

Pestizidrückstände verändern die taxonomische und funktionelle Biodiversität in Böden

J. Köninger, M. Labouyrie, C. Ballabio, O. Dulya, V. Mikryukov, F. Romero, A. Franco, M. Bahram, P. Panagos, A. Jones, L. Tedersoo, A. Orgiazzi*, M. J. I. Briones* & M. G. A. van der Heijden*

*Korrespondenz

Pestizide sind in Böden weit verbreitet, doch ihre Auswirkungen auf die Bodenbiodiversität sind bislang nur unzureichend verstanden. Hier untersuchten wir die Effekte von 63 Pestiziden auf Archaeen, Bakterien, Pilze, Protisten, Nematoden, Arthropoden sowie auf zentrale Gruppen funktioneller Gene an 373 Standorten in Wäldern, Grasländern und Ackerflächen in 26 europäischen Ländern. Pestizidrückstände wurden an 70% der Standorte nachgewiesen und erwiesen sich – nach Bodeneigenschaften – als zweitstärkster Einflussfaktor für Muster der Bodenbiodiversität. Unsere Analysen zeigten zudem organismen- und funktionsspezifische Muster und unterstreichen damit komplexe und weit verbreitete Nicht-Zielorganismen-Effekte auf die Bodenbiodiversität. Pestizide veränderten mikrobielle Funktionen, darunter Phosphor- und Stickstoffkreisläufe, und unterdrückten nützliche Taxa, darunter arbuskuläre Mykorrhizapilze sowie bakterivor lebende Nematoden. Unsere Ergebnisse verdeutlichen die Notwendigkeit, funktionelle und taxonomische Merkmale künftig stärker in die Methodik der Risikobewertung zu integrieren, um die Bodenbiodiversität – eine Grundlage des Ökosystemfunktionierens – zu schützen.

Das Leben im Boden ist entscheidend für zentrale Ökosystemfunktionen und -leistungen wie Nahrungsmittelproduktion, Kohlenstoffspeicherung, Erosionsschutz und Wasserregulation. Böden beherbergen nahezu 59% der Biodiversität der Erde und fungieren zugleich als Senken für Schadstoffe wie Pestizide, die oberirdisch ausgebracht werden. Diese Pestizide können abhängig von ihren chemischen Eigenschaften sowie den Adsorptions- und Absorptionskapazitäten des Bodens über lange Zeiträume im Boden verbleiben. Eine jüngste paneuropäische Studie (LUCAS Soil 2018) fand in 87% der 3.473 untersuchten Standorte mindestens einen Pestizidrückstand; an 46% dieser Standorte lagen Konzentrationen über $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$.

Mehrere Studien haben negative Effekte von Pestiziden auf die oberirdische Biodiversität gezeigt, insbesondere bei Vögeln, Bienen und anderen Insektentaxa. Im Gegensatz dazu sind vergleichbare Bewertungen der Pestizidwirkungen auf Bodenlebensgemeinschaften selten, obwohl Bodenorganismen eine zentrale Rolle in Ökosystemfunktionen einschließlich des Pestizidabbaus spielen. Frühere Arbeiten zeigen etwa negative Effekte auf Häufigkeit und Diversität von Nicht-Zielorganismen wie Bodenwirbellosen (z. B. Regenwürmern) und arbuskulären Mykorrhizapilzen (AMF), während andere Studien positive Effekte auf Pestizid-abbauende Organismen berichteten. Diese Studien waren jedoch räumlich begrenzt (häufig einzelne Länder oder bestimmte Agrarsysteme), fokussierten auf ausgewählte Bodenbiota und berücksichtigten nur wenige Wirkstoffe. Daher sind die Effekte mehrerer Pestizide auf komplexe Bodenlebensgemeinschaften in großen geographischen Maßstäben und über verschiedene Ökosystemtypen hinweg bislang nicht adressiert worden – werden aber dringend benötigt, um Biodiversität unter Pestiziddruck besser bewerten zu können.

Diese Wissenslücke hängt auch damit zusammen, dass nur wenig quantitative Information zu Pestizidanwendung, Dosierung, Häufigkeit und verbleibenden Rückständen im Boden verfügbar ist. Zudem konzentrieren sich regulatorische Bewertungen meist auf Einzelstoffe, getestet an wenigen wirbellosen Modellarten (z. B. *Eisenia fetida*, *Caenorhabditis elegans*, *Folsomia candida*) und auf spezifische Endpunkte wie Mineralisierung und Stickstoffumwandlung (bei Mikroben z. B. Nitrifikation), ohne ein

breites Spektrum an Feldbedingungen sowie Langzeitexpositionen zu berücksichtigen. Dadurch sollten die umfassenderen ökologischen Auswirkungen der Pestizidnutzung auf das Bodenleben in künftigen Risikobewertungen besser abgebildet werden – hin zu einem ganzheitlicheren Ansatz.

Diese Studie liefert eine europaweite Bewertung der Auswirkungen von Pestizidrückständen, ihren Wirkstoffen und Metaboliten (im Folgenden „Pestizide“) auf die Bodenbiodiversität in Europa (EU und UK). Ausgehend von der dokumentierten Rolle von Pestizidkonzentrationen für Bodenbiota im kleineren Maßstab untersuchten wir ihre Effekte auf Archaeen, Bakterien, Pilze, Protisten, Nematoden und Arthropoden im kontinentalen Maßstab anhand von Felddaten aus 373 Standorten über mehrere europäische Landschaftstypen hinweg (jährliche Ackerkulturen, Dauerkulturen, ehemalige Ackerflächen, die kürzlich in Grasland umgewandelt wurden, extensives Grasland und Wälder). Zusätzlich bewerteten wir die Reaktionen von neun funktionellen Gruppen der Bodenbiota auf Pestizide anhand ihrer ökologischen Rollen: archaeale Nitrifizierer, bakterielle Chemoheterotrophe, bakterielle Stickstofffixierer, AMF, pilzliche Pflanzenpathogene, (tierische und pflanzliche) parasitische Protisten sowie bakterivore und herbivore Nematoden. Schließlich untersuchten wir biologische Reaktionen auf Pestizide bei 48 Gruppen funktioneller Gene, die in Kohlenstoff- (C), Stickstoff- (N) und Phosphorkreisläufe (P) eingebunden sind (z. B. mineralische N-Transformationen, die N-Verluste durch Auswaschung und Treibhausgasemissionen regulieren). Alle in dieser Studie untersuchten taxonomischen und funktionellen Gruppen werden im Folgenden zusammenfassend als „Bodenbiodiversität“ bezeichnet.



Abb. 1 | Konzeptuelles Diagramm zur Untersuchung der Auswirkungen von Pestiziden auf die Bodenbiodiversität.

Unter Verwendung der aus generalisierten linearen Modellen (GLMs) gewonnenen Informationen – einschließlich Pestizidkonzentrationen, Bodeneigenschaften, Klima und Ökosystemtypen – untersuchten wir:

- (1) die Auswirkungen von Pestiziden auf die Bodenbiodiversität (taxonomische Diversität, funktionelle Gruppen und funktionelle Gene);
- (2) den Beitrag von Pestiziden zur Variation der Bodenbiodiversität im Vergleich zu Umweltvariablen; sowie
- (3) Spillover-Effekte und umfassendere ökologische Auswirkungen von Pestiziden durch den Vergleich von Analysen, die auf Ackerflächen durchgeführt wurden, mit Analysen aller Ökosystemtypen.

Ergänzende Analysen identifizierten, welche Umweltbedingungen mit der Persistenz einzelner Pestizide im Boden in Zusammenhang stehen könnten – unter denjenigen Verbindungen, die die Bodenbiodiversität beeinflussen (Kruskal-Wallis-Test).

Korrelationsanalysen wurden verwendet, um die Zusammenhänge zwischen Bodenbiodiversität sowie dem Auftreten und dem Risiko von Pestiziden zu untersuchen. ...auf Pestizide bei 48 funktionellen Gen-Gruppen, die am Kohlenstoff- (C), Stickstoff- (N) und Phosphorkreislauf (P) beteiligt sind (zum Beispiel mineralische Stickstoffumwandlungen, die N-Verluste durch Auswaschung und Treibhausgasemissionen regulieren). Alle in dieser Studie untersuchten taxonomischen und funktionellen Gruppen werden im Folgenden zusammenfassend als „Bodenbiodiversität“ bezeichnet.

Unsere Analysen konzentrierten sich in erster Linie auf Ackerböden (einschließlich einjähriger und dauerhafter Kulturen), auf denen Pestizide überwiegend ausgebracht werden. Wir stellten die Hypothese auf, dass Pestizide die Bodenbiodiversität beeinflussen, insbesondere in diesen intensiv bewirtschafteten Ökosystemen. Um dies zu prüfen, untersuchten wir die Zusammenhänge zwischen jeder einzelnen Pestizidkonzentration und:

- (1) dem Artenreichtum und der Diversität (Shannon-Index) jeder taxonomischen Gruppe;
- (2) ihrer kombinierten Diversität (Multidiversität);
- (3) der relativen Häufigkeit funktioneller Gruppen; sowie
- (4) der Diversität der funktionellen Gen-Gruppen (Abb. 1, Ziel 1).

Diese Analysen berücksichtigten Umweltfaktoren, einschließlich Bodeneigenschaften, Klima und Ökosystemtyp. Anschließend quantifizierten wir die relative Bedeutung der Pestizidkonzentrationen für die Ausprägung der Bodenbiodiversität im Vergleich zu Umweltfaktoren (Abb. 1, Ziel 2). Obwohl Ackerflächen die Hauptempfänger von Pestizideinträgen sind, kann sich die Kontamination auch auf angrenzende Ökosysteme ausweiten. Um die übergeordnete Relevanz und Robustheit der Zusammenhänge zwischen Pestiziden und Bodenbiodiversität zu bewerten, führten wir dieselben Analysen unter Einbeziehung aller Ökosystemtypen durch (Supplementary Data 3) und verglichen sie mit den Ergebnissen aus Ackerflächen (Abb. 1, Ziel 3).

Pestizidrückstände in Böden

Über alle fünf Ökosystemtypen hinweg wurden in europäischen Böden insgesamt 63 verschiedene Pestizide nachgewiesen, wobei an 70 % der untersuchten Standorte ein oder mehrere Pestizide gefunden wurden (Abb. 2a). Zehn der 63 nachgewiesenen Pestizide waren im Jahr 2018 (also zum Zeitpunkt der Erhebung) in der EU nicht mehr zugelassen (Supplementary Table 1).

Die Mehrheit (54 %) der nachgewiesenen Pestizide waren Fungizide (Abb. 2b), gefolgt von Herbiziden (34,9 %) und Insektiziden (11,1 %). Die höchsten Zahlen an Rückständen sowie die höchsten kumulativen Pestizidkonzentrationen wurden in einjährigen und dauerhaften Ackerflächen festgestellt, gefolgt von Grünland und Wäldern (Abb. 2c sowie Extended Data Abb. 2a,b und 3). Die am häufigsten nachgewiesenen

Pestizide waren Glyphosat (ein Herbizid) und sein Metabolit Aminomethylphosphonsäure (AMPA), gefolgt von Boscalid.

