

DISS. ETH NO.21127

**UNDERSTANDING SOIL MICROBIAL COMMUNITY  
DYNAMICS IN VINEYARD SOILS: SOIL STRUCTURE,  
CLIMATE AND PLANT EFFECTS**

A dissertation submitted to

**ETH ZURICH**

For the degree of  
**Doctor of Sciences**

Presented by

**PAOLA ELISA CORNEO**

MSc, Università degli Studi di MILANO-BICOCCA

Born October 28<sup>th</sup>, 1983  
Citizen of Bergamo (IT)

Accepted on the recommendation of

**Prof. Dr. Cesare Gessler, examiner**  
**Prof. Dr. Bruce A. McDonald, co-examiner**  
**Prof. Dr. Christian Steinberg, co-examiner**  
**Dr. Ilaria Pertot, co-examiner**

2013

## Abstract

This thesis aimed at characterising the structure of the bacterial and fungal community living in vineyard soils, identifying and describing the parameters that explain the distribution of the microbial communities in this environment.

Vineyards represent an economical relevant agro-ecosystem, where vines, long-lived woody-perennial plants, are normally cultivated at different altitudes. The maintenance of the soil quality is at the base of a productive agriculture and thus the investigation of its biological component, its structure and all the processes that take place into the soil are of importance. Microorganisms represent one of the main biological components of the soil and they are involved in numerous bio-geochemical processes, such as nutrient cycling and degradation of the soil organic matter (SOM). The understanding of the effect of abiotic and biotic factors on the soil microbial communities is crucial for the maintenance of this agro-ecosystem.

Considering that viticulture is widespread in North Italy we selected the Trentino region as study area at the basis of our investigations.

A first on field study was carried out on soils collected in nine vineyards located along three altitudinal transects. The sites were selected on the basis of the same soil origin, texture and pH, and similar weather conditions. Our aim was to understand the effect of altitude considered as a climatic and physicochemical gradient on the soil bacterial and fungal community, comparing the soil microbial structure at different altitudes (200, 450, 700 m a.s.l.) and in different seasons. Along these altitudinal gradients, soil temperature is decreasing while soil moisture is increasing, thus offering an experimental design to investigate the effect of these climatic parameters.

To further exploit the effect of soil temperature, we then carried out one year microcosm experiment. Temperature is one of the main factors affecting soil microbial communities and the recent worries about climate change stimulated the interest in a better understanding of its effect. Our aim was to assess the effect of temperature alone, isolating its effect from all the other parameters present in the field. In particular we investigated the effect of soil seasonal temperature fluctuations and the effect of a moderate soil warming of 2 °C above normal seasonal temperatures. Furthermore we assessed the effect of stable temperatures without fluctuations (3 and 20°C).

To fully characterise the vineyard environment we conducted a third experiment to understand the effect of weeds and of soil type on the bacterial and fungal community structure, to reflect on

their role in this environment. Weeds are widespread plants in the vineyards and are usually controlled because they compete for nutrients with vines. Through a greenhouse experiment where we used a combination of three different weeds (*Taraxacum officinalis*, *Trifolium repens* and *Poa trivialis*) and four different soils collected in vineyard, we aimed at characterising the bacterial and fungal communities of the bulk and rhizosphere soil and of the roots.

The genetic structure of the soil bacterial and fungal communities in the three different experiments was assessed by automated ribosomal intergenic spacer analysis (ARISA), a fingerprinting technique based on the analysis of the length heterogeneity of the bacterial and fungal internal transcribed spacer (ITS) fragment. Multivariate analyses were carried out to visualise and determine the effect of the different parameters investigated on the soil microbial community ordination.

