



## Biologische Bodeneigenschaften: Recherche zum Stand der Technik zu Bestimmungsmethoden und Geräten – Teil Bodenfauna.

### KOBO-Bericht Nr. 2

Sophie Campiche  
EnviBioSoil  
Lausanne

EnviBioSoil  
Beratung und Expertise in Bodenbiologie und Bodenökotoxikologie  
Rue des Cerisiers 6, CH-1124 Gollion

Mai 2021

## Impressum

**Autorin:** Dr. Sophie Campiche, EnviBioSoil – Expertise et Conseil, Lausanne

**Erscheinungsjahr:** 2022

**Herausgeber:** Kompetenzzentrum Boden (KOBO), ccsols.ch.  
Das KOBO arbeitet im Auftrag der drei Bundesämter BAFU (Bundesamt für Umwelt), BLW (Bundesamt für Landwirtschaft) und ARE (Bundesamt für Raumentwicklung) und ist an der Hochschule für Agrar-, Forst- und Lebensmittelwissenschaften (HAFL) der Berner Fachhochschule (BFH) in Zollikofen angesiedelt.

**Projektleitung:** Sandra Racine und Dr. Armin Keller, KOBO

**Layout:** Magma Branding, Sandrainstrasse 3, 3007 Bern, magma-branding.ch

**Übersetzung:** Marion Wallner und Dominik Zahner, KOBO

**Empfohlene Zitierweise:** Campiche S., Biologische Bodeneigenschaften – Recherche zum Stand der Technik von Methoden und Geräten zur Bestimmung: Teil Bodenfauna, KOBO-Bericht Nr. 2, HAFL, CH-3052 Zollikofen-Bern, verfügbar unter ccsols.ch.

**Hinweis:** Dieser Bericht wurde im Auftrag des KOBO verfasst. Für den Inhalt sind allein die Autoren verantwortlich.

**Copyright:** Gemäss untenstehendem Creative Commons-Lizenzsymbol ist die nicht-kommerzielle Vervielfältigung erwünscht, jedoch mit Quellenangabe und einem Belegexemplar an den Herausgeber. Die Weitergabe erfolgt nur unter gleichen Lizenzbedingungen.



# Inhaltsverzeichnis

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Zusammenfassung</b>  | <b>5</b>  |
| <b>1. Einführung und Ausgangslage</b>   | <b>6</b>  |
| <b>2. Methodik</b>  | <b>7</b>  |
| 2.1 Fokus der Studie  | 7         |
| 2.2 Kriterien für die Bewertung biologischer Parameter<br>und deren Bestimmungsmethoden | 9         |
| 2.3 Verwendete Literatur und Hintergrundinformationen                                   | 10        |
| 2.4 Vergleichstabellen für biologische Parameter  | 10        |
| <b>3. Resultate</b>   | <b>11</b> |
| 3.1 Biologische Parameter weltweit  | 11        |
| 3.2 Regenwürmer   | 16        |
| 3.3 Mikroarthropoden (Springschwänze und Milben)  | 25        |
| 3.4 Nematoden   | 31        |
| 3.5 Protisten   | 42        |
| 3.6 Funktionelle Methoden   | 46        |
| 3.7 Vergleich der biologischen Parameter  | 53        |
| <b>4. Diskussion und Schlussfolgerung</b>   | <b>55</b> |
| 4.1 Regenwürmer   | 56        |
| 4.2 Mikroarthropoden  | 63        |
| 4.3 Nematoden   | 66        |
| 4.4 Protisten   | 71        |
| 4.5 Funktionelle Methoden   | 74        |
| 4.6 Schlussfolgerungen und allgemeine Empfehlungen                                      | 76        |
| <b>7. Referenzen</b>  | <b>82</b> |
| <b>8. Anhang</b>  | <b>90</b> |
| 8.1 Vergleichstabelle zu bodenbiologischen Parametern und deren Bestimmungsmethoden     | 90        |
| 8.2 Liste zu Material und Kosten  | 90        |
| 8.3 Geführte Interviews   | 96        |

## Vorwort



Das primäre Ziel von Bodenkartierungen war bis anhin, die Eignung unserer Böden für die landwirtschaftliche Produktion bewerten zu können. Künftig wollen wir auch den Ansprüchen weiterer Nutzer von Bodeninformationen Rechnung tragen. Hierzu zählen unter anderem die Raumplanung, der Klima-, Hochwasser- und Bodenschutz, der Naturschutz, die Forstwirtschaft sowie die Biodiversität. Dies stellt neue Ansprüche an die zu erhebenden Bodeneigenschaften – und Kennwerte in einer Bodenkartierung.

Doch dem Bedarf an umfangreichen Bodeninformationen stehen in der Regel Kosten für die Feldarbeit und für die Analysen von Bodeneigenschaften gegenüber. Die Entwicklung von effizienten und kostengünstigen Bestimmungsmethoden von chemischen, physikalischen und biologischen Bodeneigenschaften ist daher für eine zukünftige Bodenkartierung essenziell.

Derzeit werden biologische Bodeneigenschaften im Rahmen von Bodenkartierung in der Regel nicht erhoben und in Monitoring- und Forschungsprogrammen im Vergleich zu physikalischen und chemischen Eigenschaften nur in einem relativ kleinen Umfang. Die meisten Prozesse und Funktionen des Bodens sind jedoch sehr eng mit den Bodenlebewesen, ihrer Häufigkeit, Zusammensetzung und Aktivität verknüpft. Um die wertvollen Ökosystemdienstleistungen des Bodens bestimmen und schützen zu können, ist es daher unerlässlich, zukünftig die Erhebung von bodenbiologischen Eigenschaften in Bodenkartierungen zu integrieren.

In diesem Sinne bildet die vorliegende Recherche zu Bestimmungsmethoden von bodenbiologischen Eigenschaften eine wichtige Grundlage. Der Bericht richtet sich primär an kantonale Fachämter und Labore, soll aber auch den Hochschulen, Forschungsinstitutionen und Ingenieurbüros für ihre Arbeit dienen.

Ich danke der Autorin Dr. Sophie Campiche für diese gelungene Arbeit und hoffe sie unterstützt viele Akteure bei der Weiterentwicklung der Gewinnung von Bodeninformationen.

Dr. Armin Keller  
Leiter KOBO

# Zusammenfassung

Das Kompetenzzentrum Boden (KOBO) koordiniert und standardisiert Methoden und Instrumente für die Erhebung, Bewertung und Bereitstellung von Bodeninformationen in der Schweiz. In diesem Kontext stehen Bestimmungsmethoden zur Umsetzung von Bodenkartierungen im Fokus und die damit verbundenen Kosten und Aufwände. Bisher wurden biologische Parameter verglichen mit physikalisch-chemischen Eigenschaften wenig in die Bodenkartierung einbezogen. Das Ziel dieser Recherche war es deshalb, den Informationsbedarf an biologischen Bodeneigenschaften zu ermitteln und eine Zusammenstellung von biologischen Parametern als Grundlage für eine schweizweite Bodenkartierung zu erstellen. Dieser Bericht konzentriert sich auf die Bodenfauna und insbesondere auf die endogäischen Invertebraten als biologische Parameter für Böden.

In einem ersten Schritt wurde eine Literaturübersicht über den Stand der Technik von national und international angewandten Bestimmungsmethoden zu biologischen Bodeneigenschaften erstellt. Mehrere nationale und internationale Monitoring- und Forschungsprogramme verwenden biologische Parameter. Regenwürmer, gefolgt von Mikroarthropoden (hauptsächlich Springschwänze und Milben) und Nematoden gehören zu den am häufigsten verwendeten biologischen Parametern. Unterschiede in den Bestimmungsmethoden betreffen meist die Phase der Extraktion der Bodenorganismen. In der Regel gibt es für jeden biologischen Parameter einen ISO-Standard, vor allem für Methoden, die eine morphologische Analyse der Organismen durchführen. Diese ISO-Normen schlagen eine allgemeine Referenzmethode vor und listen alternative, häufig angewandte Methoden auf. Die Identifizierung von Bodenorganismen erfolgt vorwiegend durch morphologische Analysen. Molekulare Analysen mittels DNA-Sequenzierung werden jedoch immer häufiger, insbesondere bei der Mikrofauna (Protisten und Nematoden). Bei Mikroarthropoden und Regenwürmern ist sie ebenfalls in Entwicklung.

In einem zweiten Schritt wurde die Relevanz der herangezogenen biologischen Parameter und Methoden bewertet und deren Umsetzbarkeit für eine schweizweite Bodenkartierung bewertet. Hierfür wurden Regenwürmer, Mikroarthropoden, Nematoden und Protisten sowie funktionelle Methoden betrachtet. Es wurden drei Proben-Verarbeitungs-Szenarien berücksichtigt: 100, 500 und 1000 Proben pro Woche. Daraus ging hervor, dass biologische Parameter in ihrer Bestimmung generell zeitaufwändig sind und eine Anzahl von maximal 100 Proben pro Woche realistisch scheint. Insbesondere für morphologische Analysen gibt es bis heute keine praktikable Lösung, um grosse Probenvolumen rasch zu bewältigen. Molekulare Analysen erweisen sich in der Regel als besser geeignet für grosse Mengen an Analysen.

Abschliessend empfiehlt der Bericht konkrete Bestimmungsmethoden für eine Bodenkartierung. Mischproben aus Bohrungen eignen sich vor allem, um Bestimmungen von Protisten und Nematoden durchzuführen. Diese lassen sich mit der Bodenprobenahme für mikrobiologische Parameter wie Bakterien und Pilze oder bestimmte physikalisch-chemische Parameter kombinieren. Andere biologische Parameter wie Regenwürmer, Mikroarthropoden und funktionelle Methoden werden nur bei Profilgruben als praktikabel erachtet.

**Hinweis:** Dieser Bericht gibt den Stand der Technik der Methoden zur Bestimmung von Bodenfauna-Charakteristika im Frühjahr 2021 wieder. Die Preise und insbesondere die molekularen Methoden können sich seitdem geändert haben.

# 1. Einführung und Ausgangslage

Das Kompetenzzentrum Boden (KOBO) ist der Berner Fachhochschule (HAFL) angegliedert und hat das zentrale Anliegen, die Erhebungs- und Analysemethoden von Bodeneigenschaften zu vereinheitlichen. Dies ist notwendig, um eine national einheitliche, flächendeckende Bodenkartierung durchführen zu können und dabei Eigenschaften und Qualität der Böden zu erheben.

In diesem Kontext gilt es festzustellen, welche Bestimmungsmethoden es zur Umsetzung einer flächendeckenden Bodenkartierung gibt und mit welchen Kosten und Aufwänden die bodenkundlichen Erhebungen verbunden sind. Dabei werden sämtliche Schritte von der Probenahme und der Aufbereitung bis hin zur eigentlichen Messung untersucht. Bisher wurden biologische Parameter im Vergleich zu den physikalisch-chemischen Eigenschaften noch wenig in die Bodenkartierung einbezogen. Es besteht jedoch eine wachsende Nachfrage nach ihrer Integration (Keller und Racine, 2019).

Bestimmungsmethoden sollten zuverlässige und reproduzierbare Informationen liefern, gleichzeitig kostengünstig sein und nur einen geringen Arbeitsaufwand für ihre Durchführung erfordern. Die Auswahl der biologischen Eigenschaften und der Methoden hängt davon ab, wie viele Proben pro Zeiteinheit verarbeitet werden sollen. Es müssen daher verschiedene Szenarien hinsichtlich wöchentlicher Probenahmekapazität und Durchführung bewertet werden. Ebenso müssen verschiedene hierarchische Ebenen (Referenzprofile, Profil und Bohrung) bei der Kartierung zur Untersuchung der Bodeneigenschaften in Betracht gezogen werden (Keller und Racine, 2019).

Das Ziel dieser Forschungsarbeit ist es, den Informationsbedarf bezüglich biologischer Bodeneigenschaften zu ermitteln und eine Liste biologischer Parameter zu erstellen, die für die Planung der schweizweiten Bodenkartierung von Interesse sind. Im ersten Teil dieser Arbeit wurde eine Recherche zum Stand der Technik von national

und international angewandten Bestimmungsmethoden zu biologischen Parametern durchgeführt. Anschliessend wurde bewertet, wie gut sich die betrachteten biologischen Parameter und deren Bestimmungsmethoden für eine flächenhafte Bodenkartierung eignen (Praktikabilität, Aufwand, Kosten). Dafür wurden drei Proben-Verarbeitungs-Szenarien berücksichtigt: 100, 500 und 1000 Proben pro Woche. Abschliessend empfiehlt der Bericht konkrete Bestimmungsmethoden für grossflächige Bodenkartierungen.

Die ausgewählten biologischen Eigenschaften und deren Bestimmungsmethoden wurden den drei hierarchischen Ebenen als vorrangig oder optional eingestuft: 1) Referenzprofile, die repräsentative Bodenprofile für die Schweiz bezeichnen und möglichst umfassend untersucht und beschrieben werden sollten, 2) Profile (im Rahmen der Bodenkartierung) und 3) Bohrungen mit Probenahmen. Auch die Möglichkeiten methodischer Kombinationen (biologische Eigenschaften untereinander oder mit physikalisch-chemischen Eigenschaften) wurden evaluiert.

Diese Forschungsarbeit konzentriert sich auf Bestimmungsmethoden von bodenbiologischen Eigenschaften, die auf die endogene Bodenfauna abzielen, insbesondere auf Regenwürmer, Springschwänze, Milben, Nematoden und Protisten. Die oberirdische Makrofauna, Asseln, Myriapoden, Ameisen, Insektenlarven mit Entwicklungsstadien im Boden, Weichtiere, die Megafauna (z. B. Mikrosäugetiere), Pflanzen usw. werden nicht berücksichtigt.

## 2. Methodik

Biologische Bodenparameter beschreiben die Aktivität von Organismen, die im Boden leben (Tiere, Pflanzen und Mikroorganismen). Sie reichen von der mikroskopischen bis zur makroskopischen Skala. Die Bodenbiologie ist für verschiedene Prozesse verantwortlich z.B. für die Bildung und Erhaltung der Bodenstruktur, den Abbau, die Umwandlung und den Transport organischer Substanz, den Ablauf biogeochemischer Kreisläufe usw. (Bispo et al., 2009; Greiner et al., 2017). Ebenso wie die physikalisch-chemischen Eigenschaften können auch die biologischen Bodenparameter als Indikatoren für die Bewertung der Bodenqualität herangezogen werden. Mithilfe von Indikatoren, einschliesslich biologischer Indikatoren, lassen sich Störungen, Bodenumbildungen

und Auswirkungen auf Ökosysteme identifizieren und quantifizieren. Das Monitoring von Böden ermöglicht es, die Landnutzung und -bewirtschaftung mit der Bodenfunktion und den Ökosystemleistungen zu verknüpfen und dadurch Schutzmassnahmen zu empfehlen (Bispo et al., 2009; Pulleman et al., 2012).

Bodenbiologische Parameter werden seit den 1990er Jahren von Feldversuchen und Monitoringprogrammen verwendet (Pulleman et al., 2012): Zahlreiche Organismengruppen und verschiedene biologische Prozesse wurden als Indikatoren für die Bodenqualität herangezogen. Im Vergleich zu physikalisch-chemischen Parametern werden biologische Parameter nach wie vor wenig erhoben.

---

### 2.1 Fokus der Studie

#### 2.1.1 Biologische Parameter

Bodenorganismen werden häufig als biologische Parameter verwendet. Sie liefern Informationen über die Struktur oder die Funktionsweise des Ökosystems. Biologische Parameter können in drei Hauptkategorien unterteilt werden:

- *Globale oder quantitative Parameter:*  
*allgemeine Parameter* wie z. B. die Biomasse oder die Anzahl der Individuen für die untersuchte Art
- *Struktur- und Diversitätsparameter:*  
z. B. die Anzahl der Arten und die Struktur der Gemeinschaften
- *Aktivitäts- oder Funktionsparameter:*  
Parameter, die Informationen über die Prozesse und Funktionen des Bodens geben

Die Untersuchung eines einzelnen Organismus ermöglicht es meist, mehrere biologische Messgrössen zu sammeln. Beispielsweise wird die Extraktion von Regenwürmern für einen bestimmten Standort Informationen über die Anzahl der vorhandenen Individuen und die Biomasse liefern (globaler Parameter). Es können auch Informationen über die Anzahl der vorhandenen Arten gesammelt werden (Struktur-/Diversitätsparameter). Ihre Verteilung auf die ökologischen Kategorien wird Hinweise auf die Funktionen geben, die sie innerhalb des Ökosystems erfüllen (Aktivitäts-/Funktionsparameter) (siehe Kapitel 3.2 für weitere Einzelheiten).

In einigen Fällen kann die Bestimmung von funktionellen Parametern durch eine einzige Messung erfolgen. Dies ist z. B. bei Methoden der Fall, die die biologische Aktivität, wie den Abbau organischer Substanz in Böden, bewerten (Bait Lamina-Methode, Litter Bag oder Tea Bag Index).

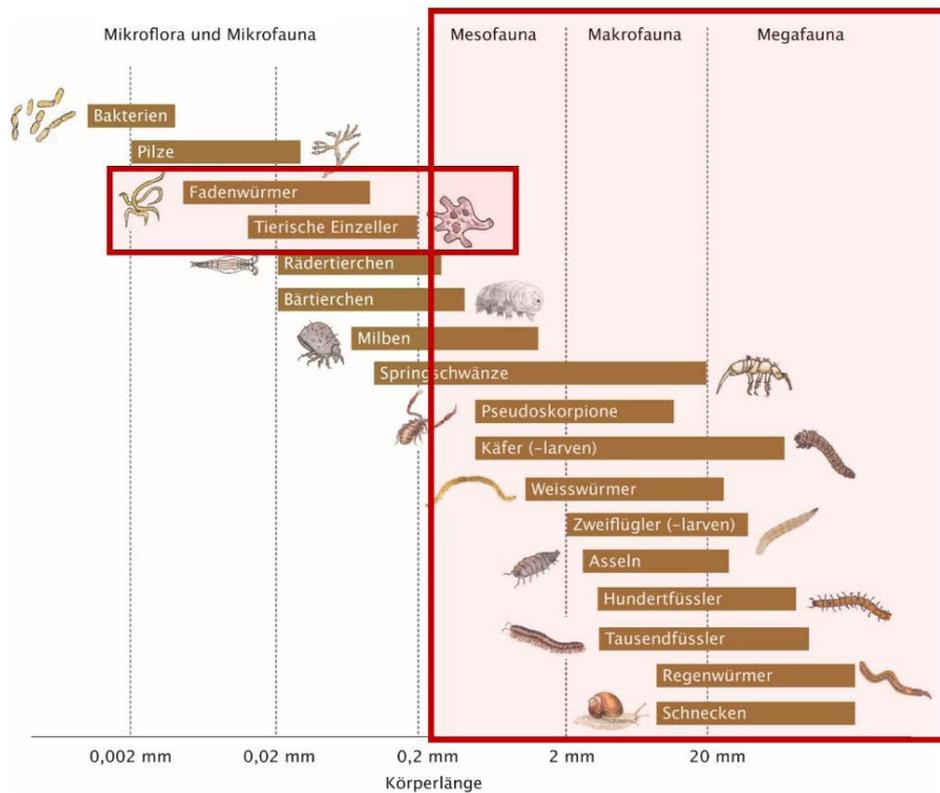


Abbildung 1: Klassen von Bodenorganismen (nach ihrer Grösse), die in dieser Forschungsarbeit betrachtet werden. Sie sind durch die roten Rechtecke gekennzeichnet und stellen nur die Bodenfauna dar. Die Mikroflora wird nicht berücksichtigt. (Ursprung der Abbildung: Walser et al. [2021]).

## 2.1.2 Betrachtete Organismen

Diese Studie beschränkt sich auf die Bodenfauna und die Protisten. Die biologischen Bodenparameter für die Mikroflora (Bakterien und Pilze) werden in einer anderen Studie untersucht.

Unter Bodenfauna versteht man Organismen der Mikrofauna, wie Nematoden und Protozoen (im weiteren Sinne Protisten), sowie Organismen der Meso-, Makro- und Megafauna, wie Milben, Springschwänze, Enchyträen und Regenwürmer (Abbildung 1). Biologische Parameter betrachten häufig die Abundanz, die Diversität und die Struktur der Gemeinschaften von Bodenorganismen als Messvariable. Die biologische Aktivität dieser Organismen und die Rolle, die sie bei Bodenprozessen und -funktionen, wie dem Abbau organischer Substanz, spielen, können ebenfalls berücksichtigt werden.

Abbildung 1 zeigt die Vielfalt an Organismen der Bodenfauna. Die Studie ist auf jene biologischen Parameter ausgerichtet, die für die Bodenkartierung von Interesse sind. Diese wurden durch eine

Literaturrecherche zu national und international angewandten Bestimmungsmethoden für biologische Parameter ermittelt (siehe auch Kapitel 3.1). Forschungsprojekte, die sich mit Bodenorganismen, Bodenqualität und Bodenüberwachung in der Schweiz befassen, wurden ebenfalls in die Studie miteinbezogen. Die in diesen Programmen ausgewählten biologischen Parameter samt Bestimmungsmethoden wurden jeweils in einer Liste zusammengestellt (Abbildung 2).



Abbildung 2: Ansatz zur Bestimmung biologischer Parameter, die für eine Bodenkartierung relevant sind.

---

## 2.2 Kriterien für die Bewertung biologischer Parameter und deren Bestimmungsmethoden

Verschiedene Kriterien wurden herangezogen, um die Relevanz der biologischen Parameter und die Durchführbarkeit deren Bestimmung im Rahmen einer Bodenkartierung zu bewerten.

---

### 2.2.1 Vorgehen

Um die Durchführbarkeit einer Bestimmungsmethode zu beurteilen, wurde der Ressourcenaufwand für die folgenden Schritte berücksichtigt:

- die Feldphase inklusive Entnahme von Organismen oder Bodenproben oder Anbringen/Entfernen von Messinstrumenten (z. B. Bait Lamina oder Tea Bag) je nach Probenahmemodalität,
- die Vorbereitung und Aufbereitung der Proben für die Analyse
- die Analyse und Interpretation der biologischen Parameter

Der Begriff «Ressourcen» umfasst:

- den Zeitaufwand (Zeit, die für die Durchführung des Verfahrens benötigt wird)
- die Materialanforderungen und -kosten
- das Fachwissen, das für die Durchführung erforderlich ist

Ebenso wurden die erforderlichen Apparaturen und das für die Durchführung notwendige Verbrauchsmaterial berücksichtigt. Grundlegende Laborausstattung (z. B. Abzugshaube, Präzisionspipetten usw.) wurde nicht berücksichtigt.

Die Relevanz- und Implementierungskriterien für jeden biologischen Parameter werden in den verschiedenen Abschnitten genauer definiert (siehe Kapitel 3).

---

### 2.2.2 Hinweise und Einschränkungen

Der Bericht gibt für jeden biologischen Indikator Hinweise und Einschränkungen an. Diese Informationen dienen dazu, die Eignung der biologischen Parameter für die Bodenkartierung besser einschätzen zu können. Sie werden am Ende des Abschnitts für die entsprechenden Indikatoren definiert (siehe Kapitel 3).

---

## 2.3 Verwendete Literatur und Hintergrundinformationen

Die Literaturrecherche zu biologischen Parametern konzentriert sich auf Informationen, die in nationalen Datenbanken und in wissenschaftlichen Publikationen verfügbar sind. Bei Schweizer Forschungsprojekten wurden Informationen in persönlichen Gesprächen mit den verantwortlichen Expert:innen und über die von der Forschungsgruppe zu dem Thema veröffentlichten wissenschaftlichen Publikationen erlangt. Die betrachteten Methoden sind Gegenstand nationaler

oder internationaler Normen oder werden von nationalen Institutionen validiert (in einigen Fällen graue Literatur). Vielversprechende, aber noch in der Entwicklungsphase befindliche, Methoden wurden ebenfalls berücksichtigt.

Die Bestimmungsmethoden für alle betrachteten Organismen werden in Kapitel 3 näher beschrieben.

---

## 2.4 Vergleichstabellen für biologische Parameter

Die in der Literaturübersicht gesammelten Informationen über Monitoring- und Forschungsprogramme mit biologischen Parametern wurden in einer Excel-Tabelle zusammengestellt. Darin enthalten sind Daten über den betrachteten Organismus, die Referenzinformationen über die Methode, die verschiedenen Phasen des methodischen Verfahrens, die Einschränkungen bei der Anwendung und der Methodik sowie Besonderheiten. Die Tabelle befindet sich im Anhang (siehe Anhang 8.1).

Daneben wurde eine Liste mit den wichtigsten Messinstrumenten und Materialien erstellt. Die gelisteten Materialkosten ermöglichen es, die Kosten der verschiedenen Methoden abschätzen und vergleichen zu können (siehe Anhang 8.2).

## 3. Resultate

Die folgenden Ergebnisse stammen aus der Literaturrecherche zu den wichtigsten Monitoring- und Forschungsprogrammen in Europa und der Schweiz, die biologische Parameter verwenden (Kapitel 3.1). Die Rohdaten zu den verwendeten biologischen Parametern und Bestimmungsmethoden sind in einer Excel-Tabelle (Anhang 8.1) zusammengefasst.

### 3.1 Biologische Parameter weltweit

Biologische Parameter werden bereits seit mehreren Jahren zur Messung und zum Monitoring der Bodenqualität sowie zur Bewertung der Biodiversität und der Funktion der Ökosysteme eingesetzt. Sie sind als Ergänzung zu bereits verfügbaren physikalisch-chemischen Indikatoren zu betrachten. Die laufende Integration biologischer Messungen in Beobachtungsprogramme für die Bodenqualität ist sowohl auf nationaler als auch auf internationaler Ebene zu beobachten. Tabelle 1 (Kapitel 3.1.4) listet die wichtigsten Programme auf, die biologische Parameter für das Monitoring und die Messung der Bodenqualität und der Biodiversität verwenden, und gibt deren Indikatoren an. Mikrobielle Indikatoren sind nicht enthalten.

#### 3.1.1 Europäische Programme

In den letzten 15 Jahren haben sich mehrere europäische Forschungsprogramme mit biologischen Parametern und der Biodiversität von Böden befasst.

Ein Beispiel ist das **ENVASSO**-Projekt (ENVironmental ASsessment of SOil for monitoring; 2006–2008). Das Ziel dieses Projekts besteht darin, ein Bodenmonitoringprogramm zum Schutz der Böden in Europa zu definieren und zu dokumentieren. Um den Rückgang der biologischen Vielfalt

der Böden zu untersuchen, wurden zwei Schlüsselaspekte berücksichtigt: die «Artenvielfalt» und die «biologischen Funktionen» des Bodens. Für den Aspekt «Artenvielfalt» wurden für die Pedofauna Regenwürmer und die gesamte Makrofauna ausgewählt. Für die Mesofauna wurden Enchyträen, Milben und Springschwänze und für die Mikrofauna Nematoden sowie Protisten gewählt. Für den Aspekt «biologische Funktionen» wurden Aktivitätsmessungen bestimmt wie die Frassaktivität (z. B. Bait Lamina) (Tabelle 1).

#### ENVASSO – Bodenfauna-Indikatoren

- Regenwürmer (Diversität, Abundanz und Biomasse)\*.
- (Enchyträen, wenn keine Regenwürmer vorhanden sind)
- Makrofauna insgesamt
- Springschwänze (Vielfalt und Abundanz) \*
- Milben
- Nematoden
- Protisten
- Aktivitätsparameter (Litter Bag, Bait Lamina)

\* Indikatoren, die im Set der empfohlenen biologischen Mindestparameter enthalten sind

Um die Bodenbiologie entsprechend abbilden zu können, empfiehlt das Programm einen Mindestumfang an Bioindikatoren. In Bezug auf die Bodenfauna umfasst dieser Regenwürmer (Diversität, Abundanz und Biomasse) und Springschwänze (Diversität und Abundanz). Wenn wenige oder gar keine Regenwürmer am Standort vorkommen (wie z. B. in sauren, gesättigten Böden) werden Enchyträen als Ersatz erhoben.

Der Aspekt der Aktivitätsparameter wurde nicht in den minimalen Datensatz aufgenommen (Huber et al., 2008; Micheli et al., 2008). Der minimale Datensatz von Indikatoren wurde in sechs Pilotregionen in fünf Ländern (Deutschland, Frankreich, Ungarn, Irland und Portugal) getestet. Die Pilotregionen umfassten Flächen zwischen 2,7 km<sup>2</sup> und knapp 70 000 km<sup>2</sup> (Arrouays et al., 2008).

Das Projekt **EcoFINDERS** (Ecological Function and Biodiversity Indicators in European Soils; 2011–2014) ist ein weiteres EU-Projekt mit dem Ziel, Instrumente für die Entwicklung einer nachhaltigen Bodennutzung bereitzustellen. Dieses Forschungsprogramm zielte darauf ab, die Biodiversität in europäischen Böden zu charakterisieren und die Beziehungen zwischen der Vielfalt der Bodenorganismen, der Bodenfunktion und den erbrachten Ökosystemdienstleistungen zu ermitteln (<http://esdac.jrc.ec.europa.eu/projects/ecofinders>). Es wurden biologische Bodenindikatoren ausgewählt, die für das Monitoring der biologischen Vielfalt und der Ökosystemfunktionen in Europa relevant und kosteneffizient sind. Letztendlich wurden 18 Indikatoren aus rund 200 biologischen Methoden ausgewählt. Die ausgewählten biologischen Indikatoren konzentrierten sich auf mikrobielle, faunistische und funktionelle Merkmale. Wobei sowohl morphologische als auch molekulare Ansätze oder Messungen, die auf (biologischen) Bodenprozessen basieren, integriert wurden. Sie wurden an sechs Versuchsstandorten in Europa (Deutschland (2 Standorte), Frankreich, Slowenien, Portugal und Vereinigtes Königreich) getestet (Griffiths et al., 2016; Stone et al., 2016). In Tabelle 1 (Kapitel 3.1.4) sind die ausgewählten Indikatoren für die Bodenfauna aufgeführt.

Das Projekt LUCAS (Land Use/Cover Area frame statistical Survey) ist eine umfassende und regelmäßige Erhebung von Daten im Oberboden, die in der gesamten Europäischen Union durchgeführt wird. Ziel ist es, politikrelevante Statistiken über die Auswirkungen der Landbewirtschaftung auf die Bodeneigenschaften zu erhalten. Etwa 45 000 Bodenproben wurden während der ersten zwei Kampagnen, 2009–2012 und 2015, gesammelt. Die Daten und die daraus abgeleiteten Ergebnisse (europäische Bodenkarten) sind auf der Website des Europäischen Zentrums für Bodendaten (ESDAC; <https://esdac.jrc.ec.europa.eu/>) frei zugänglich. Bei der LUCAS-Erhebung 2018 wurden neue Parameter wie die Biodiversität der Böden berücksichtigt. Diese wurde an 1000 Standorten in ganz Europa mithilfe von DNA-Metabarcoding-Methoden bewertet: Bakterien und Archaeen (16S rDNA), Pilze (internal transcribed spacer, [ITS]), Eukaryoten (18S rDNA), Nematoden (z. B. next generation sequencing [NGS]), Mesofauna-Arthropoden (z. B. Gen *cox1*) und Regenwürmer (z. B. mitochondriale DNA). Die Methodik, die zur Analyse der ersten drei Zielgruppen von Bodenorganismen verwendet wurde, ist gut etabliert. Hinsichtlich der Frage, wie die anderen Gruppen von Bodenorganismen am besten untersucht werden können, ergeben sich jedoch technische Grenzen, z. B. die Notwendigkeit, DNA aus einer grossen Menge Boden zu extrahieren, um die Nachweisbarkeit von Arten zu verbessern. Dieses Thema wurde daher für Expert:innen auf diesem Gebiet zur Diskussion gestellt, um die bestmöglichen Strategien für gross angelegte genetische Signatur von anderen Bodenorganismen als Mikroorganismen und 18S-Eukaryoten zu erörtern (Orgiazzi et al., 2018). Die Ergebnisse der Erhebung 2018 sind noch nicht veröffentlicht.

### 3.1.2 Nationale Programme

In **Deutschland** nehmen einige Bundesländer biologische Parameter in ihr Programm zur langfristigen Standortbeobachtung (**Bodendauerbeobachtungsflächen** [BDF]) auf. Regenwürmer und Ringelwürmer (z. B. Enchyträen) gehören zu den am häufigsten gemessenen biologischen Parametern für wirbellose Bodentiere. Einige Bundesländer betrachten auch Springschwänze und Nematoden. Es gibt jedoch noch keinen einheitlichen Ansatz auf nationaler Ebene. Biologische Parameter werden nicht in allen Bundesländern systematisch oder nur in unregelmässigen Abständen gemessen. Es wurden Vorschläge für eine bessere Konsistenz der Messparameter gemacht (Römbke et al., 2012). Beispielsweise führt das Bundesland **Schleswig-Holstein** (BDF SH) an seinen 37 Langzeitüberwachungsstandorten alle 6 Jahre ein Monitoring von Regenwürmern und Ringelwürmern (Enchyträen) durch (Klüver et al., 2020). Das Bundesland **Baden-Württemberg** (BDF BW) wiederum führt seit über 30 Jahren ein Programm zur Überwachung von Collembolengemeinschaften an 57 langfristigen Beobachtungsstandorten im Wald durch (Balkenhol & Russell, 2007).

Daneben läuft in Deutschland noch das Projekt **MonViA**, das ein bundesweites Monitoring der biologischen Vielfalt in Agrarlandschaften zum Ziel hat. Das Projekt wurde im Auftrag des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) durchgeführt und umfasst auch die Bodenfauna – insbesondere die Entwicklung eines Konzepts zum Monitoring der Auswirkungen von Kulturmassnahmen auf die Vielfalt und Funktion der Regenwurmgemeinschaften (<http://www.agrarmonitoring-monvia.de>).

Zudem hat das Senckenberg Museum für Naturkunde in Görlitz, Deutschland die «Edaphobase» entwickelt. Es stellt ein frei zugängliches Datenportal dar, das Daten über Bodenorganismen (Nematoden, Springschwänze, Milben, Chilopoden, Diplopoden, Isopoden, Enchyträen und Regenwürmer), ihre Verbreitung und Habitatsparameter aus unterschiedlichen Quellen (wissenschaftliche Literatur, Museumssammlungen, Projektdaten etc.) sammelt (<https://portal.edaphobase.org>).

**Frankreich** hat in den letzten Jahren mehrere Programme ins Leben gerufen, die den Zustand des Bodens, seine Eigenschaften und Funktionen untersuchen. Das Programm **Réseau de Mesures de Qualité des Sols (RMQS)** dient seit den 2000er Jahren der Bewertung und dem langfristigen Monitoring der Bodenqualität in Frankreich. Dort werden alle 15 Jahre physikalische, chemische und biologische Bodenbeobachtungen und -messungen an insgesamt 2240 Standorten in ganz Frankreich durchgeführt. Die Maschenweite beträgt 4 km. Bei der Bodenfauna konzentrierten sich die Messungen auf Regenwürmer und die gesamten Makroinvertebraten. Für die endogene Makrofauna werden bspw. Oligochaeten, Asseln, Diplopoden, Chilopoden, Spinnentiere, Schnecken, Käfer (Larven und Erwachsene), Asseln, Schlupfwespen, Lepidopteren (Larven), Dipteren (Larven) usw. [ISO 23611-5, 2011]) erhoben. Für die Mesofauna werden Springschwänze und Milben erhoben und für die Mikrofauna Nematoden. Die Beobachtungen wurden für die RMQS-Standorte in der Region Bretagne (RMQS BioDiv), insgesamt 109 Standorte, durchgeführt (<https://www.gissol.fr/le-gis/programmes/rmq3-34> und [https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/page/programme-rmq3-biodiv#Sites\\_RMQS\\_BioDiv](https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/page/programme-rmq3-biodiv#Sites_RMQS_BioDiv)). Derzeit laufen eine Machbarkeitsstudie und ein Pilotprojekt (2020–2021), um die Errichtung eines landesweiten Biodiversitätsüberwachungsnetzes (**RMQS-Biodiversität oder Messnetz für Bodenbiodiversität [RMBS]**) zu untersuchen, das sich auf das bereits bestehende RMQS-Netzwerk stützt. Für die Untersuchung der Bodenfauna werden im Projekt Erhebungen der Protisten, Nematoden, der Mesofauna und der endogenen und oberirdischen Makrofauna (Springschwänze, Milben, Käfer, Regenwürmer usw.) sowie von Umwelt-DNA vorgeschlagen.

Das französische Programm **ADEME Bioindicateurs II** (2009–2012) hatte zum Ziel, biologische Indikatoren zur Überwachung der Bodenqualität zu entwickeln, um die bereits verfügbaren physikalisch-chemischen Indikatoren zu ergänzen (<https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/index.php>; Bispo et al., 2009). Für die Bodenfauna wurden Regenwürmer, die gesamte Makrofauna und Nematoden ausgewählt. Schnecken sind ebenfalls Teil des vorgeschlagenen Bioindikatorensets für die Bodenfauna. Sie werden zur Bewertung von Bodenkontaminationen herangezogen (Akkumulations-Bioindikatoren).

In Frankreich gibt es daneben noch das CASDAR-Projekt **AgriInnov** (2012–2015) (Ranjard, 2011). Es zielt darauf ab, biologische Indikatoren für die Messung der Qualität landwirtschaftlicher Böden bereitzustellen. Als Indikatoren für die Bodenfauna wurden Regenwürmer und Nematoden ausgewählt. Für die funktionellen Messungen (Abbau organischer Substanz) wurden Litter Bags verwendet.

Auch die **Niederlande** haben ein landesweites Bodenmonitoringnetz (the Netherlands Soil Monitoring Network [NSMN]) mit über 300 Beobachtungsstandorten eingerichtet. Es umfasst ca. 20 verschiedene Landnutzungskategorien und deckt etwa 75% der Gesamtfläche des Landes ab (ohne fixe Maschenweite). Biologische Parameter **«Biological Indicator System for Soil Quality (BISQ)»** sind seit 1997 darin integriert. Das BISQ versucht, eine Verbindung zwischen der biologischen Vielfalt und den Bodenfunktionen herzustellen. Genauer gesagt zwischen den wichtigsten lebenserhaltenden Funktionen (Abbau organischer Substanz, Nährstoffkreislauf usw.) bzw. ökologischen Prozessen (Fragmentierung, Kohlenstoff- und Stickstoffmineralisierung) und den wichtigsten Gruppen von Bodenorganismen. Die grossen trophischen Gruppen, die für die Bodenfauna beobachtet wurden, sind Regenwürmer, Enchyträen, Mikroarthropoden (Springschwänze und Milben) und Nematoden (Rutgers et al., 2008; Rutgers et al., 2009).

Im **Vereinigten Königreich** gibt es ein nationales Überwachungsprogramm, die **«Countryside Survey»**. Sie umfasst Bodenbeobachtungen, Landnutzungskarten und Felderhebungen. Ziel des Programms ist es, den Zustand des Bodens zu überwachen und ihn zu schützen. Das Programm läuft seit 1978 und umfasst 629 Standorte, die über das ganze Land verteilt sind (Maschengrösse 1km<sup>2</sup>, geschichtete Zufallsstichprobe). Die Beobachtungen werden alle 10 Jahre wiederholt. Bei der Bodenfauna wird die Vielfalt der wirbellosen Bodentiere, insbesondere der Springschwänze und Milben, gemessen (<https://countrysidesurvey.org.uk/>; Emmett et al., 2010). Die britische Bodenbeobachtungsstelle (UK soil observatory) erstellt basierend darauf Karten zu biologischen Bodenparametern, die mit Bodenbedeckungskartierung extrapoliert werden (<http://www.ukso.org/>).

### 3.1.3 Programme in der Schweiz

Für die **Schweiz** widmet sich die **Nationale Bodenbeobachtung (NABO)** der Überwachung der chemischen, physikalischen und biologischen Eigenschaften des Bodens. 30 Messstandorte (10 Ackerlandstandorte, 10 Wiesenstandorte, 10 Waldstandorte) konzentrieren sich auf die Beobachtung der Bodenbiologie (NABObio). Im Fokus steht dabei die Messung mikrobieller Parameter. Auf kantonaler Ebene beinhaltet das kantonale Bodenüberwachungsprogramm (**KABObio**) des **Kantons Bern** biologische Indikatoren für die Bodenfauna. Es werden dort an 19 Standorten im Kanton alle 5 bis 8 Jahre Regenwürmer beobachtet (persönliche Mitteilung Claudia Maurer, Amt für Landwirtschaft und Natur des Kantons Bern).

Derzeit laufen mehrere **Forschungsprojekte**, die sich mit der Vielfalt und den Funktionen von Bodenfauna-Gemeinschaften befassen. Die betroffenen biologischen Parameter sind:

- Regenwürmer, mit Claire Le Bayon, Titularprofessorin am Labor für funktionelle Ökologie der Universität Neuchâtel (UniNE),
- Mikroarthropoden (Springschwänze, Milben, etc.) mit Dr. Jürg Enkerli von der Forschungsgruppe für Molekulare Ökologie an Agroscope,
- Nematoden, mit Dr. Beat Frey, Leiter der Forschungseinheit für Rhizosphärenprozesse an der Eidgenössischen Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft (WSL),
- Protisten, mit Professor Thierry Heger von der Gruppe Bodenwissenschaft und Umwelt der Hochschule für Weinbau und Önologie in Changins (HES-SO Changins) und Professor Edward Mitchell vom Labor für Bodenbiodiversität an der Universität Neuchâtel (UniNE),
- funktionelle Methoden wie der Tea Bag Test (Andreas Fliessbach, FiBL) oder der Bait Lamina Test (Campiche et al., 2015) wurden bzw. werden in mehreren Forschungsprogrammen in der Schweiz eingesetzt.

