

不同棚龄及种植期对土壤微生物代谢功能的影响

陈 锐, 孙 晓 宇, 路 鹏 鹏, 赵 玲 侠, 瞿 佳, 沈 卫 荣

(陕西省微生物研究所, 陕西 西安 710043)

摘 要:为了解不同年限(3、6、9、15 年)及不同种植期(定植期、坐果期、盛果期、拉秧期)的设施棚室土壤微生物对碳源利用的变化趋势,对土壤理化性质和土壤微生物碳源利用进行了检测分析。结果表明:种植年限增加导致棚室土壤 pH 约降低 0.52,土壤可溶性盐分、总磷及总碳随着棚龄增加逐渐累积。不同棚龄土壤中,9 年棚室微生物碳源代谢活性最高,15 年棚室有所下降,但差别不显著。与不同棚龄棚室土壤代谢差异显著相关的碳源有 15 种。不同种植期土壤样本中,微生物群落对各类碳源代谢均呈现坐果期最强,拉秧期最弱的特征,并且差异显著,与其代谢差异显著相关的碳源 19 种。

关键词:细菌;Biolog ECO 平板;微生物群落;代谢功能

中图分类号:S 625.206⁺.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)11-0179-07

据 2012 年统计,陕西设施棚室栽培面积已达 14 万 hm^2 。经过 20 多年的发展,棚室的连作障碍成为影响棚室农业发展的突出问题。棚室连作障碍表现出作物产出及品质降低,种植土壤酸化、盐渍化、土壤养分累积但肥力减弱、土壤微生物总数减少及土传病害微生物增加等问题^[1]。破除连作障碍需要协调种植作物、土壤、微生物及其环境的关系^[2],土壤微生物群落在作物的生长过程中受长期连作^[3]或者不同种植期根系分泌物的刺激产生变化^[4-5],微生物群落的变化则对土壤中的养分代谢产生不同的影响^[6]。作为土壤微生态的重要组成部分,为克服棚室土壤连作障碍,除使用传统的手段之外^[7],调节土壤微生物平衡,保持微生物多样性,施用微生物菌剂及菌肥等手段进入了人们的视野^[8-9]。利用 Biolog 生态平板碳源利用检测技术^[10]对不同棚龄及种植期土壤微生物种群多样性变化及其对碳源代谢影响进行了研究,为连作障碍土壤的生物改良提供参考依

据。土壤有效改良有利于维持棚室土壤肥力,提高生产力,对设施棚室的可持续利用和发展具有重要意义。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

供试土壤采集于陕西省渭南市大荔县埕桥乡东埕村棚室(东经 109.87°,北纬 34.82°)。

1.2 试验方法

选择持续并唯一种植黄瓜作物的棚室(3、6、9、15 年)并根据黄瓜种植期(定植期、坐果期、盛果期、拉秧期),采用 5 点采样法(均距等肩),采集深度 5~25 cm 的黄瓜根土作为研究样本。

1.3 项目测定

1.3.1 土壤指标测定 土壤含水量测定采用重量法^[11],pH 测定采用电位法^[12],含盐量测定采用溶解烘干称重法^[13],总磷(P)含量测定采用碱熔-钼锑抗分光光度法^[14],总钾(K)含量测定采用全消解-火焰光度法^[15],总碳(C)含量测定采用土壤有机质法^[16]。

1.3.2 Biolog 相关指标测定 供 Biolog 测试土样的处理方法参照文献^[17],采样后风干土壤样本,过 2 mm 筛。将土壤样本分成种植期组与棚龄组,不同种植期组样本收集后立即等量混合进行 Biolog 测试,待样本收集齐全后等量混合测试。Biolog ECO

第一作者简介:陈锐(1977-),女,博士,副研究员,研究方向为环境微生物多样性及土壤生物修复。E-mail:chenrui@sxim.ac.cn.

基金项目:陕西省科学院青年人才培养资助项目(2013K-25);陕西省农业科技创新与攻关资助项目(2015NY088)。

收稿日期:2016-12-15

微平板接种:1)称取土壤样品 10 g 加入生理盐水 20 mL 于离心管中,充分震荡 3 min。2)于 $10\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min,弃上清液,加入 20 mL 生理盐水,振荡器振荡 5 min 使之混匀; $10\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min,重复 2 次,以除去其中的碳源。3)弃上清液,加入 20 mL 生理盐水,在振荡器上震荡 5 min 使之混匀,于 $2\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 1 min。4)取上清液倒入灭菌试管,用无菌生理盐水调整使其 OD_{590} 维持在 0.13 ± 0.02 ,总体积 16~20 mL。5)将上述稀释液加入 Biolog ECO 微平板中,每孔 150 μL 。放置在 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养,加水保持湿度,避免微孔板水分蒸发,每隔 12~24 h 用 Biolog 细菌自动读数仪读取数据,连续测定 10 d。