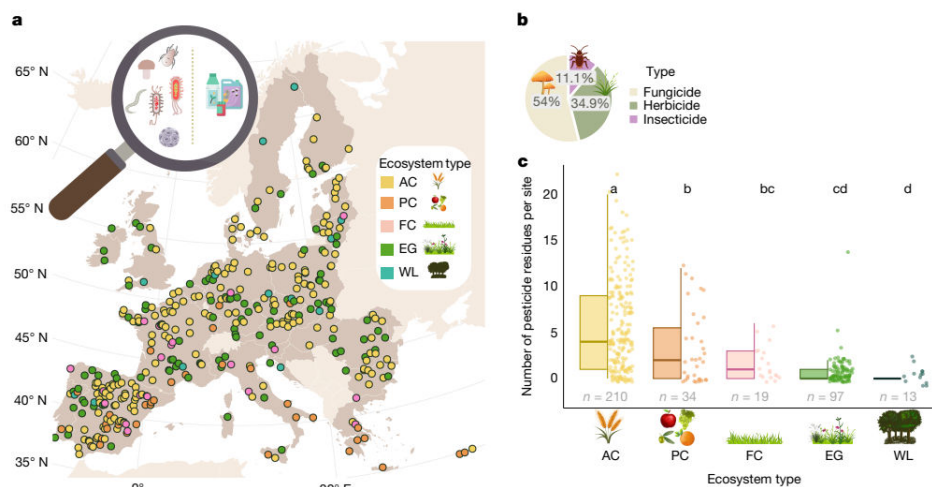


Abb. 2 | Verteilung von Pestiziden in 373 EU-Böden.

a, Karte mit den 373 untersuchten Standorten, an denen Bodenbiodiversität und Pestizidrückstände in fünf Ökosystemtypen gemessen wurden (Einzelkarten je Ökosystemtyp sind in Extended Data Abb. 1 verfügbar). Karte basierend auf Natural Earth (Creative Commons CC0).

b,c, Pestizidtyp (b) sowie Boxplot (c; einzelne Datenpunkte, Median (Mittellinie), Quartile (Boxränder) und zugehörige Streuung (Whisker, $1,5 \times$ Interquartilsabstand)), die die Anzahl der nachgewiesenen Pestizidrückstände in jedem Ökosystemtyp darstellen: einjährige Ackerflächen (AC; $n = 210$), Dauerkulturen (PC; $n = 34$), ehemalige Ackerflächen, die kürzlich in Grünland umgewandelt wurden (FC; $n = 19$), extensives Grünland (EG; $n = 97$) und Wälder (WL; $n = 13$).

Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede (zweiseitiger paarweiser Wilcoxon-Mehrfachvergleichstest mit Benjamini-Hochberg-Korrektur). AC vs. PC, $P = 0,0048$; AC vs. FC, $P = 0,0003$; AC vs. EG, $P < 2 \times 10^{-16}$; AC vs. WL, $P = 6,3 \times 10^{-6}$; PC vs. FC, $P = 0,2781$; PC vs. EG, $P = 0,0020$; PC vs. WL, $P = 0,0059$; FC vs. EG, $P = 0,0793$; FC vs. WL, $P = 0,0249$; EG vs. WL, $P = 0,0856$.

Ein Fungizid), Pendimethalin (ein Herbizid) und Epoxiconazol (ein Fungizid) (Extended Data Abb. 4).

Reaktionen der Bodenbiota auf Pestizide

Anschließend untersuchten wir, welche der 63 nachgewiesenen Pestizidkonzentrationen (neben zentralen Umweltvariablen) relevante Auswirkungen auf den Artenreichtum und die Diversität der Organismengruppen, die Multidiversität, die relative Häufigkeit jeder funktionellen Gruppe sowie die Diversität jeder funktionellen Gen-Gruppe (Genorthologie pro Million Reads (pmOGs)) haben.

Wir stellten fest, dass die Effekte der Pestizidkonzentrationen in Ackerflächen (sowohl einjährige als auch Dauerkulturen) je nach taxonomischer und funktioneller Organismengruppe sowie je nach Pestizid variierten (Abb. 3 und Extended Data Abb. 5). Pilze zeigten mehrere negative Zusammenhänge: Ihr Artenreichtum nahm in Zusammenhang mit vier Fungiziden (Boscalid, Carbendazim, Dimethomorph und Fluopyram) sowie dem Herbizid Diflufenican ab, während andere Gruppen variabelere Muster aufwiesen.

Obwohl die Multidiversität sowohl positive als auch negative Zusammenhänge mit Pestiziden zeigte, verdeckte dieser integrative Index (der mehrere Organismengruppen zusammenfasst) die Komplexität der Beziehungen zwischen Pestiziden und Bodenbiodiversität und übersah spezifische Zusammenhänge einzelner Organismengruppen mit einer breiteren Palette von Pestiziden.

Steigende Fungizidkonzentrationen in Ackerflächen standen in negativem Zusammenhang mit mehreren Nicht-Zielorganismen (Abb. 3 und Extended Data Abb. 5). Insbesondere waren Bixafen-Konzentrationen mit einem Rückgang pilzlicher Pflanzenpathogene, einer Abnahme des Artenreichtums von Protisten, Nematoden und Arthropoden sowie einer Verringerung der Diversität von Archaeen, Bakterien und Arthropoden verbunden. Höhere Dosen von Carbendazim, Fenpropidin und Epoxiconazol reduzierten die relative Häufigkeit von AMF.

Nützliche Gruppen wie AMF und bakterivore Nematoden korrelierten negativ mit höheren Konzentrationen des Herbizids Pendimethalin, das hingegen pflanzliche Antagonisten wie pflanzenparasitische Protisten förderte (Abb. 3 und Extended Data Abb. 5). Andere pflanzliche Antagonisten, darunter pilzliche Pflanzenpathogene und herbivore Nematoden, nahmen ebenfalls mit steigenden Konzentrationen des Herbizids Glyphosat zu, während der Artenreichtum von Protisten und Nematoden, die Diversität von Pilzen und Arthropoden sowie die Häufigkeit archaealer Nitrifizierer und bakterivorer Nematoden abnahmen (Abb. 3 und Extended Data Abb. 5).

Die empfindlichsten, durch Pestizide (Fungizide, Herbizide und Insektizide) beeinflussten Gen-Gruppen in Ackerflächen waren bakterielle Gene, die an der Denitrifikation und am Chitinabbau beteiligt sind (Abb. 3 und Extended Data Abb. 6). Siebzig Prozent der beobachteten signifikanten Effekte auf die Diversität bakterieller Gen-Gruppen und 84 % der Effekte auf pilzliche Gen-Gruppen waren positiv. Für archaeale und faunistische Gruppen waren etwa 50 % der Zusammenhänge negativ (Extended Data Abb. 6).

Weitere Ergebnisse zu den Effekten spezifischer Pestizide sind in Supplementary Results 1 dargestellt.

Pestizide als Treiber der Bodenbiota

Wir stellten fest, dass Pestizidkonzentrationen bis zu 29,5 % der erklärten Varianz in der Struktur der Bodenbiodiversitätsgemeinschaften in Ackerflächen erklärten (Abb. 4 und Supplementary Data 2, Tabellen 1–6) und bei einigen Biodiversitätskennzahlen einen größeren Anteil der Varianz erklärten als Umweltfaktoren.

Insbesondere waren Pestizidkonzentrationen der wichtigste Faktor für den pilzlichen Artenreichtum (alleinige Erklärung von 12,3 % der Varianz; Abb. 4 und Supplementary Data 2, Tabelle 1). Darüber hinaus wurden die relative Häufigkeit bakterieller Chemoheterotropher, AMF, pflanzenparasitischer Protisten, herbivorer Nematoden und bakterivorer Nematoden ebenfalls signifikant durch Pestizidkonzentrationen beeinflusst (sie erklärten jeweils 10,4 %, 11,6 %, 29,5 %, 13,4 % und 8,9 % der Varianz; Supplementary Data 2, Tabelle 3).

Die Varianz im Artenreichtum von Pilzen und Nematoden sowie in der Diversität von Protisten wurde gleichermaßen durch Veränderungen der Pestizidkonzentrationen und der Bodeneigenschaften erklärt. Auf metagenomischer Ebene erklärten Pestizide bei 20 der 48 funktionellen Gen-Gruppen ebenso viel oder mehr Varianz in der Diversität wie die Bodeneigenschaften. Beispielsweise wurden 15,6 % der Variabilität in faunistischen Genen

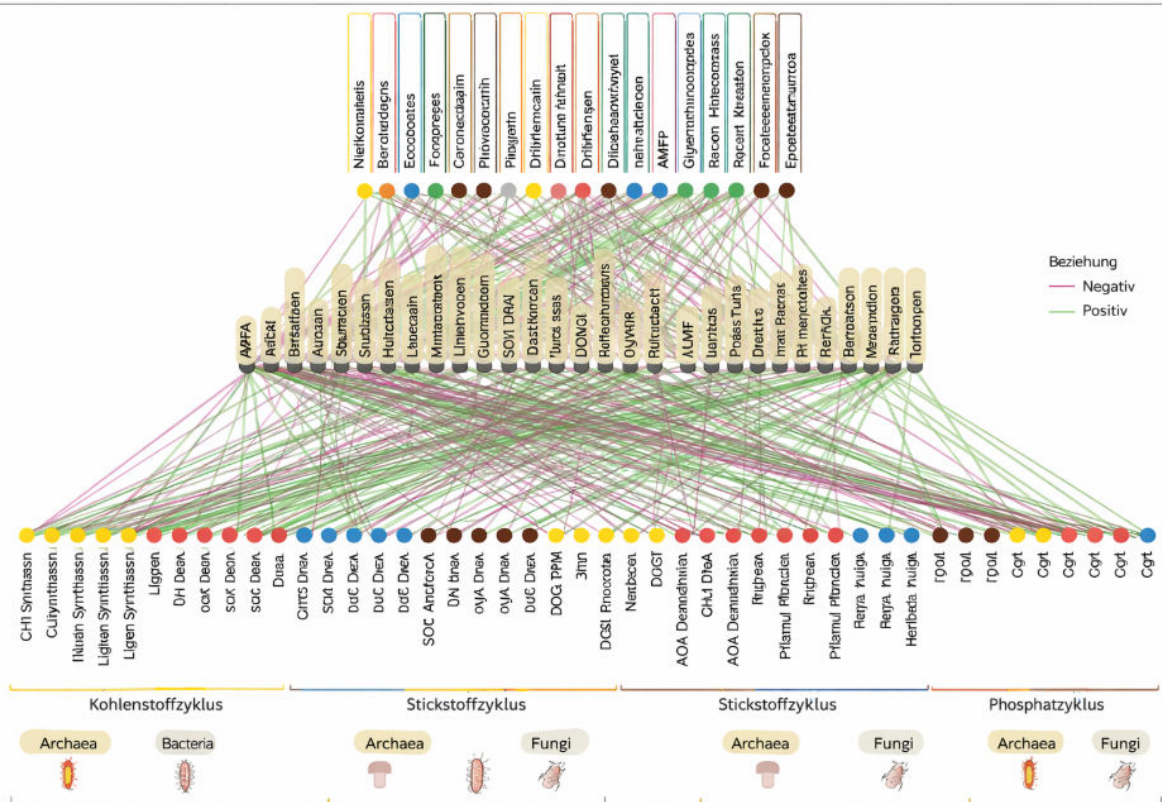


Abb. 3 | Reaktionen der Bodenbiodiversität auf Pestizidkonzentrationen in Ackerflächen.

Netzwerk zur Variablenwichtigkeit (VIP) zwischen Pestizidkonzentrationen (Mitte) und dem Artenreichtum von Archaeen, Bakterien, Pilzen, Protisten, Nematoden und Arthropoden, dem Multidiversitätsindex, der relativen Häufigkeit funktioneller Gruppen (oben) sowie der Diversität jeder funktionellen Gen-Gruppe, die am Kohlenstoff-, Stickstoff- und Phosphorkreislauf beteiligt ist (unten).

Die Knoten sind entsprechend der jeweiligen Organismengruppe eingefärbt: Gelb = Archaeen; Rot = Bakterien; Blau = Pilze; Grün = Protisten; Braun = Fauna.

CH = Kohlenhydrate; degr. = Abbau; DNRA = dissimilatorische Nitratreduktion.

Die VIP-Verbindungen sind entsprechend dem Vorzeichen des Koeffizienten des jeweiligen Pestizids im GLM eingefärbt, sofern dieses als Prädiktor für die jeweilige Biodiversitätsmetrik beibehalten wurde. Grüne Verbindungen zeigen einen positiven Koeffizienten (positiver Zusammenhang), rosafarbene Verbindungen einen negativen Koeffizienten (negativer Zusammenhang).

Die zugrunde liegenden VIP-Diagramme sind in Extended Data Abb. 5 und 6 dargestellt. Ergebnisse zur Shannon-Diversität finden sich in Extended Data Abb. 5.

Diese Analysen beziehen sich ausschließlich auf Ackerflächen (für Metabarcoding-Analysen wurden n = 244 Standorte verwendet, für Metagenomik-Analysen n = 234 Standorte). VIP-Diagramme unter Einbeziehung weiterer Ökosystemtypen (n = 373 Standorte für Metabarcoding-Analysen und n = 349 Standorte für Metagenomik-Analysen) sind in Supplementary Data 3, Abb. 1 und 2 dargestellt.

