

DIN EN ISO 23266



ICS 13.080.30

**Bodenbeschaffenheit –
Verfahren zur Bestimmung der Wirkungen von kontaminierten Böden
auf die Reproduktion von Hornmilben (*Oppia nitens*) (ISO 23266:2020);
Deutsche Fassung EN ISO 23266:2021**

Soil quality –

Test for measuring the inhibition of reproduction in oribatid mites (*Oppia nitens*)
exposed to contaminants in soil (ISO 23266:2020);

German version EN ISO 23266:2021

Qualité du sol –

Essai de détermination de l'inhibition de la reproduction chez les acariens oribates
(*Oppia nitens*) exposés aux contaminants dans le sol (ISO 23266:2020);

Version allemande EN ISO 23266:2021

Gesamtumfang 44 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Nationales Vorwort

Der Text von ISO 23266:2020 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190 „Soil quality“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und vom Technischen Komitee CEN/TC 444 „Umweltbezogene Charakterisierung fester Matrices“ als EN ISO 23266:2021 übernommen, dessen Sekretariat von NEN (Niederlande) gehalten wird.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Unterausschuss NA 119-01-02-04 UA „Biologische Verfahren“ des Arbeitsausschusses NA 119-01-02 AA „Abfall- und Bodenuntersuchung (Koordinierung ISO/TC 190, ISO/TC 275, CEN/TC 292, CEN/TC 308, CEN/TC 345, CEN/TC 444, CEN/SABE/ENV)“ im DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW).

Für die in diesem Dokument zitierten Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 10390	siehe	DIN EN ISO 10390*
ISO 11260	siehe	DIN EN ISO 11260
ISO 11265	siehe	DIN ISO 11265
ISO 15799	siehe	DIN ISO 15799
ISO 17616	siehe	DIN ISO 17616
ISO 18400-206	siehe	DIN ISO 18400-206
ISO 21285	siehe	DIN EN ISO 21285
ISO 21286	siehe	DIN EN ISO 21286

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

* In Vorbereitung. Stufe zum Zeitpunkt der Veröffentlichung: E DIN EN ISO 10390:2020-02.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

E DIN EN ISO 10390:2020-02, *Boden, Schlamm und behandelter Bioabfall — Bestimmung des pH-Wertes (ISO/DIS 10390:2020)*; Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 10390:2020

DIN EN ISO 11260, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der effektiven Kationenaustauschkapazität und der Basensättigung unter Verwendung von Bariumchloridlösung*

DIN EN ISO 21285, *Bodenbeschaffenheit — Hemmung der Reproduktion von Raubmilben (Hypoaspis aculeifer) durch Bodenverunreinigungen*

DIN EN ISO 21286, *Bodenbeschaffenheit — Identifizierung der Testorganismenarten für ökotoxikologische Tests mit Hilfe von DNA-Barcoding*

DIN ISO 11265, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit*

DIN ISO 15799, *Bodenbeschaffenheit — Anleitung zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Böden und Bodenmaterialien*

DIN ISO 17616, *Bodenbeschaffenheit — Anleitung für die Auswahl und Beurteilung von Biotestverfahren zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Böden und Bodenmaterialien*

DIN ISO 18400-206, *Bodenbeschaffenheit — Probenahme — Teil 206: Entnahme, Behandlung und Lagerung von Boden für die Beurteilung von biologischen funktionalen und strukturellen Endpunkten im Labor*

— Leerseite —

Deutsche Fassung

**Bodenbeschaffenheit —
Verfahren zur Bestimmung der Wirkungen
von kontaminierten Böden auf die Reproduktion
von Hornmilben (*Oppia nitens*)
(ISO 23266:2020)**

Soil quality —
Test for measuring the inhibition of reproduction
in oribatid mites (*Oppia nitens*) exposed to
contaminants in soil
(ISO 23266:2020)

Qualité du sol —
Essai de détermination de l'inhibition de la
reproduction chez les acariens oribates (*Oppia nitens*)
exposés aux contaminants dans le sol
(ISO 23266:2020)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 5. April 2021 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim CEN-CENELEC-Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, der Republik Nordmazedonien, Rumänien, Schweden, der Schweiz, Serbien, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Rue de la Science 23, B-1040 Brüssel