1.4 数据分析

1.4.1 不同时间点 AWCD 分析 采用 Biolog 微平板培养 120 h,经过对一系列读数时间的每孔颜色平均变化率(AWCD)值变化趋势的差异来分析样品间微生物群落的不同。 $\text{AWCD}=[\sum(C_i-R)]/31$ 。式中, C_i 是除对照孔外各孔吸光度值, R 是对照孔吸光度值。

1.4.2 6 类碳源利用 AWCD 分析 为了进一步了解在 31 种碳源中哪一类物质对土壤样本中微生物种群活性贡献最大,将 31 种碳源划分成糖苷/单糖/聚合糖类、脂类、氨基酸类、胺类、醇类、酸类 6 类,分别计算 6 类碳源中各成分 AWCD 平均值^[18]。

1.4.3 多样性指数分析 采用香浓 Shannon 指数(H'),Shannon 均一性指数($S-E$)。用来评估丰富度。 $H'=-\sum(P_i\times\ln P_i)$, $S-E=H'/\ln S$ 。式中, P_i 为第 i 孔的相对吸光度与整个平板相对吸光度总和的比。 S 是微生物可利用的碳源数目,即颜色有变

化的孔数目。 $D=\sum\frac{(n_i(n_i-1))}{N(N-1)}$,Simpson 指数(D)

用来评估最常见种的优势度指数。式中: n_i 是第 i 孔的相对吸光度($C-R$), N 是相对吸光度总和。

Simpson 指数用 $1/D$ 值表示。 $E=\frac{N-U}{N-N/\sqrt{S}}$, $U=$

$\sqrt{(\sum n_i^2)}$ 。McInosh(U)多样性指数,McInosh 均匀度(E),是基于细菌群落物种多维空间距离的多样性指数,可用它反映细菌群落代谢功能的多样性。

1.4.4 样本聚类分析 对不同棚室(119 h)及不同种植期(96 h)样本的 31 种碳源吸光度 WACD 进行样本的聚类分析。即将 31 种碳源顺序编号为 1~31,其 AWCD 均值作为聚类分析的变量,将 2 组各 4 个样本进行聚类分析。所有多元统计分析由 SPSS 统计软件完成。

1.4.5 样本主成分分析 通过主成分分析(PCA)^[19]将 Biolog 生态板(ECO)平板的 31 种碳源的测定结果形成的描述细菌群落代谢特征的多元向量变换为互不相关的主元向量(PC1 和 PC2 是主元向量的分量),在降维后的主元向量空间中可以用点的位置直观地反映出不同细菌群落的代谢特征。

2 结果与分析

2.1 土壤指标

由表 1 可知,不同年限之间土壤含水量保持了较为稳定的水平。随着棚室使用年限的增加,土壤 pH 约降低了 0.52,可溶性盐分增加约 1 倍,总 P 及总 C 不断累积增加,表现出典型的连作棚室土壤退化特征。在定植期、坐果期及盛果期土壤呈现可溶性含盐量增加,土壤 pH 明显降低,可能是与作物生长及施用农药、肥料等原因有关。

表 1

土壤理化指标

Table 1 Soil physical and chemical properties

指标 Item	种植期 Growing stage				棚龄 Year			
	定植期 Planting	坐果期 Bear fruit	盛果期 Productive	拉秧期 Uproot	3	6	9	15
含水量 Moisture content/%	22.55±2.73	18.40±5.20	23.68±3.31	17.60±1.25	19.75±1.90	21.33±3.34	21.15±2.63	20.00±6.00
pH	6.05±0.33	5.90±0.20	5.94±0.34	7.73±0.12	6.43±0.61	6.39±0.71	6.29±0.75	5.91±0.80
含盐量 Salt content/(g·kg ⁻¹)	2.65±0.73	2.90±0.86	2.96±0.81	1.40±0.24	1.35±0.23	2.43±0.53	3.17±0.87	2.95±0.71
总磷含量 Total phosphorus content (mg·kg ⁻¹)	3 564	2 793	3 317	3 414	2 443	3 965	3 912	4 010
总钾含量 Total potassium content (mg·kg ⁻¹)	17 900	19 400	16 600	18 900	20 100	15 100	19 000	17 300
总碳含量 Total carbon content (mg·kg ⁻¹)	40 100	26 900	45 500	39 500	28 000	38 500	38 400	43 400

