蚯蚓活动对生态滤池土壤酶活性的影响

王永谦 1,2 杨林章 1* 冯彦房 1,2 李天玲 1,2 乔 俊 1,2

(1.中国科学院 南京土壤研究所 南京 210008 2.中国科学院 研究生院 北京 100049)

摘 要 通过构建蚯蚓生态滤池和无蚯蚓对照生态滤池的实验 研究了蚯蚓活动对生态滤池土壤酶活性(蔗糖酶、脲酶、碱性磷酸酶)的影响以及酶活性的季节动态变化特征。研究结果表明 在 $0\sim20~\mathrm{cm}$ 的基质层 三种土壤酶活性随土壤深度的增加而减少 蚯蚓活动对生态滤池的基质酶活性有促进作 蔗糖酶和脲酶活性在蚯蚓作用下得到显著的提高 而碱性磷酸酶对蚯蚓活动的响应仅限于 $5\sim10~\mathrm{cm}$ 基质层 在试验期内 生态滤池内的蚯蚓数量及生物量受温度及土壤湿度的影响表现出较大的季节波动 夏季最高 春季冬季相对较高 秋季最低 三种土壤酶活性表现为相似的季节变化规律 秋季活性最高 而秋季和夏季的酶活性高于春季和冬季。蚯蚓活动对生态滤池基质土壤蔗糖酶活性和脲酶显著的促进作用 并间接影响了其对生活污水污染物去除效果。

关键词:酶活性;生态滤池;蚯蚓

中图分类号 \$154.2 文献标识码:A 文章编号 .0564-3945(2012)04-0793-05

基于我国农村地区经济发展水平及水环境现状,高效、节能、绿色生态和环境友好的污水处理技术成为研究热点[[2] ,蚯蚓生态滤池(vermifilter)是近年来在国内外被广泛应用的新型污水处理技术[2~5] ,该技术通过在普通的生态滤池基础上引入蚯蚓 ,延长和扩展了原有的微生物代谢链 ,充分利用了蚯蚓与微生物的协同作用 ,以及蚯蚓的增加通气性、分解有机物等功能 ,更好得更有效得进行污水处理[[~8]。作为一种全新概念的污水处理工艺 ,蚯蚓生态滤池的工艺性能尚缺乏深入系统的机理研究。

土壤中的酶主要来源于微生物、植物根系和土壤动物的分泌,它们的活性与土壤微生物活性密切相关[%-11]。土壤酶参与了包括土壤生物化学过程在内的自然界物质循环,与有机物质分解、营养物质循环、能量转移、环境质量等密切相关,是土壤生物化学过程的主要调节者[10,11]。土壤酶在以土壤为主要处理单元的生态滤池系统中也起着重要作用,很多学者认为土壤酶会对水处理系统中环境因子的变化做出响应[12,13],并以酶活性强度来评价净化效果[14-16]。因此,研究生态滤池中的土壤酶的分布及变化,对于阐明生态滤池污水净化机理有重大的意义。本实验以构建生态滤池为研究对象,以期找出蚯蚓生态滤池土壤酶的空间分布与季节动态特征,并说明生态滤池土壤酶活性如何对蚯蚓活动做出相应,旨在为阐明蚯蚓生态滤池净化机理以提高净化效率提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验概况

实验构筑于江苏省无锡市胡埭镇龙岩村。生态滤池小试系统自 2009 年 8 月运行至今,系统运行稳定。试验流程如图 1 所示:当地住户的生活污水经管道收集,汇聚于三格化粪池,化粪池末格污水经泵提升至第一级垂直流人工湿地,湿地出水进入试验所用生态滤池。

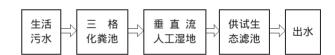


图 1 农村生活污水处理工艺流程

Fig. 1 Flow chart of rural domestic sewage treatment

1.2 试验设计

实验以生态滤池小试装置的表层土壤基质为研究对象。试验设置两个处理:蚯蚓生态滤池和无蚯蚓的对照生态滤池 均采用垂直流人工湿地出水作为试验进水。供试生态滤池装置由 PVC 桶制成 直径 × 高为 Φ 40 cm × 100 cm。池体内填充物从底至表,依次是:底层,由粒径 20 ~ 40 mm 的卵石组成 厚度 10 cm; 承托层 粒径 5 ~ 7 mm 的砾石组成 厚度 10 cm; 隔离层,由粒径 0.5 ~ 1 mm 的粗砂组成 厚度 10 cm; 土壤层 厚度 20 cm。土壤层土壤(0~20 cm)是特殊配置的人工土,由当地土壤、锯木屑及铁矿粉渣按照体积比