Die Modellanpassung wird in Supplementary Results 2 erläutert.

Die am Abbau von organischem Stickstoff (N) beteiligt sind, wurden zu 15,6 % durch Pestizide erklärt, gegenüber lediglich 8,5 %, die ausschließlich durch Bodeneigenschaften erklärt wurden (Extended Data Abb. 6 und Supplementary Data 2, Tabellen 4–6). Pestizideffekte über verschiedene Ökosystemtypen hinweg

Obwohl die meisten Pestizidrückstände in Ackerflächen nachgewiesen wurden, fanden sie sich auch in anderen Ökosystemen (d. h. ehemalige Ackerflächen, die kürzlich in

Grünland umgewandelt wurden, extensives Grünland und Wälder) (Abb. 2 und Extended Data Abb. 4). Insgesamt waren die Zusammenhänge zwischen Pestiziden und Bodenbiodiversität konsistent, wenn Analysen über alle Ökosystemtypen hinweg (d. h. Ackerflächen und andere Ökosysteme; siehe Supplementary Data 3) mit solchen verglichen wurden, die ausschließlich auf Ackerflächen beschränkt waren. Einige Muster traten jedoch nur auf, wenn Nicht-Acker-Ökosysteme einbezogen wurden. Insbesondere wurden Zusammenhänge zwischen Pendimethalin – einem Herbizid, das in allen untersuchten Ökosystemtypen nachgewiesen wurde – und sowohl pilzlichen Pflanzenpathogenen als auch herbivoren Nematoden nur dann deutlich, wenn Grünland und Wälder in die Modelle einbezogen wurden (Supplementary Data 3, Abb. 1). Ebenso wurde ein Rückgang des archaealen Artenreichtums in Zusammenhang mit höheren Bixafen-Konzentrationen nur in der Analyse aller Ökosysteme beobachtet (Supplementary Data 3, Abb. 1). Positive Zusammenhänge zwischen der Diversität funktioneller Gen-Gruppen und Pestizidkonzentrationen waren ausgeprägter, wenn Grünland einbezogen wurde (Supplementary Data 3, Abb. 2). Wie erwartet war der Beitrag von Pestiziden zur Erklärung der Variation in der Bodenbiodiversität in reinen Ackerflächen stets höher als bei gemeinsamer Betrachtung von Ackerflächen und anderen Ökosystemen. Dieses Muster zeigte sich über taxonomische Gruppen und funktionelle Gruppen hinweg (bis zu 29,5 % erklärte Variation in Ackerflächen gegenüber 17,4 % über alle Ökosysteme hinweg; Abb. 4, Supplementary Data 2, Tabellen 1–3, Supplementary Data 3, Abb. 4 ...).

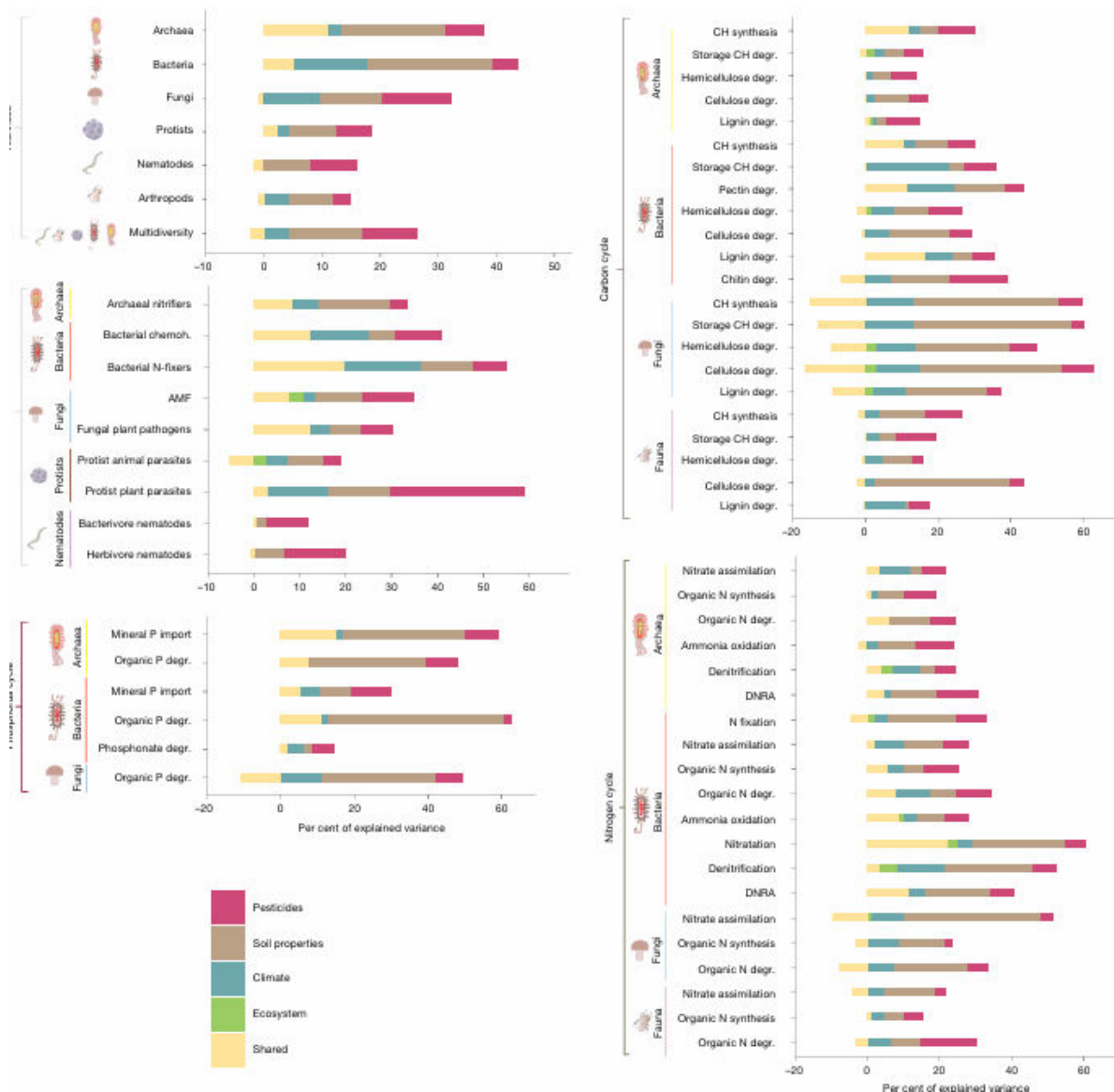


Abb. 4 | Beitrag der Pestizidkonzentrationen zur Erklärung von Kennzahlen der Bodenbiodiversität in Ackerflächen.

Der relative Beitrag (in Prozent der erklärten Varianz) von Pestizidrückstandskonzentrationen (rot), Bodeneigenschaften (braun), Klima (blau), Ökosystemtyp (grün) sowie gemeinsam erklärter Varianz (gelb) zur Erklärung von (1) dem Artenreichtum von Archaeen, Bakterien, Pilzen, Protisten, Nematoden und Arthropoden, (2) dem Multidiversitätsindex, (3) der relativen Häufigkeit funktioneller Gruppen und (4) der Diversität jeder funktionellen Gen-Gruppe, die an den C-, N- und P-Kreisläufen beteiligt ist, wurde durch Anwendung einer Varianzzerlegung (Variation Partitioning) auf das jeweils zugehörige GLM ermittelt.

Detaillierte Angaben zu den einzelnen Pestizidkonzentrationen sind in Extended Data Abb. 5 und 6 dargestellt; die im jeweiligen GLM berücksichtigten Bodeneigenschaften und Klimavariablen sind in Supplementary Data 2, Tabellen 7 und 8 aufgeführt. Ergebnisse zur Shannon-Diversität finden sich in Extended Data Abb. 8.

Diese Analysen beziehen sich ausschließlich auf Ackerflächen (für Metabarcoding-Analysen wurden $n = 244$ Standorte verwendet, für Metagenomik-Analysen $n = 234$ Standorte). Analysen unter Einbeziehung aller Ökosystemtypen ($n = 373$ Standorte für Metabarcoding-Analysen und $n = 349$ Standorte für Metagenomik-Analysen) sind in Supplementary Data 3, Abb. 4 dargestellt.

Die Modellanpassung wird in Supplementary Results 2 erläutert.

...und Supplementary Data 4, Tabellen 1–3) sowie funktionelle Gen-Gruppen (5,5-fache Zunahme der erklärten Variabilität bei ausschließlicher Betrachtung von Ackerflächen; Abb. 4, Supplementary Data 2, Tabellen 4–6, Supplementary Data 3, Abb. 4 und Supplementary Data 4, Tabellen 4–6).

Diese Ergebnisse bestätigen den zentralen Einfluss von Pestiziden auf die Bodenbiodiversität in Ackerbausystemen und unterstreichen die Bedeutung der Einbeziehung von Nicht-Ackerflächen, um Spillover-Effekte und umfassendere ökologische Muster zu erkennen.

Diskussion

Es ist allgemein anerkannt, dass Pestizide die oberirdische Biodiversität negativ beeinflussen. Diese Studie erweitert diese Erkenntnisse auf den unterirdischen Bereich und zeigt, dass Pestizide die Bodenbiodiversität sowohl auf taxonomischer als auch auf funktioneller Ebene signifikant beeinflussen, einschließlich Auswirkungen auf die C-, N- und P-Kreisläufe im Boden. Während frühere experimentelle Studien und Analysen in spezifischen Regionen gezeigt haben, dass Pestizide ...

Artikel

...beeinflussen Bodenbiota^{5–7,21–27}; unseres Wissens ist unsere Studie jedoch die erste, die die relative Bedeutung von Pestiziden im Vergleich zu Bodeneigenschaften, Ökosystemtyp und Klima im kontinentalen Maßstab aufzeigt. Unsere Ergebnisse zeigen, dass insbesondere in Ackerflächen Pestizide – nach den Bodeneigenschaften – der zweitwichtigste Treiber von Mustern der Bodenbiodiversität sind. Die Bodenbiodiversität reagierte unterschiedlich auf Pestizide, abhängig vom Ökosystem, der Organismengruppe, der Genfunktion und dem Pestizidtyp, mit sowohl direkten als auch indirekten Effekten auf zahlreiche Nicht-Zielgruppen und deren Funktionen im Boden.

Nicht-Ziel-Effekte von Pestiziden

Frühere Befunde aus kontrollierten Experimenten^{26,35,36} haben gezeigt, dass Pestizide die Funktionsweise des Bodennahrungsnetzes stören können, indem sie gleichzeitig mehrere Nicht-Zielorganismen beeinflussen. Entsprechend zeigte unsere Feldstudie im kontinentalen Maßstab, dass Rückstände von Herbiziden, Fungiziden und Insektiziden – über ihre beabsichtigten Zielorganismen hinaus – die Diversität und funktionelle Struktur aller hier untersuchten Nicht-Ziel-Taxa veränderten.

Bemerkenswert ist, dass Pestizide einige zentrale nützliche Taxa negativ beeinflussten, darunter AMF, die für die Nährstoffaufnahme und das Pflanzenwachstum essenziell sind³⁷, sowie bakterivore Nematoden, die bakterielle Populationen im Boden und die Geschwindigkeit des Nährstoff- und organischen Stoffkreislaufs regulieren³⁸ – im Einklang mit früheren Ergebnissen aus kleineren geografischen Maßstäben⁶. Darüber hinaus waren höhere Konzentrationen bestimmter Fungizide (z. B. Bixafen) mit einem verringerten Artenreichtum und einer reduzierten Diversität von Archaeen, Bakterien, Protisten, Nematoden und Arthropoden verbunden. Während einige Studien Nicht-Ziel-Effekte von Fungiziden auf Nematoden²⁶, Protisten³⁵ und bakterielle Diversität³⁶ berichteten, basieren diese Ergebnisse auf einer sehr begrenzten Anzahl von Fungiziden. Unsere Ergebnisse umfassen ein deutlich breiteres Spektrum an Fungiziden und zeigen, dass diese Substanzen mehrere Komponenten der Bodengemeinschaft beeinflussen können.