2.2 Biolog 数据分析

2.2.1 不同时间点 AWCD 分析 通常 AWCD 值反

映微生物利用单一碳源能力,其变化速率反映 Biolog 代谢活性,AWCD 值增加越快表示 Biolog 代谢活性

越高。由图 1 可知,不同棚龄样本 ECO 板 4 条曲线相互交叉,在 240 h 反应终止时样品曲线甚至还没有很好地分开。而不同种植期样本,在培养时 ECO 板 AWCD 值形成了较为明显的 S 型曲线,ECO 板能清楚区分 4 个细菌群落,4 条变化曲线明显分离。此外,2 组 Biolog 微孔板所反映的细菌群落代谢活性存

在差异,其中不同棚龄 ECO 板所反映的代谢活性大小依次为 9 年棚室>15 年棚室>3 年棚室>6 年棚室,呈现出先升高又降低的趋势,但区别不明显。而不同种植期 ECO 板则反映为坐果期>定植期>盛果期>拉秧期,区别明显。

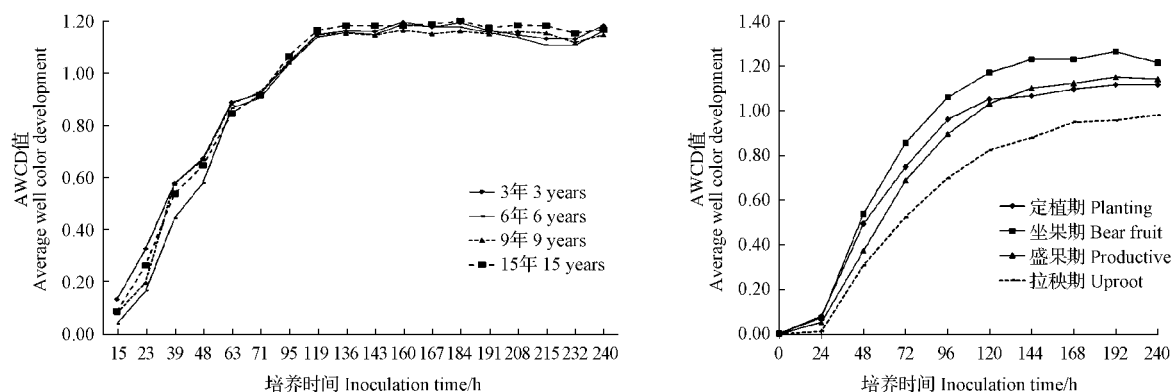


图 1 不同棚龄、种植期土壤样本 AWCD 值随时间的变化

Fig. 1 AWCD of soil sample in different planting years or different growing stages

2.2.2 6 类碳源利用 AWCD 分析 图 2 表明,不同棚龄土壤样本中微生物群落对氨基酸类、脂类及胺类的代谢差异不明显,9 年棚室糖类物质的代谢最低,与其它棚龄棚室有明显差异。6 年棚室醇类及酸

