

Ergebnisse EIP-Agri Boden.Biodiversität – Mikrobielle Gemeinschaften im Boden



Mit Unterstützung von Bund, Ländern und Europäischer Union

 Bundesministerium
Land- und Forstwirtschaft,
Regionen und Wasserwirtschaft


LE 14-20
Entwicklung für den Ländlichen Raum

Europäischer
Landwirtschaftsfonds für
die Entwicklung des
ländlichen Raums:
Hier investiert Europa in
die ländlichen Gebiete.



Inhalt

Versuchsstandorte	3
Versuche LFS Hollabrunn.....	3
Alpha-Diversität.....	4
Beta-Diversität.....	5
Taxonomische Zusammensetzung	7
Pilze	8
Prokaryota	10
Absolute Quantifizierung	12
Versuche LFS Pyhra	14
Alpha-Diversität.....	14
Beta-Diversität.....	15
Taxonomische Zusammensetzung	16
Pilze	16
Prokaryota	18
Absolute Quantifizierung	19
Versuche Landwirte und Gesamtvergleiche	21
Glossar	23
Alpha-Diversität.....	23
Actinobacteriota.....	23
Archaeen	23
Beta-Diversität.....	23
Hochdurchsatzsequenzierung.....	24
Nitrososphaerales.....	24
OTU – Operational Taxonomic Unit	24
PCoA – Principal Coordinate Analysis (Hauptkoordinatenanalyse)	24
Planctomycetota	24
Prokaryota	24
Signifikanzlevels.....	24
Taxonomie.....	25

Versuchsstandorte

An den Versuchsstandorten der LFS Hollabrunn sowie LFS Pyhra sowie auf den Flächen der an den Praxisversuchen beteiligten Landwirte wurden Untersuchungen zu den mikrobiellen Gemeinschaften im Boden durchgeführt.

An den beiden LFS gibt es Langzeitversuche zur Bodenbearbeitung mit folgenden Varianten:

- **CON** – konventionelle wendende Bodenbearbeitung mit Pflug
- **RED** – reduzierte Bodenbearbeitung mit Grubber
- **MIN** – minimale Bodenbearbeitung mit Scheibenegge
- **DIR** – Direktsaat ohne Bodenbearbeitung

Zu verschiedenen Zeitpunkten wurden Proben vom Oberboden genommen um daraus die DNA zu isolieren. Über die Hochdurchsatzsequenzierung wurden dann die Gemeinschaften der Pilze sowie der Prokaryoten in den Proben bestimmt. Aus den Daten der mikrobiellen Gemeinschaften konnten dann in weiterer Folge verschiedene Aspekte der Biodiversität und die relativen Häufigkeiten ausgewählter Gruppen berechnet werden.

Im Anhang befindet sich ein Glossar zur Erklärung verschiedener Begriffe aus der mikrobiellen Ökologie.

Versuche LFS Hollabrunn

Der Langzeitversuch zur Bodenbearbeitung an der LFS Hollabrunn läuft bereits seit 2005. Die vier unterschiedlichen Varianten sind jeweils dreifach wiederholt.

Die Parzellen des Bodenbearbeitungsversuchs wurden nach der Ernte im Herbst 2021 erstmals für die Bestimmung der mikrobiellen Gemeinschaften beprobt. Diese Proben dienen als Referenz für die darauffolgenden Versuche zu den Zwischenbegrünungen.

Ab Herbst 2021 wurde der Bodenbearbeitungsversuch mit Zwischenbegrünungsvarianten kombiniert, die in drei Streifen quer zu den Bodenbearbeitungen gelegt wurden:

- **Keine Zwischenfrucht**
- **Standard-Zwischenfruchtmischung** (drei Arten: Buchweizen, Phacelia, Senf)
- **Diverse Zwischenfruchtmischung** (zwölf Arten: Abessinischer Kohl, Felderbse, Öllein, Perserklee, Phacelia, Tiefenrettich, Sommerwicke, Sonnenblume, Sorghum, Weißklee, Winterwicke, Ramtillkraut)

Zusätzlich wurden neben dem bewirtschafteten Versuchspartellen auch Proben von den nicht bewirtschafteten **Feldrändern** als weitere Referenzen genommen. Durch die Beprobung von Feldrändern können ganz allgemein Effekte der Bodenbewirtschaftung (Düngung, Aussaat, Ernte) im Vergleich zu unbewirtschafteten Flächen mit permanenter Vegetationsdecke beobachtet werden.

Nach Anlage der Zwischenfruchtvarianten wurde jeweils in den Jahren 2022, 2023 und 2024 beprobt. Aus den Proben wurde DNA isoliert um dann über die Hochdurchsatzsequenzierung die Pilze bzw. die Prokaryoten zu bestimmen.

Alpha-Diversität

An der LFS Hollabrunn nimmt der Artenreichtum der Pilze mit abnehmender Bodenbearbeitung zu, die Unterschiede sind statistisch stark signifikant (siehe Abbildung 1 obere Reihe). Der Shannon-Index nimmt ebenso zu (siehe Abbildung 1 untere Reihe), doch sind die Unterschiede weniger deutlich ausgeprägt als beim Artenreichtum. Für die Berechnung der Unterschiede wurden die Feldrandvarianten herausgenommen, die zu einer stärkeren Streuung der Resultate geführt haben. Es konnte kein eindeutiger Trend für die Feldrandvarianten gefunden werden.

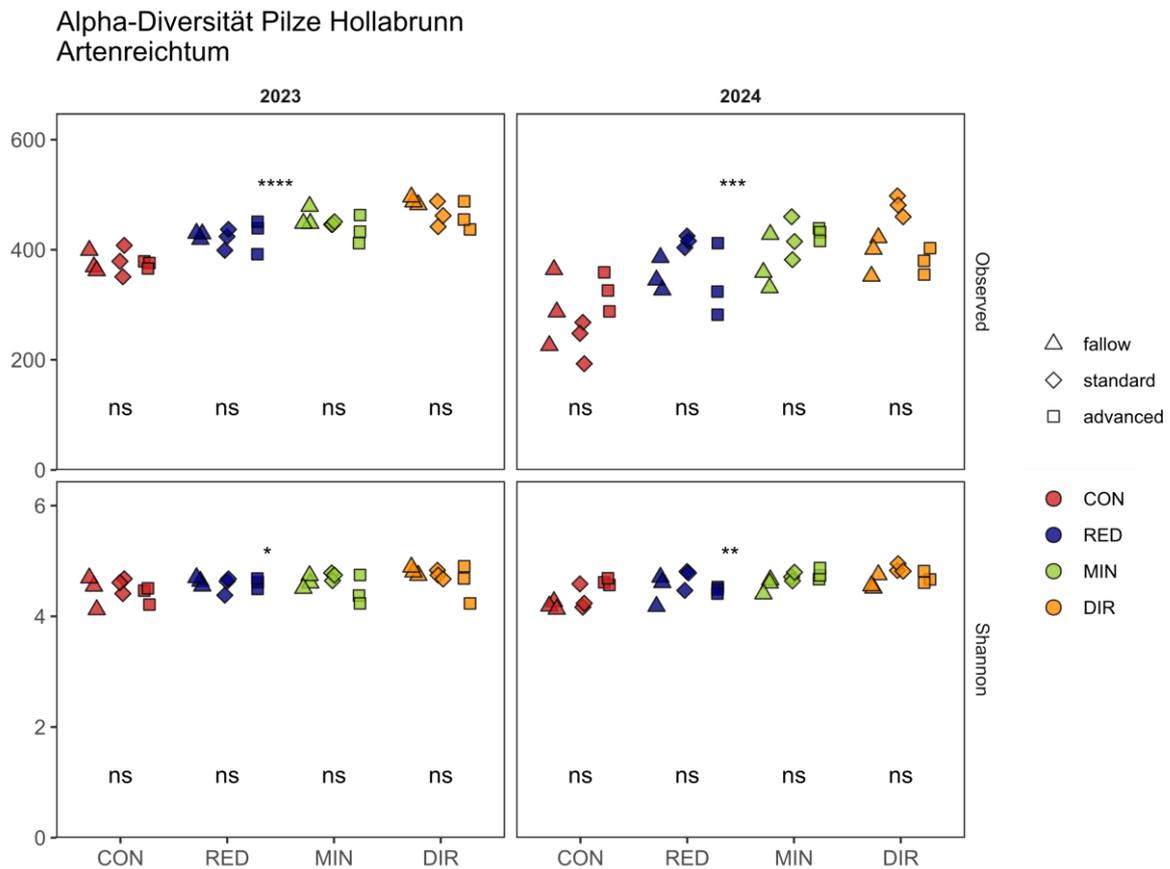


Abbildung 1: Alpha Diversität der Pilze in Ackerböden der Versuchsflächen der LFS Hollabrunn zur Bodenbearbeitung und zum Zwischenfruchtanbau. Die Feldrandvarianten wurden nicht gezeigt. Im oberen Teil ist der Artenreichtum (Observed), im unteren Teil der Shannon-Index gezeigt, jeweils für die Jahre 2023 und 2024. Während die Unterschiede zwischen den Bodenbearbeitungsvarianten statistisch signifikant sind (Signifikanzlevels über den Graphen), gibt es zwischen den Zwischenbegrünungsvarianten keinerlei Einflüsse (unter den Graphen).

Wie in praktisch allen Studien zur mikrobiellen Ökologie im Boden ist die Alpha-Diversität der Prokaryoten deutlich höher als die der Pilze – sowohl der Artenreichtum als auch der Shannon-Index.

Auch bei den Prokaryota gibt es auf den Versuchsflächen der LFS Hollabrunn in den beiden Jahren 2023 und 2024 eine statistisch signifikante Zunahme des Artenreichtums (Abbildung 2 obere Reihe) mit abnehmender Bodenbearbeitung, aber die Unterschiede zwischen den einzelnen Varianten sind extrem gering. Für den Shannon-Index gibt es diese Unterschiede nur im Jahr 2024, aber nicht im Jahr 2023 (Abbildung 2 untere Reihe).

