

杀虫剂类 POPs 对土壤中微生物群落多样性的影响

张 红^{1,2,3}, 吕永龙^{1,2,*}, 辛晓云³, 史艳飞³, 明 宾³

(1. 中国科学院生态环境研究中心系统生态重点实验室, 北京 100085; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039;
3. 山西大学资源与环境学院, 太原 030006)

摘要: 农药类持久性有机污染物(POPs)如 DDT 和 HCH 在我国 20 世纪 50 年代到 80 年代曾广泛使用, 在停止使用 20a 后, 在土壤中仍然可以检测到 DDT 和 HCH 的残留。利用 BIOLOG 微平板研究土壤微生物群落功能多样性, 意在反映有机氯杀虫剂类 POPs 对土壤微生物群落多样性的影响。结果表明, 加了 HCH 后土壤微生物群落的颜色平均变化值(AWCD)的变化速度和最终能达到的 AWCD 值要高于空白土壤, 并且随着农药浓度的加大, AWCD 值的变化速率也越来越快, 最终能达到的最大值也呈比例增大。加了 DDT 后的土壤与空白土壤的 AWCD 变化速度和程度相差不大。方差分析结果表明: 空白土壤、HCH 0.5 mg/kg、HCH 1.5 mg/kg 各处理间土壤的 AWCD 值有显著性差异($p < 0.01$), 空白土壤、DDT 0.5 mg/kg、DDT 1.5 mg/kg 各处理间土壤的 AWCD 值达不到显著性差异的水平($p > 0.05$), 表层土壤的 AWCD 值要高于第 2 层土壤($p < 0.01$)。从多样性指数的变化来看, 当加入到土壤中的 DDT 和 HCH 含量稍低时, 微生物会利用农药为碳源进行分解作用, 从而刺激了微生物的生长, 这时表现出丰富度、均匀性和多样性都呈增长趋势。但当农药的浓度进一步加大时, 反而会抑制某些种的微生物生长, 另外一些种则对加入到土壤中的农药有一定的耐受性, 从而表现出群落的均匀性下降, 而丰富度升高。在相同施用浓度下, DDT 对土壤微生物群落多度的影响要小于 HCH。虽然 BIOLOG 方法仍存在一些局限性, 但是如果从群落和生态系统而不是从物种层次来看的话, BIOLOG 则为研究土壤微生物群落功能多样性提供了一种简单、快速的方法, 使人们从更广泛的尺度上比较微生物群落的不同。

关键词: BIOLOG; 有机氯农药; 土壤微生物群落; 颜色平均变化率(AWCD); 功能多样性

Effects of organochlorine pesticides on soil microbial community functional diversity

ZHANG Hong^{1,2,3}, LÜ Yong-Long^{1,2}, XIN Xiao-Yun³, SHI Yan-Fei³, MING Bin³ (1. Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China; 3. School of Environmental Science and Resources, Shanxi University, Taiyuan 030006, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25 (4): 937~942.

Abstract: Organochlorine pesticides such as DDT and HCH were used extensively in China from the 1950s to the 1980s. Although their use was banned in 1983, their residues in soil are still detectable in many regions today. Pesticides should be generally toxic only to the target organisms. However, this is rarely the case. Some microbial groups are able to use an applied pesticide as a source of energy and nutrients, whereas the pesticide may be toxic to other microbial organisms. Because microbial groups react differently to different pesticides, information concerning their functional diversity (metabolic potential) is essential for understanding the role of microbial communities in different environments. BIOLOG bacterial identification system plates were used to assess the effects of organochlorine pesticides (DDT and HCH) on soil microbial community. The

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向资助项目(KZCX2-414)

收稿日期: 2004-09-15; **修订日期:** 2004-12-20

作者简介: 张红(1972~), 女, 山西省阳泉市人, 博士生, 主要从事污染生态学和统计生态学研究。E-mail: zhanghongchinese@yahoo.com.cn

致谢: 感谢中国科学院生态环境研究中心欧阳志云研究员和方治国博士的帮助。

* **通讯作者** Author for correspondence. E-mail: score@mail.rcees.ac.cn

Foundation item: The Knowledge Innovation Project of Chinese Academy of Sciences(No. KZCX2-414)

