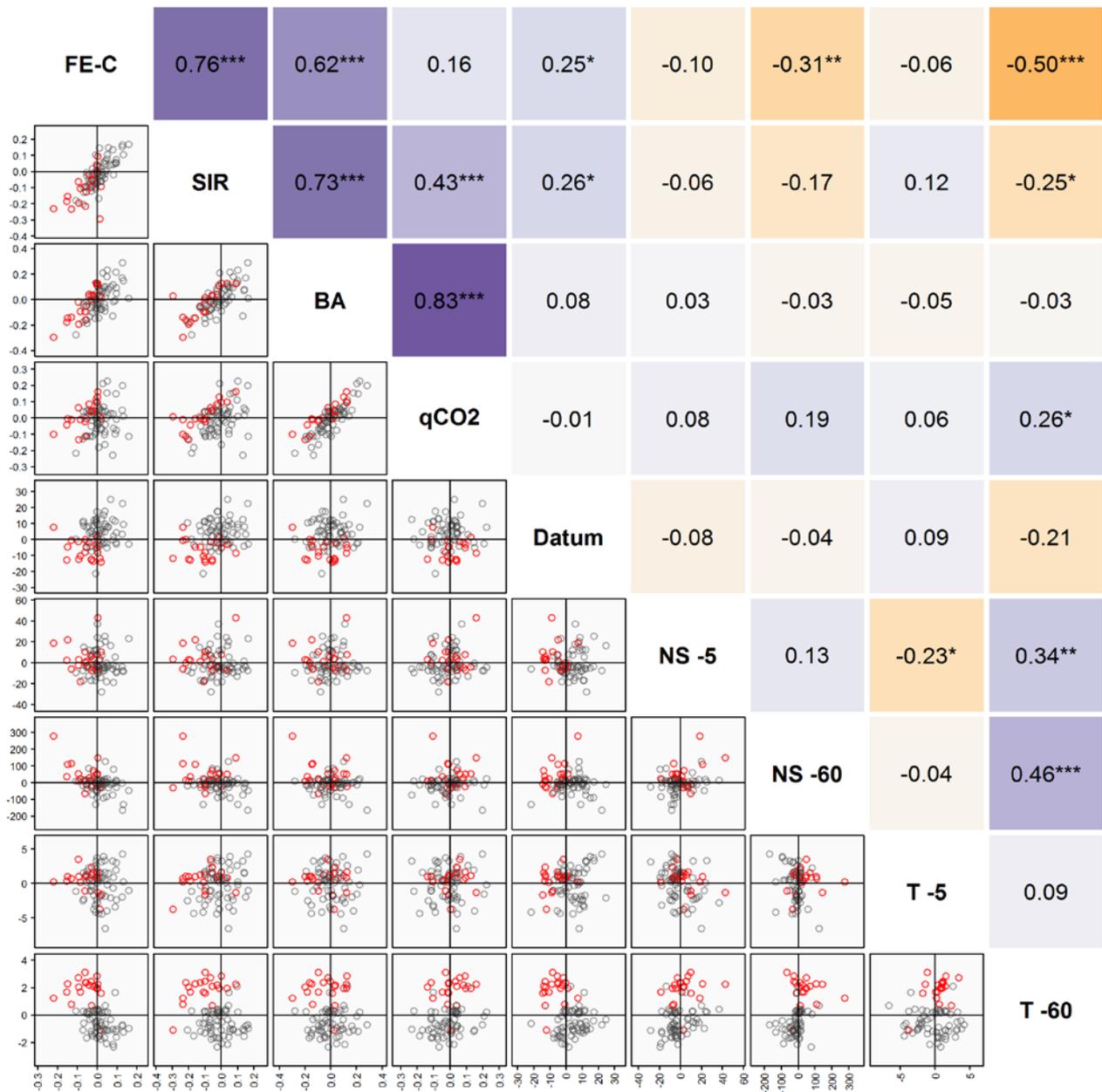


Abbildung 13: Streudiagramme und Korrelationen (robust nach Spearman; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$) der Veränderungen zwischen den Jahren für bodenbiologische Parameter und den meteorologischen Bedingungen vor den Probenahmen für Acker- und Graslandstandorten. FE-C: Biomasse FE, SIR: Biomasse SIR, BA: Basalatmung, qCO2: metabolischer Quotient, Datum: Zeitpunkt (Tag) der Probenahme, NS -5 und NS -60: Niederschlagssumme während 5 bzw. 60 Tage vor der Probenahme; T -5 und T -60: Durchschnittstemperatur während 5 bzw. 60 Tage vor der Probenahme. Violett-Töne: positive Korrelation, Orange-Töne: negative Korrelation. Je intensiver der Farbton, desto höher ist der Koeffizient. Verwendet wurden zentrierte Werte. Rot eingefärbt sind die Werte des Jahres 2014.

2.3.2 Bodenbeschaffenheit während der Probenahme

Das Raumgewicht Feinerde und der Wassergehalt geben Hinweise auf die Bedingungen zum Zeitpunkt der Probenahme. Der Wassergehalt und die Biomasse SIR sind negativ korreliert. Möglicherweise hemmen feuchte Bedingungen während der Probenahme die Vermehrung der glucoseverarbeitenden Bakterien, was zu einer verminderten substratinduzierten Respiration führt. Grundsätzlich scheint jedoch der Einfluss des Raumgewichts und des Wassergehalts auf die mikrobiellen Parameter gering zu sein. Dies deckt sich auch mit der Erkenntnis, dass die Wetterperiode kurz vor der Probenahme (T -5, NS -5) die bodenbiologischen Messgrößen weniger beeinflusst, als die letzten 60 Tage (vgl. Abschnitt oben). Das Raumgewicht und der Wassergehalt zeigen im Jahr 2014 keine auffälligen Werte.

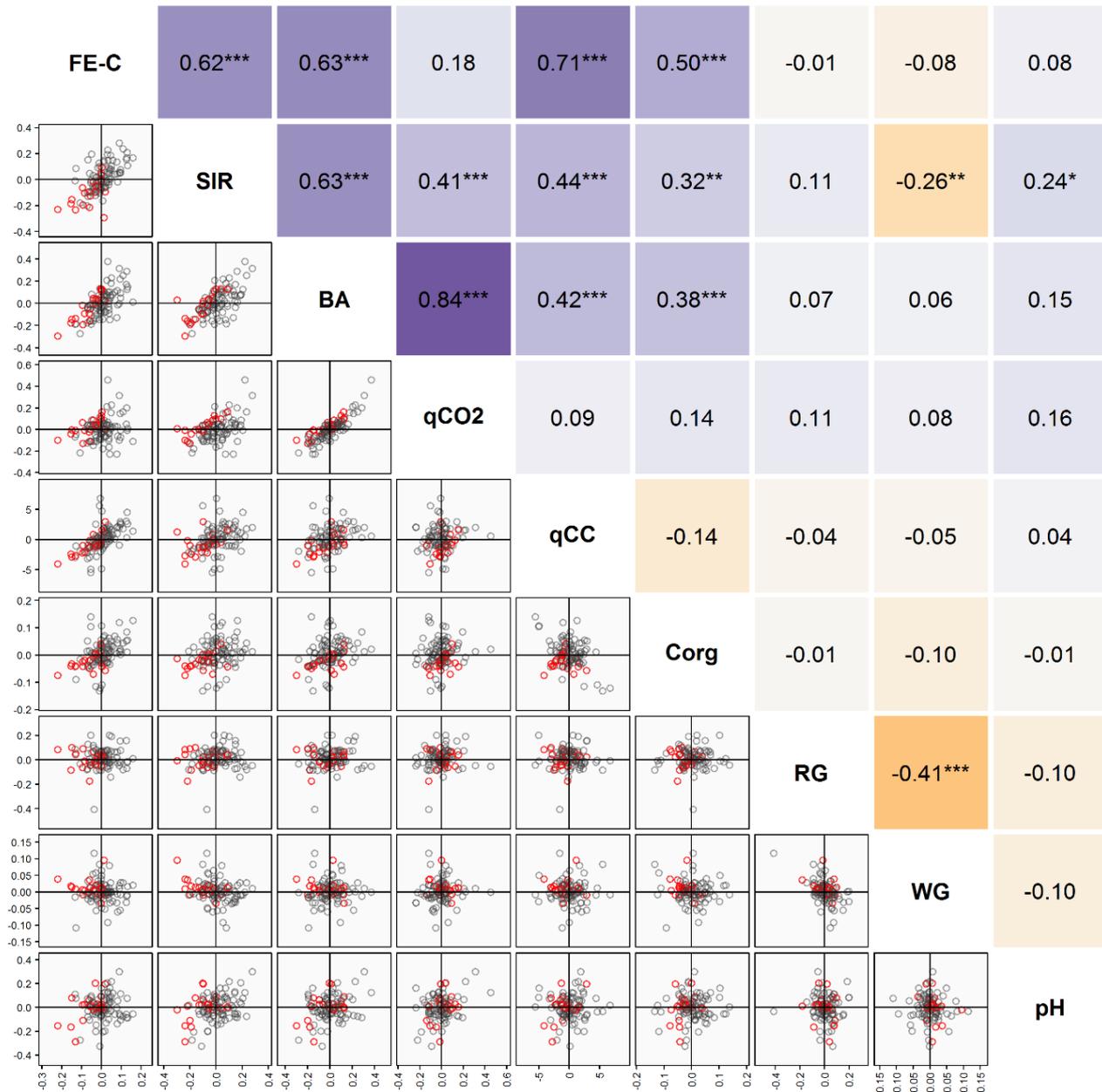


Abbildung 14: Streudiagramme und Korrelationen (robust nach Spearman; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$) der Veränderungen zwischen den Jahren für bodenbiologische Parameter und ausgewählten Bodeneigenschaften für Acker- und Graslandstandorten. FE-C: Biomasse FE, SIR: Biomasse SIR, BA: Basalatmung, qCO2: metabolischer Quotient, qCC: Verhältnis C_{mik}/C_{org} , RG: Raumgewicht, WG: gravimetrischer Wassergehalt, Violett-Töne: positive Korrelation, Orange-Töne: negative Korrelation. Je intensiver der Farbton, desto höher ist der Koeffizient. Verwendet wurden zentrierte Werte. Rot eingefärbt sind die Werte des Jahres 2014.

2.3.3 Einfluss der Bewirtschaftung

Angaben zur Fruchtfolge, zur Düngungsintensität oder zum Ausbringen von Pflanzenschutzmitteln liefern für die Interpretation der Veränderungen von bodenbiologischen Parameter wichtige Hinweise, wie dies u. a. im DOK-Versuch gezeigt wurde (Fließbach et al., 2007). Der Einfluss der Bewirtschaftung auf die NABObio-Standorte lässt sich am Beispiel des Verhältnisses des mikrobiell gebundenen Kohlenstoffes zum organischen Kohlenstoff (C_{mik}/C_{org} -Quotient; $mg C_{mik} g^{-1} C_{org}$) darlegen. Die mikrobielle Biomasse reagiert im Vergleich zum organischen Kohlenstoff sehr sensibel auf Veränderungen der jährlichen Kohlenstoffzufuhr, die zu einer Zu- oder Abnahme des Quotienten führt (Abbildung 15 und Abbildung 16). Niedrige Quotienten werden durch Störungen im Kohlenstoffhaushalt verursacht (Art der Bewirtschaftung). Beim Standort 25 ist seit 2012 eine stetige Abnahme des Quotienten zu erkennen. Bis und mit

Probenahme 2013 wurde der Standort als Kunstwiese genutzt. Anschliessend wurde der Boden gepflügt und es folgten Zuckerrübe und Getreide. Standort 28, ein intensiv genutzter Ackerstandort (Zuckerrüben, Erbsen, Raps) weist durchgehend einen tiefen Quotienten auf, während dieser an den Standorten 54 und 46 nach einer Gründüngung resp. einem Getreideanbau 2015 zunimmt (vgl. Tabelle 4, Anhang).