### 3.1.4 Zusammenfassung

| Land & Programm               | Anzahl an untersuchten Standorten | Maschenweite                   | Regenwürmer | Enchyträen     | Springschwänze | Milben         | Nematoden | Protisten | Macrofauna     | Bait Lamina    | Litter Bag | Tea Bag | Baumwollstreifen |
|-------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|-------------|----------------|----------------|----------------|-----------|-----------|----------------|----------------|------------|---------|------------------|
| <b>Europa</b>                 |                                   |                                |             |                |                |                |           |           |                |                |            |         |                  |
| ENVASSO                       | 6 Pilotregionen (5 Länder)        | keine                          | x           | x <sup>1</sup> | x              | (x)            | (x)       | (x)       | (x)            | (x)            | (x)        | (x)     |                  |
| ECOFINDERS                    | 6 Standorte (6 Länder)            | keine                          | x           | x              | x              | x              | x         | (x)       |                |                |            |         |                  |
| LUCAS 2018 <sup>2</sup>       | 1000                              | keine                          | x           |                | x <sup>3</sup> | x <sup>3</sup> | x         |           |                |                |            |         |                  |
| <b>Schweiz</b>                |                                   |                                |             |                |                |                |           |           |                |                |            |         |                  |
| FaBo Bern                     | 19                                | keine                          | x           |                |                |                |           |           |                |                |            |         |                  |
| Andere Forschungsprojekte     |                                   |                                | x           | (x)            | x              | x              | x         | x         |                | x <sup>4</sup> |            |         | (x)              |
| <b>Deutschland</b>            |                                   |                                |             |                |                |                |           |           |                |                |            |         |                  |
| BDF Schleswig-Holstein (SH)   | 37                                | keine                          | x           | x              |                |                |           |           |                |                |            |         |                  |
| BDF Baden-Württemberg (BW)    | 57                                | keine                          |             |                | x              |                |           |           |                |                |            |         |                  |
| <b>Frankreich</b>             |                                   |                                |             |                |                |                |           |           |                |                |            |         |                  |
| BIOINDICATEURS II             | 47                                | keine                          | x           |                | x              | x              | x         |           | x <sup>5</sup> |                |            |         |                  |
| RMQS BioDiv                   | 109                               | 4 km <sup>2</sup>              | x           |                | x              | x              | x         |           | x <sup>5</sup> |                |            |         |                  |
| RMBS <sup>2</sup>             | n. v.                             | n. v.                          | x           |                | x              | x              | x         | x         |                |                |            |         | x                |
| AgrINNOV                      | 248                               | keine                          | x           |                |                |                | x         |           |                |                | x          |         |                  |
| <b>Niederlande</b>            |                                   |                                |             |                |                |                |           |           |                |                |            |         |                  |
| BISQ                          | 300                               | keine                          | x           | x              | x              | x              | x         |           |                |                |            |         |                  |
| <b>Vereinigtes Königreich</b> |                                   |                                |             |                |                |                |           |           |                |                |            |         |                  |
| Countryside Survey            | 629                               | Geschichtete Zufallsstichprobe |             |                | x              | x              |           |           | x <sup>5</sup> |                |            |         |                  |

Tabelle 1: Wichtigste Monitoring- und Forschungsprogramme unter Verwendung biologischer Parameter in der Schweiz und in Europa und untersuchte Bodenorganismen.

x *biologische Parameter, die im empfohlenen Mindestset enthalten sind oder Gegenstand laufender nationaler Forschungsprojekte für die Schweiz sind.*

(x) *Biologische Parameter, die in Betracht gezogen werden, aber nicht im getesteten/empfohlenen Mindestset von Indikatoren enthalten sind, oder biologische Parameter, die in der Vergangenheit Gegenstand von Forschungsprojekten in der Schweiz waren.*

n. v. *Informationen nicht verfügbar.*

<sup>1</sup> *Enchyträen werden berücksichtigt, wenn keine Regenwürmer vorhanden sind (z. B. in einigen Wäldern).*

<sup>2</sup> *Neuere Projekte, die noch nicht abgeschlossen sind und für die noch keine Ergebnisse oder detaillierten Informationen zum Projekt vorliegen.*

<sup>3</sup> *In der LUCAS-Erhebung 2018 wird der allgemeine Begriff «Arthropoden der Mesofauna» verwendet, um die Organismengruppen zu definieren, die für die Analyse der Biodiversität von Böden verwendet werden. In der Tabelle werden diese unter Springschwänzen und Milben referenziert.*

<sup>4</sup> *Bait Lamina werden derzeit in mehreren kleinen Forschungsprojekten in der Schweiz eingesetzt, z. B. an der HAFL in Zollikofen (graue Literatur).*

<sup>5</sup> *Nur endogene Makrofauna.*

Regenwürmer sind die am häufigsten verwendeten Indikatoren in den oben aufgelisteten Monitoring- und Forschungsprogrammen, (sie werden in 11 von 13 betrachteten Programmen erhoben). Darauf folgen Springschwänze (10/13), Milben und Nematoden (9/13). Makrofauna, Enchyträen, Protisten und funktionelle Methoden werden in 5 oder weniger der aufgeführten Programme verwendet.

Im folgenden Abschnitt werden Informationen gegeben, die helfen, die Relevanz der biologischen Parameter (Organismen und zugehörige Bewertungsmethoden) zu beurteilen und die Machbarkeit ihrer Anwendung für eine schweizweite

Bodenkartierung einzuschätzen. Vorrangig werden die in Monitoring- und Forschungsprogrammen am häufigsten verwendeten Organismen, d.h. Regenwürmer, Springschwänze, Milben und Nematoden, sowie Protisten und einige funktionelle Methoden diskutiert. Auf ihre Bedeutung im Hinblick auf eine Bodenkartierung wird im Kapitel Diskussion (Kapitel 4) eingegangen.

Anmerkung: Die Programme LUCAS 2018 und RMBS laufen noch. Daher war es zum Erstellungszeitpunkt dieses Berichts nicht möglich, relevante und detaillierte Informationen zu den Methoden, die zur Analyse der biologischen Parameter verwendet wurden, zu finden und zu berichten.

---

## 3.2 Regenwürmer

Regenwürmer (Annelida, Oligochaeta) gehören zur Makrofauna und gelten als die Ingenieure des Bodens. Sie spielen eine wichtige Rolle bei der Zersetzung toter Pflanzenreste, der Erhöhung des Gehalts an organischer Substanz und der Anreicherung von Nährstoffen, der Verbesserung der Aggregatstabilität, der Belüftung des Bodens und der Anregung der mikrobiellen Aktivität. In der Schweiz kommen etwa 40 Arten vor. Diese lassen sich durch ihr Verhalten und ihre Nahrungswahl in

drei ökologische Gruppen (epigäische, endogäische und anözische (auch anektisch) Regenwürmer) einteilen (Abbildung 3). Die Bedeutung der Regenwürmer für unterschiedliche Bodenfunktionen hängt stark mit diesen unterschiedlichen Gruppen zusammen (Rutgers et al., 2008; Pfiffner, 2013). Häufig werden Regenwürmer als biologische Indikatoren für das Monitoring und die Beurteilung der Bodenqualität sowie für die Bewertung der Biodiversität eingesetzt.



Abbildung 3: Endogäische Regenwürmer (links) und anözischer Regenwurm (rechts). Fotos: L. Pfiffner, FiBL

### 3.2.1 Angeführte Methoden

In den in Kapitel 3.1 erwähnten europäischen, internationalen und nationalen Monitoring- und Forschungsprogrammen werden fünf Bestimmungsmethoden zur Untersuchung von Regenwürmern verwendet (Tabelle 2).

Die allgemeine Methodik ist bei allen fünf identifizierten Bestimmungsmethoden gleich. Innerhalb der einzelnen Verfahrensschritte sind jedoch einige Abweichungen festzustellen. Das allgemeine methodische Prinzip und die methodischen Unterschiede werden in den beiden folgenden Kapiteln definiert.

| Verwendete Methoden          | Forschungsprogramm             |
|------------------------------|--------------------------------|
| ISO 23611-1 <sup>1</sup>     | ENVASSO; EcoFINDERS; BDF SH    |
| ADEME <sup>2, 3</sup>        | Bioindicateurs II; RMQS BioDiv |
| Cube à la bêche <sup>4</sup> | BISQ; AgrINNOV                 |
| Agroscope <sup>5</sup>       | KABObio Bern                   |
| UniNE <sup>6</sup>           | Recherche suisse (UniNE)       |

Tabelle 2: Gelistete Methoden zur Bewertung von Regenwürmern und Überwachungs- und Forschungsprogramme, die diese verwenden.

#### Referenzen:

- <sup>1</sup> ISO 23611-1:2018. *Soil quality – Sampling of soil invertebrates – Part 1: Hand-sorting and extraction of earthworms.*
- <sup>2</sup> *Bioindicateurs II* (<https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/index.php>) für das ADEME-Programm Bioindicateurs II und Cluzeau et al. 2009 für das ADEME-Programm RMQS BioDiv («Cahier des méthodes»).
- <sup>3</sup> Die ADEME-Methoden der Projekte Bioindicateurs II und RMQS BioDiv sind Anpassungen von Bouché 1972 und der ISO-Methode 23611-1.
- <sup>4</sup> Rutgers et al., 2009 für das BISQ-Programm und Ranjard, 2011 für das AgrINNOV-Programm.
- <sup>5</sup> Agroscope Referenzmethoden B-RW-E, B-RW-H, B-RW-B (Agroscope, 2015).
- <sup>6</sup> Graue Literatur (Protokoll) und persönliche Mitteilung Claire Le Bayon, UniNE.



Abbildung 4: Methodisches Grundprinzip für die Untersuchung von Regenwürmern.

### 3.2.2 Methodisches Grundprinzip

#### Morphologische Analysen

Die Untersuchung von Regenwürmern besteht aus zwei Hauptphasen (Abbildung 4):

1. Feldprobe: Die Regenwürmer werden mithilfe eines chemischen Extraktionsmittels aus dem Boden extrahiert. (Die Würmer zeigen ein Fluchtverhalten als Reaktion auf die irritierenden Eigenschaften der in den Boden verschütteten Lösung.) Oder sie werden manuell aus einem Bodenblock aussortiert.
2. Morphologische Analyse, um die Regenwürmer zu zählen und zu identifizieren.

#### Molekulare Analysen

Die derzeit verbreitete Methodik nutzt hauptsächlich morphologische Analysen zur Identifizierung der Regenwürmer. Das Potenzial von Identifizierungstechniken durch molekulare Analysen (DNA-Barcoding oder -Metabarcoding) wird zunehmend verwendet (LUCAS-Projekt 2018, aber auch bereits im EcoFinders-Projekt berücksichtigt). Bei dieser Art der Identifizierung werden die im Feld gesammelten Regenwürmer anhand einer kurzen, spezifischen DNA-Sequenz genetisch charakterisiert. Barcoding und Metabarcoding haben den Vorteil, dass sie die Vielfalt der vorhandenen Arten besser erfassen (bessere Unterscheidung der Arten, Identifizierung von Jungtieren, ...), aber auch den noch unbekanntem Teil der Biodiversität der Regenwürmer untersuchen (Identifizierung neuer Taxa) (Decaens et al., 2013). Diese Techniken sind noch nicht als Analysemethode etabliert. Ihr Entwicklungspotenzial ist jedoch gross und verdient es, berücksichtigt zu werden.

Einige Programme befassten sich auch mit der Identifizierung von Regenwurmgemeinschaften anhand von Bodenproben ohne direkte Probe-

nahme der Organismen (Metabarcoding von Umwelt-DNA (eDNA) (Bienert et al., 2012; Pansu et al., 2015; Rota et al., 2020). Die Technik befindet sich noch in der Entwicklungsphase. Diese Methode wurde beispielsweise im RMBS-Projekt angewandt.

### 3.2.3 Methodische Unterschiede

Die Unterschiede zwischen den verschiedenen Methoden treten vor allem in der Phase der Probenahme (Phase 1) auf und betreffen hauptsächlich:

- Die Probenahme fläche, wobei die Variationen von 0,125 bis 1 m<sup>2</sup> reichen.
- Die Art des verwendeten chemischen Extraktionsmittels: Formaldehyd oder Senfderivate (Senfkörnermehl, scharfer Würzsenf, Allylthiocyanat (AITC; ein Glucosinolat, das dem flüchtigen Senföl entspricht), Zwiebelsaft), die für Regenwürmer reizend sind, und die Menge der empfohlenen Bewässerungen mit der reizenden Lösung.
- Die Masse des mit dem Spaten entnommenen Bodenblocks für das manuelle Sortieren der Regenwürmer.
- Die Reihenfolge des Extraktionsverfahrens: chemische Extraktion gefolgt von manueller Extraktion oder umgekehrt. In einigen Fällen wird nur die manuelle Extraktion durchgeführt (manuelle Sortierung auf «Spatenwürfel»), ohne chemische Extraktion (BISQ- und AgrInnov-Programm).
- Die Flüssigkeit, die zur Konservierung der Regenwürmer verwendet wird.
- Die Anzahl der empfohlenen Probenahmen pro Standort.

Die Hauptunterschiede sind in der nachfolgenden Tabelle (Tabelle 3) genauer definiert.

Weitere Informationen und Details zu den verschiedenen Methoden für Regenwürmer sind in der Excel-Tabelle im Anhang (Anhang 8.1) zu finden.

| Methode             | Probenahme-<br>fläche                             | Verwendetes<br>Extraktionsmittel                                     | Bodenblock-<br>grösse (cm) | Konservierungs-<br>flüssigkeit                        | Anzahl der<br>Proben pro<br>Standort |
|---------------------|---|--|----------------------------|---|--------------------------------------|
| <b>ISO 23611-11</b> |   |  |                            |   |                                      |
| 1. Ausgabe 2006     | 0,25m <sup>2</sup>                                | Formaldehyd  | 50 × 50 × 20               | Ethanol 70 %  | n. a.                                |
| 2. Ausgabe 2018     | 0,25m <sup>2</sup>                                | AITC   | 50 × 50 × 20               | Ethanol 70 %  | n. a.                                |
| <i>Alternativ</i>   | <i>0,125m<sup>2</sup><br/>Oder 1m<sup>2</sup></i> | <i>Senfmehl, elektrische<br/>Methode (Octet Methode)<sup>3</sup></i> |                            | <i>Formaldehydhaltige<br/>Lösung 4%</i>               |                                      |
| <b>ADEME</b>        |   |  |                            |   |                                      |
| Bioindicateurs II   | 1m <sup>2</sup>                                   | Formaldehyd  | 25 × 25 × 20               | Formaldehydhaltige<br>Lösung                          | 3 bis 4                              |
| RMQS BioDiv         | 1m <sup>2</sup>                                   | Formaldehyd  | 25 × 25 × 25               | Formaldehydhaltige<br>Lösung                          | 3 bis 4                              |
| <b>Spatenwürfel</b> |   |  |                            |   |                                      |
| BISQ                | /   | /  | 20 × 20 × 20               | n. a.   | 3*6                                  |
| AgriInnov           | /   | /  | 20 × 20 × 25               | Alkohol   | 6                                    |
| <b>Agroscope</b>    |   |  |                            |   |                                      |
| (Referenzmethoden)  | 0,25m <sup>2</sup>                                | Formaldehyd  | 50 × 25 × 20               |   | 6 bis 10                             |
| <i>Alternativ</i>   |   | <i>Senfmehl</i>  |                            |   |                                      |
| <b>UniNE</b>        |   |  |                            |   |                                      |
|                     | 1m <sup>2</sup>                                   | <i>Senfmehl</i>  | 25 × 25 × 20               | Ethanol 70 % oder<br>formaldehydhaltige<br>Lösung 4 % | 3 bis 5                              |
| <i>Alternativ</i>   |   | <i>Zwiebelsaft<br/>(Singh et al., 2018)</i>                          |                            |   |                                      |

Tabelle 3: Die wichtigsten methodischen Abweichungen, die für die Regenwurm-Methoden aufgelistet wurden.

n. a. = nicht angegeben

<sup>1</sup> Die ISO-Methode 23611-1 wurde 2018 neu aufgelegt (2. Auflage) und ersetzt Formaldehyd, das in der ersten Auflage von 2006 als chemisches Extraktionsmittel verwendet wurde, durch AITC, ein Senfderivat.

<sup>2</sup> Die ISO-Methode ist die einzige Methode, die vor der chemischen Extraktion eine manuelle Extraktion durchführt. In einigen Fällen empfiehlt sie jedoch nur eine der beiden Extraktionsmethoden.

<sup>3</sup> Die elektrische Methode verwendet einen Ring (Durchmesser: 52cm) mit 8 Elektroden, der in den Boden eingeführt wird und ein elektrisches Feld erzeugt, durch das die Würmer aus dem Boden getrieben werden. Die Vorteile dieser Methode sind, dass sie keine Chemikalien und kein Wasser benötigt und weniger arbeitsintensiv und schneller ist als die anderen Methoden. Zu den Nachteilen gehören die Schwerfälligkeit und der hohe Preis der Ausrüstung. Die Erfolgsquote dieser Methode hängt stark von den Bodenbedingungen (insbesondere dem Wassergehalt) ab. Verschiedene Methodenvergleiche haben keine eindeutigen Vorteile der elektrischen Extraktionsmethode gegenüber chemischen Extraktionsmethoden gezeigt (ISO 23611-1, 2018).

Es ist anzumerken, dass die ISO-Norm vielseitiger ist als die anderen gelisteten Methoden. Sie lässt eine gewisse Freiheit bei der Wahl der methodischen Variablen je nach Forschungsziel und geografischer Region, Art der Bodennutzung und betrachtetem Bodentyp zu (z.B. *verschiedene mögliche Probenahme­flächen, Extraktionsverfahren, das manuelle und chemische Extraktion kombiniert oder nur eine der beiden Extraktionen empfiehlt, verschiedene Arten von Extraktionsmitteln (ITA oder Senfmehl) usw.*) (siehe Excel-Tabelle in Anhang 8.1). Diese Flexibilität kann allerdings den Vergleich der Ergebnisse und die Erstellung eines Referenzrahmens erschweren. Die verschiedenen methodischen Variablen sollten vor der Einführung eines Monitorings- oder Forschungsprogramms, das auf der ISO-Methode basiert, in Abhängigkeit von den angestrebten Zielen klar definiert werden.

### 3.2.4 Zu beachtende Punkte

Zu den oben gelisteten methodischen Variablen sind einige zusätzliche Überlegungen anzustellen, nämlich:

- *Probenahme­fläche:* Kleine Probenahme­flächen (z. B. 0,25 m<sup>2</sup>) sind eher geeignet, wenn erwartet wird, dass eine grosse Anzahl von Regenwürmern gesammelt wird (z. B. Wiese in gemässigten Regionen) (ISO 23611-1, 2018).
- *Formaldehyd-Toxizität:* Formaldehyd war bis vor kurzem das empfohlene chemische Extraktionsmittel und wurde von den meisten Methoden verwendet. Seit 2018 wird Formaldehyd in der ISO-Methode angesichts seiner Toxizität jedoch nicht mehr verwendet. Es wurde durch AITC ersetzt. Tatsächlich weist Formaldehyd sowohl eine Human- als auch eine Umwelttoxizität auf. Für den Menschen ist es ein Reizmittel für Augen, Nase und Rachen und wird seit 2004 von der Internationalen Agentur für Krebsforschung (IARC, 2006) als erwiesenermassen krebserregend und seit 2014 von der Europäischen Kommission als wahrscheinlich krebserregend (Kategorie 1b) eingestuft (Verordnung (EU) Nr. 605/2014).

Seine Verwendung stellt daher ein Risiko dar. Es müssen geeignete Vorsichtsmassnahmen ergriffen werden, um einen Kontakt durch Atmung oder über die Haut zu vermeiden. Für die Umwelt wurden negative Auswirkungen auf Bodenmikroorganismen, Mesofauna und Pflanzen berichtet (ISO 23611-1, 2018). AITC ist in erster Linie ein Haut- und Augenreizstoff. Es erfordert eine geeignete Schutzausrüstung (Handschuhe, Schutzbrille und Schutzkleidung).

- *Wirksamkeit chemischer Extraktionsmittel:* Die Extraktionseffizienz von Regenwürmern wird zwischen Formaldehyd und ITCA hinsichtlich der Biomasse und der Anzahl der extrahierten Individuen als gleichwertig angesehen, und zwar unabhängig von der Art der beprobten Standorte (Pelosi et al., 2009; Singh et al., 2015; ISO 23611-1, 2018; Singh et al., 2018). Dies scheint also die Vergleichbarkeit der beiden Extraktionsmethoden zu gewährleisten. Die Extraktionsmethode, bei der scharfer Würzsenf (kommerzieller Senf) verwendet wird, wird hinsichtlich der Dichte als weniger effizient als CITA und Formaldehyd eingeschätzt (Pelosi et al. 2009). Senfmehl ist speziell wirksam bei der Extraktion von anözischen Würmern, wird aber als weniger geeignet angesehen, wenn eine genaue Bewertung der Regenwurmgemeinschaften erforderlich ist (Singh et al., 2015). Laut Singh 2018 kann auch ein Extraktionsmittel auf der Basis von Zwiebelsaft verwendet werden, das genauso gut wie die anderen beiden (AITC und Formaldehyd) funktionieren würde. Die Herstellung der Zwiebelsaftlösung kann sich jedoch als mühsam erweisen (persönliche Mitteilung Claire Le Bayon, UniNE).
- *Extraktionszeit:* Die Wartezeiten für die chemische Extraktion variieren leicht je nach Methode und verwendetem Extraktionsmittel. Sie liegen in einem Zeitrahmen von 30 bis 45 Minuten (siehe Excel-Tabelle in Anhang 8.1 zu den Methoden für weitere Einzelheiten).
- *Reihenfolge der Extraktionsverfahren:* Die ISO-Methode ist die einzige Methode, die die Regenwürmer vor der chemischen Extraktion von Hand aussortiert. Die anderen Methoden (ADEME, Agroscope, UniNE) empfehlen das umgekehrte Verfahren, also

die chemische Extraktion vor der manuellen Sortierung, was für Böden in den gemässigten Breiten besser geeignet zu sein scheint (Cluzeau et al., 2009). Ausserdem scheint es, dass anözische Würmer schwieriger zu fangen sind, wenn die manuelle Extraktion zuerst durchgeführt wird (persönliche Mitteilung Claire Le Bayon, UniNE).

- *Nur manuelle Extraktion:* In den Programmen BISQ und AgrInnov wird nur die manuelle Extraktion (Würfel mit Spaten) durchgeführt. Die Anzahl der gesammelten Regenwürmer ist in diesem Fall geringer als die Anzahl der Regenwürmer, die mit kombinierten Extraktionen gefangen wurden. Vor allem anözische Würmer werden nicht gefangen (persönliche Mitteilung Claire Le Bayon, UniNE und Claudia Maurer, Amt für Landwirtschaft und Natur des Kantons Bern). Die Extraktion mit dem Spatenwürfel ist jedoch einfacher und schneller durchzuführen.
- *Wahl der Konservierungsflüssigkeit:* 4 %-ige Formalinlösung oder 70 %-iges Ethanol sind die beiden empfohlenen Konservierungsflüssigkeiten, um die Regenwürmer bis zur Analyse aufzubewahren und zu archivieren. Formaldehyd ist giftiger als Ethanol, hat aber den Vorteil, dass es die Farbe der Würmer erhält, was bei Ethanol nicht der Fall ist. Formaldehyd erleichtert also die morphologische Identifizierung von Regenwürmern. Aufgrund seiner Toxizität müssen geeignete Schutzmassnahmen ergriffen werden. Die Verwendung im Feld wird nicht empfohlen. Alkohol ist weniger giftig, was für die Manipulation im Feld von Vorteil ist. Für den Fall, dass molekulargenetische Analysen (z. B. DNA-Barcoding und -Metabarcoding) in Betracht gezogen werden, wird Ethanol (95 %) generell als Konservierungsflüssigkeit empfohlen, da Formaldehyd DNA-Schäden verursachen kann.
- *Anzahl der Proben (Replikate):* Die Anzahl der Replikate pro Standort variiert sowohl innerhalb einer Methode (z. B. Agroscope-Methode mit 6 bis 10 Replikaten) als auch zwischen den Methoden. Abhängig von der Bodenart werden beispielsweise 6 Replikate in einheitlicheren landwirtschaftlichen Gebieten empfohlen, während 10 Replikate für Waldstandorte vorgeschlagen werden

(Agroscope, 2015). In Auengebieten sind nur 3 Replikate vorgesehen (persönliche Mitteilung Claire Le Bayon, UniNE). Die finanziellen und zeitlichen Ressourcen, die für die Durchführung der Analyse zur Verfügung stehen, sind ebenfalls zu berücksichtigen (siehe Kapitel 4.1.2).

### 3.2.5 Messgrössen

Nachdem die Regenwürmer auf dem Feld gesammelt wurden, werden sie im Labor gezählt und anhand ihrer Morphologie identifiziert. In der Regel sind die gemessenen Parameter:

- Die **Gesamtabundanz** (Anzahl der Individuen/m<sup>2</sup>); auch möglich, aber seltener: Abundanz pro m<sup>3</sup>.
- Die **Gesamtbiomasse** (g/m<sup>2</sup>); ebenfalls möglich, aber seltener: Biomasse pro m<sup>3</sup>.
- Der **Artenreichtum** (Anzahl der Arten).
- Die **Abundanz** nach ökologischen Kategorien (Anzahl der Individuen/m<sup>2</sup> für anözische, endogäische und epigäische Arten) oder nach definierten taxonomischen Gruppen.
- Die **Altersstruktur** der Population (z. B. Verhältnis Erwachsene/Juvenile).
- Die **Diversität** und Gleichwertigkeit (relative Bedeutung von Arten oder ökologischen Kategorien)

Die ersten vier Parameter (Abundanz, Biomasse, Artenreichtum und Abundanz nach ökologischen Kategorien) sind die am häufigsten gemessenen unter den fünf aufgelisteten Methoden.

Weniger häufig werden auch folgende Parameter erhoben (ISO 23611-1, 2018):

- Der Dominanzkoeffizient (in Prozent der Population, statistischer Wert).
- Morphologische Veränderungen bei Individuen.
- Die Anzahl und Biomasse der oberirdischen Turrikel (nb/m<sup>2</sup> oder g/m<sup>2</sup>) (Forschungsprojekte und persönliche Mitteilung Claire Le Bayon, UniNE; Pfiffner, 2013).

Die erhaltenen Ergebnisse werden als Gesamt-abundanz oder Biomasse der Individuen pro Probe ausgedrückt, d.h. als Summe der Anzahl der Regenwürmer oder ihrer Masse, die bei der chemischen und manuellen Extraktion erhalten wurde (Summe der beiden Proben). Die Ergebnisse werden dann in die Anzahl der Individuen oder die Biomasse pro m<sup>2</sup> umgerechnet, indem ein Korrekturfaktor entsprechend der beprobten Probenahmefläche angewendet wird (Korrekturfaktor 4 für eine Probenahmefläche von 0,25 m<sup>2</sup>, z. B.). Ein Korrekturfaktor kann auch angewendet werden, um den Massenverlust durch die Konservierungslösung und den Gehalt an Bodenpartikeln im Verdauungssystem der Würmer zu korrigieren (ISO 23611-1, 2018).

### 3.2.6 Einschränkungen

- *Saisonalität:* In gemässigten Regionen ist die Regenwurm-Probenahme im Frühling (nach dem Winter) und im Herbst am besten, da in diesen Jahreszeiten die Regenwürmer am aktivsten sind. Die Probenahme erfolgt in der Regel Ende März bis Anfang Mai für den Frühling und Mitte September bis Ende Oktober/Anfang November für den Herbst, je nach Höhenlage und Wetterbedingungen. Optimal ist es, morgens zu arbeiten, da zu dieser Zeit die Regenwürmer am aktivsten sind (persönliche Mitteilung Claire Le Bayon, UniNE).
- *Klimatische Bedingungen:* Extrembedingungen sollten vermieden werden: Bodenfrost/zu niedrige Bodentemperaturen, starke Sonneneinstrahlung/hohe Temperaturen (minimale Lufttemperatur > 5° C mit einem Optimum bei 10° ± 3° C) (Agroscope, 2015), sehr trockene Bedingungen/niedrige Bodenfeuchtigkeit, da diese den Starrezustand der Regenwürmer induzieren und die Anzahl der gesammelten Individuen negativ beeinflussen. Chemische Extraktionen in wassergesättigten Böden sollten ebenfalls vermieden werden, da die Extraktionsflüssigkeit nur schwer eindringen kann.
- *Topografie:* Die Methodik der chemischen Extraktion eignet sich für flaches Gelände und Böden mit leichtem bis mässigem Gefälle. Für starkes Gefälle ist sie nicht geeignet. Denn Hanglagen oder Bergregionen eignen sich aufgrund des Abfließens der Extraktionslösung nur schwer für die Bewässerung (persönliche Mitteilung Claire Le Bayon, UniNE und Claudia Maurer, Amt für Landwirtschaft und Natur des Kantons Bern). Extreme Bedingungen, z. B. Hochgebirge und starke Steigungen, sollten daher vermieden werden.
- *Störungen:* Vermeiden Sie Störungen, wie Verdichtungen, Trittschäden, Fahrspuren, Radabdrücke, Kuhfladen, usw. Es empfiehlt sich nicht direkt nach der Ernte oder landwirtschaftlichen Arbeiten zu beproben (z. B. mindestens 24 Stunden nach dem Mähen oder Düngen und 2 bis 3 Monate nach dem Pflügen oder anderer intensiver Bodenbearbeitung warten) (Agroscope, 2015).
- *Wassermenge für die chemische Extraktion:* Die chemische Extraktion erfordert grosse Wassermengen unabhängig vom verwendeten Extraktionsmittel (siehe Anhang 8.1). Je nach Methode werden zwischen 10 und 30 l Wasser für jede Probefläche (Replikat) benötigt, was zu einem endgültigen Wasservolumen von 60 bis 100 l pro Probefläche führt, je nach Anzahl der gewählten Replikate. Solche Wassermengen können eine Schwierigkeit für Standorte darstellen, die nur schwer motorisiert zu erreichen sind (wie z. B. Standorte in den Bergen).
- *Senfmehl:* Das Dispergieren von Senfmehl in Wasser ist mühsam (die Suspension muss mehrere Stunden vor der Probenahme erfolgen). Ausserdem kann die Konzentration an flüchtigem Öl je nach Sorte der für das Mehl verwendeten Senfkörner variieren, was zu Unterschieden in der Extraktionsfähigkeit führen kann.
- *Formaldehyd:* Formaldehyd ist giftig und bei seiner Verwendung müssen geeignete Vorsichtsmassnahmen getroffen werden (geeignete Schutzausrüstung, Abzugshaube usw.).

## 3.2.7 Benötigte Ressourcen

### 3.2.7.1 Zeitliche Ressourcen und erforderliches Fachwissen

In Tabelle 4 werden die erforderliche Zeit sowie das erforderliche Fachwissen geschätzt. Die zeitlichen Ressourcen bezieht sich auf die Zeit, die eine Person benötigt, um die Arbeit für 1 Replikat (= 1 Probefläche) durchzuführen. Die Reisezeit zum Untersuchungsort wird hier nicht berücksichtigt.

Insgesamt sind für einen Standort für die Durchführung der gesamten Methode (Probenahme und Analyse) etwa 9 Stunden effektive Arbeitszeit erforderlich, angenommen, dass 3 Replikate pro Standort gemacht werden.

| Vorgehen für 1 Replikat                              | Gesamtdauer/effektive Dauer <sup>1</sup> | Erforderliches Fachwissen |
|--|--|---------------------------|
| <b>Phase 1 – Entnahme/Extraktion</b>                 |  |                           |
| <i>Chemische Extraktion</i>                          | 30 – 45 min                              | +                         |
| <i>Manuelle Sortierung (Spatenwürfel)</i>            | 15 – 30 min                              | +                         |
| <b>TOTAL Entnahme</b>                                | <b>~1 h</b>                              |                           |
| <b>Phase 2 – Morphologische Analysen<sup>2</sup></b> |  |                           |
| <i>Abundanz gesamt</i>                               | 5 min                                    | +                         |
| <i>Biomasse gesamt</i>                               | 5 min                                    | +                         |
| <i>Artenvielfalt</i>                                 | 90 min                                   | ++                        |
| <i>Abundanz nach ökologischer Kat.</i>               | 15 min                                   | +(+)                      |
| <b>TOTAL Analyse</b>                                 | <b>~2 h</b>                              |                           |
| <b>TOTAL Methode</b>                                 | <b>~3 h<sup>3</sup></b>                  |                           |

Tabelle 4: Zeitliche Ressourcen und Fachwissen, die für die Untersuchung der Regenwürmer benötigt werden (Aufgabe wird von 1 Person für 1 Replikat durchgeführt). Berücksichtigte Fläche für die chemische Extraktion: 0,25 m<sup>2</sup>, berücksichtigtes Volumen für die manuelle Sortierung: Bodenblock mit den Massen 0,2 × 0,2 × 0,2 m.

<sup>1</sup> 1 Replikat = 1 Probenahmestelle

+ = Grundkenntnisse; ++ = fortgeschrittene Kenntnisse; +++ = Spezialist:in

<sup>1</sup> Bei Regenwürmern beinhalten die verschiedenen Prozeduren keine Wartezeiten, sodass die Gesamtarbeitszeit auch die tatsächliche Arbeitszeit darstellt.

<sup>2</sup> Es wurden nur die am häufigsten gemessenen Parameter berücksichtigt.

<sup>3</sup> zwischen 2.40 und 3.10 Uhr

### 3.2.7.2 Material und geschätzte Kosten

- **Spezifische Ausrüstung:** Für die Untersuchung von Regenwürmern ist keine spezifische Ausrüstung erforderlich, ausser einer Binokularlupe (Durchschnittspreis 700 CHF) für die morphologische Identifizierung und einer Präzisionswaage für die Messung der Biomasse (Durchschnittspreis 130 CHF) sowie übliche Feld- und Laborausrüstung (Thermometer, Siebe ...).
- **Verbrauchsmaterialien:** Die wichtigsten Materialien sind das gewählte Extraktionsmittel (ITA, Formaldehyd, Senfmehl oder Zwiebelsaft), das Material zur Durchführung der Extraktion (Regenschaukeln, Giesskannen, Metallrahmen) und die Behälter (Plastikflaschen) und Konservierungsflüssigkeit (Formaldehyd oder Ethanol) zur Aufbewahrung der Regenwürmer.

Dafür werden folgende Kosten geschätzt:

| Regenwürmer (morphologische Analyse)  | Preis ca. CHF |
|---|---------------|
| Kosten für die Investition  | 1300.00       |
| Verbrauchsmaterialien (1 Replikat; Verwendung von AITC als Extraktionsmittel) | 7.50          |

Tabelle 5: Geschätzte Kosten für Materialien zur Entnahme von Regenwürmern.

Ein Vergleich der geschätzten Kosten für die drei Extraktionsmittel zeigt, dass ITA am günstigsten ist (die Kosten wurden anhand der Menge der Substanz berechnet, die für 10l Lösung benötigt wird):

AITC (1g; 0.13 CHF) < Formaldehyd (25ml; 0.19 CHF) < Senfmehl (120g; 1.20 CHF).

Details zu Kosten, Lieferanten und Ausstattung (z. B. Stereomikroskop) finden Sie im Anhang (Anhang 8.2).

### 3.2.8 Zusammenfassung der Methodik zur Bestimmung von Regenwürmern

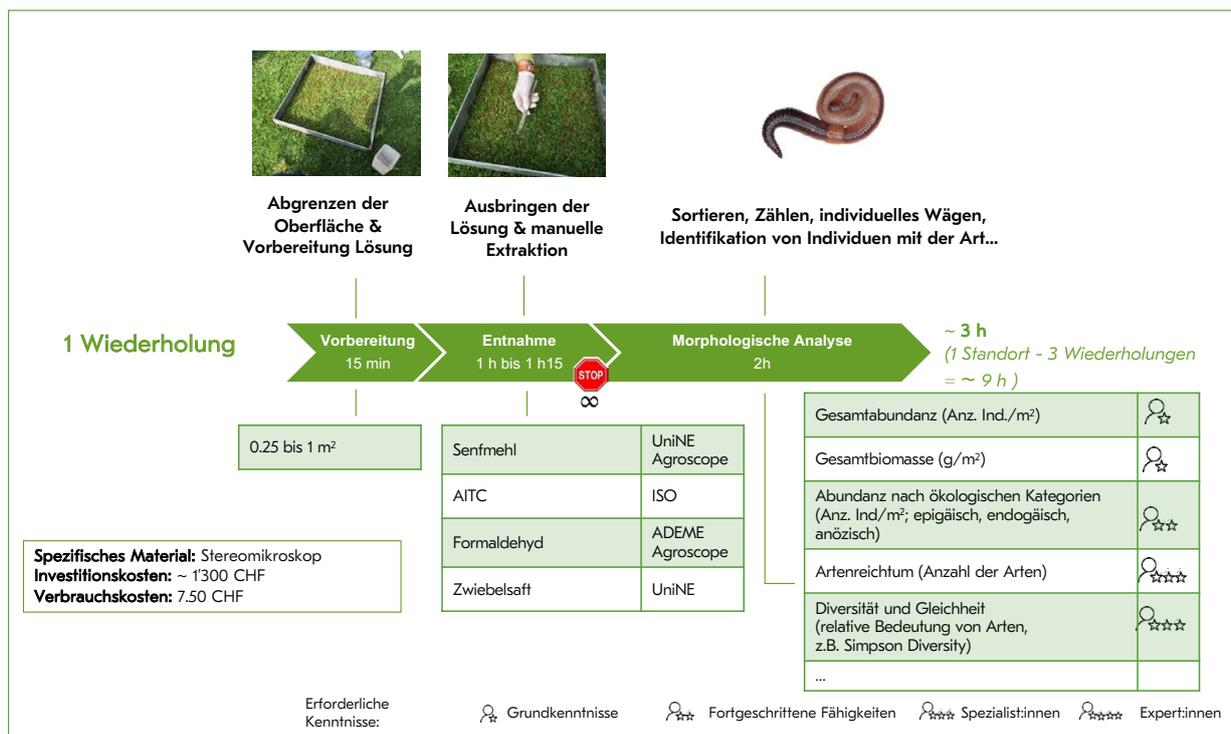


Abbildung 5: Zusammenfassung der methodischen Verfahren für Regenwürmer. Das «Stop»-Zeichen gibt die maximale Dauer der möglichen Probenlagerung zwischen den einzelnen Phasen an (∞ = mögliche Lagerung für einen langen Zeitraum, d. h. mehrere Monate) (Abbildung von S. Campiche, präsentiert am KOBO-Synthese-Workshop im August 2020).

### 3.3 Mikroarthropoden (Springschwänze und Milben)

Die Mikroarthropoden gehören zum Stamm der Gliederfüßer (Arthropoden). Sie weisen im ausgewachsenen Zustand eine Gesamtlänge von wenigen Millimetern auf. Sie werden hauptsächlich durch Milben und Springschwänze (Collembola) repräsentiert (Abbildung 6). Milben und Springschwänze stellen die grössten Gruppen der Mikroarthropoden im Boden dar, mit bemerkenswertem Artenreichtum. Weltweit sind mehr als 45 000 identifizierte Arten von Milben (unbeschriebenen Vielfalt: wahrscheinlich mehr als 80 000 Arten) und 7500 Arten von Springschwänze bekannt.

Zu den Mikroarthropoden gehören auch Larvenstadien und adulte geflügelte Insekten, Protouren (Beintastler), Diplouren (Doppelschwänze), Thysanouren (Zottenschwänze) und Pauropoden (Wenigfüßer). Sie durchlaufen ihren gesamten Entwicklungszyklus in der Bodenstreu und in den ersten Zentimetern des Mineralbodens, können

aber auch in der Rhizosphäre aktiv sein. Bodenmikroarthropoden sind als Räuber wichtige Regulatoren der Bakterien- und Pilzaktivität. Ausserdem sind sie Detritusfresser und werden oft als «Streuzerkleinerer» bezeichnet. Ihr Vorkommen ist stark an organisches Material gebunden. Milben werden im Allgemeinen in drei Hauptgruppen eingeteilt: Oribatida, Gamasida und Prostigmata.

Springschwänze wiederum können anhand morphologischer Kriterien in 3 funktionelle Gruppen, die epi-, hemi- und eu-hedaphischen, eingeteilt werden (Jeffery et al., 2010; Cortet, 2014; FAO, 2020).

Mikroarthropoden, insbesondere Milben und Springschwänze, sind nach Regenwürmern die am häufigsten verwendeten Organismen in den aufgelisteten Überwachungs- und Forschungsprogrammen (Kapitel 3.1).



Abbildung 6: Foto einer Milbe (links) und eines Springschwanzes (rechts) (Foto: A. Murray, Licence: CC BY-SA 2.0).

| Aufgeführte Methoden                            | Monitoring- und Forschungsprogramm                  |
|---|---|
| ISO 23611-2 <sup>1</sup> (Extraktion MacFadyen) | ENVASSO; EcoFINDERS; Bioindicateurs II; RMQS BioDiv |
| Tullgren Trichter <sup>2, 3</sup>               | BISQ; Countryside survey <sup>4</sup>               |

Tabelle 6: Methoden zur Bewertung von Springschwänzen und Milben (Mikroarthropoden) die in Monitoring- und Forschungsprogrammen verwendet werden.

Referenzen:

- <sup>1</sup> ISO 23611-2:2006. Soil quality – Sampling of soil invertebrates Part 2: Sampling and extraction of micro-arthropods (Collembola and Acarina).
- <sup>2</sup> Rutgers et al., 2009 (BISQ) und Emmett et al., 2010 (Countryside survey).

Anmerkung:

- <sup>3</sup> Die Tullgren-Trichter-Methode (oder Berlese-Funnel oder auch Berlese-Tullgren-Funnel) wird auch in der ISO als alternative Methode zur Extraktion von Mikroarthropoden aus dem Boden erwähnt.
- <sup>4</sup> In den Programmen BISQ und Countryside wird die ISO nicht ausdrücklich als Referenzmethode genannt. Dies ist darauf zurückzuführen, dass diese beiden Programme gestartet wurden, bevor die ISO offiziell verfügbar war.

### 3.3.1 Aufgeführte Methoden

Mikroarthropoden werden in den Monitoring- und Forschungsprogrammen ENVASSO, EcoFINDERS, BDF BW, Bioindikatoren II, RMQS BioDiv, BISQ und Countryside Survey eingesetzt (Kapitel 3.1). Die darin verwendeten Methoden werden im Folgenden beschrieben (Tabelle 6). Ausgenommen ist die Methode, die im Programm BDF BW verwendet wurde, da hierzu keine detaillierten Informationen gefunden werden konnten. Generell befindet sich die Verwendung von Mikroarthropoden als Indikatoren für die Biodiversität von Böden in europäischen und schweizerischen Forschungsprojekten noch in der Entwicklungsphase (Kapitel 3.1.3 und 3.1.1).