Im Gegensatz dazu standen bestimmte Herbizide (wie Glyphosat und Pendimethalin) in positivem Zusammenhang mit der relativen Häufigkeit unerwünschter Gruppen in Ackerflächen, etwa pilzlicher Pflanzenpathogene, pflanzenparasitischer Protisten und herbivorer Nematoden. Dies deutet auf mögliche indirekte Effekte der Herbizidanwendung hin, die weiterer Untersuchung bedürfen.

Zusätzlich stellten wir fest, dass Glyphosat und das Fungizid Carbendazim – beide veränderten Pilzgemeinschaften stark, eine Hauptquelle für Chitin³⁹ – auch mit einer erhöhten Diversität bakterieller funktioneller Gene verbunden waren, die für Chitin-abbauende Enzyme kodieren. Obwohl dies darauf hindeutet, dass Bakterien in pestizidreichen Umgebungen Vorteile gewinnen könnten, während Pilzgemeinschaften zurückgehen^{40–42}, sind solche trophischen Kaskaden in unkontrollierten Umgebungen schwer zu bestätigen. Diese bakteriellen Vorteile könnten auch auf der Fähigkeit von Bakterien beruhen, Pestizide als Nährstoffquelle zu nutzen⁷.

Diese Hypothese wird durch den positiven Zusammenhang zwischen der AMPA-Konzentration (dem wichtigsten Aminophosphonat-Rückstand aus der weit verbreiteten Glyphosatanwendung⁴³) und der Diversität bakterieller Gen-Gruppen, die am Phosphonatabbau beteiligt sind, gestützt. Dies legt nahe, dass Glyphosat eine bedeutende zusätzliche Phosphorquelle für Bakterien darstellen könnte.

Wir beobachteten, dass pestizidbedingte Veränderungen in der taxonomischen Diversität insgesamt mit Verschiebungen in der Diversität funktioneller Gene einhergingen, was auf eine enge Verknüpfung zwischen taxonomischer und funktioneller Diversität hindeutet. Zudem zeigten unsere Analysen funktioneller Gene, dass bestimmte Pestizide spezifische funktionelle Fähigkeiten der Bodenbiota beeinflussten. So reduzierten Carbendazim, AMPA und Bixafen die Diversität stickstoff- und phosphorbezogener Gene, was experimentelle Befunde unterstützt, dass der mikrobielle Stickstoffstoffwechsel besonders empfindlich gegenüber Pestiziden sein kann⁴⁴.

Trotz dieser wichtigen Erkenntnisse war unsere Bewertung der Bodenbiodiversität auf die wichtigsten Gruppen beschränkt – Archaeen, Bakterien, Pilze, Protisten, Nematoden und Arthropoden. Andere Gruppen wurden entweder nicht berücksichtigt (z. B. Viren) oder aus methodischen Gründen ausgeschlossen (z. B. Rädertierchen, Bärtierchen und Ringelwürmer). Daher ist die hier dargestellte Biodiversitätsbewertung nicht vollständig. Zudem fehlten unserer Erhebung quantitative Informationen zu Ausbringungsmengen, Zeitpunkten und Zusammensetzung der an jedem Standort eingesetzten Pestizidmischungen. Dadurch konnten wir die Effekte von Pestiziden nicht klar von jenen intensiver Bewirtschaftungspraktiken trennen. Hierfür wären detaillierte standortspezifische Managementdaten zu Düngung, Fruchtfolge und Bodenbearbeitung erforderlich, die in dieser Studie nicht vorlagen.

Obwohl 118 Verbindungen untersucht wurden, wurden andere potenziell schädliche Substanzen wie Organophosphat-Metabolite und Schwermetalle nicht berücksichtigt. Die berichteten Muster sollten daher als Frühwarnsignale potenzieller Pestizidwirkungen und nicht als endgültiger Nachweis direkter Kausalität interpretiert werden.

Überarbeitung der EU-Risikobewertungsverfahren

Im Einklang mit früheren Studien^{7,23} zeigen unsere Ergebnisse die Schwierigkeit auf, allgemeine Schlussfolgerungen zu Pestizideffekten auf die Bodenbiodiversität zu ziehen, wenn nur eine geringe Anzahl im Labor kultivierbarer Taxa untersucht wird^{32,47}, während zentrale Gruppen wie AMF und diverse mikrobielle Gemeinschaften unberücksichtigt bleiben.

Darüber hinaus basiert der in der Risikobewertung häufig verwendete Risikoquotient auf der „No Observed Effect Concentration“ (NOEC), die lediglich aus einer begrenzten Anzahl von Bodenwirbellosenarten abgeleitet wird. Dadurch erfasst die NOEC nicht die Komplexität von Gemeinschaftsreaktionen unter Feldbedingungen²⁹.

Zur Verbesserung der Pestizid-Risikobewertung sollten zukünftige Bewertungsrahmen Schutzziele und akzeptable Expositionsschwellen auf Basis gemeinschaftsbezogener Endpunkte sowohl auf taxonomischer als auch auf funktioneller Ebene entwickeln. Kontrollierte Laborstudien mit Bodenlebensgemeinschaften aus dem Feld könnten helfen, Konzentrationsbereiche oder Dosis-Wirkungs-Beziehungen zu definieren, bei denen signifikante Verluste an Diversität oder funktionellem Potenzial auftreten.

Diese Studien sollten unter Berücksichtigung von Landnutzung, Bodeneigenschaften, Klima, Bewirtschaftungsintensität und historischer Pestizidexposition validiert werden. Unsere Analyse bestätigt, dass insbesondere der mikrobielle Stickstoffstoffwechsel und die Phosphoraufnahme empfindlich gegenüber Pestizideffekten sein können. Dies unterstreicht die Bedeutung genetischer Marker mikrobieller Stoffwechselwege als robuste Indikatoren für Veränderungen in biogeochemischen N- und P-Kreisläufen.

Zukünftige Forschung

Unsere Studie verdeutlicht den Bedarf an weiteren Feldexperimenten, die unterschiedliche Pestizidtypen, Konzentrationen und Mischungen sowie Langzeitexposition berücksichtigen. Zudem zeigten wir, dass in Ackerflächen ausgebrachte Pestizide in nicht-landwirtschaftliche Gebiete verdriften können. Da die Reaktionen der Bodenbiodiversität über Ökosystemtypen hinweg konsistent waren, liefern unsere Ergebnisse eine Grundlage für die Weiterentwicklung künftiger Umwelt-Risikobewertungen, die auch Off-Site-Effekte berücksichtigen.

Zukünftige Forschung sollte sich konzentrieren auf:

- (1) die systematische Integration von Daten zur Pestizidanwendung und -überwachung, einschließlich Nicht-Ackerflächen, um Exposition und Auswirkungen umfassender zu bewerten;
- (2) die Festlegung von Schwellenwerten für Pestizideffekte auf ein breiteres Spektrum von Bodenbiota (z. B. einschließlich Makrofauna und funktioneller Gene) entlang von Gradienten der Landnutzungsintensität, verschiedener Bodentypen und Klimabedingungen.

Schlussfolgerungen

Unsere Ergebnisse zeigen, dass Pestizidrückstände zentrale, jedoch häufig unterschätzte Treiber der Bodenbiodiversität sind. Ihre Effekte sind komplex, organismenspezifisch und gehen über die beabsichtigten Zielorganismen hinaus.

Dies stellt die derzeitige regulatorische Praxis, die sich auf vereinfachte Indikatoren stützt, in Frage. Zum Schutz von Bodenökosystemen müssen ökotoxikologische Bewertungen über Einzelartentests hinausgehen und gemeinschafts- sowie funktionsbasierte Reaktionen einbeziehen.

Dies erfordert transparente Daten zur Pestizidanwendung sowie Umweltbewertungen über unterschiedliche Ökosysteme hinweg, nicht nur in Ackerflächen. Nur so lässt sich beurteilen, in welchem Ausmaß unbeabsichtigte Pestizideffekte auf Bodenorganismen die Ökosystemfunktionen beeinträchtigen, die langfristige Ernährungssicherheit sichern. Die Balance zwischen kurzfristig hohen Erträgen und langfristiger ökologischer Nachhaltigkeit erfordert Investitionen in nachhaltige Pflanzenschutzstrategien und agroökologische Praktiken, die sowohl Produktivität als auch Bodengesundheit fördern

[Artikel](#)

[Methoden](#)

Probenahmestandorte

Bodenproben wurden an 373 Standorten in 26 Mitgliedstaaten der Europäischen Union sowie im Vereinigten Königreich entnommen. Diese Standorte waren eine Teilmenge des größeren LUCAS-Soil-Datensatzes⁴⁸ und überlappten zwischen dem LUCAS-Soil-Pesticides-Modul⁴⁹ (Messung von Pestizidrückstandskonzentrationen im Feld) und dem LUCAS-Soil-Biodiversity-Modul⁴⁹ (Erfassung der taxonomischen und funktionellen Diversität des Bodens mittels DNA-Metabarcoding und Metagenomik). Die Proben wurden innerhalb einer Vegetationsperiode (April bis Oktober 2018)^{28,49} gesammelt. Die beprobten Standorte umfassten 210 jährliche Ackerflächen (z. B. Mais und Weizen), 34 Dauerkulturen (z. B. Weinberge, Obstplantagen und Olivenhaine), 19 kürzlich in Grünland umgewandelte Flächen (d. h. ehemalige Ackerflächen, die mindestens ein Jahr nicht bewirtschaftet wurden und keiner Fruchtfolge unterlagen, aufgegebene Ackerflächen sowie temporäres Grünland), 97 extensive Grünlandstandorte und 13 Waldstandorte (darunter 6 Nadel- und 7 Laubwälder). Grünland und Wälder wurden in diese Studie einbezogen, um potenzielle Kontaminationen zu untersuchen, da von 129 Nicht-Acker-Standorten 39 Standorte innerhalb von Ackerflächen-Polygonen lagen (27 extensive Grünlandflächen, 11 ehemalige Ackerflächen, die kürzlich in Grünland umgewandelt wurden, und 1 Waldstandort), basierend auf Satellitendaten der CORINE-Landbedeckungsdaten 2018.

Analysen von Pestizidrückständen

Im Rahmen des LUCAS-Soil-Pesticides-Moduls⁴⁹ wurden 118 Rückstände aktiver Inhaltsstoffe synthetischer Pestizide und deren Metaboliten (Abbauprodukte) mithilfe von Multi-Residuen-Flüssigkeitschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) sowie Multi-Residuen-Gaschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (GC-MS/MS) bestimmt. Glyphosat und AMPA wurden mit einer speziell entwickelten LC-MS/MS-Methode quantifiziert¹.

Die Bestimmungsgrenze (Limit of Quantification, LOQ) variierte zwischen den einzelnen Substanzen und lag zwischen 0,001 und 0,025 mg kg⁻¹ (Supplementary Table 1). Die LOQ wurde als die niedrigste geprüfte Konzentration definiert, die weiterhin die Kriterien für Wiederfindung, Wiederholbarkeit, innerlaboratorische Reproduzierbarkeit und Identifizierung erfüllte, wie von der Generaldirektion Gesundheit und Lebensmittelsicherheit der Europäischen Kommission festgelegt⁵⁰. Die LOQ-Werte in dieser Studie waren vergleichbar mit denen anderer Bodenmonitoring-Studien^{33,51,52}. Wurde eine Pestizidkonzentration unterhalb der LOQ berichtet, wurde der Wert durch 0 ersetzt.

Pestizide und ihre Metaboliten (im Folgenden „Pestizide“) wurden aufgrund ihrer Nutzungshäufigkeit, Persistenz und Messbarkeit ausgewählt^{1,33}. Von den 118 untersuchten Pestiziden (Supplementary Data 1) wurden 63 an mindestens einem Standort nachgewiesen (Supplementary Table 1). Standorte, an denen keines dieser Pestizide nachgewiesen wurde, wurden ebenfalls in die Analysen als Referenz (Baseline) für Werte der Bodenbiodiversität einbezogen, nämlich 28 jährliche Ackerflächen (entspricht 13 % der jährlichen Ackerflächenstandorte), 13 Dauerkulturen (38 %), 8 kürzlich umgewandelte Grünlandflächen (42 %), 52 extensive Grünlandflächen (54 %) und 11 Waldstandorte (85 %). Pestizide wurden klassifiziert nach (1) Typ (Fungizid, Herbizid, Insektizid)⁵³, (2) chemischen Gruppen^{54–56} und (3) Ziel-Wirkmechanismen^{54–56} (Supplementary Table 1).