类物质代谢最低,与其它棚龄棚室有明显差异。从图 3 可以看出,在不同的种植期棚室中,微生物群落对各类碳源代谢均呈现坐果期最强,拉秧期最弱的特征,并且差异显著。

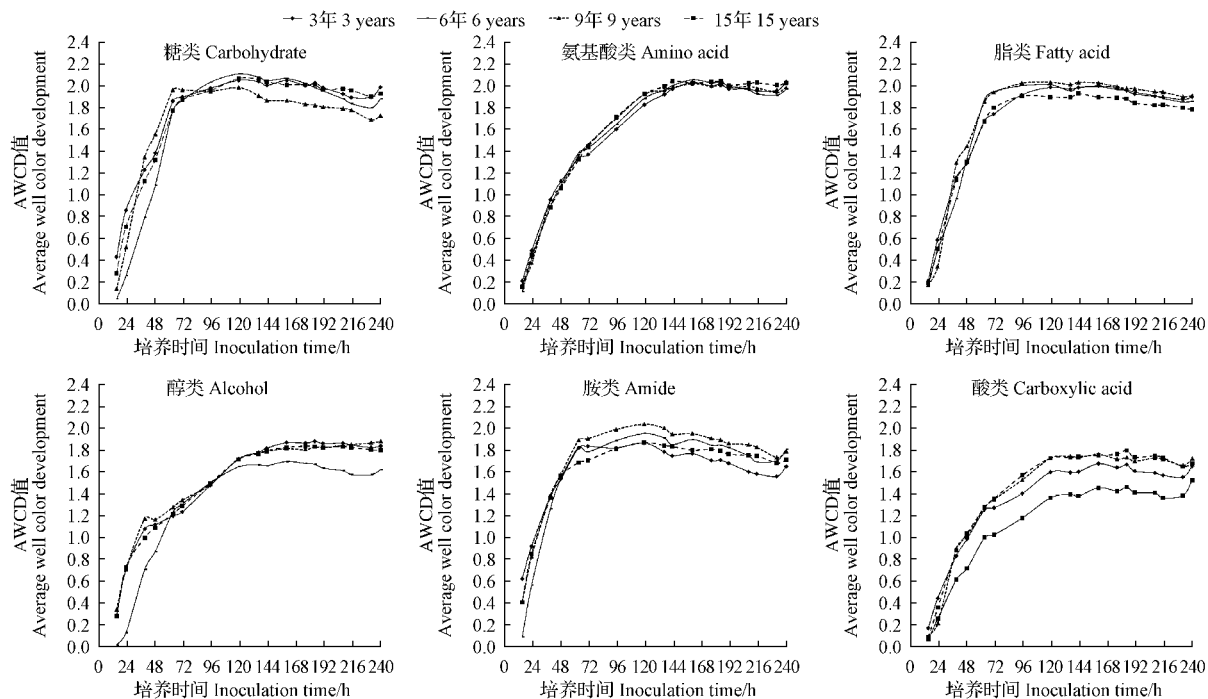


图 2 不同棚龄土壤微生物对 6 类碳源的利用

Fig. 2 Utilization of six groups of carbon source by soil microbes in different planting years