Die grundlegende Methodik für die Untersuchung von Bodenmikroarthropoden ist für beide Methoden, die in den Monitoring- und Forschungsprogrammen identifiziert wurden, gleich. Das allgemeine methodische Prinzip und die methodischen Unterschiede werden in den beiden folgenden Kapiteln beschrieben.

### 3.3.2 Methodisches Grundprinzip

#### Morphologische Analyse

Das methodische Grundprinzip besteht aus drei Phasen (Abbildung 7):

1. Die Entnahme von ungestörten Bodenbohrkernen vor Ort, das Schneiden in Scheiben und die individuelle Konservierung der Scheiben.
2. Die Extraktion der Mikroarthropoden aus den Bodenkernen im Labor. In der Regel wird eine verhaltensbasierte Extraktionsmethode verwendet. Sie basiert auf einer Trockenextraktion mit Wärmezufuhr (z.B. MacFadyen oder Tullgren Trichter). Diese Technik beruht auf der Erzeugung eines Temperaturgradienten zwischen einem warmen Behälter mit der Bodenprobe und einer kalten Vorrichtung zum Sammeln der Mikroarthropoden. Die Mikroarthropoden werden vor dem Temperaturanstieg und der Trockenheit des Bodenbohrkerns in den kalten Sammelbehälter fliehen.
3. In der dritten Phase erfolgt die Auszählung der Mikroarthropoden unter dem Stereomikroskop, die Identifizierung unter dem Mikroskop nach Präparation und Montage auf einem Objektträger für die Mikroskopie.



Abbildung 7: Methodisches Grundprinzip für die Untersuchung von Mikroarthropoden.

### Molekuläre Analysen

Die oben genannten Monitoring- und Forschungsprogramme nutzen die morphologische Analyse zur Identifizierung von Mikroarthropoden. In der Schweiz leitet Dr. Jürg Enkerli von der Forschungsgruppe für molekulare Ökologie an der Agroscope ein Forschungsprojekt zur Biodiversität von Mikroarthropoden in Schweizer Böden. Die Gruppe versucht, molekulare Analysetechniken (DNA-Metabarcoding) zur Identifizierung zu entwickeln.

Dieses Verfahren und die entstehenden Kosten werden in diesem Bericht nicht detailliert beschrieben. Es ist davon auszugehen, dass diese ähnlich wie bei Nematoden und Protisten sind. Daher kann zum Vergleich auf die molekulare Analyse dieser Organismen verwiesen werden (Kapitel 3.4.2, 3.4.7, 3.5.1 und 3.5.5).

### 3.3.3 Methodische Unterschiede

Die Unterschiede zwischen den beiden Methoden («ISO» MacFadyen und Tullgren Trichter) betreffen vor allem die Extraktionsphase (Phase 2), in der verschiedene Geräte für die trockene Wärme-gradientextraktion verwendet werden können (Tabelle 7).

| Methode                            | Durchmesser des Bohrkerens <sup>1</sup><br>und Tiefe der Probenahme  | Anzahl<br>der Bohrkerne<br>pro Standort | Extraktionstechnik  |
|------------------------------------|--|---|---|
| <b>ISO 23611-2<br/>(MacFadyen)</b> | ø 5,6 cm,<br>Mehrere 5-cm-Scheiben in verschiedenen Tiefen <sup>2</sup> :<br>– Humushorizont mit Streu<br>– mineralischer Horizont in 0–5 cm und 5–10 cm | Min. 3                                  | MacFadyen   |
| <i>Alternativ</i>                  |  |   | – Berlese-Tullgren-Trichter<br>– Extraktion von Kempson <sup>3</sup> ,<br>wenn nur Streu gesammelt<br>wird.<br>– Flotation mit Heptan |
| <b>Tullgren Trichter</b>           |  |   |   |
| BISQ                               | ø 5,8 cm, 3 Scheiben von 2,5 cm Dicke  | 3*6                                     | Tullgren Trichter   |
| Countryside Survey                 | ø 4 cm, 8 cm Bodentiefe  | 5                                       | Tullgren Trichter   |

Tabelle 7: Unterschiede zwischen den Mikroarthropoden-Methoden (ISO 23611-2 und Tullgren Trichter).

<sup>1</sup> Verwendung eines geschichteten Kernbohrers (split soil corer), ungestörter Bodenkern.

<sup>2</sup> Die ISO und das ENVASSO-Programm empfehlen die Trennung des Humushorizonts vom Mineralhorizont. Das Programm Bioindicator II entnimmt nur die ersten 5 Zentimeter des Bodens (ø 5 cm, Tiefe 0–5 cm; 4 Bohrkerne). Das RMQS-Programm BioDiv entnimmt Proben bis zu einer Tiefe von 15 cm (3 Tiefen: 0–5, 5–10 und 10–15 cm), wenn dies in der Praxis möglich ist.

<sup>3</sup> Die Kempson-Extraktion funktioniert nach demselben Prinzip wie die MacFadyen-Extraktion, mit der Ausnahme, dass das Kühlsystem bei der Kempson-Extraktion ein Kaltwasserbad verwendet, während bei der MacFadyen-Extraktion feuchte Kaltluft eingesetzt wird. Bei der Berlese-Tullgren-Trichter-Extraktion wird ein vereinfachtes Temperaturgradientensystem verwendet. In der Regel wird eine Glühbirne als Heizkörper verwendet und über dem oberen Behälter mit der Bodenprobe platziert. Der untere Behälter, in dem die Organismen gesammelt werden, bleibt bei Raumtemperatur.

### 3.3.4 Zu beachtende Punkte

- *Bodenschichten:* Falls nötig, kann die Schichtdicke des entnommenen Bohrkerns angepasst werden (z. B. dünnere Schichten herstellen). Jede Bodenschicht wird einzeln in einem Plastikröhrchen gesammelt, um die Struktur der Probe nicht zu stören.
- *Streu:* Falls nur die Streu gesammelt wird, wird die Streu auf einer Fläche von  $25 \times 25 \times 15$  cm entnommen, wobei zur Abgrenzung ein Metallrahmen mit scharfer Kante verwendet wird.
- *Extraktionsverfahren:* Die Methode mit trockener Wärmegradientextraktion (MacFadyen-Extraktion oder dann Tullgren Trichter) wird in der Regel alternativen Methoden wie der Heptan-Flotation vorgezogen. Diese Methode ist jedoch nur für lebende, aktive Stadien wirksam, mit einer durchschnittlichen Extraktionseffizienz von 75 % bis 80 %. Eier, ruhende Stadien und Organismen, die in Pflanzenresten eingeschlossen sind, werden mit dieser Technik nicht extrahiert. Wenn die Verhaltensmethode nicht angewendet werden kann z. B. bei sehr lehmigen oder schlammigen Böden, kann die Heptan-Flotationsmethode angewendet werden. Da Heptan für die menschliche Gesundheit und die Umwelt giftig ist, müssen bei seiner Verwendung geeignete Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden. Diese Methode nutzt die Eigenschaften der Kutikula der Arthropoden, um an Heptan zu haften. Wenn nur die Einstreu entnommen wird, wird ein Kempson-Extraktor empfohlen (ISO 23611-2, 2006).
- *Simultane Extraktion:* Mit dem MacFadyen-Extraktor können mehrere Bodenproben parallel extrahiert werden (je nach Gerät meist zwischen 48 und 84 Proben).
- *Extraktionszeit:* Die Zeit, in der die Mikroarthropoden aus der Bodenprobe extrahiert werden, variiert je nach verwendeter Technik. Die Extraktion der Organismen mit einem MacFadyen-Extraktor dauert 9–10 Tage (ISO 23611-2, 2006) und mit der Tullgren-Trichter-Extraktion 7 Tage (Rutgers et al., 2006). Die Heptan-Flotationsextraktion erfordert einen halben Tag.
- *Morphologische Analysen:* Die morphologische Analyse, insbesondere von Milben,

erfordert eine Vorbereitungsphase, bevor die Mikroarthropoden unter dem Mikroskop betrachtet werden können. So ist bei älteren Exemplaren manchmal eine Aufhellung/Depigmentierung erforderlich, um die Identifizierung zu ermöglichen. Die Depigmentierung kann je nach Milbengruppe mehrere Tage dauern. Bei Astigmata ist eine Depigmentierung nicht erforderlich.

### 3.3.5 Messgrößen

Nach der Extraktion der Mikroarthropoden aus den Bodenbohrkernen werden ihre Abundanz und Diversität mittels einer Binokularlupe und Lichtmikroskop im Labor bestimmt. Dabei werden die folgenden Parameter verwendet:

*Mikroarthropoden im Allgemeinen (Springschwänze, Milben und andere Mikroarthropoden):*

- Die Gesamtabundanz von Mikroarthropoden (Anzahl der Individuen/m<sup>2</sup>, seltener pro Volumen oder Trockengewichtseinheit des Bodens).
- Anzahl der Arten oder anderer taxonomisch oder ökologisch definierter Gruppen
- Diversitätsindizes (Alpha- [Artenreichtum], Beta- oder Gamma-Diversität [Struktur und Zusammensetzung der Gemeinschaften]).

*Milben:*

- Die Gesamtabundanz (Anzahl der Individuen/m<sup>2</sup>).
- Die Abundanz der drei Milbengruppen: Oribatida, Gamasida und Prostigmata (Anzahl der Individuen/m<sup>2</sup>).

*Springschwänze:*

- Die Gesamtabundanz (Anzahl der Individuen/m<sup>2</sup>).
- Die Abundanz für die 3 funktionellen Gruppen: epi-, hemi- und eu-hedaphisch (Anzahl der Individuen/m<sup>2</sup>).
- Der spezifische Reichtum (Anzahl der Arten)
- Die Artenvielfalt (Diversitätsindex z. B. Shannon-Index, Equity-Index, etc.)

Die Gesamtzahl der Individuen (oder Arten oder Gruppen von Individuen) sollte pro Bohrkern übertragen werden, d.h. als Summe der Individuenzahlen, die für alle untersuchten Teilkern erhalten wurden. Die Ergebnisse werden dann als Gesamtabundanz von Individuen/m<sup>2</sup> ausgedrückt (Umrechnungsfaktor 509 für einen Kerndurchmesser von z. B. 5 cm). Wenn die Abundanz der Individuen in Einheiten des Bodentrockengewichts ausgedrückt werden soll, ist eine Trocknung der Probe bei 105°C nach der Extraktion der Individuen erforderlich.

- \_ *Lagerdauer:* Die Extraktion mit verhaltensbasierten Methoden sollte vorzugsweise am Tag der Probenahme durchgeführt werden, kann bis zu maximal vier Tage verschoben werden (ISO 23611-2, 2006).
- \_ *Identifizierung der Milben (morphologische Analyse):* Angesichts der grossen Vielfalt der Milben (mehr als 45000 identifizierte Arten) ist die Identifizierung der einzelnen Arten äusserst komplex. Weltweit gibt es nur wenige Experten.

### 3.3.6 Einschränkungen

- \_ *Saisonalität:* Die Probenahme sollte vorzugsweise im Frühjahr durchgeführt werden.
- \_ *Extreme klimatische Bedingungen:* Die Methode eignet sich nicht für Böden unter extremen klimatischen Bedingungen (harte, gefrorene oder überschwemmte Böden, Dürre).

### 3.3.7 Notwendige Ressourcen

#### 3.3.7.1 Zeitliche Ressourcen und Fachwissen

Im Folgenden werden der zeitliche Aufwand und das erforderliche Fachwissen abgeschätzt (Tabelle 8). Sofern nicht anders angegeben, berücksichtigt der zeitliche Aufwand jene Zeit, die von einer Person benötigt wird, um die Arbeit für 1 Probe (=1 Schicht des Bodenkerns) durchzuführen. Die Anreisezeit zum Untersuchungsort, die Vorbereitung und der Aufbau auf dem Feld werden hier nicht berücksichtigt.

| Verfahren für 1 Probe  | Gesamtdauer  |                 | Effektive Dauer                          |                 | Fachwissen |                 |
|--|--|-----------------|--|-----------------|------------|-----------------|
|  | Milben   | Spring-schwänze | Milben                                   | Spring-schwänze | Milben     | Spring-schwänze |
| <b>Phase 1 – Entnahme</b><br>Für einen Bohrkern  | 5 min <sup>1</sup>                                     |                 | 5 min <sup>1</sup>                       |                 | +          |                 |
| <b>Phase 2 – Extraktion</b><br><i>MacFadyen</i><br><i>oder Tullgren Trichter</i>   | 10 Tage <sup>1,2</sup><br>7 Tage <sup>1</sup>          |                 | 5 min <sup>1</sup><br>5 min <sup>1</sup> |                 | +<br>+     |                 |
| <b>Phase 3 – Morphologische Analysen</b><br><i>Sortieren der Mikroarthro.</i><br><i>Vorbereitung</i><br><i>Identifizierung</i><br><b>TOTAL Analyse</b> | 30 min <sup>1</sup><br>1 bis 7 Tage <sup>3</sup><br>2h | 5 min<br>2h     | 30 min <sup>1</sup><br>10 min<br>2h      | 5 min<br>2h     | ++<br>++++ | ++<br>+++       |
| <b>TOTAL Methode</b><br><i>MacFadyen</i><br><i>oder Tullgren Trichter</i>  | 11 bis 17 Tage<br>8 bis 14 Tage                        |                 | 5h<br>5h                                 |                 |            |                 |

Tabelle 8: Erforderliche Zeit und Expertise für die Untersuchung von Mikroarthropoden (Aufgabe von 1 Person für 1 Probe).

1 Probe=1 Scheibe des Bodenkerns.

+ = Grundfertigkeiten; ++ = fortgeschrittene Fertigkeiten; +++ = Spezialist; ++++ = Experte

<sup>1</sup> Gemeinsames Verfahren für Milben und Springschwänze.

<sup>2</sup> Es können mehrere Extraktionen gleichzeitig durchgeführt werden (48 bis 84 Proben je nach Gerät).

<sup>3</sup> Vom Alter der Exemplare oder Sklerotisationsgrad abhängig.

### 3.3.7.2 Material und geschätzte Kosten

- **Spezifisches Material:** Das benötigte spezifische Material umfasst einen laminierten Kernbohrer (Durchschnittspreis 850 CHF) und Zubehör (Röhrchen), einen MacFadyen-Extraktor (von der ISO empfohlene Extraktionstechnik; Durchschnittspreis 15 000 CHF, erhältlich bei [www.ecotech.de](http://www.ecotech.de)), eine Heizplatte (Durchschnittspreis 500 CHF), eine Binokularlupe (Durchschnittspreis 700 CHF) und ein Phasenkontrastmikroskop für die morphologische Identifizierung (Durchschnittspreis 2000 CHF).
- **Verbrauchsmaterial:** Das Verbrauchsmaterial umfasst Chemikalien zur Fixierung/Konservierung der Organismen (Von-Törne-Flüssigkeit, Ethanol), Verbrauchsmaterial (Objektträger und Deckgläser) und Medien zur Vorbereitung und Montage für die Beobachtung in der Lichtmikroskopie sowie Behälter zur Aufbewahrung der Organismen (Plastikfläschchen).

Für die Bestimmung von Mikroarthropoden werden die folgenden Kosten geschätzt:

| Mikroarthropoden (morphologische Analyse) | Preis ca. CHF |
|---|---------------|
| Investitionskosten                        | 19 000.00     |
| Verbrauchsmaterial für eine Probe         | 16.50         |

Tabelle 9: Geschätzte Kosten für Hardware-Investitionen und Verbrauchsmaterialien für Mikroarthropoden.

Einzelheiten zu Kosten, Anbietern und materieller Ausstattung finden sich im Anhang (Anhang 8.2).

### 3.3.8 Zusammenfassung der Methodik zu Mikroarthropoden

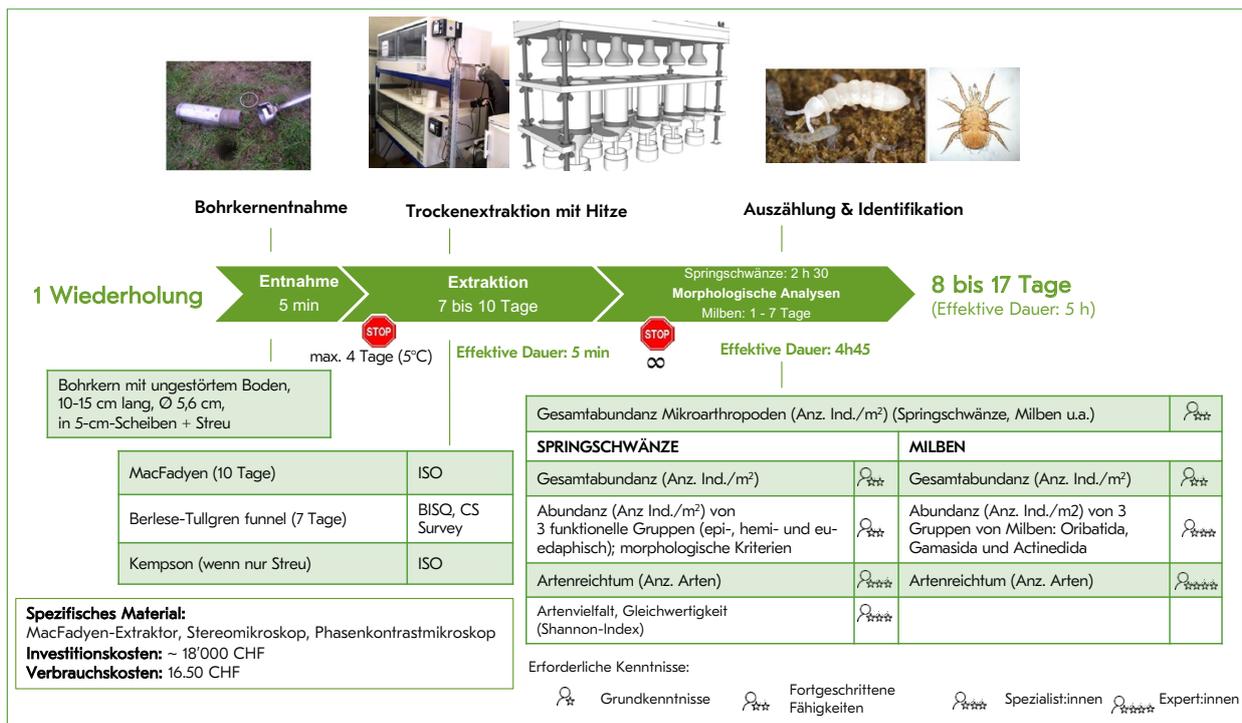


Abbildung 8: Zusammenfassung der methodischen Verfahren für Mikroarthropoden. Die «Stop»-Zeichen kennzeichnen die maximal mögliche Dauer der Probenlagerung zwischen den einzelnen Phasen (∞ = Lagerung über einen langen Zeitraum möglich, d. h. mehrere Monate) (Abbildung von S. Campiche, präsentiert auf dem KOBO-Workshop zu Bestimmungsmethoden August 2020).

### 3.4 Nematoden

Nematoden (auch Fadenwürmer, Protostomia, Nematoda) sind mikroskopisch kleine, etwa 1 mm lange Würmer, die im Boden leben (Abbildung 9). Sie sind Ubiquisten und kommen in allen Lebensräumen, Klimazonen und Breitengraden vor. Die Dichte der Nematoden liegt in einem gewöhnlichen Boden etwa bei 1 Million pro m<sup>2</sup>. Sie sind für das Bodenleben von entscheidender Bedeutung und spielen eine Schlüsselrolle in der trophischen Kette. Entsprechend ihrer Ernährung können Nematoden in verschiedene trophische Gruppen eingeteilt werden: phytophage (obligatorische oder fakultative) Nematoden, die Auskunft über die Art und den Zustand der Pflanzendecke und möglicherweise das Risiko von Ertragseinbußen geben; mikrobivore (bakterien- und pilzfressende) Nematoden, die Auskunft über das mikrobielle Kompartiment, die Dynamik der organischen Substanz und das Nährstoffrecycling geben; Nematoden höherer trophischer Ebenen (Allesfresser und Fleischfresser/Räuber), die physikalische oder chemische Störungen des Milieus widerspiegeln. Einige Nematoden sind Parasiten von Pflanzen oder Tieren (Villenave, 2014; Van den Hoogen et al., 2019; FAO, 2020). Diese vielfältigen Eigenschaften machen sie zu guten Bioindikatoren.

Nematoden werden in 8 der in Kapitel 3.1 genannten Forschungs- und Beobachtungsprogramme als Indikatoren verwendet: EcoFINDERS, Bioindicateurs II, RMQS BioDiv und AgrInnov aus Frankreich, dem BISQ-Überwachungsprogramm aus den Niederlanden und der Schweizer Forschung (Dr. Beat Frey, WSL). Im folgenden Abschnitt werden die verwendeten Bestimmungsmethoden beschrieben.



Abbildung 9: Bodennematode (Foto: Cristina Menta, Lizenz: CC BY 3.0)

### 3.4.1 Angeführte Methoden

In den identifizierten Monitoring- und Forschungsprogrammen wurden vier Methoden zur Untersuchung von Bodennematoden aufgelistet. Der Unterschied zwischen den Methoden besteht darin, dass einige eine morphologische Analyse der Nematoden durchführen, während die anderen eine molekulare Analyse vornehmen (Tabelle 10).

Die ISO- und ADEME-Methoden der Programme Bioindicators II, AgrInnov, BISQ und RMQS BioDiv führen eine morphologische Analyse der extrahierten Nematoden durch, während die Methoden des EcoFINDERS-Programms sowie die WSL (Dr. Beat Frey) molekulare Analyse verwenden. Dr. Beat Frey erforscht derzeit im Rahmen der Schweizer Biodiversitätsstrategie des BAFU zwei

verschiedene Möglichkeiten der molekularen Analyse für Nematoden: DNA-Metabarcoding (genetische Analyse von Nematodengemeinschaften aus einer Bodenprobe) und Environmental DNA Metabarcoding (eDNA) (genetische Analyse von Nematodengemeinschaften aus einer Rohbodenprobe; Methode in Entwicklung) mittels NGS. Die im Rahmen des EcoFINDERS-Programms (2011–2014) verwendete molekulare Analyseverfahren T-RFLP wird durch den Fortschritt der Techniken in diesem Bereich bereits als überholt angesehen. Auf diese Methode wird daher nicht weiter eingegangen.

Das allgemeine Prinzip für eine morphologische und eine molekulare Analyse (Sequenzierung von Amplikons) sowie die methodischen Unterschiede werden in den folgenden Kapiteln erläutert.

| Angeführte Methoden  | Forschungsprogramm  |
|--|---|
| <b>Morphologische Analysen</b><br>ISO 23611-4 <sup>1</sup><br>ADEME <sup>2</sup>                     | Bioindicateurs II; AgrINNOV; BISQ <sup>5</sup><br>RMQS BioDiv |
| <b>Molekulare Analysen</b><br>T-RFLP <sup>3, 6</sup><br>Amplikon-Sequenzierung (NGS) <sup>4, 7</sup> | EcoFINDERS<br>Schweizer Forschung (WSL)                       |

Tabelle 10: Gelistete Methoden zur Bewertung von Nematoden und Überwachungs- und Forschungsprogramme, die diese verwenden.

#### Referenzen:

- <sup>1</sup> ISO 23611-4: 2007. *Soil quality – Sampling of soil invertebrates – Part 4: Sampling, extraction and identification of soil-inhabiting nematodes (Bodenqualität – Probenahme von Bodenwirbellosen – Teil 4: Probenahme, Extraktion und Identifizierung von bodenbewohnenden Fadenwürmern).*
- <sup>2</sup> Cluzeau et al., 2009 («Cahier des méthodes»). *Die ADEME-Methode stützt sich für einen Teil des Verfahrens ebenfalls auf ISO 23611-4.*
- <sup>3</sup> Griffiths et al., 2016 und Donn et al., 2012 («EcoFINDERS»).
- <sup>4</sup> Resch et al., 2021; Frey, 2020 und persönliche Mitteilung Beat Frey, WSL.

#### Anmerkungen:

- <sup>5</sup> Das BISQ-Programm (Rutgers et al., 2009) berichtet den Entwurf der ISO 23611-4 (ISO/WD 23611-4: *Sampling, extraction and identification of free-living stages of nematodes, 2004*) als Methode für die Untersuchung von Nematoden. Die ISO 23611-4-Methode wurde daher als gelistete Methode ausgewählt.
- <sup>6</sup> T-RFLP: *Terminal-restriction fragment length polymorphism (Polymorphismus der Länge von terminalen Restriktionsfragmenten). Diese Technik ermöglicht es, den molekularen Fingerabdruck (Profil) einer Organismengemeinschaft zu erhalten, indem sie auf der Position einer Restriktionsstelle basiert, die einem markierten Ende eines amplifizierten Gens am nächsten liegt.*
- <sup>7</sup> *Amplicon Sequencing (NGS): Die Amplicon Sequencing ist eine Art der Hochdurchsatz-Sequenzanalyse (next generation sequencing (NGS)). Diese Methode nutzt die PCR, um DNA-Sequenzen, sogenannte Amplikons, zu erzeugen. Sie ermöglicht die schnelle Sequenzierung von Tausenden bis Millionen von DNA- oder RNA-Molekülen gleichzeitig und damit die Sequenzierung mehrerer Gene und mehrerer Individuen gleichzeitig.*

### 3.4.2 Methodisches Grundprinzip

#### Morphologische Analysen

Das methodische Grundprinzip besteht aus 3 Phasen (Abbildung 10):

1. Entnahme von Bodenbohrkernen im Feld, Bilden einer Mischprobe und das anschließende Sieben der Probe.
2. Extraktion der Nematoden aus einem Teil der Bodenprobe im Labor. Mehrere Extraktionsverfahren sind möglich. Sie basieren auf Sedimentationsverfahren, die eine Trennung von Bodenpartikeln und Nematoden nach ihrer Dichte ermöglichen, auf der Motilität der Nematoden und/oder auf aufeinanderfolgenden Filtrations- und Siebtechniken. Sie beziehen sich nur auf die beweglichen Formen der Nematoden.
3. Auszählen der Nematoden unter dem Stereomikroskop und die Identifizierung unter dem Mikroskop.

#### Molekulare Methoden (NGS)

Das methodische Prinzip besteht je nach verwendeter Technik (eDNA-Metabarcoding bzw. DNA-Metabarcoding) aus drei oder vier Phasen (Abbildung 11):

##### DNA-Metabarcoding

1. Die Entnahme von Bodenbohrkernen vor Ort und das Bilden einer Mischprobe.
2. Die Extraktion der Nematoden aus einer Fraktion der Bodenprobe im Labor (siehe Punkt Nr. 2 oben, Kapitel 3.4.2).
3. Die Extraktion von DNA aus den gesammelten Nematoden.
4. Amplifikation (PCR) eines DNA-Segments (= «Barcode») und Sequenzierung der DNA durch Next Generation Sequencing mit illumina MiSeq unter Verwendung von Nematoden-spezifischen Primern.

##### Metabarcoding von eDNA

1. Die Entnahme von Bodenkernen zur Bildung einer Mischprobe.
2. Die Extraktion von eDNA direkt aus der Bodenprobe (die Bodenproben können vor der Extraktion eingefroren werden).
3. Amplifikation (PCR) eines DNA-Segments (= «Barcode») und Sequenzierung der DNA durch Next Generation Sequencing (NGS) mit illumina MiSeq unter Verwendung von Nematoden-spezifischen Primern.



Abbildung 10: Methodisches Grundprinzip für die morphologische Untersuchung von Nematoden.

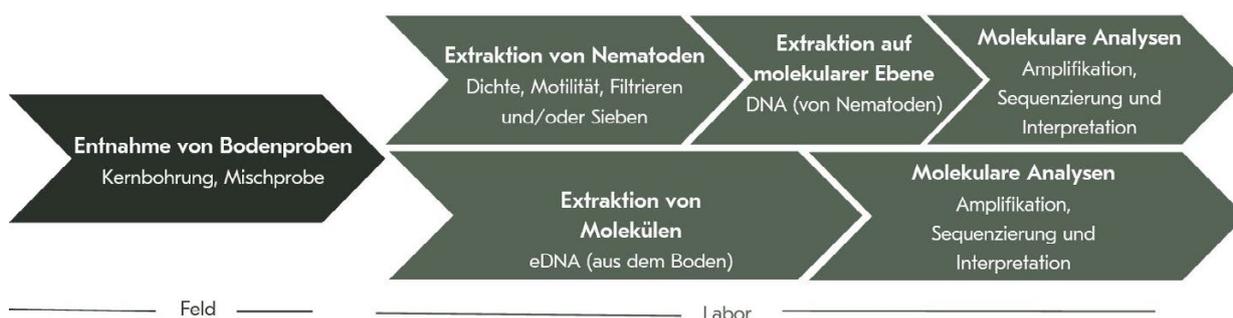


Abbildung 11: Methodisches Grundprinzip für die molekulare Untersuchung von Nematoden (DNA-Metabarcoding [obere Linie] und eDNA-Metabarcoding [untere Linie]).

### 3.4.3 Methodische Unterschiede

Neben dem Hauptunterschied bezüglich der Analysetechnik (morphologisch versus molekular) für die Untersuchung der Nematoden, gab es auch kleine methodische Abweichungen bei der Entnahme der Bodenproben und der Extraktion der Nematoden (DNA-Metabarcoding) (Tabelle 11).

Neben den oben genannten Methoden zur Extraktion von Nematoden gibt es noch weitere Methoden (siehe Abbildung 12, Kapitel 3.4.4): Einen Überblick gibt der 2013 von der European and Mediterranean Plant Protection Organisation herausgegebene Standard EPPO: PM 7/119 (1) «Nematode extraction». Dieser Standard listet die Vorgehensweisen auf und diskutiert die Vor- und Nachteile der wichtigsten Methoden zur Extraktion von Nematoden (speziell für Phytopathogene) in Pflanzenproben, Bodenproben und für zystische Formen von Nematoden im Boden (Zysten-nematoden) (EPPO, 2013).

| Methoden                  | Grösse der zusammengesetzten Stichprobe <sup>1</sup>     | Bewahrte Korngrössenfraktion | Extraktionstechnik   |
|---------------------------|--|------------------------------|--|
| ISO 23611-4               | 25 Bohrungen <sup>2</sup><br>(ø 2,3 cm, 10 – 15 cm tief) | < 8 mm                       | Oostenbrink-Elutriation (Dichte), dann sieben und filtern (Motilität, sieben/filtern).<br><i>Alternative: Baermann Trichter (Motilität) oder Seinhorst-Elutriation (Dichte).</i> |
| ADEME                     | 32 Bohrungen <sup>2, 3</sup><br>(ø 7 cm, 15 cm tief)     | < 6 mm                       | Seinhorst-Elutriation (Dichte), dann sieben und filtern (Motilität, sieben/filtern).<br><i>Cobb-Extraktion (sieben/filtern) für die 1. Messung.</i>                              |
| Molekuläre Methoden (NGS) | 8 Bohrungen <sup>4</sup><br>(ø 5 cm, 10 cm tief)         | n. d.                        | Elutriation Oostenbrink (Dichte) <sup>5</sup>  |

Tabelle 11: Hauptunterschiede in der Methodik, die für das Verfahren zur Entnahme von Bodenproben und zur Extraktion von Nematoden aus dem Boden aufgelistet wurden.

n. d. = nicht definiert.

<sup>1</sup> Erstellt durch einfache Bohrung.

<sup>2</sup> Pro 100 m<sup>2</sup>

<sup>3</sup> Für das Programm Bioindicator II wurden 4 × 12 Bohrkerne auf 100 m<sup>2</sup> entnommen, d. h. 48 Bohrkerne.

<sup>4</sup> Die Probenahme erfolgte auf einer Fläche von etwa 4 m<sup>2</sup>.

<sup>5</sup> Die Oostenbrink-Elutriation ist bei der molekularen Analyse von Nematoden durch eDNA-Metabarcoding nicht erforderlich. Beim DNA-Metabarcoding werden die Nematoden durch Elutriation Oostenbrink aus der Bodenprobe extrahiert. Zusätzliche Verfahren wurden nicht spezifiziert.

### 3.4.4 Zu beachtende Punkte (Entnahme und Extraktion von Nematoden)

- *Probenahmefläche:* Für die Probenahme wird nach ISO-Methode eine Fläche von 1 ha empfohlen (bzw. mindestens 0,5 ha), d.h. 100 Proben pro 1 ha. Angesichts des Umfangs der Aufgabe wird die Probenahmefläche oft auf 100 m<sup>2</sup> reduziert (RMQS-Programm BioDiv und Bioindicator II). Die Probenahmefläche sollte hinsichtlich der Bodeneigenschaften, der Vegetation und der Art der Landnutzung homogen sein (ISO 23611-4, 2007).
- *Stichprobengrösse:* Je mehr Bohrkerne die Mischprobe bilden, desto besser ist die Repräsentativität der Schätzung der Nematodenabundanz und -artenzusammensetzung (ein Maximum wird bei 300 Bohrkerne erreicht; 100 Bohrkerne pro ha werden von der ISO empfohlen [ISO 23611-4, 2007]). Für kleinere Gebiete (z.B. 100 m<sup>2</sup>) reichen etwa 25 Bohrkerne aus, um einen Überblick über die durchschnittliche Zusammensetzung der Nematoden am Standort zu erhalten und um genügend Bodenvolumen für die Extraktion zu sammeln. Das ist eine vergleichbare Grössenordnung wie bei der ADEME-Methode (d.h. 32 Bohrkerne pro 100 m<sup>2</sup>). Aus der gesiebten Mischprobe wird eine repräsentative Unterprobe entnommen, um die Extraktion der Nematoden durchzuführen (z.B. 1 l für die ISO-Methode).
- *Bodenvolumen für die Extraktion:* Das für die Extraktion erforderliche Bodenvolumen hängt von der verwendeten Technik ab. Mit den von der ISO, der ADEME und der NGS-Molekularanalyse empfohlenen Techniken können relativ grosse Bodenmengen auf einmal verarbeitet werden, d.h. bis zu 250 ml Boden (100 – 500 g).
- *Effektivität der Extraktionstechnik:* Leider gibt es keine pauschale ideale Extraktionstechnik. Das liegt daran, dass Nematoden unterschiedlich gross sind, sie unterschiedliche Motilitäten aufweisen und/oder die Bodenproben in ihrer Kompaktheit und dem Gehalt an organischer Substanz stark variieren können. Die Wahl der Technik hängt auch vom Zweck der Extraktion, der erforderlichen Effizienz, der Zeit und den verfügbaren finanziellen Mitteln ab (EPPO, 2013). Eine molekulare Analyse aus einer Rohbodenprobe durch Metabarcoding von eDNA könnte dem entgegenwirken. In Bezug auf Effizienz (Ausbeute) und Qualität, ist jedoch die Oostenbrink-Elutionsmethode sowohl nach ISO- als auch nach EPPO-Standards eine der effizientesten Methoden zur Extraktion von mobilen Bodennematoden. Bei der ISO-Methode werden bei der Extraktion drei Phasen zur Trennung von Bodennematoden kombiniert: Waschen (Dichte; Oostenbrink-Elutriation), sieben/filtern und aktive Bewegung (Motilität). Sie erfordert die kostenintensivste Ausrüstung und das grösste Wasservolumen. Die von der ISO vorgeschlagenen alternativen Techniken (Baermann-Extraktion allein, Seinhorst-Elutriation) werden im Vergleich zur Oostenbrink-Elutriation von der ISO als weniger effizient, dafür aber als kostengünstig eingestuft. Weitere Details zu den Kosten und Nutzen der vom EPPO aufgelisteten Methoden sind Abbildung 12 zusammengefasst.

– **Extraktionszeit:** Die Extraktionszeiten variieren je nach Technik. Die Oostenbrink-Elutriation und die Seinhorst-Elutriation erfordern ähnliche Extraktionszeiten, d.h. zwischen 15 und 30 min pro Probe. Für die Filtrationsphase nach der Elutriation beträgt die von der ISO empfohlene optimale Zeit nach der Oostenbrink-Elutriation 72 h. Die experimentellen Ergebnisse zeigen, dass 59 % der Nematoden in den ersten 24 Stunden erfasst werden, 73 % nach zwei Tagen und 82 % nach drei Tagen. Eine längere Filtrationszeit hat mehrere Nachteile, wie z.B. die Verdunstung des Wassers in den Schüsseln,

das Absterben der Nematoden und das Schlüpfen von Eiern, die sich in den Trümmern befinden (ISO 23611-4, 2007). In einigen Fällen wird nach der Oostenbrink-Elutriation eine Baermann-Extraktion durchgeführt. Die Dauer dieser Extraktion selbst beträgt nach EPPO (2013) 24 bis 72 Stunden und nach ISO 23611-4 (2007) 48 bis 72 Stunden. Für die Filtrationsphase nach der Seinhorst-Elutriation nach der ADEME-Methode werden 48 h Wartezeit empfohlen (Abbildung 12). Die zeitlichen Ressourcen der verschiedenen Methoden werden in Kapitel 3.4.7.1 ausführlicher diskutiert.

**Table 2** Costs and benefits of the extraction methods mentioned in the EPPO Diagnostic Protocols for plant-parasitic nematodes (modified after Van Bezooijen, 2006)

| Extraction method                          | Principle                  | Maximum sample size  | Extraction efficacy | Cost of equipment | Labor costs | Water use | Time until evaluation* | Quality of extraction (clean) |
|--|----------------------------|----------------------|---------------------|-------------------|-------------|-----------|------------------------|-------------------------------|
| <b>Plant material</b>                      |                            |                      |                     |                   |             |           |                        |                               |
| Direct examination                         | Motility                   | 10 g                 | +                   | +                 | +           | +         | 10 min                 | +                             |
| Baermann funnel/Oostenbrink dish           | Motility                   | 50 g                 | ++                  | +                 | ++          | +         | 24 h                   | +++                           |
| Root incubation                            | Motility                   | 20 g                 | ++                  | +                 | ++          | +         | 72 h                   | ++                            |
| Mistifier                                  | Motility                   | 50 g                 | +++                 | ++                | +           | +++       | 24 h                   | ++                            |
| Maceration and filtration                  | Size and shape             | 50 g                 | +++                 | ++                | ++          | ++        | 15 min                 | +                             |
| Maceration and centrifugal flotation       | Density                    | 50 g                 | +++                 | +++               | ++          | ++        | 30 min                 | ++                            |
| Enzymatic digestion                        | Size and shape             | 10 g                 | ++                  | ++                | ++          | +         | 72 h                   | +                             |
| <b>Soil</b>                                |                            |                      |                     |                   |             |           |                        |                               |
| Baermann funnel/Oostenbrink dish           | Motility                   | 250 mL               | +                   | +                 | ++          | +         | 24 h                   | +++                           |
| Flotation and sieving                      | Density and size and shape | 200 mL               | ++                  | ++                | +++         | ++        | 15 min                 | +                             |
| Flegg modified Cobb                        | Density and size and shape | 1000 mL              | ++                  | ++                | +++         | +++       | 24 h                   | ++                            |
| Oostenbrink elutriator and Baermann funnel | Density                    | 250 mL <sup>†</sup>  | +++                 | +++               | ++          | ++        | 24 h                   | +++                           |
| Oostenbrink elutriator and centrifugation  | Density                    | 250 mL <sup>†</sup>  | +++                 | +++               | ++          | ++        | 60 min                 | +++                           |
| Centrifugal flotation                      | Density                    | 250 mL               | ++                  | +++               | ++          | ++        | 15 min                 | +++                           |
| <b>Cysts</b>                               |                            |                      |                     |                   |             |           |                        |                               |
| Baunacke method                            | Density and size and shape | 100 mL               | +                   | +                 | ++          | +         | 10 min                 | +                             |
| Paper strip method                         | Density                    | 250 mL               | ++                  | ++                | ++          | ++        | 15 min                 | ++                            |
| Fenwick can                                | Density                    | 500 mL               | ++                  | +++               | ++          | +++       | 15 min                 | ++                            |
| Schuiling centrifuge                       | Density                    | 500 mL <sup>‡</sup>  | +++                 | +++               | ++          | +++       | 15 min                 | ++                            |
| Seinhorst elutriator                       | Density                    | 250 mL               | ++                  | +++               | ++          | ++        | 15 min                 | ++                            |
| Centrifugal flotation                      | Density                    | 1000 mL <sup>§</sup> | ++                  | ++                | ++          | +++       | 15 min                 | ++                            |
| Wye washer                                 | Density                    | 1000 mL <sup>§</sup> | ++                  | ++                | ++          | +++       | 15 min                 | ++                            |

+ small (low); equipment costs <100 EUR.

++ medium; equipment costs 100–5000 EUR.

+++ large (high); equipment costs >5000 EUR.

\*The time given is that needed to extract a sample and receive a suspension ready for evaluation. In many cases additional cleaning steps (e.g. Baermann funnel, Oostenbrink dish, centrifugal flotation) are required that will prolong the process.

<sup>†</sup>Upscaled versions of the Oostenbrink elutriator can process 1000 mL soil.

<sup>‡</sup>Upscaled versions of the Seinhorst elutriator can process 2000 mL soil.

<sup>§</sup>Upscaled versions of the Wye washer can process 2000 mL soil.

### 3.4.5 Gemessene Variablen

#### Morphologische Analysen

Nach der Extraktion der Nematoden aus den Bodenproben werden die Abundanz und die Zusammensetzung der Nematofauna unter der Binokularlupe (= Stereomikroskop) und im Labor unter dem Lichtmikroskop bestimmt. Dabei werden folgende Parameter verwendet:

- \_ Die Gesamtabundanz
- \_ Die Abundanz der freien Nematoden (Phytophage ausgeschlossen).
- \_ Die Abundanz phytoparasitischer Nematoden.
- \_ Die Zusammensetzung der Gemeinschaft, in der Regel auf der Grundlage von Arten, Familien und/oder Gattungen, funktionellen Gilden oder trophischen Gruppen. Auch ökologische Typen werden definiert.