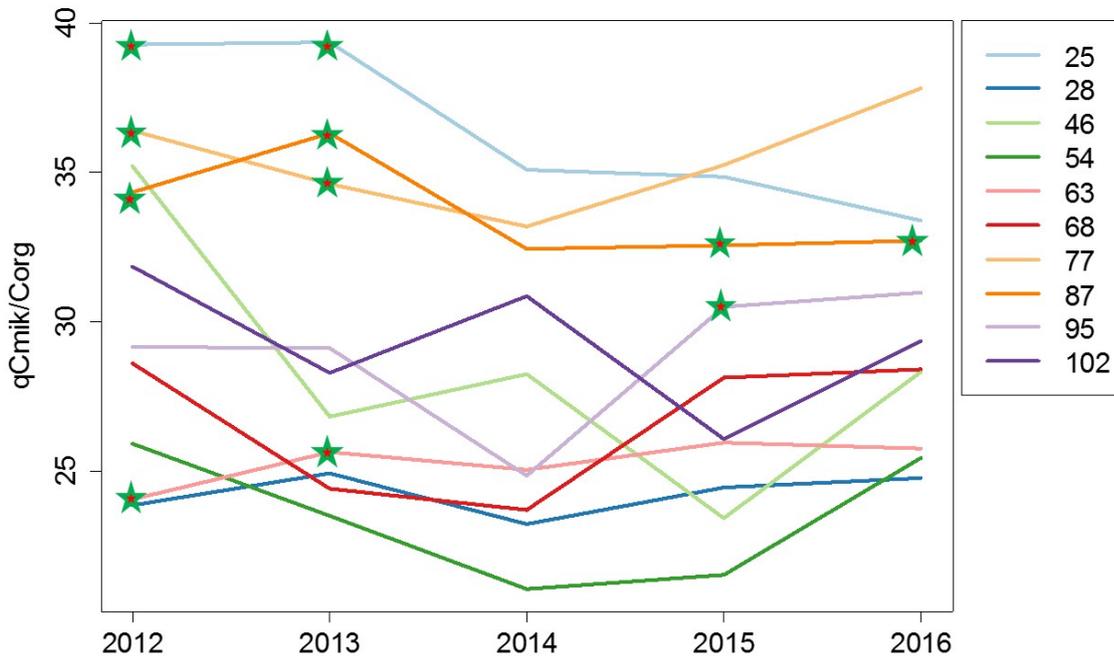


Abbildung 15: Verhältnis vom mikrobiell gebundenem zum organischen Kohlenstoff (C_{mik}/C_{org} ; $mg C_{mik} g^{-1} C_{org}$) der NABObio-Ackerstandorte. Probenahmen, bei denen die Standorte als Kunstwiese genutzt wurden, sind mit einem grünen Stern gekennzeichnet.

Die Graslandstandorte zeigen im Vergleich zu den Ackerstandorten höhere Quotienten, welche über die fünf Jahre ziemlich ausgeglichen verlaufen. Dies widerspiegelt die geringere Störungsintensität und konstantere C_{org} -Gehalte (vgl. auch Abbildung 1).

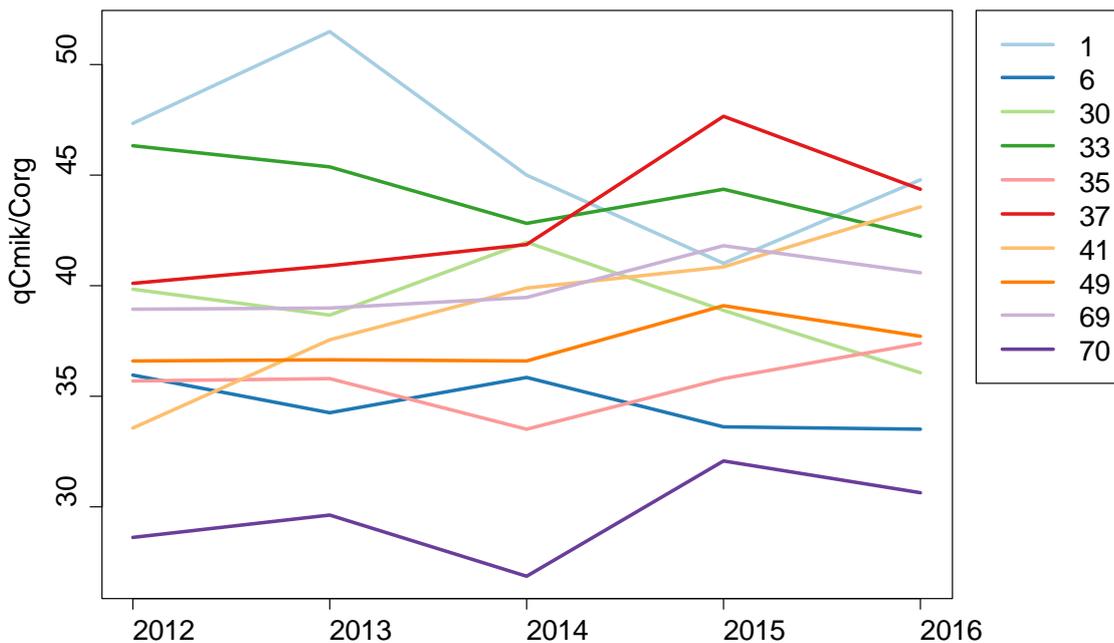


Abbildung 16: Verhältnis von mikrobiell gebundenem Kohlenstoff zu organischem Kohlenstoff (C_{mik}/C_{org}) der NABObio - Graslandstandorte.

Fazit betreffend Zusatzinformationen am Standort:

- Informationen über das Klima und die Bewirtschaftung sind für die Interpretation von bodenbiologischen Messgrössen von grosser Bedeutung.
- Die Wetterverhältnisse der letzten 60 Tage vor der Probenahme haben einen grösseren Einfluss auf die bodenbiologischen Messgrössen als die Verhältnisse kurz vor der Probenahme.
- Die Bedingungen während der Probenahme weisen nur einen geringen Zusammenhang mit den bodenbiologischen Messgrössen auf.

3 Qualitätssicherung des Messsystems

Eine Dauerbeobachtung kann nur aussagekräftige Zeitreihen produzieren, wenn das Messsystem über die Jahre stabil bleibt. Ist dieses instabil, verändert sich das Messniveau, was die Zeitreihen verzerrt (Laborbias). Bei chemischen Analysen ist es vergleichsweise einfach, das Messniveau zu kontrollieren und bei Veränderungen zu kompensieren – beispielsweise durch Kontrollproben oder die sog. Referenzierung (Meuli et al. 2014). Für bodenbiologische Messungen ist dies ungleich schwieriger. Standardisierte Kontrollproben sind nicht verfügbar, da für die Analytik frische bzw. equilibrierte Bodenproben verwendet werden. Als Kontrollproben eignen sich am ehesten tiefgefrorene Proben, die portionenweise aufgetaut und zusammen mit den aktuellen Proben analysiert werden.

Bei der ersten NABObio-Beprobung 2012 wurde an jedem Standort eine zusätzliche Mischprobe genommen. Diese standort-spezifischen Referenzproben werden bei -18 °C gelagert. Bei Analysen von feldfrischen Proben wurde jeweils die Referenzprobe desselben Standortes mitgemessen. Zusätzlich verfügt das bodenbiologische Labor der Agroscope über eine eigene Referenzprobe (im Folgenden als „allgemeine Referenzprobe“ bezeichnet), die ebenfalls bei -18 °C gelagert wird. In der Regel wird in jeder Messserie eine Portion der allgemeinen Referenzprobe mitgemessen.

Standort-spezifische und allgemeine Referenzproben bieten verschiedene Ansätze, um das Messsystem zu kontrollieren und die Ergebnisse allenfalls entsprechend zu korrigieren. Für die Jahre 2012 bis 2015 wurden für Acker- und Graslandstandorte folgende Ansätze getestet und verglichen:

- a) Standort-spezifische Korrektur aufgrund der entsprechenden Probe (analog zu NABO-Schwermetall-Analytik)
- b) Korrektur aufgrund des Jahres-Mittelwerts aller standort-spezifischen NABO-Referenzproben
- c) Korrektur aufgrund der allgemeinen Referenzprobe (jeweils Mittelwert pro Jahr)
- d) Keine Korrektur, aber Kontrolle des Messsystems mit a/b oder c

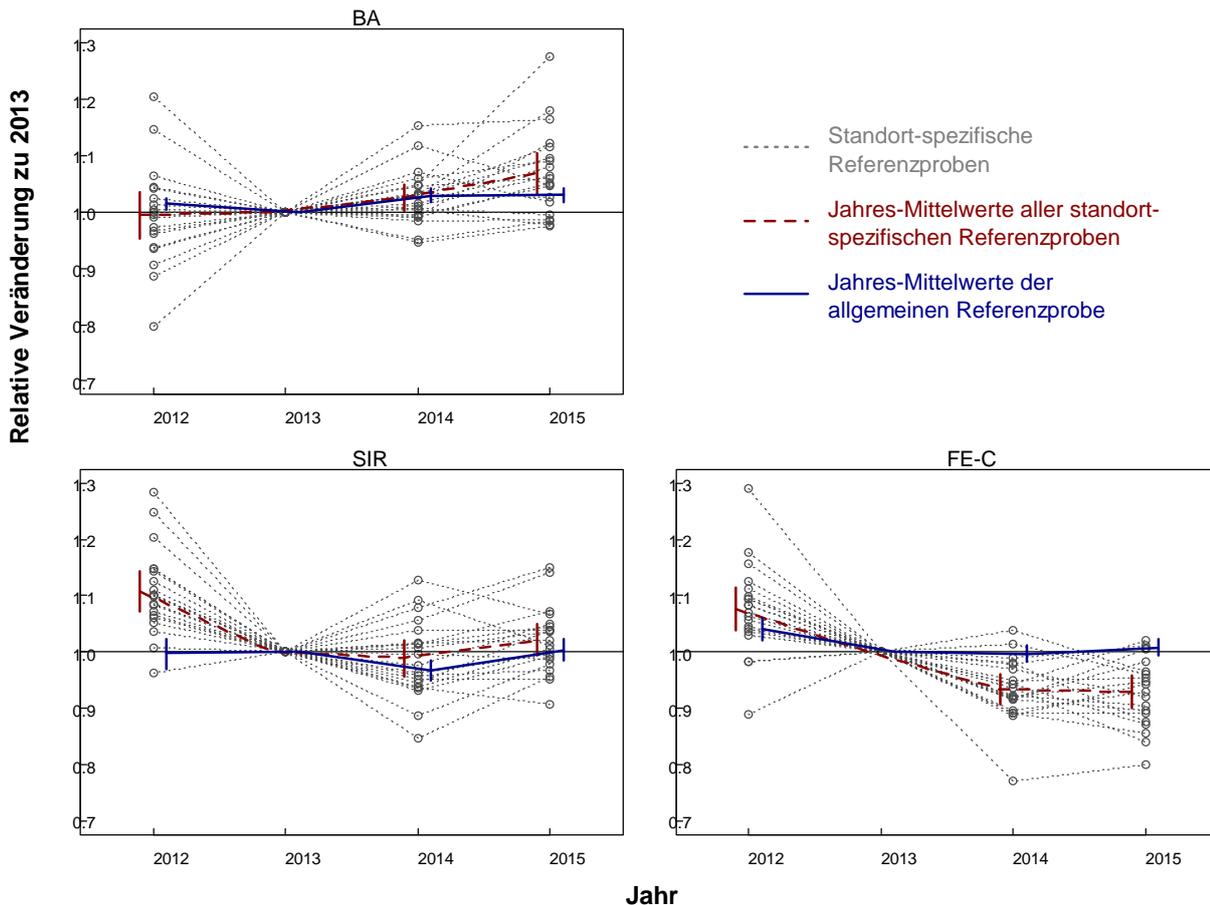


Abbildung 17: Zeitliche Verläufe 2012-2015 der Referenzproben für Acker- und Graslandstandorte, Mittelwerte jeweils mit 95 %-Vertrauensintervall.

Variante a: Die zeitlichen Verläufe der standort-spezifischen Referenzproben variieren stark zwischen den Standorten (Abbildung 17). Bei der Referenzierung erfolgt die Korrektur der Messdaten aufgrund dieser Verläufe. Wir haben die Erfahrung gemacht, dass die Korrektur der Messwerte bei einem Teil der Standorte zu plausiblen Zeitreihen führt - mit weniger Streuung im Vergleich zu den Originaldaten. Bei anderen Standorten führt die Referenzierung jedoch zu nicht plausiblen Verläufen. Das Problem liegt vermutlich in der relativ grossen Streuung bodenbiologischer Messungen. Um eine verlässliche Korrektur zu erreichen, müsste die standort-spezifische Referenzprobe mehrfach gemessen werden (die Referenzierung in der Schwermetall-Analytik der NABO basiert auf vier Proben!).

Varianten b und c: Die Mittelwerte pro Jahr zeigen für die NABO-Proben und die allgemeine Referenzprobe ähnliche Verläufe. Die Werte für die Basalatmung scheinen mit zunehmender Lagerungsdauer tendenziell zuzunehmen, jene der Biomasse FE (sowohl C als auch N) tendenziell abzunehmen. Die Ursachen dafür sind nicht im Detail bekannt, stehen aber wohl im Zusammenhang mit der Lagerung bei -18 °C. Möglicherweise sterben während der Lagerung Organismen ab, die dann als C-Quelle zur Verfügung stehen.

Die Daten für 2012-2015 wurden gemäss beiden Varianten korrigiert und mit den Originaldaten verglichen. Vergleicht man für diese drei Datensätze die zeitliche Entwicklung, sind die Abweichungen nur geringfügig. Die Unterschiede der Messniveaus über die 5 Jahre liegen innerhalb der üblichen Streuung der Messung. Zudem besteht bei jeder Korrektur die Gefahr, dass die Fehler der Daten danach nicht mehr zufällig verteilt sind (was für die NABObio-Daten durch Residuenanalysen bestätigt wurde). Dies ist ein Nachteil für die statistische Auswertung der Daten. Daher empfehlen wir **Variante d**, keine Korrektur, aber Kontrolle des Messsystems mit a/b oder c. Damit lassen sich starke Abweichungen vom langjährigen Messniveau erkennen. Diese können für die Auswertungen berücksichtigt werden. Grundsätzlich spielt es dabei keine

Rolle, ob eine allgemeine Referenzprobe (Varianten b und c) oder standort-spezifische Proben (Variante a) verwendet werden. Dabei ist die Verwendung einer allgemeinen Referenzprobe bedeutend weniger aufwändig.

