

王邦驰,黄 魁,闫志泉,等.蚯蚓粪肥农用土壤中活体病原菌随雨水径流的溶出特性 [J]. 中国环境科学, 2025,45(5):2569-2576.

Wang B C, Huang K, Yan Z Q, et al. Leaching characteristics of viable pathogenic bacteria from earthworm manure-amended soil with rainwater runoff [J]. China Environmental Science, 2025,45(5):2569-2576.

## 蚯蚓粪肥农用土壤中活体病原菌随雨水径流的溶出特性

王邦驰<sup>1</sup>,黄 魁<sup>1,2,3\*</sup>,闫志泉<sup>1</sup>,陈群丰<sup>1</sup>,李同欢<sup>1</sup> (1.兰州交通大学环境与市政工程学院,甘肃 兰州 730070; 2.寒旱地区水资源综合利用教育部工程研究中心,甘肃 兰州 730070; 3.甘肃省黄河水环境重点实验室,甘肃 兰州 730070)

**摘要:** 为明确病原微生物在雨水径流中的溶出规律,采用室内人工模拟降雨,冲刷蚯蚓粪施用的土壤.使用叠氮溴化丙锭(PMA)结合荧光定量 PCR,探究其中活体粪便指示菌(FIB)的丰度变化.结果显示,混合土壤基质中的电导率、氨氮、硝酸盐氮、总磷(TP)的浓度在降雨后分别下降了 51.34%、45.20%、99.09%和 26.22%.在径流水中,氨氮、TP 和化学需氧量(COD)的浓度均呈现出先上升后下降的变化趋势,且峰值都出现在前 15min (含 15min).总大肠菌(TC)、粪大肠菌(FC)和大肠杆菌(EC)和肠球菌(ES)四个 FIB 的 qPCR 定量结果都呈现出先上升后下降的变化趋势,并且 PMA-qPCR 与培养法之间有着显著的正相关性(Spearman  $r=0.723$ ,  $P<0.001$ ).所有径流中的 FC 数量均超过了《地表水环境质量标准》中的限值(40000 个/L).研究表明活性病原微生物可通过降雨冲刷进入水体,并在初期径流中大量扩散,增加其环境传播风险.

**关键词:** 蚯蚓粪; 粪大肠菌群; 径流; 降雨; 面源污染

中图分类号: X522 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2025)05-2569-08

**Leaching characteristics of viable pathogenic bacteria from earthworm manure-amended soil with rainwater runoff.** WANG Bang-chi<sup>1</sup>, HUANG Kui<sup>1,2,3\*</sup>, YAN Zhi-quan<sup>1</sup>, CHEN Qun-feng<sup>1</sup>, LI Tong-huan<sup>1</sup> (1.School of Environmental and Municipal Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou 730070, China; 2.Ministry of Education Engineering Research Center of Water Resource Comprehensive Utilization in Cold and Arid Regions, Lanzhou 730070, China; 3.Key Laboratory of Yellow River Water Environment in Gansu Province, Lanzhou 730070, China). *China Environmental Science*, 2025,45(5): 2569-2576

**Abstract:** To clarify the dissolution patterns of pathogenic microorganisms in rainwater runoff, a laboratory-simulated rainfall experiment was conducted to flush soil treated with earthworm castings. Propidium monoazide (PMA) combined with quantitative PCR (qPCR) was used to investigate changes in the abundance of viable fecal indicator bacteria (FIB). The results exhibited that after rainfall, the concentrations of electrical conductivity, ammonia, nitrate, and total phosphorus (TP) in the mixed soil matrix decreased by 51.34%, 45.20%, 99.09%, and 26.22%, respectively. In runoff water, the concentrations of ammonia, total phosphorus, and chemical oxygen demand (COD) exhibited a trend of initially rising and then falling, with peak values occurring within the first 15 minutes. The qPCR quantification results for four fecal indicator bacteria—total coliforms (TC), fecal coliforms (FC), *Escherichia coli* (EC), and *Enterococcus spp* (ES)—also displayed a similar trend of increasing and then decreasing. A significant positive correlation was found between the PMA-qPCR results and the culture method (Spearman  $r=0.723$ ,  $P<0.001$ ). The fecal coliform counts in all runoff samples exceeded the limits specified in the "Surface Water Quality Standard" (40000CFU/L). The study indicates that viable pathogenic microorganisms can be washed into water bodies through rainfall and are widely dispersed during initial runoff, increasing the risk of their environmental transmission.

**Key words:** earthworm castings; fecal coliforms; runoff; rainfall; non-point source pollution

雨水在径流过程中会通过冲刷地表不透水路  
面或人畜粪便携带大量的病原微生物<sup>[1]</sup>.已有研究  
表明,对径流雨水的不妥当处置,其中的肠球菌、大  
肠杆菌等病原微生物会对公共健康造成极大危害,  
引起肠胃、呼吸道等方面的相关疾病<sup>[2]</sup>.因此,雨水径  
流中病原微生物的归趋特性值得重点关注.

禽畜粪污作为一种生物有机废弃物,已成为我  
国最主要且高品质的有机肥资源<sup>[3]</sup>.蚯蚓粪因其富  
含大量的氮磷钾等土壤养分和有益的微生物<sup>[4-8]</sup>,已

被作为一种绿色粪肥广泛应用于农业生产<sup>[9-10]</sup>.虽  
然蚯蚓已被证明可以有效减少一些粪便微生物的  
细菌负荷,包括总大肠菌(*Total coliforms*, TC)、粪大  
肠菌(*Fecal coliforms*, FC)和大肠杆菌(*Escherichia  
coli*, EC)<sup>[11]</sup>.然而,蚯蚓粪中活体粪便指示菌(*Fecal*

收稿日期: 2024-10-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(52100016);甘肃省科技计划项目  
(2024CXPT-14,22JR9KA034)

\* 责任作者, 教授, huangkui@mail.lzjtu.cn

*indicator bacteria*, FIB)的含量并不稳定.以往的研究只探讨了蚯蚓粪农用土壤在降雨时养分的流失特征<sup>[12]</sup>,蚯蚓粪农用土壤在雨水径流中 FIB 的溶出变化特征却鲜有研究.