Auf der Grundlage der Zusammensetzung und der Abundanz der Nematoden werden dann Indizes berechnet. Diese helfen dabei, die biologische Funktion und den Zustand der untersuchten Böden zu bestimmen. Wir finden:

- \_ Häufig verwendete Diversitätsindizes (z. B. Shannon, Simpson, ...).
- \_ Strukturindex (SI)
- \_ Der SI spiegelt die Stabilität des Lebensraums wider: Je höher der SI, desto weniger gestört ist der Lebensraum. Er hängt von der relativen Häufigkeit verschiedener Nematodenfamilien ab (bakterien-, pilz-, allesfressende und räuberische Nematoden [Villeneuve, 2014]).
- \_ Anreicherungsindex (AI)
- \_ Er gibt Auskunft über die Nährstoffdynamik; der AI steigt mit der Verfügbarkeit von Nährstoffen, insbesondere von Stickstoff. Er ist besonders nützlich in Agrarökosystemen (Villeneuve, 2014).
- \_ Reifegradindex (MI): «Maturity Index», Index, der die Messung von Umweltstörungen auf der Grundlage der Zusammensetzung der Nematodenarten («colonizer-persister classes» [cp]) ermöglicht. Phytoparasitische Nematoden sind davon ausgenommen.
- \_ PhytoPhagen-Nematoden-Index (PPI; «Plant Parasitic Index»).
- \_ Anteil bakterien- und pilzfressender Nematoden (Verhältnis NCR und IC).

- \_ Index der Abbauewe organischer Substanz (IVD).

*MI, PPI und IVD werden verwendet, um die Auswirkungen verschiedener Störungen, Belastungen und Praktiken auf den Boden zu bestimmen (Villeneuve, 2014).*

**→ Für die detaillierte Berechnung und weitere Informationen zu den einzelnen Indizes kann unter anderem auf die Veröffentlichungen von Bongers (1989, 1999), Ferris et al. (2001) und Ferris (2010) verwiesen werden.**

Diese Indizes werden in Gewichtseinheiten für frischen Boden, Gewichtseinheiten für trockenen Boden und Flächeneinheiten (dm<sup>2</sup> oder m<sup>2</sup>) ausgedrückt. Die Werte «pro Flächeneinheit» können aus dem Durchmesser des Bodenkerns, der Anzahl der Kerne in der Mischprobe, dem Gesamtgewicht der Mischprobe und dem Gewicht der entnommenen Bodenmenge berechnet werden (ISO 23611-4, 2007).

#### Molekulare Analysen

Molekulargenetische Analysen eignen sich besonders für die Beurteilung von:

- \_ der Artenvielfalt (Alpha-Diversität) und
- \_ der Struktur und Zusammensetzung von Gemeinschaften (Beta-Diversität).

Quantitative PCR-Analysen können Daten über die Häufigkeit bestimmter Taxa oder Organismengruppen liefern. Molekulare Analysen können keine Informationen über die Gesamtabundanz (Gesamtanzahl der Individuen) oder die Berechnung von Indizes (z. B. MI-Reifegradindex) liefern. Hierfür ist immer eine morphologische Analyse unter dem Mikroskop erforderlich (persönliche Mitteilung Beat Frey, WSL).

### 3.4.6 Einschränkungen

- \_ *Saisonalität:* Die Probenahme kann das ganze Jahr über erfolgen; Frühling und Herbst sind jedoch die günstigsten Zeiten (Villeneuve, 2014).
- \_ *Klimatische Bedingungen:* Vermeiden Sie sehr trockene Bedingungen/geringe Bodenfeuchte und Frost.

- \_ *Störungen:* Vermeiden Sie die Probenahme in Gräben, auf Wegen oder Spuren (ISO 23611).
- \_ *Formaldehyd:* Zur Fixierung der Nematoden für die morphologische Analyse wird Formaldehyd benötigt. Dieses ist sehr giftig. Bei seiner Verwendung müssen geeignete Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden (geeignete Schutzausrüstung, Absaughaube usw.).

### 3.4.7 Notwendige Ressourcen

#### 3.4.7.1 Zeitlicher Aufwand und Fachwissen

Der erforderliche zeitliche Aufwand und das Fachwissen werden im Folgenden geschätzt (Tabelle 12 und Tabelle 13). Der Zeitliche Aufwand beinhaltet die Zeit, die 1 Person benötigt, um die Arbeit für 1 Replikat (= Unterprobe der Mischprobe) für die morphologische und molekulare Analyse durchzuführen. Die Anreise zum Untersuchungsort, die Vorbereitung und das Aufstellen des Materials auf dem Feld werden hier nicht berücksichtigt.

### Morphologische Analysen

| Verfahren für 1 Replikat                     | Gesamtdauer      | Effektive Dauer | Fachwissen |
|--|------------------|-----------------|------------|
| <b>Phase 1 – Entnahme</b>                    |                  |                 |            |
| <i>Bohrung, komp. Probe (n=25 bis 32)</i>    | 20 – 30 min      | 20 – 30 min     | +          |
| <i>homogenisieren und sieben<sup>1</sup></i> | 30 min           | 30 min          | +          |
| <b>TOTAL Entnahme</b>                        | <b>~1 h</b>      | <b>~1 h</b>     |            |
| <b>Phase 2 – Extraktion</b>                  |                  |                 |            |
| <b>Oostenbrink (ISO)</b>                     |                  |                 |            |
| <i>Elutriation</i>                           | 15 min           | 10 min          | +          |
| <i>filtrern – sieben</i>                     | 72 h             | 5 min           | +          |
| <b>Total</b>                                 | <b>72 h</b>      | <b>15 min</b>   |            |
| <b>oder Seinhorst (ADEME)</b>                |                  |                 |            |
| <i>Elutriation</i>                           | 30 min           | 10 min          | +          |
| <i>filtrern – sieben</i>                     | 48 h             | 5 min           | +          |
| <b>Total</b>                                 | <b>48 h</b>      | <b>15 min</b>   |            |
| <b>Phase 3 – Morphologische Analysen</b>     |                  |                 |            |
| <i>Aufbereitung</i>                          | 6 h              | 1 h             | ++         |
| <i>Zählung und Identifikation</i>            | 2 h              | 2 h             | +++        |
| <b>TOTAL Analyse</b>                         | <b>~8 h</b>      | <b>~3 h</b>     |            |
| <b>TOTAL Methode</b>                         |                  |                 |            |
| <b>Oostenbrink</b>                           | <b>~3,5 Tage</b> | <b>~4 h</b>     |            |
| <b>Seinhorst</b>                             | <b>~2,5 Tage</b> | <b>~4 h</b>     |            |

Tabelle 12: Erforderliche zeitliche Ressourcen und Fachkenntnisse für die Untersuchung von Nematoden (morphologische Analysen; Aufgabe von 1 Person für 1 Replikat).

*1 Replikat = 1 Teilprobe der Mischprobe (normalerweise 250-ml-Fraktion, d. h. ca. 300 g Boden).*

*+= grundlegende Fähigkeiten; ++ = fortgeschrittene Fähigkeiten; +++ = Spezialist*

<sup>1</sup> *Lehmige Böden oder Böden mit vielen Wurzeln erfordern mehr Zeit für die Sieb- und Homogenisierungsverfahren (ISO 23611-4, 2007).*

## Molekulare Analysen (Metabarcoding von DNA und eDNA)

| Verfahren für 1 Replikat   | Gesamtdauer  | Effektive Dauer                            | Fachwissen |
|--|--|--|------------|
| <b>Phase 1 – Entnahme</b><br><i>Bohrung (n=85)</i>   | 10 min   | 10 min                                     | +          |
| <b>Phase 2 – Extraktion der Nematoden</b><br>(nur für Metabarcoding von DNA)<br><b>Oostenbrink<sup>1</sup></b>                                   | <b>72 h</b>  | <b>15 min</b>                              | +          |
| <b>Phase 3 – Genomische Extraktion</b><br><i>DNA-Extraktion<sup>2</sup> und Quantifizierung</i>  | 2 h  | 2 h  | ++         |
| <b>Phase 4 – Molekulare Analyse<sup>3</sup></b><br><i>Sequenzierung (externe Dienstleistung)</i><br><i>Genomische Analyse und Interpretation</i> | 1 bis 3 Wochen <sup>4</sup><br><< 4 bis 8 h <sup>6</sup> | 4 bis 55 h<br><< 4 bis 8 h <sup>6</sup>    | +++        |
| <b>TOTAL Methode (ohne Sequenzierung)</b><br><i>Metabarcoding von DNA</i><br><i>Metabarcoding von eDNA<sup>5</sup></i>                           | ~ 3,5 Tage<br>6 bis 10 h                                 | ~ 6 h 30 min bis 10 h 30 min<br>6 bis 10 h |            |

Tabelle 13: Erforderliche Zeit und Fachkenntnisse für die Untersuchung von Nematoden (molekulare Analysen mit DNA- und eDNA-Metabarcoding; Aufgabe von 1 Person für 1 Replikat).

+ = Grundfertigkeiten; ++ = fortgeschrittene Fertigkeiten; +++ = Spezialist

<sup>1</sup> Oostenbrink-Extraktion nach morphologischer Analyse (s. Tabelle 12 für Details).

<sup>2</sup> Es ist möglich, in diesem Schritt die DNA aus mehreren Proben parallel zu extrahieren, was die Zeit pro Probe deutlich reduziert und auch eine Automatisierung des Verfahrens ermöglicht (siehe Kapitel 4.3.2).

<sup>3</sup> Die für die molekulare Analyse erforderlichen Ressourcen und Fachkenntnisse basieren auf dem, was für Protisten getan wird, wobei die gleichen externen Dienstleister manchmal auch für Nematoden eingesetzt werden.

<sup>4</sup> Zeit, die zwischen dem Einsenden der Proben und dem Erhalt der Ergebnisse benötigt wird.

<sup>5</sup> Das Metabarcoding von eDNA umfasst nicht Phase 2. Die DNA wird direkt aus der Bodenprobe extrahiert.

<sup>6</sup> Diese Daten basieren auf den geschätzten Zeitressourcen für Protisten (Kap. 3.5.5 und Kap. 4.4.2), wobei der Stand der Forschung zum Zeitpunkt der Erstellung dieses Dokuments berücksichtigt wurde. In der Realität sind die zeitlichen Ressourcen für die Bestimmung der Nematoden heute wesentlich geringer.

### 3.4.7.2 Material und geschätzte Kosten

#### Morphologische Analysen

- \_ *Spezifisches Material:* Das Material umfasst hauptsächlich den Oostenbrink-Elutriator (ISO empfohlen; Durchschnittspreis 6000 CHF) und Siebe (Durchschnittspreis 150 CHF) für die Extraktion der Nematoden sowie ein Stereomikroskop (Durchschnittspreis 700 CHF), ein Mikroskop (Durchschnittspreis 2000 CHF) und zusätzliches Kleinmaterial für die Probenahme, Extraktion und Mikroskopie (z.B. Zählboxen) usw. (durchschnittlicher Gesamtpreis 2150 CHF).
- \_ *Verbrauchsmaterial:* Das Verbrauchsmaterial umfasst Kleinmaterial für die Extraktion der Nematoden (z.B. Filter) und die mikroskopische Beobachtung (z.B. Objektträger und Deckgläser), etc.

Die folgenden Kosten werden für die morphologische Analyse geschätzt:

| Nematoden (Morphologische Analysen) | Preis ca. CHF |
|-------------------------------------|---------------|
| Investitionskosten                  | 11000.00      |
| Verbrauchskosten (1 Replikat)       | 5.50          |

Tabelle 14: Geschätzte Kosten für Hardware-Investitionen und Verbrauchsmaterialien für Nematoden (morphologisch).

Einzelheiten zu Kosten, Anbietern und materieller Ausstattung finden sich im Anhang (Anhang 8.2).

#### Molekulare Analysen

##### (Metabarcoding von DNA und eDNA)

- \_ *Spezifisches Material:* Das benötigte Material umfasst hauptsächlich den Oostenbrink-Elutriator (Durchschnittspreis 6000 CHF) sowie zusätzliches Material (ca. 1000 CHF) für die Extraktion der Nematoden aus der Bodenprobe. Die Ausrüstung für die Vorbereitung und Quantifizierung der DNA umfasst hauptsächlich ein Spektralphotometer (z.B. Denovix DS-11 oder DS-11FX, Durchschnittspreis 13000 CHF), eine Zentrifuge (Durchschnittspreis 8000 CHF), einen Schüttler für Reagenzgläser (Durchschnittspreis 350 CHF), usw. Die Ausrüstung für die Probenvorbereitung und Quantifizierung der DNA umfasst hauptsächlich ein Spektralphotometer (z.B. Denovix DS-11 oder DS-11FX, Durchschnittspreis 13000 CHF). Die Sequenzierung wird an einen externen Dienstleister vergeben, z.B. Microsynth ([www.microsynth.ch](http://www.microsynth.ch)) oder Fasteris ([www.fasteris.com](http://www.fasteris.com)) in der Schweiz oder Genome Québec in Kanada ([cesgq.com](http://cesgq.com)).
- \_ *Zur Orientierung:* Der durchschnittliche Preis für einen Sequenzer vom Typ Illumina MiSeq, der für diese Art von Analysen benötigt wird, liegt bei 110 000 CHF.
- \_ *Kosten pro Probe:* Die Kosten für eine Probe von der Phase der DNA-Extraktion bis zur Sequenzierung werden auf 45 CHF geschätzt (persönliche Mitteilung Beat Frey, WSL).

Für die molekulare Analyse werden folgende Kosten geschätzt:

| Nematoden (molekulare Analyse – Metabarcoding von DNA und eDNA)    | Preis ca. CHF |
|--|---------------|
| Investitionskosten (ohne Sequenzer) – DNA                          | 28500.00      |
| Investitionskosten (ohne Sequenzer) – eDNA                         | 21500.00      |
| Analysekosten (1 Probe; Extraktion → Sequenzierung) – DNA und eDNA | 45.00         |

Tabelle 15: Geschätzte Kosten für Hardware-Investitionen und Verbrauchsmaterialien für Nematoden (molekulare DNA- und eDNA-Analyse)

Einzelheiten zu Kosten, Anbietern und materieller Ausstattung finden sich im Anhang (Anhang 8.2).

### 3.4.8 Zusammenfassung der Bestimmungsmethoden für Nematoden

#### Morphologische Analyse

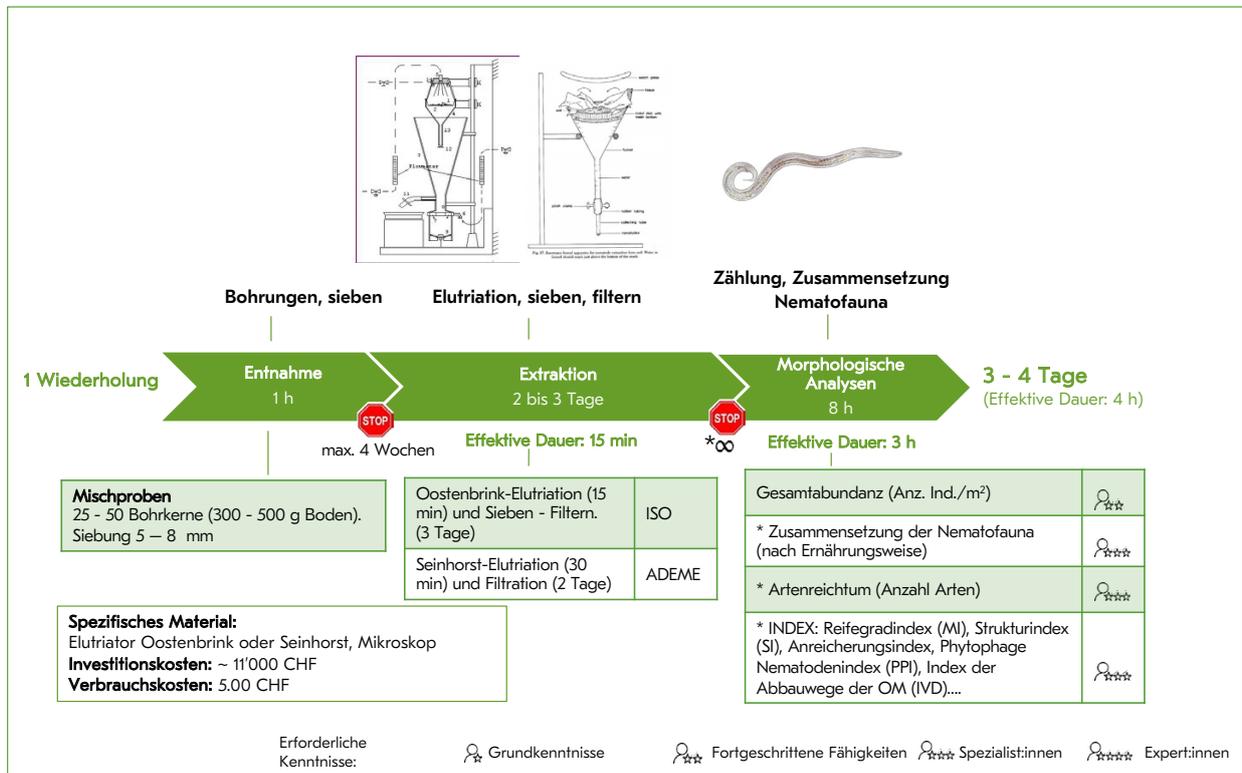


Abbildung 13: Zusammenfassung der methodischen Verfahren für Nematoden (morphologische Analyse). Die «Stop»-Zeichen geben die maximal mögliche Lagerungszeit der Proben zwischen den einzelnen Phasen an (\*∞ = Lagerung über einen längeren Zeitraum möglich, d.h. mehrere Monate) (Abbildung von S. Campiche, präsentiert auf dem KOBO-Workshop zu Bestimmungsmethoden im August 2020).

### 3.5 Protisten

Protisten sind überwiegend einzellige – manchmal auch mehrzellige Organismen – und umfassen alle Eukaryoten, die weder Pflanzen (Plantae) noch Pilze (Fungi), noch Tiere (Animalia), sind. Sie kommen sowohl in aquatischen als auch in terrestrischen Ökosystemen vor (Abbildung 14). Bodenprotisten spielen eine grundlegende Rolle im Boden, z. B. für den Abbau organischer Stoffe und den Nährstoffkreislauf. Sie lassen sich in vier grosse ökologische Funktionsgruppen einteilen: phagotroph (ernähren sich von Bakterien, Pilzen und anderen Protisten), symbiotisch (einschliesslich Parasitismus, Kommensalismus und Mutualismus), saprotroph (am Abbau organischer Substanz beteiligt) und phototroph oder mixotroph (Chlorophyll enthaltend und an der Fixierung von Kohlenstoff beteiligt). Ihre Anzahl erreicht in der Regel Zehntausende von Individuen pro Gramm Boden. Ihre Vielfalt und ihre gemeinschaftliche Struktur im Boden liefern wertvolle Hinweise auf die Umweltbedingungen. Da sie empfindlich auf Umweltstörungen reagieren, gelten sie als nützliche Indi-

katoren zur Bewertung der Bodenqualität und zur Vorhersage künftiger Veränderungen im Ökosystem. Ihr Potenzial als Bioindikatoren wird derzeit noch kaum ausgeschöpft: Sie sind weniger erforscht als Prokaryoten, Pilze und wirbellose Bodentiere; es gibt nur wenige Protistenspezialist:innen (Taxonom:innen und Ökolog:innen); nicht alle taxonomischen Gruppen werden gleichermaßen verstanden. Ausserdem sind die meisten Arten noch unbeschrieben, was ihre Eignung als Bioindikatoren einschränkt (Geisen et al., 2018).

Es gibt verschiedene Methoden, um die Vielfalt und Häufigkeit von Protisten zu untersuchen (Analyse von Gemeinschaften). Diese Methoden lassen sich in zwei Kategorien einteilen:

1. mikroskopische Analyse durch direkte Beobachtung oder Kulturtechnik (in der Vergangenheit häufig verwendet)
2. molekulare Analyse von DNA und RNA (derzeit bevorzugte Technik) (Abbildung 15) (Geisen & Bonkowski, 2018).

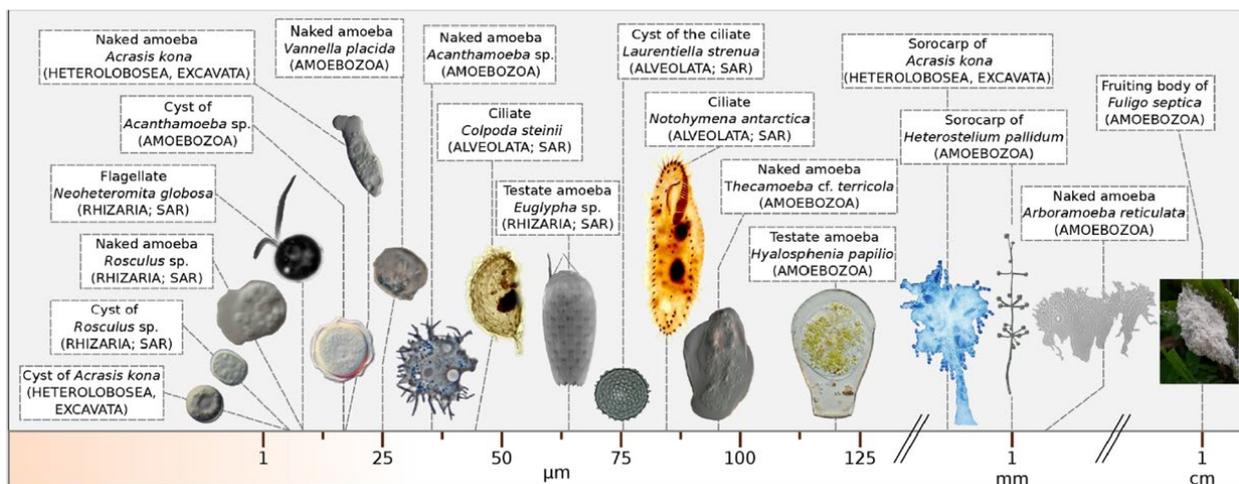


Abbildung 14: Freie Bodenprotisten geordnet nach Grösse (Länge), Morphologie und phylogenetischer Zugehörigkeit (Geisen et al., 2017).

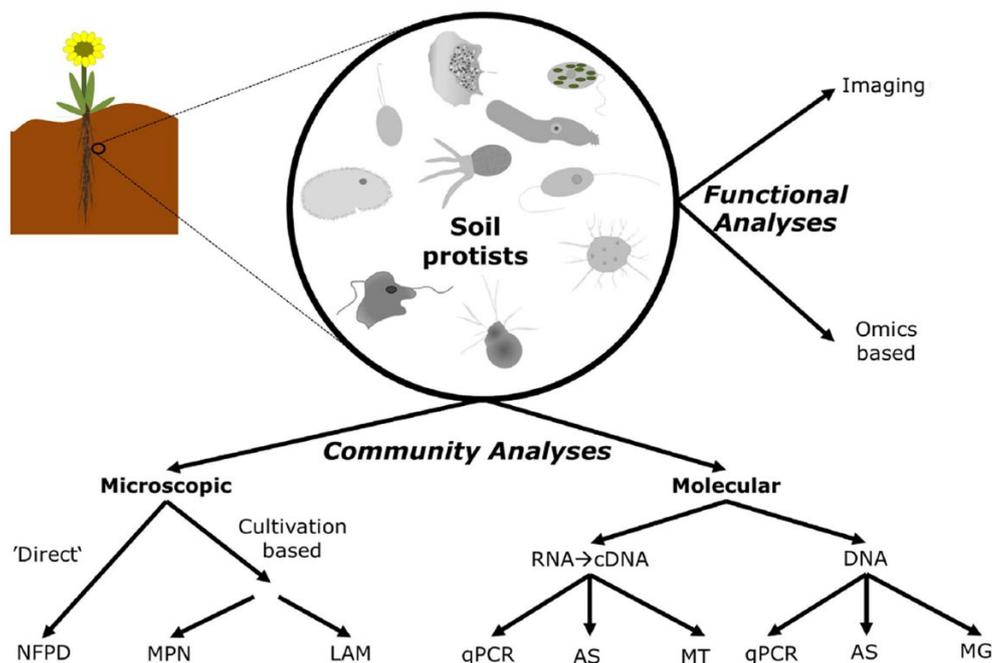


Abbildung 15: Zusammenfassung der bestehenden Methoden zur Untersuchung von Bodenprotisten nach Geisen und Bonkowski 2018. Die gängigen Methoden zur Untersuchung von Bodenprotistengemeinschaften werden in zwei Hauptansätze getrennt, wobei zum einen mikroskopische Analysen zur Identifizierung von Protisten in differentiellen Auflösungen und zum anderen molekulare Methoden an extrahierten Nucleinsäuren (DNA oder cDNA nach reverser Transkription von RNA) verwendet werden. Abkürzungen: NFPD: non-flooded petri dish method; MPN: Most probable number technique; LAM: Liquid aliquot method; qPCR: quantitative polymer chain reaction; MT: Metatranscriptomic high-throughput sequencing (HTS); AS: Amplicon HTS; MG: Metagenomic HTS.

Derzeit gibt es noch keine Norm (z.B. ISO-Standard) zur Untersuchung von Bodenprotisten. Die bestehenden Methoden sind Forschungsmethoden und die methodischen Referenzen sind in wissenschaftlichen Publikationen zu prüfen (siehe z.B. Geisen und Bonkowski 2018).

Von den in Kapitel 3.1 genannten Monitoring- und Forschungsprogrammen wurden Protisten in den europäischen Programmen Envasso und EcoFinders berücksichtigt. Da eine Analyse morphologischer Art unter dem Mikroskop aber als zu komplex erachtet wurde, wurden sie nicht in das endgültige Indikatorenset aufgenommen. Ausserdem befanden sich die molekularen Methoden bei der Einführung dieser beiden Programme vor etwa 10 Jahren noch in den Kinderschuhen und waren nur schwer in die Praxis zu integrieren. Dank der jüngsten Fortschritte im Bereich des Metabarcodings integrieren jedoch immer mehr Projekte im Bereich der Biodiversität und der mikrobiellen Ökologie von Böden auch die Analyse von Protisten (siehe u.a. George et al., 2019, Santos et al., 2020, Hilton et al., 2021).

In der Schweiz sind Protisten Teil der Forschungsprogramme der Gruppe Bodenwissenschaft und Umwelt der Hochschule für Weinbau und Önologie in Changins (Professor Thierry Heger) und des Laboratoriums für Bodenbiodiversität der Universität Neuchâtel (Professor Edward A. D. Mitchell). Im Rahmen der Schweizer Biodiversitätsstrategie des BAFU entwickelte das Team von Thierry Heger einen Ansatz, um die Protistengemeinschaften verschiedener Schweizer Böden mithilfe von molekulargenetischen Methoden (Metabarcoding) einfach und praktisch umfassend zu charakterisieren.

Die nachfolgend beschriebene Methode zur Untersuchung von Bodenprotisten ist die Methode, die bei der Forschungsarbeit von Professor Thierry Heger an der Hochschule Changins verwendet wird. Er nutzt diese molekulare Analyse durch Metabarcoding von eDNA. Die folgende Beschreibung beruht auf Informationen, die in Veröffentlichungen und in persönlicher Kommunikation mit Professor Heger bereitgestellt wurden.



Abbildung 16: Methodisches Grundprinzip für die molekulare Untersuchung von Protisten.

### 3.5.1 Methodisches Grundprinzip

Die Methodik zur Untersuchung von Protisten besteht aus drei Hauptphasen:

1. Die Entnahme von Bodenbohrkernen im Feld, um eine Mischprobe bilden zu können (3 Bohrkern pro Replik, 6,5 cm Durchmesser, 10 cm Tiefe) (Samaritani et al., 2017).
2. Die Extraktion aus den gesammelten Bodenproben und die Quantifizierung von eDNA im Labor (0,5 g frischen Bodens) (Fournier et al., 2020a).
3. Die Amplifikation der DNA durch PCR mit einem allgemeinen Primer für Eukaryoten, die Sequenzierung (Next Generation Sequencing (NGS 18S rRNA amplicons) mit illumina MiSeq, durchgeführt vom «Centre for Comparative Genomics and Evolutionary Bioinformatics» (Halifax, Kanada), die Verarbeitung der Datensätze (Qualitätsprüfung, sortieren, um unbrauchbare Datensätze zu entfernen) und die Interpretation (taxonomische Zuordnung der identifizierten eDNA-Sequenzen, Analyse von Gemeinschaften und Diversität etc.) (Fournier et al., 2020b).

### 3.5.2 Zu beachtende Punkte

Da es keine standardisierte Methode für die Untersuchung von Protisten gibt, gibt es Unterschiede zwischen den verschiedenen Forschungsarbeiten, die bisher auf diesem Gebiet durchgeführt wurden, sowie zwischen den Fortschritten bei den Analysetechniken. Das methodische Grundprinzip bleibt jedoch gleich. Diese Unterschiede betreffen zum Beispiel:

- \_ die Anzahl der Bodenproben, die gesammelt werden, um die Mischprobe zu bilden,
- \_ die Zusammensetzung der Produkte, die im Puffer für die eDNA-Extraktion («extraction buffer») verwendet werden,
- \_ die Technik und die Apparatur zur Durchführung der Amplifikation und Sequenzierung, usw.

Damit die Ergebnisse vergleichbar sind, ist es wichtig, dass man vorab eine Methodik festlegt.

### 3.5.3 Messgrößen

Die wichtigsten Messgrößen sind:

- \_ Die genetische Vielfalt der Protisten, Anzahl der Arten (Diversität  $\alpha$ ).
- \_ Die Zusammensetzung der Gemeinschaften (Diversität  $\beta$ ).
- \_ Die Analyse der mikrobiellen Netzwerke.

### 3.5.4 Einschränkungen

- \_ *Saisonalität*: Die Proben sollten vorzugsweise im Frühling und Herbst oder zum Vegetationsoptimum genommen werden. Probenahmen im Hochsommer oder Hochwinter können eine andere Protistenvielfalt aufweisen als Probenahmen im Frühjahr oder Herbst (Fournier et al., 2020a).
- \_ *Klimatische Einschränkungen*: Trockene Perioden sollten vermieden werden.

## 3.5.5 Notwendige Ressourcen

### 3.5.5.1 Zeitlicher Aufwand

| Verfahren für 1 Replik   | Gesamtdauer                              | Effektivdauer                        | Fachwissen |
|--|--|--------------------------------------|------------|
| <b>Phase 1 – Entnahme</b><br><i>Bohrung (Probe komp. n=3)</i>  | <b>5 min</b>                             | <b>5 min</b>                         | +          |
| <b>Phase 2 – Genomische Extraktion</b><br><i>Extraktion von eDNA<sup>1</sup> und Quantifizierung</i>                           | <b>2 h</b>                               | <b>2 h</b>                           | ++         |
| <b>Phase 3 – Molekulare Analyse</b><br><i>Sequenzierung (externe Dienstleistung)</i><br><i>Genomanalyse und Interpretation</i> | 1 bis 3 Wochen <sup>2</sup><br>4 bis 8 h | 4 bis 55 h <sup>3</sup><br>4 bis 8 h | +++        |
| <b>TOTAL Methode (ohne Sequenzierung)</b>  | <b>6 bis 10 h</b>                        | <b>6 bis 10 h</b>                    |            |

Tabelle 16: Zeitliche Ressourcen und erforderliches Fachwissen für die Untersuchung von Protisten (Aufgabe von 1 Person für 1 Replikat).

1 Replikat = Mischprobe aus 3 Bodenkernen.

+ = grundlegende Fähigkeiten; ++ = fortgeschrittene Fähigkeiten; +++ = Spezialist

<sup>1</sup> Es ist möglich, in diesem Schritt die DNA aus mehreren Proben parallel zu extrahieren, was die Zeit pro Probe deutlich reduziert. Es wird geschätzt, dass 20 bis 25 Proben an einem Tag extrahiert werden können (persönliche Mitteilung Thierry Heger, Changins). Eine Automatisierung des Verfahrens ist möglich (siehe Kapitel 4.4.2).

<sup>2</sup> Zeit, die zwischen dem Einsenden der Proben und dem Erhalt der Ergebnisse benötigt wird.

<sup>3</sup> Nach Angaben von illumina MiSeq, abhängig von der Leselänge der Sequenzierung (Anzahl der Basenpaare) ([https://support.illumina.com/sequencing/sequencing\\_instruments/miseq/questions.html](https://support.illumina.com/sequencing/sequencing_instruments/miseq/questions.html)).

### 3.5.5.2 Material und geschätzte Kosten

– **Spezifisches Material:** Für die DNA-Quantifizierung wird ein Spektrophotometer (z. B. Denovix DS-11 oder DS-11FX, Durchschnittspreis 13 000 CHF) benötigt. Zur Vorbereitung bedarf es: Zentrifuge (Durchschnittspreis 8000 CHF), Schüttler für Reagenzgläser (Durchschnittspreis 350 CHF, «Vortex Shaker»), etc. Derzeit wird für die Sequenzierung ein externer Dienstleister beauftragt (siehe unten). Zur Orientierung: Der Durchschnittspreis für einen Sequenzierer vom Typ «Illumina MiSeq» beträgt 110 000 CHF (Instrument und Installation).

– **Verbrauchsmaterialien:** Es handelt sich um Produkte und Reagenzien für die DNA-Extraktion. Die Kosten für das DNA-Extraktionskit (FastDNA SPIN Kit for soil; MP Biomedicals, 100 Präparate) belaufen

sich auf 420 CHF, d. h. etwa 4.20 CHF pro Probe (persönliche Mitteilung von Thierry Heger: 5 bis 10 CHF pro Probe). Hinzu kommen kleine Laborutensilien wie 50-ml-Falcon-Röhrchen, Pipettenspitzen etc.

– **Dienstleistung:** Die Proben werden zur PCR-Analyse und Sequenzierung mit illumina MiSeq an einen externen Dienstleister gegeben (Centre for Comparative Genomics and Evolutionary Bioinformatics», Integrated Microbiome Resource [IMR]: <https://imr.bio/>, Halifax, Kanada). Die Kosten für das Leistungsangebot betragen ca. 25 CHF pro Probe.

Die Kosten pro Probe, einschliesslich Verbrauchsmaterial und Dienstleistungen von der eDNA-Extraktion bis zur Sequenzierung, werden auf 45 CHF geschätzt, genau wie bei den Nematoden (persönliche Mitteilung Thierry Heger, Changins).

Die folgenden Kosten werden geschätzt:

| <b>Protisten (Molekularanalyse – metabarcoding eDNA)</b>                 | <b>Preis ca. CHF</b> |
|--|----------------------|
| Investitionskosten (ohne Sequenzer)                                      | 21500.00             |
| Analysekosten<br>(1 Probe; Extraktion → Quantifizierung → Sequenzierung) | 45.00                |

Tabelle 17: Geschätzte Kosten für Hardware-Investitionen und Verbrauchsmaterialien für die Bestimmung von Protisten.

Beachten Sie, dass die Kosten für den Versand der Proben für die Sequenzierung nach Kanada ca. 250 CHF betragen (unabhängig von der Anzahl der versendeten Proben; gekühlter Versand).

Einzelheiten zu Kosten, Anbietern und materieller Ausstattung finden sich im Anhang (Anhang 8.2).

## 3.6 Funktionelle Methoden

Verschiedene Gruppen von Mikroorganismen sowie zahlreiche wirbellose Tiere wie Regenwürmer, Enchyträen, Springschwänze oder Nematoden leisten einen erheblichen Beitrag zur Aufrechterhaltung der biologischen Bodenfunktionen. Es gibt nur wenige Methoden, die sich direkt mit den Bodenfunktionen befassen und es ermöglichen, diese Beiträge zu bewerten. Die meisten funktionellen Indikatoren konzentrieren sich auf mikrobielle Aktivitäten. Indikatoren, die sich direkt auf die Aktivitäten von Bodeninvertebraten beziehen, sind dagegen weniger zahlreich (Römbke, 2014). Es gibt drei funktionelle Methoden (Abbildung 17), die verwendet werden können, um die Aktivität von Bodenorganismen, insbesondere von Wirbellosen, quantitativ zu bewerten. Alle drei sind mit der Zersetzung organischer Substanz und damit mit dem Nährstoffkreislauf verbunden:

– *Der Streusack- oder Litter Bag-Test:* Er wird verwendet, um den Massenverlust an organischer Substanz im Mineralboden (hauptsächlich Ackerstandorte und Grasland) oder in der Streuschicht (hauptsächlich Wälder) zu messen (Römbke, 2014). Der Test verwendet einen Sack aus synthetischem Material mit variabler Maschenweite, der in der Regel mit Strohrückständen gefüllt ist. Der Sack wird

für mehrere Wochen im Boden vergraben. Am Ende der Expositionszeit wird der Litter Bag wieder ausgegraben und die Menge des von den Bodenorganismen verbrauchten Stroh bestimmt (Massenverlust der organischen Substanz). Der Test dauert mehrere Monate und ist recht aufwändig. Er unterscheidet nicht zwischen dem Beitrag von Mikroorganismen und Wirbellosen (Römbke, 2014).

– *Der Köderstreifenfest oder Bait Lamina:*

Der Test besteht aus 120 mm langen und 6 mm breiten PVC-Stäbchen (ISO 18311, 2016), die mit 16 Löchern perforiert sind. Die Löcher sind mit einem organischen Substrat gefüllt, das aus einer Mischung aus Zellulose, Weizenkleie und Aktivkohle besteht. Die Stäbchen werden für einige Tage senkrecht in den Boden gesteckt und dann wieder herausgenommen. Anschliessend wird ermittelt, wie viele der organischen Köder von den Bodenorganismen verzehrt wurden. Damit lassen sich die gesamte Nahrungsaktivität und das vertikale Aktivitätsprofil von wirbellosen Bodentieren in situ messen insbesondere der Makrofauna (wie Regenwürmer) aber auch der Mesofauna (insbesondere Enchyträen oder Mikroarthropoden



Abbildung 17: Von links nach rechts: Litter Bag (Foto: Nicole Scheunemann), Tea Bag (Foto: Simon Tresch, FiBL), und Bait Lamina (Foto: S. Campiche).

wie Springschwänze) (Römbke, 2014). Der Bait Lamina Test gilt als indirektes Mass für den Abbau organischer Substanz, wobei der am Ende des Tests gemessene Parameter die Nahrungsaktivität der Bodenorganismen ist (OECD, 2006).

#### Der Teebeuteltest oder Tea-Bag-Test:

Er liefert Informationen über die Fähigkeit des Bodens, organische Rückstände in pflanzenverfügbare Nährstoffe umzuwandeln und Humus aufzubauen. Bei dem Test werden Teebeutel verschiedener Arten vergraben: Ein Beutel mit grünem Tee, von dem angenommen wird, dass er schnell abgebaut wird, und ein Beutel mit Rooibos, der komplexer abgebaut wird. Nach etwa drei Monaten im Boden wird der Grad der Zersetzung der organischen Substanz durch den Vergleich der Abbaugeschwindigkeit der beiden Teesorten bewertet (Keuskamp et al., 2013; Tresch und Fliessbach, 2017).

Mit diesen Daten schlagen Keuskamp et al. (2013) die Berechnung eines Indexes vor (Tea Bag Index; Details zur Berechnung siehe Publikation). Vom Prinzip her ist der Tea-Bag-Test dem Litter-Bag-Test sehr ähnlich.

Funktionelle Methoden werden im Vergleich zu Methoden, die auf der Beobachtung von Organismengemeinschaften beruhen, noch immer wenig eingesetzt. Sie werden nur in zwei internationalen Monitoring- und Forschungsprogrammen, die in Kapitel 3.1 erwähnt werden, sowie in einigen der Schweizer Forschungsprogramme angewendet.

### 3.6.1 Angeführte Methoden

In den in Kapitel 3.1 erwähnten Monitoring- und Forschungsprogrammen wird der Litter Bag im ENVASSO-Programm und im AgrINNOV-Programm eingesetzt. Der Bait Lamina Test wird im ENVASSO-Programm berücksichtigt und vom EcoFINDERS-Projekt als funktionelle Methode empfohlen. Er wird derzeit auch in mehreren kleinen Forschungsprogrammen in der Schweiz eingesetzt. Der Teebeuteltest wurde unter anderem in der Forschung des FiBL (Andreas Fliessbach) im Zusammenhang mit dem Programm FertilCrop 2015 – 2017 (Fertility Building Management Measures in Organic Cropping Systems) eingesetzt (Tabelle 18).

Es sei darauf hingewiesen, dass der Litter Bag im Zusammenhang mit der Bewertung von Pflanzenschutzmitteln verwendet wird. In diesem Zusammenhang ist ein OECD Guidance Document Nr. 56 (OECD, 2006) über den Abbau organischer Substanz in Litter Bags verfügbar. Es wird allerdings nicht vom AgrINNOV-Programm verwendet. Da das OECD-Dokument häufig als Referenz in Veröffentlichungen genannt wird, in denen Methoden zur Untersuchung des Abbaus organischer Substanz diskutiert werden (z. B. Römbke, 2014), wird das methodische Vorgehen nach OECD Nr. 56 auch im folgenden Methodenvergleich (Kapitel 3.6.3) berücksichtigt.

| Angeführte Methoden      | Monitoring- und Forschungsprogramme    |
|--------------------------|--|
| Litter Bag <sup>1</sup>  | AgrINNOV                               |
| Bait Lamina <sup>2</sup> | EcoFINDERS, Schweizer Forschung        |
| Tea Bag <sup>3</sup>     | Schweizer Forschung (FiBL: Fertilcrop) |

Tabelle 18: Aufgelistete Methoden für funktionelle Methoden und Überwachungs- und Forschungsprogramme, die diese verwenden.

#### Referenzen:

- <sup>1</sup> Ranjard, 2011; OECD Nr. 56- ENV/IM/MONO(2006)23 (OECD, 2006) – siehe Anmerkung unten.
- <sup>2</sup> ISO 18311:2016. Soil quality – Method for testing effects of soil contaminants on the feeding activity of soil dwelling organisms – Bait-lamina test.
- <sup>3</sup> Keuskamp et al., 2013, Tresch & Fliessbach, 2017; der Tea bag index ist ein partizipatives Wissenschaftsprojekt (Forscher und Bürgerwissenschaftler), das Daten über die Abbauraten von Teebeuteln in Böden auf der ganzen Welt sammeln und mit diesen Daten eine Weltkarte erstellen soll). Die Seite <http://www.teatime4science.org/> war am 17.10.2022 nicht mehr erreichbar.

Das methodische Grundprinzip besteht aus drei Hauptphasen (Abbildung 18):



Abbildung 18: Methodisches Grundprinzip für funktionelle Methoden.

### 3.6.2 Methodisches Grundprinzip

Die funktionellen Methoden Litter Bag, Bait Lamina und Tea Bag ermöglichen eine quantitative Bewertung der Aktivität von Bodenorganismen. Sie stehen im Zusammenhang mit dem Abbau organischer Substanz. Das Grundprinzip ist bei allen drei Methoden gleich: Organisches Material, das in einem Träger eingeschlossen ist, wird den Bodenorganismen zur Verfügung gestellt. Der Verbrauch der organischen Substanz durch die Organismen wird nach einer bestimmten Zeit bewertet.