We found that altitude, behaving as a physicochemical gradient separates the soil microbial community living at 200 and 700 m a.s.l. Different parameters correlating with altitude explained the distribution of bacteria and fungi in the altitudinal transects. Qualitatively the different vineyards were characterised by a stable core microbiome, a number of ribotypes stable in time and space. Among the climatic parameters, while soil moisture was correlating with altitude and helped explaining the distribution of the microbial communities, the soil temperature did not play any role. Seasonally the soil microbial communities were stable and the differences among the soil microbial communities living at the lower and higher sites were related to the physicochemical parameters and not to the temperature effect. Investigating the effect of temperature in microcosm experiment, isolating its effect from all the other parameters, we determined the presence of a direct effect of temperature, soil type dependent. The soil bacterial community was fluctuating under the effect of temperature fluctuations, while the fungal community was mainly stable. Soil warming did not have any effect on the microbial community as observed on field in the altitudinal gradient, where temperature was not the factor explaining the differences between the microbial community at 200 and 700 m a.s.l. Vineyards, as other temperate environments, are quite stable to subtle changes in soil temperatures in the range forecasted by the climate change events. Even if we did not find a direct effect of temperature on the soil microbial communities, temperature could indirectly affect the soil microorganisms, acting on plant cover, nutrients availability, soil moisture and plant exudation.

The soil structure was the main determinant of the microbial community associated to the bulk soil also in presence of plants. Characterising the microbial community associated to the weeds, we found that the different compartments (roots, rhizosphere and bulk soil) were colonised by qualitatively and quantitative different microbial structure, in particular on the roots. Differences in the microbial community associated to the rhizosphere and to the bulk soil were plant type dependent. The structure of the microbial community associated to the roots was mainly determined by the plant species, while the soil type was the main determinant of the microbial community associated to the bulk soil. Weeds are not expected to particularly affect the bacterial community associated to the bulk soil in vineyards, while they could play a role shaping the soil fungal community.

## Riassunto

L'obiettivo di questa tesi è la caratterizzazione della struttura delle comunità batteriche e fungine del suolo presenti in vigneto, attraverso l'identificazione e la descrizione dei parametri che spiegano la distribuzione delle comunità microbiche in questo ecosistema.

I vigneti rappresentano un agro-ecosistema economicamente importante, dove la vite, una pianta legnosa perenne, è normalmente coltivata a diverse altitudini. Il mantenimento della qualità del suolo è alla base di una agricoltura produttiva e quindi lo studio della sua componente biologica, della sua struttura e di tutti i processi che avvengono nel suolo è di grande importanza. I microorganismi rappresentano una delle principali componenti biologiche del suolo e sono coinvolti in numerosi processi biogeochimici, quali il ciclo dei nutrienti e la degradazione della sostanza organica del suolo. La comprensione degli effetti dei fattori abiotici e biotici sulle comunità microbiche del suolo è quindi fondamentale per il mantenimento di questo agro-ecosistema.

Considerando che la viticoltura è molto diffusa nel Nord Italia, abbiamo scelto la regione Trentino come area di studio alla base delle nostre ricerche.

Un primo studio è stato effettuato direttamente in campo raccogliendo i suoli in nove vigneti situati lungo tre transetti altitudinali. I siti sono stati selezionati sulla base della stessa origine del suolo, tessitura del terreno e pH, e per le condizioni meteorologiche simili. Il nostro obiettivo era di comprendere l'effetto dell'altitudine, considerata come un gradiente climatico e chimico-fisico, sulle comunità batteriche e fungine del suolo, mettendo a confronto la struttura microbica del suolo alle diverse altitudini (200, 450, 700 m s.l.m.) e nelle diverse stagioni. Lungo questo gradiente altitudinale la temperatura diminuisce, mentre l'umidità aumenta al crescere dell'altitudine, offrendo così un disegno sperimentale per studiare l'effetto di questi parametri climatici.

Per investigare più a fondo l'effetto della temperatura del suolo, abbiamo poi effettuato un esperimento in microcosmo della durata di un anno. L'interesse a meglio comprendere gli effetti della temperatura è stato stimolato sia dal fatto che la temperatura rappresenti uno dei principali fattori avente un effetto sulle comunità microbiche del suolo, sia dalla recente preoccupazione dovuta al cambiamento climatico. Il nostro obiettivo era di valutare l'effetto della temperatura del suolo, isolando il suo effetto da tutti gli altri parametri presenti in campo. In particolare, abbiamo studiato l'effetto delle fluttuazioni stagionali della temperatura del suolo e gli effetti di un

moderato riscaldamento del suolo di 2 °C, al di sopra delle temperature stagionali. Inoltre abbiamo valutato l'effetto della temperatura stabile senza fluttuazioni (3 e 20 ° C).