值得注意的是,只有活体微生物才能进行代谢和转录等生命活动<sup>[13]</sup>,因此活体 FIB 的丰度和变化更为重要.叠氮溴化丙锭(PMA)可选择性通过受损细胞膜进入细胞内,修饰其中的 DNA 从而无法进行 PCR 扩增<sup>[14]</sup>,目前被广泛应用于各种活性微生物的检测<sup>[15]</sup>.因此,本研究选择总大肠菌(TC)、粪大肠菌(FC)、大肠杆菌(EC)、肠球菌(*Enterococcus* spp, ES)四种 FIB 替代病原微生物,使用 PMA 对样品进行预处理,结合荧光定量 PCR 和多管发酵法辅助测定,分析径流水中活性病原微生物的丰度变化规律及其与理化因子的相关性,旨在为控制雨水径流污染提供科学依据.

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

所选土壤取自兰州市安宁区,选取的污泥型蚯蚓粪取自本实验室脱水污泥蚯蚓堆肥 15d(腐熟期)的堆肥产物,供试土壤和蚯蚓粪的理化性质详见表 1.实验装置为购自淘宝的矩形塑料盒(60cm×40cm×15cm)矩形盒正前方削去 8cm.在塑料盒前方放置导流板用于降低喷嘴压力并且便于形成径流,实验装置示意图如图 1 所示.

表 1 供试样品理化性质

Table 1 Physicochemical properties of the selected samples

理化指标	样品	
	土壤	蚯蚓粪
pH 值	8.12±0.19	7.02±0.11
电导率(μS/cm)	166.60±0.51	690.00±3.27
氨氮(mg/g)	0.36±0.01	1.99±0.02
硝酸盐氮(g/g)	0.15±0.01	1.01±0.02
总氮(g/g)	2.00±0.21	13.73±1.24
总磷(g/g)	0.29±0.01	2.27±0.04
含水率(%)	11.46±0.13	32.23±1.50
有机质含量(%)	10.03±0.16	40.08±0.13
FC(MPN/g)	20.67±4.92	3.87×10 <sup>6</sup> ±1.04×10 <sup>6</sup>

选取的模拟降雨装置为农意农业生产资料有限公司(兰州)生产的电动喷雾器,出水量 100mm/h,喷嘴压力 0.3MPa.使用纯水(pH 值:6.83±0.03,电导率:(3.90±0.20) μS/cm)替代雨水.

### 1.2 实验方法

将所取的 18kg 土壤去除杂草以及石块后投加至实验装置中,装置中土壤高度约为 8cm,坡度为 3.33%.按照混施的方式投加 2kg 蚯蚓粪(10%质量占比).即:将表层 5cm 的土壤取出并与蚯蚓粪拌合均匀,随后将混合土壤基质投加进装置内,将表面压实平整.在模拟降雨前静置 3d 并每天喷洒一定量的水,使混合土壤基质中的微生物种群得到稳定.实验在室温下进行(25~30℃),模拟降雨时长共计 1h 4min 27s.模拟降雨时,等待装置表面形成稳定地表径流(约 4min 27s)后开始计时,并在第 0, 2, 6, 10, 15, 20, 30, 40, 60min 使用 200mL 聚乙烯收集雨水 2 瓶.用于理化性质的测定、粪大肠菌群的培养法定量以及 PMA 处理后的 DNA 提取,同时取土壤、蚯蚓粪、模拟降雨实验前后的混合土壤基质用于后续的测定.

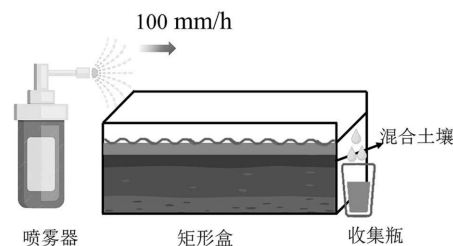


图 1 实验装置示意

Fig.1 Schematic diagram of experimental apparatus

### 1.3 测定方法

1.3.1 理化性质分析 采用重量法测定含水率(HJ 613-2011)<sup>[16]</sup>.采用灼烧减量法测定样品有机质(HJ 761-2015)<sup>[17]</sup>.对于固体样品,将样品风干研磨后与去离子水混合(1/50,w/V),磁力搅拌 30min 后测定混合液的 pH 值(雷磁,PHS-3C,上海),以及电导率(雷磁,DDS-307,上海).混合液和液体样品通过 0.45 μm 滤膜进行抽滤.氨氮采用纳氏试剂分光光度法(HJ 535-2009)测定<sup>[18]</sup>,硝酸盐氮采用紫外分光光度法(HJ/T 346-2007)测定<sup>[19]</sup>.化学需氧量采用快速消解分光光度法(HJ/T 399-2007)测定<sup>[20]</sup>.具体测定方法参照段自豪等<sup>[21]</sup>方法进行.

1.3.2 PMA 处理、DNA 提取和定量 PCR 步骤 取 1g 新鲜样品加入 10mL 磷酸盐缓冲液(0.01mol/L, pH=7.4),以 300r/min 磁力搅拌 30min,取 2mL 混合液转移至 2mL 离心管.对于液体样品,取适量样品在 8000g 离心力下离心 5min 并收集沉淀,随后转移至

2mL 离心管.按照 Carini 等<sup>[22]</sup>的方法,对于 2mL 混合液加入 5 $\mu$ L PMA(20mmol/L),使 PMA 的终浓度超过 40 $\mu$ mol/L.充分混匀后,在 4 $^{\circ}$ C 冰箱中静置 10min.随

后将溶液在发光二极管光解装置(Takara,EM200,日本)中光解 20min.每隔 5min 将离心管取出摇匀一次,以确保 PMA 能充分与死菌 DNA 结合.

表 2 引物及探针序列

Table 2 Primer and TaqMan probe sequences in this study

病原微生物	功能	序列(5'→3')	参考文献
<i>Total coliforms</i>	前引物	GTTGTAAAGCACTTTGAGTGGTGAGGAAGG	[23]
	后引物	GCCTCAAGGGCACAACCTCCAAG	
<i>Fecal coliforms</i>	前引物	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	[24]
	后引物	CGGGTAACGTCATGAGCAAA	
<i>Escherichia coli</i>	前引物	GGGGCGGTGACGCAG	[25]
	后引物	CCTGGTGAGTCGGAATGGTG	
	探针*1	CGATGATGCGCGCGC	
<i>Enterococcus spp</i>	前引物	TCTCATCGGCTCTACCTATC	[23]
	后引物	AAGCTGTGGACTACACCATAG	

注:\*1表示TaqMan探针标记有5'-FAM(6-羧基荧光素)和3'-MGB-NFQ(次沟结合物-非荧光淬灭剂).