Der Litter Bag, Bait Lamina oder Tea Bag wird in den Boden eingegraben und je nach gewähltem Test mehrere Tage oder sogar Monate lang den Bodenorganismen zur Verfügung gestellt (Einzelheiten siehe Kapitel 3.6.3).

1. Die Testmedien werden ausgegraben und gesammelt.
2. Die Testträger werden von Erdpartikeln oder Wurzeln gereinigt. Die Menge an organischer Substanz, die von den Bodenorganismen verbraucht wird, wird geschätzt (Masseverlust bei Litter Bag und Tea Bag oder Anzahl der verbrauchten Köder bei Bait Lamina).

### 3.6.3 Methodische Unterschiede

Die wichtigsten methodischen Unterschiede für die funktionellen Methoden sind in der folgenden Tabelle (Tabelle 19) aufgelistet:

| Methode            | Utensilien  | Verwendetes organisches Material             | Dauer der Exposition       | Zielorganismen   | Bewertung                            | Anzahl Replikate |
|--------------------|---|--|----------------------------|--|--------------------------------------|------------------|
| <b>Litter Bag</b>  |   |  |                            |  |                                      |                  |
| AgrINNOV           | Tasche aus synthetischem Material, 15 × 20 cm, Maschenweite 1 mm        | Rückstände von Stroh (5g)                    | 4 Monate                   | Mikroorganismen und Mesofauna  | Massenverlust (organisches Material) | 4                |
| OECD n°56          | Tasche aus synthetischem Material, 10 × 20 cm, Maschenweite 5 bis 10 mm | Weizenstroh (4g)                             | 6 bis 12 Monate, oder mehr | Mikroorganismen, Meso- und Makrofauna  | Massenverlust (organisches Material) | 8 <sup>2</sup>   |
| <b>Bait Lamina</b> | Stäbchen aus PVC, 120 × 6 mm, mit 16 Perforationen                      | Zellulose, Weizenkleie, Aktivkohle (70:25:5) | 10 bis 20 Tage             | Hauptsächlich Meso- und Makrofauna (vernachlässigbare Rolle von Mikroorganismen) | Anzahl der verzehrten Köder          | 3 bis 5          |
| <b>Tea Bag</b>     | Teebeutel aus Nylon (Lipton), Maschenweite 0,25 mm                      | Grüner Tee und Rooibos                       | 3 Monate                   | Mikroorganismen und Mesofauna  | Massenverlust (organisches Material) | 5 pro Teesorte   |

Tabelle 19: Methodisches Grundprinzip für funktionelle Methoden.

<sup>1</sup> *Expositionszeit für gemässigte Regionen (in tropischen Gebieten ist die Expositionszeit z. B. kürzer).*

<sup>2</sup> *Anwendungskontext: Bewertung der Wirkung von Pflanzenschutzmitteln.*

### 3.6.4 Zu beachtende Punkte

- *Maschenweite*: Die Litter-Bag-Methode hat den Vorteil, dass die Maschenweite des Streusacks ausgewählt werden kann. Dadurch kann die Bodenfauna, die für die Untersuchung des Verbrauchs organischer Substanz von Interesse ist, gezielt angesprochen werden. Beispielsweise kann die Makrofauna von der Studie ausgeschlossen werden, indem eine feine Maschenweite gewählt wird.
- *Wahl des organischen Materials*: Jede Methode verwendet eine bestimmte Art von organischem Material, z. B. Stroh für den Litter Bag oder Zellulose und Weizenkleie für den Bait Lamina. Es ist jedoch auch möglich, eine andere Art von organischem Material (z. B. Blätter) zu verwenden, je nach Kontext der Studie, der Bodenart und der Art der Bodennutzung.
- *Expositionsdauer*: Die Expositionsdauer hängt von der jeweiligen geografischen Region und den Umweltbedingungen (Temperatur, Bodenfeuchtigkeit) ab. Für Bait Lamina ist die Expositionsdauer nicht festgelegt und schwankt zwischen 10 und 20 Tagen. Manchmal wird empfohlen, einen Vortest durchzuführen, um die Testdauer festzulegen. Der Bait Lamina Test wird als beendet angesehen, wenn mindestens 30 %, aber nicht alle Köder verbraucht sind (gemäss ISO 18311:2016; vorzugsweise mit mehreren Kontrollstäben beobachten, aber man kann auch die Stäbe kontrollieren und wieder in die Erde stecken).
- *Tea Bag*: Die Tea-Bag-Methode ist interessant, da sie neben den Angaben zu den Abbauraten von organischem Material auch Auskunft über die Faktoren gibt, die das organische Material stabilisieren, indem sie die Abbaugeschwindigkeit zweier Arten von organischem Material (Grünteeblätter und Rooibos) vergleicht.
- *Bait Lamina*: Die Stäbchen des Bait Lamina-Tests können gereinigt und für eine erneute Verwendung wieder befüllt werden.

### 3.6.5 Messgrößen

Nach der Entfernung der Bodenfunktionstests werden die folgenden Variablen gemessen:

- *Litter Bag*: Abbau der organischen Substanz (Masseverlust in %).
- *Bait Lamina*: Gesamtfressaktivität für den Standort (Gesamtzahl der gefressenen Köder; % der Fressaktivität) und vertikale Verteilung der Aktivität im Boden (Anzahl der gefressenen Köder in Abhängigkeit von der Tiefe).
- *Tea Bag*: Abbaurate und Stabilisierungsfaktor für organische Substanz (Vergleich des Masseverlusts von grünem Tee und Rooibos-Tee)

### 3.6.6 Einschränkungen

- *Saisonalität*: Für Bait Lamina sind Frühling und Herbst die günstigsten Zeiträume, um die Nahrungsaktivität von Bodenorganismen zu bewerten. Da andere Tests wie der Litter Bag über einen längeren Expositionszeitraum (mehrere Monate bis über ein Jahr) durchgeführt werden, ist der Einfluss der Saisonalität von geringerer Bedeutung.
- *Klimatische Bedingungen*: Die klimatischen Bedingungen (Feuchtigkeit, Temperatur) haben einen starken Einfluss auf die Abbaurate der organischen Substanz und beeinflussen daher die Ergebnisse der Funktionstests in hohem Masse. Es wird empfohlen, dass die Bodentemperaturen zwischen 5° und 15° C liegen und der Wassergehalt des Bodens mehr als 20 % beträgt, um eine Aktivität der Organismen zu gewährleisten (ISO 18311, 2016). Der Abbau von organischem Material wird unter diesen Bedingungen in der Regel schneller erfolgen. Das Auslegen von Bait Lamina sollte unter extremen Bedingungen (hohe Temperaturen und Trockenheit) vermieden werden.
- *Expositionsphase*: Funktionale Methoden erfordern eine Expositionsdauer im Feld, die von etwa zwei Wochen (Bait Lamina) bis zu mehreren Monaten (Litter Bag und Tea Bag) reicht. Das bedeutet, dass die Tests mindestens zweimal vor Ort durchgeführt werden müssen, um sie zu platzieren und zu

entfernen. Ausserdem dürfen die Standorte während der gesamten Expositionszeit nicht gestört werden, was bei landwirtschaftlichen Flächen kompliziert sein kann.

### 3.6.7 Notwendige Ressourcen

#### 3.6.7.1 Zeitlicher Aufwand und Fachwissen

Die erforderliche Zeit und das erforderliche Fachwissen werden im Folgenden geschätzt (Tabelle 20). Der zeitliche Aufwand bezieht sich auf die Zeit, die eine Person benötigt, um die Arbeit für ein Replikat zu erledigen. Die Anreisezeit zum Feld, die Vorbereitung und das Aufstellen des Materials sind hier nicht berücksichtigt.

#### 3.6.7.2 Material und geschätzte Kosten

- *Spezifisches Material:* Das benötigte Material umfasst einen Trockenschrank (Durchschnittspreis 4500 CHF), einen Muffelofen (Durchschnittspreis 6500 CHF) und eine Präzisionswaage (0,0001g; Durchschnittspreis 300 CHF) für den Litter Bag und den

Tea Bag. Für die Bait Lamina ist kein spezielles Material erforderlich, mit Ausnahme der Stäbchen, die zu den Verbrauchsmaterialien gezählt werden.

- *Verbrauchsmaterialien:* Die Verbrauchsmaterialien umfassen hauptsächlich Stroh und synthetisches Gewebe für die Herstellung der Streubeutel für den Litter Bag-Test und die Teebeutel für den Tea Bag-Test. Für den Bait Lamina-Test werden Stäbchen benötigt. Diese können bereits mit der Ködermischung gefüllt gekauft werden oder vom Versuchsleiter selbst gefüllt werden (Bait Lamina voll: Durchschnittspreis 4.00 CHF pro Stick, Bait Lamina leer: Durchschnittspreis 3.40 CHF pro Stick; erhältlich bei [www.envibiosoil.ch](http://www.envibiosoil.ch) oder [www.terra-protecta.de](http://www.terra-protecta.de), Hinweis: Die Website von terra-protecta war am 17.10.2022 nicht mehr erreichbar). Die Stäbchen können wieder aufgefüllt und mehrmals wiederverwendet werden. Die Ködermischung enthält Zellulose, Weizenkleie und Aktivkohle. Ihr Bruttokostenpreis liegt bei ca. 0,25 CHF für ein Replikat (8 Stäbchen).

| Verfahren für 1 Replikat                      | Gesamtdauer     | Effektive Dauer | Fachwissen |
|---|-----------------|-----------------|------------|
| <b>Phase 1 – Ausbringung</b>                  |                 |                 |            |
| <i>Litter Bag</i>                             | 4 bis 12 Monate | 5 min           | +          |
| <i>Bait Lamina</i>                            | 10 bis 20 Tage  | 10 min          | +          |
| <i>Tea Bag (1 × Grüntee, 1 × Rooibostee)</i>  | 3 Monate        | 5 min           | +          |
| <b>Phase 2 – Entfernen des Tests</b>          |                 |                 |            |
| <i>Litter Bag</i>                             | 5 min           | 5 min           | +          |
| <i>Bait Lamina (16 Stäbchen)</i>              | 5 min           | 5 min           | +          |
| <i>Tea Bag (1 × Grüntee, 1 × Roibuschtee)</i> | 5 min           | 5 min           | +          |
| <b>Phase 3 – Aufbereitung und Analysen</b>    |                 |                 |            |
| <i>Litter Bag – Aufbereitung</i>              | 13 h            | 30 min          | +          |
| <i>Litter Bag – Analyse</i>                   | 5 min           | 5 min           | +          |
| <i>Bait Lamina – Aufbereitung</i>             | 5 min           | 5 min           | +          |
| <i>Bait Lamina – Analyse</i>                  | 15 min          | 15 min          | +          |
| <i>Tea Bag – Aufbereitung</i>                 | 48 h            | 5 min           | +          |
| <i>Tea Bag – Analyse</i>                      | 5 min           | 5 min           | +          |
| <b>TOTAL Methode</b>                          |                 |                 |            |
| <i>Litter Bag</i>                             | 4 bis 12 Monate | ~ 45 min        |            |
| <i>Bait Lamina</i>                            | 10 bis 20 Tage  | ~ 30 min        |            |
| <i>Tea Bag</i>                                | 3 Monate        | ~ 20 min        |            |

Tabelle 20: Erforderliche zeitliche Ressourcen und Expertise für funktionelle Methoden (Aufgabe von 1 Person für 1 Replikat).

+ = Grundfertigkeiten

1 Replikat = 1 Litter Bag; oder 16 (oder 8) Bait Lamina; oder 1 Beutel Grüntee + 1 Beutel Rooibos.

Die folgenden Kosten werden geschätzt:

| Funktionelle Methoden  | Preis ca. CHF |
|--|---------------|
| <b>Investitionskosten</b>  |               |
| Litter Bag   | 11000.00      |
| Bait Lamina  | 0.00          |
| Tea Bag  | 11500.00      |
| <b>Verbrauchsmaterial (1 Replikat)</b>   |               |
| Litter Bag   | 3.00          |
| Bait Lamina voll (8 Stäbchen) <sup>1</sup>   | 32.00         |
| <i>Alternative: Bait Lamina leer (8 Stäbchen)<sup>1</sup> + Mix aus Köderbestandteilen (ca. 1g) für 8 Stäbchen</i> |               |
| Tea Bag (1× Beutel grüner Tee, 1× Beutel Rooibos-Tee)  | 0.50          |

Tabelle 21: Geschätzte Kosten für Hardware-Investitionen und Verbrauchsmaterialien für funktionelle Methoden.

<sup>1</sup> Die Bait Lamina wurden bei den Verbrauchsmaterialien berücksichtigt. Da sie wieder aufgefüllt und mehrmals wiederverwendet werden können, könnten sie auch bei der materiellen Grundinvestition (Investitionskosten) berücksichtigt werden. Ein Grundset für eine bestimmte Anzahl von Standorten (z. B. 50), das für die folgenden Standorte wiederverwendet wird, sollte in Betracht gezogen werden. In diesem Fall müssten 6800 CHF für die Investition in Bait Lamina einkalkuliert werden (50 Standorte × 5 Replikate à 8 leeren Bait Lamina).

Einzelheiten zu Kosten, Anbietern und materieller Ausstattung finden sich im Anhang (Anhang 8.2).

## 3.7 Vergleich der biologischen Parameter

### 3.7.1 Gemeinschaften von Organismen

Die folgende Abbildung 19 vergleicht die biologischen Parameter in Bezug auf die zeitlichen Ressourcen und die Materialkosten für 1 Replikat gemäss den in den verschiedenen Abschnitten von Kapitel 3 vorgenommenen Bewertungen.

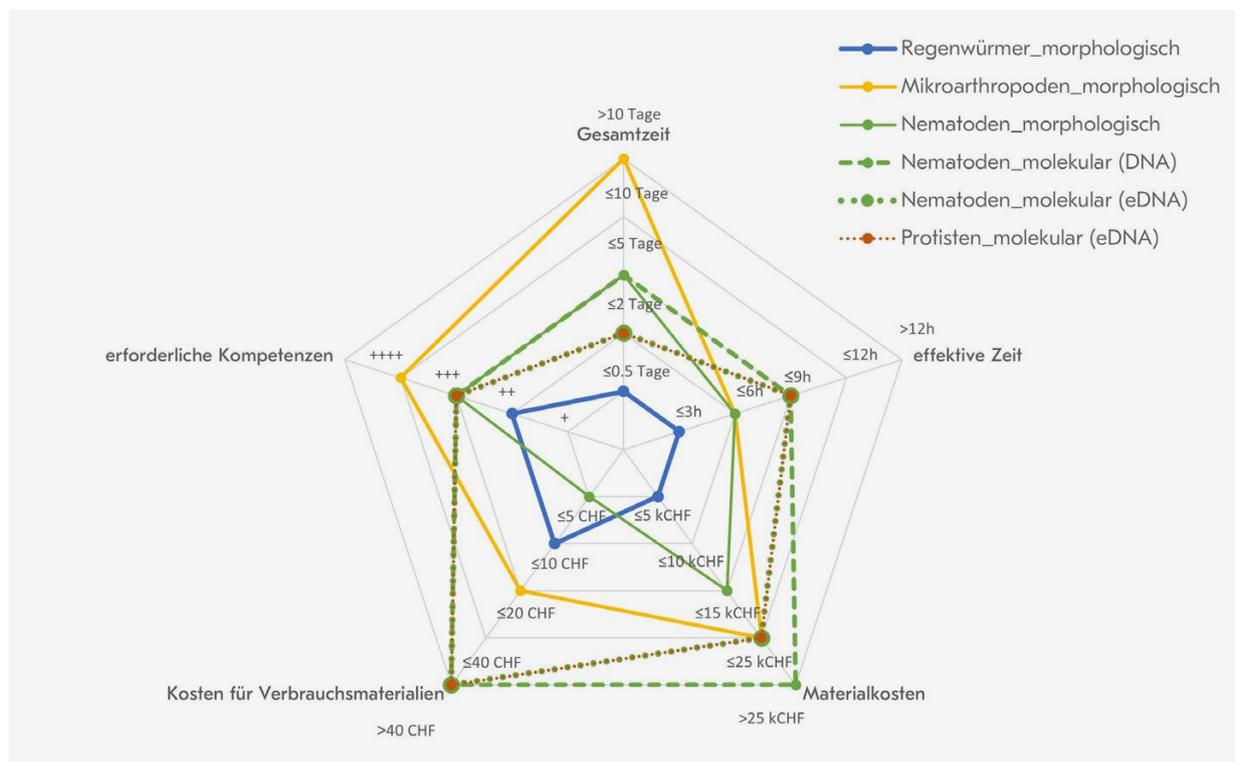


Abbildung 19: Vergleich der zeitlichen Ressourcen (Gesamtzeit und effektive Zeit) zur Durchführung der unterschiedlichen Methode, der Kosten für die Materialinvestition und der Kosten für Verbrauchsmaterialien sowie der maximal erforderlichen Kompetenzen (= höchste erforderliche Kompetenz, wenn man die Analyse des biologischen Parameters als Ganzes betrachtet) für die referenzierten biologischen Parameter. Der Vergleich nimmt an, dass die Methode von einer Person und für ein Replikat ausgeführt wird. Mikroarthropoden\_morphologisch: Hier wurde mit der MacFadyen-Extraktion gerechnet (der am häufigsten verwendeten und von der ISO empfohlenen Methode). Nematoden\_morphologisch und Nematoden\_molekular (DNA): Es wurde mit der Oostenbrink-Extraktion gerechnet (der am häufigsten verwendeten und von der ISO empfohlenen Methode). Nematoden\_molekular (DNA), Nematoden\_molekular (eDNA) und Profisten\_molekular (eDNA): Die effektive Zeit und die Gesamtzeit für die Sequenzierung (Dienstleistung eines externen Dienstleisters) werden hier nicht berücksichtigt; die Verbrauchsmaterialien (in diesem Fall die Kosten für eine Probe von der DNA-Extraktion bis zur Sequenzierung) sind in der Dienstleistung eines externen Dienstleisters enthalten, was bei den anderen biologischen Parametern nicht der Fall ist, wo alle methodologischen Schritte intern durchgeführt werden. Eine Automatisierung des DNA-Extraktionsverfahrens für molekulare Analysen wird hier nicht berücksichtigt. Wichtiger Hinweis: Der Zeitaufwand für die molekulare Analyse von Nematoden (DNA und eDNA) basieren auf den geschätzten Zeitressourcen für Protisten (Kap. 3.5.5 und Kap. 4.4.2), wobei der Stand der Forschung zum Zeitpunkt der Erstellung dieses Dokuments berücksichtigt wurde. Inzwischen ist die benötigte Zeit für die Bestimmung der Nematoden heute wesentlich geringer.

### 3.7.2 Funktionelle Methoden

Die folgende Abbildung 20 vergleicht die funktionellen Methoden hinsichtlich des Zeitaufwandes und der Materialkosten (Aufgabe von 1 Person für 1 Replikat) gemäss den in den verschiedenen Abschnitten in Kapitel 3 vorgenommenen Bewertungen.

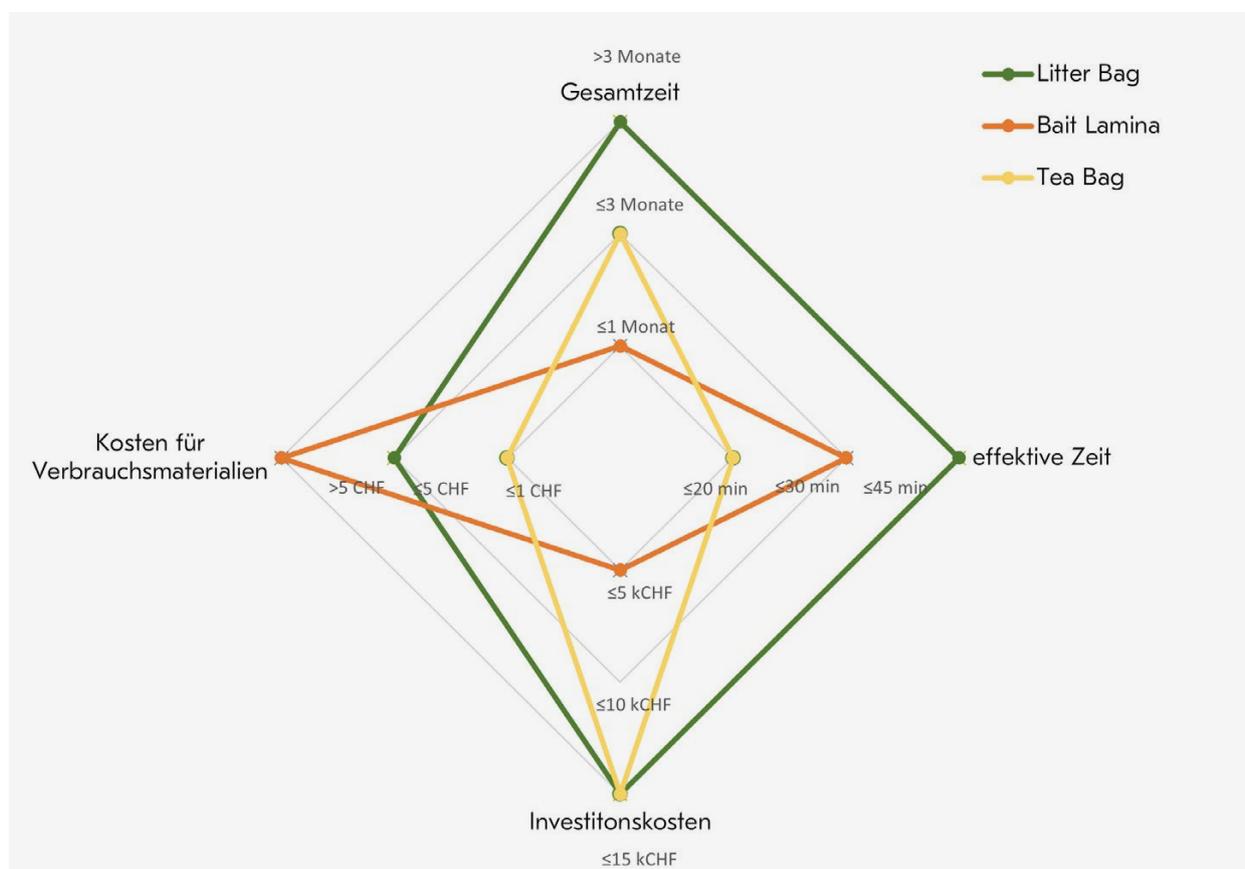


Abbildung 20: Vergleich des zeitlichen Aufwandes (Gesamtzeit und effektive Zeit) zur Durchführung der gesamten Methode, der Materialkosten und der Kosten für Verbrauchsmaterialien für 1 Replikat für die referenzierten funktionellen Methoden. Bait Lamina (bereits gefüllte Stäbchen) wurden bei den Verbrauchsmaterialien einkalkuliert. Da sie wiederauffüllbar und wiederverwendbar sind, könnten sie auch als Investition betrachtet werden. Der Grad der erforderlichen Fähigkeiten ist bei allen Methoden gleich (Grundfertigkeiten) und wird daher nicht in der Grafik dargestellt.

## 4. Diskussion und Schlussfolgerung

Bodenbiologische Parameter werden seit über dreissig Jahren in zunehmender Zahl von Monitoringprogrammen und Feldversuchen in der Schweiz und in Europa verwendet. Im Vergleich zu physikalisch-chemischen Parametern werden sie aber immer noch wenig genutzt. In diesem Kapitel wird die Relevanz der aufgelisteten biologischen Parameter im Hinblick auf eine flächendeckende Kartierung der Böden in der Schweiz diskutiert.

Vorrangig wird die Auswahl der Organismen diskutiert, die in die Kartierung einbezogen werden sollen. Wenn mehrere Methoden zur Bewertung derselben Organismen zur Verfügung stehen, wird empfohlen, welche Methode für die Kartierung am besten geeignet ist. Zu beachten ist, dass verschiedene Methoden zur Untersuchung derselben Organismen oft ein ähnliches methodisches Grundprinzip aufweisen. Meistens gibt es für jeden biologischen Parameter einen ISO-Standard, insbesondere für die morphologischen Analysen. Dieser schlägt in der Regel eine Referenzmethode vor und listet alternative Methoden auf, die häufig auch von anderen Forschungs- oder Monitoringprogrammen verwendet werden. Die molekulare Analyse für Organismen der Bodenfauna sollte als potenzielle Methode für die Analyse biologischer Parameter bei der Bodenkartierung in Betracht gezogen werden. Ein Vergleich der beiden Analysearten (morphologische und molekulare Analyse durch DNA- und eDNA-Metabarcoding) wurde für Nematoden durchgeführt, um die Vor- und Nachteile der einzelnen Techniken besser herausarbeiten zu können.

Bei der Auswahl des/der biologischen Parameter(s) für die Kartierung sollten die Kriterien der Relevanz und der Häufigkeit der Verwendung biologischer Parameter in Monitoring- und Forschungsprogrammen berücksichtigt werden. Je häufiger ein biologischer Parameter unter den aufgelisteten Forschungs- und Monitoringprogrammen verwendet wird, desto grösser ist die Wahrscheinlichkeit, Vergleichswerte oder eine Basisreferenz für diesen biologischen Parameter verfügbar zu haben. Beispiele für Anwendungen, Basisreferenzen oder Vergleichswerte, die in verschiedenen Ländern festgelegt wurden, werden für Regenwürmer gegeben. Sie existieren zum Teil auch für andere Organismen (z.B. Nematoden), werden aber im Folgenden nicht gezeigt.

Bei der Auswahl der biologischen Parameter für die Kartierung müssen zusätzlich folgende Punkte berücksichtigt werden:

- \_ Erforderliche Ressourcen (Kosten und Personalaufwand), um den wöchentlichen Probendurchsatz der drei Szenarien zu erfüllen.
- \_ Möglichkeit für die gleichzeitige Probenahme von mehreren biologischen Parametern
- \_ Möglichkeit, die Probenahme für biologische Parameter mit der Probenahme für physikalisch-chemischen Parameter zu kombinieren

Anhand dieser verschiedenen Kriterien soll festgelegt werden, ob der jeweilige biologische Parameter für die zwei Profiltypen und die Bohrungen der Kartierung als vorrangig oder optional zu betrachten ist.

---

## 4.1 Regenwürmer

Regenwürmer gehören zu den am häufigsten verwendeten biologischen Parametern und erfüllen einen Grossteil der Auswahlkriterien, die an einen Bioindikator gestellt werden. Sie haben eine Schlüsselfunktion innerhalb des Ökosystems und als Bioindikatoren.

---

### 4.1.1 Vorteile und Einschränkungen des biologischen Parameters

Die wichtigsten Vorteile und Einschränkungen von Regenwürmern als biologischer Parameter sind im Folgenden aufgelistet:

*Vorteile:*

- Grosse Bedeutung der Regenwürmer für das Funktionieren und die Struktur des Ökosystems. Sie sind Vertreter der Makrofauna.
- Regenwürmer stellen im Vergleich zu anderen biologischen Parametern den geringsten Bedarf an Material (Verbrauchsmaterial und Investitionen), zeitlichen Ressourcen und erforderlichen Kompetenzen dar.
- Ein Grossteil der Messvariablen (Antworten, die der biologische Parameter gibt) kann von Laien erhoben werden, im Gegensatz zu anderen, kleineren Organismen der Bodenfauna.
- Ein Basis-Referenzsystem (Referenzwerte) ist teilweise bereits verfügbar für Bodentypen, Landnutzungsarten, für Regionen der Schweiz und anderer europäischer Länder.

*Einschränkungen:*

- Die Saisonalität muss beachtet werden: Proben können nur im Frühjahr und/oder Herbst genommen werden.
- Die chemische Extraktion ist nicht bei allen Topographien anwendbar: Standorte mit starkem Gefälle sind schwer zu beproben (Abfliessen der Extraktionsflüssigkeit).
- Die Entnahme von Regenwürmern lässt sich nicht mit der für andere biologische Parameter vorgesehenen Probenahme kombinieren.

- Die Regenwurm-Probenahme ist nicht mit der Probenahme für die physikalisch-chemischen Analysen kombinierbar.

---

### 4.1.2 Umsetzung nach etablierten Kriterien

Die Umsetzung hinsichtlich einer Bodenkartierung wird weiter unten diskutiert. Die erforderlichen personellen und finanziellen Ressourcen (Materialkosten der Verbrauchsmaterialien für die Methode) wurden für drei verschiedene Szenarien ermittelt, d.h. für einen wöchentlichen Probenumsatz von 100, 500 oder 1000 Proben (Tabelle 22).

Die folgenden Zahlen basieren auf den Schätzungen für Zeit- und Materialaufwand, der im Ergebnisteil dieses Dokuments (Kapitel 3.2.7) dargestellt wird. Bei den zeitlichen Ressourcen berücksichtigen sie die methodischen Phasen in ihrer Gesamtheit (es werden keine Details zu den einzelnen Schritten angegeben, die die Phasen bilden). Die Berechnung berücksichtigt die effektive Zeit, die für die Analyse von 100, 500 oder 1000 Proben benötigt wird, sowie die Personalressourcen, die für die Durchführung der Aufgabe in 1 Woche (40-Stunden-Woche) erforderlich sind. Diese Werte geben eine Grössenordnung an und ermöglichen es, die benötigten Ressourcen zu bewerten. Allerdings berücksichtigen die Schätzungen die Effizienzvorteile nicht, die mit der Durchführung einer grossen Anzahl von Proben verbunden sind. Im Folgenden wird der Begriff «Probe» als Äquivalent für den früher für diesen Organismus verwendeten Begriff «Probefläche» oder «Replikat» betrachtet.

In Anbetracht der oben genannten Zahlen scheint das realistischste Szenario 100 Proben pro Woche zu sein, der Personalaufwand sind recht umfangreich.

| Benötigte Bruttoressourcen<br>(1 Probe = Regenwürmer, die auf 1 Probefläche gesammelt wurden) <sup>1</sup> | Anzahl der wöchentlichen Proben |      |      |
|--|---------------------------------|------|------|
|  | 100                             | 500  | 1000 |
| <b>Personalressourcen (effektive Zeit)</b>   |                                 |      |      |
| <b>Phase 1 – Entnahme (~ 1 h/Probe)</b><br>Vollzeitäquivalent  | 2,5                             | 12,5 | 25   |
| <b>Phase 2 – Morphologische Analyse (~ 2 h/Probe)</b><br>Vollzeitäquivalent                                | 5                               | 25   | 50   |
| <b>Materialressourcen</b>  |                                 |      |      |
| Kosten für Verbrauchsmaterial CHF (7.50 CHF/Probe)   | 750                             | 3750 | 7500 |

Tabelle 22: Geschätzter Bedarf an Personalressourcen (in Form von Vollzeitäquivalenten) und materiellen Investitionen (Kosten für Verbrauchsmaterial) für Regenwürmer zur Analyse von 100, 500 oder 1000 Proben pro Woche (40-Stunden-Woche).

<sup>1</sup> Für 1 Standort werden mindestens 3 Probeflächen empfohlen (1 Standort = 3 Probeflächen = 3 Proben).

1 Tag = 8 h; 1 Woche = 5 Tage

Es sei daran erinnert, dass bei Regenwürmern (und biologischen Parametern im Allgemeinen) mindestens drei Proben (Replikate) pro Standort berücksichtigt werden müssen, um eine akzeptable Repräsentativität der Ergebnisse zu gewährleisten. Bei einem Szenario mit 100 Proben bedeutet dies also, dass pro Woche durchschnittlich 33 Standorte beprobt werden müssen. Die Fahrzeiten zu und zwischen den Standorten sowie die Phase der Feldvorbereitung müssen zusätzlich berücksichtigt werden. Bei der Probenahme hinge-

gen ist es möglich, die chemische Extraktion zu parallelisieren (z. B. können 2 Extraktionen parallel durchgeführt werden), wodurch die Zeit der Probenahme für 3 Replikate am selben Standort reduziert werden kann. Experten zufolge ist es möglich, 4 Standorte mit 3 Replikaten an einem Tag zu beproben - vorausgesetzt man ist zu zweit und die Standorte befinden sich in überschaubarer Distanz (persönliche Mitteilungen von Claudia Maurer, Amt für Landwirtschaft und Natur des Kantons Bern, und Claire le Bayon, UniNE).

**100 Proben = ~ 33 Standorte**  
(1 Standort = 3 Probeflächen)

### 4.1.3 Empfehlungen für die Kartierung

Regenwürmer sind Referenzindikatoren. Sie ermöglichen die Charakterisierung des biologischen Zustands des Bodens und die funktionelle Charakterisierung von Standorten und zeigen eine schnelle Reaktion auf Veränderungen der Umwelt. Darüber hinaus weisen sie starke Verbindungen zu anderen biologischen Parametern (z. B. Mikrobiologie) auf.

Sie sollten daher zu den biologischen Parametern gehören, die bei einer Bodenkartierung gemessen werden, obwohl die Phase der Probenahme vor Ort sehr arbeitsintensiv sein kann (spezifische Methodik, die nicht mit anderen Analysen kombiniert werden kann). Es ist nicht empfehlenswert, das Extraktionsverfahren zu reduzieren, wie es die Programme BISQ und AgrINNOV getan haben, die nur einen Teil des Verfahrens anwenden, indem sie nur den Spaten-Test praktizieren. Dies spart in der Tat Zeit auf dem Feld, führt aber auch zu einem Informationsverlust, da anözische Würmer nur in geringem Umfang erfasst werden. Es sollte die gesamte Extraktionsmethode (chemische und manuelle Extraktion) durchgeführt wer-

den. Im Vergleich zu den anderen biologischen Parametern bleibt der Regenwurm derjenige mit dem geringsten finanziellen und zeitlichen Aufwand für die Durchführung (Abbildung 18 in Kapitel 3.7.1).

Die ISO 23611-1-Methode unter Verwendung von AITC (weniger toxisch als Formaldehyd) sollte in Betracht gezogen werden, um die erhaltenen Daten mit bestehenden oder zukünftigen Benchmarks auch auf internationaler Ebene vergleichen zu können. Die Forschung zeigt, dass die mit der IACA-Extraktion gewonnenen Daten mit denen vergleichbar sind, die mit Formaldehyd, dem damaligen Standard, gewonnen wurden. Allerdings sollte die chemische Extraktion vor der manuellen Sortierung durchgeführt werden, da diese Praxis für Böden der gemässigten Breiten besser geeignet ist (zur Erinnerung: Die ISO empfiehlt das Gegenteil). Die Grösse des Bodenblocks für die manuelle Extraktion ist fraglich.

In Anbetracht der dargelegten Überlegungen wird Folgendes zur Verwendung von Regenwürmern als biologische Parameter für die Profile oder Bohrungen empfohlen:

#### Empfehlungen für die Verwendung von Regenwürmern bei der Bodenkartierung

| Empfohlene Methode |  |
|--------------------|--|
| ISO 23611-1        | <ul style="list-style-type: none"> <li>– AITC</li> <li>– Chemische Extraktion vor der manuellen Extraktion</li> <li>– Grösse des Bodenblocks für die manuelle Extraktion zu diskutieren (mindestens 25 × 25 × 20 cm).</li> <li>– Mindestens 3 bis 5 Replikate (Probeflächen) pro Standort</li> </ul> |
| Referenzprofil     | Prioritär  |
| Profil             | Optional   |
| Bohrung            | Nicht geeignet   |

Tabelle 23: Empfehlungen für die Kartierung – Regenwürmer.

Die Untersuchung von Regenwürmern sollte vorrangig an allen Referenzprofilen oder an einem Teil von ihnen durchgeführt werden, je nachdem, welche Ressourcen zur Verfügung stehen. Bei ausreichenden Ressourcen sollten auch die Profile in Betracht gezogen werden. Bohrungen eignen sich hingegen nicht für die Entnahme von Regenwürmern. Angesichts der sich entwickelnden molekularen Analysetechniken, wie dem Metabarcoding von Umwelt-DNA (eDNA), könnten sie sich künftig jedoch ebenfalls eignen.

#### 4.1.4 Anwendungsbeispiele

Das Réseau de Mesure de la Qualité des Sols (RMQS BioDiv) in Frankreich ist ein gutes Beispiel dafür, wie Regenwürmer als biologische Parameter in einer Bodenkartierung verwendet werden können. Tatsächlich hat das RMQS BioDiv eine Kartierung der Regenwurmparameter für die Region Bretagne erstellt. Ein Beispiel für die Abundanz von Regenwürmern als Anzahl von Individuen pro Fläche ist unten aufgeführt (Abbildung 21). Ähnliche Karten wurden auch für die Abundanz der Würmer nach ökologischen Kategorien, für die Biomasse, den taxonomischen Reichtum, den Diversitätsindex (Shannon) und die Gleichwertigkeit der Regenwürmer erstellt (Cluzeau, 2009b).

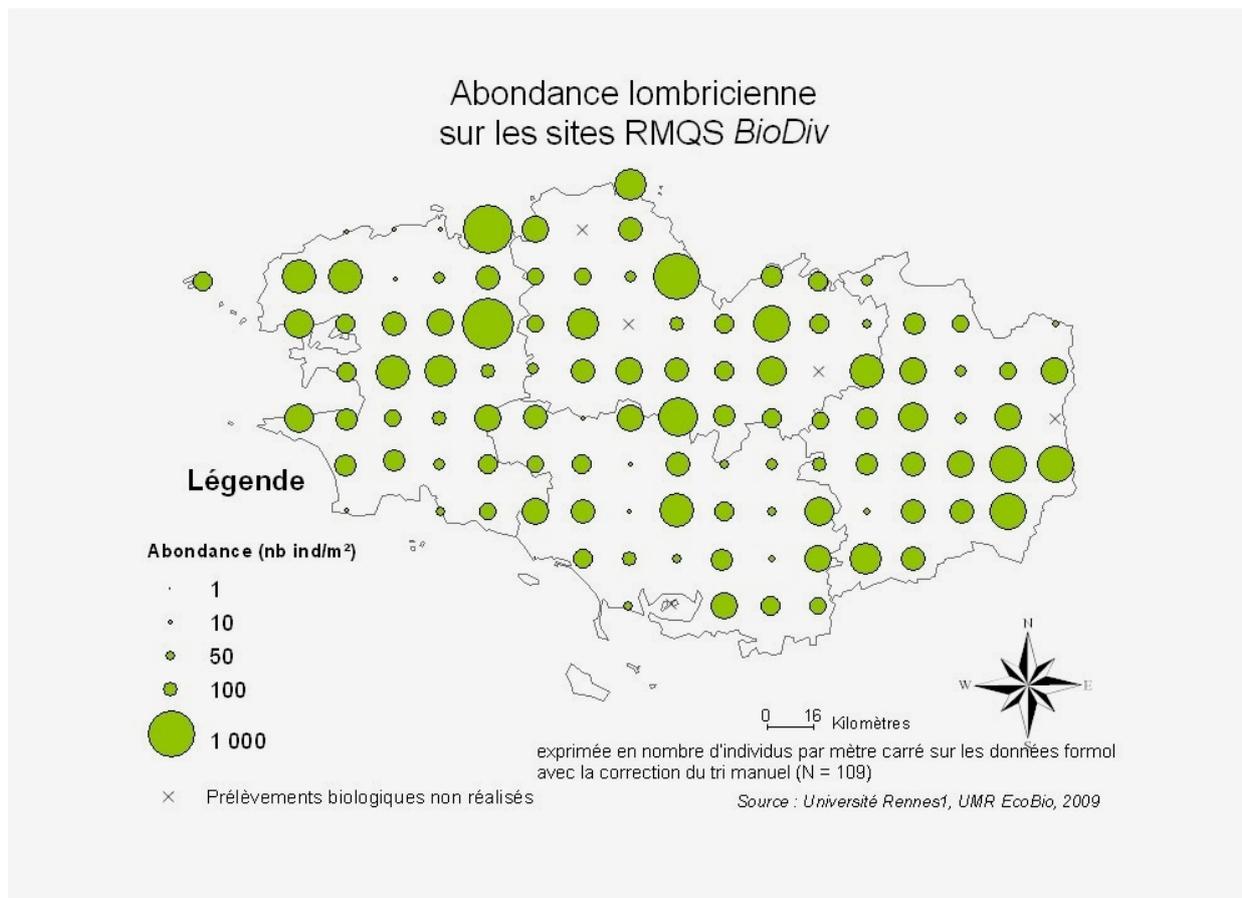


Abbildung 21: Kartierung der Abundanz von Regenwürmern in der Region Bretagne, erstellt durch das RMQS-Programm BioDiv (<http://www.sols-de-bretagne.fr/biodiversite-des-sols/cartographie-regionale.html>; Cluzeau, 2009b).

Die Heterogenität der räumlichen Verteilung der Daten kann zum Teil durch die Art der Landnutzung, den Bodentyp und die pedologischen Eigenschaften erklärt werden. Die Regenwurmparameter wurden verschiedenen erklärenden Variablen gegenübergestellt: physikalisch-chemische Parameter, Bodenbedeckung, landwirtschaftliche

Praxis, pedologische Eigenschaften etc. Im Folgenden werden zwei Beispiele für signifikante Beziehungen angeführt: zum einen zwischen den Regenwurmparametern und der Art der Bodenbedeckung (Abbildung 22) und zum anderen zwischen den Regenwurmparametern und der Bodenhydromorphie (Abbildung 23).