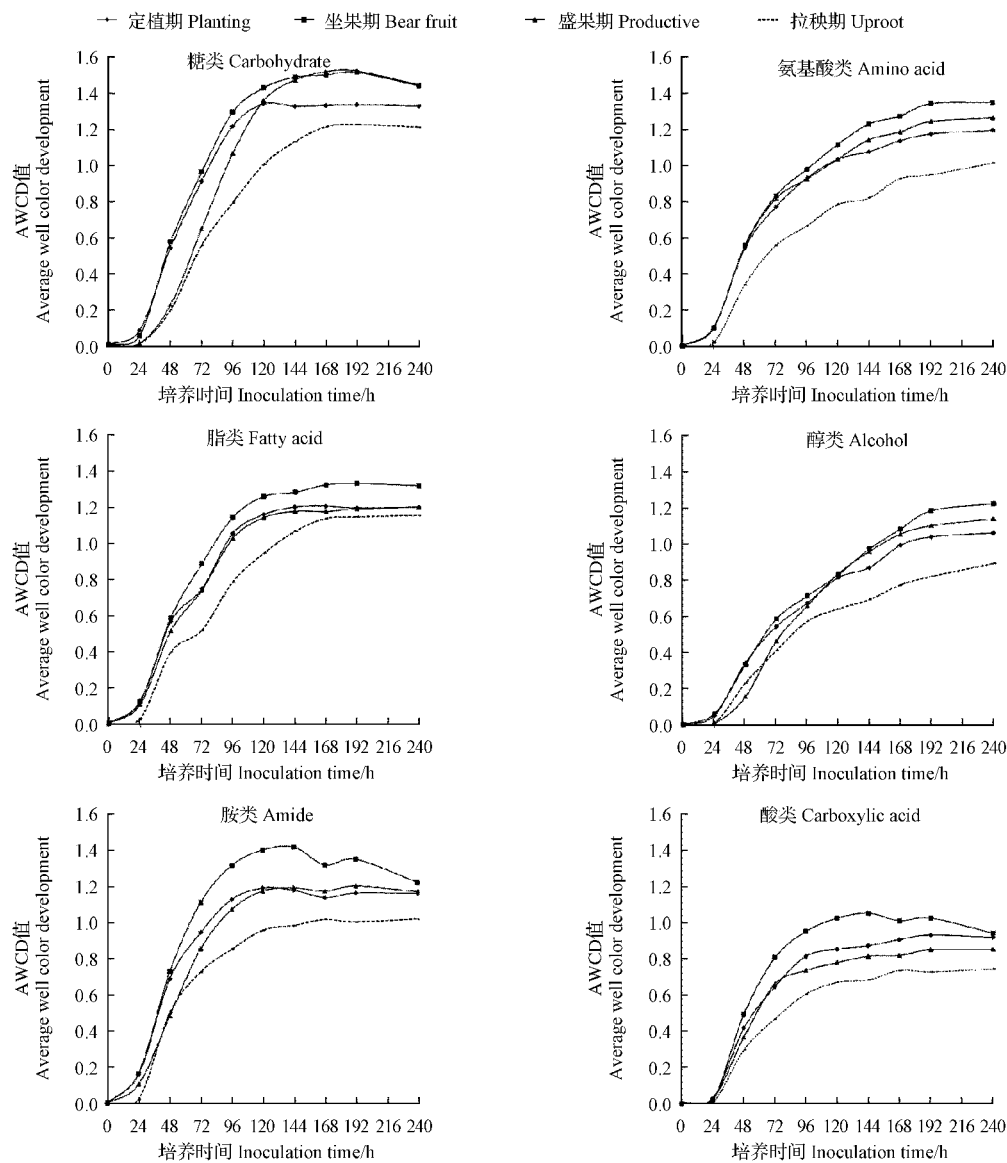


图3 不同种植期土壤微生物对6类碳源的利用

Fig.3 Utilization of six groups of carbon source by soil microbes in different growing stages

2.2.3 多样性指数分析 从表2可以看出,棚龄增加 Shannon 指数(H')及 Shannon 均一性指数(S-E)微弱升高,Simpson 指数(D)、Mciniosh 指数(U)及 Mciniosh 均匀度指数(E)变化无明显趋势,多样性之间的差异并没有统计学及生物学的意义。从表3可

以看出,随着种植期变化,Shannon 指数(H')、Shannon 均一性指数(S-E)、Mciniosh 均匀度指数(E)无明显差异。在拉秧期,Simpson 指数(D)、Mciniosh(U)指数与其它种植期差异明显。

表2 不同棚龄微生物群落的多样性指数

表3 不同种植期微生物群落的多样性指数

Table 2 Microbial community diversity index of different planting years

Table 3 Microbial community diversity index of different growing stages

棚龄 Year	H'	S-E	D	U	E
3	3.385	0.742 3	0.003 0	6.712	1.045 5
6	3.351	0.742 8	0.003 0	6.692	1.046 4
9	3.392	0.748 4	0.002 4	6.606	1.046 5
15	3.389	0.747 6	0.002 4	6.708	1.046 5

种植期 Growing stage	H'	S-E	D	U	E
定植期 Planting	3.299 8	0.731 5	0.002 3	5.925 4	1.043 2
坐果期 Bear fruit	3.310 2	0.730 3	0.003 0	6.487 6	1.042 3
盛果期 Productive	3.248 3	0.725 5	0.002 2	5.690 3	1.042 9
拉秧期 Uproot	3.194 0	0.713 4	0.000 6	4.641 7	1.039 3

2.2.4 样本聚类分析 从图 4 可以看出,9、15 年棚室的微生物群落碳源利用较为接近,成为一组,3、6 年棚室的微生物群落碳源利用较为接近,成为另一组,而 2 个组之间距离则相差很远。从图 5 可以看出,定植期和盛果期微生物群落的碳源利用较为接近,继