PMA 处理后使用 TIANamp Soil DNA Kit(天根生化科技,北京)试剂盒提取 DNA.使用 Qubit 4(Thermo Fisher,美国)测定 DNA 浓度,以确保后续 qPCR 的足够浓度.根据 Duan 等<sup>[26]</sup>的方法使用 Thermal Cycle Dice Real-Time System Lite(Takara, TP700,日本)进行 qPCR 扩增.对于细菌 16S rDNA、总大肠菌 16S rRNA、粪大肠菌 16S rRNA 和肠球菌 23S rRNA 使用染料法进行定量,而对于大肠杆菌 tnaA 基因使用探针法进行定量.引物和探针序列如表 2 所示.所有引物和探针均购置于生工生物工程(上海)股份有限公司.绘制标准曲线的标准品为携带目的基因的质粒(Takara,pMD20-T,大连),详细制备过程见文献[27].

#### 1.4 统计与分析方法

在 GraphPad Prism 9.5.0 软件中,使用 T 检验和单因素方差分析以及主成分分析.以  $P < 0.05$  为显著性水平,分析了实验前后两组样本之间的差异.采用 Spearman 相关性检验分析培养法和 PMA-qPCR 方法的相关性.使用 GraphPad Prism 9.5.0 和 R Studio(version 4.3.1)绘制 PCA 图和 Mantel test 图.

## 2 结果和讨论

### 2.1 模拟降雨前后混合土壤基质理化性质的变化

由表 1 可知实验前混合土壤的电导率、硝酸盐氮和有机质的浓度均高于土壤,并且蚯蚓粪中的粪大肠菌群数量远远高于土壤中的.这表明,蚯

蚓粪农用不仅给土壤带来了一部分 N、P 等营养元素,同时也引入了大量的病原微生物.虽然蚯蚓可以减少一些反应病原菌的负荷,但是其对于粪大肠菌群的去除效果不稳定<sup>[28]</sup>,在果蔬废弃物堆肥 15d 后的基质中,粪大肠菌群的数量仍高达约  $5 \times 10^5$  MPN/g.为使蚯蚓粪满足中国肥料的限量要求(GB 38400-2019<sup>[29]</sup>,粪大肠菌 $\leq 100$  MPN/g),利用蚯蚓堆肥削减堆肥基质中病原微生物仍需进一步研究.

值得注意的是,实验前混合土壤的氨氮、总氮(TN)以及总磷(TP)的浓度均略低于土壤样品,与浓度的理论值( $0.9 \times \text{土壤} + 0.1 \times \text{蚯蚓粪}$ )不一致.分析认为是蚯蚓粪中丰富的微生物在进入新环境后的 3d 稳定时间里大量繁殖造成的结果.黄福义等<sup>[30]</sup>的研究表明,禽畜粪肥等有机肥的施用给土壤带来了大量的有机质与肠道微生物,增加了细菌的多样性,尤其是蚯蚓粪中含有丰富的好氧硝化细菌和氨氧化细菌会加快硝化反应速率,使氨氮转化为硝酸盐氮<sup>[31-32]</sup>.并且细菌 16S rDNA 的荧光定量 PCR 结果也证实了这一观点(图 3b).相比于土壤,实验前后的混合土壤基质拥有更高的细菌丰度,从而加快了氮素的转化.

如图 2 所示,实验前后混合土壤基质的理化性质发生了不同程度的变化.其中,电导率、氨氮、硝酸盐氮、TP 均显著( $P < 0.05$ )下降了  $51.34\% \pm 2.29\%$ 、 $45.20\% \pm 12.72\%$ 、 $99.09\% \pm 0.52\%$ 和  $26.22\% \pm 2.42\%$ ;

含水率和细菌 16S 显著( $P < 0.01$ )增加了  $59.65\% \pm 5.59\%$ 和  $112.22\% \pm 28.52\%$ ;而 pH 值和 FC 的数量没有发生明显变化.细菌 16S 与 FC 呈现出不同的变化,可能是由于二者的在土壤中的分布模式不同造成的.相比于细菌,FC 在土壤内部的分布更为均匀,从而导致其在降雨后的丰度没有产生明显变化.

土样的主成分分析如图 3 所示.实验前后的土样与土壤、蚯蚓粪也存在着明显的差异.前两个 PCA 成分可以解释土样理化性质变化的 87.49%.以上结果表明,蚯蚓粪的加入使得土壤的营养元素和微生物数量产生了显著( $P < 0.01$ )的增加.而降雨产生的地表径流将会携带走土壤中大量的营养元素,使得土壤肥力降低,对农业生产造成不利影响.甘贤民等<sup>[33]</sup>的研究也发现在降雨初期,TN 和 TP 的流失主要以土壤入渗为主;当入渗达到稳定时,表面径流是 TP、TN 流失的主要原因.图 3c 和图 3d 展示了各个变量对 PC1 和 PC2 的贡献度,其中 PC1 主要受到 pH 值、有机质、氨氮、硝酸盐氮等理化性质的影响,而 PC2 主要受到细菌 16S、含水率和 FC 的影响.PC1 的解释度(67.35%)明显高于 PC2 的解释度(19.84%),可见理化性质的变化对土壤造成的影响要大于微生物.

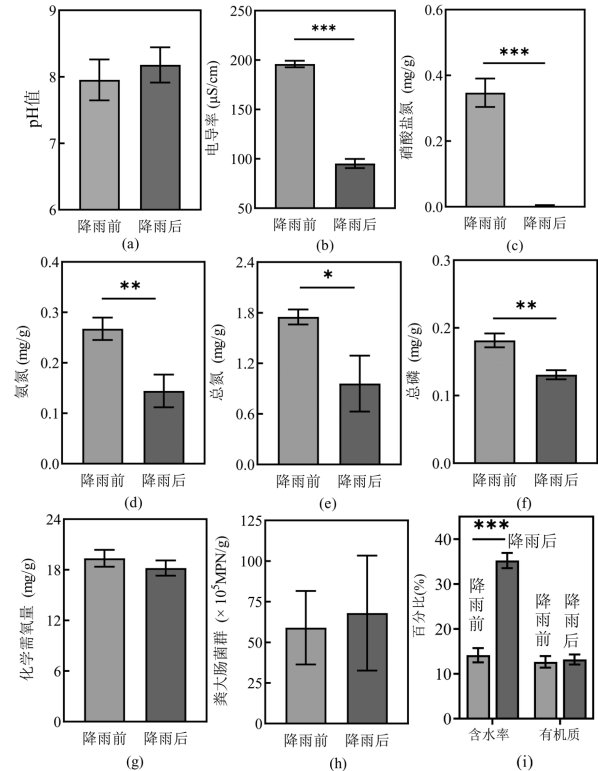


图2 模拟降雨前后混合土壤基质理化性质和粪大肠菌群数量的变化

Fig.2 Changes in physicochemical properties and number of fecal coliforms of the homogenized substrate pre- and post-experiment

