



INBO Webinars Biodiversiteit in het Agrarisch Gebied (MBAG)

Bodembiodiversiteit

Bruno De Vos

Sam Lambrechts

Hans Van Calster

Jane Debode (ILVO)

MBAG studie bodembiodiversiteit

- Begrip bodembiodiversiteit
- Aanleiding voor de MBAG studie
- Europese aanpak en doelstellingen
- MBAG Doelstellingen
- Methodologie
 - Selectie eDNA bodemstalen uit Cmon meetnet
 - eDNA metabarcoding workflow
- Bevindingen
- Aanbevelingen eDNA bodembiodiversiteitsmonitoring
- Toekomstperspectieven eDNA bodemmonitoring
- DMP: open datasets voor verder onderzoek

Wat is bodembiodiversiteit ?

Biodiversiteit is een concept beschreven in de jaren 80 door Wilson & Peter (1988):
'Biodiversity is the **variety of life**'

Soil biodiversity is therefore defined as the ***variability*** of ***living organisms*** in soil and the ***ecological complexes*** of which they are part of, including ***diversity within species, between species and of ecosystems*** (UNEP, 1992).

FAO (2020) defines soil biodiversity as the **variety of life belowground**, from ***genes and species*** to the ***communities*** they form, as well as the ecological complexes to which they ***contribute*** and to which they belong, ***from soil micro-habitats to landscapes***.

Vijf types van bodembiodiversiteit (Stolte et al. 2015)

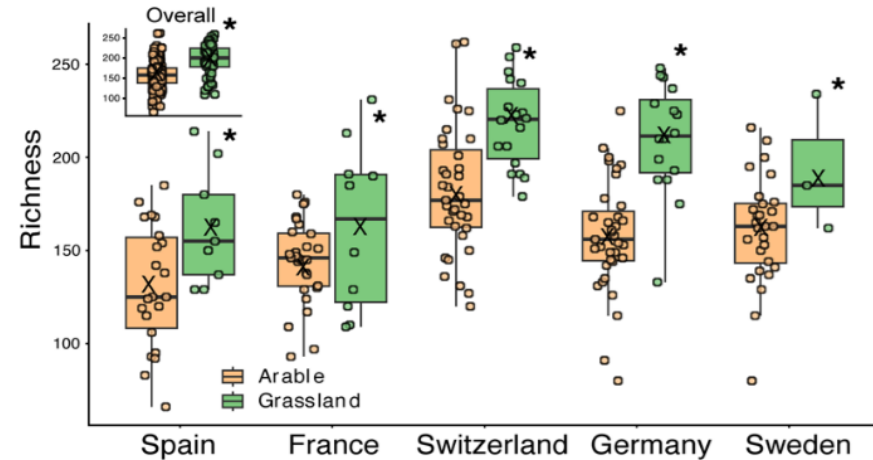
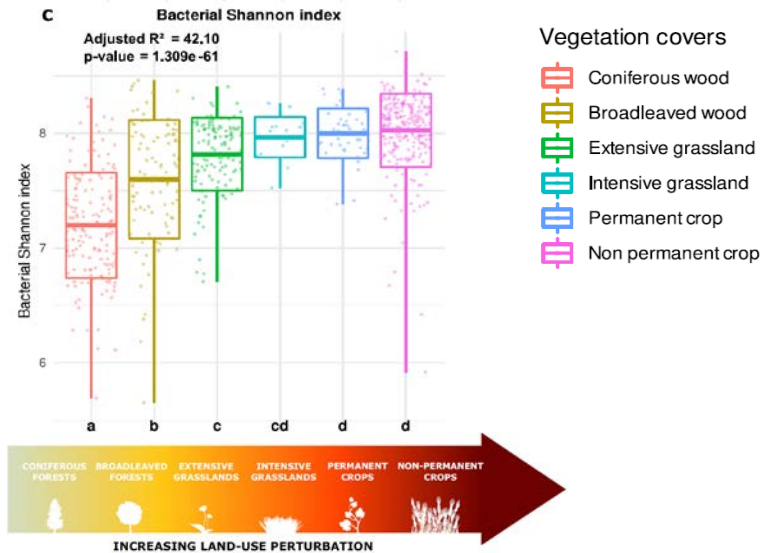
- **Ecosysteem diversiteit:** variatie aan **habitats** die in bodemecosysteem voorkomen.
- **Soorten/Taxonomische diversiteit:** variatie & abundantie van **verschillende types (taxa)** aan bodemorganismen
- **Genetische diversiteit** is de combinatie aan **verschillende genen** aangetroffen binnen de populatie van één soort, alsook variatiepatronen binnen verschillende populaties van dezelfde soort.
- **Fenotypische diversiteit** is gebaseerd op één of meerdere **morphologische, biochemische of fysiologische aspecten** van de bodemorganismen als resultaat van genetische eigenschappen en milieufactoren.
- **Functionele diversiteit** is de variatie aan **functies die bodembiota vervullen** zoals nitrificatie en strooiselafbraak

Aanleiding

- **Achteruitgang bovengrondse biodiversiteit in agro-ecosystemen** => vermoedelijk ook zo voor ondergrondse biodiversiteit ?

Labouyrie et al. 2022 (Nature): Patterns in soil microbial diversity across Europe

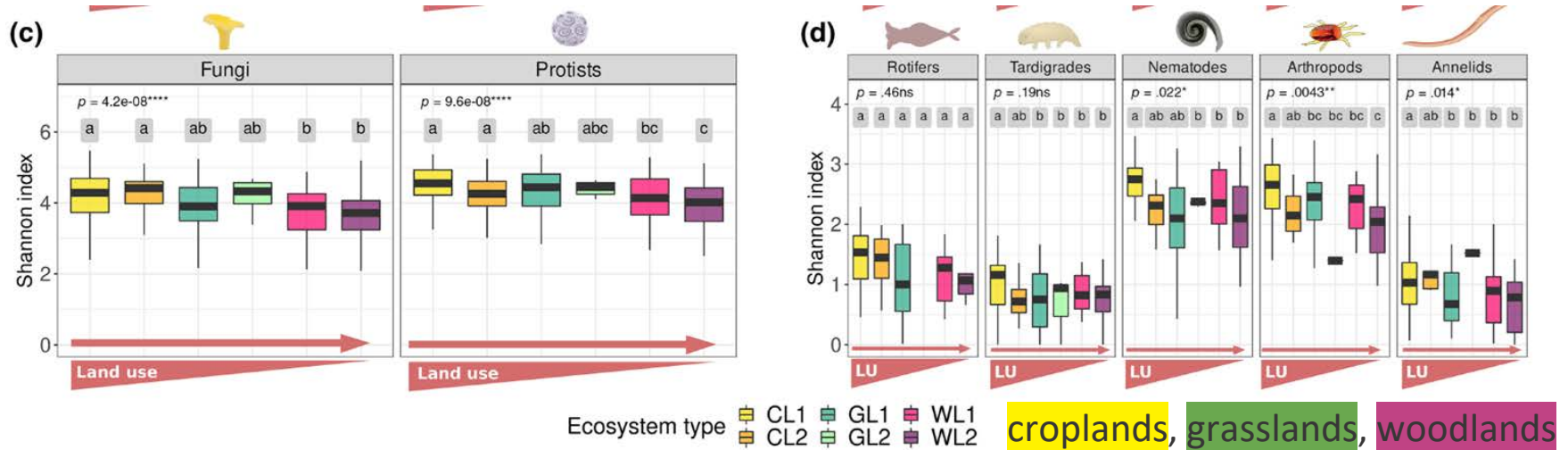
contrast ! $\longleftrightarrow$ Banerjee et al. 2024 (Nature): Biotic homogenization, lower soil fungal diversity and fewer rare taxa in arable soils across Europe compared to grasslands



Zeldzame schimmelsoorten proportioneel meer bedreigd in akkers

Aanleiding

Köninger_et al 2023_GCB_Ecosystem type drives soil eukaryotic diversity and composition in Europe