Fazit Qualitätssicherung des Messsystems:

- Eine standort-spezifische Referenzierung für bodenbiologische Messungen ist grundsätzlich machbar. In der Praxis dürften die Ressourcen dazu aber nicht vorhanden sein, da der Arbeitsaufwand und die benötigte Menge an Referenzmaterial gross sind.
- Der Vergleich der Varianten a), b) und c) zeigt, dass regelmässige Analysen einer allgemeinen Referenzprobe für die Qualitätssicherung ausreichend sind.
- Wir empfehlen, grundsätzlich auf eine Korrektur der Messwerte zu verzichten, solange die Referenzprobe(n) zeigt, dass die Abweichungen zwischen den Jahren innerhalb der üblichen langjährigen Streuung der Analytik liegen.
- Bei der Beurteilung der Messkurve dieser Referenzprobe über die Zeit muss berücksichtigt werden, dass die Lagerung das Mikrobiom der Probe in einer nicht bekannten Art und Weise beeinflusst.

4 NABObio-Daten im weiteren Kontext

Um die Bodenqualität zu überwachen, müssen verschiedenste Aspekte des Bodens untersucht werden. Ein grosser Mehrwert dieses ganzheitlichen Ansatzes besteht darin, die Informationen über Bodeneigenschaften, Nährstoffflüsse, Schadstoffe, etc. wechselseitig interpretieren zu können. So sollen die Daten, die innerhalb des bodenbiologischen Monitorings der NABO gesammelt werden, nicht nur Auskunft über Zustand und Entwicklung der Bodenorganismen geben. In diesem Kapitel erläutern wir, wie die NABO die Datengrundlage von NABObio u.a. dazu verwenden kann, den Zusammenhang zwischen der Bodenbiologie und ausgewählten Bodenfunktionen zu untersuchen. Weiter zeigen wir auf, wie mit NABObio aussagekräftige bodenbiologische Indikatoren für die Umweltberichterstattung erarbeitet werden können.

4.1 Bodenmikroorganismen und Bodenfunktionen

Unter den Begriffen „Bodenfunktionen“ (Hauptkategorien) und „Bodenteilfunktionen“ (Unterkategorien) werden einzelne Aspekte des Bodens beschrieben. Dabei können die Hauptkategorien der Bodenfunktionen in ökologische und sozio-ökonomische unterteilt werden. Für eine Klassifizierung von Bodenfunktionen gibt es verschiedene Vorschläge (Greiner et al. 2017). Bei den ökologischen Bodenfunktionen werden in der Regel als Hauptkategorien die Produktions-, Regulierungs- und Habitatfunktion (Lebensraumfunktion) unterschieden. An deren Aufrechterhaltung sind Bodenorganismen massgebend beteiligt. Abhängig von seinen Eigenschaften und dem Zusammenwirken physikalischer, biologischer und chemischer Prozesse kann ein Boden bestimmte Bodenfunktionen unterschiedlich gut erfüllen (Abbildung 18). Das Vermögen des Bodens, eine oder mehrere Funktionen zu erfüllen wird als Leistungsvermögen, Kapazität oder Bodenqualität bezeichnet. Mit den mikro- und molekularbiologischen Untersuchungen von NABObio wurde nun eine Grundlage erarbeitet, um zukünftig für NABO-Standorte den Zusammenhang zwischen ausgewählten Bodenfunktionen und der Bodenbiodiversität zu untersuchen.

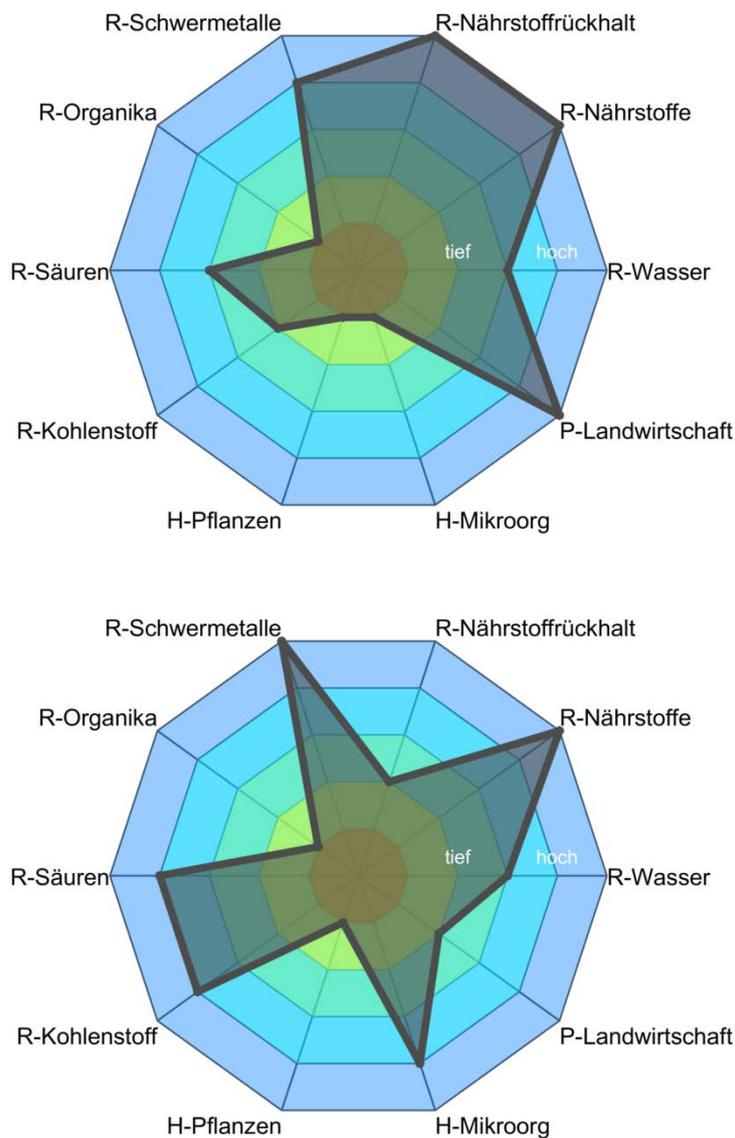


Abbildung 18: Multifunktionalität und unterschiedliche Funktionserfüllungsgrade von zwei verschiedenen Böden: Bodenorganismen sind von zentraler Bedeutung für die meisten Funktionen des Bodens: Produktions (P)-, Regulierungs (R)- und Habitatfunktionen (H) (Greiner et al. 2017 Faktenblatt).

Indem man dem Boden Funktionen zuschreibt und Böden hinsichtlich ihrer Funktionserfüllung bewertet, kann man Eigenschaften des Bodens zusammenfassen, vereinfachen und in einen funktionalen Zusammenhang stellen. Die auf diese Weise zusammengefasste Bodeninformation ist einfach zu vermitteln und zeigt die Werte und die Multifunktionalität des Bodens auf (Abbildung 18). Dem Boden wird u.a. eine Habitatfunktion zugeschrieben. Gleichzeitig sind Bodenorganismen von grosser Bedeutung für alle anderen Funktionen, d. h. sowohl für die Produktions- als auch für die verschiedenen Regulierungsfunktionen.

Bis anhin wurde davon ausgegangen, dass die immense taxonomische Diversität der Bodenorganismen auch eine grosse funktionale Redundanz bedeutet. So wird das Mikrobiom im Boden in bisherigen Modellrechnungen von Bodenfunktionen häufig in Form von Summenparametern als „black box“ abgebildet. Neuere Untersuchungen zeigen jedoch, dass die mikrobielle Diversität als Parameter in Modellrechnungen abgebildet werden sollte und dass das Konzept der funktionalen Redundanz von Bodenorganismen zunehmend kontrovers diskutiert wird (Maron et al., 2011; Loreau, 2004; Wood, 2013;

Wagg et al. 2014). Allerdings sind die Faktoren, welche die Bodenbiodiversität bestimmen, noch grösstenteils unbekannt (Keestra et al. 2016).

Folgende Bodenfunktionen können mit Hilfe der NABObio-Daten untersucht werden:

Habitatfunktion und Bodenbiodiversität

Üblicherweise wird der Boden als Habitat für Pflanzen und der Boden als Habitat für Mikroorganismen betrachtet und getrennt bewertet. Zur Bewertung werden beispielsweise Bodenbedingungen für ein diverses Pflanzenwachstum betrachtet (Siemer et al. 2014), physikalische oder chemische Bodeneigenschaften benützt, um die Bodenbiodiversität vorherzusagen (Aksoy et al. 2017) oder Indikatoren zur Artenvielfalt oder das Vorkommen von Schlüsselarten eingeschätzt (Wagg et al. 2014). Bislang fehlen aber aussagekräftige und in der Praxis erprobte Indikatoren bzw. Messmethoden, um die Habitatfunktion des Bodens in Bezug zur Bodenbiodiversität umfassend abbilden zu können. Vorschläge, welche Indikatoren sich eignen wurden z. B. von Griffiths et al. 2016 erarbeitet.

Regulierungs- und Produktionsfunktionen

Der Boden übernimmt wichtige Funktionen im Wasser-, Nährstoff- und Kohlenstoffkreislauf. Bodenorganismen sind ein wichtiger Schlüssel dafür, wie gut ein Boden Regulierungsleistungen erfüllen kann. So ist der Stickstoffkreislauf im Boden direkt von nitrifizierenden und denitrifizierenden Bodenorganismen abhängig. Bis anhin wird die biologische Aktivität der Böden kaum bei der (statischen) Beurteilung der Regulierungsfunktionen berücksichtigt. Ein wesentlicher Grund hierfür stellt vermutlich die mangelnde Verfügbarkeit von Messdaten zu bodenbiologischen Eigenschaften des Bodens dar. In der Bodenkartierung wird teilweise versucht, die biologische Aktivität anhand der geschätzten Regenwurmabundanz im Feld zu schätzen (Jäggli et al. 1998). An den Profilstandorten einer Bodenkartierung werden jedoch – wenn überhaupt – nur chemische und physikalische Bodeneigenschaften erhoben.

Böden mit hoher Bodenfruchtbarkeit (gemäss VBBo, 1998) erfüllen eine Doppelfunktion: Zum einen sind sie ein bevorzugter Lebensraum für Pflanzen und Tiere. Zum anderen zeichnen sie sich durch eine aktive und zahlreich vorhandene Biomasse als gute land- und forstwirtschaftliche Standorte aus.

Bei den meisten NABObio-Standorten werden Informationen über die Bewirtschaftung (Nährstoffe, Fruchtfolge, Pflanzenschutzmittel) jährlich erhoben. Mit Hilfe der Informationen über die Bodenbiologie und den Bewirtschaftungs- und Produktivitätsangaben können Aussagen über die Bodenfruchtbarkeit erarbeitet werden. Insbesondere sollen mit Hilfe der molekularbiologischen Analysemethoden Aussagen erarbeitet werden, die über die Menge und Aktivität der mikrobiellen Biomasse hinausgehen.

4.2 Indikatoren für die Bodenqualität

Der Zustand und die Entwicklung der Böden können mit Hilfe von Indikatoren einfacher vermittelt werden. Diese können von physikalischen, chemischen und biologischen Messgrössen abgeleitet und durch Verknüpfung der verschiedenen Disziplinen zu einem Gesamtbild zusammengefasst werden. Indikatoren sollen verständliche, aber dennoch aussagekräftige Kenngrössen darstellen und so für politische Entscheidungsträger und die Öffentlichkeit fassbar gemacht werden. Im Folgenden stellen wir Instrumente vor, wie sich mit den Daten von NABObio Indikatoren herleiten und kommunizieren lassen.

Die mikrobielle Biomasse umfasst jenen Anteil der organischen Bodensubstanz, der aus lebenden Mikroorganismen besteht. Diese sind für viele Bodenfunktionen zentral. Eine grosse Menge an Mikroorganismen ist deshalb ein Indikator für eine gute Bodenqualität. Zudem korreliert die mikrobielle Biomasse stark mit dem organischen Kohlenstoffgehalt und reagiert empfindlich auf Störungen (vgl. Kap. 2.1.1 und 2.3). Idealerweise besteht ein Indikator jedoch nicht aus reinen Messgrössen. Aussagekräftiger ist es, wenn die Messwerte anhand von Referenzwerten beurteilt werden. Für die Biomasse können für

landwirtschaftlich genutzte Böden standorttypische Erwartungswerte in Abhängigkeit von den bodenphysikalischen und -chemischen Eigenschaften (wie C_{org} -Gehalt, pH-Wert, Ton- und Sandgehalt des Standortes) bestimmt werden (Oberholzer et al., 1999). Anhand von 220 Ackerstandorten erarbeiteten Oberholzer und Scheid (2007) folgende Regressionsformel für die Tiefe von 0-20 cm:

$$\ln(\text{BM-SIR}) = 3.58 + 0.82 \cdot \ln(C_{org}) + 0.15 \text{ pH} + 0.31 \cdot \ln(\text{Tongehalt}) + 0.005 \text{ Sandgehalt}$$

Diese Gleichung ist für Böden mit einem C_{org} -Gehalt von 1-4 %, einem Tongehalt von 10-40 % und einem pH-Wert von 4.3-7.5 gültig. Zur Beurteilung von gemessenen mikrobiologischen Werten definierten die Autoren auf der Basis dieser Regression und den dazugehörigen Vertrauensbereichen fünf Wertebereiche: sehr tief, tief, normal, hoch, sehr hoch. Kennt man die Standorteigenschaften, lässt sich der Messwert für SIR der entsprechenden Klasse zuordnen.