\*表示由 T 检验得出的  $P$ . \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$

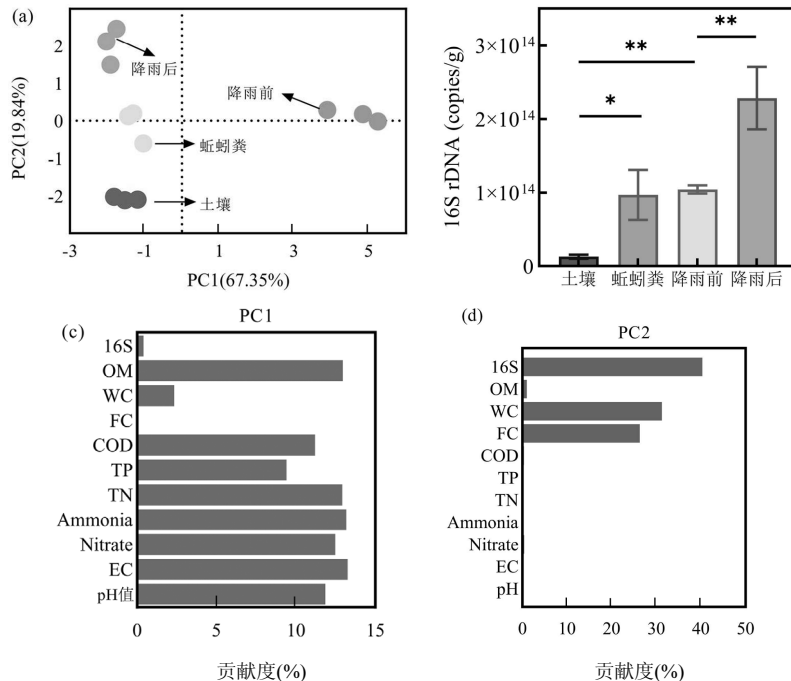


图3 基于理化性质和微生物丰度的土样主成分分析和细菌 16S rDNA 丰度

Fig.3 Principal component analysis of soil samples based on physicochemical properties and microbial abundance and absolute abundance of bacterial 16S rDNA

图 c 中 EC 是指电导率,\*表示由单因素方差分析得出的  $P$ . \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

## 2.2 径流水理化性质的变化

如图 4 所示径流雨水的 pH 值呈现出先升高后趋于稳定的变化趋势,从约 7.20 逐渐上升并最终稳定在 8.20 左右,与混合土壤的 pH 值相近.出现这种情况可能是随着径流雨水的不断冲刷,深层的土壤逐渐暴露从而使得 pH 值不断上升,最终与土壤相近.径流雨水中的电导率和 TN 则为先下降后趋于平稳的趋势,最终分别稳定在约 32.00 $\mu$ S/cm 和 1.60mg/L.硝酸盐氮呈现急剧下降的变化规律,除第 0min 的值较高(0.99mg/L)

外,其余时间点的浓度均在最低值 0 附近波动.氨氮、TP 和化学需氧量(COD)均呈现出先上升后下降的变化趋势,且三者的峰值均出现在 15min 或更早时段,分别为:4.86mg/L(2min)、0.88mg/L(15min)、33mg/L(15min).王祥等<sup>[34]</sup>的研究也得出了类似的结果:在 90mm/h 的降雨强度和 6% 的坡度条件下(与本实验 100mm/h、坡度 3.3% 的条件相似),地表径流中的 TP 和 TN 随径流时间的延长逐渐下降并趋于稳定.相较于坡度,降雨强度对 TN 和 TP 流失的贡献度更大<sup>[35]</sup>.