Analysen der Bodenbiodiversität

Metabarcoding-Analysen. Im Rahmen des LUCAS-Soil-Biodiversity-Moduls wurde Biodiversität mittels DNA-Metabarcoding bestimmt, wobei DNA-Regionen adressiert wurden, die häufig als molekulare Marker verwendet werden: 16S-rRNA-Gene für Archaeen und Bakterien, interne transkribierte Spacer (ITS)-Regionen für Pilze und 18S-rRNA-Gene für Protisten, Nematoden und Arthropoden^{57–59}. Zur Amplifikation wurden spezifische Primer eingesetzt: SSU1ArF und SSU1000ArR für archaeale 16S rRNA, 515F und 926R für bakterielle 16S rRNA, ITS9mun und ITS4ngsUni für pilzliche ITS sowie Euk575F und Euk895R für eukaryotische 18S rRNA. Die Sequenzierung der bakteriellen

und eukaryotischen Marker erfolgte auf der Illumina-MiSeq-Plattform, während archaeale und pilzliche Sequenzierung auf der PacBio-Sequel-II-Plattform durchgeführt wurde. Drei eukaryotische Gruppen (Rädertierchen, Bärtierchen und Ringelwürmer) wurden ausgeschlossen, da das entnommene Bodenvolumen zu gering war, um robuste Analysen der Makrofauna zu ermöglichen⁵⁸, und wegen Einschränkungen der Referenzdatenbanken^{60–62}. Sequenzen wurden für Archaeen zu operational taxonomic units (OTUs) bei einer Ähnlichkeitsschwelle von 97 % geclustert⁵⁹, während OTUs für pilzliche ITS-Daten mit einer Schwelle von 98 % analysiert wurden⁵⁷. Exakte Sequenzvarianten wurden für bakterielle Zero-radius-OTUs (zOTUs, erzeugt mit UPARSE) und 18S-eukaryotische Amplicon Sequence Variants (ASVs, erzeugt mit DADA2) gemäß etablierten Methoden identifiziert^{57–59}. Detaillierte Beschreibungen der ausgewählten bioinformatischen Werkzeuge wurden für Archaeen⁵⁹, Bakterien, Pilze⁵⁷ und nicht-pilzliche Eukaryoten⁵⁸ veröffentlicht. ASV- (oder OTU-) Zählwerte wurden mittels Ranked Subsampling (SRS) aus dem R-Paket SRS⁶³ normalisiert.

Ein zusammengesetzter Boden-Diversitätsindex (im Folgenden „Multidiversitätsindex“) wurde verwendet, um die Effekte von Pestiziden auf die insgesamt erfasste Biodiversität (kombinierte Biodiversität) abzubilden. Der Index wurde berechnet, indem der standardisierte Artenreichtum jeder Organismengruppe (standardisiert zwischen 0 und 164) über insgesamt sechs Gruppen (Archaeen, Bakterien, Pilze, Protisten, Nematoden und Arthropoden) gemittelt wurde, wie folgt:

$$\text{Multidiversitätsindex} = (1/6) \cdot (z_{\text{archaea}} + z_{\text{bacteria}} + z_{\text{fungi}} + z_{\text{protist}} + z_{\text{nematode}} + z_{\text{arthropod}})$$

wobei z dem standardisierten Artenreichtum der jeweiligen Organismengruppe entspricht.

Potenzielle funktionelle Gruppen wurden anhand funktioneller Trait-Datenbanken zugeordnet: für Archaeen und Bakterien FAPROTAX⁶⁵ (unter Verwendung der Funktion *cal_spe_func* aus dem R-Paket *microeco*)⁶⁶, für Pilze *FungalTraits*⁶⁷ und für Nematoden die *Global database of soil nematodes*⁶⁸. Funktionelle Annotationen stützten sich zudem auf frühere Studien zu Protisten⁶⁹. Wir berücksichtigten neun funktionelle Gruppen, die zu zentralen Ökosystemfunktionen beitragen und über die untersuchten Ökosystemtypen hinweg vorkamen (Supplementary Data 4, Table 12), darunter AMF für Pflanzenproduktivität⁷⁰, pilzliche Pflanzenpathogene⁷⁰, pflanzenparasitische Protisten⁷¹ und herbivore Nematoden⁷², Stickstoffverlust und -rückhalt (archaeale Nitrifizierer und bakterielle Stickstofffixierer)⁷³ sowie Freisetzung von organischem Kohlenstoff (bakterielle Chemoheterotrophe)⁷³. Zudem berücksichtigten wir bakterivore Nematoden und tierparasitische Protisten – zentrale Regulatoren bakterieller Populationen und Indikatoren des Bodengesundheitszustands^{71,72}. Die funktionellen Zuordnungen folgten etablierten Rahmenkonzepten der mikrobiellen und faunistischen Bodenökologie. Wir berechneten die relative Häufigkeit (%) dieser potenziellen funktionellen Gruppen pro Standort, d. h. die Summe der Read-Zählwerte der funktionell zugeordneten ASVs (oder OTUs) einer Gruppe dividiert durch die Gesamtzahl der Reads.

Metagenomik-Analysen. Für die metagenomische Analyse wurden DNA-Proben nach dem Protokoll von Bahram et al.⁷⁴ verarbeitet. Kurz gesagt wurden metagenomische Bibliotheken mit dem Nextera XT DNA Library Prep Kit (Illumina) gemäß Herstellerangaben erstellt. Proben wurden mit dem Nextera Index Set indexiert; jede Bibliothek wurde mit 5 µl DNA-Template bei einer Konzentration von 0,2 ng µl⁻¹ angesetzt. Die DNA-Konzentration wurde mit dem Qubit 1X dsDNA High Sensitivity Kit (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific) gemessen. Sequenziert wurde auf einer Illumina-NovaSeq-Plattform im 2×150 Paired-End-Modus.

Rohreads der Metagenom-Sequenzierung wurden zunächst mit *fastp* v0.23.475 qualitätsgefiltert und fehlerkorrigiert. Potenzielle Kontaminanten wurden mit *BBMap* v39.01 gemäß dem DOE JGI Metagenome Workflow⁷⁶ entfernt. Die Identifikation und Annotation funktioneller Gene erfolgte mit *eggNOG-mapper* v2.1.277 unter Nutzung der eggNOG-Orthologie-Datenbank v5.0.278. Hochdurchsatz-Homologiesuchen wurden mit *DIAMOND* v2.1.779 im *blastx sensitive*-Modus durchgeführt. Annotationen wurden so gefiltert, dass nur hochvertrauenswürdige Treffer mit ≥50 % Alignment-Identität und E-

Wert $<10^{-8}$ erhalten blieben. Der taxonomische Ursprung funktioneller Gene wurde bestimmt, indem die taxonomische Klassifikation der Seed-Orthologe aus den *eggNOG-mapper*-Ergebnissen extrahiert und Gene in übergeordnete taxonomische Gruppen (Archaeen, Bakterien, Pilze und Metazoa, im Folgenden „Fauna“) eingeordnet wurden. Funktionelle Gene wurden in die Analysen aufgenommen basierend auf ihrer biologischen Relevanz für biogeochemische C-, N- oder P-Kreisläufe je Organismustyp (Archaeen, Bakterien, Pilze oder Fauna; Supplementary Data 4, Table 13). Da Kohlenhydrate einen großen Anteil organischer Substanz ausmachen, schlossen wir Gene ein, die am Abbau von Kohlenhydraten unterschiedlicher Refraktärität beteiligt sind – von Speicher-Kohlenhydraten wie Stärke bis zu komplexeren Kohlenhydraten wie Hemicellulose (rigide Komponenten und das labilere Pektin), Cellulose, Lignin und Chitin. N-bezogene funktionelle Gene repräsentieren Prozesse wie Stickstofffixierung, Denitrifikation, Nitrifikation, dissimilatorische Nitratreduktion, Abbau organischen N sowie Assimilation und Synthese von mineralischem N – zentrale Wege, die zu Treibhausgasemissionen, N-Auswaschung, Konkurrenz mit Kulturpflanzen um mineralischen Stickstoff und Mineralisierung organischen Stickstoffs beitragen. Die ausgewählten P-bezogenen Gene sind an der Mineralisierung organischen Phosphors (über Phosphatasen und Phosphonatasen) sowie an der Assimilation (über P-Import) beteiligt; das Gleichgewicht dieser Prozesse bestimmt die Phosphorverfügbarkeit für Pflanzen und damit die Pflanzenproduktivität.

Von 502 ausgewählten Genen wurden Gene mit ähnlicher Umweltfunktion zu Gruppen zusammengefasst. Für jede funktionelle Gen-Gruppe wurde die Anzahl orthologer Gen-Gruppen normalisiert, indem sie durch die Anzahl funktionell annotierter Reads geteilt und anschließend mit 10^6 multipliziert wurde. So ergab sich die funktionelle Gen-Diversität als pmOGs (Anzahl orthologer Gruppen pro eine Million funktioneller Reads). Insgesamt wurden 48 funktionelle Gen-Gruppen (Supplementary Data 4, Table 14) in die Analyse einbezogen basierend auf (1) ihrer Häufigkeit über alle Ökosystemtypen hinweg (Supplementary Data 4, Table 15) und (2) der Qualität der für Modellierungszwecke verfügbaren Daten. Die Analysen umfassten 349 Standorte, davon 200 jährliche Ackerflächen, 34 Dauerkulturen, 96 kürzlich in Grünland umgewandelte Ackerflächen und 19 extensive Grünlandflächen (Wälder waren nicht Teil dieser Analysen).

Umwelteigenschaften

Insgesamt wurden 11 Bodeneigenschaften gemessen, darunter Bodenwassergehalt (Prozent des Frischgewichts), Bodentextur (Prozent Grobanteil, Sand und Ton), Boden-pH (H₂O), elektrische Leitfähigkeit (dS m⁻¹), Verhältnis organischer Kohlenstoff zu Gesamtstickstoff (Corg:N), Gehalt an verfügbarem Phosphor (mg kg⁻¹), Lagerungsdichte (0–20 cm, g cm⁻³) sowie extrahierbarer Kaliumgehalt (mg kg⁻¹). Für die statistischen Analysen wurde der pH negativ exponentiell transformiert und die elektrische Leitfähigkeit logarithmisch transformiert.

Es wurden sieben Klimavariablen verwendet, darunter mittlere Jahrestemperatur, mittlere tägliche Temperaturschwankung, Niederschlagsseasonalität, Temperatursaisonality, gemittelter monatlicher Niederschlag und gemittelte monatliche Temperatur für den Zeitraum 1970–2000 für den Probenahmemonat sowie jährliche Aridität – alle abgeleitet aus Global Climate Data⁸⁰. Weitere Details zur Datenerhebung sind bei Königer et al.⁵⁸ beschrieben.

Statistische Analysen

In alle statistischen Analysen (Abb. 1) gingen ein: der Artenreichtum und die Shannon-Diversität aller taxonomischen Gruppen (Archaeen, Bakterien, Pilze, Protisten, Nematoden, Arthropoden), der Multidiversitätsindex, die relative Häufigkeit funktioneller Gruppen (archaeale Nitrifizierer, bakterielle Chemoheterotrophe, bakterielle N-Fixierer, AMF, pilzliche Pflanzenpathogene, tierparasitische Protisten, pflanzenparasitische Protisten, bakterivore Nematoden und herbivore Nematoden) sowie die Diversität funktioneller Gen-Gruppen der C-, N- und P-Kreisläufe.

Pestizidkonzentrationen in GLMs neben relevanten Bodeneigenschaften, Klima und Ökosystemtyp. Wir erstellten Modelle, in denen einzelne Pestizidkonzentrationen

(d. h. nicht zusammengefasst) als relevante Prädiktoren für Reaktionen der Bodenbiodiversität neben Bodeneigenschaften, Klima und Ökosystemtyp ausgewählt wurden.