Auf den NABObio-Ackerstandorten sind die gemessenen Biomassewerte (SIR) tendenziell höher, als die berechneten Erwartungswerte¹ (Abbildung 19) - sechs der zehn Ackerstandorte (25, 54, 68, 77, 87, 102) werden als „sehr hoch“ eingestuft².

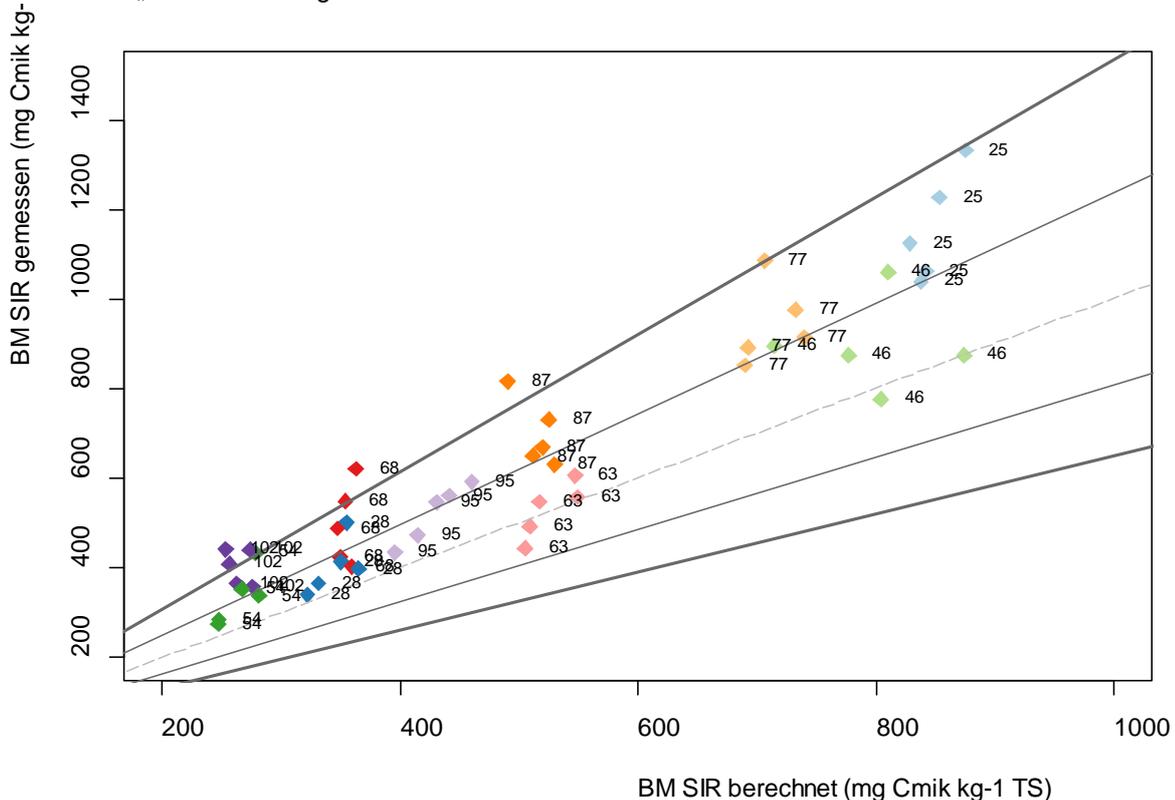


Abbildung 19: Gemessene mikrobielle Biomassegehalte (SIR) und entsprechende Erwartungswerte (BM SIR berechnet) für die Jahre 2012-2016 der NABObio-Ackerstandorte. Beurteilung der Ergebnisse: «sehr hoch» = obere Grenze des 95 % Erwartungsbereiches, «hoch» = obere Grenze des 67 % Erwartungsbereiches, «tief» = untere Grenze des 67 % Erwartungsbereiches, «sehr tief» = untere Grenze des 95 % Erwartungsbereiches. Anzahl Standorte: 10, mit je fünf jährlichen Erhebungen.

¹ Da bei der Erarbeitung der Regressionsgleichung für Graslandstandorte mit Messwerten von Proben aus einer Tiefe von 0-10 cm gearbeitet wurde, werden hier die Werte der Graslandstandorte von NABObio, die aus einer Tiefe von 0-20 cm stammen, nicht beurteilt.

² Zu berücksichtigen ist, dass vor allem der Standort 25 mit einem Tonanteil von 59 % über dem oben genannten Geltingbereich liegt.

Analog zur Biomasse SIR wurden auch Regressionen und Erwartungsbereiche für die Biomasse FE-C und Basalatemungswerte erarbeitet (VBB, 2009):

$$\ln(\text{BM FE-C}) = 4.703016 + 0.06347 \cdot \text{pH} + 0.9634 \cdot \ln(\text{C}_{\text{org}}) + 0.214 \cdot \ln(\text{Ton}) + 0.00083 \cdot \text{Sandgehalt}$$

$$\ln(\text{BA}^*) = (2.6974 + 0.1993 \cdot \text{pH} + 0.6253 \cdot \ln(\text{C}_{\text{org}}) + (-0.1463 \cdot \ln(\text{Ton}) - 0.0009 \cdot \text{Sandgehalt}) / 88$$

*(mg CO₂-C kg⁻¹ Boden TS h⁻¹)

Damit können auch die Werte für Biomasse FE und Basalatemung qualitativ beurteilt werden. Aufgrund der Anteile der einzelnen Klassen über die Jahre werden Tendenzen sichtbar (Abbildung 20 und Abbildung 21). Für die NABObio-Ackerstandorte zeigt sich: Von 2012 bis 2016 blieben die Anteile der einzelnen Klassen für die Biomasse FE relativ stabil, abgesehen von geringfügigen Abweichungen in einzelnen Jahren: Im Jahr 2015 weist der Standort 46 einen *tiefen* Gehalt an Biomasse FE auf. Für die Basalatemung bleiben die Anteile über die 5 Jahre ähnlich stabil: die mit *tief* beurteilten Basalatemungswerte in den Jahren 2015 und 2016 gehören zu zwei verschiedenen Standorten (Standort 54 resp. 102). Sowohl die Witterung als auch die Fruchtfolge wirken sich auf die Bodenbiologie aus (vgl. auch Abbildung 15). Deshalb überraschen solche Schwankungen bei 10 Standorten nicht. Für ein grösseres Standortkollektiv dürften sich solche Schwankungen eher ausgleichen und die Entwicklung der Werte stabiler ausfallen. Verschiedene kantonale Bodenfachstellen führen ebenfalls mikrobiologische Messungen mit vergleichbaren Methoden durch. In Zusammenarbeit mit diesen Partnern soll die Datengrundlage ausgeweitet und damit die Aussagekraft erhöht werden.

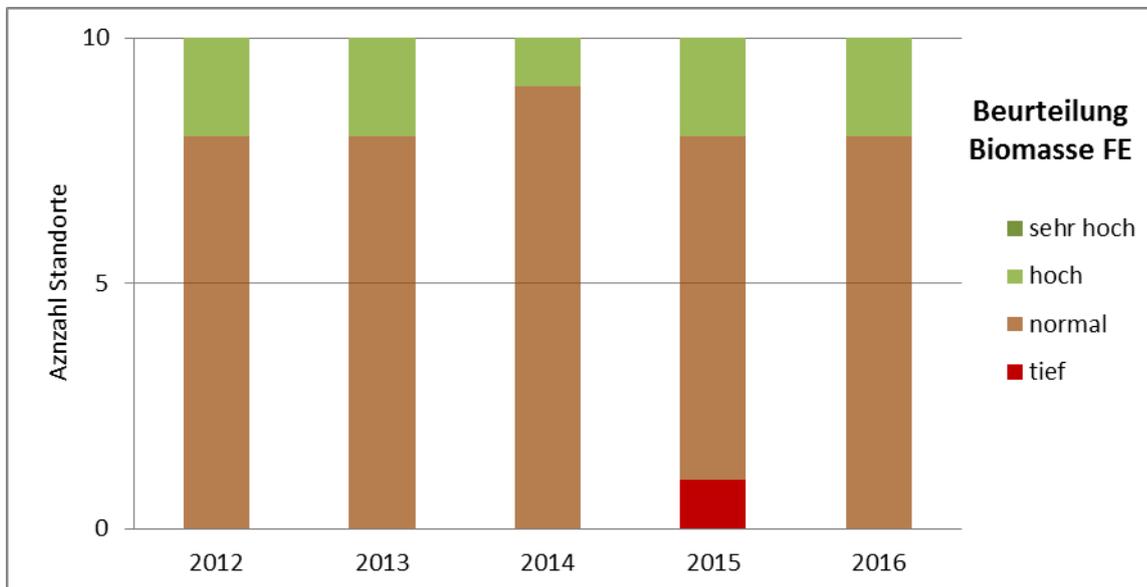


Abbildung 20: Beurteilung der Biomasse FE-Gehalte von 2012 – 2016 der NABObio-Ackerstandorte basierend auf berechneten standorttypischen Werten.

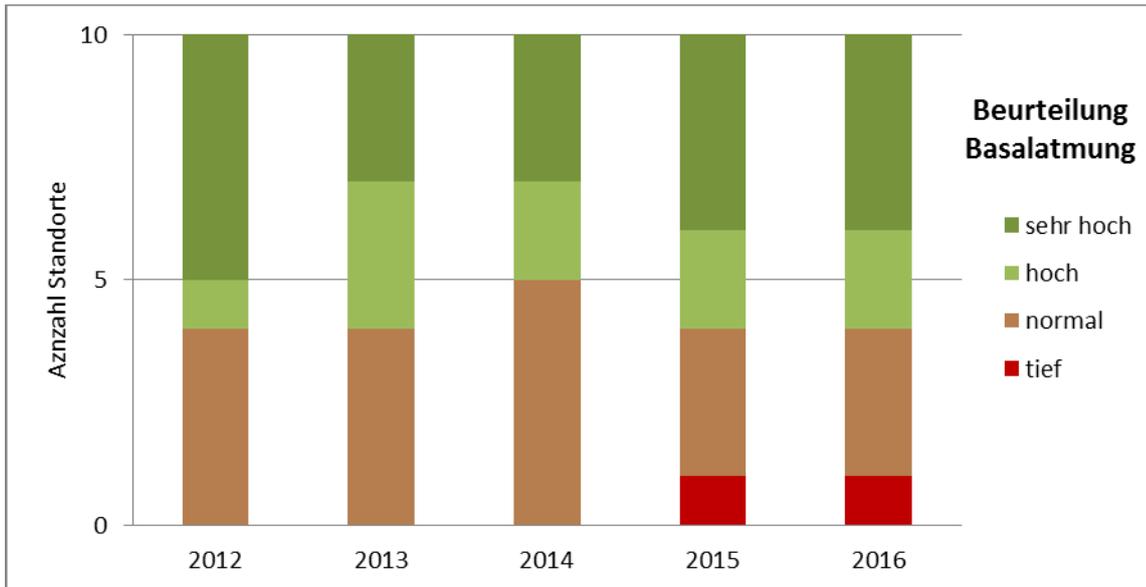


Abbildung 21: Beurteilung der Basalatmung von 2012 – 2016 der NABObio-Ackerstandorte basierend auf berechneten standorttypischen Werten.

Metabolischer Quotient als Kenngrösse für den physiologischen Zustand der Mikroorganismen

Der metabolische Quotient wird aus der Basalatmung und der mikrobiellen Biomasse gebildet. Dieser ist ein Mass dafür, wie effizient Mikroorganismen das Substrat (also ihre Nahrung) nutzen. Je grösser der metabolische Quotient, desto mehr Substrat wird zu CO₂ veratmet, und desto weniger Substrat wird in die mikrobielle Biomasse eingebaut. Die NABObio-Ackerstandorte weisen höhere Werte auf als Graslandstandorte (Abbildung 22). Diese werden mit der erhöhten Störungsintensität (durch die Bewirtschaftung) und dem Mangel an organischer Substanz erklärt. Hohe Werte weisen darauf hin, dass die mikrobielle Gemeinschaft Stressoren ausgesetzt ist (Anderson und Domsch, 2010). In ökologisch bewirtschafteten Flächen ist der metabolische Quotient meist geringer als in konventionell bewirtschafteten Flächen (Fließbach et al. 2007, Heinze et al. 2010, Mäder et al. 2002). Die Quotienten der Waldstandorte weisen analog zu den mikrobiellen Kenngrössen eine grössere Streuung auf.