- Landgebruik en landgebruiksveranderingen bepalen samenstelling bodembioom; ook 'legacy effecten'
- **Intensiteit van bodembewerking** heeft zeker ook een effect op bodembioom (uit brede literatuur: afnemende bodembiodiversiteit bij toenemende landgebruiksintensiteit (Schulz et al., 2019; Tsiapouli et al., 2015; Van Eekeren et al., 2008))
- Köninger et al. 2023, 2026 vond op basis van eDNA metabarcoding juist hogere diversiteit aan fungi, protisten, nematoden, arthropoden, en anneliden in akkers, graslanden dan in bossen
- Bodemlevensgemeenschappen in akkers doorgaans wel 'homogener' vergeleken met andere ecosystemen

European soil observatory (EUSO) en de Soil Monitoring Law (SML)

Soil Health dashboard

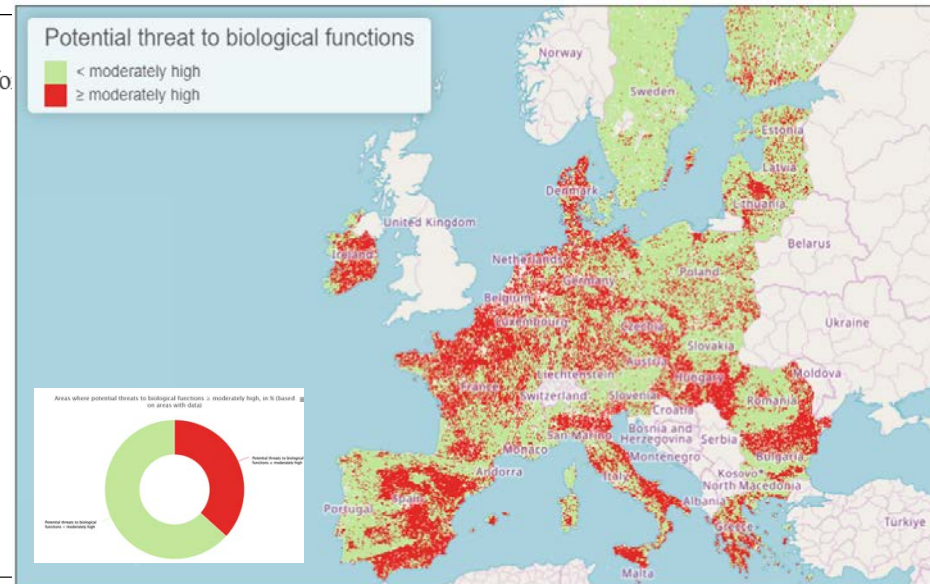
SML vraagt:

Loss of soil biodiversity

DNA metabarcoding for fungi and bacteria

Member States may also select at least one optional soil descriptor for

- metabarcoding of archaea, protists and animals
- phospholipid fatty acid analysis (PLFA)
- abundance and diversity of nematodes
- abundance and diversity of earthworms
- abundance and diversity of springtails
- abundance and diversity of native ants
- soil biological quality based on arthropods (QBS-ar)
- presence of invasive alien species and plant pests
- soil basal respiration

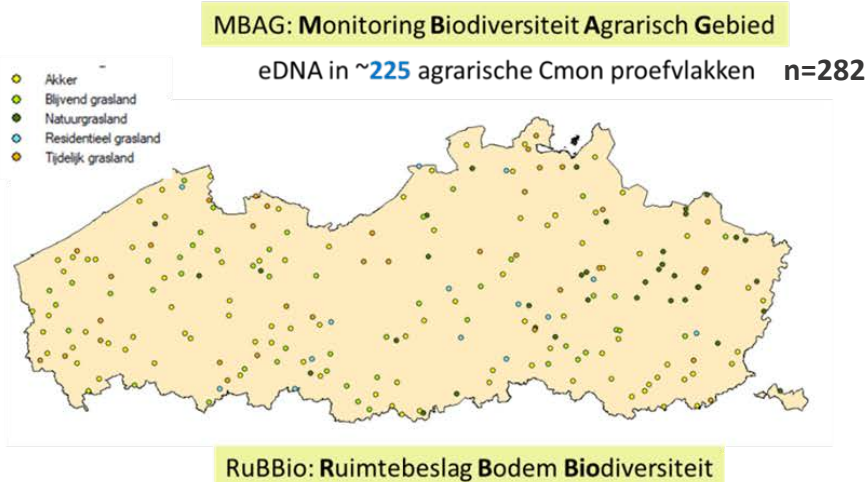
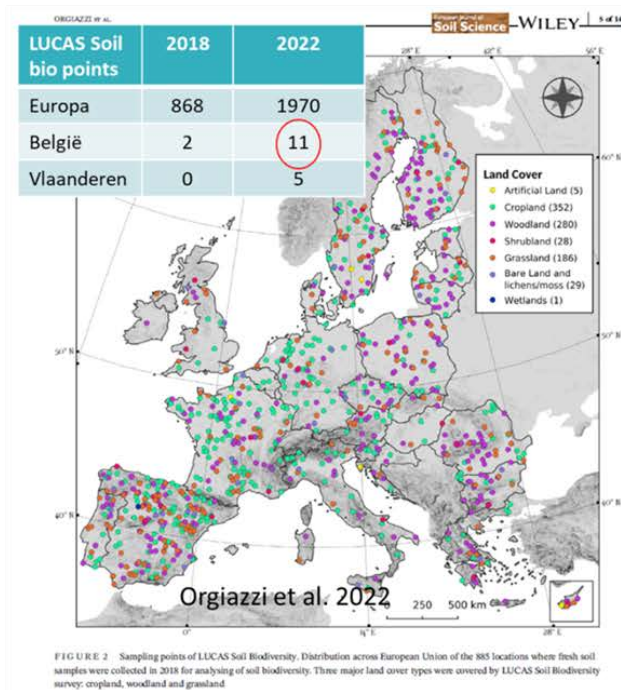


Webtools • EC-GISCO • Leaflet | OpenStreetMap contributors | Disclaimer

<https://esdac.jrc.ec.europa.eu/esdacviewer/euso-dashboard/>

Europees LUCAS vs. Vlaams bodemmeetnet

Monitoring biologische bodemkwaliteit



DepOmg project: eDNA in ~150 residentiële bodems (Cmon):
parken & recreatiegebieden, tuinen, wegbermen, ...

Voor Vlaams bodembeleid en -beheer volstaan de LUCAS biopoints niet !

Doelstellingen MBAG Bodembiodiversiteit

- Uitwerken van **bodemmonitoringskader** voor bodembiodiversiteit in het landbouwgebied
- Focus op **landgebruikstypes akker en grasland** volgens gradient intensief->extensief bodemgebruik
- Bepalen **baseline (T0)** van **toestand** bodembiodiversiteit per landgebruikstype
- **Methodologie** om tot baseline te komen
 - bijdragen aan optimalisatie van een **Europees staalname- en analyseprotocol** voor **eDNA metabarcoding** van bodem (gebaseerd op LUCAS, SoilBon, literatuur)
 - nagaan informatie-inhoud **bemonsteringdieptes** (strooisellaag, 0-10 cm, 10-30 cm)
 - uitwerken draaiboek volledige **eDNA metabarcoding workflow** (in samenwerking met ILVO)
 - testen en selectie van groepspecifieke primers voor samenstelling **optimale primerset**
 - uitwerken **statistische tools & bioinformatica** voor verwerking moleculaire data
- Verkennen van robuuste **indicatoren** bodembiodiversiteit
- **Operationaliseren** van een Vlaams **toestandsmeetnet** voor bodembiodiversiteit