Alpha-Diversität Prokaryota Hollabrunn Artenreichtum

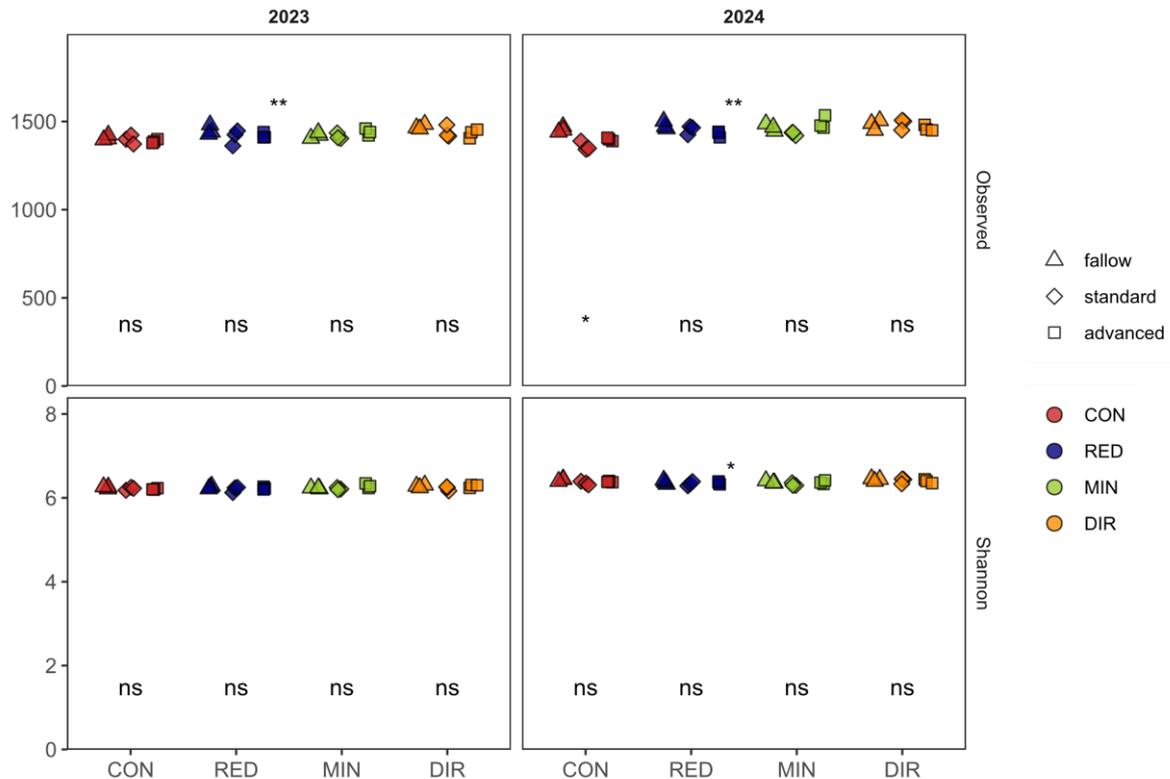


Abbildung 2: Alpha Diversität der Prokaryota in Ackerböden der Versuchsflächen der LFS Hollabrunn zur Bodenbearbeitung und zum Zwischenfruchtanbau. Die Feldrandvarianten wurden nicht gezeigt. Im oberen Teil ist der Artenreichtum (Observed), im unteren Teil der Shannon-Index gezeigt, jeweils für die Jahre 2023 und 2024. Während die Unterschiede zwischen den Bodenbearbeitungsvarianten statistisch signifikant sind (Signifikanzlevels über den Graphen), gibt es zwischen den Zwischenbegrünungsvarianten mit einer Ausnahme – Artenreichtum in CON im Jahr 2024 – keinerlei Einflüsse (unter den Graphen)

Beta-Diversität

Durch die Analyse der Beta-Diversität werden Unterschiede zwischen den mikrobiellen Gemeinschaften aufgrund unterschiedlicher Behandlungsvarianten offensichtlich. Im Folgenden sind die Ergebnisse der Versuche an der LFS Hollabrunn für alle vier Untersuchungsjahre dargestellt. Aufgrund methodischer Unterschiede zwischen den einzelnen Hochdurchsatzsequenzierungen ist es derzeit nicht möglich, die Daten aus den verschiedenen Jahren gemeinsam darzustellen.

Von Beginn an war im Langzeitversuch zur Bodenbearbeitung an der LFS Hollabrunn ein deutlicher Gradient entlang der Intensität der Bodenbearbeitung sowohl in den Gemeinschaften der Pilze als auch der Bakterien zusehen (siehe Daten vom Herbst 2021 in Abbildung 3). Die Feldränder wurden zu diesem Zeitpunkt nicht beprobt.

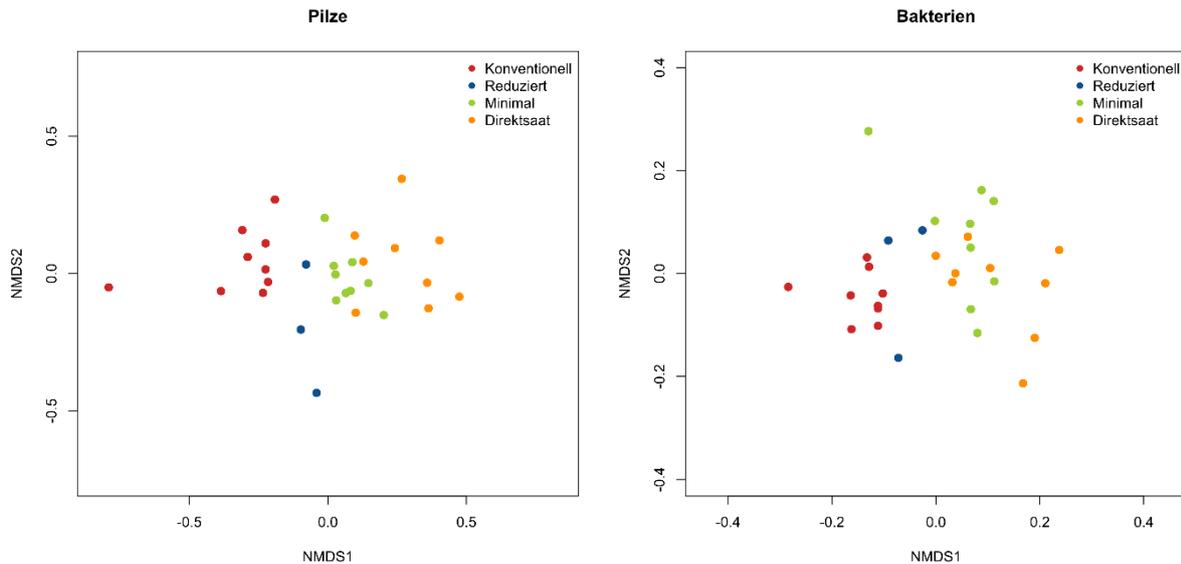


Abbildung 3: Probenahme Herbst 2021 – Hauptkomponentenanalyse der Gemeinschaften von Pilzen (links) und Bakterien (rechts) in Ackerböden der Langzeitversuchsflächen der Landwirtschaftlichen Fachschule Hollabrunn zur Bodenbearbeitung. Erläuterungen siehe Text.

Ab dem Probenahmejahr 2022 wurden neben den bewirtschafteten Flächen auch die Feldränder zusätzlich beprobt. Die Probenahmezeitpunkte waren Juni 2022, September 2023 und März 2024, d.h. nach der Ernte in den beiden ersten Jahren und vor der Aussaat im letzten Jahr. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4 zusammengefasst.

Für die Pilzgemeinschaften ist bei allen Probenahmen eine deutliche Trennung der Feldrandflächen von den bewirtschafteten Flächen zu erkennen (Abbildung 4 linke Hälfte). In den bewirtschafteten Flächen zeigt sich der Gradient in der Intensität Bodenbearbeitung, wie er schon im Jahr 2021 zu sehen war. Zwischen den Probenahmen im September 2023 und März 2024 haben sich die Pilzgemeinschaften im Boden nur geringfügig verändert.

Für die Prokaryota wurden ab dem Jahr 2022 durch Änderungen im Protokoll für die Hochdurchsatzsequenzierung neben den Bakterien auch die Archaeen erfasst (Ergebnisse siehe Abbildung 4 rechte Hälfte). Im Juni 2022 trennen sich auch für die Prokaryoten die Feldrandflächen deutlich von den bewirtschafteten Flächen ab. In den beiden darauffolgenden Jahren ist diese Trennung weniger deutlich ausgeprägt. Der Gradient in der Bodenbearbeitungsintensität spiegelt sich bei den beiden Probenahmen nach der Ernte – Juni 2022 und September 2023 – deutlich in den Gemeinschaften der Prokaryoten wider. Vor der Aussaat im Jahr 2024 zeigt sich dahingegen zwar eine Abtrennung der konventionell bearbeiteten Flächen, wohingegen die restlichen Flächen – RED, MIN und DIR – stark überlappen. Diese drei Bodenbearbeitungsvarianten zeigen also vor der Aussaat sehr ähnliche prokaryotische Gemeinschaften.

Für die Probenahmen September 2023 und März 2024, wo ein direkter Vergleich möglich ist, ist überdies eine Verschiebung der prokaryotischen Gemeinschaften zu erkennen: Während nach der Ernte 2023 in der PCoA alle Punkte rechts der Mittelachse zu finden sind, verschieben sich diese bis in den Frühling 2024 Großteils auf die linke Bildhälfte.

