



20. Juni 2025

Probenarchivierung im Rahmen eines Bodenbiodiversitätsmonitorings

Empfehlung des Fachgremiums „Monitoring der Bodenbiodiversität und ihrer Funktionen“

Veranlassung

Die Einlagerung von Proben im Rahmen eines bundesweiten Bodenbiodiversitätsmonitorings ist ein wichtiger Baustein für die Beobachtung langfristiger Bodenbiodiversitätsveränderungen. Denn durch gut dokumentierte und standardisierte Probenarchive können Monitoringprogramme um eine konservierende und rückblickende Komponente ergänzt werden. Neben der Qualitätssicherung und Nachprüfbarkeit von Monitoringergebnissen besteht ein großer Mehrwert darin, zukünftig durch die Weiterentwicklung von Analysemethoden neue Informationen aus bereits gelagerten Proben zu gewinnen. In diesem Zusammenhang bieten genetische Methoden wie DNA-Metabarcoding ein hohes Potential für rückblickende Bewertungen der Artenvielfalt. Daher erörtert das Fachgremium „Bodenbiodiversität und -funktionen“ des Nationalen Monitoringzentrums zur Biodiversität den Nutzen und die Praktikabilität einer Probenarchivierung zur Nachnutzung im Rahmen eines bundesweiten Bodenbiodiversitätsmonitorings.

➤ weiterführende Informationen zur Integrierung einer DNA-konservierenden Probenlagerung im Biodiversitätsmonitoring:

Zizka, V. M. A.; Koschorreck, J.; Khan, C. C.; Astrin, J. J. (2022): Long-term archival of environmental samples empowers biodiversity monitoring and ecological research. Environmental Sciences Europe 34, 40. <https://doi.org/10.1186/s12302-022-00618-y>



Potentiale genetischer Methoden zur Artbestimmung im Bodenbiodiversitätsmonitoring

Die Erfassung des enorm vielfältigen Bodenlebens ist ein komplexes und anspruchsvolles Unterfangen. Der hohe zeitliche und finanzielle Aufwand und die limitierte Verfügbarkeit von Expertinnen und Experten, vor allem für die taxonomische Bestimmung stellen für ein kontinuierliches bundesweites Monitoring große Herausforderungen dar. Die Implementierung molekularer Technologien kann dabei Entlastung schaffen. DNA-basierte Verfahren haben großes Potential als komplementäre Methode zur morphologischen Artidentifikation im (Boden-) Biodiversitätsmonitoring. Insbesondere die Technik des Metabarcodings für die qualitative Erfassung der Biodiversität hat sich während der letzten Jahrzehnte rasant entwickelt und kann ein leistungsstarkes Werkzeug für das Monitoring sein. Artinformationen und Einsichten in Diversitätsmetriken von Gemeinschaften können aus komplexen organismischen Sammelproben, zum Beispiel Barberfallen, oder direkt aus Bodenproben (eDNA-Methode) gewonnen werden. Die Vorteile liegen vor allem in der zeitlichen und finanziellen Effektivität. Unabhängig von der Morphologie (Phänotyp, Entwicklungsstufe, Integrität) können mehrere Organismengruppen gleichzeitig objektiv analysiert werden. Insbesondere die eDNA-Methode kann und soll aufgrund des geringen Erfassungsaufwands zukünftig eine wichtige Rolle im Bodenbiodiversitätsmonitoring spielen. Für die Identifikation des Bodenmikrobioms sind molekulare Methoden vor allem in der Forschung bereits etabliert.

Vor einer routinemäßigen Anwendung des Metabarcodings im Monitoring und der Einführung in die behördliche Praxis sind allerdings Lösungen für wesentliche Herausforderungen zu erarbeiten:

- ▶ bisher unzureichend befüllte Sequenzdatenbanken müssen vervollständigt werden und gut kuratiert, Qualitätskontrolliert und öffentlich sein
- ▶ Qualitätssicherung und Standardisierung der Prozesse von der Probenahme und Probenaufbereitung über die Metabarcodingleistung und bioinformatische Auswertung ist erforderlich um vergleichbare Ergebnisse erzeugen zu können
- ▶ es müssen paarweise Vergleiche (Barcoding versus morphologische Bestimmung) durchgeführt werden um zukünftig bei Anwendungen nur einer Methode eine Unter- oder Überschätzung von Bodenbiodiversität zu vermeiden
- ▶ noch besteht Forschungsbedarf bei der Erarbeitung und Etablierung von Indikatoren zur Bodenzustandsbewertung (Voraussetzung für zielgerichtete Auswertung)

➤ weiterführende Informationen zu Potenzialen und Herausforderungen DNA-basierter Biodiversitätsanalysen:



Leese, F. et al. (2023): DNA-basierte Biodiversitätsanalysen im Natur- und Umweltschutz: Welche Optionen haben wir für eine Standardisierung? Eine Handlungsempfehlung aus Forschung und Praxis. Bundesamt für Naturschutz [Hrsg.], BfN-Schriften 666. DOI: 10.19217/skr666

Schröer, L. et al. (2024): Hürden und Chancen der Integration DNA-basierter Methoden für ein Boden-Biodiversitätsmonitoring in Agrarlebensräumen. Natur und Landschaft 9+10/2024, 99 (470-479). DOI: 10.19217/NuL2024-09-06

Den Einsatz DNA-basierter Methoden im Bodenbiodiversitätsmonitoring Voranbringen

Das Gremium betrachtet die im Aktionsprogramm Natürlicher Klimaschutz vorgesehene bundesweite Ersterfassung als Chance, den routinemäßigen Einsatz des Metabarcodings im Bodenbiodiversitätsmonitoring voranzutreiben. So empfiehlt das Gremium im Rahmen dieser Maßnahme parallel zu den morphologischen Bestimmungen die Referenzdatenbanken stufenweise mit Referenz-Barcodes (inklusive Referenzmetadaten) der Bodenorganismen zu befüllen. Die Befüllung der Referenzdatenbanken ist ein aufwendiger und langwieriger Prozess, der dabei als eigenständiges Projekt konzipiert werden sollte, um die Routineabläufe der morphologischen Bestimmungen nicht zu überlasten. Paarweise Vergleiche zwischen Barcoding und morphologischer Bestimmung an Community-Proben extrahierte Bodenorganismengruppen sollten zur Methodenvvalidierung (zum Beispiel Bestimmung des Ausmaßes von Über-/Unterschätzungen der Biodiversität beziehungsweise bestimmter Gruppen) durchgeführt werden. Auch dieser Prozess sollte als eigenständiges Teilprojekt für ein reduziertes Stichprobenset konzipiert werden, um die Effizienz der Erfassungs-Aktivitäten der Ersterfassung nicht zu beeinträchtigen.

Im Projekt MetaInvert-ISO (metainvert-iso.senckenberg.science/de/) werden derzeit Standardverfahren zur Erfassung verschiedener terrestrischer Invertebratengruppen (unter anderem extrahierte Enchyträen, Mikroarthropoden, Nematoden) mithilfe von Hochdurchsatz-Sequenzierungsverfahren erarbeitet mit dem Ziel der Erstellung einer Final-Draft-ISO-Richtlinie. Dies ist ein entscheidender Schritt für die Anwendbarkeit von genetischen Bodenbiodiversitätsanalysen (Vergleichbarkeit und Reproduktion von Monitoringergebnissen).

Empfehlung zur Einlagerung von Proben in einem bundesweiten Bodenbiodiversitätsmonitoring

Das Archivierungsvorhaben soll vorrangig der **Ergebnissicherung** des Bodenbiodiversitätsmonitorings dienen und Optionen **prospektiver molekularbiologischer (DNA-basierter) Biodiversitätsanalysen** gewährleisten.



Die erstmalige bundesweite Ersterfassung dient nicht nur der **Etablierung von Referenzwerten** für verschiedene Lebensraumtypen, sondern ermöglicht auch die **Weiterentwicklung und den Ausbau von Indikatoren** zur Messung und Bewertung der Bodenbiodiversität. Ihr kommt damit eine hohe Bedeutung als Referenzpunkt für die Messung und Bewertung von Veränderungen der Bodenbiodiversität im Laufe der Zeit zu. **Dafür ist die Sicherung der Proben aus der Ersterfassung von zentraler Bedeutung.** Die Proben sollten daher **unter optimalen Bedingungen gelagert** und damit **für vielfältige Nachnutzungen zugänglich** gemacht werden. Es wird empfohlen, parallel zum DNA-Extrakt (das ohnehin für das Metabarcoding des Bodenmikrobioms im Rahmen der Ersterfassung zu generieren ist), eine repräsentative Bodenprobe für jeden Untersuchungsstandort unter Kryobedingungen einzulagern. Durch die Lagerung bei ultratiefen Temperaturen bleiben sämtliche chemische und biologische Informationen einer Probe bewahrt. Die Sicherung des Roh-Referenzmaterials ermöglicht nicht nur vielfältige Folgeanalysen (zum Beispiel bei Neuentwicklung von Indikatoren, Schadstoffanalysen, Weiterentwicklung und/oder Kostensenkung genetischer Analyseverfahren, Weiterentwicklung von bioinformatischen Anwendungen) in der Zukunft, sondern kann zudem für die Kalibrierung und Validierung neuer Analysemethoden verwendet werden.