Cmon toestandsmeetnet

Akker en tijdelijk grasland →
Blijvend grasland →

Natuurgrasland →

Residentieel grasland →



MBAG

Focus op
agrarische
landgebruikstypes
akker en grasland

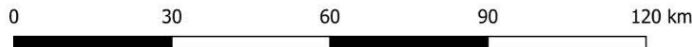
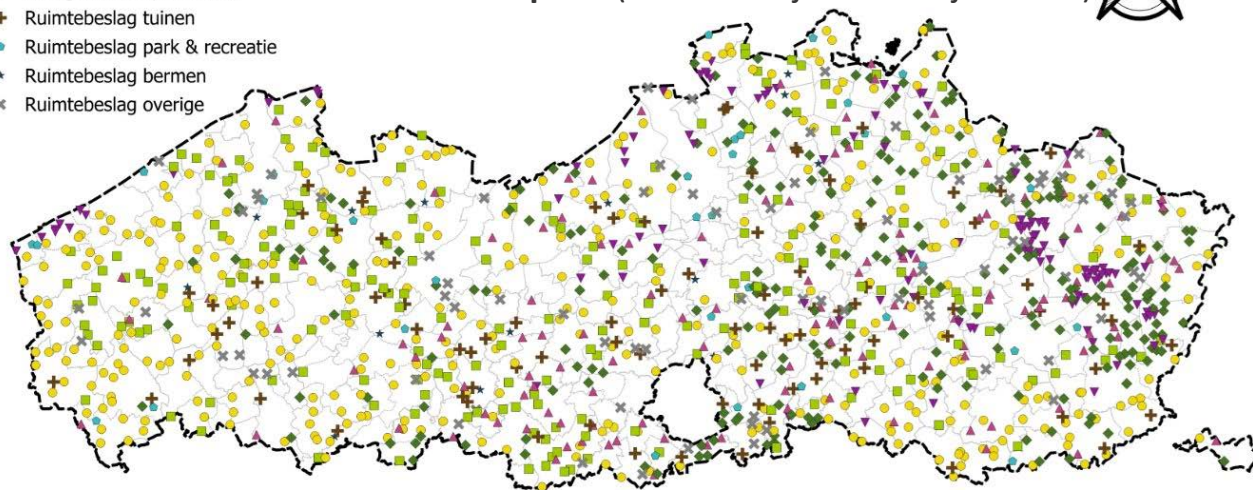
Landgebruik

- Akker
- Blijvend grasland
- ◆ Bos
- ▲ Grasland buiten landbouw
- ▼ Niet-grasland open natuur
- ✚ Ruimtebeslag tuinen
- Ruimtebeslag park & recreatie
- ★ Ruimtebeslag bermen
- ✖ Ruimtebeslag overige

Bemonsterde Cmon locaties (2026)

Totaal: 1268 plots waarvan 563 agrarisch (44%)

MBAG: 282 plots (staalname jan 2022 - juli 2024)



Agrarische landgebruiken uit Cmon meetnet

Intensiteit bodemgebruik



Akker

n=89



Tijdelijk
grasland

n=35



Blijvend
grasland

n=48



Residentieel
grasland
(park)

n=64



Natuur
grasland

n=46

Gekende metadata voor stratificatie:

- exacte coördinaten (10x10 m plot), plotfoto's
- landgebruik & vegetatie
- bodemtype
- fysische bodemvariabelen: textuur, bodemdichtheid
- chemische: pH, C en N voorraad, C:N, NIRS spectrum



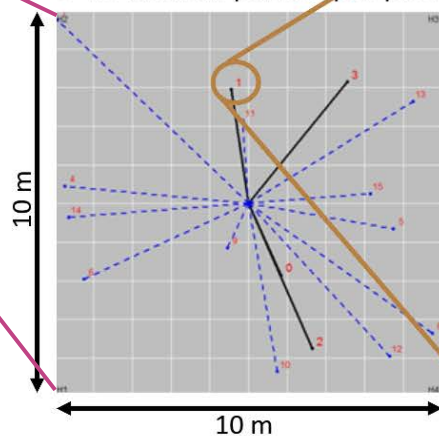
Vlaanderen
is wetenschap

Selectie eDNA stalen uit Cmon meetnet

Cmon staalnames

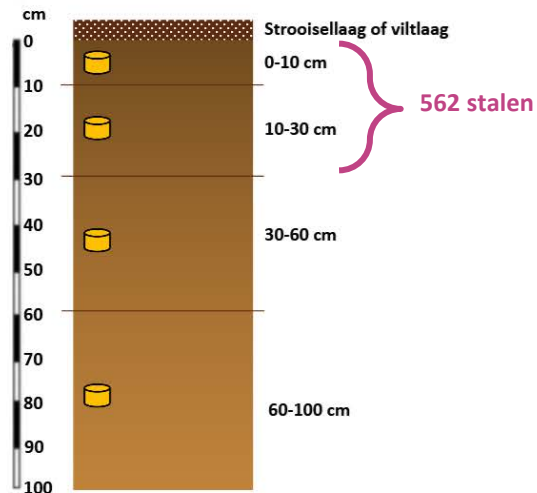
- Akkers & graslanden **ILVO**
- Natuur- & residentiële graslanden: **INBO**

► Proefvlak $10 \times 10 \text{ m}^2$
→ 16 random punten per plot



► 4 staalnamelagen

- Ongeroerde stalen voor bodemdichtheid
- Geroerde stalen voor bodemanalyses



eDNA metabarcoding workflow

2 types staalvoorbehandeling

Type 1(standaard)

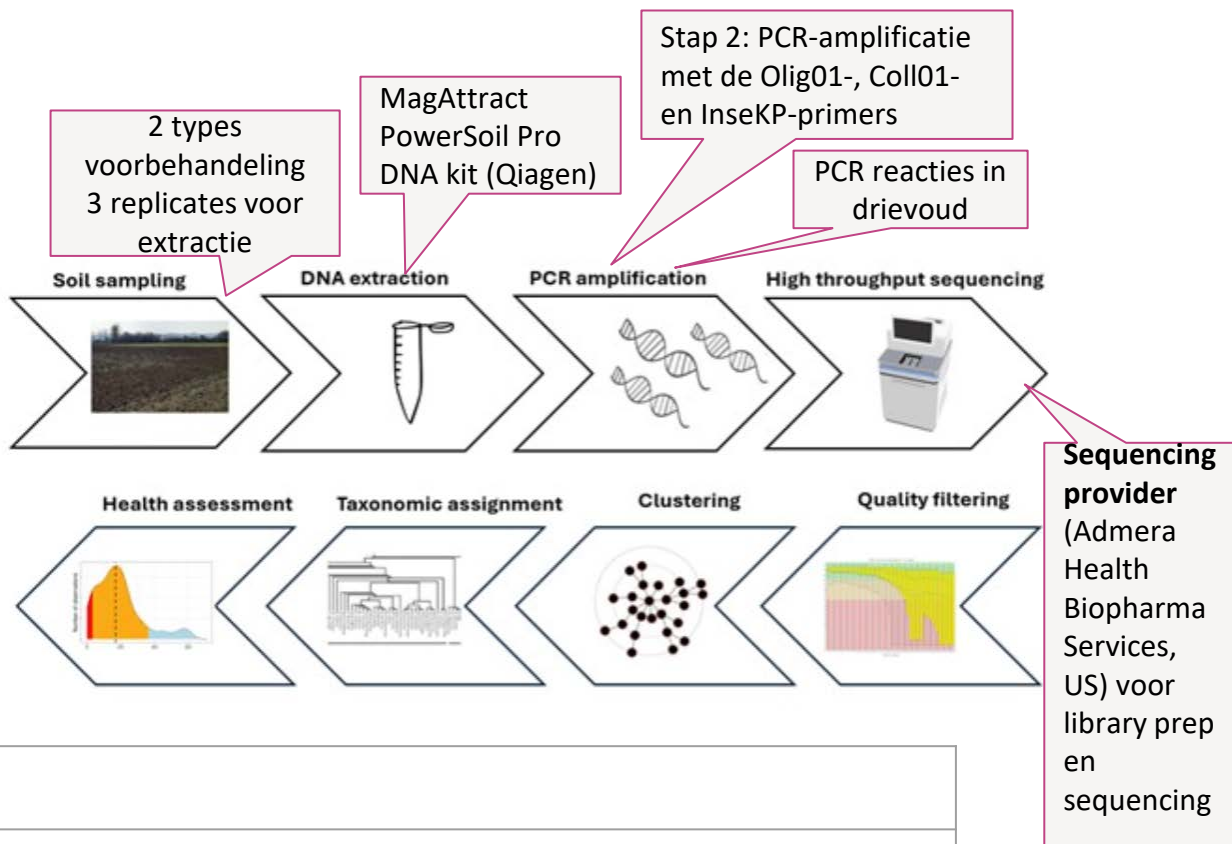
Zonder voorbehandeling met fosfaatbuffer en **met lysis** (PCR-amplificatie met de 18S-primers, ITS-, nematoden- en bacteria-primers)