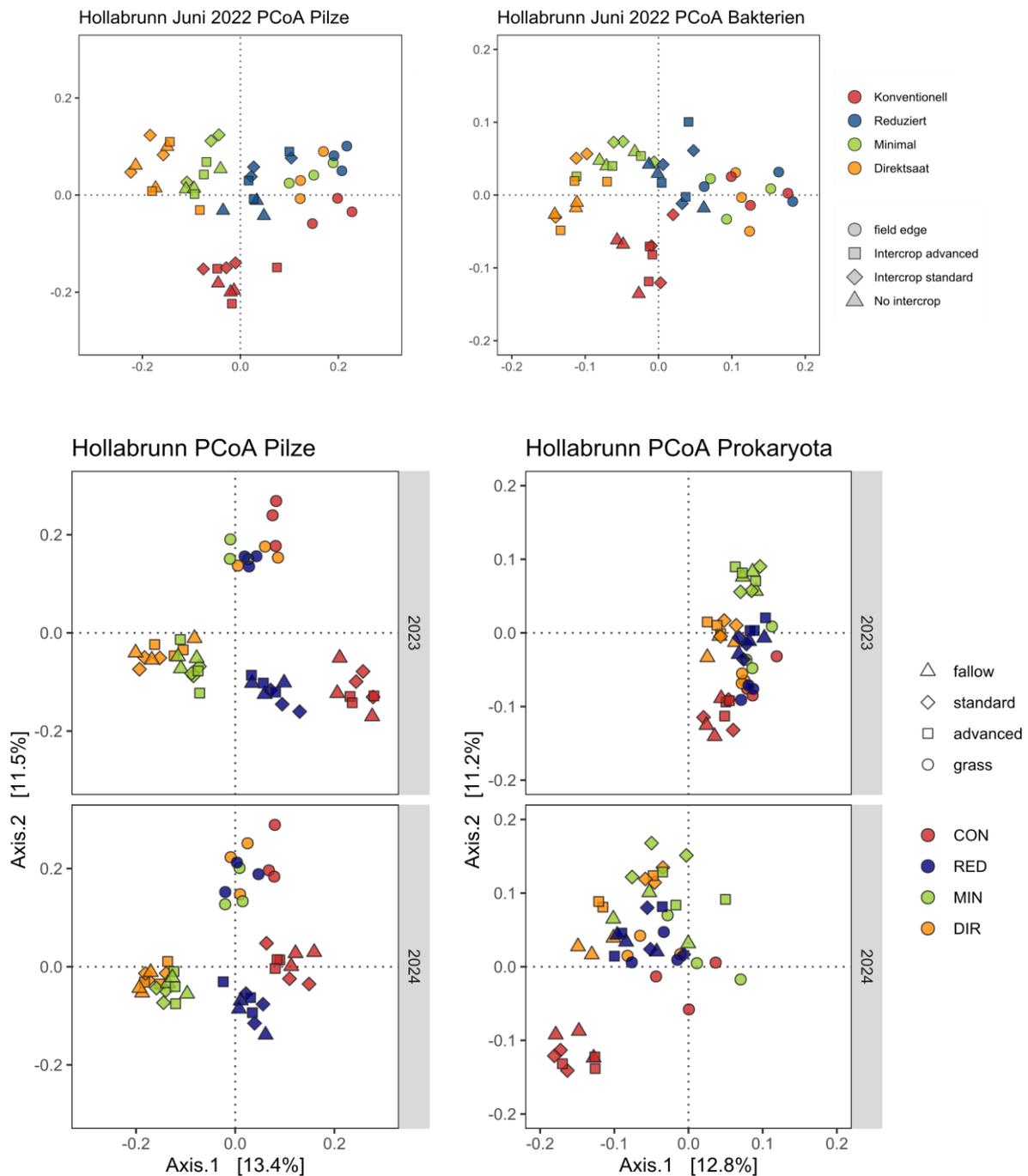


Abbildung 4: Probenahmen 2022 bis 2024 – Hauptkomponentenanalyse (PCoA) der Gemeinschaften von Pilzen (links) und Bakterien (rechts) in Ackerböden der Versuchsflächen der LFS Hollabrunn zu Bodenbearbeitung und Zwischenfruchtanbau. Die Bodenbearbeitungsvarianten sind in unterschiedlichen Farben, die Zwischenbegrünnungsvarianten mit unterschiedlichen Symbolen dargestellt. Erläuterungen siehe Text.

Taxonomische Zusammensetzung

Im Folgenden werden Unterschiede verschiedener taxonomischer Gruppen der Pilze und Prokaryoten in den verschiedenen Varianten der Bodenbearbeitung und Zwischenbegrünnung besprochen. Aus den Daten der Hochdurchsatzsequenzierung können relative Häufigkeiten für die einzelnen Arten berechnet werden, die dann wieder zu höheren taxonomischen Einheiten zusammengefasst werden können. Relative Häufigkeiten in Prozent dürfen nicht mit absoluten Häufigkeiten verwechselt werden. Da sich

die Gesamtbiomasse ändert, können die Verhältnisse bei den absoluten Häufigkeiten anders ausschauen als bei den relativen Häufigkeiten.

Pilze

Wie in Ackerböden üblich, sind auch in den Böden der LFS Hollabrunn zum überwiegenden Teil Pilze aus dem Phylum der Ascomycota zu finden: unabhängig von der Bodenbearbeitung und den Zwischenbegrünungsvarianten gehören in fast allen Proben über 70 % der Pilze zu den Ascomycota. Während sich am relativen Anteil der Ascomycota als ganze Gruppe durch die verschiedenen Bewirtschaftungsformen wenig ändert, kommt es innerhalb der Ascomycota bei bestimmten Gruppen sehr wohl zu Verschiebung. Siehe dazu weiter unten. Als zweites wichtiges Phylum sind dann die Basidiomycota mit unter 20 % in allen Proben zu finden. Auch hier gibt es kaum konsistente signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Varianten.

Bei den darauffolgenden Phyla gibt es dahingegen sehr wohl deutliche Unterschiede in den relativen Häufigkeiten zu beobachten: Die Mucoromycota (Abbildung 5 linke Hälfte) finden sich in höheren relativen Häufigkeiten in den Varianten mit stärkerer Bodenbearbeitung, während in der DIR-Variante die relative Häufigkeit unter 5% liegt. Dieser Trend ist sowohl nach der Ernte im September 2023 als auch vor der Aussaat im März 2024 zu beobachten, auch wenn die relativen Häufigkeiten nach der Ernte tendenziell höher liegen. Mucoromycota können leicht verfügbare Nährstoffe wie sie in einfachen Zuckern, Stärke oder Aminosäuren zu finden sind, schnell verwerten. Soweit diese leicht verfügbaren Nährstoffe vorhanden sind, wird das Substrat sehr rasch besiedelt. Durch intensive Bodenbearbeitung werden frische Pflanzenreste in den Boden eingearbeitet, wodurch kurzfristig leicht verfügbare Nährstoffe für die Mucoromycota vorhanden sind. In den Feldrandstreifen sind über alle Bodenbearbeitungsvarianten hinweg nur geringe Mengen an Mucoromycota zu finden.

Ein gegenteiliger Trend ist dahingegen bei den Glomeromycota (Abbildung 5 rechte Hälfte) zu beobachten: Die relativen Häufigkeiten sind bei intensiverer Bodenbearbeitung niedrig und in der DIR-Variante am höchsten. Glomeromycota können als Symbiosepartner mit den Wurzeln vieler Pflanzen die sogenannte Arbuskuläre Mykorrhiza ausbilden. Damit werde die Glomeromycota direkt von der Pflanze mit Kohlenstoffquellen und damit mit einer Energiequelle versorgt, und nehmen dafür im Gegenzug mineralische Nährstoffe wie vor allem Phosphat aber u.a. auch Stickstoff aus dem Boden auf. Diese Nährstoffe werden dann zum Teil an die Pflanze weitergegeben. Der negative Effekt von Bodenbearbeitung auf Glomeromycota wurde bereits in anderen Studien beobachtet. Wenig überraschend ist dementsprechend auch, dass an den Feldrändern tendenziell höhere relative Häufigkeiten von Glomeromycota gefunden werden. Interessant ist es aber, dass vor der Aussaat teilweise höhere relative Abundanzen an Glomeromycota gefunden werden als vor der Ernte, und dass die höchsten Werte vor der Aussaat in einer Variante ohne Zwischenfrucht (über 1,5 % bei DIR ohne Zwischenfrucht) gefunden wurden.