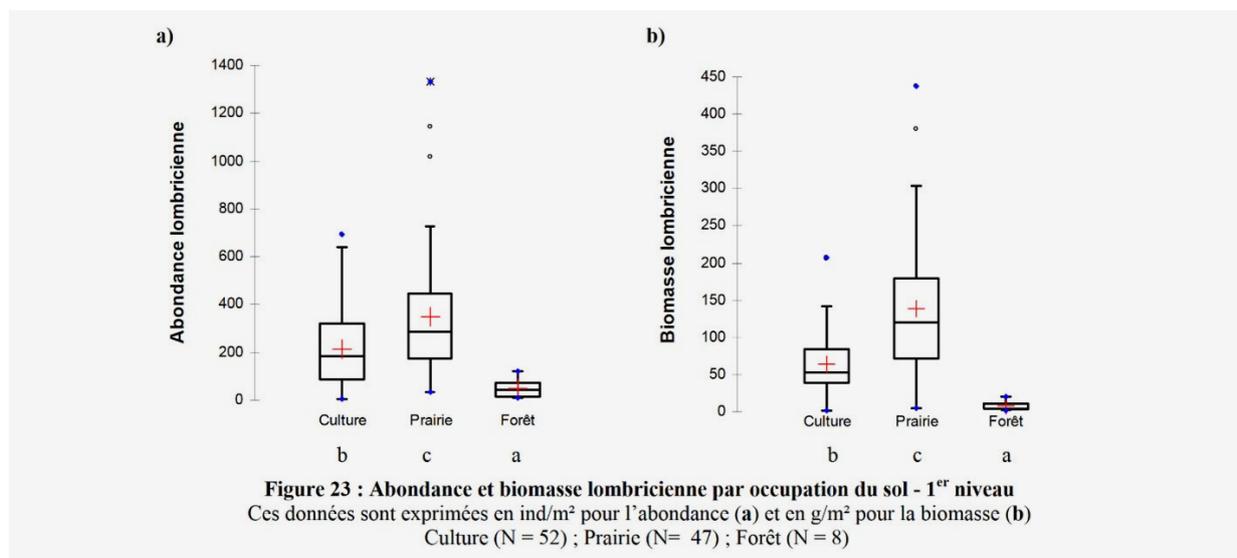


Abbildung 22: Die Abundanz und Biomasse der Regenwürmer unterscheidet sich gemäss den Ergebnissen des RMQS BioDiv. Programms für die drei Landbedeckungssysteme (Ackerbau, Grasland und Wald) mit hohen Werten im Grasland (350 Ind/m<sup>2</sup>; 138 g/m<sup>2</sup>), mittleren Werten im Ackerbau (215 Ind/m<sup>2</sup>; 63 g/m<sup>2</sup>) und niedrigen Werten im Wald (50 Ind/m<sup>2</sup>; 8 g/m<sup>2</sup>), (Cluzeau, 2009b).

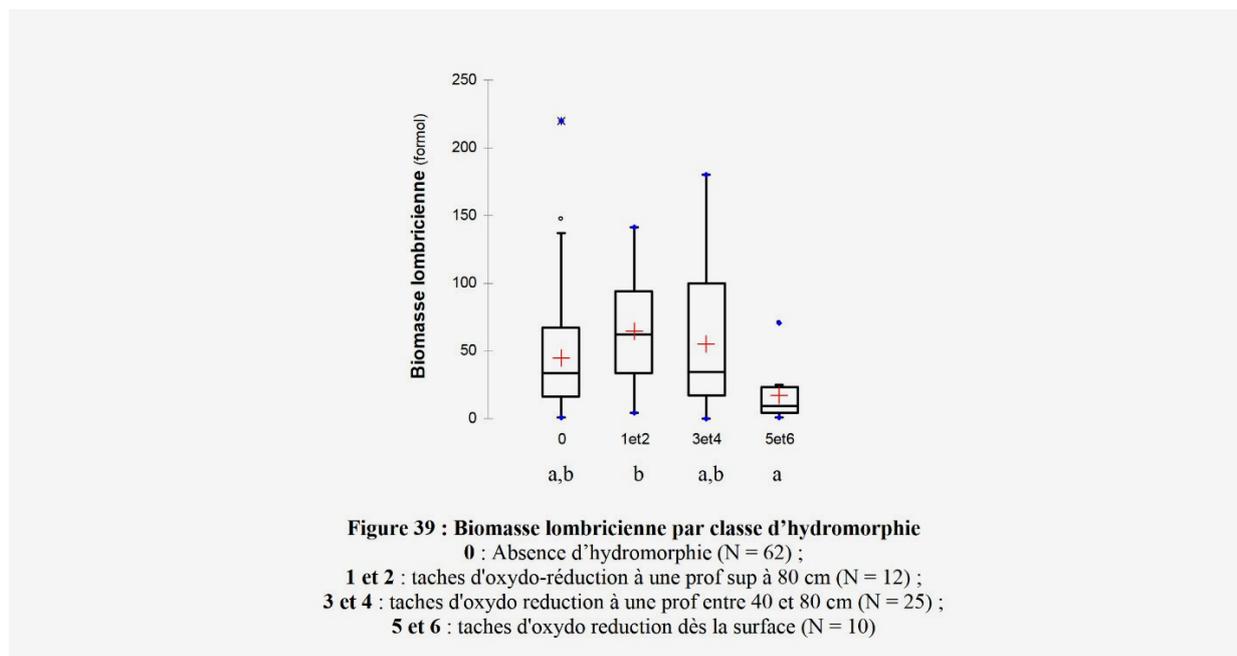


Abbildung 23: Regenwurm-Biomasse nach Hydromorphieklassen gemäss dem RMQS-Programm BioDiv (Cluzeau, 2009b).

Letztendlich wurde ein Vorschlag für ein grundlegendes Referenzsystem für die Abundanz von Regenwürmern für die Region Bretagne durch das RMQS BioDiv Programm (Abbildung 24) gemacht (Cluzeau, 2009b).

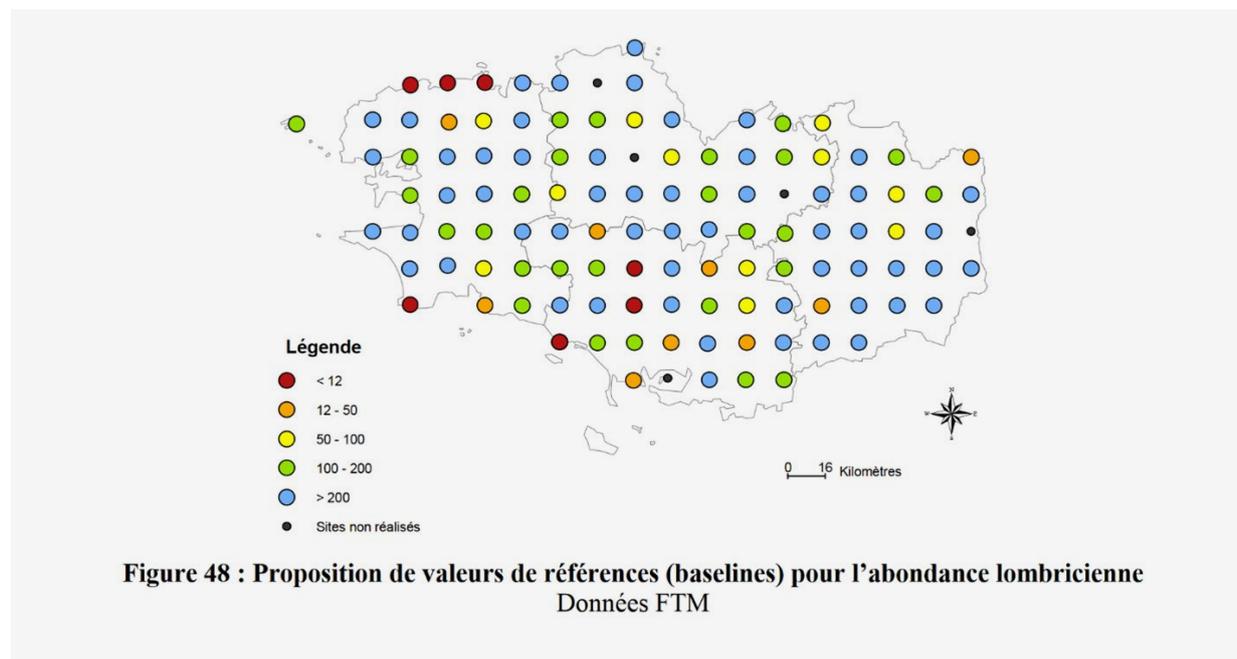


Abbildung 24: Vorschlag für ein grundlegendes Referenzsystem für die Abundanz von Regenwürmern in der Region Bretagne gemäss dem RMQS-Programm BioDiv (Cluzeau, 2009b). Die Zahlen bedeuten Individuen pro m<sup>2</sup>.

Die Schweiz bietet auch Vergleichswerte für die Abundanz von Regenwürmern nach Landbedeckungsarten (Abbildung 25) (Pfiffner, 2013).

|                                      |         |
|--------------------------------------|---------|
| Extensiv genutzte Weide              | 400-500 |
| Gedüngte Wiese                       | 200-300 |
| Laubwald                             | 150-250 |
| Extensiv bewirtschaftete Ackerfläche | 120-250 |
| Magerwiese                           | 30-40   |
| Fichtenwald                          | 10-15   |

Abbildung 25: Häufigkeit von Regenwürmern pro m<sup>2</sup> nach Art der Bodennutzung nach dem FiBL-Merkblatt über Regenwürmer (Pfiffner, 2022).

Vergleichswerte werden von der Arbeitsgruppe Bodenbiologie (VBBio) auch für die Regenwurm-Biomasse in Grünlandböden vorgeschlagen. Sie basieren auf Daten von Cuendet et al. (1997) zu Regenwurm-Beständen in Dauergrünland im Schweizer Mittelland (Abbildung 26). Die Vergleichswerte gelten für die Regenwurm-Biomasse von Böden mit folgenden Eigenschaften: Grünland (Böden, die mindestens 10 Jahre lang nicht gepflügt wurden), Humusgehalt von 2–15%, Böden im Schweizer Mittelland (zwischen 400 und 800 m Höhe, Niederschlag < 1200 mm) (VBB-BSA, 2009).

Eine Kartierung der Schweizer Böden, die Regenwürmer als biologische Parameter zusätzlich zu chemisch-physikalischen Parametern erhebt, würde es erlauben schweizweite Referenzwerte zu ermitteln.

|  | Médiane              | Minimum | Maximum | Quartile inférieur | Quartile supérieur |
|--|----------------------|---------|---------|--------------------|--------------------|
| <b>Biomasse lombricienne, herbages</b> | [g m <sup>-2</sup> ] |         |         |                    |                    |
| Toutes les espèces                     | 301                  | 130     | 515     | 250                | 400                |
| Espèces épigées                        | 4                    | 1       | 20      | 1                  | 9                  |
| Espèces endogées                       | 61                   | 10      | 171     | 37                 | 92                 |
| Total des espèces anéciques            | 229                  | 73      | 497     | 173                | 309                |
| - Lumbricus anéciques                  | 105                  | *       | 220     | 63                 | 149                |
| - Nicodrilus anéciques                 | 121                  | *       | 365     | 75                 | 198                |
| <b>Biomasse lombricienne, herbages</b> | [%]                  |         |         |                    |                    |
| Espèces épigées                        | 2                    | 1       | 7       | 1                  | 4                  |
| Espèces endogées                       | 22                   | 2       | 50      | 13                 | 30                 |
| Total des espèces anéciques            | 76                   | 48      | 98      | 67                 | 85                 |
| - Lumbricus anéciques                  | 33                   | *       | 70      | 21                 | 44                 |
| - Nicodrilus anéciques                 | 43                   | *       | 92      | 27                 | 60                 |

*Remarque : comme les valeurs de comparaison données ici ont été déterminées à l'aide d'une méthode combinant l'extraction au formol et celle manuelle, les valeurs obtenues par d'autres méthodes ne sont que partiellement comparables.*

Abbildung 26: Vergleichswerte für die Regenwurm-Biomasse in Grünlandböden (in g m<sup>2</sup> und % Biomasse einer bestimmten ökologischen Gruppe von der Gesamtartenzahl von 301 g m<sup>2</sup>) nach Cuendet et al. (1997) und ausgewertet von der VBBio-BioSA Arbeitsgruppe des Bundes. \* Fehlen der Gruppe aus zoogeografischen Gründen (VBB-BSA, 2009).

## 4.2 Mikroarthropoden

Mikroarthropoden wie Milben und Springschwänze sind wichtige Akteure der Zersetzungsprozesse im Boden, die den biogeochemischen Kreislauf und den Abbau organischer Stoffe beeinflussen. Sie sind auch Regulatoren der Bakterien- und Pilzaktivität, deren Räuber sie sind. Ihre grosse Häufigkeit und ihr ausserordentlicher Artenreichtum in Böden (insbesondere bei den Milben) führen zu einem Mangel an taxonomischen Kenntnissen, der die Identifizierung von Arten erschwert, insbesondere für Nicht-Experten auf diesem Gebiet. Dies ändert nichts daran, dass Mikroarthropoden nach Regenwürmern der am häufigsten verwendete biologische Parameter in Forschungs- und Monitoringsprogrammen sind.

### 4.2.1 Vorteile und Einschränkungen der biologischen Parameter

#### Vorteile:

- Bedeutung der Mikroarthropoden für Ökosystemdienstleistungen (Nährstoffkreisläufe und Primärproduktion, u. a. durch Zersetzungsprozesse und Schädlingskontrolle, Wiederherstellung verschmutzter Böden (Cortet, 2010).
- Mikroarthropoden sind Vertreter der Mesofauna und können in zahlreiche funktionelle Gruppen mit z. B. gut diversifizierten Ernährungsweisen differenziert werden.
- Ihre Identifizierung durch molekulare Analyse wird immer beliebter (z. B. Projekt von Jürg Enkerli, Agroscope), wodurch die Schwierigkeiten der taxonomischen Identifizierung durch morphologische Analyse überwunden werden können.

#### Einschränkungen:

- Die Probenahme soll vorzugsweise im Frühjahr durchgeführt werden.
- Für die Entnahme der Bodenproben für die Mikroarthropoden müssen ungestörte Bodenkerne genommen werden.
- Die Mikroarthropoden müssen schnell aus der Bodenprobe extrahiert werden (maximal nach 4 Tagen).

- Die Identifizierung von Milben durch morphologische Analyse ist komplex und erfordert Expertenwissen. Die molekulare Analyse könnte diese Schwierigkeit lösen.
- Es handelt sich um den zeitaufwändigsten biologischen Parameter in Bezug auf die Gesamtzeit (funktionelle Methoden ausgenommen), insbesondere in Bezug auf die Phase der Extraktion der Organismen aus der Bodenprobe (10 Tage). Auch die Vorbereitung der Milben für die morphologische Analyse nimmt einige Zeit in Anspruch.

### 4.2.2 Umsetzung nach etablierten Kriterien

Wie bei den Regenwürmern wird die Umsetzung im Kontext einer Bodenkartierung weiter unten diskutiert (Tabelle 24). Dabei werden dieselben Überlegungen angestellt, d. h. die personalen und finanziellen Ressourcen, die für die drei verschiedenen Szenarien (100, 500 oder 1000 Proben pro Woche) erforderlich sind.

Die folgenden Zahlen basieren auf den Schätzungen für Zeit- und Materialkosten, die im Ergebnisteil dieses Dokuments (Kapitel 3.3.7) dargestellt werden. Bei den zeitlichen Ressourcen berücksichtigen sie die methodischen Phasen als Ganzes (keine Details zu den einzelnen Schritten). Es wurden die MacFadyen-Extraktionsmethode und die morphologische Analyse berücksichtigt (aufgrund der zeitlichen Beschränkungen der Literaturübersicht konnte die molekulare Analyse durch DNA-Metabarcoding für Mikroarthropoden nicht im Detail entwickelt werden; zum Vergleich kann die molekulare Analyse von Nematoden und Protisten herangezogen werden). Die Berechnung betrachtet die effektive Zeit, die für die Analyse von 100, 500 oder 1000 Proben benötigt wird, sowie den Personalaufwand, der notwendig ist, um die Arbeit in einer Woche zu erledigen (40-Stunden-Woche). Diese Werte geben eine Grössenordnung an und ermöglichen es die erforderlichen Ressourcen abzuschätzen. Sie berücksichtigen keine Grössen-

| Benötigte Bruttoressourcen<br>(1 Probe = 1 Scheibe aus dem Bohrstock) <sup>1</sup> | Anzahl der wöchentlichen Proben |      |       |
|--|---------------------------------|------|-------|
|  | 100                             | 500  | 1000  |
| <b>Personalressourcen (effektive Zeit)</b>   |                                 |      |       |
| <b>Phase 1 – Entnahme (~ 5 min/Bohrung)</b><br>Vollzeitäquivalent                  | 0,2                             | 1,0  | 2,1   |
| <b>Phase 2 – Extraktion MacFadyen (~ 5 min/Probe)</b><br>Vollzeitäquivalent        | 0,2                             | 1,0  | 2,1   |
| <b>Phase 3 – Morphologische Analyse (4:45 h/Probe)</b><br>Vollzeitäquivalent       | 12                              | 59   | 119   |
| <b>Materialressourcen</b>  |                                 |      |       |
| Verbrauchskosten CHF (17.00 CHF/Probe)   | 1700                            | 8500 | 17000 |

Tabelle 24: Geschätzter Bruttobedarf an Vollzeitäquivalenten und materiellen Investitionen (Kosten für Verbrauchsmaterialien) für Mikroarthropoden, um 100, 500 oder 1000 Proben pro Woche (40-Stunden-Woche) zu analysieren, unter Berücksichtigung der MacFadyen-Extraktion und der morphologischen Analyse.

<sup>1</sup> Mindestens 3 ungestörte Bodenkerne, unterteilt in 3 Scheiben, werden für 1 Standort empfohlen (1 Standort = 3 Bodenkerne mit 3 Scheiben = 9 Proben).  
1 Tag = 8 h; 1 Woche = 5 Tage; 1 Monat = 4 Wochen

vorteile, die mit der Durchführung einer grossen Anzahl von Proben verbunden sind.

Angesichts der obigen Zahlen erscheint das Szenario mit 100 Proben pro Woche bereits ambitioniert. Bei den Mikroarthropoden ist zu beachten, dass das Extraktionsverfahren mehr als eine Woche Gesamtzeit in Anspruch nimmt. Besonders zeitaufwändig ist die morphologische Analyse.

Mindestens 3 Bodenkerne sollten pro Standort entnommen werden, um eine gute Repräsentativität der Ergebnisse zu erreichen. Die ISO empfiehlt, den Bohrkern in 3 Scheiben zu unterteilen (1 Scheibe = 1 Probe), was den Zeitaufwand und die Kosten für die Analyse erheblich erhöht. Ein Szenario mit

100 Proben bedeutet also insgesamt etwa 11 zu beprobende Standorte. Bei Mikroarthropoden kann der Extraktionsschritt parallelisiert werden. Ein MacFadyen-Extraktor kann bis zu 84 Proben gleichzeitig extrahieren (d. h. insgesamt 84 Positionen), sodass die Proben von 9 Standorten im selben Prozess extrahiert werden können. Zu beachten ist, dass das Programm Bioindicator II vier Bohrkern entnimmt, aber nur die erste Schicht des Bohrkerns (0 – 5 cm) verwendet, wodurch die Anzahl der pro Standort zu analysierenden Proben mindestens halbiert werden kann. Es wäre interessant zu diskutieren, inwieweit dies die erzielten Ergebnisse (Abundanz und Diversität der Mikroarthropoden) beeinflusst.

**100 Proben = ~ 11 Standorte**  
(1 Standort = 3 ungestörte Bodenkerne × 3 Scheiben)

### 4.2.3 Empfehlungen für die Kartierung

Die Mikroarthropoden sind Vertreter der Mesofauna. Sie ergänzen daher die Daten, die über die Makrofauna (Regenwürmer) und die Mikrofauna (Nematoden und Protisten) gewonnen wurden, und liefern somit zusätzliche Informationen im Hinblick auf eine Gesamtbewertung des biologischen Zustands des Bodens.

In der Feldphase müssen ungestörte Bodenkerne entnommen werden, was die Kombination mit der Probenahme für andere Analysen (z.B. physikalisch-chemische Analysen) erschweren kann. Die Methodik für die Untersuchung von Mikroarthropoden ist im Vergleich zu anderen biologischen Parametern ein langwieriges Verfahren (Abbildung 19, Kapitel 3.7.1). Eine der Herausforderungen wird sicherlich die Planung der verschiedenen methodischen Schritte von Anfang bis Ende sein. Denn die Extraktion der Mikroarthropoden aus dem Boden sollte am besten direkt nach der Probenahme (oder maximal 4 Tage danach) erfolgen, und allein die MacFadyen-Extraktion der Mikroarthropoden aus dem Boden benötigt etwa 10 Tage. Bisher scheint es keine kommerziell verfügbare

Lösung für die Verarbeitung eines grossen Probenvolumens zu geben (d.h. einen MacFadyen-Extraktor für sehr grosse Probenvolumina, z.B. > 100 Proben). Für sehr grosse Probemengen sollte eine Optimierung und Automatisierung des methodischen Protokolls in Betracht gezogen werden, wodurch das Verfahren parallelisiert und verschlankt werden könnte. Darüber hinaus würde der Ersatz der morphologischen Analyse durch eine molekulare Analyse (wie in dem derzeit laufenden Projekt von Jürg Enkerli von Agroscope) auch die Analyse der Zusammensetzung der Gemeinschaften erleichtern, was einen Informationsgewinn über die (genetische) Vielfalt der Milben mit sich bringen würde.

Die ISO 23611-2 Methode sollte verwendet werden. Sie empfiehlt die MacFadyen-Extraktion. Dies ist auch die Extraktionsmethode, die in den verschiedenen Monitoring- und Forschungsprogrammen, bei denen Mikroarthropoden eingesetzt werden, am häufigsten verwendet wurde.

Angesichts der verschiedenen Überlegungen lauten die Empfehlungen für die Verwendung von Mikroarthropoden als biologische Parameter zur Kartierung wie folgt:

#### Empfehlungen für den Einsatz von Mikroarthropoden in der Bodenkartierung

| Empfohlene Methode |   |
|--------------------|---|
| ISO 23611-4        | <ul style="list-style-type: none"> <li>– MacFadyen-Extraktion</li> <li>– Morphologische Analyse, die gegen die in Entwicklung befindliche molekulare Analyse abzuwägen ist (hier nicht behandelt).</li> <li>– Mindestens 3 Bohrkerne pro Standort; Anzahl der Bodenscheiben zu diskutieren</li> </ul> |
| Referenzprofile:   | Prioritär   |
| Profile:           | Optional  |
| Bohrungen          | Nur wenn ungestörte Proben genommen werden (intakter Bohrkern)  |

Tabelle 25: Kartierungsempfehlungen für Mikroarthropoden.

Die Untersuchung von Mikroarthropoden sollte vorrangig auf allen Referenzprofilen oder auf einem Teil davon erfolgen, je nachdem, welche Ressourcen zur Verfügung stehen. Bei ausreichenden Ressourcen sollten auch die Profile in Betracht gezogen werden. Falls mechanische Sondierungen die Entnahme von Bohrkernen aus intaktem Boden ermöglichen, könnte die Untersuchung von

Mikroarthropoden für einen Teil davon in Betracht gezogen werden. Mechanische Sondierungen könnten auch für den Fall eingesetzt werden, dass sich die Entwicklung von DNA- oder Umwelt-DNA (eDNA)-Metabarcoding-Techniken und die Interpretation der damit verbundenen Daten für diese Organismen rasch weiterentwickeln (z.B. Verfügbarkeit einer Referenzbibliothek).

## 4.3 Nematoden

Nematoden sind für das Bodenleben von entscheidender Bedeutung und spielen eine Schlüsselrolle in der trophischen Kette (Regulierung der Mikroorganismen). Je nach ihrer Ernährung können Nematoden in verschiedene trophische Gruppen eingeteilt werden. Sie gelten als gute Bioindikatoren und werden in vielen Monitoring- und Forschungsprogrammen eingesetzt.

### 4.3.1 Vorteile und Einschränkungen des biologischen Parameters

#### *Vorteile:*

- Bedeutung der Nematoden für die Bodenfunktion. Verschiedene trophische Gruppen (Nahrungsregime) spiegeln die Bodenfunktionalität wider.
- Biologischer Parameter, der bereits häufig zur Charakterisierung der biologischen Funktion des Bodens verwendet und untersucht wurde.
- Eine einzige Analyse liefert eine Vielzahl von Informationen (Niveau der allgemeinen biologischen Aktivität, Verfügbarkeit von Nährstoffen, Stabilität/Störungsgrad des Bodens usw.). Mehrere Indizes können für diesen Bioindikator berechnet werden und geben Auskunft über die biologische Funktion und den Zustand der untersuchten Böden (Kapitel 3.4.5).

- Grundlegendes Repositorium teilweise bereits verfügbar, Indizes vorhanden.
- Die molekularanalytische Identifizierung mit DNA-Metabarcoding ist bereits recht weit fortgeschritten und die Identifizierung mit eDNA-Metabarcoding befindet sich in der Entwicklung.
- Die Probenahme (Mischprobe) kann mit der Probenahme für chemisch-physikalische Analysen und andere biologische Parameter wie Protisten oder Mikroorganismen (Bakterien und Pilze) kombiniert werden, da keine ungestörte Probe entnommen werden muss.
- Bei der molekularen Analyse durch Metabarcoding von eDNA können die Bodenproben eingefroren werden.

#### *Einschränkungen:*

- Die Bodenproben sollten vorzugsweise im Frühjahr und Herbst entnommen werden (können aber auch das ganze Jahr über entnommen werden).
- Die Nematoden müssen schnell aus der Bodenprobe extrahiert werden (innerhalb von 15 Tagen nach Entnahme der Bodenprobe), wenn eine morphologische Analyse oder eine molekulare Analyse mittels DNA-Metabarcoding durchgeführt wird (nicht bei eDNA-Metabarcoding, wo die Zeit weniger kritisch ist).

### 4.3.2 Umsetzung nach etablierten Kriterien

Die Umsetzung im Kontext der Bodenkartierung wird im Folgenden diskutiert (Tabelle 26 und Tabelle 27). Dabei werden die personellen und finanziellen Ressourcen berücksichtigt, die für die drei verschiedenen Szenarien – 100, 500 oder 1000 Proben pro Woche – erforderlich sind.

Die folgenden Zahlen basieren auf den Schätzungen für Zeit- und Materialaufwand, der im Ergebnisteil dieses Dokuments (Kapitel 3.4.7) aufgestellt wurde. Bei den zeitlichen Ressourcen berücksichtigen sie die methodischen Phasen in ihrer Gesamtheit (keine Details zu den einzelnen Schritten,

die die Phasen bilden). Im Folgenden werden die morphologische Analyse (Oostenbrink-Elutrierung und Sieben/Filtern) und die molekulare Analyse (Metabarcoding von DNA und eDNA) miteinander verglichen. Die Berechnung berücksichtigt die effektive Zeit, die für die Analyse von 100, 500 oder 1000 Proben benötigt wird, sowie die Personalressourcen, die notwendig sind, um die Arbeit in 1 Woche (40-Stunden-Woche) zu erledigen. Diese Werte geben eine Grössenordnung an und ermöglichen eine Einschätzung der erforderlichen Ressourcen unter Berücksichtigung der am häufigsten verwendeten Techniken. Sie berücksichtigen jedoch nicht die Grössenvorteile, die mit der Durchführung einer grossen Anzahl von Proben verbunden sind (siehe unten).

#### Morphologische Analysen

| Benötigte Bruttoressourcen<br>(1 Standort = 1 Mischprobe, 25–32 Bohrkern) <sup>1</sup> | Anzahl der wöchentlichen Proben |      |      |
|--|---------------------------------|------|------|
|  | 100                             | 500  | 1000 |
| <b>Personalressource (effektive Zeit)</b>  |                                 |      |      |
| <b>Phase 1 – Entnahme (~1 h/Probe)</b><br>Vollzeitäquivalent                           | 2,5                             | 12,5 | 25,0 |
| <b>Phase 2 – Extraktion Oostenbrink (~15 min/Probe)</b><br>Vollzeitäquivalent          | 0,6                             | 3,1  | 6,3  |
| <b>Phase 3 – Morphologische Analyse (~3 h/Probe)</b><br>Vollzeitäquivalent             | 7,5                             | 37,5 | 75,0 |
| <b>Materialressourcen</b>  |                                 |      |      |
| Verbrauchskosten CHF (5.00 CHF/Probe)  | 500                             | 2500 | 5000 |

Tabelle 26: Geschätzter Bruttobedarf an Ressourcen in Form von Vollzeitäquivalenten und materiellen Investitionen (Kosten für Verbrauchsmaterial) für Nematoden zur Analyse von 100, 500 oder 1000 Proben pro Woche (40-Stunden-Woche), unter Berücksichtigung der morphologischen Analyse.

<sup>1</sup> Je nach Methode werden für einen Standort zwischen 25 und 32 Bohrkern ( $\varnothing$  2,3 bis 7 cm, Länge 10 bis 15 cm) pro 100 m<sup>2</sup> empfohlen, die eine Mischprobe bilden. Nur ein Bruchteil der Mischprobe wird für die Extraktion der Nematoden verwendet, in der Regel zwischen 100 und 500 g Boden (1 Standort = Mischprobe à 25–32 Bodenkerne [→ Entnahme eines Bruchteils] = 1 Probe).

1 Tag = 8 h; 1 Woche = 5 Tage; 1 Monat = 4 Wochen

## Molekulare Analysen (Metabarcoding von DNA und eDNA)

| Benötigte Bruttoressourcen<br>(1 Standort = 1 Mischprobe à 8 Bohrkerne) <sup>1</sup>     | Anzahl der wöchentlichen Proben |                    |                     |
|--|---------------------------------|--------------------|---------------------|
|  | 100                             | 500                | 1000                |
| <b>Personalressource (effektive Zeit)</b>  |                                 |                    |                     |
| <b>Phase 1 – Entnahme (~ 10 min/Probe)</b><br>Vollzeitäquivalent                         | 0,4                             | 2,1                | 4,2                 |
| <b>Phase 2 – Extraktion Oostenb. (~ 15 min/ Probe)<sup>2</sup></b><br>Vollzeitäquivalent | 0,6                             | 3,1                | 6,3                 |
| <b>Phase 3 – Genomische Extraktion (~ 2 h/ Probe)</b><br>Vollzeitäquivalent              | 5                               | 25                 | 50                  |
| <b>Phase 4 – Molekulare Analyse (~ 6 h/ Probe)</b><br>Vollzeitäquivalent                 | << 15 <sup>3</sup>              | << 75 <sup>3</sup> | << 150 <sup>3</sup> |
| <b>Materialressourcen</b>  |                                 |                    |                     |
| Verbrauchskosten CHF (45.00 CHF/Probe)   | 4500                            | 22 500             | 45 000              |

Tabelle 27: Geschätzter Bruttobedarf an Ressourcen in Form von Vollzeitäquivalenten und materiellen Investitionen (Kosten für Verbrauchsmaterial) für Nematoden, um 100, 500 oder 1000 Proben pro Woche (40-Stunden-Woche) zu analysieren, unter Berücksichtigung der molekularen Analyse.

<sup>1</sup> 8 Bohrkerne, die eine Mischprobe bilden, werden für 1 Standort empfohlen (1 Standort = Mischprobe mit 8 Bodenkernen [-> Entnahme einer Fraktion] = 1 Probe).

<sup>2</sup> Nur im Fall von DNA-Metabarcoding.

<sup>3</sup> Diese Daten basieren auf den geschätzten Zeitressourcen für Protisten (Kap. 3.5.5 und Kap. 4.4.2), wobei der Stand der Forschung zum Zeitpunkt der Erstellung dieses Dokuments berücksichtigt wurde. In der Realität sind die zeitlichen Ressourcen für die Bestimmung von Nematoden heute deutlich geringer.

1 Tag = 8 Stunden; 1 Woche = 5 Tage; 1 Monat = 4 Wochen.

Ähnlich wie bei den anderen biologischen Parametern scheint das Szenario mit 100 Proben pro Woche das geeignetste der drei betrachteten Szenarien zu sein.

Der Vergleich der beiden Methoden, die entweder die morphologische Analyse oder die molekulare Analyse durch DNA-Metabarcoding der Nematoden verwenden (siehe auch Abbildung 19, Kapitel 3.7.1), zeigt, dass die Methode der morphologischen Analyse nicht so zeitaufwändig ist, wie es scheint. Bei der DNA-Metabarcoding-Methode fügt die Tatsache, dass die Nematoden vor der Analyse aus der Bodenprobe extrahiert werden müssen, dem methodischen Prozess einen weiteren Schritt hinzu und erfordert somit zusätzliche Zeit. Die molekulare Analyse durch eDNA-Metabarcoding (molekulare Analyse von Nematoden direkt aus der Bodenprobe wie bei Bakterien, Pilzen oder Protisten) spart Zeit, da der Schritt der

Extraktion der Nematoden aus dem Boden nicht erforderlich ist. Diese Methode befindet sich derzeit noch in der Entwicklung. Während die morphologische Analyse mehrere Stunden in Anspruch nimmt, um die Nematoden unter dem Mikroskop der Art zuzuordnen (und auch die Fähigkeiten eines Spezialisten erfordert, um dies zu erreichen), benötigt die molekulare Analyse ebenfalls einige Stunden für die Verarbeitung der DNA-Datensequenzen (Qualitätsprüfung, Sortieren, um unbrauchbare Datensequenzen zu entfernen) und für die Interpretation (taxonomische Zuordnung der identifizierten DNA-Sequenzen, Analyse der Gemeinschaften und der Diversität). Sobald die Referenzdaten für die Basensequenzen festgelegt sind, kann durch die Entwicklung von Datenverarbeitungsalgorithmen die Geschwindigkeit gesteigert werden. Die molekulare Analyse ermöglicht einen sehr genauen Einblick in die (genetische) Vielfalt der Nematoden.

## **100 Proben = 100 Standorte** (1 Standort = Mischprobe mit 25 – 32 Kernen [morphologisch] oder 8 Kernen [molekular])

Für die morphologische und die molekulare Analyse wird pro Standort 1 Mischprobe entnommen. Ein Szenario mit 100 Proben entspricht also insgesamt 100 zu beprobenden Standorten. Bei beiden Analysearten ist es möglich, den Schritt der Extraktion der Nematoden aus dem Boden zu Beginn des Verfahrens zu parallelisieren. Denn die Oostenbrink-Elutriation dauert nicht lange und es können mehrere Elutriationen parallel durchgeführt werden, je nachdem, wie viele Elutriatoren zur Verfügung stehen. Anschliessend kann eine grosse Anzahl von Proben parallel für die Sieb-/Filtrationsphase bearbeitet werden, die mehrere Tage Wartezeit erfordert. Bei der molekularen Methode ist es auch möglich, in der Phase der Genomextraktion die DNA aus mehreren Proben parallel zu extrahieren, was die Zeit pro Probe deutlich reduziert. Einige Laborgeräte ermöglichen auch die Automatisierung des DNA-Extraktionsverfahrens und die parallele Verarbeitung von bis zu 96 Proben.

### **4.3.3 Empfehlungen für die Kartierung**

Nematoden sind ein häufig verwendeter biologischer Parameter für die Untersuchung der Bodenqualität und sollten Teil der Bodenkartierung sein. Sie sind auch im Hinblick auf die Probenahme im Feld interessant, da die Probenahme mit anderen Probenahmen kombiniert werden kann, die keinen intakten Bodenkern erfordern (z. B. Probenahme für andere biologische Parameter wie Protisten und Mikroorganismen und Probenahme für bestimmte physikalisch-chemische Analysen).

Was die Extraktion von Nematoden aus dem Boden betrifft, so sollte diese durch Oostenbrink-Elutriation (wie z. B. in der ISO-Methode 23611-4 beschrieben) erfolgen. Diese Art der Extraktion wurde in den verschiedenen Überwachungs- und

Forschungsprogrammen, bei denen Nematoden verwendet wurden, am häufigsten angewandt. Sie gilt auch als die effektivste Technik hinsichtlich der Effizienz und Qualität der Extraktion mobiler Formen von Nematoden aus dem Boden. Sie ermöglicht auch die Verarbeitung der grössten Probenmengen und ist daher gut für die Routineanalyse geeignet. Für das weitere Extraktionsverfahren empfiehlt die ISO einen Sieb-/Filtrationsschritt. Eine Extraktion nach Baermann kann ebenfalls in Betracht gezogen werden.

Die Wahl zwischen einer morphologischen oder molekularen Analyse kann diskutiert werden. Die morphologische Analyse erfordert nach den aufgelisteten Methoden die Entnahme einer grösseren Menge an Bodenproben (25 – 32 Bohrkerne pro Standort) im Vergleich zur molekularen Analyse (8 Bohrkerne pro Standort). Es ist eine etablierte Analyse, die in vielen Forschungsprogrammen verwendet wird. Vergleichswerte sind bereits verfügbar und in einigen Ländern beginnt sich ein grundlegendes Referenzsystem herauszubilden. Darüber hinaus ermöglicht sie die Berechnung zahlreicher Indizes, die Auskunft über die biologische Funktion und den Zustand der untersuchten Böden geben. Allerdings erfordert sie, wie auch die molekulare Analyse durch DNA-Metabarcoding, die Verwendung frischer Bodenproben und die Extraktion der Nematoden muss innerhalb weniger Tage nach der Probenahme erfolgen, um ein Absterben der Nematoden zu verhindern.

Die molekulare Analyse durch eDNA-Metabarcoding (in der Entwicklungsphase an der WSL von Beat Frey) wird an gefrorenen Bodenproben durchgeführt, was die Lagerung der Proben nach der Entnahme und eine zeitlich verzögerte Analyse ermöglicht. Sie hat auch den Vorteil, dass der Schritt der Extraktion der Nematoden aus dem Boden (nur mobile Formen) entfallen kann, da die DNA-Isolierung direkt aus den gesammelten Bodenproben vorgenommen wird. Sie ermöglicht somit auch die Identifizierung von zystischen oder unbeweglichen Nematodenstadien. Die molekulare

re Analyse durch Metabarcoding von DNA oder eDNA liefert Daten über die genetische Vielfalt der Nematoden sowie über die Struktur und Zusammensetzung der Gemeinschaften. Eine morphologische Analyse unter dem Mikroskop ist derzeit jedoch immer noch notwendig, um die Abundanz der Individuen (Anzahl der Individuen) zu bewerten oder Indizes wie den Reifegradindex zu berechnen.

Angesichts der verschiedenen oben dargelegten Überlegungen für die Umsetzung lauten die Empfehlungen für die Verwendung von Nematoden als biologische Parameter für Profile oder Sondierungen mit grossem Durchmesser für die Kartierung wie folgt:

Die Untersuchung der Nematoden sollte an allen oder zumindest an einem Teil der Referenzprofile erfolgen. Aufgrund der Art und Weise, wie die Bodenproben für Nematoden entnommen werden, ist ihre Untersuchung auch bei Bohrungen möglich. Die Anzahl der Bohrkerne, die bei der Bodenkartierung entnommen wird, könnte die Wahl auch auf die Art der durchführbaren Analysen lenken, da für die morphologische Analyse im Vergleich zur molekularen Analyse (bei einer Mischprobe) 3- bis 4-mal so viele Proben benötigt werden wie für die molekulare Analyse. Bei ausreichenden Ressourcen könnten Profile auch für die Untersuchung von Nematoden in Betracht gezogen werden.

**Empfehlungen für den Einsatz von Nematoden bei der Bodenkartierung**

| <b>Empfohlene Methode</b> |   |
|---------------------------|---|
| ISO                       | – Oostenbrink-Elution, dann Siebung/Filtration oder Baermann (zu diskutieren).<br>– Molekulare oder morphologische Analyse zu diskutieren |
| Referenzprofil:           | Prioritär   |
| Profile:                  | Optional  |
| Bohrungen                 | Prioritär   |

Tabelle 28: Kartierungsempfehlungen für Nematoden.

---

## 4.4 Protisten

Neben den Nematoden gehören Protisten zu den wichtigsten Vertretern der Bodenmikrofauna. Obwohl sie weniger erforscht sind als einige andere Organismen der Bodenfauna, spielen Protisten eine grundlegende Rolle, z. B. beim Abbau organischer Substanz und im Nährstoffkreislauf.

*Einschränkungen:*

- \_ Die Proben werden vorzugsweise im Frühjahr und im Herbst genommen.
- \_ Grundlegendes Repositorium muss noch ergänzt werden.
- \_ Methode noch nicht standardisiert.

---

### 4.4.1 Vorteile und Einschränkungen des biologischen Parameters

*Vorteile:*

- \_ Bedeutung der Protisten für das Funktionieren des Bodens. Sie können in vier grosse funktionelle ökologische Bedeutungsgruppen eingeteilt werden (phagotrophe, symbiotische, saprotrophe und phototrophe oder mixotrophe).
- \_ Die Identifizierung durch molekulare Analyse (eDNA-Metabarcoding) wurde in den letzten Jahren für Protisten demokratisiert und ein grundlegendes Referenzsystem für die genetische Vielfalt und Zusammensetzung der Gemeinschaften wird derzeit entwickelt.
- \_ Probenahme (Mischprobe) kombinierbar mit der für physikalisch-chemische Analysen und andere biologische Parameter wie Nematoden oder Mikroorganismen (Bakterien und Pilze), da die Entnahme einer ungestörten Probe nicht erforderlich ist.

---

### 4.4.2 Umsetzung nach etablierten Kriterien

Die Umsetzung im Kontext der Bodenkartierung wird im Folgenden diskutiert (Tabelle 29). Dabei werden die personellen und finanziellen Ressourcen berücksichtigt, die für die drei verschiedenen Szenarien von 100, 500 oder 1000 Proben pro Woche erforderlich sind.

Die folgenden Zahlen basieren auf den Schätzungen für Zeit- und Materialaufwand, der im Ergebnisteil dieses Dokuments (Kapitel 3.5.5) dargestellt wird. Bei den zeitlichen Ressourcen berücksichtigen sie die methodischen Phasen als Ganzes (keine Details zu den einzelnen Schritten, die die Phasen bilden). Die Berechnung berücksichtigt die effektive Zeit, die für die Analyse von 100, 500 oder 1000 Proben benötigt wird, sowie die Personalressourcen, die für die Durchführung der Arbeit in 1 Woche (40-Stunden-Woche) erforderlich ist. Diese Werte geben eine Grössenordnung an und ermöglichen es, unter Berücksichtigung des Stands der Technik, die erforderlichen Ressourcen zu bewerten. Allerdings berücksichtigen sie nicht die Grössenvorteile, die mit der Durchführung einer grossen Anzahl von Proben verbunden sind.

| Benötigte Bruttoressourcen<br>(1 Standort = 1 Mischprobe aus 3 Bohrkernen) <sup>1</sup> | Anzahl der wöchentlichen Proben |                 |                  |
|---|---------------------------------|-----------------|------------------|
|   | 100                             | 500             | 1000             |
| <b>Personalressourcen (Effektive Zeit)</b>  |                                 |                 |                  |
| <b>Phase 1 – Entnahme (~ 5 min/Probe)</b><br>Vollzeitäquivalent                         | 0,2                             | 1,0             | 2,1              |
| <b>Phase 2 – Genomische Extraktion (~ 2 h/Probe)</b><br>Vollzeitäquivalent              | 5 <sup>2</sup>                  | 25 <sup>2</sup> | 50 <sup>2</sup>  |
| <b>Phase 3 – Molekulare Analyse (~ 6 h/Probe)</b><br>Vollzeitäquivalent                 | 15 <sup>2</sup>                 | 75 <sup>2</sup> | 150 <sup>2</sup> |
| <b>Materialressourcen</b>   |                                 |                 |                  |
| Verbrauchskosten (45.00 CHF/Probe)  | 4500                            | 22 500          | 45 000           |

Tabelle 29: Geschätzter Bruttobedarf an Vollzeitäquivalenten und materiellen Investitionen (Kosten für Verbrauchsmaterialien) für Protisten, um 100, 500 oder 1000 Proben pro Woche (40-Stunden-Woche) zu analysieren.