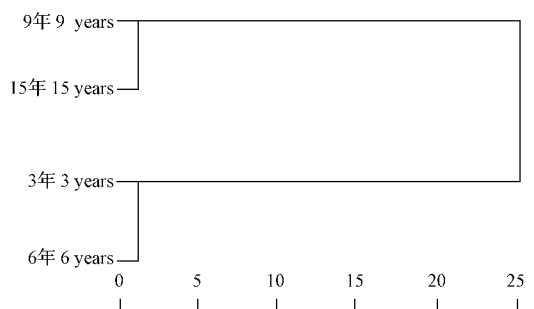


图 4 不同棚龄土壤微生物群落聚类分析

Fig. 4 Clustering analysis of microbial communities in different planting years

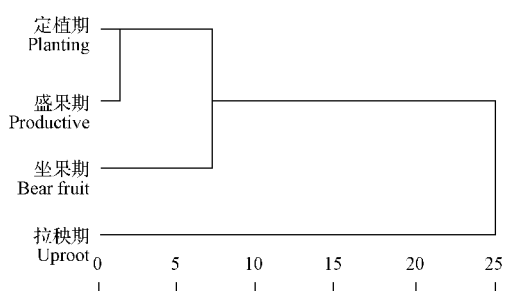


图 5 不同种植期土壤微生物群落聚类分析

Fig. 5 Clustering analysis of microbial communities in different growing stages

而坐果期相对远,但仍能分为一组,拉秧期的微生物群落碳源利用距离其它 3 个种植期距离相差很远。

2.2.5 样本主成分分析 从图 6 可以看出,培养 119 h 提取的与土壤微生物碳源利用功能多样性相关的主成分 1、2、3 依次解释变量方差的 76.55%、17.18%、3.95%。4 个样本均位于主成分 1 的正端,3、6 年棚室位于主成分 2 的负端,9、15 年棚室均位于主成分 2 的正端。可见,主成分 2 能够将不同棚龄土壤的微生物群落分成 2 组。这与聚类分析结果一致。进一步对主成分 1、2、3 的得分系数与单一碳源 AWCD 进行相关分析,表明与主成分 1、2、3 显著相关的碳源共有 15 种(表 4)。其中,与对主成分 1 显著正相关的主要是糖类、氨基酸类、酸类、脂类和胺类,与主成分 2 显著相关的主要是糖类、胺类和酸类,而与主成分 3 显著正相关的主要是胺类和酸类。

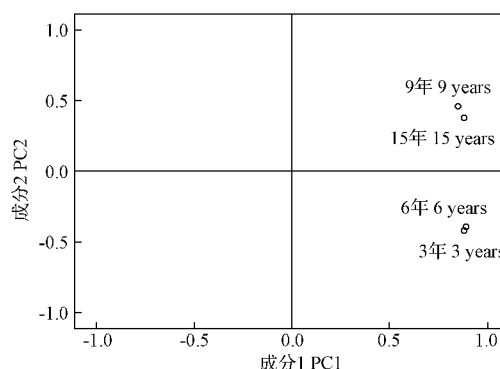


图 6 不同棚龄微生物碳源利用主成分分析

Fig. 6 PCA of carbon sources utilization profiles by soil microbe in different planting years

表 4 不同棚龄土壤样本中与主成分 PC1、PC2、PC3 显著相关的碳源类型

Table 4 Main carbon source significantly correlated with PC1, PC2 and PC3 of soil sample of different planting years

成分 Principal component	碳源 Carbon source	r	碳源 Carbon source	r
PC1	D-纤维二糖 D-Cellobiose	0.988	D-半乳糖内酯 D-Galactonic acid γ -lactone	0.888
	葡萄糖-1-磷酸盐 Glucose-1-phosphate	0.974	D-半乳糖醛酸 D-Galacturonic acid	0.848
	2-羟基苯甲酸 2-Hydroxy benzoic acid	-0.961	腐胺 Putrescine	0.904
	L-苏氨酸 L-Threonine	-0.934	吐温 40 Tween 40	0.891
PC2	α -D-乳糖 α -D-Lactose	-0.966	D-苹果酸 D-Malic acid	0.886
	苯乙基胺 Phenylethyl-amine	-0.965	L-精氨酸 L-Arginine	0.811
	γ -羟基丁酸 γ -Hydroxybutyric acid	0.898		
PC3	α -丁酮酸 α -Ketobutyric acid	0.781	N-乙酰基-D-葡萄糖胺 N-Acetyl-D-glucosamine	0.760

从图 7 可以看出,培养 92 h 时提取与土壤微生物碳源利用功能多样性相关的主成分 1、2、3 依次解释变量方差的 91.18%、5.00%、3.22%。4 个样本均位于主成分 1 的正端,定植期、坐果期和盛果期位于主成

分 2 的负端,拉秧期位于主成分 2 的正端,可见主成分 2 能够将种植期土壤的微生物群落分成 2 组,拉秧期与其它 3 期有明显差异,这与聚类分析结果一致。对主成分 1、2、3 的得分系数与单一碳源 AWCD

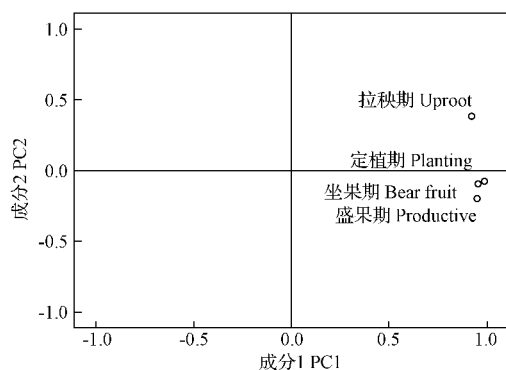


图7 不同种植期土壤微生物碳源利用主成分分析
Fig.7 PCA of carbon sources utilization profiles by soil microbe in different growing stages