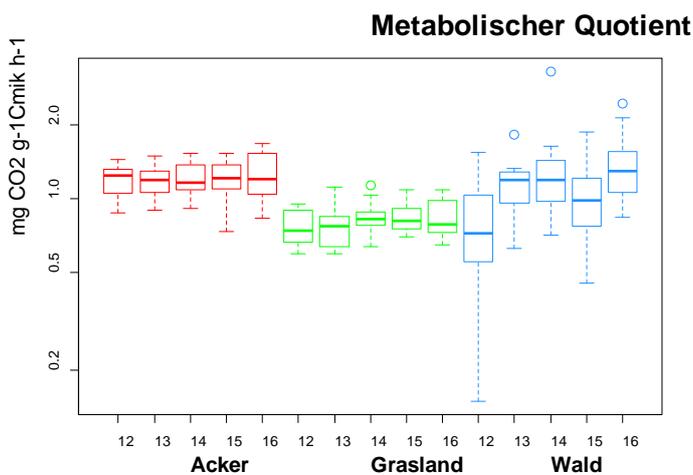


Abbildung 22: Metabolischer Quotient (BA/BM FE) der Nutzungskategorien Acker (rot), Grasland (grün) und Wald (blau) über die Jahre 2012 bis 2016 (y-Achse log-transformiert).

Fazit Indikatoren:

- Anhand von zu erwartenden standorttypischen Werten lassen sich die gemessenen Biomasse- und Basalatmungswerte beurteilen.
- Die grafische Darstellung der Anteile der einzelnen Klassen ist leicht verständlich und für die Kommunikation an ein breites Publikum, wie dies die Umweltberichterstattung anstrebt, geeignet. Die Aussagekraft mit 10 Standorten ist jedoch eingeschränkt. In Zusammenarbeit mit kantonalen bodenbiologischen Monitoringprogrammen soll die Datengrundlage ausgeweitet und die Aussagekraft der Indikatoren erhöht werden.
- Für die Erarbeitung von Indikatoren der Bodenbiodiversität stehen molekularbiologische Methoden zur Verfügung (vgl. Kap. 2.2). Vorschläge dafür werden sich aus den laufenden Forschungsarbeiten ableiten lassen. Herausforderung wird dabei sein, Veränderungen der standorttypischen Gemeinschaftsstrukturen qualitativ beurteilen zu können. Einfacher ist es, Indikatoren zu entwickeln, für welche spezifische Gene vorhanden sind (z.B. Antibiotikaresistenzen).
- Anhand der Zeitreihen von NABObio können pro Standort Werte eingegrenzt und Basiswerte oder *baselines* definiert werden. Eine plötzliche Zunahme kann immer zuverlässiger als Indikator für eine Störung des Ökosystems gedeutet werden. Wichtig dabei ist, dass mit einer angepassten Qualitätssicherung innerhalb des Monitorings ausgeschlossen wird, dass die Veränderung vom Messsystem verursacht wurde.

Dank

Ein Dankeschön gebührt der Sektion Boden der Abteilung Boden und Biotechnologie des Bundesamtes für Umwelt (BAFU) für die Unterstützung und das Vertrauen in diese Arbeit, dabei insbesondere Elena Havlicek für die fachlichen Inputs. Zudem danken wir verschiedenen Personen, die während der Verarbeitung der Proben mitgeholfen haben: Stephanie Pfister und Beat Stierli für molekulargenetische Analysen sowie Susanne Müller und Andrea Bonvicini vom mikrobiologischen Labor. Weiter möchten wir uns bei Personen aus der NABO-Gruppe bedanken: Peter Schwab für die Expertise und die Feldarbeiten, Ramon Zimmermann für die Probenahmen, Armin Keller für das Bereitstellen der Bewirtschaftungsdaten und Lucie Greiner für die Inputs zu den Bodenfunktionen, Daniel Wächter, der für das Qualitätsmanagement der NABO-Daten zuständig ist. Des Weiteren danken wir der Forschungsgruppe Molekulare Ökologie (Agroscope) für die gute Zusammenarbeit, dabei insbesondere Franco Widmer und Florian Gschwend. Sowie Génome Québec (Montréal, Canada) für das verlässliche Sequenzieren der Barcodes.

Anhang

1 Material und Methoden

Im folgenden Abschnitt werden die Auswahl der Standorte, das Probenahmedesign und die angewandten Methoden für NABObio erläutert. Zusätzliche Informationen können dem Agroscope Science Bericht von Hug et al. (2015) entnommen werden

1.1 Beprobung

Die Standorte für NABObio wurden aus dem gesamten Standortkollektiv der (damals) 105 NABO-Standorte ausgewählt. Zehn Acker-, zehn Grasland und zehn Waldstandorte werden jeweils im Frühjahr beprobt (Abbildung 23). Zum Zeitpunkt der Beprobung sollten die Böden u.a. nicht mehr gefroren und vor allem noch nicht gedüngt worden sein. Auf einer Fläche von 10 x 10 m werden drei Mischproben à je 25 Einstiche bis 20 cm Tiefe genommen.

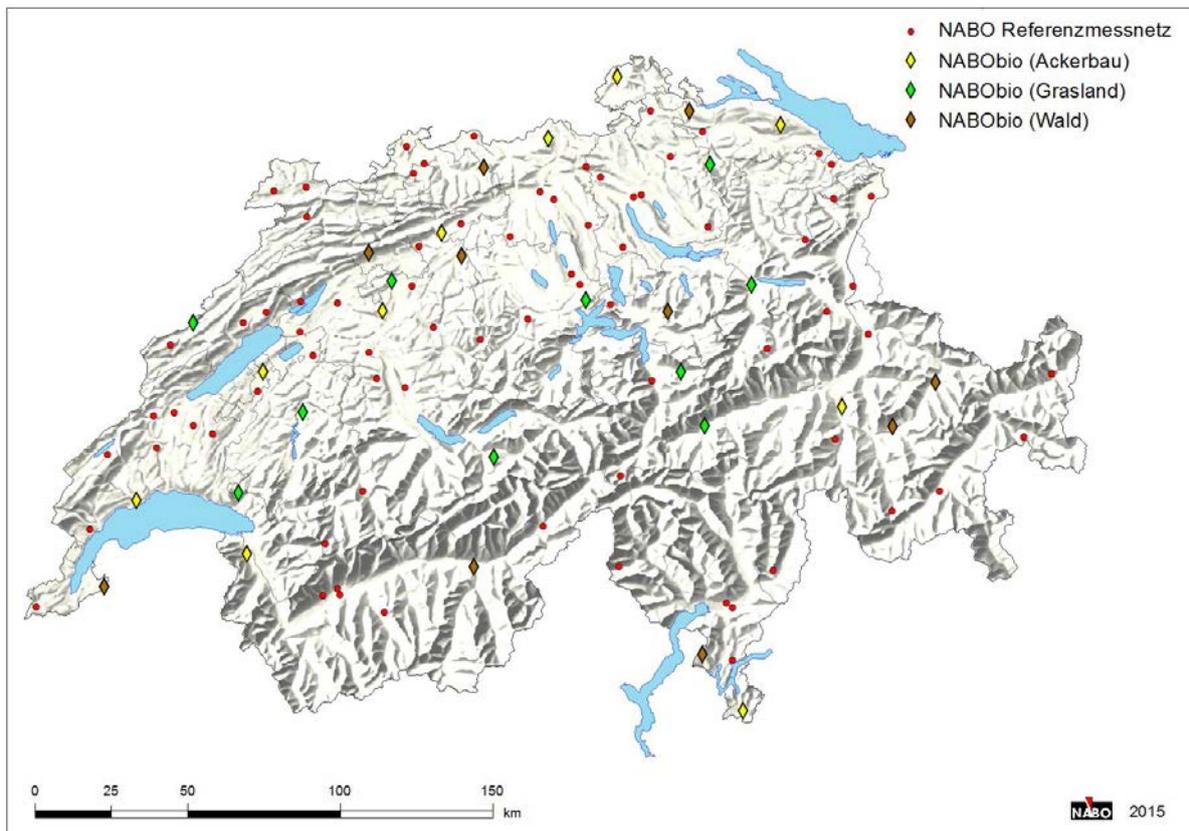


Abbildung 23: Ausgewählte NABO Standorte für das bodenbiologische Monitoring (als Rhomben dargestellt).

1.2 Repräsentativität der ausgewählten NABObio Standorte

Das Messnetz der NABO weist in Bezug auf Bodeneigenschaften und Umweltfaktoren ein relativ weites Spektrum auf (Abbildung 24). Ebenfalls erkennbar ist eine lage- und nutzungsbedingte Gruppierung der Standorte: Ackerstandorte (rote Punkte) sind sich in Bezug auf den pH-Wert und die Meereshöhe untereinander ähnlicher und unterscheiden sich von den Grasland- (grün) und Waldstandorten (blau). Gras- und Waldstandorte liegen tendenziell höher, weisen mehr organischen Kohlenstoff, einen tieferen pH und höhere Niederschlagsmengen auf. Die Waldstandorte unterscheiden sich von den Acker- und Graslandstandorten insbesondere durch das C/N-Verhältnis (vgl. Abbildung 2).

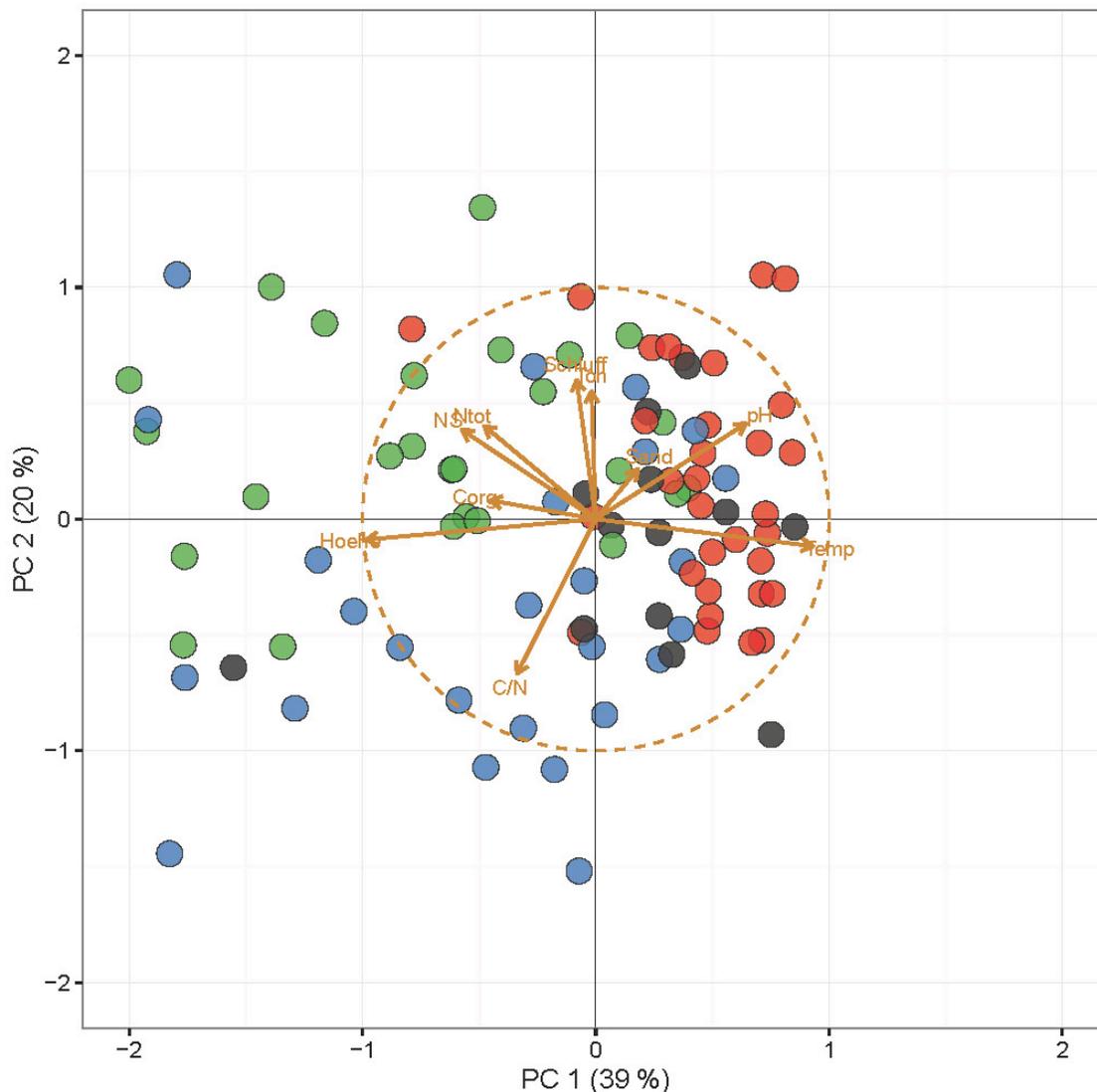


Abbildung 24: Charakterisierung der 105 NABO-Standorte anhand von Standorteigenschaften. Farben zeigen Nutzungskategorien: Grasland (grün), Acker (rot), Wald (blau), Spezialkulturen (schwarz). (Hauptkomponentenanalyse mit pH, OC, C_{tot}, N_{tot}, CN, Ton, Schluff, Sand, durchschnittlicher Jahresniederschlag, Temperatur und Höhe).