0.25 g bodemstaal

Type 2

Voorbehandeling met **fosfaatbuffer** en **zonder lysis** om voornamelijk te focussen op het **extracellulaire DNA** dat **grotere organismen** achterlaten (Taberlet et al.2012b)

20 g bodemstaal



2 types nematoden extractie

nema-eDNA: DNA rechtstreekse extractie uit bodem

nema-extract, waarbij nematoden eerst uit verse bodemstalen werden verzameld met behulp van een AZC ('Automated Zonal Centrifuge')

Bioinformatica en statistische analyse

Doelgroepen

Bacteriën



Fungi



Springstaarten



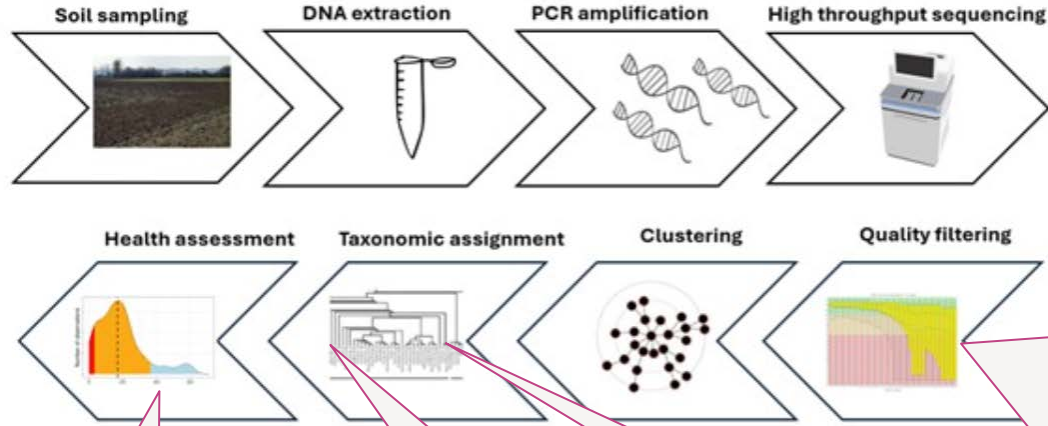
Aaltjes



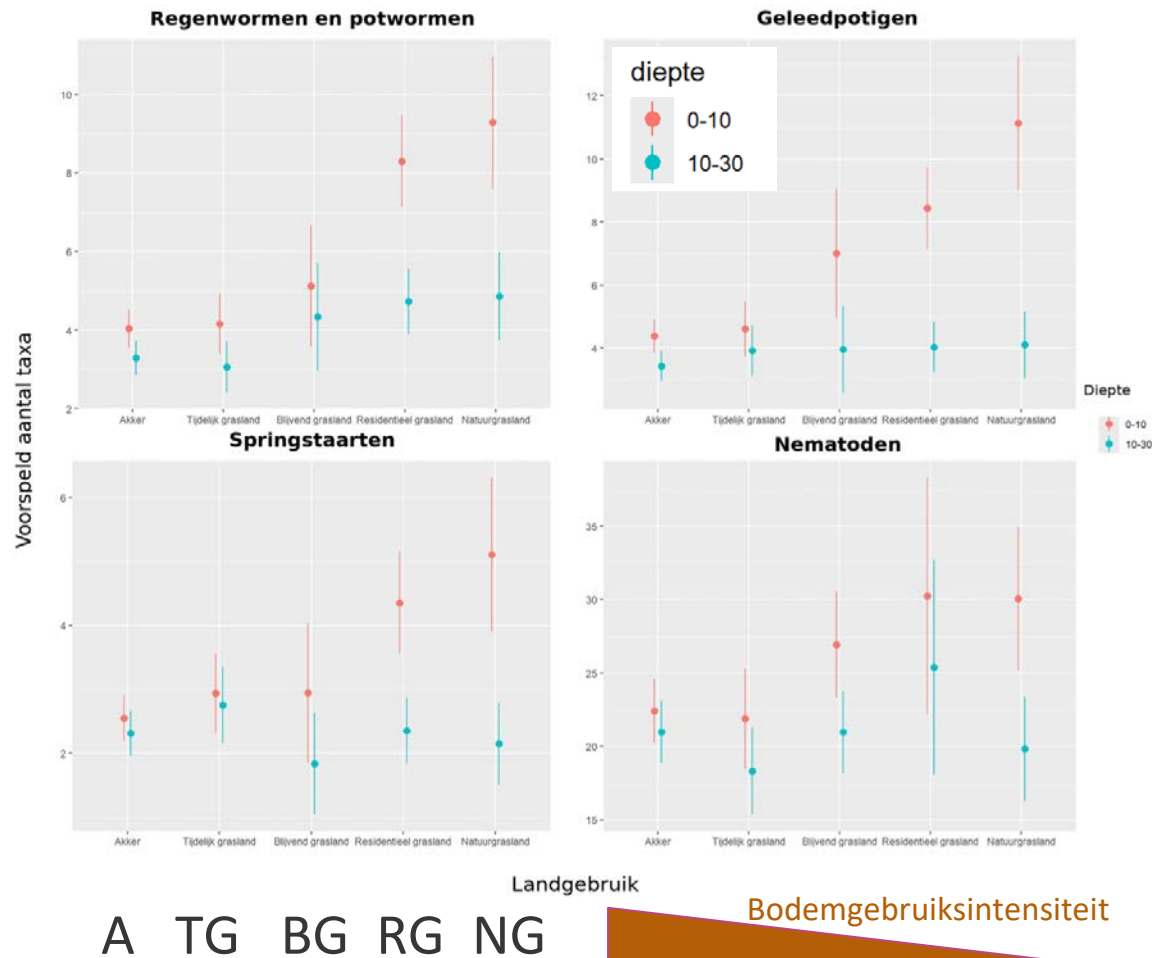
Insecten



Wormen



Soortenrijkdom per landgebruik en bodemdiepte

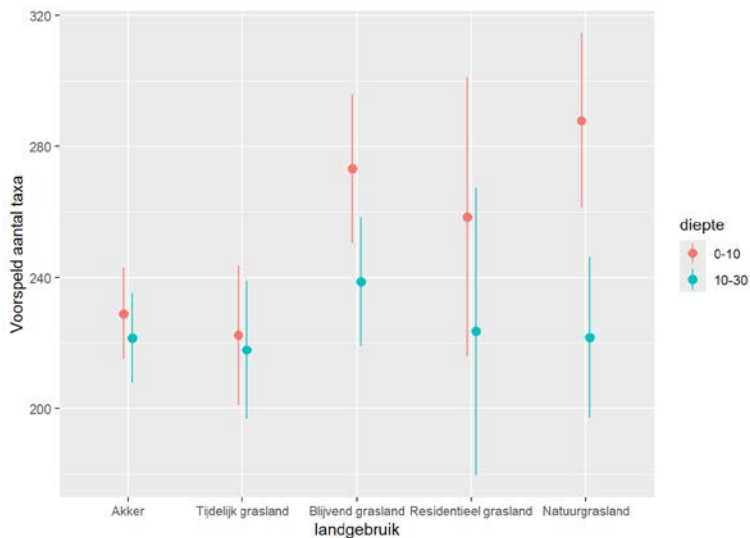


- **Significant verschil tussen landgebruikstypes** Akker (A); tijdelijk grasland (TG), Blijvend grasland (BG), Residentieel grasland (RG) en Natuurgrasland (NG) **voor 0-10 cm laag**
- Door **bodembewerking** geen verschil tussen dieptelagen in A en TG
- **Soortenrijkdom neemt toe** naarmate de bodems minder intensief werden gebruikt
- **Shannon-diversiteit neemt ook toe** richting minder intensief bodemgebruik, maar enkel significant voor regenwormen en nematoden
- **Natuurgraslanden** vertonen het **hoogste aantal unieke gedetecteerde soorten**. Gemiddeld werd 12% van de regenwormen en potwormen, 9% van de springstaarten, en 26% van de geleedpotigen alleen in natuurgraslanden aangetroffen