Received date: 2004-09-15; **Accepted date:** 2004-12-20

Biography: ZHANG Hong, Ph. D. candidate, mainly engaged in pollution ecology and statistical ecology.

effects of pesticides to microbial community were expressed in terms of Average Well Color Development (AWCD) and Community Diversity Indices. The results showed significant differences in AWCD among treatments of control soil, HCH 0.5mg/kg soil, and HCH 1.5mg/kg soil ($p < 0.01$), but no significant differences among treatments of control soil, DDT 0.5mg/kg soil, and DDT 1.5mg/kg soil ($p > 0.05$). AWCD values of topsoil were also greater than those of plough horizon ($p < 0.01$). The abundance, diversity and evenness of soil microbial community were increased with organochlorine pesticides added in soil. While the results for DDT were similar to those for HCH, there were much lower. Although the use of BIOLOG for microbial identification was subject to the same limitations as traditional isolate characterization using agar plates, it proved to be a rapid and reproducible method of detecting relative change in microbial communities. The application of the community-level approach to assays of microbial function would provide a more sensitive and ecologically meaningful measure of heterotrophic microbial community structure.

Key words: BIOLOG; organochlorine pesticides; soil microbial community; Average Well Color Development (AWCD); functional diversity

文章编号:1000-0933(2005)04-0937-06 中图分类号:X592 文献标识码:A

持久性有机污染物(POPs)是指对于生物代谢、光解、化学分解等具有很强的抵抗能力的天然或人工合成的有机污染物。POPs 具有半挥发性,能够在大气环境中长距离迁移和沉积,从而在那些从来没有使用过 POPs 的地区也能找到其存在,并很难分辨来源^[1,2],因此,国际组织已经呼吁开展全球性的行动以减少和消除这些物质。目前国际上公认的 12 种 POPs 物质当中,共分为 3 类:①是杀虫剂,如艾氏剂、狄氏剂、异狄氏剂、滴滴涕、七氯、灭蚁灵、毒杀芬和氯丹;②是工业产品,如多氯联苯和六氯苯;③是生产过程的副产品,如二恶英和呋喃。其中有机氯农药如 DDT 曾在我国大范围使用,另外一种 HCH 也被美国、欧盟列入黑名单中。就我国而言,有机氯类农药的使用始于建国初期,1983 年以后禁用。HCH、DDT 等高残留农药大量使用后,造成土壤、粮油、食品和人体的普遍污染,1992 年卫生部监测结果表明^[3],在全国各地的 355 件食品(粮食、蔬菜、水果、肉禽、水产、油、蛋、乳)中,HCH 检出率 69%,合格率 99.44%,DDT 检出率 42%,合格率 100%。有机氯残留水平虽然较 20 世纪 80 年代下降许多,但仍然高于发达国家,由于有机氯农药性质稳定、不易降解和高脂溶性,其对生态系统所造成的影响,在其停止使用 20 多年后仍然没有完全消除,在许多地区的土壤、食品、人乳中仍能检测到其残留^[4,5]。

微生物功能多样性信息对于明确不同环境中微生物群落的作用具有重要意义^[6]。当大量的有机氯农药进入到土壤环境中,土壤微生物群落的数量和多样性都会受到影响,从而间接地影响到土壤中的各种生物化学转化过程,最终影响土壤肥力和土壤生态系统的平衡^[7]。以 BIOLOG 微孔板碳源利用为基础的定量分析为描述微生物群落功能多样性提供了一种简单、快速的方法^[6,8]。本文以 BIOLOG 微生物鉴定系统为主要手段,研究了官厅水库地区土壤中微生物群落的功能多样性,以期为研究有机氯农药对生态系统的影响提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 研究区域概况

官厅水库是 1949 年以后修建的第一座大型水库,位于北京市西北 90km 的永定河上,主要任务是防洪、供水、发电,是北京市重要的供水水源地之一。官厅水库控制流域面积 43402km²,占永定河流域面积的 92.8%,地跨山西省、河北省、北京市。官厅地区土壤类型为砂壤,植被为茵陈蒿、苍耳、旋复花、虎尾草、猪毛菜等为优势种的农田弃耕杂草群落。官厅水库地区土壤中 DDT 和 HCH 含量已开展了一些研究^[9],本文在此基础上,进一步研究 DDT 和 HCH 对土壤微生物生态系统的影响。