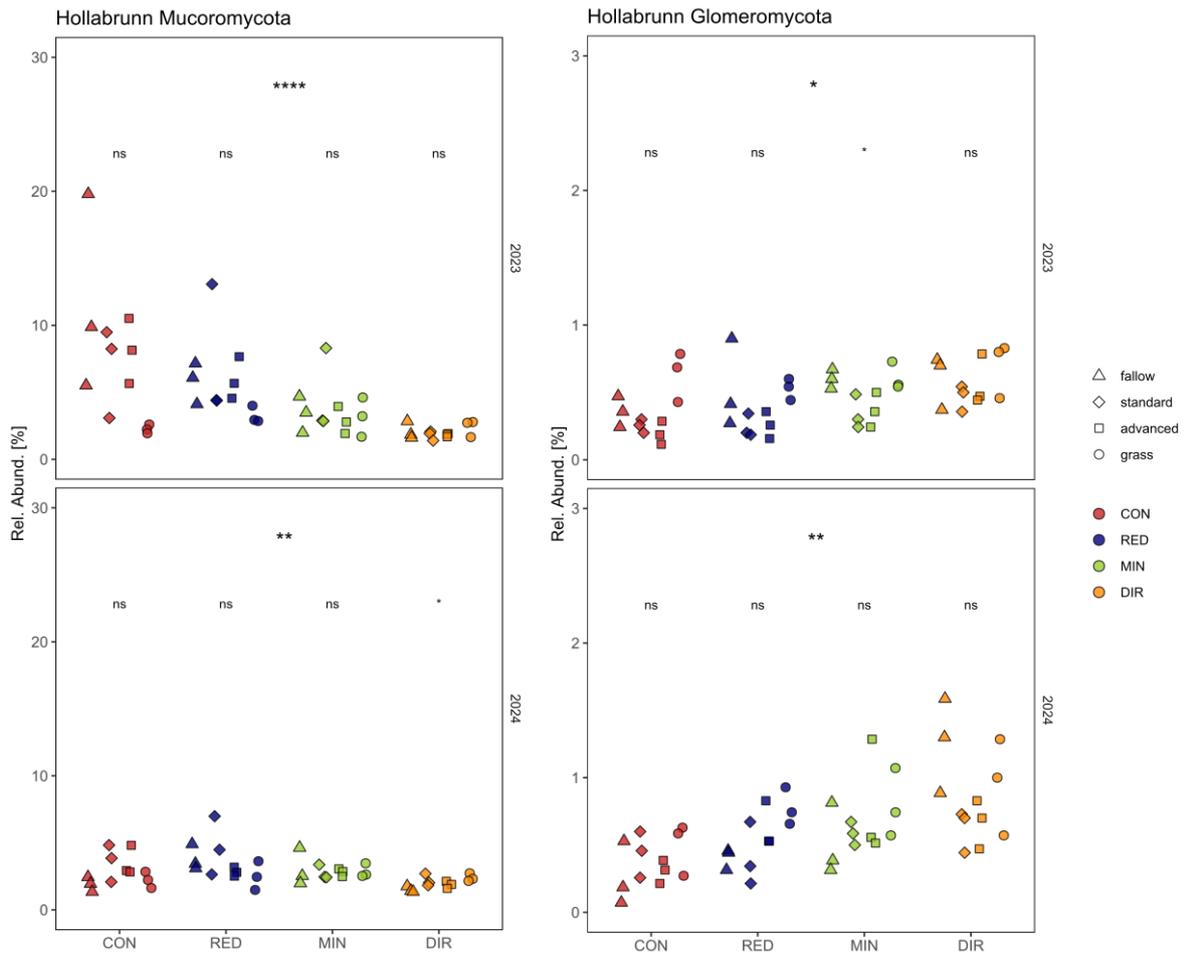


Abbildung 5: Relative Häufigkeiten von Mucoromycota und Glomeromycota in Ackerböden der Versuchsflächen der LFS Hollabrunn zur Bodenbearbeitung und zum Zwischenfruchtanbau für die Jahre 2023 und 2024. Während die Unterschiede zwischen den Bodenbearbeitungsvarianten statistisch signifikant sind (obere Signifikanzlevel), gibt es zwischen den Zwischenbegrünungsvarianten kaum signifikante Unterschiede (untere Reihe der Signifikanzlevels)

Neben den Verschiebungen auf der Ebene von Phyla, gibt es auch deutliche Änderungen auf niedrigeren taxonomischen Ebenen. Als Beispiel sei hier die Gattung *Fusarium* genannt (Abbildung 6). Sowohl nach der Ernte im September 2023 als auch vor der Aussaat im März 2024 steigt die relative Häufigkeit von *Fusarium* mit abnehmender Intensität der Bodenbearbeitung an, wobei der Effekt vor der Aussaat im März 2024 deutlicher zu erkennen ist. Bei der DIR-Variante gibt es nach der Ernte 2023 überdies einen statistisch signifikanten Unterschied für die Zwischenbegrünungsvarianten mit einer stark erhöhten relativen Häufigkeit von *Fusarium* in der Standard-Zwischenbegrünungsvariante. Vor der Aussaat im März 2024 sind zwar keinerlei statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Zwischenbegrünungsvarianten zu erkennen, aber es ist über alle Bodenbearbeitungsvarianten eine Tendenz zu höherem *Fusarium*-Druck ohne Zwischenbegrünung zu erkennen.

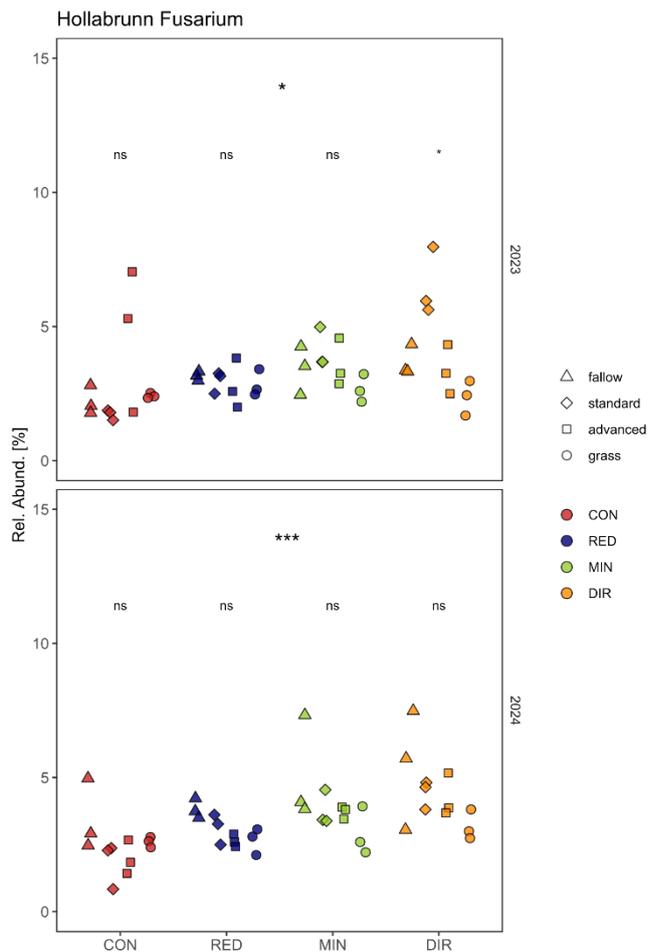


Abbildung 6: Relative Häufigkeiten von Fusarium in Ackerböden der Versuchsflächen der LFS Hollabrunn zur Bodenbearbeitung und zum Zwischenfruchtanbau für die Jahre 2023 und 2024. Während die Unterschiede zwischen den Bodenbearbeitungsvarianten statistisch signifikant sind (obere Signifikanzlevel), gibt es zwischen den Zwischenbegrünungsvarianten kaum signifikante Unterschiede (untere Reihe der Signifikanzlevels).

Prokaryota

Auch bei den Prokaryota sind auf Phylumebene stark signifikante Unterschiede zwischen den Varianten der Bodenbearbeitung zu beobachten: Die Actinobacteriota nehmen mit der Intensität der Bodenbearbeitung ab, d.h. in der CON-Variante sind sie besonders hoch, und in der DIR-Variante deutlich niedriger (siehe Abbildung 7 obere Reihe). Die Planctomycetota verhalten sich genau umgekehrt, und sind in der CON-Variante mit geringeren relativen Häufigkeiten zu finden als in den anderen Varianten (Abbildung 7 untere Zeile). Statistisch signifikante Unterschiede bei den Zwischenbegrünungsvarianten ergeben sich vor allem durch Unterschiede der bewirtschafteten Flächen zu den Feldrändern.

Hollabrunn Top Phylum Bakterien

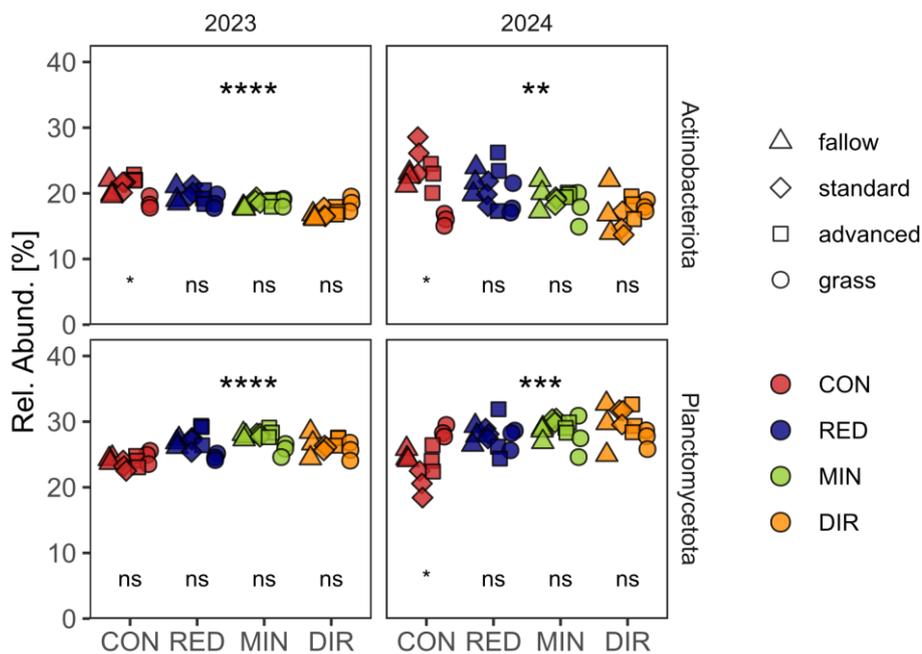


Abbildung 7: Relative Häufigkeiten von Actinobacteriota und Planctomycetota in Ackerböden der Versuchsflächen der LFS Hollabrunn zur Bodenbearbeitung und zum Zwischenfruchtanbau für die Jahre 2023 und 2024. Während die Unterschiede zwischen den Bodenbearbeitungsvarianten statistisch signifikant sind (obere Signifikanzlevel), gibt es zwischen den Zwischenbegrünungsvarianten kaum signifikante Unterschiede (untere Reihe der Signifikanzlevels).

Wie schon in der Beta-Diversität ersichtlich (siehe PCoA Abbildung 4 rechte Hälfte) gibt es bei den Prokaryota deutliche Unterschiede zwischen den beiden Probenahmezeitpunkten – nach der Ernte im September 2023 bzw. vor der Aussaat im März 2024. Eine Gruppe von Organismen, die diese starken jahreszeitlichen Unterschiede widerspiegelt ist die Ordnung Nitrososphaerales (Abbildung 8). Während nach der Ernte fast durchgehend relative Häufigkeiten von über 8 % (markiert durch eine strichlierte Linie in Abbildung 8), sinken diese Werte bis zum März im Folgejahr auf fast durchgehend unter 8 % ab. Dieser Effekt zeigt sich über alle Bodenbearbeitungs- und Zwischenbegrünungsvariante – auch an den Feldrändern. Bei den Nitrososphaerales handelt es sich um Archaeen, die zur Ammonium-Oxidation befähigt sind. Nach der Ernte wird vermutlich über die Mineralisierung aus den Ernterückständen Ammonium frei, das dann in Nitrit und in weiterer Folge Nitrat umgewandelt werden kann.