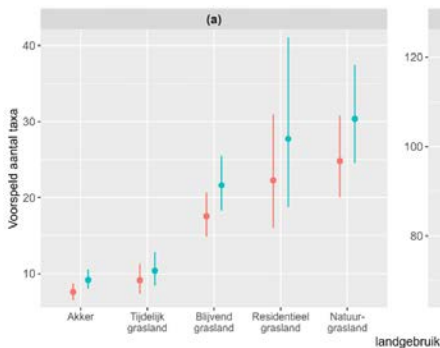
Significante verschillen soortenrijkdom in 0-10 cm laag ten opzichte van akker en tijdelijk grasland

Landgebruikstype	Taxonomische groep	versus Akker (x)	versus Tijdelijk grasland (x)
Natuurgrasland	Geleedpotigen	2,5x	2,4x
	Regenwormen en potwormen	2,3x	2,2x
	Springstaarten	2,0x	1,7x
	Nematoden	1,3x	1,4x
	Schimmels	1,3x	1,3x
Blijvend grasland	Geleedpotigen	1,6x	-
	Schimmels	1,2x	1,2x
Residentieel grasland	Geleedpotigen	1,9x	1,8x
	Regenwormen en potwormen	2,1x	2,0x
	Springstaarten	1,7x	1,5x

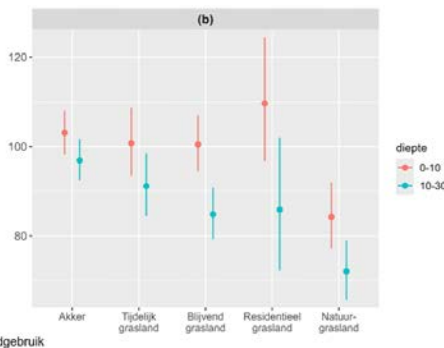
Soortenrijkdom schimmels



Mycorrhiza

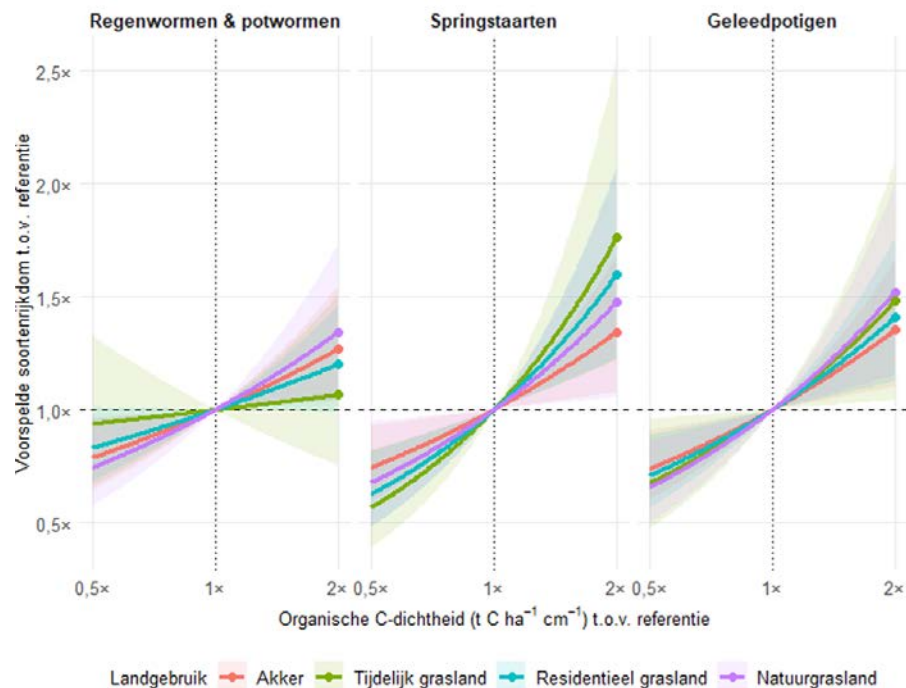
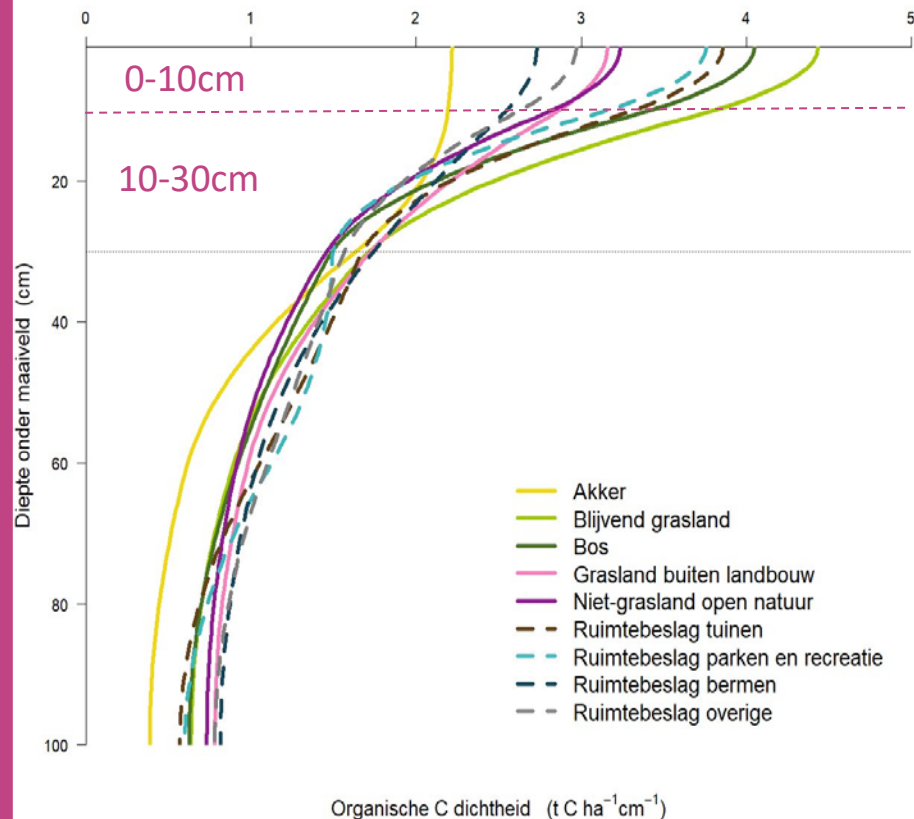