<sup>1</sup> Mindestens 3 Bodenkerne, die eine Mischprobe bilden, werden für 1 Standort empfohlen (1 Standort = Mischprobe à 3 Bodenkerne = 1 Probe).

<sup>2</sup> Diese Information wurde von Prof. Dr. Thierry Heger nach dem derzeitigen Stand der Literaturrecherche übermittelt. In Zukunft dürften die zeitlichen Ressourcen tendenziell deutlich geringer werden.

1 Tag = 8 h; 1 Woche = 5 Tage; 1 Monat = 4 Wochen

Angesichts der oben genannten Zahlen scheint das Szenario mit 100 Proben pro Woche das realistischste der drei betrachteten Szenarien zu sein.

Pro Standort wird eine Mischprobe aus drei Bohrkernen entnommen. Ein Szenario mit 100 Proben bedeutet also, dass insgesamt etwa 100 Standorte beprobt werden. Nach Expertenmeinung ist es möglich, während der Phase der genomischen Ex-

traktion die DNA aus mehreren Proben parallel zu extrahieren, was die Zeit pro Probe deutlich reduziert. Es wird geschätzt, dass 20 bis 25 Proben an einem Tag extrahiert werden können (persönliche Mitteilung Thierry Heger, Changins). Wie bereits bei den Nematoden (Kapitel 4.3) erwähnt, ermöglichen einige Laborinstrumente nun die Automatisierung des DNA-Extraktionsverfahrens und die parallele Verarbeitung von bis zu 96 Proben.

**100 Proben = ~ 100 Standorte**  
(1 Standort = Mischprobe mit 3 Bohrkernen)

### 4.4.3 Empfehlungen für die Kartierung

Die Analyse von Bodenprotistengemeinschaften ist ein schnell wachsendes Gebiet, das in eine Bodenkartierung integriert werden sollte. Die Umsetzung der globalen Methodik zur Untersuchung von Protisten ist vor allem im Hinblick auf Zeitressourcen, Materialkosten und erforderliche Fachkenntnisse (wenn die Sequenzierung von einem externen Dienstleister durchgeführt wird) vorteilhaft. Angesichts des Probenvolumens, das im Rahmen einer Bodenkartierung analysiert werden müsste, wäre es interessant, eine Prognose für die Durchführung einschliesslich des Schritts der DNA-Sequenzierung in einem internen Verfahren zu erstellen. Darüber hinaus ist bei Protisten auch die Phase der Probenahme im Feld vorteilhaft, da sie die Entnahme einer Mischprobe erfordert, die in Kombination

mit der Entnahme von Proben für andere biologische Parameter, wie Nematoden und Mikroorganismen, und der für bestimmte physikalisch-chemische Analysen durchgeführt werden kann.

Die Methode zur Untersuchung von Bodenprotisten ist derzeit noch nicht Gegenstand einer Norm (wie z.B. eines ISO-Standards). Sie sollte daher Gegenstand weiterer Diskussionen sein, um sich auf eine Methodik zu einigen, die eine Harmonisierung und einen Vergleich der Daten auf nationaler, aber später auch auf internationaler Ebene am besten ermöglicht.

In Anbetracht der verschiedenen oben dargelegten Überlegungen für die Umsetzung lauten die Empfehlungen für die Verwendung von Protisten als biologische Parameter für Profile oder Sondierungen mit grossem Durchmesser für die Kartierung wie folgt:

#### Empfehlungen für die Verwendung von Protisten in der Bodenkartierung

| Empfohlene Methode                 |   |
|------------------------------------|---|
| In Priorität der Forschung Schweiz | <ul style="list-style-type: none"> <li>– Molekulare Analyse (DNA oder cDNA)</li> <li>– Derzeit kein Standard verfügbar;</li> <li>– Harmonisierung erforderlich: Expertengespräch zur detaillierten Festlegung der Methodik</li> </ul> |
| Referenzprofil                     | Prioritär   |
| Profile                            | Optional  |
| Bohrungen                          | Prioritär   |

Tabelle 30: Kartierungsempfehlungen für Protisten.

Aufgrund der Art und Weise, wie Bodenproben für Protisten entnommen werden, ist ihre Untersuchung mit mechanischen Sondierungen durchführbar. Sie sind neben den Nematoden die einzigen biologischen Parameter für die Bodenfauna, bei denen dies möglich ist. Die Untersuchung von Protisten sollte daher vorrangig bei mechanischen Sondierungen oder bei einem Teil davon durchgeführt werden, je nach den zur Verfügung stehenden Ressourcen. Die Untersuchung der Nematoden auf den Referenzprofilen sollte ebenfalls als Basis in Betracht gezogen werden. Bei ausreichenden Ressourcen sollten auch die Profile in Betracht gezogen werden.

## 4.5 Funktionelle Methoden

Funktionelle Methoden versuchen, den Beitrag der Bodenorganismen zur Bodenfunktion und zu Ökosystemdienstleistungen zu bewerten. Bei der Bodenfauna konzentrieren sich die meisten funktionellen Methoden auf die Messung oder Beobachtung des Abbaus von organischem Material. Sie liefern funktionelle Informationen und ergänzen damit die Informationen, die durch biologische Parameter über die Struktur und Zusammensetzung der Gemeinschaften des Ökosystems bekannt sind.

### 4.5.1 Vorteile und Einschränkungen der biologischen Parameter

*Vorteile:*

- Sie liefern Informationen über die Funktionen des Ökosystems.
- Grundlegende Fähigkeiten reichen für alle Schritte des methodischen Verfahrens zur Umsetzung aus. Funktionelle Methoden erfordern daher weniger Kompetenzen als z. B. die Untersuchung von Organismengemeinschaften.
- Die meisten funktionellen Methoden verursachen wenig Materialaufwand und geringe Kosten für Verbrauchsmaterialien.
- Die meisten der in diesem Dokument beschriebenen funktionellen Methoden sind genormt (ISO-Norm für Bait Lamina und OECD-Dokument für Litter Bag). Für den Tea Bag wurde ein harmonisiertes, aber nicht genormtes methodisches Verfahren festgelegt (Tea Bag Index).
- Basisreferenzsystem für den Tea Bag in Entwicklung.

*Einschränkungen:*

- Funktionelle Methoden erfordern, dass man mehrere Tage bis Monate vor Ort bleibt. Es muss daher sichergestellt werden, dass der Standort keinen Störungen ausgesetzt ist (z. B. Feldarbeiten).

- Sie beinhalten mindestens zwei Feldbesuche (Anbringen und Entfernen des Tests).
- Die klimatischen Bedingungen (Feuchtigkeit, Temperatur) haben einen grossen Einfluss auf die Abbauraten der organischen Substanz und beeinflussen somit stark die Ergebnisse der Funktionstests.
- Für Bait Lamina gibt es bislang nur wenige Referenzdaten. Es gibt keine feste Dauer für die Exposition von Bait Lamina gegenüber Organismen im Boden. Die ISO geht davon aus, dass mindestens 30 % der Aktivität erreicht sein sollten, bevor die Stäbchen entfernt werden können (d. h. etwa 10 – 20 Tage Exposition in gemässigten Zonen und je nach klimatischen Bedingungen).
- Die Probenahme kann nicht mit anderen biologischen Parametern oder physikalisch-chemischen Parametern kombiniert werden.

### 4.5.2 Umsetzung nach etablierten Kriterien

Die Anwendung der funktionellen Methoden im Zusammenhang mit der Bodenkartierung wird im Folgenden erörtert. Aufgrund des besonderen methodischen Prozesses (Exposition vor Ort) der funktionellen Methoden sind Szenarien mit 100, 500 oder 1000 Proben pro Woche nur schwer umsetzbar. Es kann jedoch eine Schätzung der Anzahl der Standorte vorgenommen werden, an denen die funktionellen Tests pro Woche durchgeführt werden können. Wenn man von 5 Replikaten pro Standort ausgeht, ist es denkbar, die funktionellen Methoden an 6 Standorten an einem Tag (1 Person) zu installieren, sofern diese nicht zu weit voneinander entfernt sind, was zu einer Gesamtzahl von etwa 30 Standorten pro Woche führt. Die drei Methoden erfordern weniger als eine Stunde effektiver Zeit für die gesamte Implementierung.

**~ 30 Standorte pro Woche  
(5 Replikate pro Standort)**

### 4.5.3 Empfehlungen für die Kartierung

Funktionelle Messungen liefern wichtige Informationen und ergänzen die Daten über die Struktur und Vielfalt des Bodenökosystems, die durch andere biologische Parameter gewonnen werden. Sie können daher auch als Indikator für die Funktionen des Ökosystems in eine Kartierung einfließen.

Es stehen drei funktionelle Hauptmethoden zur Verfügung. Der Litter Bag und der Tea Bag ermöglichen eine direkte Messung des Abbaus von organischer Substanz durch Bodenorganismen. Beim Bait Lamina erfolgt die Messung indirekt. In Bezug auf die Expositionsdauer liefert der Bait

Lamina am schnellsten eine Antwort (10 – 20 Tage), gefolgt vom Tea Bag (90 Tage oder 3 Monate) und dem Litter Bag (6 – 12 Monate). Der Tea Bag zielt eher auf die Wirkung von Mikroorganismen und der Mesofauna ab, während der Bait Lamina auf die Wirkung der Meso- und Makrofauna abzielt.

Die Bait Lamina-Methode ist genormt (ISO-Standard) und für den Litter Bag gibt es ein OECD-Dokument. Für den Tea Bag gibt es noch keine Norm, aber eine harmonisierte Methode, die Teil des transnationalen Projekts FertilCrop ist. Ein grundlegendes Referenzsystem wird derzeit erstellt (Tea Bag Index).

Die Empfehlungen für die Verwendung funktioneller Methoden für die Kartierung lauten wie folgt:

#### Empfehlungen für die Verwendung funktioneller Methoden bei der Bodenkartierung

| Empfohlene Methode |   |
|--------------------|---|
| Tea Bag            | Einfach umzusetzen, aber relativ lange Expositionszeit auf dem Feld, noch keine Norm verfügbar, aber harmonisierte Methode (FertilCrop-Programm), Basisreferenzsystem wird entwickelt (Tea bag index).                                    |
| <i>oder</i>        |   |
| Bait Lamina        | Schnelle Reaktion, ISO-Norm verfügbar, Einfluss von Klimafaktoren (Feuchtigkeit, Temperatur) zu berücksichtigen, Basisreferenzsystem noch nicht entwickelt, Methode Teil des vom Eco-FINDERS-Programm empfohlenen methodischen Grundsets. |
| Referenzprofil     | Prioritär   |
| Profile            | Optional  |
| Bohrung            | Nicht anwendbar   |

Tabelle 31: Kartierempfehlungen für funktionelle Methoden.

Die Verwendung funktioneller Methoden zur Bodenkartierung sollte vorrangig bei allen Referenzprofilen oder zumindest bei einem Teil davon erfolgen. Wenn genügend Ressourcen vorhanden sind, könnten auch die Profile in Betracht gezogen werden.

## 4.6 Schlussfolgerungen und allgemeine Empfehlungen

Viele Gruppen von Bodenorganismen und verschiedene biologische Prozesse wurden als biologische Parameter in Forschungs- und Monitoringprogrammen verwendet. Es gibt wenig Konsens darüber, welche die wichtigsten biologischen Parameter sind und noch zu wenig verfügbare Daten, um einen Referenzrahmen zu definieren. Eine Bodenkartierung, die biologische Parameter integriert, würde diese Informationen liefern und Referenzen für biologischen Eigenschaften von Böden auf nationaler Ebene schaffen. Es könnten Verbreitungskarten für die Bodenfauna erstellt werden, wie es beispielsweise bei der Flora (Floristikarten der Schweiz) oder bei den Vögeln üblich ist. Für Bodenorganismen fehlen solche Karten derzeit noch. Ebenso könnte man schweizweite Indikatoren für die Qualität eines Standortes definieren oder beispielsweise Schutzwerte für bestimmte verletzte Arten festlegen (z.B. Konzept der Schirmarten).

Für die Bodenfauna sind Regenwürmer, Mikroarthropoden und Nematoden die biologischen Parameter, die in nationalen und internationalen Monitoring- und Forschungsprogrammen am häufigsten verwendet werden. Standards, die eine Bewertung dieser biologischen Parameter ermöglichen, sind meist verfügbar, vor allem für die morphologische Analyse. Generell erweist sich die Untersuchung biologischer Parameter als zeitaufwändig, auch wenn die Entwicklung von Instrumenten wie molekularen Methoden (DNA- und eDNA-Metabarcoding) zur Bewertung der Vielfalt und Struktur von Organismengemeinschaften (Protisten, Nematoden und Mikroarthropoden, aber auch Regenwürmer) rasant voranschreitet. Insbesondere bei Nematoden, Mikroarthropoden und Regenwürmern hat die molekulare Analyse mittels eDNA-Metabarcoding, bei der die DNA direkt aus einer Bodenprobe isoliert wird, den grossen Vorteil, dass die Phase der Extraktion der Organismen aus der Bodenprobe entfallen kann. Die Methode bedarf jedoch noch an Entwicklung, bevor die erzeugten Daten über die oben genannten Organismen vollständig nutzbar sind.

Für die Extraktion von Bodenorganismen (morphologische Analyse und molekulare Analyse durch klassisches DNA-Metabarcoding) sind die

verfügbaren Lösungen zur parallelen Verarbeitung grosser Probenmengen nach wie vor rar. Es wäre eine Optimierung und Automatisierung der methodischen Protokolle in Betracht zu ziehen, wodurch die Verfahren parallelisiert und verschlankt werden könnten. Für andere methodische Phasen wie die DNA-Extraktion oder die Sequenzierung (Molekularanalyse im Allgemeinen) gibt es hingegen bereits Lösungen, die es ermöglichen, grosse Probenmengen zu verarbeiten.

Biologische Organismen spielen eine wesentliche Rolle für die Funktion des Bodens und die erbrachten Ökosystemleistungen. Es wäre daher fatal, sie weiterhin nicht in die Bewertung der Bodenqualität einzubeziehen. Für eine optimale Bewertung ist es ideal, wenn biologische Parameter auf verschiedenen trophischen Ebenen vorliegen und das Spektrum der verschiedenen ökologischen Funktionen repräsentieren. Dies wäre also der Fall, wenn man Regenwürmer, Mikroarthropoden, Nematoden und Protisten in die Kartierung einbezieht. Funktionelle Methoden, die Auskunft über die Funktionen des Ökosystems geben, würden die durch biologische Parameter gewonnenen Informationen über die Struktur und Zusammensetzung der Gemeinschaften des Ökosystems Boden ergänzen.

Die Verwendung von Molekularanalysen würde zusätzliche Informationen über die genetische Vielfalt und die Zusammensetzung der Gemeinschaften der vorhandenen Organismen liefern.

Daten über die Anzahl der vorhandenen Individuen oder die Berechnung von Indizes wie bei Nematoden lassen sich auf diese Weise jedoch nur schwer gewinnen und erfordern eine Identifizierung unter dem Mikroskop.

Die Untersuchung von Protisten und Nematoden kann aufgrund der Art, wie die Bodenprobe entnommen wird (Mischprobe), bei Kartierbohrungen durchgeführt werden. Die Probenahme ist praktisch, da sie mit der Bodenprobenahme für andere biologische Parameter wie Bakterien und Pilze oder bestimmte physikalisch-chemische Parameter, für die keine ungestörte Probenahme erforderlich ist, kombiniert werden kann. Andere

biologische Parameter (Regenwürmer, Mikroarthropoden und funktionelle Methoden) sind Profilen und Referenzprofilen vorbehalten, da die Probenahme für diese biologischen Parameter nicht für mechanische Sondierungen geeignet ist.

Wenn eine Bewertung der biologischen Parameter nicht für alle Profile (Referenzprofile oder Profile) und Bohrungen möglich ist, muss sichergestellt werden, dass mit der Auswahl ein Basisreferenzsystem für biologische Parameter für die Schweiz erstellt werden kann.

Die Untersuchung aller oben genannten biologischen Parameter an denselben Standorten (in diesem Fall die Referenzprofile) würde es ermöglichen, einen maximalen Satz an biologischen, chemischen und physikalischen Daten zu kombinieren. Die Relevanz und die Auswahl der vorgestellten biologischen Parameter und der damit verbundenen Analysemethoden für die Bodenkartierung müsste mit einem Expertengremium weiter diskutiert werden.

Perspektivisch wäre es interessant, die Literaturstudie über bestehende Methoden für andere Bodenorganismen fortzusetzen. Dazu gehören Enchyträen und die epigäische und endogäische Makrofauna des Bodens (abgesehen von den Regenwürmern). Ebenso sollte der Mehrwert des Einbezugs anderer Organismen der Bodenfauna wie Rädertiere, Bärtierchen, Asseln, Myriapoden, Ameisen, Insektenlarven mit Entwicklungsstadien im Boden usw. in eine Bodenkartierung erforscht werden.

In diesem Bericht wurden molekulare Analysemethoden zur Untersuchung von Bodenorganismen behandelt. Es wäre interessant, das Thema weiter zu vertiefen und die vielfältigen Möglichkeiten dieses Bereichs für die Untersuchung biologischer Parameter genauer zu erforschen. Dies gilt insbesondere für Mikroarthropoden, bei denen die molekulare Analyse in diesem Bericht nicht behandelt werden konnte.

Schliesslich könnte eine Übersicht über die national und international verfügbaren Vergleichs- und Referenzwerte für biologische Parameter (einige Beispiele für Regenwürmer wurden genannt, Kapitel 4.1.4) und die damit verbundenen Bodendaten erstellt werden.

## 5. Abbildungsverzeichnis

|   |    |
|---|----|
| Abbildung 1: Klassen von Bodenorganismen (nach ihrer Grösse), die in dieser Forschungsarbeit betrachtet werden. Sie sind durch die roten Rechtecke gekennzeichnet und stellen nur die Bodenfauna dar. Die Mikroflora wird nicht berücksichtigt. (Ursprung der Abbildung: Walser et al. [2021]).   | 8  |
| Abbildung 2: Ansatz zur Bestimmung biologischer Parameter, die für eine Bodenkartierung relevant sind.  | 8  |
| Abbildung 3: Endogäische Regenwürmer (links) und anözischer Regenwurm (rechts). Fotos: L. Pfiffner, FiBL  | 16 |
| Abbildung 4: Methodisches Grundprinzip für die Untersuchung von Regenwürmern.   | 18 |
| Abbildung 5: Zusammenfassung der methodischen Verfahren für Regenwürmer. Das «Stop»-Zeichen gibt die maximale Dauer der möglichen Probenlagerung zwischen den einzelnen Phasen an ( $\infty$ = mögliche Lagerung für einen langen Zeitraum, d.h. mehrere Monate) (Abbildung von S. Campiche, präsentiert am KOBO-Synthese-Workshop im August 2020).   | 24 |
| Abbildung 6: Foto einer Milbe (links) und eines Springschwanzes (rechts) (Foto: A. Murray, Licence: CC BY-SA 2.0).  | 25 |
| Abbildung 7: Methodisches Grundprinzip für die Untersuchung von Mikroarthropoden.   | 26 |
| Abbildung 8: Zusammenfassung der methodischen Verfahren für Mikroarthropoden. Die «Stop»-Zeichen kennzeichnen die maximal mögliche Dauer der Probenlagerung zwischen den einzelnen Phasen ( $\infty$ = Lagerung über einen langen Zeitraum möglich, d.h. mehrere Monate) (Abbildung von S. Campiche, präsentiert auf dem KOBO-Workshop zu Bestimmungsmethoden August 2020).   | 30 |
| Abbildung 9: Bodennematode (Foto: Cristina Menta, Lizenz: CC BY 3.0)  | 31 |
| Abbildung 10: Methodisches Grundprinzip für die morphologische Untersuchung von Nematoden.  | 33 |
| Abbildung 11: Methodisches Grundprinzip für die molekulare Untersuchung von Nematoden (DNA-Metabarcoding [obere Linie] und eDNA-Metabarcoding [untere Linie]).  | 33 |
| Abbildung 12: Kosten und Nutzen von Extraktionsmethoden für phytopathogene Nematoden nach der European and Mediterranean Plant Protection Organisation (EPPO: PM 7/119 (1) Nematode extraction. 2013).  | 36 |
| Abbildung 13: Zusammenfassung der methodischen Verfahren für Nematoden (morphologische Analyse). Die «Stop»-Zeichen geben die maximal mögliche Lagerungszeit der Proben zwischen den einzelnen Phasen an ( $*\infty$ = Lagerung über einen längeren Zeitraum möglich, d.h. mehrere Monate) (Abbildung von S. Campiche, präsentiert auf dem KOBO-Workshop zu Bestimmungsmethoden im August 2020).  | 41 |
| Abbildung 14: Freie Bodenprotisten geordnet nach Grösse (Länge), Morphologie und phylogenetischer Zugehörigkeit (Geisen et al., 2017).  | 42 |
| Abbildung 15: Zusammenfassung der bestehenden Methoden zur Untersuchung von Bodenprotisten nach Geisen und Bonkowski 2018. Die gängigen Methoden zur Untersuchung von Bodenprotistengemeinschaften werden in zwei Hauptansätze getrennt, wobei zum einen mikroskopische Analysen zur Identifizierung von Protisten in differentiellen Auflösungen und zum anderen molekulare Methoden an extrahierten Nukleinsäuren (DNA oder cDNA nach reverser Transkription von RNA) verwendet werden. Abkürzungen: NFPD: non-flooded petri dish method; MPN: Most probable number technique; LAM: Liquid aliquot method; qPCR: quantitative polymer chain reaction; MT: Metatranscriptomic high-throughput sequencing (HTS); AS: Amplicon HTS; MG: Metagenomic HTS. | 43 |
| Abbildung 16: Methodisches Grundprinzip für die molekulare Untersuchung von Protisten.  | 44 |
| Abbildung 17: Von links nach rechts: Litter Bag (Foto: Nicole Scheunemann), Tea Bag (Foto: Simon Tresch, FiBL), und Bait Lamina (Foto: S. Campiche).  | 47 |

|  |    |
|--|----|
| Abbildung 18: Methodisches Grundprinzip für funktionelle Methoden.   | 49 |
| Abbildung 19: Vergleich der zeitlichen Ressourcen (Gesamtzeit und effektive Zeit) zur Durchführung der unterschiedlichen Methode, der Kosten für die Materialinvestition und der Kosten für Verbrauchsmaterialien sowie der maximal erforderlichen Kompetenzen (= höchste erforderliche Kompetenz, wenn man die Analyse des biologischen Parameters als Ganzes betrachtet) für die referenzierten biologischen Parameter. Der Vergleich nimmt an, dass die Methode von einer Person und für ein Replikat ausgeführt wird. Mikroarthropoden_morphologisch: Hier wurde mit der MacFadyen-Extraktion gerechnet (der am häufigsten verwendeten und von der ISO empfohlenen Methode). Nematoden_Morphologisch und Nematoden_molekular (DNA): Es wurde mit der Oostenbrink-Extraktion gerechnet (der am häufigsten verwendeten und von der ISO empfohlenen Methode). Nematoden_molekular (DNA), Nematoden_molekular (eDNA) und Protisten_molekular (eDNA): Die effektive Zeit und die Gesamtzeit für die Sequenzierung (Dienstleistung eines externen Dienstleisters) werden hier nicht berücksichtigt; die Verbrauchsmaterialien (in diesem Fall die Kosten für eine Probe von der DNA-Extraktion bis zur Sequenzierung) sind in der Dienstleistung eines externen Dienstleisters enthalten, was bei den anderen biologischen Parametern nicht der Fall ist, wo alle methodologischen Schritte intern durchgeführt werden. Eine Automatisierung des DNA-Extraktionsverfahrens für molekulare Analysen wird hier nicht berücksichtigt. Wichtiger Hinweis: Der Zeitaufwand für die molekulare Analyse von Nematoden (DNA und eDNA) basieren auf den geschätzten Zeitressourcen für Protisten (Kap. 3.5.5 und Kap. 4.4.2), wobei der Stand der Forschung zum Zeitpunkt der Erstellung dieses Dokuments berücksichtigt wurde. Inzwischen ist die benötigte Zeit für die Bestimmung der Nematoden heute wesentlich geringer. | 53 |
| Abbildung 20: Vergleich des zeitlichen Aufwands (Gesamtzeit und effektive Zeit) zur Durchführung der gesamten Methode, der Materialkosten und der Kosten für Verbrauchsmaterialien für 1 Replikat für die referenzierten funktionellen Methoden. Bait Lamina (bereits gefüllte Stäbchen) wurden bei den Verbrauchsmaterialien einkalkuliert. Da sie wiederbefüllbar und wiederverwendbar sind, könnten sie auch als Investition betrachtet werden. Der Grad der erforderlichen Fähigkeiten ist bei allen Methoden gleich (Grundfertigkeiten) und wird daher nicht in der Grafik dargestellt.   | 54 |
| Abbildung 21: Kartierung der Abundanz von Regenwürmern in der Region Bretagne, erstellt durch das RMQS-Programm BioDiv ( <a href="http://www.sols-de-bretagne.fr/biodiversite-des-sols/cartographie-regionale.html">http://www.sols-de-bretagne.fr/biodiversite-des-sols/cartographie-regionale.html</a> ; Cluzeau, 2009b).  | 59 |
| Abbildung 22: Die Abundanz und Biomasse der Regenwürmer unterscheidet sich gemäss den Ergebnissen des RMQS BioDiv. Programms für die drei Landbedeckungssysteme (Ackerbau, Grasland und Wald) mit hohen Werten im Grasland (350 Ind/m <sup>2</sup> ; 138 g/m <sup>2</sup> ), mittleren Werten im Ackerbau (215 Ind/m <sup>2</sup> ; 63 g/m <sup>2</sup> ) und niedrigen Werten im Wald (50 Ind/m <sup>2</sup> ; 8 g/m <sup>2</sup> ), (Cluzeau, 2009b).  | 60 |
| Abbildung 23: Regenwurm-Biomasse nach Hydromorphieklassen gemäss dem RMQS-Programm BioDiv (Cluzeau, 2009b).  | 60 |
| Abbildung 24: Vorschlag für ein grundlegendes Referenzsystem für die Abundanz von Regenwürmern in der Region Bretagne gemäss dem RMQS-Programm BioDiv (Cluzeau, 2009b). Die Zahlen bedeuten Individuen pro m <sup>2</sup> .  | 61 |
| Abbildung 25: Häufigkeit von Regenwürmern pro m <sup>2</sup> nach Art der Bodennutzung nach dem FiBL-Merkblatt über Regenwürmer (Pffner, 2022).  | 61 |
| Abbildung 26: Vergleichswerte für die Regenwurm-Biomasse in Grünlandböden (in g/m <sup>2</sup> und % Biomasse einer bestimmten ökologischen Gruppe von der Gesamtartenzahl von 301 g m <sup>2</sup> ) nach Cuendet et al. (1997) und ausgewertet von der VBBio-BioSA Arbeitsgruppe des Bundes. * Fehlen der Gruppe aus zoogeografischen Gründen (VBB-BSA, 2009).   | 62 |

## 6. Tabellenverzeichnis

|   |    |
|---|----|
| Tabelle 1: Wichtigste Monitoring- und Forschungsprogramme unter Verwendung biologischer Parameter in der Schweiz und in Europa und untersuchte Bodenorganismen.   | 15 |
| Tabelle 2: Gelistete Methoden zur Bewertung von Regenwürmern und Überwachungs- und Forschungsprogramme, die diese verwenden.  | 17 |
| Tabelle 3: Die wichtigsten methodischen Abweichungen, die für die Regenwurm-Methoden aufgelistet wurden.  | 19 |
| Tabelle 4: Zeitliche Ressourcen und Fachwissen, die für die Untersuchung der Regenwürmer benötigt werden (Aufgabe wird von 1 Person für 1 Replikat durchgeführt). Berücksichtigte Fläche für die chemische Extraktion: 0,25m <sup>2</sup> , berücksichtigtes Volumen für die manuelle Sortierung: Bodenblock mit den Massen 0,2 × 0,2 × 0,2m. | 23 |
| Tabelle 5: Geschätzte Kosten für Materialienzur Entnahme von Regenwürmern.  | 24 |
| Tabelle 6: Methoden zur Bewertung von Springschwänzen und Milben (Mikroarthropoden) die in Monitoring- und Forschungsprogrammen verwendet werden.   | 26 |
| Tabelle 7: Unterschiede zwischen den Mikroarthropoden-Methoden (ISO 23611-2 und Tullgren Trichter).   | 27 |
| Tabelle 8: Erforderliche Zeit und Expertise für die Untersuchung von Mikroarthropoden (Aufgabe von 1 Person für 1 Probe).   | 29 |
| Tabelle 9: Geschätzte Kosten für Hardware-Investitionen und Verbrauchsmaterialien für Mikroarthropoden.   | 30 |
| Tabelle 10: Gelistete Methoden zur Bewertung von Nematoden und Überwachungs- und Forschungsprogramme, die diese verwenden.  | 32 |
| Tabelle 11: Hauptunterschiede in der Methodik, die für das Verfahren zur Entnahme von Bodenproben und zur Extraktion von Nematoden aus dem Boden aufgelistet wurden.  | 34 |
| Tabelle 12: Erforderliche zeitliche Ressourcen und Fachkenntnisse für die Untersuchung von Nematoden (morphologische Analysen; Aufgabe von 1 Person für 1 Replikat).  | 38 |
| Tabelle 13: Erforderliche Zeit und Fachkenntnisse für die Untersuchung von Nematoden (molekulare Analysen mit DNA- und eDNA-Metabarcoding; Aufgabe von 1 Person für 1 Replikat).  | 39 |
| Tabelle 14: Geschätzte Kosten für Hardware-Investitionen und Verbrauchsmaterialien für Nematoden (morphologisch).   | 40 |
| Tabelle 15: Geschätzte Kosten für Hardware-Investitionen und Verbrauchsmaterialien für Nematoden (molekulare DNA- und eDNA-Analyse)   | 40 |
| Tabelle 16: Zeitliche Ressourcen und erforderliches Fachwissen für die Untersuchung von Protisten (Aufgabe von 1 Person für 1 Replikat).  | 45 |
| Tabelle 17: Geschätzte Kosten für Hardware-Investitionen und Verbrauchsmaterialien für die Bestimmung von Protisten.  | 46 |
| Tabelle 18: Aufgelistete Methoden für funktionelle Methoden und Überwachungs- und Forschungsprogramme, die diese verwenden.   | 48 |
| Tabelle 19: Methodisches Grundprinzip für funktionelle Methoden.  | 49 |
| Tabelle 20: Erforderliche zeitliche Ressourcen und Expertise für funktionelle Methoden (Aufgabe von 1 Person für 1 Replikat).   | 51 |
| Tabelle 21: Geschätzte Kosten für Hardware-Investitionen und Verbrauchsmaterialien für funktionelle Methoden.   | 52 |

|  |    |
|--|----|
| Tabelle 22: Geschätzter Bedarf an Personalressourcen (in Form von Vollzeitäquivalenten) und materiellen Investitionen (Kosten für Verbrauchsmaterial) für Regenwürmer zur Analyse von 100, 500 oder 1000 Proben pro Woche (40-Stunden-Woche).  | 57 |
| Tabelle 23: Empfehlungen für die Kartierung – Regenwürmer.   | 58 |
| Tabelle 24: Geschätzter Bruttobedarf an Vollzeitäquivalenten und materiellen Investitionen (Kosten für Verbrauchsmaterialien) für Mikroarthropoden, um 100, 500 oder 1000 Proben pro Woche (40-Stunden-Woche) zu analysieren, unter Berücksichtigung der MacFadyen-Extraktion und der morphologischen Analyse. | 64 |
| Tabelle 25: Kartierungsempfehlungen für Mikroarthropoden.  | 65 |
| Tabelle 26: Geschätzter Bruttobedarf an Ressourcen in Form von Vollzeitäquivalenten und materiellen Investitionen (Kosten für Verbrauchsmaterial) für Nematoden zur Analyse von 100, 500 oder 1000 Proben pro Woche (40-Stunden-Woche), unter Berücksichtigung der morphologischen Analyse.                    | 67 |
| Tabelle 27: Geschätzter Bruttobedarf an Ressourcen in Form von Vollzeitäquivalenten und materiellen Investitionen (Kosten für Verbrauchsmaterial) für Nematoden, um 100, 500 oder 1000 Proben pro Woche (40-Stunden-Woche) zu analysieren, unter Berücksichtigung der molekularen Analyse.                     | 68 |
| Tabelle 28: Kartierungsempfehlungen für Nematoden.   | 70 |
| Tabelle 29: Geschätzter Bruttobedarf an Vollzeitäquivalenten und materiellen Investitionen (Kosten für Verbrauchsmaterialien) für Protisten, um 100, 500 oder 1000 Proben pro Woche (40-Stunden-Woche) zu analysieren.   | 72 |
| Tabelle 30: Kartierungsempfehlungen für Protisten.   | 73 |
| Tabelle 31: Kartierungsempfehlungen für funktionelle Methoden.   | 75 |

# 7. Referenzen

## 7.1 Liste der Bestimmungsmethoden

- Agroscope (2015) Bodenuntersuchung zur Standort-Charakterisierung (Bodenphysikalische, -biologische und -chemische Untersuchungen). Regenwurmextraktion mittels Formalinlösung (B-RW-E), Regenwurmextraktion mittels Handauslese (B-RW-H), Bestimmung der Regenwurmpopulation (Biomasse, Abundanz) (B-RW-B). Schweizerische Referenzmethoden der Forschungsanstalten Agroscope (Band 2), Zürich.
- Bioindicateurs II. Bioindicateurs – Des outils biologiques pour des sols durables. Programme ADEME Bioindicateurs II. <https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/>. EcoBioSoil, Rennes, France.
- Bouché, M. B. (1972) Lombriciens de France: Ecologie et systématique. Institut National de la Recherche Agronomique, France.
- Cluzeau D., Bellido A., Boulonne L., Cannavacciuolo M., Chaussod R., Cortet J., Fargette M., Giteau J-L., Guernion M., Jolivet C., Lavelle P., Foucaud-Lemercier B., Martin F., Mateille T., Mercier V., Péres G., Pernin C., Plantard O., Ponge J.F., Ranjard L., Rougé L., Ruiz N., Tico S., Velasquez H., Villenave C., Walter C. 2009. Rapports finaux du programme ADEME Bioindicateurs RMQS BioDiv – Tome 7 – Lombriciens; 105p.
- Donn, S., Neilson, R., Griffiths, B. S., Daniell, T. J. (2012) A novel molecular approach for rapid assessment of soil nematode assemblages – variation, validation and potential applications. *Methods in Ecology and Evolution*, 3, 12 – 23.
- Emmett, B.A., Reynolds, B., Chamberlain, P.M., Rowe, E., Spurgeon, D., Brittain, S.A., Frogbrook, Z., Hughes, S., Lawlor, A.J., Poskitt, J., Potter, E., Robinson, D.A., Scott, A., Wood, C., Woods, C. (2010) Countryside Survey: Soils Report from 2007. CS Technical Report No. 9/07, Countryside Survey, UK.
- Fournier, B., Samaritani, E., Frey, B., Seppey, C. V.W., Lara, E., Heger, T. J., Mitchell, E. A.D (2020a) Higher spatial than seasonal variation in floodplain soil eukaryotic microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* 147 (2020) 107842.
- Fournier, B., Pereira Dos Santos, S., Gustavsen, J. A., Imfeld, G., Lamy, F., Mitchell, E. A. D., Mota, M., Noll, D., Planchamp, C., Heger, T. (2020b). Impact of a synthetic fungicide (fosetyl-Al and propamocarb-hydrochloride) and a biopesticide (*Clonostachys rosea*) on soil bacterial, fungal, and protist communities. *Science of the Total Environment* 738 (2020) 139635.
- Frey, B. (2020) Long-term irrigation shifts the below-ground diversity – «The Pfywald-Experiment». [https://www.wsl.ch/fileadmin/user\\_upload/WSL/Ueber\\_die\\_WSL/Versuchsanlagen\\_Labors/Flaechen\\_im\\_Wald/Pfywald/workshops/2020/Frey\\_Long-term\\_irriga-on\\_shi0s\\_the\\_below-ground\\_diversity\\_\\_The\\_Pfywald-Experiment\\_.pdf](https://www.wsl.ch/fileadmin/user_upload/WSL/Ueber_die_WSL/Versuchsanlagen_Labors/Flaechen_im_Wald/Pfywald/workshops/2020/Frey_Long-term_irriga-on_shi0s_the_below-ground_diversity__The_Pfywald-Experiment_.pdf)
- Griffiths, B. S., J. Römbke, R. M. Schmelz, A. Scheffczyk, J.H. Faber, J. Bloem, G. Pérès, D. Cluzeau, A. Chabbi, M. Suhadolc, J.P. Sousa, P. Martins da Silva, F. Carvalho, S. Mendes, P. Morais, R. Francisco h, C. Pereira, M. Bonkowski, S. Geiseni, R.D. Bardgett, F.T. de Vries, T. Bolger, T. Dirilgen, O. Schmidt, A. Winding, N.B. Hendriksen, A. Johansen, L. Philippot, P. Plassart, D. Bru, B. Thomson, R.I. Griffiths, M.J. Bailey, A. Keith, M. Rutgers, C. Mulder, S.E. Hannula, R. Creamer, D. Stone (2016) Selecting cost effective and policy-

- relevant biological indicators for European monitoring of soil biodiversity and ecosystem function. *Ecological Indicators*, 69, 213 – 223.
- ISO 18311 (2016) Soil quality – Method for testing effects of soil contaminants on the feeding activity of soil dwelling organisms – Bait-lamina test. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
  - ISO 23611-1 (2018) Soil Quality – Sampling of soil Invertebrates – Part 1: Handsorting and extraction of earthworms. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
  - ISO 23611-2 (2006) Soil Quality – Sampling of soil Invertebrates – Part 2: Sampling and extraction of micro-arthropods (Collembola and Acarina). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
  - ISO 23611-4 (2007) Soil quality – Sampling of soil invertebrates – Part 4: Sampling, extraction and identification of soil-inhabiting nematodes. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
  - Keuskamp, J. A., Dingemans, B. J. J., Lehtinen, T., Judith M., Sarneel, J. M., Heffting, M. M. (2013) Tea Bag Index: a novel approach to collect uniform decomposition data across ecosystems. *Methods in Ecology and Evolution*. British Ecological Society.
  - OECD (2006) OECD Series on Testing and Assessment No. 56. Guidance document on the breakdown of organic matter in litterbags. ENV/JM/MONO 23. Organization for Economic Co-Operation and Development, Paris, France
  - Ranjard, L. (2011) AgrInnov – Tester les Indicateurs de l'état biologique des sols en lien avec les pratiques agricoles. Compte rendu final de projet. PROJET CASDAR 1116 2011, France.
  - Rutgers, M., Schouten, A. J., Bloem, J., Van Eekeren, N., De Goede, R. G. M., Jagers Op Akkerhuis, G. A. J. M., Van Der Wal, A., Mulder, C., Brussaard, L., & Breure, A. M. (2009) Biological measurements in a nationwide soil monitoring network. *European Journal of Soil Science*, 60, 820 – 832.
  - Samaritani, E., Mitchell, E. A. D., Rich, J., Shrestha, J., Fournier, B., Frey, B. (2017) Soil bacterial communities and ecosystem functioning change more strongly with season than habitat in a restored floodplain. *Applied Soil Ecology*, 112, 71 – 78.
  - Teatime 4 Science (2016) Tea Bag Index. <http://www.teatime4science.org/>.
  - Tresch, S., Fliessbach, A. (2017) Decomposition study using tea bags. Technical note. Forschungsinstitut für biologischen Landbau FiBL. Frick, Schweiz.
  - UniNE. Extraction de lombriciens. Protocole v2.0 du Laboratoire d'écologie fonctionnelle, Université de Neuchâtel

## 7.2 Liste der empfohlenen Methoden

- Fournier, B., Samaritani, E., Frey, B., Seppey, C. V.W., Lara, E., Heger, T. J., Mitchell, E. A.D (2020a) Higher spatial than seasonal variation in floodplain soil eukaryotic microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* 147 (2020) 107842.
- Fournier, B., Pereira Dos Santos, S., Gustavsen, J. A., Imfeld, G., Lamy, F., Mitchell, E. A. D., Mota, M., Noll, D., Planchamp, C., Heger, T. (2020b). Impact of a synthetic fungicide (fosetyl-Al and propamocarb-hydrochloride) and a biopesticide (*Clonostachys rosea*) on soil bacterial, fungal, and protist communities. *Science of the Total Environment* 738 (2020) 139635.
- ISO 18311 (2016) Soil quality – Method for testing effects of soil contaminants on the feeding activity of soil dwelling organisms – Bait-lamina test. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

- \_ ISO 23611-1 (2018) Soil Quality – Sampling of soil Invertebrates – Part 1: Handsorting and extraction of earthworms. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- \_ ISO 23611-2 (2006) Soil Quality – Sampling of soil Invertebrates – Part 2: Sampling and extraction of micro-arthropods (Collembola and Acarina). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- \_ ISO 23611-4 (2007) Soil quality – Sampling of soil invertebrates – Part 4: Sampling, extraction and identification of soil-inhabiting nematodes. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- \_ Keuskamp, J. A., Dingemans, B. J. J., Lehtinen, T., Judith M., Sarneel, J. M., Heffing, M. M. (2013) Tea Bag Index: a novel approach to collect uniform decomposition data across ecosystems. *Methods in Ecology and Evolution*. British Ecological Society.
- \_ Samaritani, E., Mitchell, E. A. D., Rich, J., Shrestha, J., Fournier, B., Frey, B. (2017) Soil bacterial communities and ecosystem functioning change more strongly with season than habitat in a restored floodplain. *Applied Soil Ecology*, 112, 71–78.
- \_ Teatime 4 Science (2016) Tea Bag index. <http://www.teatime4science.org/>.
- \_ Tresch, S., Fliessbach, A. (2017) Decomposition study using tea bags. Technical note. Forschungsinstitut für biologischen Landbau FiBL. Frick, Schweiz.