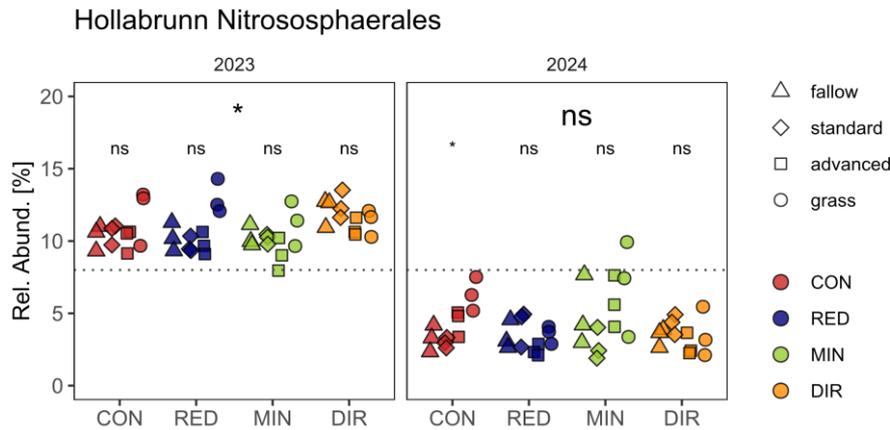


Abbildung 8: Relative Häufigkeiten von Nitrososphaerales in Ackerböden der Versuchsfelder der LFS Hollabrunn zur Bodenbearbeitung und zum Zwischenfruchtanbau für die Jahre 2023 und 2024. Die Unterschiede zwischen den Varianten der Bodenbearbeitung und der Zwischenbegrünung sind nur sehr schwach ausgeprägt und nur in wenigen Kombinationen signifikant. Der jahreszeitliche Unterschied ist dahingegen sehr viel deutlicher ausgeprägt. Zur Verdeutlichung ist bei einer relativen Häufigkeit von 8% eine Linie eingezeichnet.

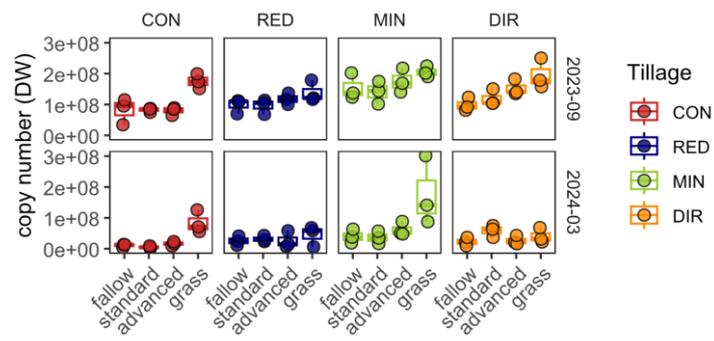
Absolute Quantifizierung

Über die digitale PCR oder dPCR wurden die Pilze und Bakterien in den Proben aus den Jahren 2023 und 2024 quantifiziert (siehe Abbildung 9). Während bei der Hochdurchsatzsequenzierung zwar eine sehr gute taxonomische Auflösung gegeben ist, man aber nur relative Häufigkeiten für die einzelnen Gruppen bekommt, ist über die dPCR eine Bestimmung der absoluten Häufigkeit möglich. Mit der dPCR lässt sich die Kopienzahl eines phylogenetischen Markers – z.B. für Pilze oder für Bakterien – sehr genau bestimmen, man erhält damit einen Anhaltspunkt für die jeweilige Biomasse. Die Werte werden in Kopienzahl pro Gramm Trockengewicht Boden angegeben.

Für die Pilze lag die Kopienzahl in den Proben nach der Ernte im September 2023 deutlich höher als vor der Aussaat im März 2024. Des Weiteren wurden fast durchgehend die höchsten Kopienzahlen in den Feldrandproben gefunden, während in der intensiv bearbeiteten CON-Variante die niedrigsten Kopienzahlen gefunden wurden. In den weniger intensiv bearbeiteten Varianten RED, MIN und DIR ist überdies eine Steigerung der Kopienzahlen der Pilze durch die Zwischenbegrünungsvarianten von "keine" über "Standard" zu "divers" zu beobachten. Besonders nach der Ernte im September 2023 sind diese Tendenzen relativ deutlich ausgeprägt.

Bei den Bakterien ergibt sich ein sehr ähnliches Bild für die jahreszeitlichen Unterschiede. Die anderen Effekte sind weniger deutlich ausgeprägt, aber zum Teil ebenfalls zu beobachten.

Hollabrunn Copy Number Fungi



Hollabrunn Copy Number Bact

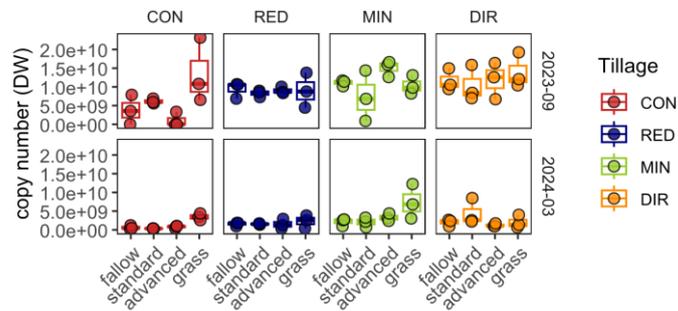


Abbildung 9: Kopienzahlen für Pilze (obere Reihe) und Bakterien (untere Reihe) in den Proben aus den Versuchsflächen der LFS Hollabrunn.

Versuche LFS Pyhra

Alpha-Diversität

Ähnlich wie beim Exaktversuch an der LFS Hollabrunn konnte auch an der LFS Pyhra eine Steigerung des Artenreichtums der Pilze mit abnehmender Bodenbearbeitung für alle drei Probenahmezeitpunkte – im Oktober nach der Ernte für die Jahre 2022 und 2023 sowie im April vor der Aussaat im Jahr 2024 – beobachten (Abbildung 10 obere Reihe). Für den Shannon-Index kann dieser Effekt nur bei der Probenahme im Jahr 2022 beobachtet werden, aber nicht in den beiden anderen Jahren.

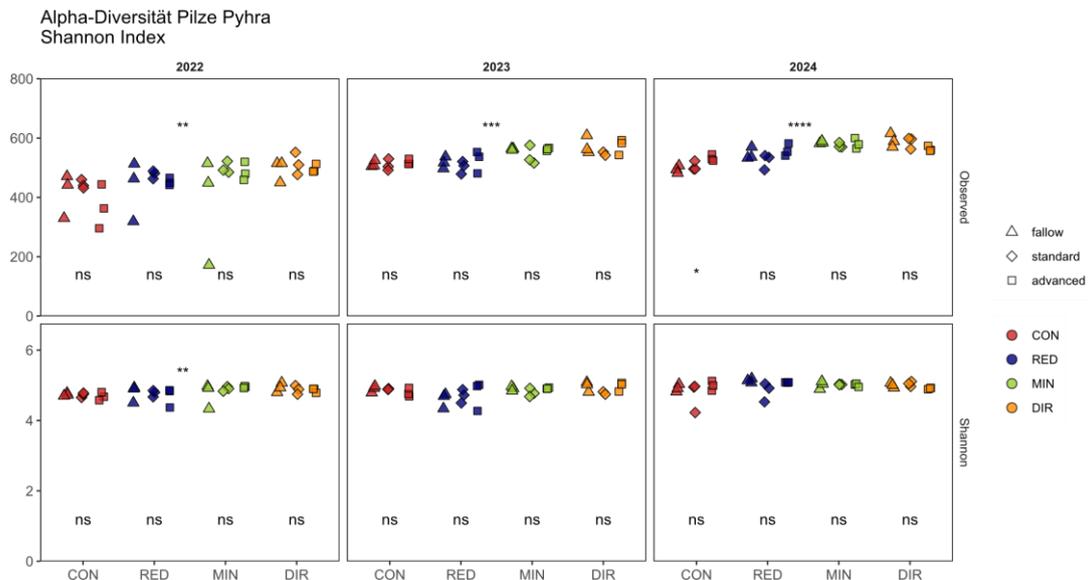


Abbildung 10: Alpha Diversität der Pilze in Ackerböden der Versuchsflächen der LFS Pyhra zur Bodenbearbeitung und zum Zwischenfruchtanbau. Im oberen Teil ist der Artenreichtum (Observed), im unteren Teil der Shannon-Index gezeigt, jeweils für die Jahre 2022 bis 2024. Während die Unterschiede zwischen den Bodenbearbeitungsvarianten statistisch signifikant sind (Signifikanzlevels über den Graphen), gibt es zwischen den Zwischenfruchtvarianten keinerlei Einflüsse (unter den Graphen).

Bei den Prokaryota ist dahingegen nur nach der Ernte im Oktober 2022 eine signifikante Zunahme des Artenreichtums sowie vom Shannon-Index zu sehen, nicht aber in den beiden folgenden Jahren (Abbildung 11).

Alpha-Diversität Prokaryota Pyhra
Shannon Index

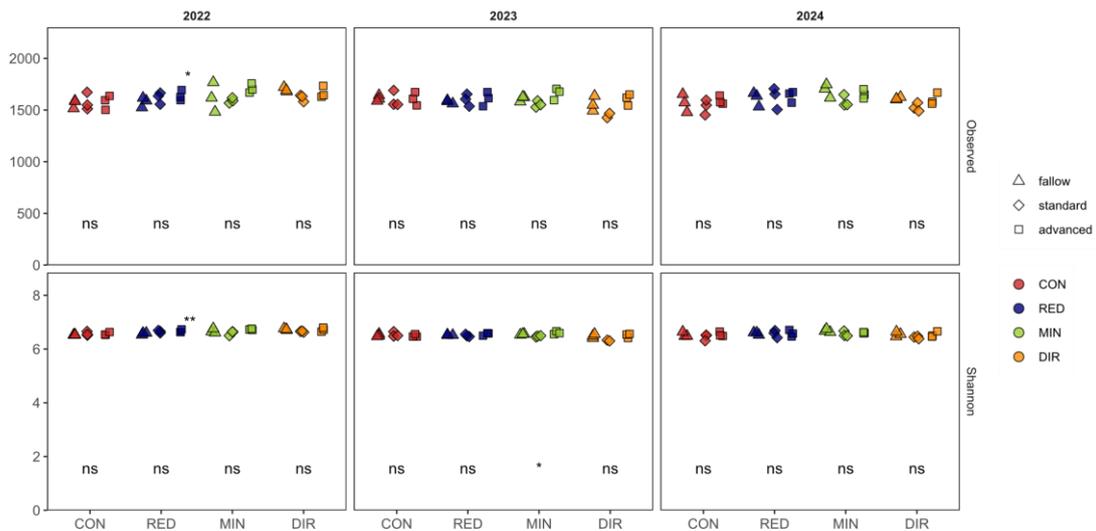


Abbildung 11: Alpha Diversität der Prokaryota in Ackerböden der Versuchsflächen der LFS Pyhra zur Bodenbearbeitung und zum Zwischenfruchtanbau. Im oberen Teil ist der Artenreichtum (Observed), im unteren Teil der Shannon-Index gezeigt, jeweils für die Jahre 2022 bis 2024. Während die Unterschiede zwischen den Bodenbearbeitungsvarianten statistisch signifikant sind (Signifikanzlevels über den Graphen), gibt es zwischen den Zwischenbegrünungsvarianten keinerlei Einflüsse (unter den Graphen).