1.2 土样采集

在官厅水库周边地区采集土壤样品,采用对角交叉取样法取样,采集 10~20cm 深度的土壤 2000g,GPS 定位并记录样点环境。土壤样品采回后,称取 400g 新鲜土壤分装在 9 个花盆中,并分别加入浓度为 0.5、1.0、1.5、2.0 mg/kg 的 HCH、DDT,并设置空白土样。保持土壤水分,使之保持田间持水量 30%,盆栽一个月后,对空白土壤和添加农药浓度为 0.5 mg/kg、1.5mg/kg 的土壤微生物群落功能多样性进行 BIOLOG 反应的测定。

1.3 BIOLOG 微平板的基本原理

BIOLOG 研究微生物的载体是微孔板(MicroPlate),每板包含 96 个孔,其中 95 个孔中加入了 95 种单一碳源和四唑染料,另外一个未加碳源的孔中加水作为对照。微生物接种到微孔板上的孔中后,孔中的微生物就可能利用其中的碳源而发生氧化还原作用,而孔中一旦有电子转移,这种四唑染料就会变为紫色,表明这种碳源被接种到其中的微生物所利用^[10]。BIOLOG 板最初就是根据其中具体类型的代谢指纹来鉴定已分离纯化的微生物物种。BIOLOG 数据库包含有鉴定 1449 种细菌和酵母的信息。1991 年,Garland 和 Mills 首次将 BIOLOG 微孔板用来描述微生物的群落特征^[11],该项工作引起了许多微生物生态学研究

者的广泛关注。

1.4 BIOLOG 平板测定法的基本步骤^[12]

1.4.1 土壤微生物的提取

- ①称取相当于 10g 左右干土的新鲜盆栽土壤,分 10~20cm、20~40cm 两层,浓度分别为空白,DDT0.5mg/kg,DDT1.5 mg/kg,HCH0.5mg/kg,HCH1.5mg/kg。
- ②高压灭菌后的三角锥形瓶中加 90ml 85%NaCl 无菌溶液,加入称好的土壤,封口。
- ③摇床震荡 20min。
- ④在超净工作台,从三角锥瓶中取 1ml 无菌溶液稀释至 90ml 85%NaCl 无菌溶液试管中,混匀为 10⁻²浓度溶液,同理再次稀释至 10⁻³浓度的悬浮液。

1.4.2 多底物酶联反应(ELISA)

- ①在超净工作台,将稀释好的土壤悬浮液用移液器接种到 BIOLOG 板中,每孔 150μl,每个样品作两个重复。样品的背景颜色可以通过减去零点时间孔的初始读数予以纠正。
- ②将接种好样的 BIOLOG 平板在 25℃的固定温度下进行培养。
- ③温育过程中每 12h 读数 1 次,分别是 0,12,24,28,32,36h,⋯,240h 用 ELISA 反应微平板读数器在 590nm 读数,读数 1 周。本实验中采用每 4h 的间隔读数,为了更好的了解微生物反应的速率。

2 数据处理

2.1 土壤微生物群落 ELISA 反应总体表述

ELISA 反应采用每孔颜色平均变化率(Average Well Color Development, AWCD)来描述:

$$AWCD = \sum(C - R)/n$$

式中,C 是所测得 95 个反应孔的光吸收值,R 是对照孔 A1 的光吸收值,n 是碳源数目。

2.2 数据分析处理

根据培养基利用的丰富度、多样性和均匀度指数,按照计算物种指数的方法^[13]计算土壤微生物群落的功能多样性(见表 1)。数据的显著性差异采用方差分析(ANOVA)来检验。

3 结果与分析

3.1 土壤培育过程中 ELISA 反应 AWCD 值变化

Garland 等指出在利用 BIOLOG 微平板反应系统研究微生物群落的单一碳底物利用能力时,对结果影响最大的是加到 BIOLOG 微平板上每孔里的微生物提取液的浓度并提出解决问题的方法:①调节土壤提取液浓度使之相同;②对原始实验数据用 AWCD 来处理^[11]。Haack 等认为只有将接种液浓度影响排除了,才能获得微生物群落在结构和功能上的真正差异^[14]。本实验中所用的土壤提取液(接种液)的浓度大致相同,因此所得的 AWCD 结果可以反映土壤微生物群落结构和功能多样性上的差异。AWCD 值的变化可以从两个角度来看:一是速度,二是程度。土壤微生物群落 ELISA 反应速度和最终能达到的程度与群落内能利用单一碳底物的微生物的数目和种类相关。