Plantpathogene schimmels



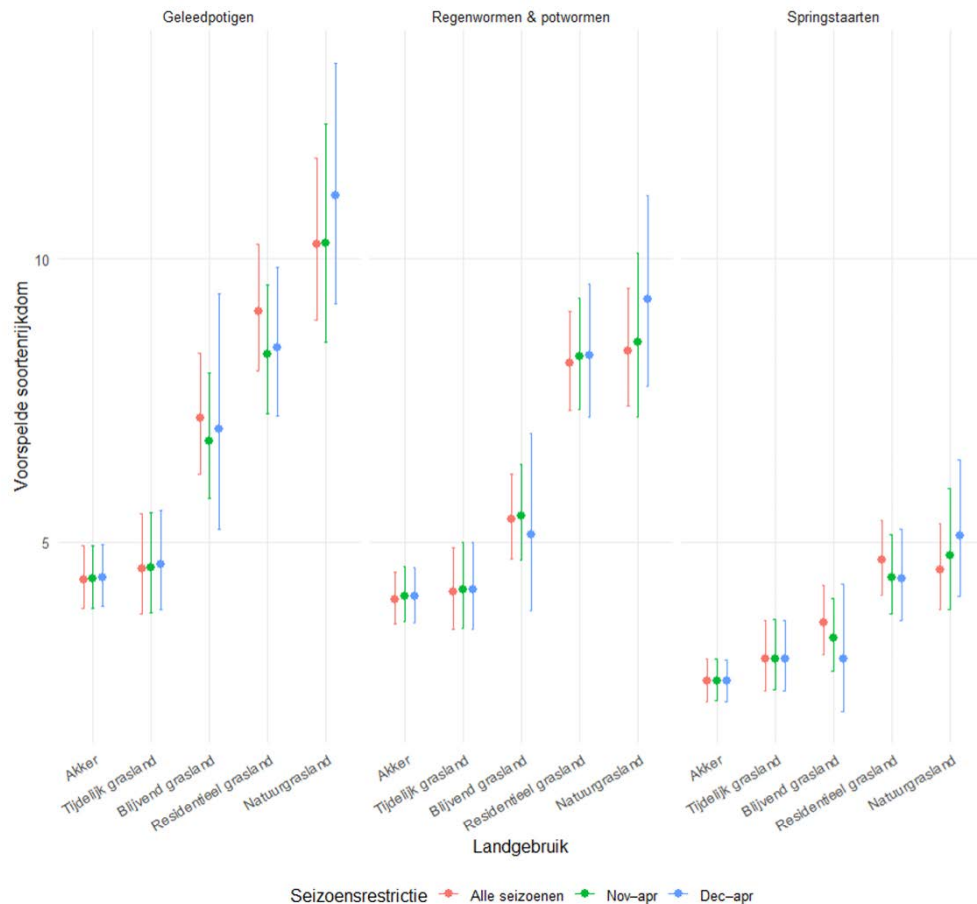
- In BG, RG en NG hogere soortenrijkdom aan fungi dan A en TG (conform Banerjee et al 2024 paper)
- Soortenrijkdom & Shannon index neemt toe naarmate de bodems minder intensief werden gebruikt
- Weinig **significante verschillen tussen bodemdieptes** (enkel in NG)
- Bij lagere bodemgebruiksintensiteit neemt rijkdom aan mycorrhiza toe en aan plantpathogene schimmels af
- De balans tussen mutualisten (mycorrhiza's) en pathogenen kan gebruikt worden als **indicator voor een gezonde of eerder verstoorde bodemfunctionaliteit van fungi**.

Verband koolstofdichtheid en soortenrijkdom



Vlaanderen
is wetenschap

Impact van landgebruik: seizoenseffect ?



- In **Cmon** worden akkers voornamelijk bemonsterd in de winter en het voorjaar (weinig of geen gewassen), terwijl blijvende graslanden vooral in de herfst werden bemonsterd
- **Sensitiviteitsanalyse** heeft aangetoond dat de vastgestelde seizoensmatige onevenwichtigheid in bemonstering de **vergelijkingen tussen landgebruikstypes voor soortenrijkdom niet vertekent**.
- Ook het **diepte-effect bleef consistent** over de seizoenale restricties heen
- Ook globale **effect van koolstofdichtheid bleef robuust** bij beperking van de data tot november–april en december–april.

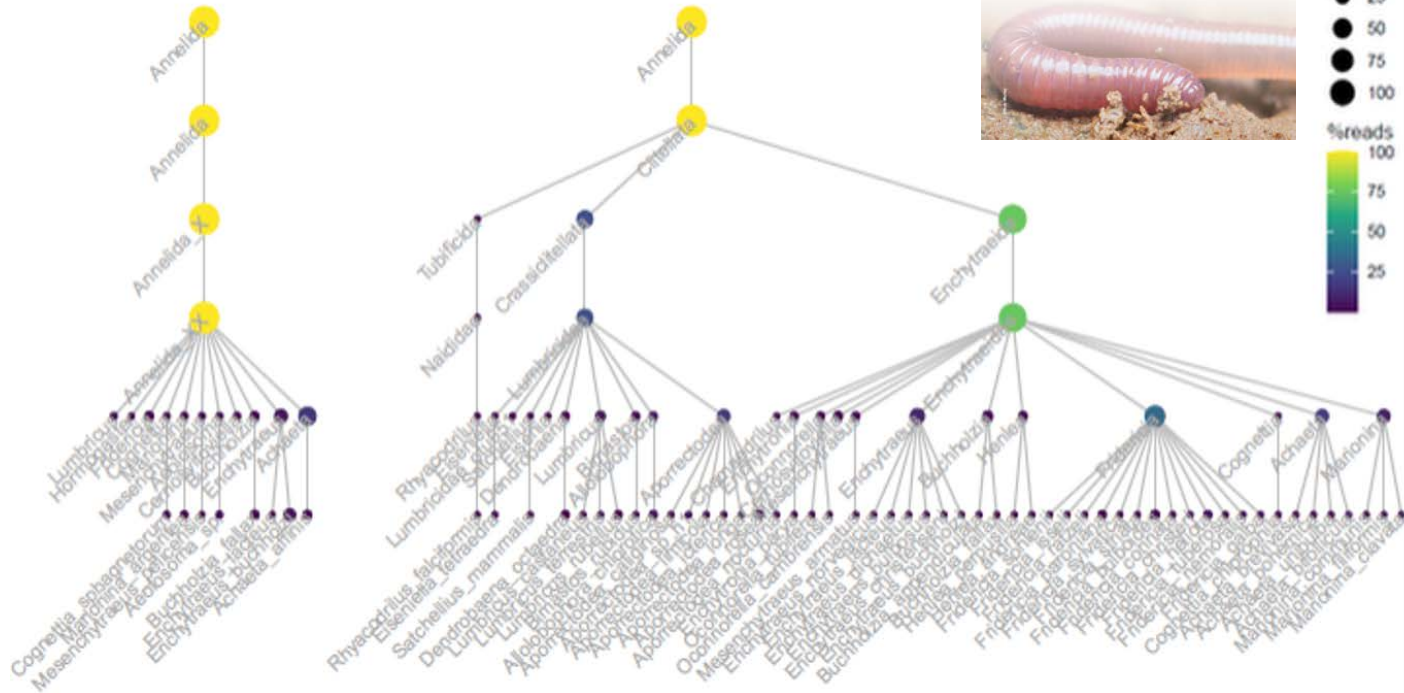
Belang moleculair analyse protocol: keuze primers (uit LUCAS Belgium studie)

18S universal primer

A

B

Specifieke primer



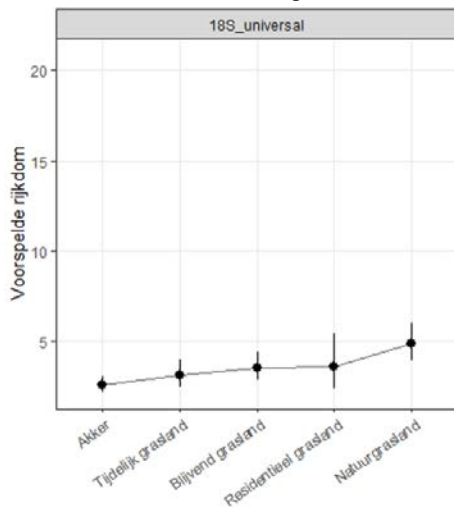
INBO (B) detecteert **12 genera en 46 soorten** die met de **europese aanpak (A)** gemist worden, inclusief **2e meest abundante genus** en **4 van de 5 meest abundante soorten**.