Beta-Diversität

Für die Beta-Diversität können beim Versuch an der LFS Pyhra ähnliche Muster wie an der LFS Hollabrunn beobachtet werden: Zu allen drei Probenahmezeitpunkten ist sowohl für die Pilze als auch für die Prokaryoten der Gradient in der Bodenbearbeitungsintensität deutlich zu erkennen (siehe Abbildung 12). Bei den Pilzen kommt eine teilweise Abtrennung der Standard-Zwischenbegrünungsvariante von den beiden anderen Varianten – keine bzw. sehr diverse Zwischenbegrünung – dazu. Es wird jedoch vermutet, dass dies eher mit der Lage der verschiedenen Zwischenbegrünungsstreifen zu tun hat als mit den unterschiedlichen Varianten. Das Feld mit den Versuchspartellen ist an einem Ende etwas geneigt, wodurch die Wasserverhältnisse in den einzelnen Streifen für die Zwischenbegrünungsvarianten unterschiedlich sind.

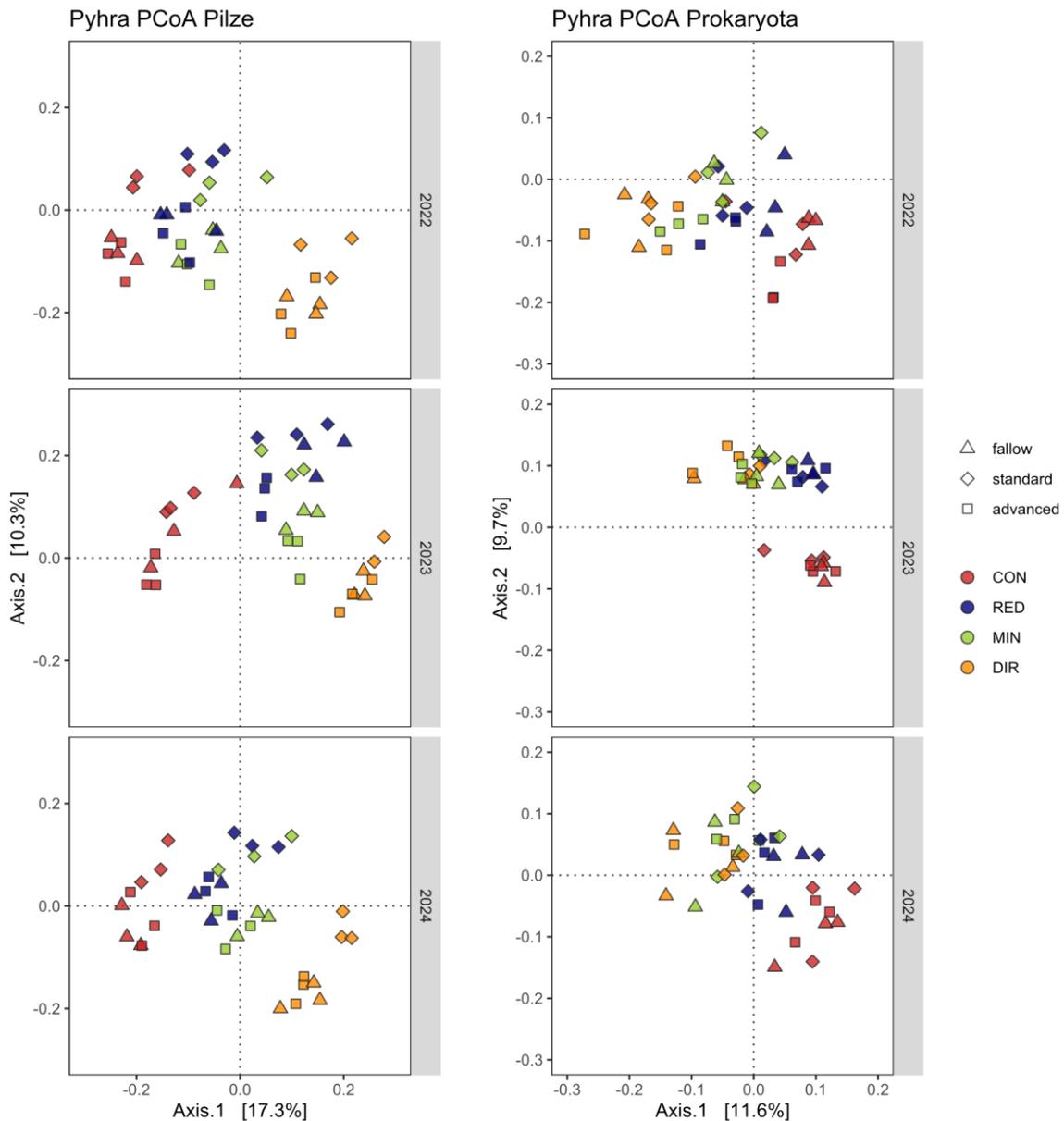


Abbildung 12: Probenahmen 2022 bis 2024 – Hauptkomponentenanalyse (PCoA) der Gemeinschaften von Pilzen (links) und Bakterien (rechts) in Ackerböden der Versuchsflächen der LFS Pyhra zu Bodenbearbeitung und Zwischenfruchtanbau. Die Bodenbearbeitungsvarianten sind in unterschiedlichen Farben, die Zwischenbegrünungsvarianten mit unterschiedlichen Symbolen dargestellt. Erläuterungen siehe Text.

Taxonomische Zusammensetzung

Pilze

Der Großteil der Pilze in den Böden der LFS Pyhra stammt gehört zum Phylum der Ascomycota mit einem einigermaßen stabilen Anteil von ca. 75% von allen Pilzen. Die Basidiomycota streuen stark zwischen 5 und 20 % und zeigen tendenziell höhere Anteile in der Standard- Zwischenbegrünungsvariante, wobei auch hier gilt, dass das vermutlich eher auf die topographischen Verhältnisse als auf Effekte der Zwischenbegrünung zurückzuführen ist. Die Mortierellomycota kommen in ähnlichen relativen Häufigkeiten wie die Basidiomycota vor, allerdings ist hier im Jahr 2023 ein deutlicher Effekt durch die Bodenbearbeitung zu erkennen: Die relative Häufigkeit ist in der CON-Variante höher als die drei anderen Varianten mit weniger intensiver Bodenbearbeitung (siehe Abbildung 13). Ähnlich wie

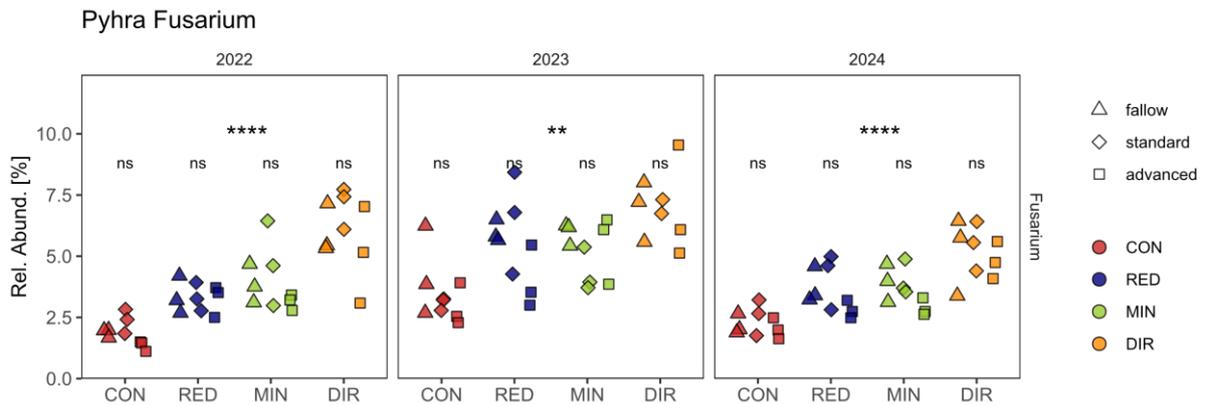
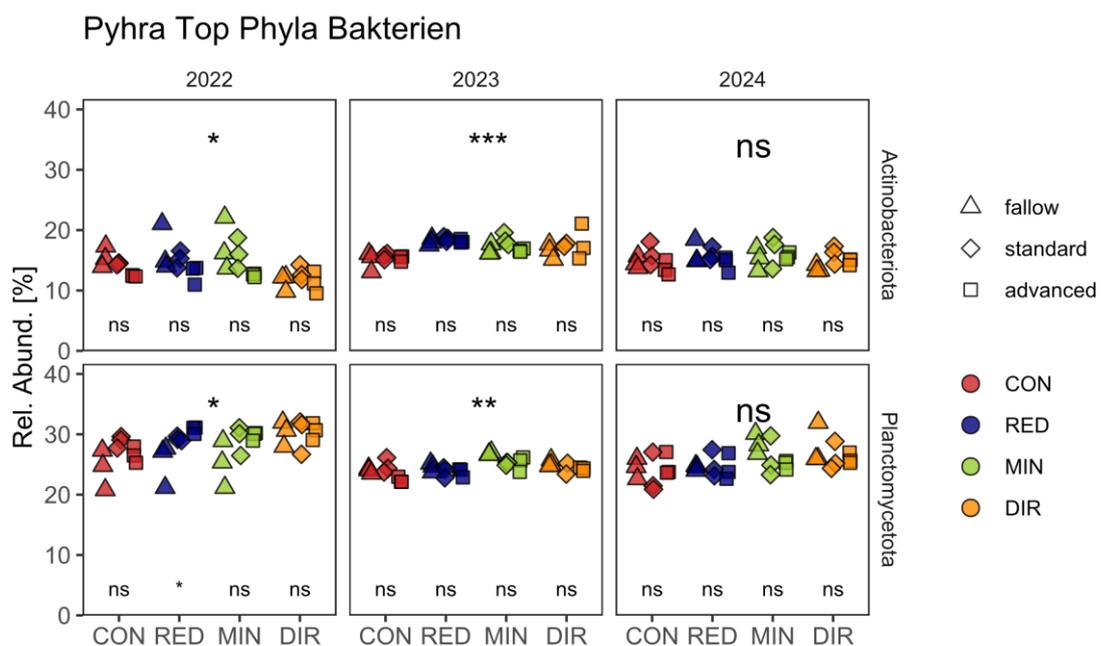