Dazu verwendeten wir zunächst GLMs mit Variablen für Bodeneigenschaften, Klima und Ökosystemtyp (ein Modell pro Biodiversitätsmetrik). Um Redundanz und Multikollinearität weiter zu reduzieren, kombinierten wir die GLMs mit einer schrittweisen Regression auf Basis des Akaike-Informationskriteriums (AIC) mit Vorwärts- und Rückwärtsselektion. Diese Modelle identifizierten die wichtigsten Boden- und Klimaeigenschaften, die die Bodenbiodiversität beeinflussen, sowie ob der Ökosystemtyp ein relevanter Prädiktor war. Da Pestizide in bestimmten Umgebungen häufiger auftreten können, verhinderte dieser Schritt eine verzerrte Auswahl von Pestizidkonzentrationen, die mit genau diesen Umweltbedingungen assoziiert sind. Nur der zweite (finale) Satz von GLMs, der Pestizidkonzentrationen einschloss, wurde für nachgelagerte Analysen verwendet (z. B. Varianzzerlegung).

Bevor Pestizidkonzentrationen in die Modelle integriert wurden, entfernten wir Pestizide mit Null- oder nahezu Null-Varianz über die Standorte (mittels der Funktion *nearZeroVar* aus dem R-Paket *caret*⁸¹), da sie nur geringe bis keine Variation aufwiesen. Konkret wurden Pestizide nicht berücksichtigt, bei denen das Verhältnis zwischen dem häufigsten Wert und dem zweithäufigsten Wert größer als 95/5 war, sowie Pestizide, bei denen der Anteil unterschiedlicher Konzentrationswerte an der Gesamtzahl der Proben unter 5 % lag. Dadurch verblieben 20 Pestizidrückstände im Datensatz für alle Ökosystemtypen (AMPA, Azoxystrobin, Bixafen, Boscalid, Carbendazim, Chloridazon, Clothianidin, Difenoconazol, Diflufenican, Epoxiconazol, Fenpropidin, Fluopicolide, Fluopyram, Glyphosat, Imidacloprid, Metolachlor, Pendimethalin, Prochloraz, Propiconazol und Tebuconazol) sowie 28 für Ackerflächen allein (Dimethomorph, Dimoxystrobin, Fenpropimorph, Fluquinconazol, Linuron, Metrafenone, Pyraclostrobin und Terbutylazin zusätzlich zu den zuvor genannten).

Schließlich erstellten wir einen zweiten Satz merkmalsselektierter GLMs (ein Modell pro Biodiversitätsmetrik), der die verbleibenden Pestizidkonzentrationen zusammen mit den zuvor ausgewählten Bodeneigenschaften, dem Klima und/oder dem Ökosystemtyp integrierte. In diesen Modellen definierten wir den Selektionsrahmen so, dass die in der vorherigen Stufe beibehaltenen Variablen stets in den nachfolgenden Modellen enthalten waren, während Pestizidvariablen nur hinzugefügt wurden, wenn sie das Modell verbesserten (d. h. zu einem niedrigeren AIC führten). Diese Modelle, die relevante Umwelt- und Pestizidprädiktoren umfassten, wurden für weitere Analysen genutzt (z. B. Varianzzerlegung und VIP-Analysen, sowie Umweltunterschiede mittels Kruskal-Wallis-Test).

Obwohl GLMs eine Annäherung an die nichtlinearen und komplexen Interaktionen zwischen Pestiziden und Bodenorganismen darstellen, erwiesen sich diese Modelle als zuverlässig zur Analyse von Pestizideffekten auf Biodiversität^{82–84}. In unseren Modellen nahmen wir eine nichtlineare Beziehung (Gaussian log-link) zwischen Prädiktoren und Zielvariable an, um potenzielle Ausreißer zu berücksichtigen. Die Modell-Diagnostik umfasste QQ-Plots (unter Verwendung der Funktion *simulateResiduals* aus dem Paket *DHARMA*)⁸⁵ zur Prüfung der Normalität der Residuen (siehe *DHARMA*-Plot-Dateien in den Output-Ordern zusammen mit den R-Skripten aus dem Abschnitt „Code availability“). Kollinearität innerhalb aller angepassten Modelle wurde mit der Funktion *vif* aus dem Paket *car*⁸⁶ bewertet. Multikollinearität wurde in zwei Modellen festgestellt; dies wird in Supplementary Results 2 weiter diskutiert. Räumliche Autokorrelation der Modellresiduen wurde mit dem Paket *geor*⁸⁷ geprüft, ohne klare geografische Trends.

Die Modellgüte aller GLMs wurde anhand der quadrierten Korrelation zwischen vorhergesagten und beobachteten Werten (r^2), des mittleren absoluten Fehlers, des mittleren quadratischen Fehlers und der Wurzel des mittleren quadratischen Fehlers bewertet (siehe Supplementary Data 2, Tabellen 12–16 und Supplementary Data 4, Tabellen 16–20). Die Modellanpassung wird in Supplementary Results 2 diskutiert. Unter Verwendung der etablierten GLMs mit relevanten Pestizidkonzentrationen und Umwelteigenschaften führten wir VIP-Analysen durch und bestimmten, ob jede

Pestizidkonzentration einen positiven oder negativen Effekt auf die Bodenbiodiversität hatte (Ziel 1). Um den relativen Beitrag der Pestizidkonzentrationen im Vergleich zu anderen Einflussfaktoren zu verstehen, verwendeten wir anschließend eine Varianzzerlegung (Variation Partitioning) auf denselben GLMs (Ziel 2). Die Varianzzerlegung erlaubt es, die insgesamt durch ein Modell erklärte Varianz in eindeutige Komponenten, die unterschiedlichen Prädiktor-Sätzen zuzuordnen sind, sowie in gemeinsam erklärte Varianzanteile zu zerlegen. Die nicht erklärte Varianz, dargestellt durch die Residuen, spiegelt den potenziellen Einfluss nicht gemessener Faktoren wider. Zur Bewertung von Spillover- und umfassenderen ökologischen Effekten von Pestiziden führten wir Analysen für Ackerflächen (jährliche und Dauerkulturen zusammen) durch und verglichen diese mit Analysen über alle Ökosystemtypen hinweg (Ziel 3; siehe Supplementary Data 3 für zugehörige Abbildungen).

Positive oder negative Effekte der Pestizidkonzentrationen auf die Bodenbiodiversität (Ziel 1). Wir ordneten die einflussreichsten Pestizide, die Biodiversitätsreaktionen beeinflussen, mittels VIP-Berechnung⁸⁸ (unter Verwendung der Funktion *varImp* aus *caret*) ein. Ob der Effekt einer Pestizidkonzentration positiv oder negativ war, wurde anhand des Vorzeichens ihres Koeffizienten im jeweiligen GLM bestimmt. Diese Pestizidkonzentrationen, die Muster der Bodenbiodiversität erklären, wurden in VIP-Plots visualisiert, die positive und negative Effekte integrieren (Extended Data Abb. 5 und 6, die Abb. 3 zugrunde liegen, sowie Supplementary Data 3, Abb. 1 und 2). In den Ergebnissen diskutieren wir die Beziehungen zwischen einer bestimmten Pestizidkonzentration und jeder Biodiversitätsmetrik, wenn die Beziehung durch einen klaren Trend im entsprechenden Partialplot gestützt wird (alle Partialplots sind in Supplementary Data 5 und 6 verfügbar).

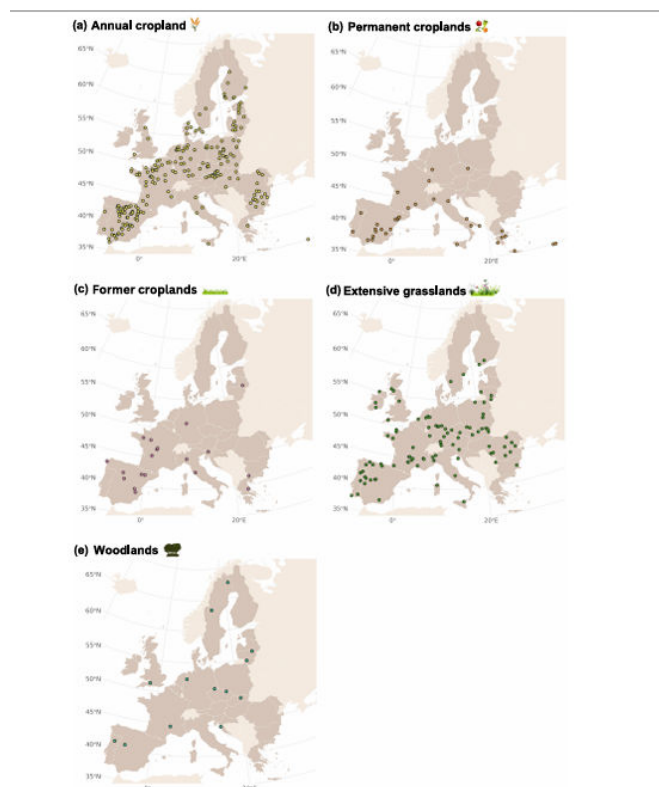
Relativer Beitrag der Pestizidkonzentrationen im Vergleich zu Bodeneigenschaften, Klima und Ökosystemtyp zur Erklärung der Bodenbiodiversität (Ziel 2). Wir nutzten Varianzzerlegung⁸⁹, um den Beitrag der verschiedenen Treiber (Pestizide, Bodeneigenschaften, Klima und Ökosystemtyp) zu Biodiversitätskennzahlen anhand ihres Anteils an der erklärten Varianz zu bewerten (z. B. Abb. 4). Dazu passten wir die Funktion *varpart* aus dem R-Paket *vegan*⁹⁰ an, indem wir r^2 -Werte von Teilmodellen (GLMs) verglichen, in denen die Zielvariable jeweils durch nur einen Treibertyp, Kombinationen aus zwei oder drei Treibern oder durch alle Treiber gemeinsam (Vollmodell) erklärt wurde. So konnten eindeutige und gemeinsam erklärte Varianzanteile isoliert werden (siehe R-Skripte mit „Variation partitioning“ im Abschnitt „Code availability“). In unseren Analysen bezeichnet der Pestizid-Treiber alle Pestizidkonzentrationen, die als relevante Prädiktoren im Modell ausgewählt wurden. Die Treiber „Bodeneigenschaften“ und „Klima“ umfassen jeweils alle edaphischen bzw. klimatischen Variablen desselben Modells (siehe Supplementary Data 2, Tabellen 7 und 8 sowie Supplementary Data 4, Tabellen 7 und 8). Entsprechend zeigt der Ökosystem-Treiber an, ob der Ökosystemtyp als relevanter Prädiktor ausgewählt wurde. Die Varianzzerlegung ermöglichte es uns zu bestimmen, welcher Treiber die Variation im Artenreichtum und in der Diversität von Bodenorganismen, der relativen Häufigkeit funktioneller Gruppen, der Diversität funktioneller Gen-Gruppen sowie der kombinierten Bodendiversität (Multidiversitätsindex) am besten erklärte.

Ergänzende Analysen

Umweltbedingungen im Zusammenhang mit dem Vorkommen von Pestiziden, die die Bodenbiodiversität prägen. Wir untersuchten die Umweltbedingungen, unter denen eine Pestizidkonzentration, die die Bodenbiodiversität beeinflusst, vorkam. Für jede in früheren GLMs beibehaltene Pestizidkonzentration prüften wir mittels Kruskal-Wallis-Test (*kruskal.test* aus dem *stats*-Paket⁹¹), ob es signifikante Unterschiede in den Mittelwerten der im selben Modell ausgewählten Umweltvariablen zwischen Standorten gab, an denen das Pestizid vorhanden war, und Standorten, an denen es nicht oberhalb der LOQ nachgewiesen wurde. Diese Analysen halfen zu identifizieren, welche Umweltbedingungen mit der Persistenz einzelner Pestizide im Boden zusammenhängen könnten (Supplementary Results 3).