Darüber hinaus wird empfohlen, repräsentative Anteile der für die morphologische Bestimmung ausgetriebenen Bodenorganismen sortiert nach Bodenorganismengruppen beziehungsweise die Beifänge aus den Bodenfallen des geplanten bundesweiten Insektenmonitorings (für die Standorte, an denen Synergien mit dem Insektenmonitoring genutzt werden) aufzubewahren. Damit würde mit geringem Mehraufwand (denn die aufwändige Probengewinnung selbst ist ohnehin im Rahmen der Erfassung vorgesehen) ein Mehrwert für die taxonomische Nachnutzung generiert, zum Beispiel für taxonomische Revisionen. Eine kurz- bis mittelfristige Einlagerung der organismischen Proben ist im Zuge der Ersterfassung voraussichtlich auch aus logistischer Sicht notwendig, um ein schrittweises „Abarbeiten“ der morphologischen Artidentifikation zu gewährleisten.

In einem zukünftig zu etablierenden **Trendmonitoring** der Bodenbiodiversität ist das für die Ersterfassung vorgeschlagene Vorgehen zur Probeneinlagerung kaum praktikabel. Hierfür ist prospektiv eine Priorisierung der Probenart- und des Probenumfangs für die Einlagerung vorzunehmen. Noch ungewisse wissenschaftliche (zum Beispiel Indikatoren, Bewertungssystem), logistische und finanzielle Rahmenbedingungen eines zukünftigen Trendmonitorings müssen für die Entwicklung eines Archivierungskonzepts abgewogen werden, unter anderem auch unter Berücksichtigung der Erfahrungen aus der Ersterfassung. Beispielsweise können DNA-Verbindungen unter bestimmten Voraussetzungen auch langfristig beständig sein, wenn sie bei -20 °C beziehungsweise gefriergetrocknet bei Raumtemperatur gelagert werden. Ein solches Vorgehen wäre womöglich deutlich praktikabler in einem dauerhaften Trendmonitoringprogramm.



Technische Aspekte:

- ▶ Aliquote: Einzulagernde Proben (DNA-Extrakte und Bodenproben) sind zu aliquotieren, um in der Nachnutzung mehrere Gefrier-Auftauzyklen zu vermeiden (Gewährleistung der DNA-Stabilität)
- ▶ Probenmenge: Für molekularbiologische Analysen sind kleine Probenmengen ausreichend (wenige Gramm). Die Herstellung eines probenrepräsentativen Aliquots ist jedoch herausfordernd. Für eine optimale Homogenisierung wird das Vermahlen des gefriergetrockneten Ausgangs-Bodenprobenmaterials (circa 50 Gramm Bulk sample) vorgeschlagen. (Die Homogenisierung von frischem Boden ist schwer möglich/ nicht ideal). Die Herangehensweise, eine räumlich repräsentative Probe je Fläche/Stichprobenstandort zu generieren, sollte im Zuge der Konzeptionierung des Sampling Designs adressiert werden (Anzahl und Anordnung Subsamples). Bei der Entwicklung der Probenahmestrategie sollte eine vereinheitlichte DNA-konservierende Handhabung des Probenmaterials, das für genetische Analysen vorgesehen ist berücksichtigt werden. Kontaminationen mit Fremd-DNA und DNA-Abbau durch physikochemische oder biologische Prozesse gilt es weitestgehend zu vermeiden.
- ▶ Organismische Proben: Die Anforderungen an die Aufbewahrung sind organismengruppenspezifisch. Ethanol ist als häufig verwendetes Konservierungsmittel DNA-freundlich, aber z zum Beispiel Nematoden und Enchyträen sind dann nicht mehr morphologisch bestimmbar. Wenn für diese Gruppen DNA-Analysen und gepaarte Morphologische Artidentifikation parallel gewünscht sind: Repräsentative Aufteilung der extrahierten Tiere direkt nach Extraktion. Für im Vergleich zu den Nematoden weniger individuenreiche Gruppen müsste dafür die Probenzahl beziehungsweise das Probenvolumen erhöht werden (Enchyträen).

Lagerungsinfrastruktur

Die einzulagernden Proben der bundesweiten Ersterfassung sollten in einem spezialisierten Archiv aufbewahrt werden. Probenarchive wie die LIB-Biobank (bonn.leibniz-lib.de/de/biobank) oder die Umweltprobenbank des Bundes (www.umweltprobenbank.de) bieten die Infrastruktur und die Ressourcen, um Proben über lange Zeiträume unter höchsten Qualitätsansprüchen sicher zu lagern. Sie verfügen über Fachpersonal für eine standardisierte Probenkonservierung, -verwaltung und -dokumentation. Die Probenarchivierung im Zuge der Ersterfassung sollte in Kooperation mit der LIB-Biobank und in enger Abstimmung mit der Umweltprobenbank (wertvolle Expertise in der Lagerung von Bodenproben) erfolgen. Weitere Synergieeffekte könnten durch eine Zusammenarbeit mit dem LIB bei der genetischen Charakterisierung (DNA-Barcoding) von Bodenorganismen zur Weiterentwicklung der Referenzdatenbanken geschaffen werden.