Für NABObio wurde ein Subset von 30 Standorten bestimmt. Diese Auswahl repräsentiert die Vielfalt des gesamten Standortkollektivs relativ gut (Abbildung 25). Die Ackerstandorte sind eher aus dem Mittelfeld aller NABO-Ackerstandorte ausgewählt worden. Auch bei den NABObio-Standorten unterscheiden sich die Nutzungskategorien Acker, Grasland und Wald insbesondere durch den pH, den Tongehalt, den durchschnittlichen Jahresniederschlag, die Temperatur und das C/N-Verhältnis.

Diese Unterschiede zwischen aber auch innerhalb der Nutzungskategorien müssen bei der Interpretation von Ergebnissen berücksichtigt werden.

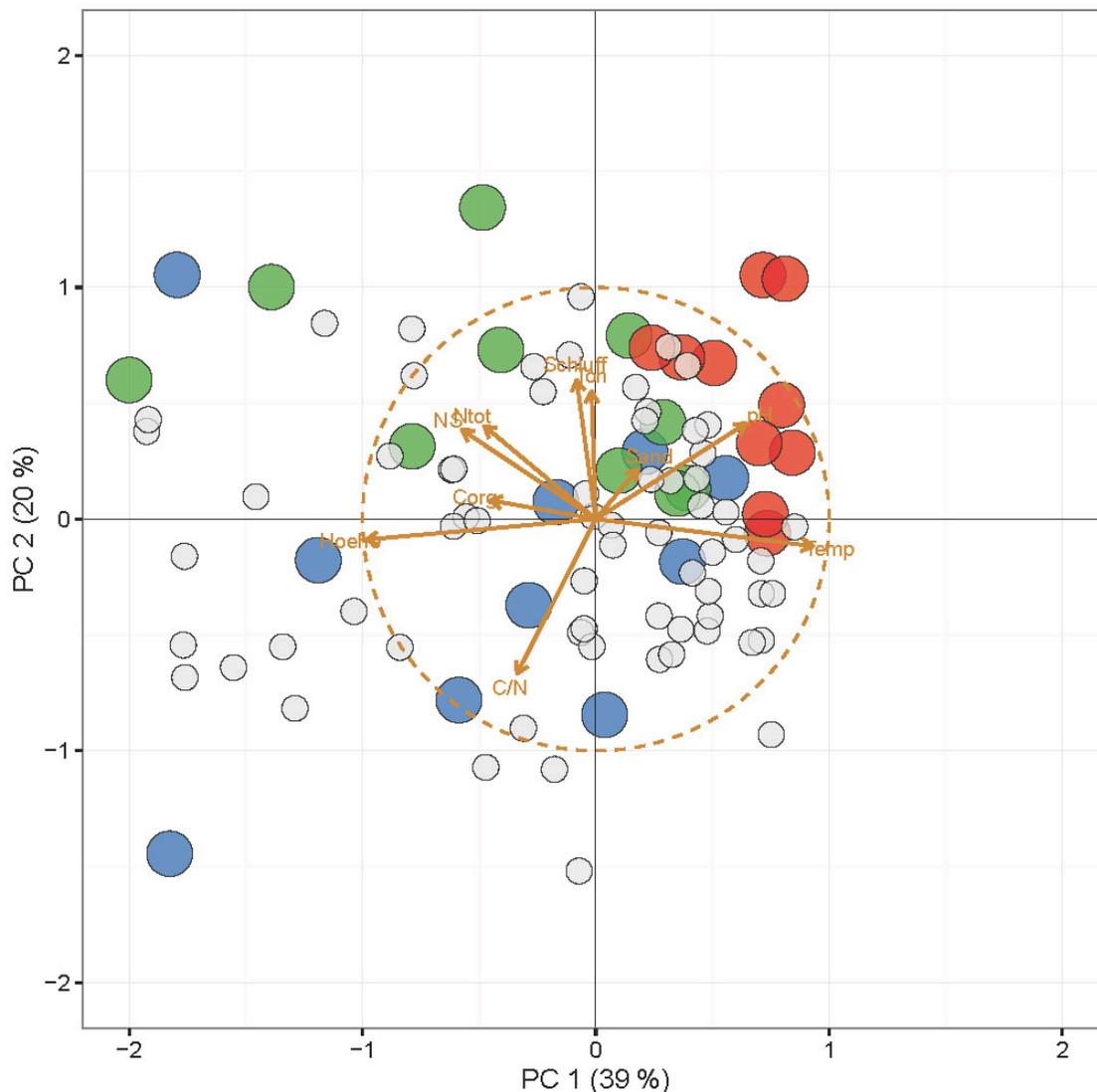


Abbildung 25: NABObio-Standorte dargestellt im Standortkollektiv des NABO-Referenzmessnetzes. Farben zeigen Nutzungskategorien: Grasland (grün), Acker (rot), Wald (blau).

1.3 Analysen

Die mikrobielle Biomasse gilt als Bioindikator für die Qualität des Bodens als Lebensraum und Pflanzenstandort und widerspiegelt die Einflüsse unterschiedlicher Bewirtschaftungsweisen (Ottow, 2011). Sie ist ein Speicher von leicht mineralisierbaren Nährstoffen (N, P, K und S) und funktioniert als biologischer Puffer gegenüber chemisch-physikalischen und biologischen Belastungen. Als Pool mit der höchsten genetischen Diversität auf Erden stellt sie ein bedeutendes Reservoir an potentiell nutzbaren Eigenschaften für die Menschheit dar. In NABObio wird die mikrobielle Biomasse mit den Methoden Substratinduzierte Respiration und Fumigation-Extraktion quantifiziert und die Aktivität anhand der Basalatmung gemessen. Ergänzt werden diese klassischen Methoden mit der sich rasch entwickelnden molekulargenetischen Analytik. Dabei wird die DNS-Menge extrahiert und die Zusammensetzung des Mikrobioms mittels Sequenzierung bestimmt (vgl. Kap.1.4). Zudem wird der pH-Wert, das C/N-Verhältnis und das Raumgewicht Feinerde gemessen. Die Parameter werden gemäss den Referenzmethoden der Eidg. Landw. Forschungsanstalten (FAL, FAW, RAC, 1998), die DNS-Menge wird mit der PicoGreen-Methode bestimmt (Tabelle 3).

Tabelle 3: Aufgenommene Parameter und Bestimmungsmethoden

Parameter	Bezeichnung	Einheit	Methode
Mikrobielle Biomasse Substratinduzierte Respiration	Biomasse (SIR)	mg C _{mik} kg ⁻¹ TS	B-BM-HM
Mikrobielle Biomasse Chloroform-Fumigations- Extraktionsmethode	Biomasse (FE)	mg C _{mik} kg ⁻¹ TS	B-BM-FE
Basalatmung	Basalatmung (BA)	mg CO ₂ -C kg ⁻¹ TS h ⁻¹	B-BA-IS
DNS-Menge	DNS-Menge	mg DNS kg ⁻¹ TS	PicoGreen
Mikrobielle Diversität	- α-Diversität - Gemeinschaftsstruktur		- Sequenzierung - Bioinformatik
pH-Wert	pH-Wert		pH CaCl ₂
C/N-Verhältnis	C/N		Trocken- veraschung
Raumgewicht Feinerde	RG FE	g cm ⁻³	
Wassergehalt Feinerde	WG FE	Gewichts-%	gravimetrisch
Bodentemperatur (-5 cm/-15 cm)	B.temp.	C°	
Lufttemperatur	L.temp	C°	

1.4 Ermittlung mikrobiologischer Gemeinschaften mit molekularen Methoden

Die Herausforderung mikrobielle Gemeinschaften zu erfassen, liegt einerseits in der enormen Diversität von Mikroorganismen und andererseits daran, dass ein Grossteil davon noch nicht beschrieben wurde (Hug et al. 2016). Zudem sind morphologische Untersuchungen von Mikroorganismen sehr aufwändig und können deshalb nicht für grossflächige Monitoringsysteme angewendet werden. Mit genetischen Methoden, dem sogenannten Metabarcoding, gibt es heute einen Ansatz, um diese Schwierigkeiten zu überbrücken und die mikrobielle Diversität im Boden detailliert zu untersuchen (Fierer, 2017).

Eine Übersicht des Ablaufs einer Metabarcodinganalyse und deren Vorbereitung ist in Abbildung 26 und Abbildung 27 dargestellt. Von einer repräsentativen, homogenisierten Bodenprobe wird ein halbes Gramm entnommen und die gesamte darin enthaltene DNS extrahiert. Die Gesamtheit des Erbguts, das von einer Umweltprobe extrahiert wurde, wird als Metagenom bezeichnet und kann gefroren archiviert werden. Um die DNS möglichst vollumfänglich von der Bodenprobe zu extrahieren, wird der Extraktionsschritt dreimal wiederholt (Bürgmann et al. 2001). Die DNS Menge wird bestimmt und kann als Mass der vorhandenen Biomasse benutzt werden (Dequiedt et al. 2011). Danach wird aus dem extrahierten Metagenom ein zur Identifikation geeigneter Genomabschnitt isoliert. Dafür bedient man sich der Polymerase-Kettenreaktion (PCR, engl. polymerase chain reaction), mit der bestimmte DNS Abschnitte, sogenannte DNS Barcodes, der Zielorganismen vermehrt und isoliert werden. Die isolierten DNS Barcodes werden dann mittels Hochleistungssequenziergeräten (HTS, engl. high-throughput sequencing) sequenziert und nach einer bioinformatischen Aufarbeitung der Sequenzen können die Organismengemeinschaften und deren Strukturen rekonstruiert werden (Frey et al. 2016). Dazu werden Sequenzen, die zu 97% übereinstimmen, in technische taxonomische Einheiten (OTU, engl. operational taxonomic units) gruppiert. OTUs sind Annäherungen an Arten, da Organismen einer Art sehr ähnliche DNS Sequenzen besitzen.

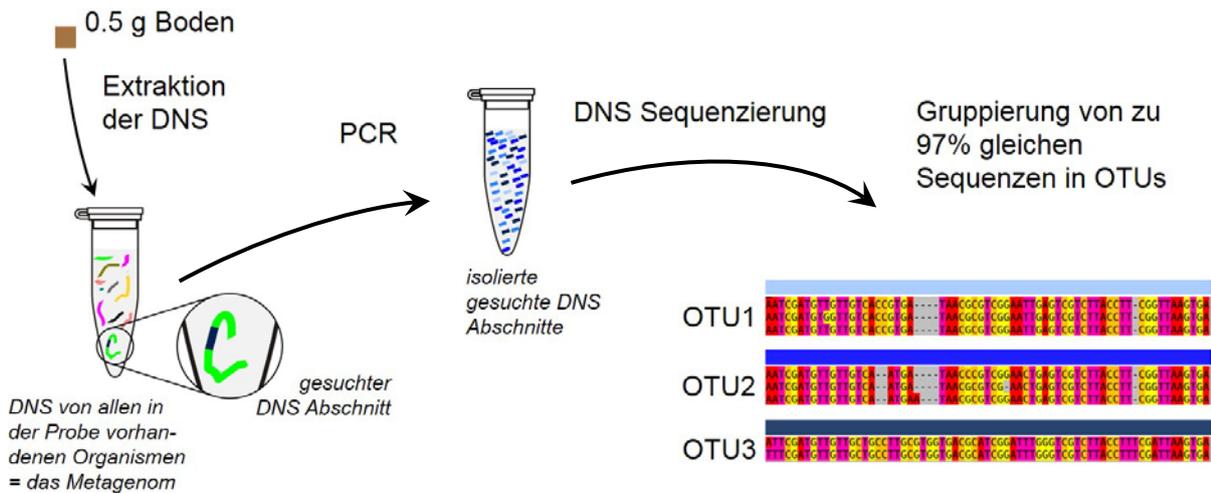


Abbildung 26: Vorgang der DNS-Extraktion und Sequenzierung. (PCR: Polymerase-Kettenreaktion)

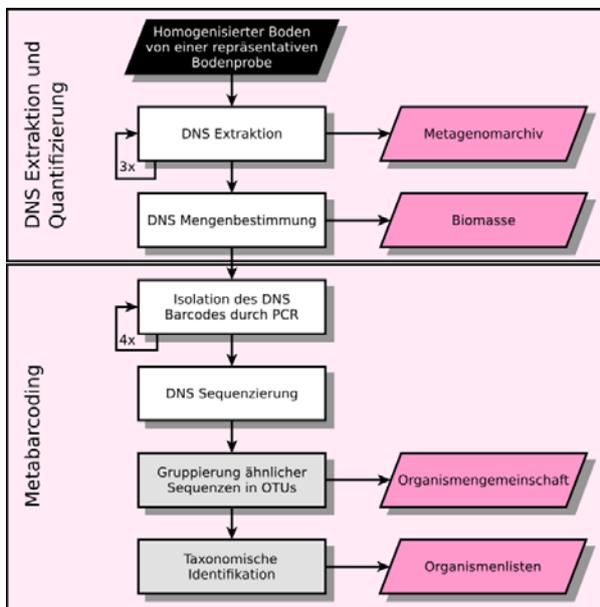


Abbildung 27: Ablauf der Metabarcodinganalyse. Schwarz: Ausgangsmaterial, weiss: Arbeitsschritte im Labor, grau: bioinformatische Arbeitsschritte, pink: Ergebnisse.