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Vorwort	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	8
4 Kurzbeschreibung	10
5 Reagenzien und Material	11
6 Prüfeinrichtung	14
7 Durchführung	14
7.1 Versuchsplanung	14
7.1.1 Allgemeines	14
7.1.2 Prüfung zur Ermittlung des Konzentrationsbereichs (Vorversuch)	15
7.1.3 Hauptprüfung	15
7.2 Herstellung der Prüfmischung	16
7.2.1 Prüfung des kontaminierten Bodens	16
7.2.2 Prüfung von Substanzen, die dem Prüfsubstrat zugegeben werden	17
7.2.3 Vorbereitung der Kontrollansatzbehälter	18
7.3 Zugabe der Milben	18
7.4 Prüfbedingungen und Messungen	18
7.5 Bestimmung der Überlebensrate der adulten Milben und der Reproduktionsleistung	19
8 Berechnung und Angabe der Ergebnisse	19
8.1 Berechnung	19
8.2 Angabe der Ergebnisse	19
9 Gültigkeit der Prüfung	20
10 Statistische Analyse	20
10.1 Allgemeines	20
10.2 Prüfungen mit nur einer Konzentration	20
10.3 Prüfungen mit mehreren Konzentrationen	21
10.3.1 Prüfung zur Ermittlung des Konzentrationsbereichs	21
10.3.2 Hauptprüfung	21
11 Prüfbericht	22
Anhang A (informativ) Methoden zur Haltung und Zucht von <i>Oppia nitens</i>	24
A.1 Bedingungen für die Haltung und Zucht	24
A.1.1 Allgemeine Biologie [24]	24
A.1.2 Zuchtsubstrat	24
A.1.3 Zuchtbehälter	25
A.1.4 Klimabedingungen	25
A.1.5 Futter	25
A.1.6 Handhabung und Umsetzen	25
A.2 Synchronisation von Kulturen	25

A.3	Veranschaulichende Fotoaufnahmen von <i>Oppia nitens</i> , entnommen aus [24]	26
Anhang B (normativ) Bestimmung des Wasserrückhaltevermögens		27
B.1	Allgemeines	27
B.2	Prüfeinrichtung	27
B.3	Durchführung	27
B.4	Berechnung des Wasserrückhaltevermögens (<i>WHC</i>)	27
Anhang C (informativ) Anleitung zur Einstellung des pH-Werts von künstlichem Boden		28
Anhang D (informativ) Extraktion und Auszählung von <i>Oppia nitens</i>		29
D.1	Allgemeines	29
D.2	Vom kanadischen Umweltministerium „Environment and Climate Change Canada (ECCC)“ entwickelte Vorgehensweise	30
D.3	Alternative Methoden zur Extraktion durch Wärmebehandlung	31
D.3.1	Erste alternative Methode	31
D.3.2	Zweite alternative Methode	31
Anhang E (informativ) Leistungsfähigkeit des Verfahrens		33
E.1	Allgemeines	33
E.2	Validitätskriterien	33
E.3	Internationale Vergleichsprüfungen durch Prüflaboratorien (Ringversuch)	33
E.3.1	Ergebnisse der Leistungsprüfung an Kontrollansätzen	34
E.3.2	Bei Borsäure in Freilandboden erzielte Ergebnisse (Runde 2)	36
E.3.3	Bei Borsäure in Standardboden (LUFA 2.2) erzielte Ergebnisse (Runde 3)	37
Literaturhinweise		38

Europäisches Vorwort

Der Text von ISO 23266:2020 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190 „*Soil quality*“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und vom Technischen Komitee CEN/TC 444 „Umweltbezogene Charakterisierung fester Matrices“ als EN ISO 23266:2021 übernommen, dessen Sekretariat von NEN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Oktober 2021, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Oktober 2021 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Entsprechend der CEN-CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die Republik Nordmazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 23266:2020 wurde von CEN als EN ISO 23266:2021 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Normungsthemen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190, *Soil quality*, Unterkomitee SC 4, *Biological characterization*, erarbeitet.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter www.iso.org/members.html zu finden.