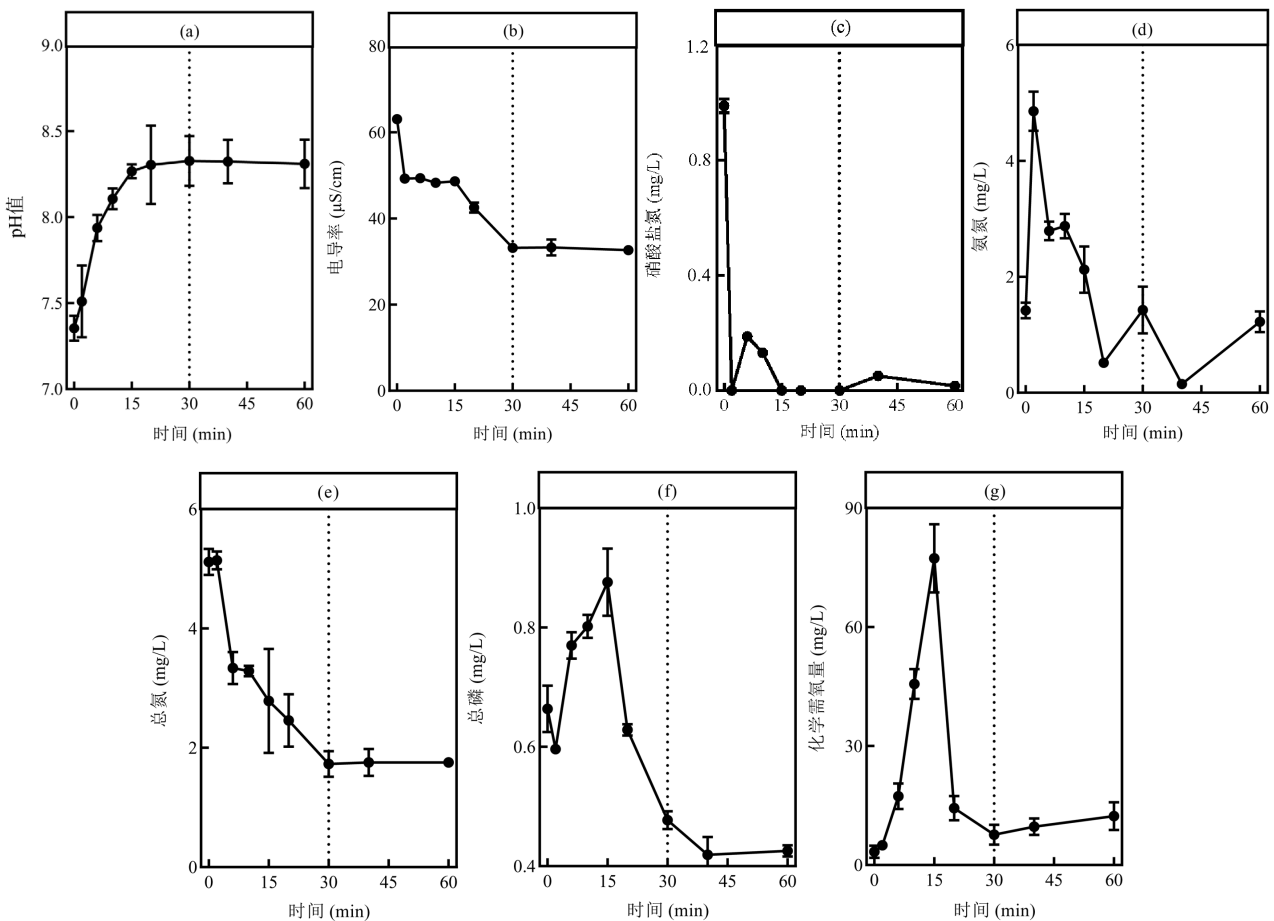


图 4 不同取样时间径流水理化性质的变化

Fig.4 Changes in physicochemical properties of runoff water at different sampling times

## 2.3 径流水中活性 FIB 丰度的变化

径流水中活性 FIB 的绝对丰度和相对丰度的 qPCR 定量结果如图 5、6 所示.TC 的丰度从第 0min 的( $7.74 \times 10^7 \pm 2.80 \times 10^7$ ) copies/mL 增加到第 15min 的( $6.53 \times 10^8 \pm 3.31 \times 10^8$ ) copies/mL,在 30min 时骤降到( $2.38 \times 10^7 \pm 1.27 \times 10^7$ ) copies/mL,在第 60min 时又回归到( $7.50 \times 10^7 \pm 2.42 \times 10^7$ ) copies/mL,与第 0min 的丰度相近.其余 3 个活性 FIB 的绝对丰度也呈现出相似的变化趋势,其峰值均出现在第 6~20min 的时间段

内,同时第 30min 时其丰度又急剧下降.径流末期水样中的 4 个活性 FIB 绝对丰度均稳定在与径流初期水样相接近的数值范围.出现这种结果可能是表层土壤水分挥发较快,其表面较为干燥,含有的 FIB 较少,在径流初期所溶出的数量也较少.而随着径流时间的延长,表层土壤也被冲刷殆尽,径流开始冲刷较深层的土壤,而其中含有更丰富的 FIB.随后溶于径流中的 FIB 逐步增加,最后随着径流时间的进一步延长,FIB 的丰度也随之慢慢降低并保持稳定.

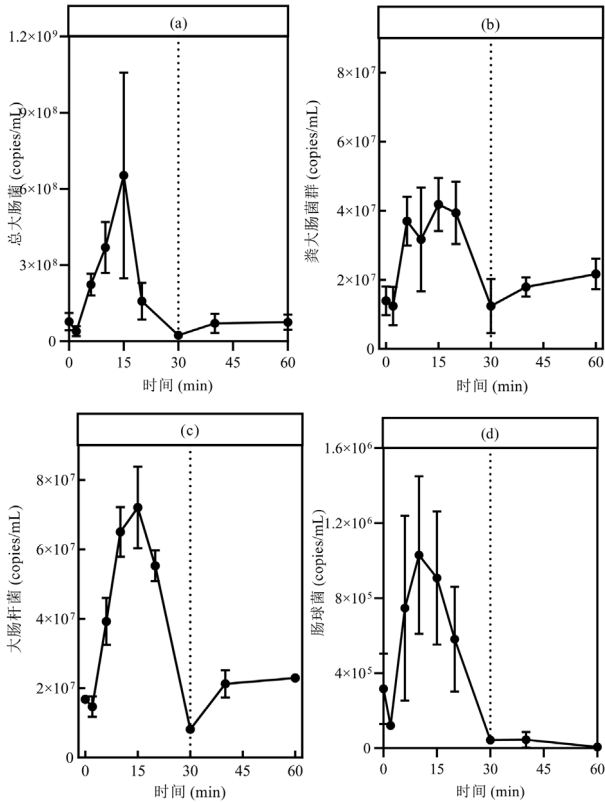


图5 径流水中活性 FIB 绝对丰度的变化

Fig.5 Changes in the absolute abundance of viable FIB in runoff water

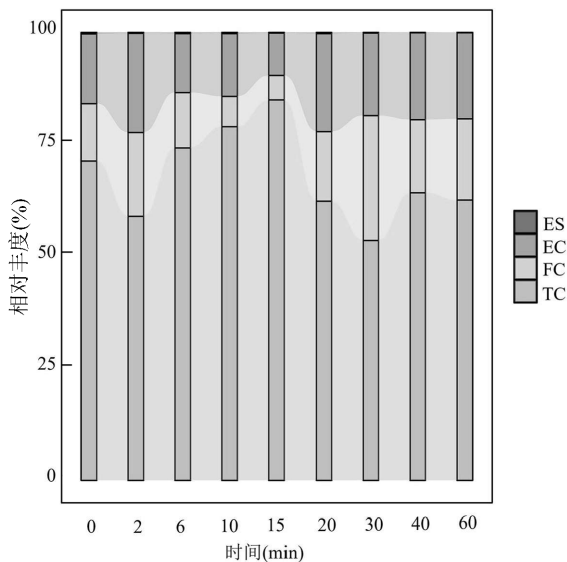


图6 径流水中活性 FIB 相对丰度的变化

Fig.6 Changes in the relative abundance of viable FIB in runoff water

虽然有部分时间点点位的 EC 丰度高于 FC 丰度,但是二者的变化趋势相似并且其基因拷贝量的绝对数值均在同一个量级.同时考虑到因二者引物以及扩增效率的不同所导致的误差,认为数据可靠.如图 6 所

示,TC 的相对丰度呈现出先上升后下降的变化趋势,与其绝对丰度的变化规律相似.其相对丰度在所选 FIB 中占绝对优势,而其余三个 FIB 占比相对较小,同时相对丰度也呈现出不规则的变化趋势.由图 6 可知在 FC 中以大肠杆菌 *E. Coli* 为主,Duan 等<sup>[26]</sup>的研究也发现了类似的结果.相对于肠杆菌科,肠球菌的丰度很低,这表明蚯蚓粪农用土壤中的地表径流里病原微生物主要以肠杆菌科为主而非肠球菌科.