土壤培育过程中 ELISA 反应 AWCD 值变化见图 1 和图 2。从图 1 中反映出,加了 HCH 土壤的 AWCD 值的变化速度(图中即斜率)和最终能达到的 AWCD 值(图中即曲线的最大值)要高于空白土壤,并且随着农药浓度的加大,AWCD 值的变化速率也越来越快,最终能达到的最大值也呈比例增大。从图 2 反映出,空白土壤与加了 DDT 各浓度的土壤,其 AWCD 的变化速度和程度相差不大。对空白土壤、加 HCH 不同浓度的土壤、加 DDT 不同浓度的土壤之间的 AWCD 值进行方差分析(表 2),结果表明:空白土壤、HCH 0.5mg/kg、HCH 1.5mg/kg 各处理间土壤的 AWCD 值有显著性差异($p<0.01$),空白土壤、DDT 0.5mg/kg、DDT 1.5mg/kg 各处理间土壤的 AWCD 值达不到显著性差异的水平($p>0.05$)。分析原因,可能是 DDT 对土壤微生物的影响较 HCH 相比要小些。另外从不同层次土壤微生物群

表 1 土壤中微生物群落功能多样性指数计算方法
Table 1 Measures for functional diversity of soil microbial communities

多样性指数 Diversity indices	定义 Definition	公式 Formula
N0	丰富度指数,测定样	$N0=S$
R1	本中物种的数量	$R1=(S-1)/\ln(n)$
R2	Richness indices	$R1=S/n^{1/2}$
λ	多样性指数,把种的	$\lambda = \sum [n_i(n_i-1)/(n(n-1))]$
H'	丰富度和均匀性综	$H' = - \sum [(n_i/n)\ln(n_i/n)]$
N1	合在一起 Diversity	$N1=e^{H'}$
N2	indices	$N2=1/\lambda$
E1	均匀性指数,指物种	$E1=H'/\ln(S)$
E2	多度如何在种间分	$E2=N1/N0$
E3	布的 Evenness	$E3=(N1-1)/(N0-1)$
E4	indices	$E4=N2/N1$
E5		$E5=(N2-1)/(N1-1)$

* S BIOLOG 板中颜色变化孔的数目 The total number of color well;
n 颜色变化孔的吸光值的总和 The total of color values;
n_i 第 i 孔颜色变化的吸光值 The color value for each well

落对 BIOLOG 碳源利用的能力来看,表层土壤的 AWCD 值要高于第 2 层土壤($p<0.01$),说明表层土壤微生物群落对 BIOLOG 碳源利用的程度要大于底层土壤。

3.2 土壤微生物群落多样性分析

采用土壤 ELISA 反应 144h 的数据(数据扩大 1000 倍以防止负数)计算土壤微生物群落对 95 种碳源利用的不同,根据多样性指数公式分别计算丰富度、多样性和均匀性并作图。

从丰富度指数来看(图 3a),首先比较添加不同农药之后土壤微生物群落丰富度的变化。添加 DDT 和 HCH 后,微生物群落的丰富度指数 R1、R2 都有所升高,但 HCH 响应更强烈一些,也就是说添加 HCH 的土壤微生物群落的丰富度要大于空白土壤和添加 DDT 的土壤。第二,比较 DDT 和 HCH 不同浓度之间微生物群落丰富度的变化。从浓度之间,也就是空白、0.5mg/kg 和 1.5mg/kg 之间来看,变化不是很明显,并没有因为浓度增加而有显著的上升,这一方面与本实验设置的农药浓度较小有关,另一方面,也反映出添加农药,微生物群落的多样性会受到影响,但这种影响与农药的种类和浓度之间的定量关系仍需进一步研究。第三,从不同土壤层次来看,表层土壤微生物群落的丰富度要大于底层土壤,添加了农药后,这种表层大于底层的变化幅度明显降低。