进行相关分析表明,与主成分1、2、3显著相关的碳源共有19种(表5)。其中,与主成分1显著正相关的包含全部6类碳源,与主成分2显著相关的主要是糖类(*D*-纤维二糖)和胺类(*N*-乙酰基-*D*-葡萄糖胺),而与主成分3显著正相关的主要是氨基酸类(*L*-天冬酰胺酸)和酸类(γ -羟基丁酸)。

3 讨论

连作障碍就是在同一土壤中连续栽培同种或同科的作物时用正常的栽培管理也会发生长势变弱、产量和品质下降的现象^[20-21]。连作障碍是影响农业生产产量及品质的一个主要问题。该研究证实随着棚室使用年限的增加,土壤亦逐步呈现酸化趋势,土

表5 不同种植期土壤样本中与主成分PC1、PC2、PC3显著相关的碳源类型

Table 5 Main carbon source significantly correlated with PC1, PC2 and PC3 of soil sample of different growing stages

成分 Principal component	碳源 Carbon source	<i>r</i>	碳源 Carbon source	<i>r</i>
PC1	丙酮酸甲酯 Pyruvic acid methyl ester	0.997	<i>D</i> -苹果酸 <i>D</i> -Malic acid	0.958
	衣康酸 Itaconic acid	0.989	<i>D</i> -半乳糖内酯 <i>D</i> -Galactonic acid γ -lactone	0.952
	吐温 40 Tween 40	0.986	4-羟基苯甲酸 4-Hydroxy benzoic acid	0.942
	<i>D</i> -木糖 <i>D</i> -Xylose	0.983	<i>D</i> -甘露醇 <i>D</i> -Mannito	-0.940
	苯乙基胺 Phenylethyl-anine	0.980	肝糖 Glycogen	0.935
	<i>L</i> -苯基丙氨酸 <i>L</i> -Phenylalanine	0.976	<i>L</i> -丝氨酸 <i>L</i> -Serine	0.907
	吐温 80 Tween 80	0.974	α -环式糊精 α -Cyclodextrin	0.907
	<i>L</i> -精氨酸 <i>L</i> -Arginine	0.968		
PC2	<i>D</i> -纤维二糖 <i>D</i> -Cellobiose	0.973	<i>N</i> -乙酰基- <i>D</i> -葡萄糖胺 <i>N</i> -Acetyl- <i>D</i> -glucosamine	0.911
PC3	γ -羟基丁酸 γ -Hydroxybutyric acid	0.764	<i>L</i> -天冬酰胺酸 <i>L</i> -Asparagine	0.728

壤中总P、C含量增加,显示肥料使用与作物消耗之间不平衡,造成养分累积。土壤在定植期、坐果期及盛果期,由于追加肥料等原因呈现明酸化,土壤含盐量明显增加,土壤盐渍化。

Biolog 分析法利用碳源代谢能力变化阐明土壤微生物的功能,碳源平均颜色变化率(AWCD)及其功能多样性指数可以反映土壤微生物的活性及其功能多样性^[22]。研究表明不同棚龄代谢活性大小依次为9年棚室>15年棚室>3年棚室>6年棚室。随着种植年限增加,土壤微生物群落代谢能力呈现出先升高后降低的变化规律。9年棚室糖类物质的代谢与其它棚龄棚室有明显差异,6年棚室醇类及酸类物质代谢与其它棚龄棚室有明显差异。9、15年棚室的微生物群落碳源利用较为接近,3、6年棚室较为接近,与其显著相关的代谢碳源主要是糖类,氨基酸类和酸类。

在不同的种植期棚室中微生物群落碳源代谢基

本上均呈现坐果期>定植期>盛果期>拉秧期的特征。定植期和盛果期微生物群落的碳源利用较为接近,拉秧期的微生物群落碳源利用距离其它3个种植期距离相差较远,与其显著相关的代谢碳源是*D*-纤维二糖和*N*-乙酰基-*D*-葡萄糖胺。土壤微生物是土壤营养物质循环重要的参与者,土壤微生物种群的多样性及代谢能力决定了土壤肥力及土壤的健康状况。该研究为进一步解除棚室土壤连作障碍,维持土壤微生物的多样性研究奠定了基础。

参考文献

- [1] 钟修洪,叶剑波. 设施连作障碍产生的原因及其防治措施[J]. 现代园艺, 2011(1): 48-49.
- [2] 黄春生,熊明. 连作障碍的产生原因及改善途径[J]. 上海蔬菜, 2010(5): 62-64.
- [3] 李文娇,杨殿林,赵建宁,等. 长期连作和轮作对农田土壤生物学特性的影响研究进展[J]. 中国农学通报, 2015(3): 173-178.
- [4] 张杰,余潮,王自海,等. 不同植被群落表层土壤中细菌群落多样性[J]. 环境科学研究, 2013, 6(8): 866-872.