Einleitung

Zur Gewinnung von Informationen über die Wirkungen von Kontaminanten in Böden finden ökotoxikologische Prüfsysteme Anwendung; sie werden als Ergänzung zur herkömmlichen chemischen Analyse vorgeschlagen (siehe ISO 15799 [1] und ISO 17616 [2]). ISO 15799 enthält eine Aufstellung und Kurzcharakterisierung von empfohlenen und genormten Prüfsystemen, und ISO 17616 gibt eine Anleitung für die Auswahl und Beurteilung von Biotestverfahren. Um Informationen über den Anteil der Kontaminanten zu erlangen, die möglicherweise über den Wasserweg (Rückhaltefunktion von Böden) das Grundwasser erreichen, werden aquatische Prüfsysteme mit Bodeneluat eingesetzt, wohingegen zur Beurteilung der Lebensraumfunktion von Böden im Hinblick auf die unterstützende Bodenbiota und Interaktionen innerhalb dieser terrestrische Prüfsysteme verwendet werden.

Milben (Acari) sind eine weltweit verbreitete und vielfältige Gruppe von Arthropoden, die zu einer Unterklasse der Spinnentiere (Arachnida) mit über 40 000 erfassten Arten gehören, die sich in zwei Überordnungen (Acariformes und Parasitiformes) unterteilen. Aufgrund ihrer relativ geringen Größe (einige µm bis einige cm) besetzen sie spezifische ökologische Nischen sowohl auf Pflanzen als auch in Böden [5].

In den letzten Jahren wurde die Entwicklung biologischer Prüfverfahren zur Beurteilung kontaminierter Böden verstärkt vorangetrieben, während davor die Prüfverfahren für andere Medien (z. B. Wasser und Sediment) traditionell einen Entwicklungsvorsprung aufwiesen. Bei ökotoxikologischen Prüfungen für Böden bestehen Herausforderungen u. a. aufgrund der Komplexität von Bodensystemen (z. B. mangelnde Homogenität) und der Vielfalt der Expositionswege (z. B. über die Nahrungsaufnahme, die Exposition gegenüber Porenwasser oder Bodenluft oder den direkten Kontakt mit Bodenpartikeln). Ein neu entwickeltes Verfahren (ISO 21285 [3]) beurteilt die Wirkungen von kontaminiertem Boden auf die Reproduktion der Raubmilbe (*Hypoaspis aculeifer*) vorrangig anhand der Nahrungsaufnahme. Hornmilben besetzen im Boden eine andere ökologische Nische als *H. aculeifer*, die aber sehr wichtig ist – sie tragen zur Kohlenstoffmineralisierung und Bodenbildung sowie zur Stickstoff- und Phosphorfreisetzung infolge Fraßaktivitäten bei. Hornmilben zählen zu den vielfältigsten und am häufigsten vorkommenden Mikroarthropodenarten im Boden. Ihr langsamerer Stoffwechsel und ihre langsamere Entwicklung in Verbindung mit einer geringen Fruchtbarkeit, einer langen Lebensdauer und einer begrenzten Verbreitungsfähigkeit erhöhen jedoch ihr Potenzial, bei kurz- und langzeitigen Störungen anfällig und empfindlich zu reagieren [6]. Die Verwendung von Hornmilben im Rahmen von bodenökotoxikologischen Prüfungen ist gründlich untersucht worden [7] [8] [9] [10] [11]. Neuere Forschungen, bei denen *Oppia nitens* für Bodenuntersuchungen verwendet wurde, haben die Anwendbarkeit und die relative Empfindlichkeit der Art bei der Beurteilung kontaminierter Böden aus sowohl ackerbaulichen Regionen als auch aus der borealen Ökozone und der Taiga aufgezeigt [6] [12] [13] [14] [15]. Außerdem wurde durch die Forschung ihre Empfindlichkeit gegenüber Metallen [16] [17] [18] [19], Pestiziden [20] [21] und organischen Verbindungen [16] [17] [22] nachgewiesen. *Oppia nitens* ist eine Hornmilbe, die die obere organische Schicht des Bodens bewohnt und zur größten Oribatenfamilie (Oppiidae) mit ungefähr 1 000 Arten in 129 Gattungen gehört, die in der Holarktis und der Antarktis weit verbreitet sind [23]. Es handelt sich dabei um sich sexuell fortpflanzende, polyphage Pilzfresser, die im Labor problemlos in Boden oder auf gebranntem Gips bei einer Ernährung mit Backhefe gezüchtet werden können [10].