从多样性指数来看(图 3b),添加农药后,无论是 DDT 还是 HCH,微生物群落的多样性略微升高,HCH 土壤的多样性大于 DDT 土壤。从浓度之间的比较来看,随着浓度的增大,多样性反而有所降低,如 DDT0.5mg/kg 土壤微生物多样性大于 DDT1.5mg/kg 土壤,HCH 浓度之间的变化要小些。这说明微生物对加入到土壤中的农药有一定的耐受性,当开始加入时,微生物会利用农药为碳源进行分解作用,从而刺激了生长,但当农药的浓度加大时,反而会抑制某些微生物生长,并且对不同种类的农药,其耐受性有明显的差异,从实验结果来看,土壤微生物对 DDT 的耐受性要比 HCH 的高,且仍然是表层土壤的微生物多样性大于底层土壤。

从均匀性指数来看(图 3c),添加 HCH 后,当浓度稍低时(0.5mg/kg),微生物群落的均匀性下降,当浓度加大时(1.5mg/kg),均匀性反而上升;添加 DDT 后,当浓度稍低时(0.5mg/kg),均匀性有所上升,但当浓度加大时(1.5mg/kg),均匀性反而降低。分析原因,均匀性升高可能是因为农药刺激了微生物的生长繁殖,促使多种微生物都参与农药的降解过程,均匀性降低可能是由于农药浓度增大时,抑制了某些种的生长,致使群落均匀性下降。另外,不同的土壤层次微生物群落均匀性大致相同。

从以上分析可以看出不同农药的不同浓度对土壤不同层次微生物的群落的刺激和影响完全不同,对其特定的微生物种群抑制和刺激程度也大有区别,从而造成微生物群落的丰富度、均匀性和多样性指数出现了不同的变化,虽然添加相同的浓度,培养条件也相同,但有的增长,有的则出现了不同程度的下降。

4 结语

当不同的农药添加到土壤中时,它对微生物整体群落的影响和对特定群落的影响不同,并且不同的农药,微生物的耐受性也不同。本实验中,DDT 和 HCH 对土壤培育过程中 ELISA 反应有明显的影响。在相同的施用浓度下,HCH 对土壤微生物 ELISA 反应的变化速度和最终能达到的 AWCD 值要高于 DDT 和空白,并且随着农药浓度的加大,AWCD 值的变化速率也越

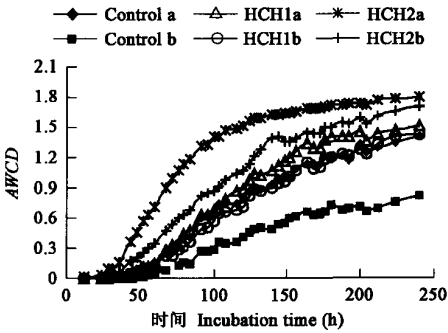


图 1 土壤微生物培育过程中 AWCD 变化(HCH 处理组)
Fig.1 Variation in AWCD over time (treatment with HCH)
control a 背景 10~20cm 土壤 10~20cm control soil;
control b 背景 20~40cm 土壤 20~40cm control soil;
HCH1a 加入 HCH0.5 mg/kg 10~20cm 土壤 10~20cm
HCH0.5mg/kg soil;
HCH1b 加入 HCH0.5 mg/kg 20~40cm 土壤 20~40cm
HCH0.5mg/kg soil;
HCH2a 加入 HCH1.5 mg/kg 10~20cm 土壤 10~20cm
HCH1.5mg/kg soil;
HCH2b 加入 HCH1.5 mg/kg 20~40cm 土壤 20~40cm
HCH1.5mg/kg soil

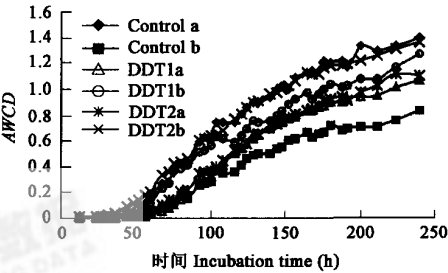


图 2 土壤微生物培育过程中 AWCD 变化(DDT 处理组)
Fig.2 Variation in AWCD over time (treatment with DDT)
DDT1a 加入 DDT0.5mg/kg10~20cm 土壤 10~20cm DDT
0.5mg/kg soil;
DDT1b 加入 DDT0.5mg/kg20~40cm 土壤 20~40cm
DDT0.5mg/kg soil;
DDT2a 加入 DDT1.5mg/kg10~20cm 土壤 10~20cm
DDT1.5mg/kg soil;
DDT2b 加入 DDT1.5mg/kg20~40cm 土壤 20~40cm
DDT1.5mg/kg soil