Per caratterizzare completamente il vigneto abbiamo condotto un terzo esperimento per capire l'effetto delle piante infestanti e della tipologia di terreno sulla struttura delle comunità batteriche e fungine, per comprendere il loro ruolo in questo ecosistema. Le piante infestanti sono diffuse in vigneto e di solito sono controllate perché competono con la vite per le sostanze nutritive. Attraverso un esperimento in serra, dove abbiamo usato una combinazione di tre differenti erbe infestanti (*Taraxacum officinalis*, *Trifolium repens* e *Poa trivialis*) e quattro diversi terreni raccolti in vigneto, si è cercato di caratterizzare le comunità batteriche e fungine del suolo, della rizosfera e delle radici.

Nei tre differenti esperimenti la struttura genetica delle comunità batteriche e fungine del suolo è stata valutata mediante “Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis” (ARISA) una tecnica di fingerprinting basata sull'analisi dell'eterogeneità dell' ITS batterico e fungino.

L'analisi multivariata è stata utilizzata per visualizzare e determinare l'effetto dei diversi parametri in studio sulla struttura delle comunità microbiche del suolo.

Attraverso lo studio di campo abbiamo scoperto che l'altitudine, agendo come un gradiente fisico-chimico, è in grado di separare le comunità microbiche del suolo dei diversi vigneti posti a 200 e 700 m s.l.m lungo i diversi transetti altitudinali. Alcuni dei parametri fisico-chimici misurati correlano con l'altitudine aiutando a spiegare la distribuzione delle comunità microbiche nel terreno. Qualitativamente i vari vigneti sono caratterizzati da un nucleo di microorganismi stabile nel tempo e nello spazio. Tra i parametri climatici, mentre l'umidità del terreno correla con l'altitudine e ha un ruolo nella distribuzione delle comunità microbiche, la temperatura del suolo non ha alcun effetto diretto. Durante le diverse stagioni le comunità microbiche del suolo sono stabili e la struttura delle comunità presenti alle basse e alte altitudini correla con i parametri fisico-chimici e non è dovuta alle differenze di temperatura.

Attraverso lo studio dell'effetto della temperatura in un esperimento in microcosmo, dove abbiamo potuto isolare il suo effetto da quello di tutti gli altri parametri, siamo stati in grado di determinare la presenza di un effetto diretto della temperatura, dipendente dal tipo di suolo. Le comunità batteriche del suolo fluttuano sotto l'effetto delle variazioni di temperatura, mentre le comunità fungine sono sostanzialmente stabili. Anche in campo il riscaldamento della temperatura del suolo non ha alcun effetto sulla struttura delle comunità microbiche, infatti

all'interno del gradiente altitudinale, la temperatura non è il fattore determinante delle differenze tra la comunità microbica a 200 e 700 m s.l.m. I vigneti come altri ambienti temperati sono abbastanza stabili al lieve riscaldamento di temperatura del suolo nel range previsto dal cambiamento climatico. Anche se non abbiamo trovato un effetto diretto del riscaldamento della temperatura sulle comunità microbiche del suolo, la temperatura potrebbe influire indirettamente sui microrganismi del suolo, agendo sulla vegetazione, sulla disponibilità di nutrienti, sull'umidità del suolo e sull'essudazione radicale.

Anche in presenza di piante, la struttura del suolo gioca un ruolo chiave nel determinare la struttura della comunità microbica. Caratterizzando la comunità microbica associata alle piante infestanti, abbiamo scoperto che i vari compartimenti (radici, rizosfera e suolo bulk) sono caratterizzati da una diversa struttura della comunità microbica, in particolare sulle radici. Le differenze tra la comunità associata alla rizosfera e quella del suolo "bulk" dipendono dalla specie di pianta. La struttura della comunità microbica associata alle radici dipende principalmente dalla specie di pianta, mentre il tipo di suolo è il principale fattore determinante la comunità microbica associata al suolo bulk. In generale l'effetto delle piante infestanti è localizzato alla rizosfera e non si estende al suolo bulk nel caso dei batteri, mentre potrebbero avere un ruolo sulla struttura della comunità fungina nel suolo bulk.