Taxonspecifieke primers presteren beter dan de universele merker

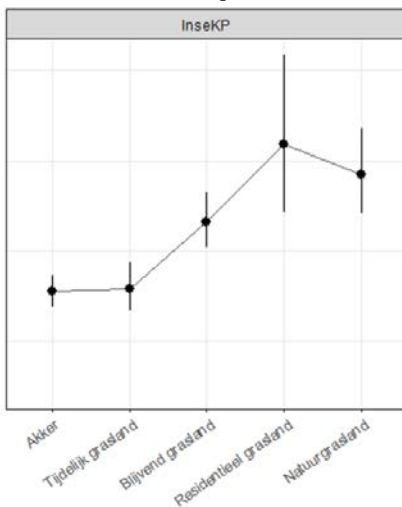
- Universele 18S primer **reproduceert het algemene landgebruikspatroon**: toename van soortenrijkdom naarmate de landgebruiksintensiteit afneemt.
- De **InseKP-primer** gaf echter consequent **hogere schattingen van de soortenrijkdom** dan de universele 18S-primer, en maakte de **verschillen tussen landgebruikstypes duidelijker zichtbaar**

Wormen en springstaarten

Universele primer

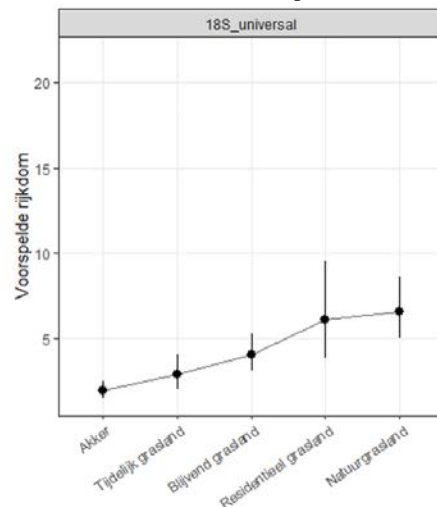


InseKP primer

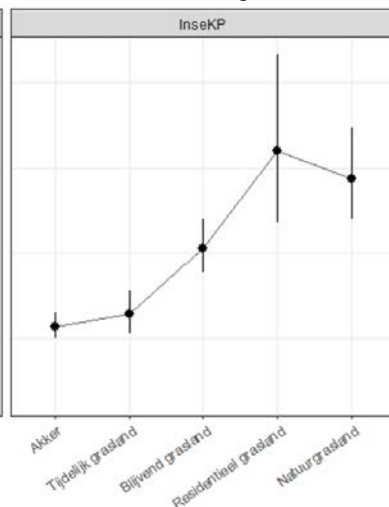


Geleedpotigen

Universele primer

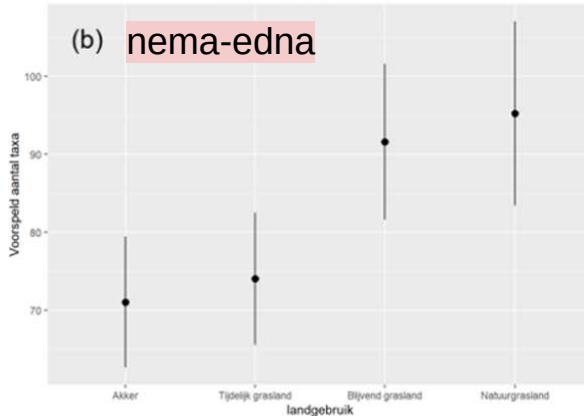
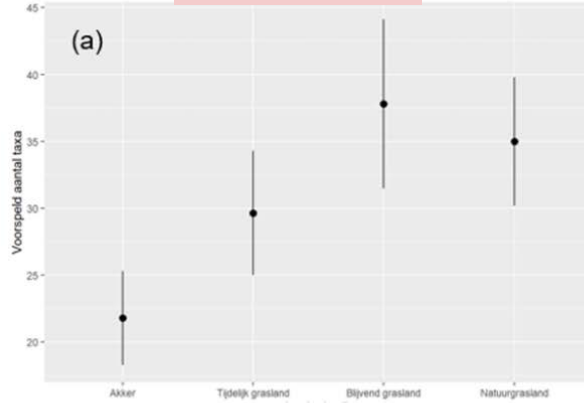


InseKP primer

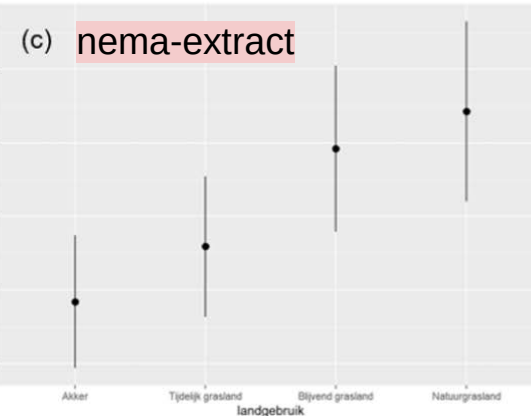


Protocol Nematoden

18S universeel



levende + dode gemeenschap



levende gemeenschap

- De drie methodes **detecteren consistente en significante verschillen in soortenrijkdom tussen landgebruiken**
- In sterk contrast tot de resultaten voor andere groepen toonde **de 18S-universele methode voor nematoden de sterkste verschillen in soortenrijkdom tussen landgebruiken**
- Absolute voorspelde aantal Nematoda-OTUs bij de 18S-universele methode **ligt duidelijk lager** dan bij de nematoden specifieke analysemethoden
- Nematoden extractie (**nema-extract**) door centrifugatie geeft wel het **hoogst aantal voorspelde taxa** en laat toe **een groter aandeel van de taxa tot op genus niveau te determineren (hogere precisie)**
- Functionele nematoden indices berekend volgens edna of extract verschillen !**

Aanbevelingen eDNA bodembiodiversiteitsmonitoring

1. Focus op de bovenste minerale bodemlaag (0-10 cm)

- *Grotere soortenrijkdom en dus beter onderscheidingsvermogen tussen sites & landgebruiken*
- *eDNA data uit 10–30 cm laag heeft beperkte meerwaarde voor meeste groepen*

2. Gebruik specifieke primer sets voor indicator taxa

- Universele eukaryoten primers hebben grote amplificatie bias en beperkte taxonomische resolutie voor meso- en macrofauna

3. Gebruik geoptimaliseerde DNA-extractie methoden

- *De fosfaatbuffer methode laat toe grotere hoeveelheden bodemstaal (>20 g) te gebruiken voor DNA extractie, wat absoluut nodig blijkt voor meso- en macrofauna.*
- *Voor micro-organismen volstaat standaard 0,25 g bodem*

4. Zet parallel meerdere groep-specifieke primers voor Eukaryoten in

- *Nieuw ontwikkelde primers (Terr_EPTDr2n/inseKP) gebruikt in deze studie presteren beter dan universele primers voor regenwormen, potwormen, geleedpotigen, inclusief springstaarten*
- *18S universele primers leveren bruikbare patronen in soortenrijkdom op voor nematoden, protisten, en schimmels*

Aanbevelingen eDNA bodembiodiversiteits monitoring

5. Test mogelijks effect van staalnametijdstip (seizoen) van het gebruikte meetnet

- *Samenhang staalnametijdstip en (agrarisch) landgebruik in Cmon meetnet heeft een verwaarloosbaar effect op de soortenrijkdom (en Shannon-index) voor meso- en macrofauna*
- *Voor bacteriën en schimmels kan het staalnametijdstip mogelijks wel een effect hebben, maar dit kon binnen MBAG niet aangetoond worden. Na te gaan voor de LUCAS en SML rapportering.*

6. Bepaal functionele schimmelgroepen als aanvulling op taxonomische rijkdom

- *Uit verhouding mycorrhiza- vs. plantpathogene fungi (of mutualistische in plaats van pathogene interacties) kan interessante informatie over de bodemgezondheid verkregen worden*