分别使用多管发酵法和 PMA-qPCR 法对水样中的 FC 进行定量.如图 7 所示,培养法与 PMA-qPCR 法之间呈现出显著的正相关性(Spearman  $r=0.723$ ,  $P<0.001$ ),这表明 PMA-qPCR 定量方法的结果可靠.在培养法的定量结果中不难发现,径流水中 FC 数量均超过《地表水环境质量标准》(GB 3838-2002)<sup>[36]</sup>中第 V 类水的要求(40000 个/L).已有研究表明,雨水中存在大量的 FIB 和肠道病原体<sup>[2]</sup>,导致接纳水体中 FC 和 EC 浓度的增加,在雨天河道内大肠杆菌的浓度甚至高达  $2.49 \times 10^3$  MPN/mL<sup>[37]</sup>.在雨水中通常会发现粪便污染的混合来源(人类和动物粪便),目前关于混合源粪便污染对人类健康影响的流行病学数据比较缺乏,这可能会带来不同的人类健康风险<sup>[38]</sup>.因此需要更加经济有效的设施来应对由雨水径流而引起病原微生物污染问题.

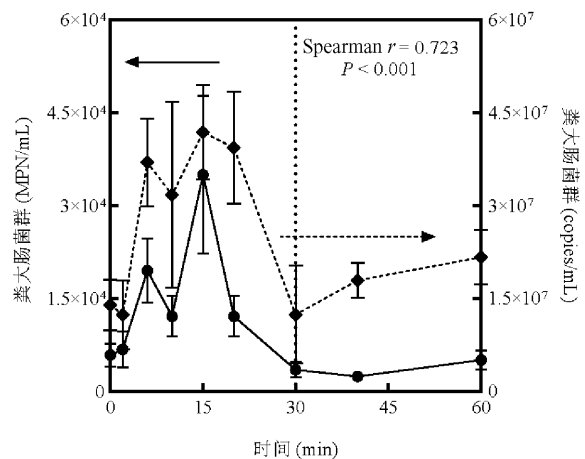


图7 径流水中 FC 培养法和 PMA-qPCR 法之间的相关性  
Fig.7 Correlation between fecal coliform culture method and PMA-qPCR method in runoff water

虚线表示多管发酵法定量结果,实线表示 PMA-qPCR 法定量结果; Spearman  $r=0.723$ ,  $P<0.001$  表示计算得出的斯皮尔曼相关性系数  $r$  和  $P$  值

虽然现有国标方法是使用培养法<sup>[39-40]</sup>.但是考虑

到部分细菌存在不可培养或培养难度较大的特性,因此后续数据分析选择使用 PMA-qPCR 方法获得的数据.径流水的主成分分析如图 8 所示.将径流水按照取样时间分为前(0,2,6min),中(10,15,20min),后(30,40,60min)三个时间段.由图 8 中边际贡献图可知,前中后期的水样在 PC1 和 PC2 两个主成分上均有显著性差异( $P<0.01$ ).这表明随着径流时间的延长,水体中的污染物质以及病原微生物的浓度均有显著( $P<0.01$ )的降低,并且径流污染主要集中在前中期(30min).有研究指出,在降雨初期大量的气态污染物会溶解到雨水中并排入河流导致河流严重污染,并且部分初期雨水的污染程度已经远远超过生活污水<sup>[41]</sup>.初期雨水所引起的环境污染问题急需处理和应对.

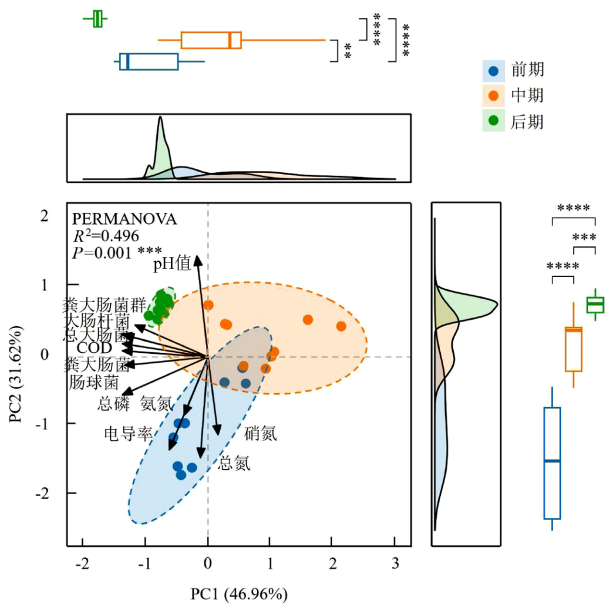


图 8 基于理化性质和 FIB 丰度的径流水主成分分析  
Fig.8 Principal component analysis of runoff water based on physicochemical properties and FIB abundance  
 $P=0.001$  \*\*\*,表示差异极显著;PERMANOVA  $R^2=0.496$ ,表示多元方差分析对样品差异的解释度

### 2.4 FIB 与理化因子的相关性

如图 9 所示,TN 与 TP、COD 与氨氮之间均呈现显著的正相关性,这表明二者在径流水中有着相似的溶出特性.电导率与 ES、氨氮与 FC 也表现出较显著的正相关性,而硝酸盐氮与 TC 呈现出负相关关系.Paule-Mercado 等<sup>[42]</sup>指出无论是哪种土地利用类型,温度与 FIB 的浓度均呈现出显著的正相关性.因为大多数 FIB 都是耐热细菌(20~45℃),温度的升高有利于其在水环境中的存活<sup>[42]</sup>.而 Antonella 等<sup>[43]</sup>在

对 Neretva 河与 Cetina 河的调查中发现,ES 与 TN 呈负相关,EC 与氨浓度呈正相关;其余环境因子,如降雨量、盐度、温度、溶解氧等对 FIB 的浓度均有不同程度的影响.由此可见,需要更加全面和深入的研究来探讨环境因子与 FIB 浓度的相关性,探明并理解这些相关性有助于通过采取相应措施来控制病原菌的扩散,以削弱其所带来的环境风险.