来越快,最终能达到的最大值也相应增大。土壤表层的微生物群落 AWCD 值的变化值和速率要高于底层土壤。

表 2 土壤各处理间 AWCD 值的方差分析
Table 2 ANOVA of AWCD for different treatments

变量 ^① Variable	方差来源 Source	偏差平方和 Sum of Squares	自由度 df	均方差 Mean Square	F 值 F	显著性水平 Sig.
AWCD (0,HCH0.5,HCH1.5)	组间 Between Groups	12.625	2	6.313	24.52	0.000**
	组内 Within Groups	62.033	240	0.257		
	总和 Total	74.658	242			
AWCD (0,DDT0.5,DDT1.5)	组间 Between Groups	0.259	2	0.129	0.78	0.461
	组内 Within Groups	39.929	240	0.166		
	总和 Total	40.188	242			

* $p<0.05$, ** $p<0.01$;①空白、HCH 处理、DDT 处理 control, HCH and DDT

DDT 和 HCH 对土壤微生物的群落结构和多度是有一定影响的。当加入到土壤中的农药含量稍低时,微生物会利用农药为碳源进行分解作用,从而刺激了微生物的生长,这时表现出丰富度、均匀性和多样性都呈增长趋势。但当农药的浓度进一步加大时,反而会抑制某些微生物的生长,另外一些种对加入到土壤中的农药有一定的耐受性,从而表现出群落的均匀性下降,而丰富度升高。在相同施用浓度下,DDT 对土壤微生物群落多度的影响要小于 HCH。

通过研究,可以根据农药在土壤中反映的不同特性,利用土壤微生物的特定群落,为有机氯类杀虫剂的削减提供可行性的科学的依据。

5 讨论

与动植物群落结构和功能研究不同,无论是用分离培养还是分子和生化等手段来定义微生物群落的结构都不能得出十分准确的结论,微生物群落的结构与功能多样性之间的相互关系也不是很明显^[11]。因而,对微生物群落的功能多样性进行测定对于了解整个群落的生态功能更有意义,BIOLOG 方法正是基于群落水平的生理模式(CLPP)来定量研究微生物功能多样性的。

目前,BIOLOG 作为一种研究微生物群落功能多样性的方法仍然存在一些问题^[15]。比如:能够利用 BIOLOG 板碳源的种群所反映的最初接种的那些种群的相对比例有多大?如何充分反映出群落所有成员的功能?许多学者也对 BIOLOG 的潜在的利用和局限作了深入的探讨,如以动力学分析的方法解决非线性问题和接种密度的问题等^[16]。尽管这种方法存在许多局限性,但是如果从群落和生态系统而不是从物种层次来看的话,BIOLOG 为研究土壤微生物群落功能多样性提供了一种简单、快速的方法,并得以广泛应用,正是这种群落水平,才使人们从更广泛的尺度上比较微生物群落的不同。

References:

[1] Jones K C, Voogt P de P. Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. *Environ. Pollut.*, 1999,**100**: 209~221.
[2] Loganathan L B, Kannan K. Global organochlorine contamination trends; an overview. *Ambio.*, 1994,**23**: 187~190.
[3] Zhang Y, Yang D J, Fang C R, et al. Food contamination of Organochlorine pesticide in China. *Pesticide science and management*, 1996, **1**: 20~22.
[4] Wang M Q, Wang Z T, Ran L, et al. Study on food contaminants monitoring in China during 2000~2001. *Journal of Hygiene Research*, 2003,**32**(4):322~326.
[5] Kang Y H, Liu P B, Wang Z J, et al. Persistent organochlorinated pesticides in water from guanting reservoir and Yongdinghe River Beijing. *Scientia Limnologica Sinica*, 2003,**15**(2):125~132.