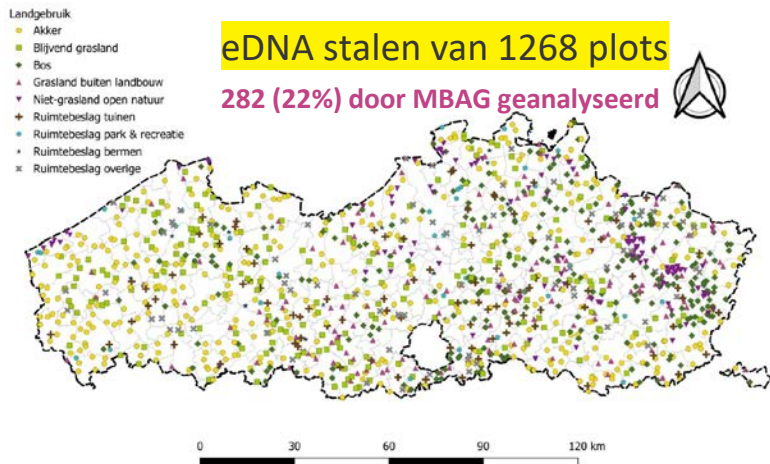
7. Selecteer (ook) bodemgezondheids-indicatorsoorten uit meso- and macrofauna

- *Meso- en macrofauna zijn interessante indicatorgroepen voor bodemgezondheid naast micro-organismen doordat ze veranderingen in bodemmilieu en landgebruik over langere tijd weten te integreren.*

8. Link het bodembiodiversiteitsmeetnet aan een meetnet voor fysico-chemische bodemdescriptoren en milieuvariabelen zodat relatie abiotiek-biotiek kan onderzocht worden

Toekomstperspectieven eDNA bodemmonitoring

- Bij **verderzetting Cmon staalname**: bijhouden ingevroren eDNA stalen
- Stalen ontsluiten in het kader van gerichte studies (zoals MBAG en RuBBio)
- Mogelijkheden:
 - Europese, federale en Vlaamse onderzoeksprojecten
 - Samenwerking universiteiten: FWO postdocs, doctoraten
- Grote voordeel: ook **basis bodemdata beschikbaar**: textuur, bulkdichtheid, pH, C, N, NIRS spectrum; directe link met Digital Soil Model van DOV



Actueel aantal plots met gearchiveerde eDNA bodemstalen (2 stalen per plot)

Landgebruik	Beschikbaar	MBAG ontsloten
Akker	364	89 (24%)
Tijdelijk grasland		35
Blijvend grasland	199	47 (24%)
Residentieel grasland	123	64 (52%)
Natuurgrasland	122	46 (38%)

LUCAS 2027 soil survey : Belgische 'biopoints'

Soil biodiversity sampling – 2,000 points

Clean the material with alcohol and wear gloves during sampling

In all land covers except woodlands

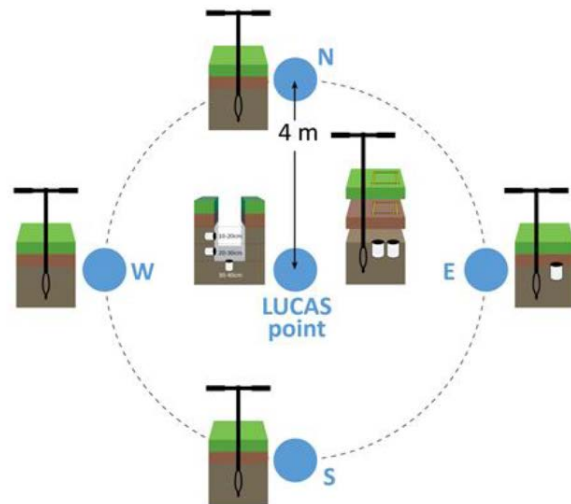
- Take 500 g (about 5 heaped trowels) from the standard sample made of 5 sub-samples (0 – 30 cm in mineral layer collected with the auger)



In woodlands

- 300 g (three trowels) of the mineral layer from the standard sample made of 5 sub-samples
- 300 g of the organic layer from the composite sample made of 5 sub-samples
- Keep them in two different bags

Samples need to be kept fresh (e.g., polystyrene box and ice blocks) and sent (in cold conditions) to the JRC for proper storage at -20 °C.



- staalname op LUCAS 2027 biopoints (n~10) volgens Cmon staalnameschema
- gebruik van Vlaamse en internationale moleculaire analyseprotocollen=> cross validatie
- mogelijkheden uitbouw Belgisch bodembiodiversiteitsmeetnet (3 SML soil districts)
- benchmarking met Europese biodiversiteitsdata

Wat kost eDNA-bodem metabarcoding ?

Bacteriën en Fungi of Arthropoda en Annelida

Richtprijs: ~€150–200 per staal incl. btw

Voor middelgrote tot grotere projecten (>200 stalen). Bij projecten met minder stalen ligt de prijs per staal hoger, omdat een belangrijk deel van de bio-informatica en taxonomische verwerking eerder een vaste kost per project is en minder afhankelijk van het aantal stalen.

Inbegrepen

Niet

Inbegrepen

- labo-analyse
- bio-informatica
- taxonomische identificatie
- standaard data-oplevering
- overhead (20% op INBO)
- projectspecifieke statistische analyse
- wetenschappelijke rapportering

Data Management Plan MBAG Module Bodembiodiversiteit

- **Datapublicatie**, volgens **FAIR** en het **Open Data/Access** beleid van het INBO

- **Taxonomische informatie** zal gestockeerd worden in GBIF en  **VLAAMS BIODIVERSITEITSPORTAAL**

- **Moleculaire data** gaat naar  of GENBANK

- Link met [Databank Ondergrond Vlaanderen](#) (DOV) voor de Cmon bodemdata
- **Zenodo datapublicaties** (onder embargo tot verschijnen A1 paper)
- **Rapport MBAG**: <https://doi.org/10.21436/inbor.147396326>
- **A1 paper** op basis van MBAG bevindingen

Meer informatie



 **Vlaamse
overheid**

**Vinger aan de pols
van de biodiversiteit
in het landbouwgebied**

Meetnet Biodiversiteit Agrarisch Gebied

Myriam Dumortier, Peter Van Gossum, Emma Cartuyvels, Robbe Cool, Silke De Backer, Berdien De Beer, Jane Debode, Adinda De Bruyn, Io Deflem, Steven De Saeger, Simon Desmet, Bruno De Vos, Aalke De Wever, Nick Dillen, Rémar Erens, Maria-Rose Eves Down, Frederic Gabrys, Robin Guelinckx, Annelies Haegeman, Stien Heremans, Johannes Jansen, Sam Lambrechts, Ward Langeraert, Mieke Lateir, Kevin Maebe, Falk Mielke, Sarah Ommeslag, Frederic Piesschaert, Marc Pollet, Karen Puttemans, Cecilia Sensalari, Toon Spanhove, Lieze Valvekens, Hans Van Calster, Frank Van de Meutter, Floris Vanderhaeghe, Sanne Van Donink, Wouter Van Gompel, Nicolas Van Overmeeren, Kato Vanpoucke, Petra Vijncke, Karen Wuyts

INBO.be

Dank aan MBAG medewerkers:

Cmon bodemstaalnames:

Tommy D'Hose (ILVO) en veldmedewerkers ILVO: Luc De Jaegher, Erwin Declerck

Suzanna Lettens (INBO) en staalnemers Wouter Sturtewagen, Sander Van de Perre

Moleculaire Labo analyses

Berdien De Beer (INBO)

Silke De Backer (INBO)

Sam Lambrechts (INBO)

Kristof Maenhout (ILVO)

Sarah Ommeslag (ILVO)

Bio-informatica

Nick Dillen (INBO)

Sam Lambrechts (INBO)

Silke De Backer (INBO)

Cecilia Sensalari (INBO)

Io Deflem (INBO)

Lieze Valvekens (ILVO)

Annelies Haegeman (ILVO)

Data analyse

Sam Lambrechts, Hans Van Calster, Bruno De Vos

Rapportering

Sam Lambrechts, Bruno De Vos, Myriam Dumortier

Vragen ? Bedenkingen ? Suggesties ?