收稿日期 2011-03-29 ;修订日期 2011-05-16

作者简介 王永谦(1985-) 男 江西省萍乡市人 博士研究生 主要从事面源污染控制研究与环境工程微生物方面的研究。E- mail y-qwang@issas.ac.cn * 通讯作者

10:3:1 配成 ,土壤成分含有机质 23.38 g kg^{-1} ,全氮 16.19 g kg^{-1} ,全磷 15.34 g kg^{-1} ,pH 6.23。试验期间生态 滤池进水水质为 COD $49.9 \sim 183.28 \text{ mg L}^{-1}$, 铵态氮 $19.4 \sim 64.7 \text{ mg L}^{-1}$,总氮 $25.0 \sim 83.7 \text{ mg L}^{-1}$,总磷 $0.26 \sim 4.38 \text{ mg L}^{-1}$,pH $7.39 \sim 8.21$ 。供试蚯蚓品种为大平 2 号 赤子爱胜蚓(Eisenia foetida)。

1.3 样品的采集与分析

1.3.1 土样样品的采集与分析 取样时间为 2008 年春(3月)、夏(6月)、秋(9月)、冬(12月)四个季节,在供试蚯蚓生态滤池及对照生态滤池中进行梅花形布点,按三个层面($0 \sim 5$ cm、 $5 \sim 10$ cm、 $10 \sim 20$ cm)利用柱状采样器采集土样,等量混合。土壤样品封口袋封装 4 \mathbb{C} 环境下带回实验室,仔细去除新鲜土样中可见植物残体及土壤动物,过 2 mm 孔径筛后混匀,于一周内测定样品土壤酶活性。其他土壤风干过筛后,测定基本理化指标[\mathbb{C}]。土壤酶活性的测定 \mathbb{C} [\mathbb{C}] 土壤蘸糖酶活性采用 3,5- 二硝基水杨酸比色法测定,以葡萄糖含量表示(\mathbb{C}) (\mathbb{C}) (

1.3.2 水样的采集与分析 实验期间内 ,土样采集前 一天采集生态滤池进水和出水 ,过滤后利用滤液测定 pH 值 , 采用重铬酸钾消解法测定 COD , 采用荷兰 Skalar 公司的流动分析仪测定 NH₄+、TN、TP 浓度。

1.4 数据处理 数据处理与分析采用 SPSS 13.0 及 DPS 12.0。

2 结果分析

2.1 季节因素对蚯蚓生物量的影响

在试验期一年时间内共进行了 4 次蚯蚓计数 结果如表 1 所示 ,蚯蚓生态滤池中的蚯蚓数量随着季节 因素波动较大。全年蚯蚓数量变化曲线表现 ,相比最初投加量 3 月蚯蚓数量表现为小波谷 ;此后 ,蚯蚓数量快速回升 , 在 6 月蚯蚓数量达到观测结果的最高

值 分、8 月份由于高温天气及较大的降雨量的出现 ,生态滤池先后发生堵塞现象 ,9 月蚯蚓生物量降为零点;随后 ,蚯蚓的接种使得蚯蚓生态滤池中的蚯蚓生物量在 12 月得到回升。

表 1 蚯蚓生态滤池内蚯蚓的平均个体数和平均生物量

Table 1 The mean individuals (L $^{\text{1}})$ and biomass (g \cdot L $^{\text{1}})$ of earthworms in the vermifilter

采样时间	平均个体数 (L-1)	平均生物量(gL-1)
Sampling season	Mean individuals	Mean biomass
3月	5.1	2.2
6月	9.1	3.9
9月	0.0	0.0
12月	6.6	2.9

2.2 蚯蚓活动对 0~20 cm 填料层土壤酶活性的影响

为了考察蚯蚓活动对生态滤土壤酶活性的空间分布的影响 将各采样季的酶活性结果按照酶种类的不同,分别求均值并作图(图 2)。结果表明,蚯蚓生态滤池与对照生态滤池的土壤蔗糖酶、脲酶、碱性磷酸酶活性的空间分布特征基本一致,都随剖面深度的增加呈下降趋势,同时,对比两个处理的各个水平深度,蚯蚓活动能够不同程度的提高生态滤池的三种土壤酶活性,对滤池内土壤蔗糖酶及脲酶活性的增强作用较为显著,而对碱性磷酸酶的作用仅在 5~10 cm 的土层上达到了显著水平。