1.5 Metadaten

Neben den physikalischen und chemischen Bodeneigenschaften bestimmen sowohl die Bewirtschaftung als auch das Klima Vorkommen und Aktivität von Bodenorganismen (Giacometti et al., 2013; Hartmann et al., 2015). Der Einfluss der Nutzung wird zudem vom standorttypischen Klima überprägt. Braman et al. (2016) haben die jahreszeitliche Dynamik der Biomasse mit biologischen und konventionellen Systemen verglichen und dabei festgestellt, dass sich bodenbiologische Parameter nach einer Trockenperiode bei biologisch bewirtschafteten Systemen schneller erholen konnten. Dequiedt et al. (2011) haben im Rahmen des französischen Bodenmonitorings gezeigt, dass sowohl die Menge als auch die Zusammensetzung der mikrobiellen Biomasse vor allem durch lokale Parameter wie Bodenart und Nutzung geprägt wird. Das grossräumige Klima oder die Landschaftstypologie spielt dabei eine untergeordnete Rolle.

1.5.1 Bewirtschaftungsdaten

Im Rahmen des Moduls NABO Flux werden seit 1985 jährlich die Bewirtschaftungsdaten auf ausgewählten, landwirtschaftlich genutzten NABO-Parzellen erhoben (Keller et al., 2005; Franzen et al., 2018). Für 9 von 10 NABObio-Acker bzw. für 7 von 10 NABObio-Graslandstandorte bestehen 30-jährige Zeitreihen mit Detailangaben zur Düngepraxis (Mineral- und Hofdünger, Düngeintensität), zur Anwendung von Pflanzenschutzmitteln und zur Fruchtfolge (vgl. Tabelle 4). Diese Informationen liefern bei der Interpretation von Veränderungen bodenbiologischer Parameter wichtige Hinweise.

1.5.2 Klimadaten

Basierend auf den gegitterten Temperatur- und Niederschlagsdaten von Meteoschweiz wurden für jeden der 30 NABObio-Standorte Zeitreihen bis 2011 zusammengestellt (Frei, 2013; Frei & Schär, 1998; Meteo-Schweiz 2012).

Tabelle 4: Fruchtfolgen der NABObio Ackerstandorte. Standort 63 wird seit 2017 nicht mehr beprobt.

StaoNr	2012 zur PN	Kultur 2012	2013 zur PN	Kultur 2013	2014 zur PN	Kultur 2014	2015 zur PN	Kultur 2015	2016 zur PN	Kultur 2016	2017 zur PN	Kultur 2017
25	Kunstwiese	Kunstwiese	Kunstwiese	Kunstwiese	gepflügt	Zuckerrüben	brach, gepflügt		Winterweizen		Kunstwiese	
28	gepflügt	Zuckerrüben	brach, gegrubbert	Konserbenerbsen	Raps		Weizen	Wintergerste	Grüddüngung Phazelia mit Gerstendurchwuchs		Weizen	
46	Raps	Raps	Winterweizen	Winterweizen	Grüddüngung	Zuckerrüben	gepflügt		Gerste		Kunstwiese (Sommer 16 angelegt)	
54	Grüddüngung abgefrohren	Zuckerrüben	Winterweizen	Winterweizen	gepflügt	Kartoffeln	Wintergerste		Grüddüngung (Phazelia) abgefroren	Zuckerrüben	brach	Silomais
63	Kunstwiese	Winterweizen	Kunstwiese	Winterweizen	Winterweizen		Raps		Winterweizen			
68	Winterweizen	Winterweizen	Raps	Raps	Winterweizen	Winterweizen	Wintergerste	Industriebohnen	brach	Zuckerrüben	Winterweizen	
77	Kunstwiese	Kunstwiese	Kunstwiese	Silomais	Winterweizen	Winterweizen	Winterweizen		Winterweizen		Kunstwiese	
87	Kunstwiese	Kunstwiese	Kunstwiese	Mais	Winterweizen		Kunstwiese		Kunstwiese		Winterweizen	
95	brach	Zuckerrüben	brach	Silomais	Winterweizen	Winterweizen	Kunstwiese		brach		gepflügt	
102	Grüddüngung	Zuckerrüben	Winterweizen	Winterweizen	Grüddüngung	Silomais	gepflügt	Silomais	brach, Maisstoppeln		Winterweizen	

2 Daten NABObio 2012 – 2016

Tabelle 5: Minima, Mediane und Maxima der gemessenen Parameter

	pH		Org.		C.N		BA		SIR		FE C		DNA		qCC		qCO2		qCCb		qCO2b												
Acker	5.6	6.7	7.5	1.1	1.9	3.4	6.7	9.0	11.2	0.3	0.7	1.6	271.3	559.9	1322.5	229.9	595.1	1247.0	12.3	19.2	41.7	18.1	28.1	43.5	0.8	1.2	1.5	21.0	28.4	39.3	0.7	1.2	1.7
Grasland	3.8	5.3	6.3	2.6	3.8	7.0	7.4	9.2	12.5	0.8	1.2	1.9	625.6	1053.6	1716.1	986.4	1433.2	2521.5	18.0	39.8	69.8	10.7	28.8	39.7	0.7	1.1	2.6	26.8	39.0	51.5	0.6	0.8	1.1
Wald	3.3	4.5	6.9	2.4	5.0	18.3	11.3	16.8	27.5	0.5	1.9	6.0				563.6	1882.8	7727.3	15.0	43.6	126.9							11.9	33.5	132.9	0.2	1.1	3.3

3 Verzeichnisse

3.1 Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Organischer Kohlenstoffgehalt (%) der Acker- (rot), Gras- (grün) und Waldstandorte (blau) über die Jahre 2012 bis 2016; n=150, 30 Standorte à 5 Jahresmittelwerte = 150. Boxplot mit Medianen, Box enthält 50% der Werte; y-Achse log-transformiert. 15
- Abbildung 2: C/N-Verhältnisse der Nutzungskategorien Acker (rot), Grasland (grün) und Wald (blau) über die Jahre 2012 bis 2016; n=150, 30 Standorte à 5 Jahresmittelwerte = 150. Boxplot mit Medianen, Box enthält 50% der Werte; y-Achse log-transformiert. 16
- Abbildung 3: Basalatmung der Nutzungskategorien Acker (rot), Grasland (grün) und Wald (blau) über die Jahre 2012 bis 2016; n=150, 30 Standorte à 5 Jahresmittelwerte = 150. Boxplot mit Medianen, Box enthält 50% der Werte; y-Achse log-transformiert. 16
- Abbildung 4: Mikrobielle Biomasse (FE-C) der Nutzungskategorien Acker (rot), Grasland (grün) und Wald (blau) über die Jahre 2012 bis 2016; n=150, 30 Standorte à 5 Jahresmittelwerte = 150. Boxplot mit Medianen, Box enthält 50% der Werte; y-Achse log-transformiert. 16
- Abbildung 5: Mikrobielle Biomasse (SIR) der Nutzungskategorien Acker (rot) und Grasland (grün) über die Jahre 2012 bis 2016; n=100, 20 Standorte à 5 Jahresmittelwerte = 100. Boxplot mit Medianen, Box enthält 50% der Werte; y-Achse log-transformiert. 17
- Abbildung 6: DNS-Mengen der Nutzungskategorien Acker, Grasland und Wald über die Jahre 2012 bis 2016; n=150, 30 Standorte à 5 Jahresmittelwerte = 150. Boxplot mit Medianen, Box enthält 50% der Werte; y-Achse log-transformiert. 17
- Abbildung 7: Streudiagramme und Korrelationen (robust nach Spearman; *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001) zwischen den NABObio-Standorten für mikrobiologische Parameter, Boden- und Standorteigenschaften. Farbe der Quadrate: violett = positive Korrelationen, orange = negative Korrelationen, grau = keine bzw. sehr geringe Korrelationen. Je intensiver der Farbton, desto höher ist r. Pro Messgröße ist jeweils der Mittelwert 2012-2016 pro Standort dargestellt. Die Farben der Kreise zeigen die Landnutzung: rot: Acker; grün: Grasland. 18
- Abbildung 8: Veränderung der Biomasse FE-C, der DNS-Menge, der Biomasse SIR und der Basalatmung (inkl. Vertrauensintervall) 2012 - 2016 pro Landnutzung, geschätzt mit gemischtem Modell. Rot: Acker, grün: Grasland, blau: Wald. Erkennbar ist, ob die Messungen von einzelnen Jahren signifikant vom Jahr 2012 abweichen. Eine signifikante Veränderung besteht, wenn das entsprechende Vertrauensintervall nicht den Wert 0.0 einschliesst (Jahr 2012). 19
- Abbildung 9: Streudiagramme und Korrelationen (robust nach Spearman; *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001) der Veränderungen zwischen den Jahren an je 10 Acker- (rot) und Graslandstandorten (grün) für Biomasse FE-C und SIR, die DNS-Menge, die Basalatmung (BA) sowie den Quotienten BA/FE-C (qCO₂, metabolischer Quotient). Die Daten wurden jeweils zentriert auf den Standort-Mittelwert der Jahre 12-16. Für FE-C, SIR, DNS und BA wurden die Daten log-transformiert, d. h. die dargestellten Abweichungen entsprechen relativen Abweichungen der Original-Daten. 21
- Abbildung 10: OTU Reichtum der Bakterien (links) und Pilze (rechts) der NABObio-Standorte. 23
- Abbildung 11: Ordinationen der Vergleiche von bakteriellen (links) und pilzlichen (rechts) Gemeinschaftsstrukturen. Jeder Punkt stellt eine ‚mittlere‘ Gemeinschaftsstruktur eines NABObio-Standorts dar, die Farbe gibt den jeweiligen Nutzungstyp an. Je näher sich zwei Punkte sind, desto ähnlicher sind die Gemeinschaftsstrukturen der Standorte. 24
- Abbildung 12: Camarophyllopsis schulzeri, kritisch gefährdete Art der roten Liste. Foto: Jonas Braennhage, www.swissfungi.ch. 25
- Abbildung 13: Streudiagramme und Korrelationen (robust nach Spearman; *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001) der Veränderungen zwischen den Jahren für bodenbiologische Parameter und den meteorologischen Bedingungen vor den Probenahmen für Acker- und Graslandstandorten. FE-C: Biomasse FE, SIR: Biomasse SIR, BA: Basalatmung, qCO₂: metabolischer Quotient, Datum: Zeitpunkt (Tag) der Probenahme, NS -5 und NS -60: Niederschlagssumme während 5 bzw. 60 Tage vor der Probenahme; T -5 und T -60: Durchschnittstemperatur während 5 bzw. 60 Tage vor der Probenahme. Violett-Töne: positive Korrelation, Orange-Töne: negative Korrelation. Je intensiver der Farbton, desto höher ist der Koeffizient. Verwendet wurden zentrierte Werte. Rot eingefärbt sind die Werte des Jahres 2014. 27
- Abbildung 14: Streudiagramme und Korrelationen (robust nach Spearman; *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001) der Veränderungen zwischen den Jahren für bodenbiologische Parameter und ausgewählten

Bodeneigenschaften für Acker- und Graslandstandorten. FE-C: Biomasse FE, SIR: Biomasse SIR, BA: Basalatmung, qCO₂: metabolischer Quotient, qCC: Verhältnis C_{mik}/C_{org}, RG: Raumgewicht, WG: gravimetrischer Wassergehalt, Violett-Töne: positive Korrelation, Orange-Töne: negative Korrelation. Je intensiver der Farbton, desto höher ist der Koeffizient. Verwendet wurden zentrierte Werte. Rot eingefärbt sind die Werte des Jahres 2014. 28

Abbildung 15: Verhältnis vom mikrobiell gebundenem zum organischen Kohlenstoff (C_{mik}/C_{org}; mg C_{mik} g⁻¹ C_{org}) der NABObio-Ackerstandorte. Probenahmen, bei denen die Standorte als Kunstwiese genutzt wurden, sind mit einem grünen Stern gekennzeichnet. 29

Abbildung 16: Verhältnis von mikrobiell gebundenem Kohlenstoff zu organischem Kohlenstoff (C_{mik}/C_{org}) der NABObio - Graslandstandorte. 29

Abbildung 17: Zeitliche Verläufe 2012-2015 der Referenzproben für Acker- und Graslandstandorte, Mittelwerte jeweils mit 95 %-Vertrauensintervall. 31

Abbildung 18: Multifunktionalität und unterschiedliche Funktionserfüllungsgrade von zwei verschiedenen Böden: Bodenorganismen sind von zentraler Bedeutung für die meisten Funktionen des Bodens: Produktions (P)-, Regulierungs (R)- und Habitatfunktionen (H) (Greiner et al. 2017 Faktenblatt). 34

Abbildung 19: Gemessene mikrobielle Biomassegehalte (SIR) und entsprechende Erwartungswerte (BM SIR berechnet) für die Jahre 2012-2016 der NABObio-Ackerstandorte. Beurteilung der Ergebnisse: «sehr hoch»= obere Grenze des 95 % Erwartungsbereiches, «hoch» = obere Grenze des 67 % Erwartungsbereiches, «tief» = untere Grenze des 67 % Erwartungsbereiches, «sehr tief» = untere Grenze des 95 % Erwartungsbereiches. Anzahl Standorte: 10, mit je fünf jährlichen Erhebungen. 36