### 7.3 Alle Referenzen

- \_ Agroscope (2015) Bodenuntersuchung zur Standort-Charakterisierung (Bodenphysikalische, -biologische und -chemische Untersuchungen). Regenwurmextraktion mittels Formalinlösung (B-RW-E), Regenwurmextraktion mittels Handauslese (B-RW-H), Bestimmung der Regenwurmpopulation (Biomasse, Abundanz) (B-RW-B). Schweizerische Referenzmethoden der Forschungsanstalten Agroscope (Band 2), Zürich.
- \_ Arrouays, D, Morvan, X., Saby, N.P.A., Richer de Forges, A., Le Bas, C., Bellamy, P.H., Berényi Üveges, J., Freudenschuss, A., Jones, A.R., Jones, R.J.A., Kibblewhite, M.G., Simota, C., Verdoodt, A., Verheijen, F.G.A. (eds) (2008). Environmental Assessment of Soil for Monitoring, Volume IIa: Inventory & Monitoring (ENVASSO). EUR 23490 EN/2A, Office for the Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 188pp.
- \_ Balkenhol, B., Russell, D. J. (2007) Collembolen an Wald- Dauerbeobachtungsflächen in Baden-Württemberg. Fachdokumente U74-M326-J07. LUBW Landesanstalt für Umwelt, Messungen und Naturschutz Baden-Württemberg, Karlsruhe, Allemagne.
- \_ Bienert, F., De Danieli, S., Miquel, C., Coissac, E., Poillot, C., Brun, J.-J. Taberlet, P. (2012) Tracking earthworm communities from soil DNA. *Molecular Ecology* 21, 2017–2030.
- \_ Bioindicateurs II. Bioindicateurs – Des outils biologiques pour des sols durables. Programme ADEME Bioindicateurs II. <https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/>. EcoBioSoil, Rennes, France.
- \_ Bispo, A., Grand, C., Galsomies, L. (2009) Le programme ADEME «Bioindicateurs de qualité des sols»: Vers le développement et la validation d'indicateurs biologiques pour la protection des sols. *Étude et Gestion des Sols*, Volume 16, 3/4, pages 145 à 158
- \_ Bongers, T. (1989) The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia*, 83, 14–19.
- \_ Bongers, T. (1999) The Maturity Index, the evolution of nematode life history traits, adaptive radiation and cp-scaling. *Plant and Soil* 212: 13–22.

- \_ Bouché, M. B. (1972) *Lombriciens de France: Ecologie et systématique*. Institut National de la Recherche Agronomique, France.
- \_ Briones, M. J. I. (2014) Soil fauna and soil functions: a jigsaw puzzle. *Frontiers in Environmental Science*, 2: 1 – 22.
- \_ Campiche, S., Grand, É., Gachet Aquillon, C., Homazava, N., Vermeirssen, E., Werner, I., Ferrari, B. J.D., Maurer, C., Chervet, A., Sturny, W.G., Schlaepfer, R. (2015). Mesure de l'activité biologique du site de suivi à long terme «Oberacker» par la méthode bait-lamina. *Bulletin BSA, Groupe de Travail: Biologie du Sol – Application* (16), 20 – 28
- \_ Cluzeau, D., Bellido A., Boulonne L., Cannavacciuolo M., Chaussod R., Cortet J., Fargette M., Giteau J-L., Guernion M., Jolivet C., Lavelle P., Foucaud-Lemercier B., Martin F., Mateille T., Mercier V., Péres G., Pernin C., Plantard O., Ponge J.F., Ranjard L., Rougé L., Ruiz N., Tico S., Velasquez H., Villenave C., Walter C. (2009) Tome 2 – Cahier des méthodes – Méthodes d'extraction et d'analyse des groupes biologiques étudiés durant le programme RMQS BioDiv Bretagne. RMQS BioDiv Bretagne, France.
- \_ Cluzeau, D., Bellido A., Boulonne L., Cannavacciuolo M., Chaussod R., Cortet J., Fargette M., Giteau J-L., Guernion M., Jolivet C., Lavelle P., Foucaud-Lemercier B., Martin F., Mateille T., Mercier V., Péres G., Pernin C., Plantard O., Ponge J.F., Ranjard L., Rougé L., Ruiz N., Tico S., Velasquez H., Villenave C., Walter C. (2009b). Tome 7: Lombriciens. RMQS BioDiv Bretagne, France.
- \_ Cortet, J. (2014) Les microarthropodes du sol. Fiche outil F4. Programme ADEME Bioindicateurs II. [https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/download/fiches-outil/fiche\\_outil\\_8\\_microarthropodes\\_du\\_sol.pdf](https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/download/fiches-outil/fiche_outil_8_microarthropodes_du_sol.pdf)
- \_ Cortet, J (2010) Biodiversité des microarthropodes du sol en agroécosystèmes. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme d'Habilitation à Diriger des Recherches. Institut National Polytechnique de Lorraine, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries, Alimentaires Laboratoire Sols et Environnement, France.
- \_ Countryside Survey. UKCEH Countryside Survey – measuring change in our countryside. <https://countryside-survey.org.uk/>
- \_ Cuendet, G., Suter, E., Stähli, R. (1997). Peuplements lombriciens des prairies permanentes du Plateau suisse – Valeurs de comparaison pour l'interprétation des prélèvements de vers de terre. Rapport de synthèse. Cahier de l'environnement n°291/sol. Office fédéral de l'environnement, des forêts et du paysage (OFEFP), Berne
- \_ Decaëns, T., Porco, D., Rougerie, R., Brown, G. G., James, S. W. (2013) Potential of DNA barcoding for earthworm research in taxonomy and ecology. *Applied Soil Ecology* 65, 35 – 42.
- \_ Donn, S., Neilson, R., Griffiths, B. S., Daniell, T. J. (2012) A novel molecular approach for rapid assessment of soil nematode assemblages – variation, validation and potential applications. *Methods in Ecology and Evolution*, 3, 12 – 23.
- \_ Edaphobase. <https://portal.edaphobase.org/>
- \_ EcoFINDERS. <http://www.EcoFINDERS.eu> et
- \_ EcoFINDERS. Ecological Function and Biodiversity Indicators in European Soils. <http://esdac.jrc.ec.europa.eu/projects/ecofinders>
- \_ Emmett, B.A., Reynolds, B., Chamberlain, P.M., Rowe, E., Spurgeon, D., Brittain, S.A., Frogbrook, Z., Hughes, S., Lawlor, A.J., Poskitt, J., Potter, E., Robinson, D.A., Scott, A., Wood, C., Woods, C. (2010) Countryside Survey: Soils Report from 2007. CS Technical Report No. 9/07, Countryside Survey, UK.
- \_ EPPO (2013) European and Mediterranean Plant Protection Organization. Nematode extraction. *Diagnostics*. PM 7/119 (1).

- ESDAC. European Soil Data Centre. <https://esdac.jrc.ec.europa.eu/>
- FAO, ITPS, GSBI, CBD and EC. (2020) State of knowledge of soil biodiversity – Status, challenges and potentialities, Report 2020. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cb1928en>
- Ferris, H., Bongers, T., de Goede, R.G.M (2001) A framework for soil food web diagnostics: extension of the nematode faunal analysis concept. *Applied Soil Ecology* 18, 13 – 29.
- Ferris, H. (2010) Form and function: Metabolic footprints of nematodes in the soil food web. *European Journal of Soil Biology* 46, 97 – 104.
- Fournier, B., Samaritani, E., Frey, B., Seppey, C. V.W., Lara, E., Heger, T. J., Mitchell, E. A.D (2020a) Higher spatial than seasonal variation in floodplain soil eukaryotic microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* 147 (2020a) 107842.
- Fournier, B., Pereira Dos Santos, S., Gustavsen, J. A., Imfeld, G., Lamy, F., Mitchell, E. A. D., Mota, M., Noll, D., Planchamp, C., Heger, T. (2020b). Impact of a synthetic fungicide (fosetyl-Al and propamocarb-hydrochloride) and a bio-pesticide (*Clonostachys rosea*) on soil bacterial, fungal, and protist communities. *Science of the Total Environment* 738 (2020) 139635.
- Geisen, S., Mitchell, E.A.D., Wilkinson, D.M., Adl, S., Bonkowski, M., Brown, M.W., Fiore-Donno, A.M., Heger, T.J., Jassey, V.E.J., Krashevska, V., Lahr, D.J.G., Marcisz, K., Mulot, M., Payne, R., Singer, D., Anderson, O.R., Charman, D.J., Ekelund, F., Griffiths, B.S., Rønn, R., Smirnov, A., Bass D., Belbahri, L., Berney, C., Blandenier, Q., Chatzinotas, A., Clarholm, M., Dunthorn, M., Feest, A., Fernández, L.D., Foissner, W., Fournier, B., Gentekaki, E., Hájek M., Helder, J., Jousset, A., Koller, R., Kumar, S., La Terza, A., Lamentowicz, M., Mazei, Y., Santos, S.S., Seppey, C.V.W., Spiegel, F.W., Walochnik, J., Winding, A., Lara, E. (2017) Soil protistology rebooted: 30 fundamental questions to start with. *Soil Biology & Biochemistry* 111, 94 – 103.
- Geisen, S., Mitchell, E. A. D., Adl, S., Bonkowski, M., Dunthorn, M., Ekelund, F., Fernandez, L. D., Jousset, A., Krashevska, V., Singer, D., Spiegel, F. W., Walochnik, J. Lara, E. (2018) Soil protists: a fertile frontier in soil biology research. *FEMS Microbiology Reviews*, fuy006, 42, 293 – 323.
- Geisen, S., Bonkowski, M. (2018) Methodological advances to study the diversity of soil protists and their functioning in soil food webs. *Applied Soil Ecology* 123, 328 – 333.
- George, P.B.L., Lallias, D., Creer, S., 1, Seaton, F.M., Kenny, J.G., Eccles, R.M.,4, Griffiths, R.I., Lebron, I., Emmett, B.A., Robinson, D.A., Jones, D.L. (2019) Divergent national-scale trends of microbial and animal biodiversity revealed across diverse temperate soil ecosystems. *Nature Communications*, 10:1107
- 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.
- Griffiths, B. S., J. Römbke, R. M. Schmelz , A. Scheffczyk , J.H. Faber , J. Bloem, G. Pérès , D. Cluzeau, A. Chabbi , M. Suhadolc, J.P. Sousa, P. Martins da Silva, F. Carvalho, S. Mendes, P. Morais, R. Francisco h, C. Pereira, M. Bonkowski, S. Geiseni, R.D. Bardgettj, F.T. de Vries, T. Bolger, T. Dirilgen, O. Schmidt, A. Winding, N.B. Hendriksen, A. Johansen, L. Philippot, P. Plassart, D. Bru, B. Thomson, R.I. Griffiths, M.J. Bailey, A. Keith, M. Rutgers, C. Mulder, S.E. Hannula, R. Creamer, D. Stone (2016) Selecting cost effective and policy-relevant biological indicators for European monitoring of soil biodiversity and ecosystem function. *Ecological Indicators*, 69, 213 – 223.
- Hilton. S., Picot, E., Schreiter, S., Bass, D., Norman, K., Oliver, A.E., Moore, J.D., Mauchline, T.H.,2, Mills, P.R., Teakle1, G.R., Clark, I.M., Hirsch, P.R., van der Gast,

- C.J., Bending, G.D. (2021) Identification of microbial signatures linked to oilseed rape yield decline at the landscape scale. *Microbiome*, 9:19
- Huber, S., Prokop, G., Arrouays, D., Banko, G., Bispo, A., Jones, R.J.A., Kibblewhite, M.G., Lexer, W., Möller, A., Rickson, R.J., Shishkov, T., Stephens, M., Toth, G. Van den Akker, J.J.H., Varallyay, G., Verheijen, F.G.A., Jones, A.R. (eds) (2008). Environmental Assessment of Soil for Monitoring, Volume I: Indicators & Criteria (ENVISSO). EUR 23490 EN/1. Office for the Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 339 pp.
  - IARC (2006) IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert-Butoxypropan-2-ol. Volume 88. Lyon, France.
  - ISO 18311 (2016) Soil quality – Method for testing effects of soil contaminants on the feeding activity of soil dwelling organisms – Bait-lamina test. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
  - ISO 23611-1 (2018) Soil Quality – Sampling of soil Invertebrates – Part 1: Handsorting and extraction of earthworms. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
  - ISO 23611-2 (2006) Soil Quality – Sampling of soil Invertebrates – Part 2: Sampling and extraction of micro-arthropods (Collembola and Acarina). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
  - ISO 23611-4 (2007) Soil quality – Sampling of soil invertebrates – Part 4: Sampling, extraction and identification of soil-inhabiting nematodes. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
  - ISO 23611-5 (2011) Soil quality – Sampling of soil invertebrates – Part 5: Sampling and extraction of soil macro-invertebrates. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
  - Jeffery, S., Gardi, C., Jones, A., Montanarella, L., Marmo, L., Miko, L., Ritz, K., Peres, G., Römbke, J., and van der Putten, W. H. (eds.) (2010) European Atlas of Soil Biodiversity. European Commission, Publications Office of the European Union, Luxembourg.
  - Keller A., Racine, S.A. (2019). Biologische Bodeneigenschaften – Recherche Stand der Technik zu Bestimmungsmethoden und Geräten. Pflichtenheft. Kompetenzzentrum Boden (KoBo), HAFL, Berner Fachhochschule BFH.
  - Keuskamp, J. A., Dingemans, B. J. J., Lehtinen, T., Judith M., Sarneel, J. M., Heffing, M. M. (2013) Tea Bag Index: a novel approach to collect uniform decomposition data across ecosystems. *Methods in Ecology and Evolution*. British Ecological Society.
  - Klüver, K., Elsner, D.-C., Filipinski, M., Cordsen, E., Gieske, M. (2020) Boden-Dauerbeobachtung in Schleswig-Holstein. Broschüre LLUR SH – GB 24. Landesamt für Landwirtschaft, Umwelt und ländliche Räume des Landes Schleswig-Holstein (LLUR), Allemagne.
  - MonViA. Monitoring der biologischen Vielfalt in Agrarlandschaften. [www.agrar-monitoring-monvia.de](http://www.agrar-monitoring-monvia.de).
  - Micheli, E., Bialousz, S., Bispo, A., Boixadera, J., Jones, A.R., Kibblewhite, M.G., Kolev, N., Kosmas, C., Lilja, H., Malucelli, F., Rubio, J.L., Stephens, M. (eds.) (2008) Environmental Assessment of Soil for Monitoring, Volume IVa: Prototype Evaluation (ENVISSO). EUR 23490 EN/4A. Office for the Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 116 pp.
  - OECD (2006) OECD Series on Testing and Assessment No. 56. Guidance document on the breakdown of organic matter in litterbags. ENV/JM/MONO 23. Organization for Economic Co-Operation and Development, Paris, France.

- Orgiazzi, A., Ballabio, C., Panagos, P., Jones, A., Fernández-Ugalde, O. (2018) LUCAS Soil, the largest expandable soil dataset for Europe: a review. *European Journal of Soil Sciences*, 69, 140 – 153.
- Pansu, J., De Danielli, S., Puissant, J., Gonzalez, J.-M., Gielly, L., Cordonnier, T., Zinger, L., Brun, J.-J., Choler, P., Taberlet, P., Cecillon, L. (2015). Landscape-scale distribution patterns of earthworms inferred from soil DNA. *Soil Biology & Biochemistry*, 83, 100 – 105.
- Pelosi, C., Bertrand, M., Capowiez, Y., Boizard, H., Roger-Estrade, J. (2009) Earthworm collection from agricultural fields: Comparisons of selected expellants in presence/absence of hand-sorting. *European journal of soil biology* 45, 176–183.
- Pfiffner, L. (2013) Vers de terre – Architectes des sols fertiles. Fiche Technique. Forschungsinstitut für biologischen Landbau FiBL. Frick, Schweiz.
- Pulleman, M., Creamer, R., Hamer, U., Helder, J., Pelosi, C., Pérès, G., Rutgers, M. (2012) Soil biodiversity, biological indicators and soil ecosystem services – an overview of European approaches. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 4:529 – 538.
- Ranjard, L. (2011) AgrInnov - Tester les Indicateurs de l'état biologique des sols en lien avec les pratiques agricoles. Compte rendu final de projet. PROJET CASDAR 1116 2011, France.
- Resch, M. C., Schütz, M., Buchmann, N., Frey, B., Graf, U., van der Putten, W. H., Risch, A. C. (2021). Evaluating long-term success in grassland restoration: an ecosystem multifunctionality approach. *Ecological Applications*, 31(3)
- REVA. Réseau d'expérimentation et de veille à l'innovation agricole. <https://www.ofsv.org/le-reva>
- RMQS. Groupement d'intérêt scientifique SOL (GisSol) – Réseau de Mesures de la Qualité des Sols – RMQS. <https://www.gissol.fr/le-gis/programmes/rmq34>
- RMQS. EcoBioSoil. Programme RMQS BioDiv. [https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/page/programme-rmq3-biodiv#Sites\\_RMQS\\_BioDiv](https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/page/programme-rmq3-biodiv#Sites_RMQS_BioDiv)
- Römbke, J., Jänsch, S., Ross-Nickoll, M., Toschki, A., Höfer, H., Horak, F., Russell, D., Burkhardt, U., Schmitt, H. (2012) Erfassung und Analyse des Bodenzustands im Hinblick auf die Umsetzung und Weiterentwicklung der Nationalen Biodiversitätsstrategie. Umweltbundesamt, Texte 33/2012, Allemagne.
- Römbke, J., (2014) The feeding activity of invertebrates as a functional indicator in soil. *Plant Soil* 383:43 – 46.
- Rota, N., Canedoli, C., Ferrè, C., Ficetola, G.F., Guerrieri, A., Padoa-Schioppa, E. (2020) Evaluation of Soil Biodiversity in Alpine Habitats through eDNA Metabarcoding and Relationships with Environmental Features. *Forests*, 11,738.
- Rutgers, M., Mulder, C., Schouten, A.J., Bloem, J., Bogte, J.J., Breure, A.M., Brussaard, L., De Goede, R.G.M., Faber, J.H., Jagers op Akkerhuis, G.A.J.M., Keidel, H., Korthals, G.W., Smeding, F.W., Ter Berg, C., Van Eekeren, N., (2008) Soil ecosystem profiling in the Netherlands with ten references for biological soil quality. RIVM Report 607604009/2008. Bilthoven, The Netherlands.
- Rutgers, M., Schouten, A. J., Bloem, J., Van Eekeren, N., De Goede, R. G. M., Jagers Op Akkerhuis, G. A. J. M., Van Der Wal, A., Mulder, C., Brussaard, L., & Breure, A. M. (2009) Biological measurements in a nationwide soil monitoring network. *European Journal of Soil Science*, 60, 820 – 832.
- Samaritani, E., Mitchell, E. A. D., Rich, J., Shrestha, J., Fournier, B., Frey, B. (2017) Soil bacterial communities and ecosystem functioning change more strongly with season than habitat in a restored floodplain. *Applied Soil Ecology*, 112, 71 – 78.

- \_ Scheunemann N., (2009) Methoden der Kohlenstoffmessung im Gelände und im Labor. <https://www.bodenkunde-projekte.hu-berlin.de/carlos/B01litterbag.html> (11.11.2022, 9:07)
- \_ Santos, S.S, Schöler, A., Nielsen, T.K., Hansen, L.H., Schloter, Winding, A. (2020) Land use as a driver for protist community structure in soils under agricultural use across Europe. *Science of The Total Environment*. 717, 137228.
- \_ Schleswig-Holstein Dauerbeobachtung. [www.schleswig-holstein.de/DE/Fachinhalte/B/boden/bodenDauerbeobachtung.html](http://www.schleswig-holstein.de/DE/Fachinhalte/B/boden/bodenDauerbeobachtung.html)
- \_ Singh, J., Singh, S., Vig, A. P. (2015) Extraction of earthworm from soil by different sampling methods: a review. *Environment Development and Sustainability* 18(6):1521 – 1539.
- \_ Singh, J., Singh, S., Bhat, S. A., Vig, A. P., Schädler, M. (2018) Eco-friendly method for the extraction of earthworms: Comparative account of formalin, AITC and Allium cepa as extractant. *Applied Soil Ecology*, 124, 141 – 145.
- \_ Stone, D., Ritz, K., Griffiths, B.G., Orgiazzi, A., Creamer, R. E. (2016) Selection of biological indicators appropriate for European soil monitoring. *Applied Soil Ecology* 97, 12 – 22.
- \_ Teatime 4 Science (2016) Tea bag index. <http://www.teatime4science.org/>
- \_ Tresch, S., Fliessbach, A. (2017) Decomposition study using tea bags. Technical note. Forschungsinstitut für biologischen Landbau FiBL. Frick, Schweiz.
- \_ UK soil observatory. <http://www.ukso.org/>
- \_ UniNE. Extraction de lombriciens. Protocole v2.0 du Laboratoire d'écologie fonctionnelle, Université de Neuchâtel.
- \_ van den Hoogen, J., Geisen, S., Routh, D., Ferris, H., Traunspurger, W., Wardle, D. A., Crowther, T. W. (2019). Soil nematode abundance and functional group composition at a global scale. *Nature*, 572(7768), 194 – 198.
- \_ VBB-BSA (2009) Aide à la mise en œuvre – Utilisation et interprétation des paramètres biologiques du sol. Groupe de travail «Biologie du sol – application» (BSA). Frick.
- \_ Villenave, C. (2014) La nématofaune. Fiche outil F3. Programme ADEME Bioindicateurs II. [https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/download/fiches-outil/fiche\\_outil\\_7\\_nematofaune.pdf](https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/download/fiches-outil/fiche_outil_7_nematofaune.pdf)
- \_ Walser, M.; Schneider Mathis, D.; Köchli, R.; Stierli, B.; Maeder, M.; Brunner, I., 2021: Le sol forestier vit – diversité et fonctions des organismes vivants du sol. 2e édition révisée. Not. prat. 60. 12 p.

## 8. Anhang

---

### 8.1 Vergleichstabelle zu bodenbiologischen Parametern und deren Bestimmungsmethoden

Durch diesen [Link](#) gelangen Sie zur Vergleichstabelle der biologischen Parameter und Methoden.

---

### 8.2 Liste zu Material und Kosten

Die Liste der Materialien und Kosten kann in den unten stehenden Tabellen für die verschiedenen biologischen Parameter, die in diesem Bericht besprochen werden, oder direkt in der [Excel-Tabelle](#) auf unserer [Homepage](#) eingesehen werden.

**Regenwürmer**

| Méthode              | Matériel  | unité | Prix (Euro) | prix (CHF) | quantité requise<br>(1 réplikat) | Total CHF   | Moyenne CHF    |
|----------------------|---|-------|-------------|------------|----------------------------------|---|----------------|
| Vers de terre        | stéréomicroscope min 40x  | 1     |             | 1028       | 1                                | 1028.00   |                |
| Vers de terre        | stéréomicroscope min 40x  | 1     |             | 357        | 1                                | 357.00  | 692.50         |
| Vers de terre        | balance précision 0.01g a 200g                                  | 1     |             | 126        | 1                                | 126.00  | 126.00         |
| Vers de terre        | farine de moutarde  | 1000  |             | 10         | 120                              | 1.20  | 1.20           |
| Vers de terre        | AITC 94-97% purity  | 1000  |             | 134        | 1                                | 0.13  | 0.13           |
| Vers de terre        | formaldéhyde  | 10000 |             | 74.9       | 25                               | 0.19  | 0.19           |
| Vers de terre        | formaldéhyde  | 10000 |             | 74.9       | 400                              | 3.00  | 3.00           |
| Vers de terre        | ethanol 70%   | 5000  |             | 53         | 400                              | 4.24  | 4.24           |
| Vers de terre        | Cisaille à gazon  | 1     |             | 10         | 1                                | 10.00   | 10.00          |
| Vers de terre        | Cadre métallique 50cm x 50 cm ou 56.4 cm de diamètre            | 1     |             |            | 1                                | 0.00  | 0.00           |
| Vers de terre        | masse   | 1     |             | 26         | 1                                | 26.00   | 26.00          |
| Vers de terre        | Bidons ou estagnons d'eau (30-40L)                              | 1     |             | 16         | 1                                | 16.00   | 16.00          |
| Vers de terre        | cylindre gradué volume min 50ml ou bécher 1L                    | 1     |             | 22         | 1                                | 22.00   | 22.00          |
| Vers de terre        | Gants de protection   | 50    |             | 42         | 1                                | 0.84  | 0.84           |
| Vers de terre        | Flacons plastiques ou en verre 250ml avec bouchons hermétiques  | 200   |             | 101        | 1                                | 0.51  | 0.51           |
| Vers de terre        | Flacons plastiques ou en verre 500 ml avec bouchons hermétiques | 10    |             | 29         | 1                                | 2.90  | 2.90           |
| Vers de terre        | pincettes rondes  | 2     |             | 9          | 2                                | 9.00  | 9.00           |
| Vers de terre        | bêche/pelle   | 1     |             | 15         | 1                                | 15.00   |                |
| Vers de terre        | bêche/pelle   | 1     |             | 70         | 1                                | 70.00   | 42.50          |
| Vers de terre        | bâche plastiques (1m2 à 2 m2, ou env. 2m x 2m)                  | 1     |             | 17         | 1                                | 17.00   | 17.00          |
| Vers de terre        | Thermomètre   | 1     |             | 127        | 1                                | 127.00  | 127.00         |
| Vers de terre        | grand bac plastique ou cuvette                                  | 1     |             |            |                                  | 0.00  | 0.00           |
| Vers de terre        | arrosoirs 10 a 15L  | 1     |             | 3          | 3                                | 9.00  |                |
| Vers de terre        | arrosoirs 10 a 15L  | 1     |             | 18         | 3                                | 54.00   | 31.50          |
| Vers de terre        | tamis 2mm   | 1     |             | 135        | 1                                | 135.00  | 135.00         |
| <b>Vers de terre</b> |   |       |             |            |                                  | <b>Investissement</b>   | <b>1267.50</b> |
| <b>Vers de terre</b> |   |       |             |            |                                  | <b>Consommables</b>   | <b>13.00</b>   |
| <b>Vers de terre</b> |   |       |             |            |                                  | <b>Consommables (avec AITC et fixation formaldéhyde uniquement)</b> | <b>7.38</b>    |

**Mikroarthropoden**

| Méthode                 | Matériel                              | unité | Prix (Euro) | prix (CHF) | quantité requise<br>(1 réplikat) | Total CHF             | Moyenne CHF     |
|-------------------------|---------------------------------------|-------|-------------|------------|----------------------------------|-----------------------|-----------------|
| microarthropodes        | split soil corer diam 5.6, 40 cm long | 1     |             | 850.00     | 1                                | 850.00                | 850.00          |
| microarthropodes        | tube plastique                        | 1     |             | 2.50       | 3                                | 7.50                  | 7.50            |
| microarthropodes        | sachet plastiques                     | 75    |             | 3.65       | 3                                | 0.15                  | 0.15            |
| microarthropodes        | extrateur mac fadyen (selon offre)    | 1     | 13663       | 14990.00   | 1                                | 14990.00              | 14990.00        |
| microarthropodes        | Pot d'extraction 100-200cm3           | 264   |             | 126.60     | 3                                | 1.44                  | 1.44            |
| microarthropodes        | formaldéhyde                          | 10000 |             | 74.90      | 6                                | 0.04                  | 0.04            |
| microarthropodes        | acide acétique                        | 500   |             | 37.20      | 0.18                             | 0.01                  | 0.01            |
| microarthropodes        | propan2-ol                            | 2500  |             | 93.70      | 0.018                            | 0.00                  | 0.00            |
| microarthropodes        | microscope contraste de phase         | 1     |             | 1988.00    | 1                                | 1988.00               |                 |
| microarthropodes        | microscope contraste de phase         | 1     |             | 2296.00    | 1                                | 2296.00               | 2142.00         |
| microarthropodes        | stéréomicroscope min 40x              | 1     |             | 1028.00    | 1                                | 1028.00               |                 |
| microarthropodes        | stéréomicroscope min 40x              | 1     |             | 357.00     | 1                                | 357.00                | 692.50          |
| microarthropodes        | lame alvéolée                         | 50    |             | 133.60     | 10                               | 26.72                 | 26.72           |
| microarthropodes        | plaque chauffante                     | 1     |             | 517.70     | 1                                | 517.70                | 517.70          |
| microarthropodes        | petri 90mm                            | 825   |             | 148.40     | 10                               | 1.80                  | 1.80            |
| microarthropodes        | ethanol 70%                           | 5000  |             | 53.00      | 450                              | 4.77                  | 4.77            |
| microarthropodes        | flacon 60ml                           | 700   |             | 109.05     | 15                               | 2.34                  | 2.34            |
| microarthropodes        | acide lactique                        | 1     |             | 36.80      | 0.01                             | 0.37                  | 0.37            |
| microarthropodes        | hydrate de chloral                    | 1000  |             | 253.00     | 80                               | 20.24                 | 20.24           |
| microarthropodes        | hydrogen chloride                     | 100   |             | 39.30      | 5                                | 1.97                  | 1.97            |
| microarthropodes        | gomme arabique                        | 500   |             | 99.30      | 30                               | 5.96                  | 5.96            |
| microarthropodes        | hydrate chloral                       | 250   |             | 35.90      | 200                              | 28.72                 | 28.72           |
| microarthropodes        | crystal de phenol                     |       |             |            |                                  |                       |                 |
| microarthropodes        | glycerine                             | 500   |             | 286.00     | 0.05                             | 0.03                  | 0.03            |
| microarthropodes        | pincette ressort                      | 1     |             | 12.55      | 1                                | 12.55                 | 12.55           |
| <b>microarthropodes</b> |                                       |       |             |            |                                  | <b>Investissement</b> | <b>19306.80</b> |
| <b>microarthropodes</b> |                                       |       |             |            |                                  | <b>Consommables</b>   | <b>16.61</b>    |

## Nématoden

| Méthode   | Matériel                                 | unité | Prix (Euro) | prix (CHF) | quantité requise<br>(1 réplikat) | Total CHF                        | Moyenne CHF |
|-----------|--|-------|-------------|------------|----------------------------------|----------------------------------|-------------|
| nématodes | gouge soil auger edelmann                | 1     |             | 130        | 1                                | 130                              | 130         |
| nématodes | seau plastique                           | 1     |             | 4.5        | 10                               | 45                               | 45          |
| nématodes | tamis 8 mm                               | 1     |             | 155.4      | 1                                | 155.4                            | 155.4       |
| nématodes | sachet plastiques                        | 75    |             | 3.65       | 1                                | 0.05                             | 0.05        |
| nématodes | elutriateur ostenbrink                   | 1     | 5655        | 6107       | 1                                | 6107.4                           | 6107.4      |
| nématodes | tamis 45 um diam 30cm                    | 1     |             | 178.5      | 3                                | 535.5                            | 535.5       |
| nématodes | tamis 250 um diam 10 cm                  | 1     |             | 127        | 1                                | 127                              | 127         |
| nématodes | cuvette                                  | 1     |             | 2.95       | 1                                | 2.95                             | 2.95        |
| nématodes | tamis 100 um diam 16 cm                  | 1     |             | 111        | 1                                | 111.00                           | 111.00      |
| nématodes | filtre cotton hydrophile                 |       |             |            |                                  |                                  |             |
| nématodes | petri 90mm                               | 825   |             | 148.4      | 5                                | 0.90                             | 0.90        |
| nématodes | recipient stockage nématodes 100ml verre | 24    |             | 92.4       | 1                                | 3.85                             | 3.85        |
| nématodes | stéréomicroscope min 40x???              | 1     |             | 1028       | 1                                | 1028.00                          |             |
| nématodes | stéréomicroscope min 40x                 | 1     |             | 357        | 1                                | 357.00                           | 692.50      |
| nématodes | boite comptage                           | 1     | 177         | 191.16     | 2                                | 382.32                           | 382.32      |
| nématodes | lame microscope                          | 2500  |             | 98.7       | 2                                | 0.08                             | 0.08        |
| nématodes | microscope contraste de phase???         | 1     |             | 1988       | 1                                | 1988.00                          |             |
| nématodes | microscope contraste de phase            | 1     |             | 2296       | 1                                | 2296.00                          | 2142.00     |
| nématodes | formaldéhyde                             | 10000 |             | 74.9       | 12                               | 0.09                             | 0.09        |
| nématodes | plaque chauffante                        | 1     |             | 517.7      | 1                                | 517.70                           | 517.70      |
| nématodes | Agitateur vortex                         | 1     |             | 134.65     | 1                                | 134.65                           |             |
| nématodes | Agitateur vortex                         | 1     |             | 533.4      | 1                                | 533.40                           | 334.03      |
| nématodes | centrifugeuse                            | 1     |             | 7831.6     | 1                                | 7831.60                          | 7831.60     |
| nématodes | spectrophotomètre (selon offre)          | 1     |             | 12800      | 1                                | 12800.00                         |             |
| nématodes | spectrophotomètre (selon offre)          | 1     |             | 13600      | 1                                | 13600.00                         | 13200.00    |
| nématodes | illumina MiSeq                           | 1     |             | 103950     | 1                                | 103950.00                        | 103950.00   |
| nématodes | illumina MiSeq                           | 1     |             | 8892       | 1                                | 8892.00                          | 8892.00     |
| nématodes | coût analyse moléculaire                 | 1     |             | 45         | 1                                | 45.00                            | 45.00       |
| nématodes |  |       |             |            | analyse morphologique            | Investissement                   | 10948.77    |
| nématodes |  |       |             |            | analyse morphologique            | Consommables                     | 4.97        |
| nématodes |  |       |             |            | analyse moléculaire ADN          | Investissement (sans séquenceur) | 28424.48    |
| nématodes |  |       |             |            | analyse moléculaire ADNe         | Investissement (sans séquenceur) | 21540.63    |
| nématodes |  |       |             |            | ADN + ADNe                       | coût analyse moléculaire         | 45.00       |

## Protisten

| Méthode   | Matériel                        | unité | Prix (Euro) | prix (CHF) | quantité requise<br>(1 réplikat) | Total CHF                        | Moyenne CHF |
|-----------|---------------------------------|-------|-------------|------------|----------------------------------|----------------------------------|-------------|
| protistes | gouge soil auger edelmann       | 1     |             | 130        | 1                                | 130.00                           | 130.00      |
| protistes | Fast DNA SPIN kit for soil      | 100   |             | 420        | 1                                | 4.20                             | 4.20        |
| protistes | Agitateur vortex                | 1     |             | 134.65     | 1                                | 134.65                           |             |
| protistes | Agitateur vortex                | 1     |             | 533.4      | 1                                | 533.40                           | 334.03      |
| protistes | centrifugeuse                   | 1     |             | 7831.6     | 1                                | 7831.60                          | 7831.60     |
| protistes | spectrophotomètre (selon offre) | 1     |             | 12800      | 1                                | 12800.00                         |             |
| protistes | spectrophotomètre (selon offre) | 1     |             | 13600      | 1                                | 13600.00                         | 13200.00    |
| protistes | illumina MiSeq                  | 1     |             | 103950     | 1                                | 103950.00                        | 103950.00   |
| protistes | illumina MiSeq                  | 1     |             | 8892       | 1                                | 8892.00                          | 8892.00     |
| protistes | Cutadapt software               | 1     |             | 0          | 1                                | 0.00                             | 0.00        |
| protistes | Dada2 package (Bioconductor)    | 1     |             | 0          | 1                                | 0.00                             | 0.00        |
| protistes | qiime2 software                 | 1     |             | 0          | 1                                | 0.00                             | 0.00        |
| protistes | coût analyse                    | 1     |             | 45         | 1                                | 45.00                            | 45.00       |
| protistes | offre de prestation             | 1     |             | 25         | 1                                | 25.00                            | 25.00       |
| protistes |                                 |       |             |            |                                  | Investissement (sans séquenceur) | 21569.83    |
| protistes |                                 |       |             |            |                                  | Investissement (avec séquenceur) | 134411.83   |
| protistes |                                 |       |             |            |                                  | coût analyse                     | 45.00       |
| protistes |                                 |       |             |            |                                  | offre de prestation              | 25.00       |
| protistes |                                 |       |             |            |                                  | Consommables                     | 4.20        |

## Funktionelle Methoden

| Méthode            | Matériel                   | unité  | Prix (Euro) | prix (CHF) | quantité requise<br>(1 réplikat) | Total CHF   | Moyenne CHF           |
|--------------------|----------------------------|--------|-------------|------------|----------------------------------|---|-----------------------|
| Tea bag            | Sachet de thé, thé vert    | 1      | 4.29        | 4.63       | 0.05                             | 0.23  | 0.23                  |
| Tea bag            | Sachet de thé, roiboos     | 1      | 4.29        | 4.63       | 0.05                             | 0.23  | 0.23                  |
| Tea Bag            | Tarrière Edlmann           | 1      | 133.68      | 144.37     | 1                                | 144.37  | 144.37                |
| Tea bag            | Four a Moufle              | 1      |             | 5870       | 1                                | 5870.00   |                       |
| Tea bag            | Four a Moufle              | 1      |             | 3615       | 1                                | 3615.00   |                       |
| Tea bag            | Four a Moufle              | 1      |             | 9445       | 1                                | 9445.00   |                       |
| Tea bag            | Four a Moufle              | 1      |             | 8250       | 1                                | 8250.00   |                       |
| Tea bag            | Four a Moufle              | 1      |             | 4840       | 1                                | 4840.00   | 6404.00               |
| Tea Bag            | Dessicateur/étuve          | 1      |             | 1425.2     | 1                                | 1425.20   |                       |
| Tea Bag            | Dessicateur/étuve          | 1      |             | 7410.2     | 1                                | 7410.20   | 4417.70               |
| Tea Bag            | Creusets en porcelaine     | 6      |             | 41.18      | 0.33                             | 13.73   | 13.73                 |
| Tea Bag            | Balance de précision 0.000 | 1      |             | 294        | 1                                | 294.00  | 294.00                |
| <b>Tea bag</b>     |                            |        |             |            |                                  | <b>Investissement</b>                             | <b>11274.26</b>       |
| <b>Tea bag</b>     |                            |        |             |            |                                  | <b>Consommables</b>                               | <b>0.46</b>           |
| Litter bag         | Trellis nylon              | 1      |             | 30         |                                  |   |                       |
| Litter bag         | Trellis nylon              | 1      | 30          | 32.40      |                                  |   |                       |
| Litter bag         | Trellis nylon              | 1      |             | 31.20      | 0.1                              | 3.12  | 3.12                  |
| Litter bag         | Paille                     | 100000 |             | 16         | 0.00005                          | 0.00  | 0.00                  |
| Litter bag         | bêche/pelle                | 1      |             | 15         | 1                                | 15.00   |                       |
| Litter bag         | bêche/pelle                | 1      |             | 70         | 1                                | 70.00   | 42.50                 |
| Litter bag         | Dessicateur/étuve          | 1      |             | 4417.7     | 1                                | 4417.70   | 4417.70               |
| Litter bag         | Four a Moufle              | 1      |             | 6404       | 1                                | 6404.00   | 6404.00               |
| Litter bag         | Creusets en porcelaine     | 6      |             | 54.49      | 0.33333333                       | 18.16   | 18.16                 |
| <b>Litter bag</b>  |                            |        |             |            |                                  | <b>Investissement</b>                             | <b>10927.98</b>       |
| <b>Litter bag</b>  |                            |        |             |            |                                  | <b>Consommables</b>                               | <b>3.12</b>           |
| Bait Lamina        | Bait Lamina pleins         | 1      | 4.4         | 4.75       | 8                                | 38.02   |                       |
| Bait Lamina        | Bait Lamina pleins         | 1      |             | 3.2        | 3.98                             | 25.60   | 31.81                 |
| Bait Lamina        | Bait Lamina vides          | 1      | 3.8         | 4.10       | 8                                | 32.83   |                       |
| Bait Lamina        | Bait Lamina vides          | 1      |             | 2.7        | 3.40                             | 21.60   | 27.22                 |
| Bait Lamina        | sachet plastiques          | 75     |             | 3.65       | 1                                | 0.05  | 0.05                  |
| Bait Lamina        | Mix de remplissage         | 10     |             | 2.15       | 1.07                             | 0.23  | 0.23                  |
| <b>Bait Lamina</b> |                            |        |             |            |                                  | <b>50 sites à 5 réplcats (8 BL chaque), vides</b> | <b>Investissement</b> |
| <b>Bait Lamina</b> |                            |        |             |            |                                  | <b>Consommables</b>                               | <b>0.23</b>           |

---

## 8.3 Geführte Interviews

Für verschiedene biologische Parameter wurden Interviews mit Experten auf diesem Gebiet geführt, darunter:

- \_ Dr. Claire Le Bayon, Titularprofessorin am Laboratoire d'écologie fonctionnelle der Universität Neuchâtel, Regenwürmer. Das Interview wurde per Telefon (14.10.2020) und E-Mail-Austausch geführt.
- \_ Dr. Claudia Maurer vom Amt für Landwirtschaft und Natur des Kantons Bern, Fachstelle Boden, Regenwürmer. Das Interview wurde per Telefon (27.10.2020) und E-Mail-Austausch geführt.
- \_ Dr. Beat Frey, Leiter der Forschungseinheit Rhizosphärenprozesse an der Eidgenössischen Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft (WSL), für Nematoden. Das Interview wurde per E-Mail-Austausch geführt (25.11.2020).
- \_ Professor Thierry Heger von der Gruppe Boden- und Umweltwissenschaften der Hochschule für Weinbau und Oenologie in Changins (HES-SO Changins), Protisten. Das Interview wurde per Telefon (08.10.2020) und E-Mail-Austausch geführt.

Die Empfehlungen und Informationen dieser Experten wurden unter dem Vermerk «persönliche Mitteilung» in die verschiedenen Abschnitte dieses Berichts aufgenommen.

**Kompetenzzentrum Boden**

BFH-HAFL

Länggasse 85\_3052 Zollikofen

info@ccsols.ch\_ccsols.ch