2.3 季节对滤池基质酶活性的影响

如图 3 所示,土壤蔗糖酶活性、脲酶活性和碱性 磷酸酶活性均表现出明显的相类似的季节波动趋势, 总体表现为三种基质酶在秋季活性最高,而秋季和夏 季的酶活性高于春季和冬季。

2.4 土壤酶活性与 COD、NH₄⁺–N、TN、TP 去除率的相关性分析

将各处理的不同采样季的土壤蔗糖酶、脲酶、碱性磷酸酶的活性与当季的 COD、NH₄⁺- N、TN、TP 的去除效率进行相关分析(表 2)。结果表明,各采样季的污染物去除效果差异较大,各项污染物的去除率与土壤酶活性没有表现出的显著的相关性,但蔗糖酶活性与COD 的降解效率之间相关性较高、脲酶活性与NH₄⁺- N及 TN 降解率相关性较高。

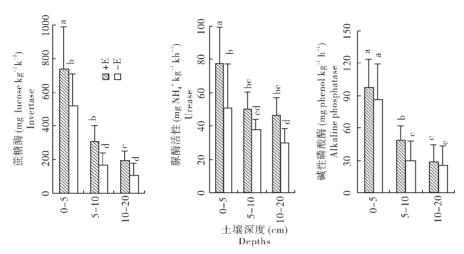
3 讨论

3.1 环境因素对蚯蚓数量的影响

环境因素,尤其是土壤环境因素的变化直接影响土壤动物的个体数量[19],土壤质地、土壤有机质含量、土壤湿度、土壤温度、pH等土壤因素都与蚯蚓生长繁殖关系密切[29]。土壤湿度和温度往往共同影响蚯蚓活

动^[22]。土壤过于湿润 蚯蚓滞育、逃逸、甚至死亡^[21],而 温度超过一定限度 蚯蚓亦将死亡。在实验期内 蚯蚓 群落个体数量与生物量均表现出较大的时空变异性,由于土壤温度和湿度的变化对蚯蚓的生存与繁殖造成影响,由于 4、5 月的温度湿度较适宜蚯蚓生存,所

以试验期内的最大蚯蚓生物量出现在 6 月 流 9 月蚯蚓生态滤池中蚯蚓零生存率 ,主要因为 7、8 两月高温和强降雨致蚯蚓大量逃逸合或死亡。张卫信等图对广东鹤山人工林内的蚯蚓群落季节变化的研究中也有类似的观察结果。



注 图表中的不同字母表示经 LSD 检验差异达显著水平(P < 0.05)。

图 2 蚯蚓活动对生态滤池土壤酶活性的分布特征的影响

Fig. 2 The influence of earthworms on the distribution features of soil enzyme activities in the eco-filter

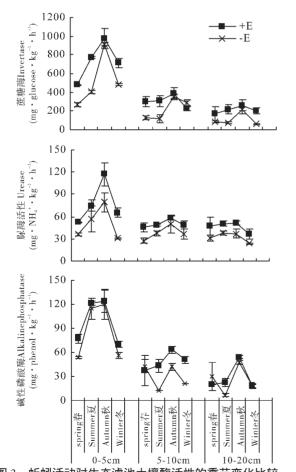


图 3 蚯蚓活动对生态滤池土壤酶活性的季节变化比较 Fig. 3 The comparison of earthworms on the seasonal variation of soil enzyme activities in eco-filter

3.2 生态滤池酶活性的时空特性及蚯蚓活动的影响

两种生态滤池土壤酶活性最大值均出现在生态滤池的表层 0~5 cm 土层 ,最小值出现基质层的最底的 10~20 cm 层。这与国内外相关研究成果基本一致[14,15]。土壤基质中酶活性的垂直分布的层次性与生态滤池的营养元素含量、土壤生物状况及土壤基本性质有关[^{23]}。由于采用垂直流进水方式 ,废水中的污染物在土壤表层即被截留或降解 ,底物浓度降低随着土层加深而降低 ,同时 ,土壤熟化程度、微生物生物量与活性也都随土层加深而降低。