Abbildung 20: Beurteilung der Biomasse FE-Gehalte von 2012 – 2016 der NABObio-Ackerstandorte basierend auf berechneten standorttypischen Werten. 37

Abbildung 21: Beurteilung der Basalatmung von 2012 – 2016 der NABObio-Ackerstandorte basierend auf berechneten standorttypischen Werten. 38

Abbildung 22: Metabolischer Quotient (BA/BM FE) der Nutzungskategorien Acker (rot), Grasland (grün) und Wald (blau) über die Jahre 2012 bis 2016 (y-Achse log-transformiert). 38

Abbildung 23: Ausgewählte NABO Standorte für das bodenbiologische Monitoring (als Rhomben dargestellt). 42

Abbildung 24: Charakterisierung der 105 NABO-Standorte anhand von Standorteigenschaften. Farben zeigen Nutzungskategorien: Grasland (grün), Acker (rot), Wald (blau), Spezialkulturen (schwarz). (Hauptkomponentenanalyse mit pH, OC, C_{tot}, N_{tot}, CN, Ton, Schluff, Sand, durchschnittlicher Jahresniederschlag, Temperatur und Höhe). 43

Abbildung 25: NABObio-Standorte dargestellt im Standortkollektiv des NABO-Referenzmessnetzes. Farben zeigen Nutzungskategorien: Grasland (grün), Acker (rot), Wald (blau). 44

Abbildung 26: Vorgang der DNS-Extraktion und Sequenzierung. (PCR: Polymerase-Kettenreaktion) 46

Abbildung 27: Ablauf der Metabarcodinganalyse. Schwarz: Ausgangsmaterial, weiss: Arbeitsschritte im Labor, grau: bioinformatische Arbeitsschritte, pink: Ergebnisse. 46

3.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Überblick über die durch Metabarcoding erhaltenen Daten von NABObio (30 Standorte * 5 Beprobungen (2012-2016) * 3 Replikate = 450 Proben). 23

Tabelle 2: Einfluss des Standorts und des Beprobungsjahres auf bakterielle und pilzliche Gemeinschaftsstrukturen der NABObio-Standorte. Resultate von PERMANOVA Tests (nicht parametrische ANOVA). 24

Tabelle 3: Aufgenommene Parameter und Bestimmungsmethoden 45

Tabelle 4: Fruchtfolgen der NABObio Ackerstandorte. Standort 63 wird seit 2017 nicht mehr beprobt. 48

Tabelle 5: Minima, Mediane und Maxima der gemessenen Parameter 49

3.3 Literaturverzeichnis

- Aksoy, E., Louwagie, G., Gardi, C., Gregor, M., Schröder, C., Löhnertz, M., 2017. Assessing soil biodiversity potentials in Europe. *Sci. Total Environ.* 589, 236–249.
- Anderson, T.-H., Domsch, K.H., 2010. Soil microbial biomass: The eco-physiological approach. *Soil Biol. Biochem* 42: 2039-2043.

- BAFU, 2011. Liste der National Prioritären Arten. Arten mit nationaler Priorität für die Erhaltung und Förderung, Stand 2010. Bundesamt für Umwelt, Bern. Umwelt-Vollzug 1103.
- Blume, H.P., Stahr, K., Leinweber, P., 2011. Bodenkundliches Praktikum: Eine Einführung in pedologisches Arbeiten für Ökologen, Land- und Forstwirte, Geo- und Umweltwissenschaftler. Springer Verlag, 255 S.
- Braman, S., Tenuta, M., Entz, M.H., 2016. Selected soil biological parameters measured in the 19th year of a long term organic-conventional comparison study in Canada. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 233 (2016) 343–351.
- Bühler, C., Dubey, S., 2017. Application de la génétique de la conservation dans les bureaux d'études en écologie. *WSL Berichte*. 60: 77–82.
- Cohen, J., 1988. *Statistical power analysis for the behavioral sciences*. Hillsdale: Erlbaum.
- Fliessbach, A., Oberholzer, H., Gunst, L., Mäder, P., 2007. Soil organic matter and biological soil quality indicators after 21 years of organic and conventional farming. *Agric. Ecosyst. Environ.* 118, 273–284.
- Frei, C., Schär, C., 1998. A precipitation climatology of the Alps from high-resolution rain-gauge observations. *Int. J. Climatol.*, 18, 873-900.
- Frei, C., 2013. Interpolation of temperature in a mountainous region using non-linear profiles and non-Euclidean distances. *Int. J. Climatol.*, 34, 1585-1605. doi: 10.1002/joc.3786.
- Giacometti, C., Scott D., M., Cavani, L., Marzadori, C., Ciavatta, C., Kandeler, E., 2013. Chemical and microbiological soil quality indicators and their potential to differentiate fertilization regimes in temperate agroecosystems. *Applied Soil Ecology* 64 (2013) 32–48.
- Greiner, L., Keller, A., Grêt-Regamey, A., Papritz, A., 2017. Soil function assessment: review of methods for quantifying the contributions of soils to ecosystem services. *Land use policy* 69, 224–237.
- Greiner, L. und Keller, A., 2017. Bodenfunktionsbewertung und Bodenindexpunkte. Konzept und Wege zur Umsetzung. Report for the Federal Office of Spatial Development (ARE).
- Griffiths, B.S., Philippot, L., 2012. Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community. *FEMS Microbiol Rev* 37 (2013) 112–129.
- Griffiths, R. I., Thomson, B. C., Plassart, P., Gweon, H. S., Stone, D., Creamer, R. E., Bailey, M. J., 2016. Mapping and validating predictions of soil bacterial biodiversity using European and national scale datasets. *Applied Soil Ecology*, 97, 61-68.
- Hänfling, B., Lawson Handley, L., Read, D.S., Hahn, C., Li, J., Nichols, P., Blackman, R.C., Oliver, A., Winfield, I.J., 2016. Environmental DNA metabarcoding of lake fish communities reflects long-term data from established survey methods. *Molecular Ecology* 25, 3101-3119.
- Hartmann, M., Frey, B., Mayer, J., Mäder, P., Widmer, F., 2015. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. *The ISME Journal* (2015) 9, 1177–1194.
- Hawksworth, D., Lücking, R., 2017. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species, p 79-95. In Heitman, J., Howlett, B., Crous, P., Stukenbrock, E., James, T, Gow N (ed), *The Fungal Kingdom*. ASM Press, Washington, DC. doi: 10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016.
- Hebert, P.D., Cywinska, A., Ball, S.L., deWaard, J.R., 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 270, 313-321.
- Heinze, S., Raupp, J., Joergensen, R.G., 2010. Effects of fertilizer and spatial heterogeneity in soil pH on microbial biomass indices in a long-term field trial of organic agriculture. *Plant Soil* 328: 203-215.

- Horrigue, W., Dequiedt, S., Prévost-Bouré, N.C., Jolivet, C., Saby, N.P.A., Arrouays, D., Bispo, A., Maron, P.-A., Ranjard, L., 2016. Predictive model of soil molecular microbial biomass. *Ecological Indicators* 64 (2016) 203–211.
- Jäggi, F., Peyer, K., Pazeller, A., Schwab, P., 1998. Grundlagenbericht zur Bodenkartierung des Kantons Zürich. Landwirtschaftsareal.: Volkswirtschaftsdirektion des Kantons Zürich, Eidgenössische Forschungsanstalt für Agrarökologie und Landbau.
- Keller, A., Rossier, N., Desaules, A., 2005. Schwermetallbilanzen von Landwirtschaftsparzellen der Nationalen Bodenbeobachtung vol 54, Zurich.
- Franzen, J., Müller, M., Keller, A., 2018. Stoffbilanzen für Parzellen der Nationalen Bodenbeobachtung: Nähr- und Schadstoffe 1985 - 2014 (Mass balances for sites of the Swiss Soil Monitoring System: nutrients and pollutants 1985-2014) (in prep.), Zurich.
- Köljalg, U., Nilsson, R.H., Abarenkov, K., Tedersoo, L., Taylor, A.F.S, Bahram, M., Bates, S.T., Bruns, T.D., Bengtsson-Palme, J., Callaghan, T.M., Douglas, B., Drenkhan, T., Eberhardt, U., Dueñas, M., Grebenc, T., Griffith, G.W., Hartmann, M., Kirk, P.M., Kohout, P., Larsson, E., Lindahl, B.D., Lücking, R., Martín, M.P., Matheny, P.B., Nguyen, N.H., Niskanen, T., Oja, J., Peay, K.G., Peintner, U., Peterson, M., Pöldmaa, K., Saag, L., Saar, I., Schüßler, A., Scott, J.A., Senés, C., Smith, M.E., Suija, A., Taylor, D.L., Telleria, M.T., Weiss, M., Larsson, K.-H. 2013. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi. *Molecular Ecology* 22, 5271-5277.
- Loreau, M., 2004. Does functional redundancy exist? *Oikos* 104: 606–611.
- Mäder, P., Fließbach, A., Dubois, D., Gunst, L., Fried, P., Niggli, U., 2002. Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science* 296: 1694-1697.
- Maron, P.-A., Mougél, C., Ranjard, L., 2011. Soil microbial diversity: Methodological strategy, spatial overview and functional interest. *C. R. Biologies* 334 (2011) 403–411.
- Mayerhofer, J., Eckard, S., Hartmann, M., Grabenweger, G., Widmer, F., Leuchtmann, A., Enkerli J., 2017. Assessing effects of the entomopathogenic fungus *Metarhizium brunneum* on soil microbial communities in *Agriotes* spp. biological pest control. *FEMS Microbiol Ecol.* 2017 Oct 1;93(10).
- MeteoSchweiz, 2012. Documentation of MeteoSwiss grid-data products: Daily mean, minimum and maximum temperature: TabsD, TminD, TmaxD. www.meteoschweiz.ch.
- Meuli, R.G., Schwab, P., Wächter, D., Ammann, S., 2014. Ergebnisse der Nationalen Bodenbeobachtung (NABO). Zustand und Entwicklung 1985–2004. Bundesamt für Umwelt (BAFU), Umwelt-Wissen Nr. 1409: 94 S.
- Mickan, B., Hart, M., Solaiman, Z. M., Jenkins, S., Siddique, K., Abbott, L., 2017. Molecular divergence of fungal communities in soil, roots and hyphae highlight the importance of sampling strategies. *Rhizosphere*. 4, 2017, Pages 104-111.
- Mösch, D., Hunziker, M., 2015. 10 Jahre Bodenmikrobiologie-Monitoring. Umwelt Aargau, Sondernummer 45, November 2015.
- Moll, J., Klingenfuss, F., Widmer, F., Gogos, A., Bucheli, T.D., Hartmann, M., van der Heijden, M.G.A., 2017. Effects of titanium dioxide nanoparticles on soil microbial communities and wheat biomass. *Soil Biology & Biochemistry* 111, 2017.
- Oberholzer, H.-R., Rek, J., Weisskopf, P., Walther, U., 1999. Evaluation of soil quality by means of microbiological parameters related to the characteristics of individual arable sites. *Agriological Research* 52 (2), 113–125.

- Oberholzer, H.-R., Scheid, S., 2007. Bodenmikrobiologische Kennwerte. Erfassung des Zustands landwirtschaftlicher Böden im NABO-Referenzmessnetz anhand biologischer Parameter (NABObio). Umwelt-Wissen Nr. 0723. Bundesamt für Umwelt, Bern. 76 S.
- Ottow, J.C.G., 2011. Mikrobiologie von Böden. Biodiversität, Ökophysiologie und Metagenomik. Springer Verlag Berlin Heidelberg. 485 S.
- Senn-Irlet, B., Bieri, G., Egli, S., 2007. Rote Liste der gefährdeten Grosspilze der Schweiz. Umwelt-Vollzug 0718.
- Senn-Irlet, B., Gross, A., Blaser, S., 2016. SwissFungi: Nationales Daten- und Informationszentrum der Schweizer Pilze [Datenbank]. Version 2. Birmensdorf, Eidg. Forschungsanstalt WSL. [Abrufdatum 20.10.2016]. Online unter: <http://www.swissfungi.ch>.
- Siemer, B., Hinrichs, U., Penndorf, O., Pohl, M., Schürer, S., Schulze, P., Seiffert, S., 2014. Bodenbewertungsinstrument Sachsen.
- Taberlet, P., Coissac, E., Pompanon, F., Brochmann, C., Willerslev, E., 2012. Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. *Molecular Ecology* 21, 2045-2050.
- VBB, 2009. Arbeitsgruppe Vollzug Bodenbiologie VBB/BSA, 2009: Arbeitshilfe zur Anwendung und Interpretation bodenbiologischer Parameter. Frick.
- VBBö, 1998. Verordnung über Belastungen des Bodens (VBBö) vom 1. Juli 1998, Stand 12.04.2016, SR 814.12.
- VSBo, 1986. Verordnung vom 9. Juni 1986 über Schadstoffe im Boden. SR 814.12. (aufgehoben).
- Wagg, C., Bender, S.F., Widmer, F., van der Heijden, M., 2014. Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. *PNAS*, 111, (14), 2014, 5266-5270.
- Wood, M., 2013. *Environmental Soil Biology (Experimental and Clinical Neuroscience)*. Springer, 2nd Edition, 2013.