Abbildung 14: Relative Häufigkeiten von *Fusarium* in Ackerböden der Versuchsflächen der LFS Pyhra zur Bodenbearbeitung und zum Zwischenfruchtanbau für die Jahre 2022 bis 2024. Die Unterschiede in den Varianten zur Bodenbearbeitung sind in allen drei Jahren statistisch stark signifikant (obere Signifikanzlevel), während es zwischen den Zwischenbegrünungsvarianten keinerlei statistisch signifikanten Unterschiede gibt (untere Reihe der Signifikanzlevels).

Prokaryota

Bei den dominanten Phyla der Prokaryota sind die Unterschiede auf den Versuchsflächen an der LFS Pyhra weniger deutlich ausgeprägt als an der LFS Hollabrunn. Zwar sind die beiden wichtigsten Phyla auch hier die Actinobacteriota und die Planctomycetota, aber die Unterschiede in den relativen Häufigkeiten gelten nicht für alle Probenahmen und für die Jahre 2022 und 2023 sind unterschiedliche Trends zu beobachten.



Bei den Nitrososphaerales ist an der LFS Pyhra ein ähnlicher Trend zu beobachten wie an der LFS Hollabrunn, aber die Streuung ist sehr viel größer und die Unterschiede zwischen der Probenahme nach der Ernte im Oktober 2023 und vor der Aussaat im April 2024 sind weniger stark ausgeprägt.

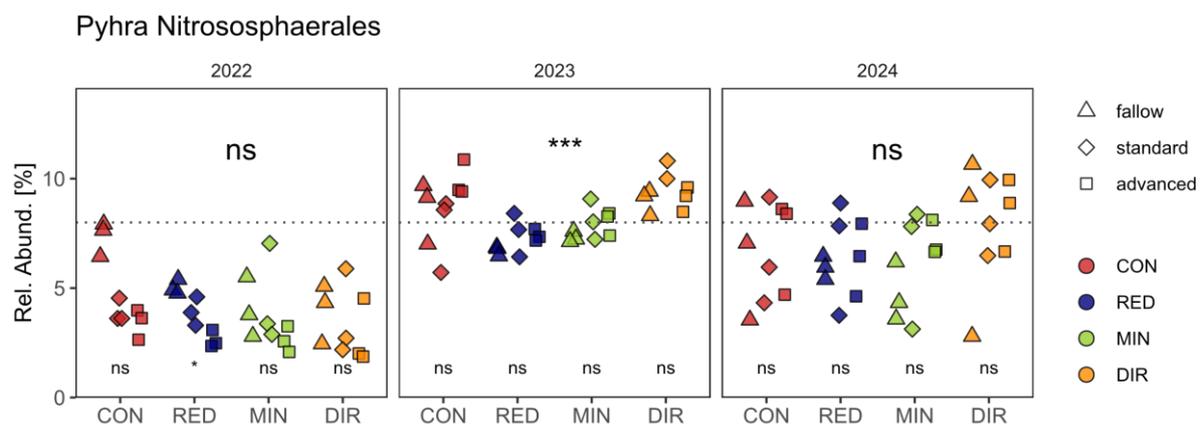


Abbildung 15: Relative Häufigkeiten von Nitrososphaerales in Ackerböden der Versuchsflächen der LFS Pyhra zur Bodenbearbeitung und zum Zwischenfruchtanbau für die Jahre 2022 bis 2024. Die Unterschiede zwischen den Varianten der Bodenbearbeitung und der Zwischenbegrünung sind nur sehr schwach ausgeprägt und nur in wenigen Kombinationen signifikant. Der jahreszeitliche Unterschied ist dahingegen etwas deutlicher ausgeprägt. Zur Verdeutlichung und zum Vergleich mit den Daten von der LFS Hollabrunn ist bei einer relativen Häufigkeit von 8 % eine Linie eingezeichnet.

Absolute Quantifizierung

Für die Proben der LFS Pyhra sind nur die Daten von der Probenahme nach der Ernte im Oktober 2023 gezeigt (Abbildung 16). Die Kopienzahlen für die Pilze sind in der RED-Variante ohne Zwischenbegrünung bzw. mit Standard-Zwischenbegrünung am höchsten und in der CON-Variante generell am niedrigsten.

Auch bei den Bakterien liegt die Kopienzahl in der CON-Variante am niedrigsten. Für die Zwischenbegrünungsvarianten lassen sich aufgrund der Schwankungen keine eindeutigen Aussagen treffen.

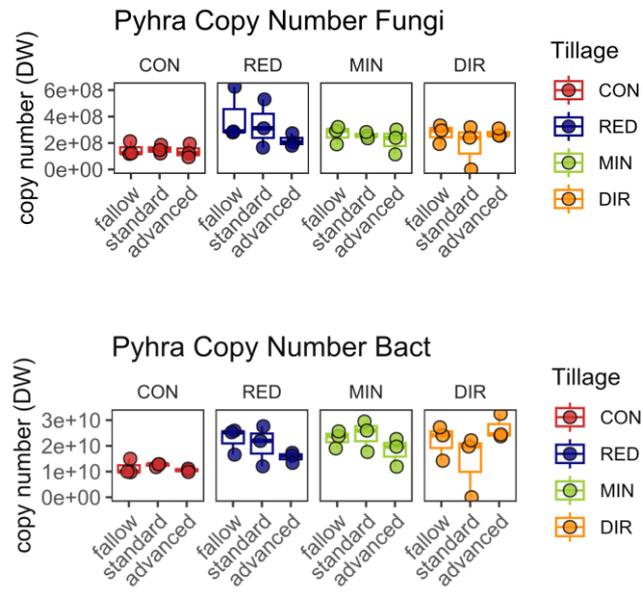


Abbildung 16: Kopienzahlen für Pilze (obere Reihe) und Bakterien (untere Reihe) in den Proben aus den Versuchsflächen der LFS Pyhra.

Versuche Landwirte und Gesamtvergleiche

Aufgrund der sehr unterschiedlichen Bodenverhältnisse bei den einzelnen Landwirten aus dem EIP-Agri-Projekt Boden.Biodiversität ist es sehr schwierig Aussagen aus den Praxisversuchen zu ziehen. Ein Vergleich von mikrobiellen Gemeinschaften von landwirtschaftlich genutzten Böden aus unterschiedlichen Regionen Niederösterreichs zeigt den starken Einfluss der Bodenverhältnisse sehr deutlich – siehe dazu Abbildung 17. Neben den Böden aus dem EIP-Agri Projekt Boden.Biodiversität wurden auch Böden von einem Versuch in Rutzendorf im Weinviertel als Vergleich hinzugenommen. Die Proben unterscheiden sich im Probenahmejahr, der Jahreszeit, der Feldfrucht, der Bewirtschaftung und der Entnahmetiefe. Dennoch sind sowohl für die Pilze als auch die Prokaryota ist Gruppierungen nach Probenahmeflächen und Regionen sehr deutlich erkennbar.

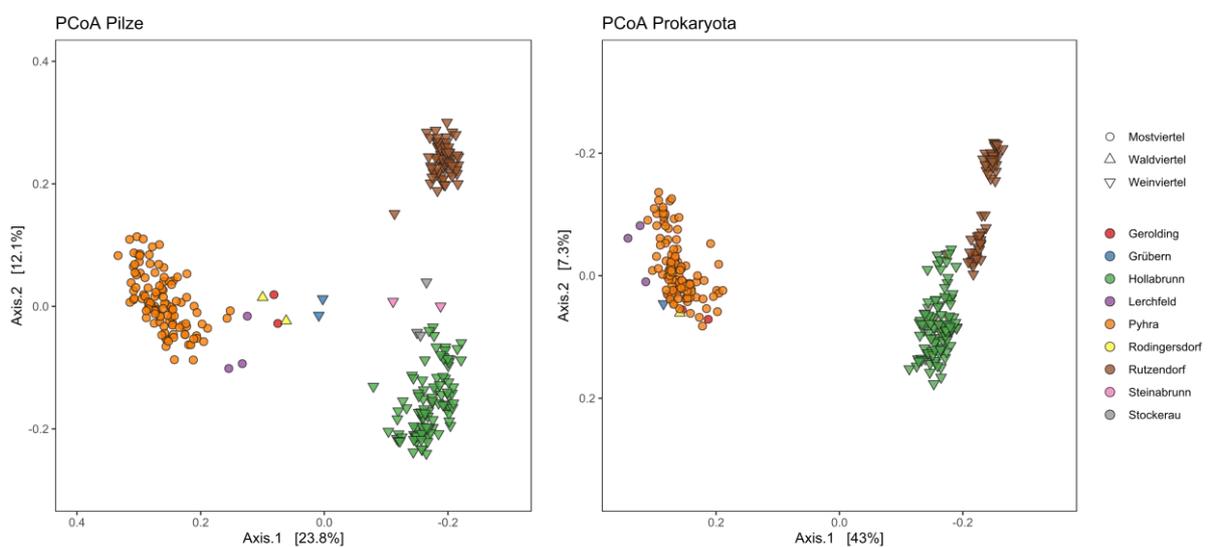


Abbildung 17: Gesamtvergleich von mikrobiellen Gemeinschaften in Böden landwirtschaftlichen Flächen aus Niederösterreich. Links sind die Pilze, rechts die Prokaryota dargestellt.