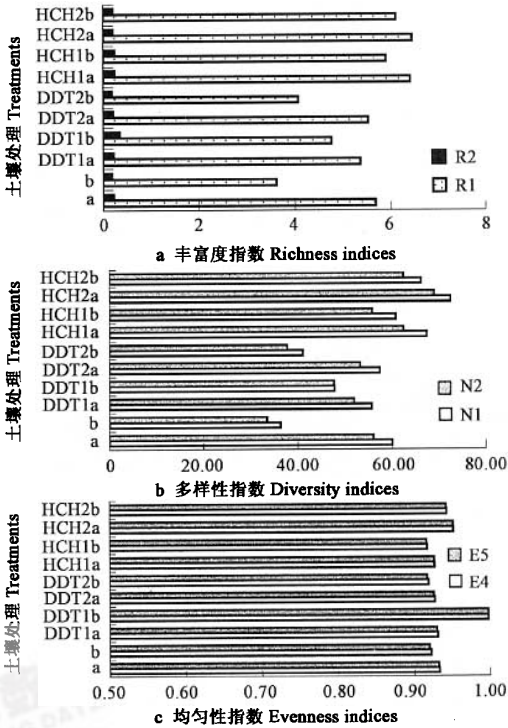


图 3 不同处理下土壤微生物的丰富度指数、多样性和均匀性指数
Fig. 3 Comparison of diversity indices,richness indices and evenness indices with different treatments

- [6] Preston Mafham J, Boddy L, Randerson P F. Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilization profiles-a critique. *FEMS Microb. Ecol.*, 2002, **42**: 1~14.
- [7] Kaare J, Carsten S J, Vigdis T. Pesticide effects on bacterial diversity in agricultural soils-a review. *Biol. Fertil. Soils*, 2001, **33**: 443~453.
- [8] Choi K, Dobbs F C. Comparison of two kinds of Biology microplates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities. *J. Microb. Methods*, 1999, **36**: 203~213.
- [9] Zhang H, Lu Y L, Wang T Y, *et al.* Accumulation features of Organochlorine Pesticides residues in soils around Beijing Guanting Reservoir. *Bull Environ. Contam. Toxicol.*, 2004, **72**: 954~961.
- [10] Garland JL. Patterns of potential C source utilization by rhizosphere communities. *Soil. Biol. Biochem.*, 1996, **28**: 223~230.
- [11] Garland JL and Mills AL. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilisation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1991, **57**: 2351~2359.
- [12] Zheng H, Quyang Z Y, Fang Z G, *et al.* Application of Biolog to study on soil microbial community functional diversity. *Acta Pedologica Sinica*, 2004, **41**(3): 115~120.
- [13] John A and James F. *statistical ecology: a primer in methods and computing*. Indianapolis: Wiley Interscience Press, 1988.
- [14] Haack SK, Garchow H, Klug MJ, *et al.* Analysis of factors affecting the accuracy, reproducibility, and interpretation of microbial community carbon source utilisation patterns. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1995, **61**: 1458~1468.
- [15] Kaare Johnsen, Carsten S Jacobsen, Vigdis Torsvik. Pesticide effects on bacterial diversity in agricultural soils——a review. *Biol. Fertil. Soil*, 2001, **33**: 443~453.
- [16] Garland J L. Potential and limitations of BIOLOG for microbial community analysis. In: Bell CR, M Brylinsky, and P Johnson-Green, eds. *Microbial Biosystems; New Frontiers* Halifax: Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, 2000.

参考文献:

- [3] 张莹, 杨大进, 方从容, 等. 我国食品中有机氯农药残留水平分析. *农药科学与管理*, 1996, **1**: 20~22.
- [4] 王茂起, 王竹天, 冉陆, 等. 2000~2001 年中国食品污染物监测研究. *卫生研究*, 2003, **32**(4): 322~326.
- [5] 康跃惠, 刘培斌, 王子健, 等. 北京官厅水库-永定河水系水体中持久性有机氯农药污染. *湖泊科学*, 2003, **15**(2): 125~132.
- [12] 郑华, 欧阳志云, 方治国, 等. BIOLOG 在土壤微生物群落功能多样性研究中的应用. *土壤学报*, 2004, **41**(3): 115~120.