Das im Dokument beschriebene Verfahren behandelt Vorgehensweisen zur Durchführung von 28-Tage-Prüfungen zur Bestimmung der Wirkungen von kontaminierten Böden auf das Überleben und die Reproduktionsleistung der Hornmilbe, *Oppia nitens*. Wahlweise kann das Verfahren zur Prüfung von Chemikalien verwendet werden, die Standardböden (z. B. künstlichem Boden) zugesetzt werden, um ihr letales und subletales Gefährdungspotenzial für Hornmilben zu ermitteln. Die Leistungsfähigkeit dieses Verfahrens wurde in einem internationalen Ringversuch beurteilt [15], wie in Anhang E zusammengefasst. Milben stellen Lebensgemeinschaften dar, die bei einer Umweltgefährdungsbeurteilung nicht außen vor gelassen werden können. Diese Art (*Oppia nitens*) wird als repräsentativ für nicht räuberische Bodenmilben angesehen.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt eines der Verfahren zur Bewertung der Lebensraumfunktion von Böden und zur Bestimmung der Wirkungen von Bodenkontaminationen und einzelnen chemischen Substanzen auf die Reproduktionsleistung der Hornmilbe *Oppia nitens* bei Aufnahme über die Haut und mit der Nahrung. Diese (28-tägige) Dauerprüfung ist auf Böden und Bodenmaterialien unbekannter Beschaffenheit (z. B. Altlasten, veränderte Böden, Böden nach einer Sanierung, landwirtschaftlich genutzte oder andere Böden, bei denen ein Prüfanlass besteht, und Abfallmaterialien) anwendbar. Dieses Verfahren ist weder als Ersatz für Prüfungen mit Regenwürmern oder Collembolen anzuwenden, da es eine andere taxonomische Gruppe (= Milben; d. h. Arachniden) in den Fokus stellt, noch als Ersatz für die Raubmilbenprüfung, da diese Art eine andere trophische Ebene und ökologische Nische repräsentiert.

Die Wirkungen von Substanzen werden unter Verwendung von Standardboden, vorzugsweise einem definierten künstlichen Bodensubstrat, beurteilt. Bei kontaminierten Böden werden die Wirkungen im Prüfboden und in einem Kontrollboden bestimmt. In Abhängigkeit von der Zielsetzung der Untersuchung sollte für den Kontrollansatz und das Substrat zum Strecken bzw. Verdünnen (Verdünnungsreihen von kontaminiertem Boden) entweder ein nicht kontaminierter Boden mit ähnlichen Eigenschaften wie die zu prüfende Bodenprobe (Referenzboden) oder ein Standardboden (z. B. künstlicher Boden) verwendet werden.

Es werden Informationen darüber gegeben, wie dieses Verfahren zur Prüfung von Substanzen unter gemäßigten Bedingungen anzuwenden ist.

Dieses Dokument ist nicht anzuwenden für Substanzen, bei denen der Luft/Boden-Verteilungskoeffizient größer als 1 ist oder bei denen der Dampfdruck bei 25 °C 300 Pa übersteigt.

ANMERKUNG Es kann nicht sichergestellt werden, dass die Prüfsubstanz während der gesamten Prüfdauer stabil bleibt. Bei dem Prüfverfahren sind keine Vorkehrungen zur Überwachung der Persistenz der zu prüfenden Substanz vorgesehen.

WARNUNG — Kontaminierte Böden können unbekannte Gemische von giftigen, mutagenen oder anderweitig schädlichen Chemikalien oder infektiösen Mikroorganismen enthalten. Durch Staub und verdunstete Chemikalien können während der Handhabung und der Inkubation Arbeitsschutzrisiken entstehen. Es sollten Vorkehrungen getroffen werden, um einen Hautkontakt zu vermeiden.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

ISO 10390, *Soil quality — Determination of pH*

ISO 10694, *Soil quality — Determination of organic and total carbon after dry combustion (elementary analysis)*

ISO 11260, *Soil quality — Determination of effective cation exchange capacity and base saturation level using barium chloride solution*

ISO 11265, *Soil quality — Determination of the specific electrical conductivity*

ISO 11277, *Soil quality — Determination of particle size distribution in mineral soil material — Method by sieving and sedimentation*

ISO 11465, *Soil quality — Determination of dry matter and water content on a mass basis — Gravimetric method*

ISO 18400-206, *Soil quality — Sampling — Part 206: Collection, handling and storage of soil under aerobic conditions for the assessment of microbiological processes, biomass and diversity in the laboratory*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: verfügbar unter <http://www.electropedia.org/>

3.1

Kontaminant

Substanz oder Mittel, die bzw. das im Boden als Ergebnis menschlicher Tätigkeit vorhanden ist

3.2

Wirkungskonzentration

EC_x, en: effect concentration

Konzentration (Massenanteil) einer Analysenprobe oder einer Prüfsubstanz, die an einem gegebenen Endpunkt innerhalb einer vorgegebenen Expositionsdauer im Vergleich zu einem Kontrollansatz x % einer Wirkung verursacht

BEISPIEL Eine EC₅₀ ist eine Konzentration, die an einem Endpunkt der Prüfung voraussichtlich bei 50 % der während einer festgelegten Expositionsdauer exponierten Population eine Wirkung hervorruft.