Des weiteren wurde die Alpha-Diversität in verschiedenen Biomen verglichen (Abbildung 18). Alle Daten stammen von Proben aus Österreich und zu einem geringen Teil aus Deutschland, allerdings sind keinerlei Proben aus dem EIP-Agri-Projekt Boden.Biodiversität dabei. Bei den landwirtschaftlichen Böden sind Flächen von der LFS Hollabrunn dabei. Wälder wurden in allen relevanten klimatischen Höhenstufen von den Donauauen bei Wien bis in ca. 1500 m Seehöhe beprobt. Bei den Proben von Weideflächen handelt es sich um Dungproben von Rindern und Schafen, und nicht um Bodenproben. Es lässt sich deutlich erkennen, dass die Diversität der Pilze in landwirtschaftlich genutzten Flächen relativ hoch ist, verglichen z.B. mit Wäldern der gemäßigten Zone. Die Schwankungen in der Alpha-Diversität, die im Rahmen des EIP-Agri-Projektes gefunden wurden, sind minimal verglichen mit den Schwankungen die zwischen verschiedenen Biomen oder auch in unterschiedlichen Waldflächen gefunden werden.

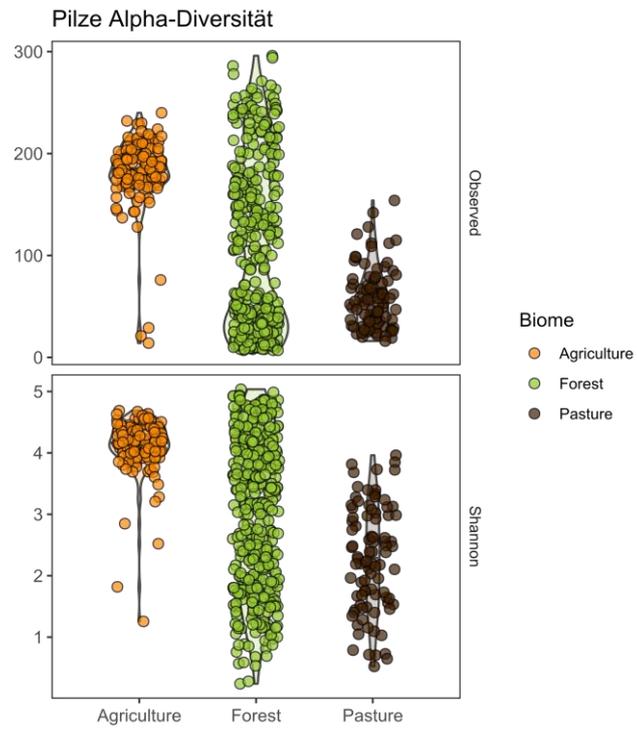


Abbildung 18: Alpha Diversität für Pilze in verschiedenen Biomen.

Glossar

Alpha-Diversität

Die Alpha-Diversität ist in der Ökologie ein Maß für die Diversität an Arten bzw. anderer taxonomischer oder funktioneller Gruppen in einer Probe, wobei es unterschiedliche Methoden zur Berechnung der Alpha-Diversität gibt. Die unterschiedlichen Konzepte beruhen zum Großteil auf Methoden der klassischen Ökologie von Pflanzen und Tieren, können aber mit gewissen Anpassungen auch in der mikrobiellen Ökologie für Bakterien und Pilze angewandt werden. Die zwei wichtigsten seien im Folgenden genannt:

Artenreichtum: Es wird die Gesamtzahl der in einer Probe gefundenen Arten angegeben. In der klassischen Ökologie ist dies zum Beispiel die Anzahl unterschiedlicher Pflanzenarten auf einer Versuchsfläche. In der mikrobiellen Ökologie ist es die Anzahl unterschiedlicher Sequenzvarianten (OTU – Operational Taxonomic Units)

Shannon Index: Neben der Anzahl der unterschiedlichen Art ist für den Shannon-Index auch die relative Verteilung der Arten wichtig. Wenn es wenige sehr dominante Arten gibt, ist der Shannon-Index niedrig, wenn es dahingegen viele Arten mit einer relativ gleichmäßigen Verteilung gibt, ist der Shannon-Index hoch.

Actinobacteriota

Die Actinobacteriota sind ein Phylum innerhalb der Bakterien. In diesem Phylum sind so bekannte Bodenbakterien wie *Arthrobacter* oder *Streptomyces* vertreten. Einige sind zur Ausbildung Myzel-ähnlicher Strukturen befähigt, und die Bildung komplexer Sekundärmetabolite mit biologischen Aktivitäten wie z.B. antibiotischer Wirkung sind weit verbreitet.

Archaeen

Wie die Bakterien gehören auch die Archaeen zu den Prokaryota, zu den Lebewesen ohne Zellkern. Lange Zeit dachte man, dass Archaeen nur in extremen Umwelten zu finden sind, wie z.B. in Heißwasserquellen. Seit längerem weiß man jedoch, dass sie zu gewissen Anteilen in jedem Boden zu finden sind. Gewisse Prozesse wie z.B. die mikrobielle Methanproduktion, werden ausschließlich von Archaeen bewerkstelligt. Andere Prozesse, wie z.B. die Ammonium-Oxidation, können sowohl von Bakterien als auch von Archaeen durchgeführt werden. Die Ammonium-Oxidation ist der erste Schritt der Nitrifizierung, es wird das Ammonium in Nitrit umgewandelt.

Beta-Diversität

Im Gegensatz zur Alpha-Diversität ist die Beta-Diversität ein Maß für die Unterschiede zwischen zwei Proben. Zeigen zwei Proben ein sehr ähnliches Artenspektrum mit vielen gleichen Arten und mit einer ähnlichen Verteilung der Arten, ist die Beta-Diversität gering. Sind dahingegen viele Unterschiede zu beobachten, ist die Beta-Diversität hoch. Unterschiede können sein, dass Arten, die in einer Probe vorkommen, in der anderen Probe gänzlich fehlen, oder häufige Arten aus der einen Probe in der anderen Probe sehr selten sind (Unterschiede in den relativen Häufigkeiten). Die Beta-Diversität kann also immer zwischen einem Probenpaar berechnet werden. Wie für die Alpha-Diversität gibt es auch für die Beta-Diversität eine Vielzahl an Berechnungsmöglichkeiten. Ein gängiges Maß ist die Bray-Curtis-Distanz, die für die vorgestellten Analysen verwendet wurde. Für eine große Zahl an Proben bekommt man über die Bray-Curtis-Distanzen eine sehr große Matrix mit paarweisen Vergleichen aller Proben. Dafür gibt es verschiedene Darstellungsmöglichkeiten, wie z.B. die PCoA.

Hochdurchsatzsequenzierung

Nitrososphaerales

Die Nitrososphaerales sind eine Ordnung innerhalb der Archaeen und sind zum überwiegenden Teil zur Oxidation von Ammonium befähigt, das dabei in Nitrit umgewandelt wird. Aus diesem Schritt gewinnen sie Energie um Kohlendioxid zu fixieren, das somit für den Aufbau von Biomasse verwendet werden kann. Ammonium-oxidierende Archaeen (AOA) sind im Gegensatz zu den Ammonium-oxidierenden Bakterien (AOB) besser an sehr niedrige Ammonium-Konzentrationen angepasst.

OTU – Operational Taxonomic Unit

PCoA – Principal Coordinate Analysis (Hauptkoordinatenanalyse)

Die PCoA oder Hauptkoordinatenanalyse ist eine mögliche Darstellungsform für die Beta-Diversität. Dabei werden die komplexen mikrobiellen Gemeinschaften als Punkte dargestellt, wobei jeder Punkt der Gemeinschaft in einer Probe entspricht. Liegen zwei Punkte nahe nebeneinander, sind die Gemeinschaften sehr ähnlich, d.h. die Beta-Diversität (oder Bray-Curtis-Distanz) ist gering. Liegen die Punkte weiter auseinander, sind die Gemeinschaften sehr unterschiedlich (hohe Beta Diversität bzw. große Bray-Curtis-Distanz).

Planctomycetota

Das Phylum Planctomycetota ist zwar schon seit längerem bekannt, aber da es in dieser Gruppe sehr viele bislang noch nicht kultivierte Vertreter gibt, bleiben noch viele Aspekte unklar. Die meisten Arten der Planctomycetota werden nur über direkte Sequenzierungsverfahren gefunden. Es zeigt sich aber, dass in vielen Böden Bakterien aus diesem Phylum besonders häufig zu finden sind.

Prokaryota

Die Prokaryota umfassen die Organismengruppen ohne Zellkern, also die Bakterien und die Archaeen. Diese beiden Gruppen zeigen deutliche Unterschiede in vielen ihrer Merkmale. Bei der Hochdurchsatzsequenzierung besteht die Möglichkeit, dass beide Gruppe gemeinsam erfasst werden.

Signifikanzlevels

Signifikanzlevels werden in der Statistik verwendet um zu bewerten, wie gut abgesichert der Unterschied zwischen verschiedenen Gruppen (z.B. verschiedenen Bodenbearbeitungsvarianten) ist. Einerseits kann der p-Wert bzw. die Irrtumswahrscheinlichkeit angegeben werden. Der p-Wert liegt zwischen 0 und 1. Je kleiner der p-Wert desto geringer die Irrtumswahrscheinlichkeit, d.h. desto geringer die Chance dass man irrtümlich einen Unterschied festgestellt hat. Damit steigt die Wahrscheinlichkeit, dass es einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen gibt. Folgende Werte und Symbole werden üblicherweise verwendet:

- ns – $p > 0.05$: nicht signifikant, kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen
- * – $p < 0.05$: schwach signifikant
- ** – $p < 0.01$: signifikant
- *** – $p < 0.001$: deutlich signifikant
- **** – $p < 0.0001$: stark signifikant

Taxonomie