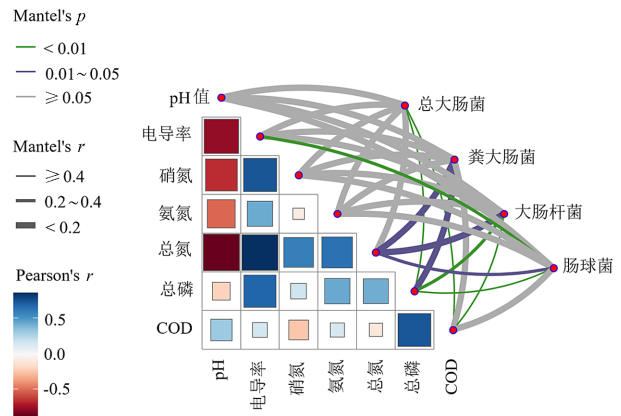


图 9 基于径流水中理化因子和微生物丰度的 Mantel test 图  
Fig.9 Mantel test based on physicochemical factors and microbial abundance in runoff water

### 3 结论

- 3.1 降雨产生的径流水将显著( $P<0.05$ )降低蚯蚓粪农用土壤中的氨氮、硝酸盐氮、TN 含量,造成养分的大量流失,对农业生产造成不利影响.
- 3.2 径流水中各理化因子呈现出不同的溶出特性.氨氮、TP 和 COD 均呈现出先上升后下降的变化趋势,电导率和 TN 则呈现出先下降随后保持稳定的变化趋势.径流污染主要集中在初期径流.
- 3.3 径流水中的 TC、FC、EC、ES 四个活性 FIB 的丰度均呈现出先上升后下降的变化趋势,其峰值都出现在 30min 之前(含 30min).径流中的 FC 数量远超相关标准的限值.

### 参考文献:

[1] Sales-Ortells H, Medema G. Microbial health risks associated with exposure to stormwater in a water plaza [J]. Water Research, 2015,74:34-46.  
 [2] Denissen J K, Reyneke B, Waso M, et al. Human pathogenic bacteria detected in rainwater: risk assessment and correlation to microbial source tracking Markers and traditional indicators [J]. Frontiers in Microbiology, 2021,12:659784-659784.  
 [3] 牛新胜,巨晓棠.我国有机肥料资源及利用 [J]. 植物营养与肥料学报, 2017,23(6):1462-1479.  
 Niu X S, Ju X T. Organic fertilizer resources and utilization in China [J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2017,23(6):1462-1479.  
 [4] Aira M, Olcina J, Pérez-Losada M, et al. Characterization of the bacterial communities of casts from Eisenia andrei fed with different