Aggregierte Pestizidkennzahlen und Eins-zu-eins-Korrelationen mit der Bodenbiodiversität. Unter Verwendung der 63 nachgewiesenen Pestizidrückstände untersuchten wir die Beziehung zwischen Biodiversitätskennzahlen und dem Vorkommen von Pestiziden mittels Spearman-Korrelationen, um nichtlineare Zusammenhänge einzubeziehen (Supplementary Results 4). Wir verwendeten mehrere aggregierte Pestizidkennzahlen, darunter: (1) die Anzahl der pro Standort nachgewiesenen Pestizide (d. h. Rückstände mit positiver Konzentration), (2) die Anzahl nachgewiesener Herbizide, (3) Insektizide oder (4) Fungizide, indem wir die Anzahl der nachgewiesenen Pestizide pro Standort zählten und nach Typ53 aufteilten. Diese Kennzahlen berücksichtigen zwar keine potenziellen synergetischen oder antagonistischen Effekte zwischen Rückständen, da sie sie zu vereinfachten Variablen zusammenfassen, bieten jedoch eine konsistente Grundlage, um Pestizidrends zwischen Studien zu vergleichen. Die Korrelationen wurden sowohl nur für Ackerstandorte als auch unter Einbeziehung anderer Ökosysteme durchgeführt.

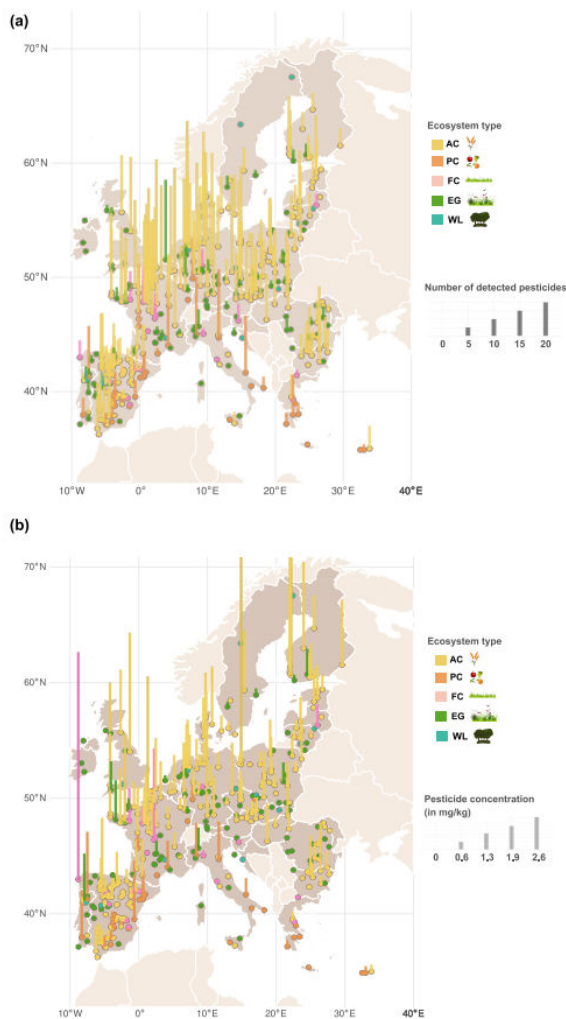
Pestizid-Risikoanalysen. Nach Franco et al.²⁸ bewerteten wir das ökotoxikologische Risiko jedes Pestizids basierend auf der NOEC. Wurden mehrere NOEC-Werte für unterschiedliche Endpunkte derselben Substanz und Art berichtet, wurde der niedrigste NOEC-Wert gewählt (NOEC_{min}). Für jedes Pestizid wurde ein Risikoquotient berechnet, der der Pestizidkonzentration geteilt durch NOEC_{min} entsprach und anschließend – in Übereinstimmung mit regulatorischen Risikobewertungspraktiken⁹² – mit einem Bewertungsfaktor von 5 multipliziert wurde. Dieser Risikoquotient wurde für insgesamt 61 Pestizide berechnet, für die ein NOEC_{min} gemeldet war (Chloridazon und Terbutryn wurden nicht in die Berechnungen einbezogen). Ein kumulatives Pestizidrisiko pro Standort wurde berechnet, indem alle Risikoquotienten der an einem Standort nachgewiesenen Pestizide summiert wurden. Kumulative Risikokennzahlen wurden zudem getrennt für Insektizide, Fungizide und Herbizide berechnet. Alle Risikokennzahlen wurden zusammen mit dem Pestizidvorkommen in die oben genannten Spearman-Korrelationsanalysen einbezogen; entsprechende Ergebnisse werden in Supplementary Results 4 dargestellt und diskutiert.



- (a) **Jährliche Ackerflächen**
- (b) **Dauerkulturen**
- (c) **Ehemalige Ackerflächen**
- (d) **Extensives Grünland**
- (e) **Wälder**

Erweiterte Datendarstellung Abb. 1 | Probenahmestandorte.

Karten mit den Standorten, an denen Bodenbiodiversität und Pestizidrückstände in fünf Ökosystemtypen gemessen wurden: (a) jährliche Ackerflächen (AC; n = 210), (b) Dauerkulturen (PC; n = 34), (c) ehemalige Ackerflächen, die kürzlich in Grünland umgewandelt wurden (FC; n = 19), (d) extensives Grünland (EG; n = 97) und (e) Wälder (WL; n = 13). Insgesamt sind 26 Länder in dunkleren Farbtönen dargestellt, die Probenahmestandorte unter den 373 untersuchten Standorten umfassen. Karte basierend auf Natural Earth (Creative Commons CC0).



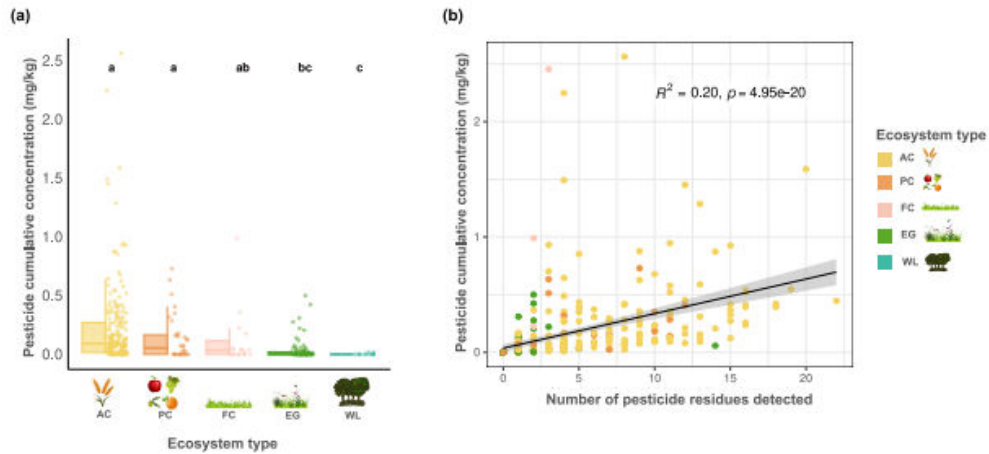
Extended Data Abb. 2 | Karten der Pestizidverteilung je Ökosystemtyp.

Karten mit Darstellung von (a) der Anzahl der Pestizide und (b) der kumulativen Konzentration der Pestizidrückstände (in mg/kg) pro Ökosystemtyp in Europa (n = 373 Standorte): jährliche Ackerflächen (AC), Dauerkulturen (PC), ehemalige Ackerflächen, die kürzlich in Grünland umgewandelt wurden (FC), extensives Grünland (EG) und Wälder (WL).

Für jeden Standort ist die Höhe des Balkens proportional zur Anzahl der nachgewiesenen Pestizidrückstände (bzw. zur kumulativen Konzentration) pro Standort.

Zur besseren Visualisierung wurden die Balken zur Anzahl der Pestizide durch zwei geteilt, während die Balken zur Konzentration mit 20 multipliziert wurden.

Karte basierend auf Natural Earth (Creative Commons CC0).

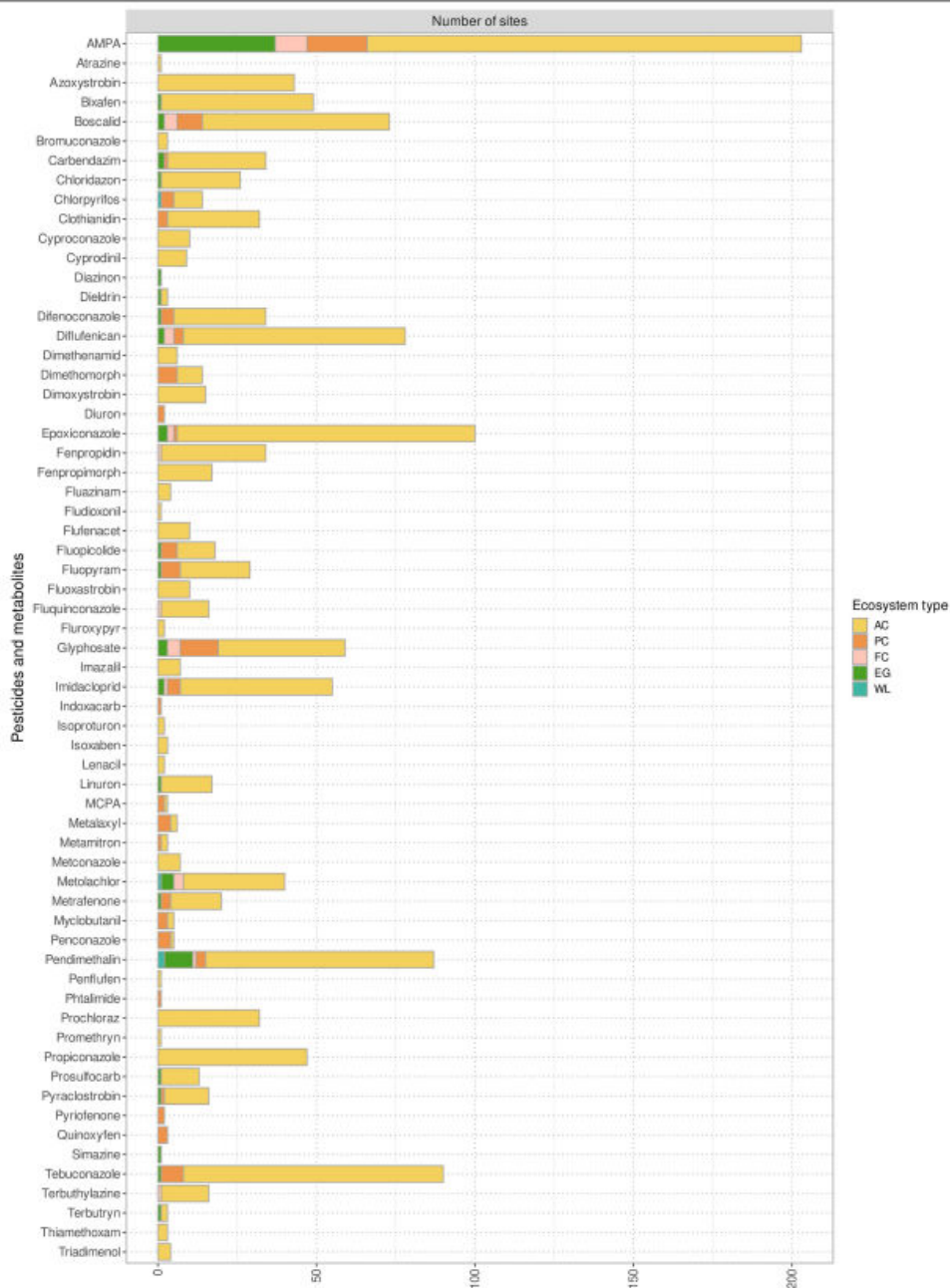


Extended Data Abb. 3 | Kumulative Pestizidkonzentration und Regression mit der Anzahl der Pestizide.