蚯蚓活动对生态滤池中的各种酶活性均有促进作用。土壤蔗糖酶活性通常被用来反映土壤微生物食物资源(低分子量糖)的释放,本试验研究中,在生态滤池中接种蚯蚓显著增加了土壤蔗糖酶的活性。这个结果说明蚯蚓活动能促进废水中有机物质的降解,从而增加了轻组有机碳的释放^[24],所以以轻组有机碳为基质底物的蔗糖酶活性增强了^[25]。土壤脲酶促进尿素水解成 CO₂ 和 NH₄⁺,进入土壤填料中的尿素只有在脲酶的参与下才能水解,蚯蚓和微生物的相互作用能够促进尿素水解微生物在土壤和蚓粪中的增加^[26],试验研究结果表明,蚯蚓活动能促进进水中的尿素降解,更有利于进水中的尿素转变成硝酸盐和亚硝酸盐。土壤碱性磷酸酶活性不仅与动物和微生物细胞合成有

关 $^{[27]}$,还参与有机磷向无机磷转化过程 $^{[28]}$,本实验研究中,对比对照,蚯蚓活动仅显著提高了 $5\sim10~{\rm cm}$ 的碱性磷酸酶活性,对 $0\sim5~{\rm cm},10\sim20~{\rm cm}$ 无显著影响。 Tao 等 2009 年研究接种蚯蚓对稻麦轮作土壤中酶活性影响,其结果表明接种蚯蚓促进了土壤碱性磷酸酶活性的增加 $^{[29]}$,但本试验中未得到如此结果,可能与土壤基质中铁矿废渣粉末的添加有关,铁矿废渣中的 ${\rm Fe}^{2+}$ 、 ${\rm Fe}^{3+}$ 、 ${\rm Ca}^{2+}$ 这些微量元素对土壤胞外酶有钝化作用,能不同程度的抑制土壤碱性磷酸酶活性 $^{[23,30]}$ 。

实验区的季节变化不仅仅表现为四季气候不同,同时也表现为土壤温度、湿度及土壤性质上的变化,这些变化将导致微生物区系的变化从而影响酶的分

布变化。土壤酶活性的季节变化主要与气候因子、作物种类、土壤类型、土壤湿度、土壤养分状况、土壤动物和微生物区系都有关[10]11 23]。实验期间内,两个处理的生态滤池基质的三种土壤酶活性均表现出较显著的年动态变化,造成其季节差异的主要原因是(1)秋季是人工湿地植物的凋落季节,凋落物影响了进水中的污染物浓度与土壤环境,从而产生了"起爆剂效应"[11],导致了与土壤酶分泌有关的微生物、土壤动物的活动频繁,进而促使了酶活性的提高(2)夏、秋的温度相对较高,植物的生长相对较旺盛,土壤动物与微生物的活动比较频繁,相对较高的温度、根系分泌物和土壤生物的活动对于酶活性的提高起到一定的促进作用[15]。

表 2 生态滤池污水处理效率与酶活性指标相关性分析

Table 2 Correlation analyses between sewage treatment efficiency and enzyme activities in the eco-filters

	污染物去除效率 (%) Removal efficiency							相关性分析(Pearson 检验) Correlation analysis (Pearson's test)			
	蚯蚓生态滤池 Vermifilter (+E)				普通生态滤池 Ordinary eco- filter (- E)			相关系数 Correlation coefficient (r)			
	春	夏	秋	冬	春	夏	秋	冬	蔗糖酶	脲酶	碱性磷酸酶
	Spring	Summer	Autumn	Winter	Spring	Summer	Autumn	Winter	Invertase	Urease	Alkaline phosphatase
COD	24.59	54.10	81.50	52.65	24.55	54.10	72.56	44.00	0.61	0.15	0.26
NH ₄ +- N	28.83	58.02	58.36	62.73	34.40	40.24	47.81	62.35	0.45	0.54	- 0.29
TN	41.42	38.67	31.07	31.38	22.26	34.50	31.07	24.36	0.48	0.48	0.65
TP	77.33	64.91	55.00	62.86	74.75	63.73	52.13	55.01	- 0.38	0.04	0.13