- substrates [J]. *Applied Soil Ecology*, 2016,98:103–111.
- [5] Hussain N, Singh A, Saha S, et al. Excellent N-fixing and P-solubilizing traits in earthworm gut-isolated bacteria: A vermicompost based assessment with vegetable market waste and rice straw feed mixtures [J]. *Bioresource Technology*, 2016,222:165–174.
- [6] Huang K, Xia H, Li F S, et al. Optimal growth condition of earthworms and their vermicompost features during recycling of five different fresh fruit and vegetable wastes [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2016,23(13):13569–75.
- [7] Huang K, Xia H, Cui G Y, et al. Effects of earthworms on nitrification and ammonia oxidizers in vermicomposting systems for recycling of fruit and vegetable wastes [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 578:337–345.
- [8] Xie J C, Xia H, Guan M X, et al. Accelerating the humification mechanism of dissolved organic matter using biochar during vermicomposting of dewatered sludge [J]. *Waste Management*, 2023, 159:102–113.
- [9] Li Y P, Wang J, Shao M A. Application of earthworm cast improves soil aggregation and aggregate-associated carbon stability in typical soils from Loess Plateau [J]. *Journal of Environmental Management*, 2021,278(P1):111504.
- [10] Zhou G, Qiu X, Chen L, et al. Succession of organics metabolic function of bacterial community in response to addition of earthworm casts and zeolite in maize straw composting [J]. *Bioresource Technology*, 2019,280:229–238.
- [11] Soobhany N, Mohee R, Garg K V. Inactivation of bacterial pathogenic load in compost against vermicompost of organic solid waste aiming to achieve sanitation goals: A review [J]. *Waste Management*, 2017,64:51–62.
- [12] 邵凡凡,吴军虎.蚯蚓粪对黄土区坡耕地径流产沙和硝态氮流失特征的影响 [J]. *水土保持学报*, 2020,34(1):71–77.
- Shao F F, Wu J H. Earthworm casts on sediment yield and nitrate nitrogen loss with the runoff in slope farmland of loess area [J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2020,34(1):71–77.
- [13] 魏枫沂,徐俊杰,陈一进,等.基于活体微生物揭示蚯蚓对污泥耐药基因转归的影响 [J]. *中国环境科学*, 2022,42(7):3425–3433.
- Wei F Y, Xu J J, Chen J, et al. Effects of earthworms on the antibiotic resistance genes of vermicompost from dewatered sludge revealed by active microbes [J]. *China Environmental Science*, 2022,42(7):3425–3433.
- [14] Li H Y, Xin H Y, Li S F Y, et al. Multiplex PMA-qPCR assay with internal amplification control for simultaneous detection of viable *legionella pneumophila*, *salmonella typhimurium*, and *staphylococcus aureus* in environmental waters [J]. *Environmental science & technology*, 2015,49(24):14249–14256.
- [15] 陶怡君,谌志筠,何秋水.叠氮溴化丙锭结合 qPCR 检测与区分活菌和死菌的研究进展 [J]. *微生物学免疫学进展*, 2020,48(6):63–68.
- Tao Y J, Zhan Z Y, Hei Q S. Advances in detection and differentiation of live and dead bacteria by PMA-qPCR technology [J]. *Progress in Microbiology and Immunology*, 2020,48(6):63–68.
- [16] HJ 613–2011 土壤干物质和水的测定重量法 [S].  
HJ 613–2011 Determination of dry matter and water content on a mass basis-Gravimetric method [S].
- [17] HJ 761–2015 固体废物有机质的测定灼烧减量法 [S].  
HJ 761–2015 Solid waste-Determination of organic matter-Ignition loss method [S].
- [18] HJ 535–2009 水质氨氮的测定纳式试剂分光光度法 [S].  
HJ 535–2009 Water quality-Determination of ammonia nitrogen Nessler's reagent spectrophotometry [S].
- [19] HJ/T 346–2007 水质硝酸盐氮的测定紫外分光光度法(试行) [S].  
HJ/T 346–2007 Water quality-Determination of nitrate-nitrogen-Ultraviolet spectrophotometry [S].
- [20] HJ/T 399–2007 水质化学需氧量的测定快速消解分光光度法 [S].  
HJ/T 399–2007 Water quality-Determination of the chemical oxygen demand-Fast digestion-Spectrophotometric method [S].
- [21] 段自豪,夏慧,黄魁,等.蚯蚓对污泥堆肥过程中活性真核微生物的影响 [J]. *环境科学学报*, 2023,43(4):408–416.
- Duan Z H, Xia H, Huang K, et al. Effects of earthworms on active eukaryotic microbial community during vermicomposting of dewatered sludge [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2023,43(4):408–416.
- [22] Carini P, Marsden P J, Leff J W, et al. Relic DNA is abundant in soil and obscures estimates of soil microbial diversity. *Nature Microbiology*, 2016,2(3),16242.
- [23] Maheux A F, Boudreau D K, Bisson M-A, et al. Molecular method for detection of total coliforms in drinking water samples. *Applied and environmental microbiology*, 2014,80(14):4074–4084.
- [24] Deogratias M E, King L A A, Eunice U, et al. Genetic relatedness of faecal coliforms and enterococci bacteria isolated from water and sediments of the Apies River, Gauteng, South Africa [J]. *AMB Express*, 2017,7(1):20.
- [25] Camilla B, Giorgio V, Claudia P, et al. Use of the *tna* operon as a new molecular target for *Escherichia coli* detection [J]. *Applied and environmental microbiology*, 2007,73(19):6321–6325.
- [26] Duan Z H, Zhu Y C, Xia H, et al. A novel strategy for eliminating antibiotic resistance genes during fertilization of dewatered sludge by earthworms: Vermicomposting practice using Chinese herbal residues derived from Lianhua Qingwen as a bulking material [J]. *Journal of Environmental Management*, 2024,349,119444.
- [27] Cui G Y, Bhat A S, Li W J, et al. Gut digestion of earthworms significantly attenuates cell-free and -associated antibiotic resistance genes in excess activated sludge by affecting bacterial profiles [J]. *Science of the Total Environment*, 2019,691:644–653.
- [28] Duan Z, Huang K, Huang W, et al. Bacterial dispersal enhances the elimination of active fecal coliforms during vermicomposting of fruit and vegetable wastes: The overlooked role of earthworm mucus [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024,471:134280.
- [29] GB 38400–2019 肥料中有毒有害物质的限量要求 [S].  
GB 38400–2019 Limitation requirements of toxic and harmful substance in fertilizers [S].
- [30] 黄福义,周曙屹,王佳妮,等.不同作物农田土壤抗生素抗性基因多样性 [J]. *环境科学*, 2021,42(6):2975–2980.
- Huang F Y, Zhou S Y D, Wang J N, et al. Profiling of antibiotic resistance genes in different croplands [J]. *Environmental Science*, 2021,42(6):2975–2980.
- [31] 关孟欣.生物质炭影响污泥蚯蚓堆肥中硝化作用的微生态机制 [D]. 兰州:兰州交通大学, 2022.
- Guan M X. Micro-ecological mechanism revealing the effect of biochar on the nitrification during vermicomposting of dewatered sludge [D]. Lanzhou: Lanzhou Jiaotong University, 2022.
- [32] 吴颖,黄魁,夏慧,等.污泥四霉素含量对蚯蚓堆肥中氨氧化菌群的影响 [J]. *环境科学*, 2019,40(6):2954–2960.
- Wu Y, Huang K, Xia H, et al. Effects of different concentrations of tetracycline in sludge on ammonia oxidizers during vermicomposting [J]. *Environmental Science*, 2019,40(6):2954–2960.
- [33] 甘贤民,严友进,戴全厚,等.降雨强度和坡度对喀斯特坡耕地产流和氮磷流失的影响 [J]. *环境科学学报*, 2024,44(4):116–123.
- Gan X M, Yan Y J, Dai Q H, et al. Impact of rainfall intensity and slope gradient on runoff and nitrogen and phosphorus loss fluxes of sloping farmland in a karst area [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2024,44(4):116–123.
- [34] 王祥,陈炜,黄国鲜,等.长江上游典型丘陵区坡耕地径流及氮磷碳流失特征 [J]. *环境工程技术学报*, 2024,14(5):1589–1598.
- Wang X, Chen W, Huang G X, et al. Characteristics of runoff and nitrogen, phosphorus, and carbon loss in sloping cultivated lands in the typical hilly mountainous region of the Upper Yangtze River Basin [J]. *Journal of Environmental Engineering Technology*, 2024,14(5):1589–1598.
- [35] Zhang Q, Wang Z, Wu B, et al. Identifying sediment transport capacity of raindrop-impacted overland flow within transport-limited system of interrill erosion processes on steep loess hillslopes of China [J]. *Soil & Tillage Research*, 2018,184:109–117.
- [36] GB 3838–2002 地表水环境质量标准 [S].  
GB 3838–2002 Environmental quality standards for surface water [S].
- [37] 徐晓璇,康丽娟,叶建峰,等.景观河道病原微生物污染源与分布特征 [J]. *上海大学学报(自然科学版)*, 2020,26(2):275–282.
- Xu X X, Kang L J, Ye J F, et al. Pollution sources and distribution characteristics of pathogenic microorganisms in land scape rivers [J]. *Journal of Shanghai University (Natural Science)*, 2020,26(2):275–282.
- [38] Ahmed W, Hamilton K, Toze S, et al. A review on microbial contaminants in stormwater runoff and outfalls: Potential health risks and mitigation strategies [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 692:1304–1321.
- [39] HJ 347.2–2018 水质粪大肠菌群的测定多管发酵法 [S].  
HJ 347.2–2018 Water quality-Determination of fecal coliform-Manifold zymotechnics [S].
- [40] GB 4789.39–2013 食品安全国家标准食品微生物学检验粪大肠菌群计数 [S].  
GB 4789.39–2013 Microbiological examination of food hygiene-Enumeration of faecal coliforms [S].
- [41] 赖后伟,黎京士,庞志华,等.深圳大工业区初期雨水水质污染特征研究 [J]. *环境污染与防治*, 2016,38(3):11–15.
- Lai H W, Li J S, Pang Z H, et al. The contamination characteristics of first-flush in large industrial district of Shenzhen [J]. *Environmental Pollution and Control*, 2016,38(3):11–15.
- [42] Paule-Mercado M, Ventura J, Memon S, et al. Monitoring and predicting the fecal indicator bacteria concentrations from agricultural, mixed land use and urban stormwater runoff [J]. *Science of the Total Environment*, 2016,550:1171–1181.
- [43] Antonella P, Mauro M, Christian F, et al. Fecal bacteria contamination in the Adriatic Sea: Investigating environmental factors and modeling to manage recreational coastal waters [J]. *Environmental pollution*, 2023,338:122700.

作者简介: 王邦驰(2000-),男,甘肃陇南人,兰州交通大学硕士研究生,主要研究方向为雨水径流污染控制.1301681033@qq.com.