Für $n = 373$ Standorte:

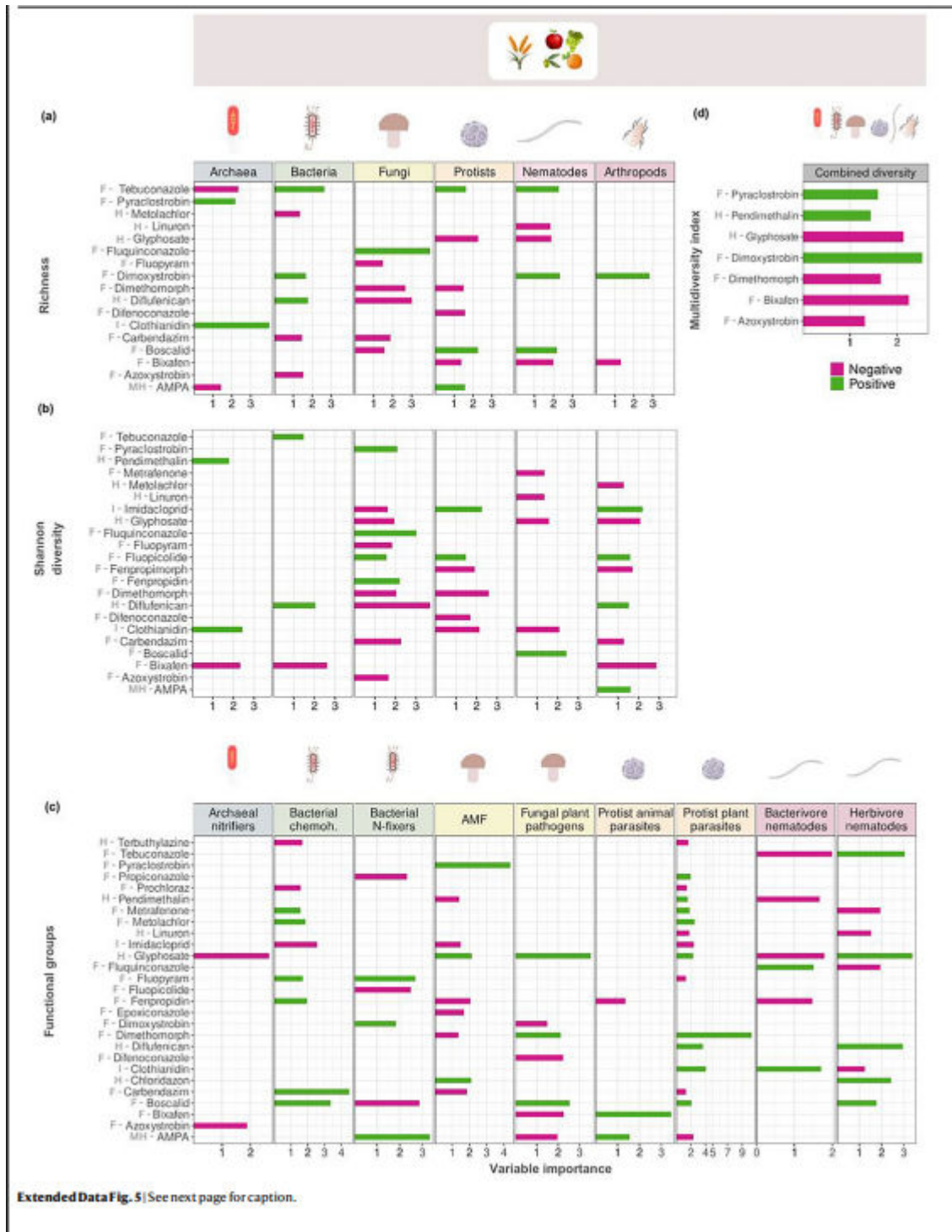
(a) Boxplots (einzelne Datenpunkte zusammen mit dem Median und der zugehörigen Streuung ($1,5 \times$ Interquartilsabstand)) der kumulativen Pestizidkonzentration (in mg/kg) über die verschiedenen Ökosystemtypen hinweg. Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede (zweiseitiger paarweiser Wilcoxon-Mehrfachvergleichstest mit Benjamini-&-Hochberg-Korrektur) zwischen den Ökosystemtypen (p -Werte: AC-PC = 0,069; AC-FC = 0,051; AC-EG < $2e-16$; AC-WL = $4,9e-06$; PC-FC = 0,681; PC-EG = 0,005; PC-WL = 0,005; FC-EG = 0,069; FC-WL = 0,017; EG-WL = 0,054).

(b) Regressionsmodelle zwischen der kumulativen Pestizidkonzentration und der Anzahl der pro Standort nachgewiesenen Pestizide. Das Bestimmtheitsmaß (R^2) und der p -Wert (p) stammen aus einem linearen Modell (der graue Bereich kennzeichnet das 95%-Konfidenzintervall).



Extended Data Abb. 4 | Boxplot zur Pestizidverteilung je Ökosystemtyp.

Anzahl der Standorte, an denen jedes einzelne Pestizid nachgewiesen wurde (summierte Werte pro Pestizid) je Ökosystemtyp: jährliche Ackerflächen (AC), Dauerkulturen (PC), ehemalige Ackerflächen, die kürzlich in Grünland umgewandelt wurden (FC), extensives Grünland (EG) und Wälder (WL); insgesamt n = 373 Standorte.



Extended Data Fig. 5 | See next page for caption.

Extended Data Abb. 5 | Reaktionen der Bodenbiodiversität auf Pestizide in Ackerflächen.

Für Ackerflächen allein (n = 244 Standorte) werden die mittels Metabarcoding erfassten Reaktionen der Bodenbiodiversität auf Pestizidkonzentrationen dargestellt (Herbizide H, Metabolit eines Herbizids MH, Fungizide F oder Insektizide I).

Gezeigt werden positive oder negative Zusammenhänge der in den Modellen beibehaltenen Pestizidkonzentrationen mit

- (a) dem beobachteten Artenreichtum der Bodenorganismen,
- (b) der Shannon-Diversität,
- (c) der relativen Häufigkeit funktioneller Gruppen und
- (d) der Multidiversität.

Die horizontalen Balken entsprechen der Variablenwichtigkeit (VIP) und sind grün (positiver Zusammenhang) oder rosa (negativer Zusammenhang) eingefärbt – entsprechend dem Vorzeichen des Koeffizienten jedes Pestizids im zugehörigen generalisierten linearen Modell (GLM).

Die Variablenwichtigkeit wurde auf Grundlage des merkmalsselektierten GLM berechnet, das Pestizidkonzentrationen, Bodeneigenschaften, Klima und Informationen zum Ökosystemtyp umfasst.

Eine Korrelationsmatrix der ursprünglichen Umweltvariablen und Prädiktoren ist in Extended Data Abb. 7 dargestellt.

Diese Analysen beziehen sich ausschließlich auf Ackerflächen (n = 244 Standorte); Analysen für alle Ökosystemtypen (n = 373 Standorte) sind in Supplementary Data 3, Abb. 1 dargestellt.



Extended Data Abb. 6 | Reaktionen funktioneller C-, N- und P-Gene im Boden auf Pestizide in Ackerflächen.

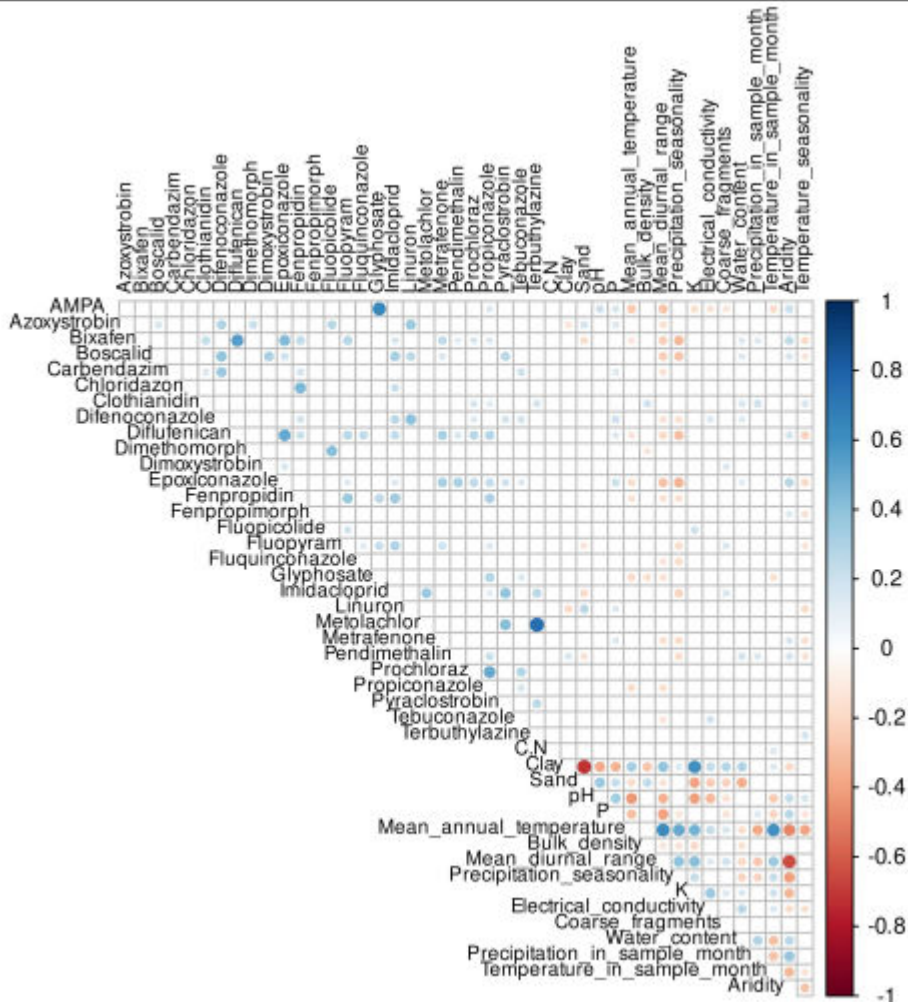
Für Ackerflächen allein (n = 234 Standorte) werden die Reaktionen funktioneller Gen-Gruppen des Kohlenstoff-, Stickstoff- und Phosphorkreislaufs (C, N, P) auf Pestizidkonzentrationen dargestellt (Herbizide H, Metabolit eines Herbizids MH, Fungizide F oder Insektizide I).

Gezeigt werden positive oder negative Zusammenhänge der in den GLMs beibehaltenen Pestizidkonzentrationen mit der Diversität jeder funktionellen Gen-Gruppe, die an den C-, N- und P-Kreisläufen beteiligt ist.

Die horizontalen Balken entsprechen der Variablenwichtigkeit (VIP) und sind grün (positiver Zusammenhang) oder rosa (negativer Zusammenhang) eingefärbt – entsprechend dem Vorzeichen des Koeffizienten jedes Pestizids im zugehörigen GLM.

Die Variablenwichtigkeit wurde auf Grundlage des merkmalsselektierten GLM berechnet, das Pestizidkonzentrationen, Bodeneigenschaften, Klima und Informationen zum Ökosystemtyp umfasst.

Diese Analysen beziehen sich ausschließlich auf Ackerflächen (n = 234 Standorte); Analysen unter Einbeziehung von Acker- und Grünlandflächen (n = 349 Standorte) sind in Supplementary Data 3, Abb. 2 dargestellt.



Extended Data Abb. 7 | Korrelationsmatrix der ursprünglichen Prädiktoren für Ackerflächen.

Für Ackerflächen allein (n = 244 Standorte): Pearson-(lineare) Korrelationsmatrix zwischen dem ursprünglichen Satz an Prädiktoren (d. h. vor der Merkmalsselektion), die in den generalisierten linearen Modellen verwendet wurden.

Dies umfasst alle Umweltvariablen sowie die in Ackerflächen am häufigsten vorkommenden Pestizide (28 von insgesamt 63 Pestiziden; alle übrigen Pestizide mit nahezu keiner Varianz wurden nicht berücksichtigt).



Extended Data Abb. 8 | Erklärte Varianz der Shannon-Diversität in Ackerflächen.

Für Ackerflächen allein (n = 244 Standorte): erklärte Varianz (in %) der Shannon-Diversität durch ausgewählte Variablen: Pestizidrückstandskonzentrationen (rot), Bodeneigenschaften (braun), Klima (blau), Ökosystemtyp (grün) sowie gemeinsam erklärte Varianz (gelb).

Detaillierte Angaben zu den einzelnen Pestizidkonzentrationen sind in Extended Data Abb. 5 dargestellt; die im jeweiligen GLM berücksichtigten Bodeneigenschaften und Klimavariablen sind in Supplementary Data 2, Tabelle 7 aufgeführt.

Diese Abbildung zeigt die Ergebnisse für die Analyse ausschließlich von Ackerflächen (n = 244 Standorte), während die Ergebnisse in Supplementary Data 3, Abb. 4 auf allen Ökosystemtypen basieren (n = 373 Standorte für Metabarcoding-Analysen).