3.3 酶活性对生活污水净化效率的影响

土壤酶在在物质转化过程中起着非常重要的作 用,存在干污水生物处理系统中的大量颗粒状有机物 (主要是蛋白质、多糖和脂肪等)只有被胞外酶水解成小 分子物质才能进入微生物细胞并被其吸收和利用[2]。贺 峰等研究了复合垂直流构建湿地基质中的磷酸酶和脲 酶活性及与污水净化效果的关系,发现复合垂直流人 工湿地中脲酶的活性与湿地污水中全氮、凯式氮的去 除率具有显著的正相关性,为利用酶活性强度作为评 价净化效果提供了理论依据[14] ¡Newman 通过野外模拟 实验图 发现人为加入磷酸盐营养物 2~3 周后 湿地表 层磷酸酶活性有明显降低,说明磷酸酶活性降低可以 做为湿地磷富营养化的预警,土壤中磷酸酶和有效无 机磷酸盐间一般呈负相关性。本文的研究中 蔗糖酶活 性与 COD 的降解效率之间相关性较高、脲酶活性与 NH₄⁺- N 及 TN 降解率相关性较高。土壤酶在化合物降 解过程中起到了重要作用,蚯蚓活动对土壤蔗糖酶活 性和脲酶有较显著的促进作用,对污染物去除的也起 到了间接的作用。

参考文献:

[1] 郭迎庆, 黄翔峰, 张玉先, 等. 太湖地区农村生活污水示范工程处理 工艺的选择[J]. 中国给水排水, 2009, 25(4): 6 - 9.

- [2] 李军状, 罗兴章, 郑 正, 等. 塔式蚯蚓生态滤池处理集中型农村生活污水工程设计[J]. 中国给水排水, 2009, 25(4): 35 38.
- [3] 方彩霞, 罗兴章, 郑 正, 等. 改进型蚯蚓生态滤池处理生活污水研究[J. 中国给水排水, 2009, 25(1): 22 25.
- [4] TAYLOR M, CLARKE W P, GREEN?ELD P F, et al. The treatment of domestic wastewater using small-scale vermicompost filter beds [J]. Ecological Engineering, 2003, 21: 197 - 203.
- [5] RAJIV K S, GOKUL B, Uday C. Sewage treatment by vermifiltration with synchronous treatment of sludge by earthworms: a low-cost sustainable technology over conventional systems with potential for decentralization[J]. Environmentalist, 2008, 28: 409 - 420.
- [6] DASH M C. Role of earthworms in the decomposer system. In: Singh J.
 S., Gopal B. (eds). Glimpses of Ecology [M]. New Delhi: India International Scientific Publication, 1978: 399 406.
- [7] EDWARDS C A, FLETCHER K E. Interaction between earthworms and microorganisms in organic matter breakdown [J]. Agriculture, Ecosystems & Environment., 1988, 24: 235 - 247.
- [8] BINET F, FAYOLLE L, PUSSARD M. Significance of earthworms in stimulating soil microbial activity [J]. Biology and Fertility of Soils, 1998, 27: 79 - 84.
- [9] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京:农业出版社,1986.
- [10] 张咏梅, 周国逸, 吴 宁. 土壤酶学的研究进展[J]. 热带亚热带植物 学报 2004 12(1): 83 90
- [11] 杨万勤,王开运. 土壤酶研究动态与展望[J]. 应用与环境生物学报, 2002, 8(5): 564 570.
- [12] KANG H, FREEMAN C. Phosphatase and arylsulphatase activities in wetland soils: Annual variation and controlling factor [J]. Soil Biology

- and Biochemistry. 1999, 31: 449 454.
- [13] XU X F, SONG C C, SONG X, et al. Carbon mineralization and the related enzyme activity of soil in wetland [J]. Ecology and Environment, 2004, 13(1): 40 42.
- [14] 贺 锋, 付贵萍, 成水平, 等. 复合垂直流构建湿地基质酶活性与污水净化效果[J]. 生态学报. 2002, 22(7):1012 1017.
- [15] KONG L, WANG Y B, ZHAO L N, et al. Enzyme and root activities in surface-flow constructed wetlands [J]. Chemosphere, 2009, 72: 601 - 608.
- [16] KANG H, FREEMAN C, Lock MA. Trace gas emission from a Welsh fen-role of hydrochemisty and soil enzyme activities [J]. Water, Air and Soil Pollution, 1998, 105:107-116.
- [17] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京:中国农业科技出版社, 2000
- [18] SCHMIDT O. Time-limited soil sorting for long-term monitoring of earthworm populations[J]. Pedobiologia, 2001(45): 69 - 83.
- [19] 邓晓保, 邹寿青, 付先惠, 等. 西双版纳热带雨林不同土地利用方式对土壤动物个体数量的影响. 生态学报, 2003, 23(1):130 138.
- [20] CURRY J P. Factors affecting earthworm abundance in soils. In: Clive A, Edwards. Earthworm Ecology [M]. St. Lucie Press., 1998, 38 - 64.
- [21] EDWARDS C A, BOHLEN PJ. Biology and Ecology of Earthworms (Third edition) [M]. London: Chapman & Hall, 1996: 135 136.
- [22] 张卫信, 李健雄, 郭明昉, 等. 广东鹤山人工林蚯蚓群落结构季节 变化及其与环境的关系[J]. 生态学报, 2005, 25(6): 1362 1370.
- [23] KANG H, FREEMAN C. Phosphatase and arylsulphatase activities in wetland soils: annual variation and controlling factors [J]. Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31: 449 - 454.
- [24] SAETRE S. Decomposition, microbial community structure, and earthworm effects along a birch-spruce soil gradient. Ecology, 1998,