- [5] 李晓慧,韩晓增,王树起,等. 土壤微生物对不同作物根系活动的响应[J]. 土壤与作物,2010,26(2):156-159.
- [6] E KANDELER,D TSCHERKO,H SPIEGEL. Long-term monitoring of microbial biomass, N mineralisation and enzyme activities of a Chernozem under different tillage management[J]. Biology & Fertility of Soils,1999,28(4):343-351.
- [7] 李贺勤,李星月,刘奇志,等. 连作障碍调控技术研究进展[J]. 北方园艺,2013(23):193-197.
- [8] 吴洪生,周晓冬,闫霜,等. 拮抗菌与有机肥配合防治黄瓜连作障碍及提高黄瓜品质研究[J]. 西南农业学报,2013,4(26):1604-1607.
- [9] 檀国印,杨志玲,袁志林,等. 植物根际促生菌及其在克服连作障碍中的潜力[J]. 热带作物学报,2013(1):135-141.
- [10] JAY L G. Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology[J]. Microbiology Ecology,1997,24(4):289-300.
- [11] 土壤干物质和水分的测定-重量法:HJ 613-2011[S]. 北京:中国环境科学出版社,2011:1-5.
- [12] 土壤 pH 的测定:NY-T 1121. 2[S]. 北京:中国农业出版社,2015:1-5.
- [13] 土壤检测-第 16 部分:土壤水溶性盐总量的测定:NY-T 1121. 16[S]. 北京:中国农业出版社,2015:1-5.
- [14] 土壤全磷测定法:NY/T88-1988[S]. 北京:中华人民共和国农业部,1989:1-3.
- [15] 土壤全钾测定法:NY/T 87-1988[S]. 北京:中华人民共和国农业部,1989:1-5.
- [16] 土壤有机质测定法:NY/T 85-1988[S]. 北京:中华人民共和国农业部,1989:1-6.
- [17] Soil quality-Sampling-Part 6: Guidance on the collection, andling and storage of soil under aerobic conditions for the assessment of microbiological processes, iomass and diversity in the laboratory; ISO 10381-6-2009[S]. 英国:英国标准协会,2010:1-6.
- [18] 王强,戴九兰,吴大千,等. 微生物生态研究中基于 BIOLOG 方法的数据分析[J]. 生态学报,2010,30(3):817-823.
- [19] 张文霖. 主成分分析在 SPSS 中的操作应用[J]. 市场研究,2005(12):31-34.
- [20] 郭晓冬. 设施栽培条件下土壤的连作障碍及防治措施[J]. 甘肃农业科技,2003(7):38-40.
- [21] 帅正彬,李杰. 蔬菜连作障碍与综防措施研究进展[J]. 中国园艺文摘,2014(10):60-63.
- [22] YANG Y H, YAO J, HUA X M. Effect of pesticide pollution against functional microbial diversity in soil[J]. J Microbiol,2000,20(2):44-47.

Effect of Planting Years and Growth Stages on Soil Microbial Metabolic Functions in Greenhouse

CHEN Rui,SUN Xiaoyu,LU Pengpeng,ZHAO Lingxia,QU Jia,SHEN Weirong
(Shaanxi Province Institute of Microbiology,Xi'an,Shaanxi 710043)

Abstract: In order to indicate the change of microbial metabolic function in different planting years(3,6,9 and 15 years) and different growth stages(planting, bear fruit, productive and uproot) in greenhouse, physical-chemical properties and microbes carbon source utilization were investigated. The results showed that soil pH dropped about 0.52 units. The water soluble salt, total phosphorus and total carbon were accumulated in greenhouse soil with the increase of shelf age. The microbial metabolic of the carbon source was the highest in the 9 years soil, and changed little at 15 years, but there was no significant difference. There were 15 types of carbon sources had significant correlation with microbial metabolic activity between the different planting years. Microbial metabolic of the carbon source at uproot period were the lowest and significant difference with planting, bear fruit and productive period, there were 19 types of carbon sources had significant correlation with microbial metabolic activity between the plant growth stage in greenhouse.

Keywords: bacteria; Biolog ECO plate; microbial communities; metabolic function