- 79: 834 846.
- [25] SCHEU S, SCHAEFER M. Bottom-up control of the soil macrofauna community in a beech wood on limestone: manipulation of food resources. Ecology, 1998, 79: 1573 - 1585.
- [26] CARAVACA F, ROLDÁN A. Effect of Eisenia foetida earthworms on mineralization kinetics, microbial biomass, enzyme activities, respiration and labile C fractions of three soils treated with a composted organic residue. Biology and Fertility of Soils, 2003, 38: 45 - 51.
- [27] JUMA N G, TABATABAI M A. Comparison of kinetic and thermodynamic parameters of phosphomonesterases of soils and of corn and soyabean roots. Soil Biology and Biochemistry, 1988, 20: 533 - 539.
- [28] YANG L J, LI T L, LI F S, et al. Fertilization regulates soil enzyme activity and fertility dynamics in a cucumber field. Scientia Horticulturae, 2008, 116: 21 - 26.
- [29] TAO J, GRIFfiTHS B, ZHANG Shujie. Effects of earthworms on soil enzyme activity in an organic residue amended rice-wheat rotation agro- ecosystem. Applied Soil Ecology, 2009, 42: 221 - 226.
- [30] FREEMAN C, LISKA G, OSTLE N J, et al. Microbial activity and enzymic decomposition processes following peatland water table drawdown. Plant and Soil, 1996, 180: 121 - 127.
- [31] 陶宝先, 张金池, 愈元春, 等. 苏南丘陵地区森林土壤酶活性季节变化[J]. 生态环境学报, 2010, 19(10): 2349-2354.
- [32] NYBROE O, JORGENSEN P E, HENZE M. Enzyme activities in waste water and activated sludge. Water research, 1992, 26: 579-584.
- [33] NEWMAN S, REDDY K. Alkaline phosphatase activity in the sediment-water column of a hypereutrophic lake. Journal of Environmental Quality, 1993, 22:832-838.

Effects of Earthworm on the Soil Enzyme Activities in the Eco-filter

WANG Yong- qian 1,2, YANG Lin- zhang 1*, FENG Yan- fang 1,2, LI Tian- ling 1,2, QIAO Jun 1,2

- (1. Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing, 210008, China;
- 2. Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100049, China)

Abstract: The domestic sewage in rural areas was treated by vermifilter (+E) and ordinary eco-filter without earthworms (-E), and it was studied that the effects of earthworms on the characteristics of three soil enzymes (e.g. invertase, urease, alkaline phosphatase) and seasonal variation of soil enzyme activities. Results showed that the soil enzyme activities in the eco-filter were decreased gradually with the depth of soil profile, and enhanced with the presence of earthworms. Compared with ordinary eco-filter, significant evolutions were observed in invertase and urease activities in vermifitration with earthworms input, while the enhancement effects of earthworms on alkaline phosphatase activities was only limited in the layer 5 - 10 cm. During the period of experiment, the mean individuals and biomass of earthworms in the vermifilter showed a seasonal variation because of variations of temperature and soil humidity. And the seasonal variations of invertase, urease, alkaline phosphatase activities were similar in two types of eco-filter: the maximum activities were observed in autumn, and the enzyme activities were relatively higher in summer and autumn than spring and winter. In general, the addition of earthworms to the eco-filter strongly enhanced the invertase and urease activities, and affected the sewage treatment efficiency indirectly.

Key words: Soil enzyme activity; Eco-filter; Earthworms