Anmerkung 1 zum Begriff: Die EC_x wird als prozentualer Anteil des zu prüfenden Bodens (Trockenmasse) je Bodenmischung (Trockenmasse) angegeben. Wenn Substanzen geprüft werden, wird die EC_x als Masse der Prüfsubstanz je Trockenmasse des Bodens in Milligramm je Kilogramm angegeben.

3.3

Wirkungsrate

ER_x, en: effect rate

Rate eines zu prüfenden Bodens, die an einem gegebenen Endpunkt innerhalb einer vorgegebenen Expositionsdauer im Vergleich zu einem Kontrollansatz x % einer Wirkung hervorruft

3.4

letale Konzentration

LC_x, en: lethal concentration

Konzentration (Massenanteil) einer Analysenprobe oder einer Prüfsubstanz, die im Vergleich zu einem Kontrollansatz x % der Mortalität innerhalb einer vorgegebenen Expositionsdauer hervorruft

BEISPIEL Eine LC₅₀ ist eine Konzentration, die innerhalb einer festgelegten Expositionsdauer eine voraussichtliche Mortalität von 50 % der exponierten Population hervorruft.

Anmerkung 1 zum Begriff: Die LC_x wird als prozentualer Anteil des zu prüfenden Bodens (Trockenmasse) je Bodenmischung (Trockenmasse) angegeben. Werden Substanzen geprüft, wird die LC_x als Masse der Prüfsubstanz je Trockenmasse Boden in Milligramm je Kilogramm angegeben.

3.5

Grenzwertprüfung

Prüfung, die mit nur einer Konzentration und jeweils mindestens fünf Replikaten am *Prüfboden* (3.14) ohne jegliche Verdünnung oder bei der höchsten Konzentration der in den Kontrollboden eingemischten Prüfsubstanz und am Kontrollansatz durchgeführt wird

3.6

geringste Konzentration, bei der eine Wirkung zu beobachten ist

LOEC, en: lowest observed effect concentration

niedrigste geprüfte Konzentration (Massenanteil) einer Analysenprobe oder einer Prüfsubstanz, die eine statistisch signifikante Wirkung (Wahrscheinlichkeit $p < 0,05$) zeigt

Anmerkung 1 zum Begriff: Bei dieser Prüfung wird die LOEC als prozentualer Anteil des zu prüfenden Bodens (Trockenmasse) je Bodenmischung (Trockenmasse) oder als Masse der Prüfsubstanz je Trockenmasse des zu prüfenden Bodens angegeben. Sämtliche Prüfkonzentrationen, die über der LOEC liegen, sollten üblicherweise eine Wirkung zeigen, die sich statistisch von der Kontrollprobe unterscheidet.

3.7

geringste Rate, bei der eine Wirkung zu beobachten ist

LOER, en: lowest observed effect rate

niedrigste Rate eines zu prüfenden Bodens in einem Kontrollboden, bei der eine statistisch signifikante Wirkung beobachtet wird

3.8

Konzentration ohne statistisch signifikante Wirkung

NOEC, en: no observed effect concentration

höchste geprüfte Konzentration (Massenanteil) einer Analysenprobe oder einer Prüfsubstanz unmittelbar unterhalb der LOEC, bei der keine Wirkung beobachtet wird

Anmerkung 1 zum Begriff: Bei dieser Prüfung zeigt die der NOEC entsprechende Konzentration innerhalb einer vorgegebenen Expositionsdauer im Vergleich zum Kontrollansatz keine statistisch signifikante Wirkung (Wahrscheinlichkeit $p < 0,05$).

3.9

Rate ohne statistisch signifikante Wirkung

NOER, en: no observed effect rate

geringste Rate eines zu prüfenden Bodens unmittelbar unterhalb der LOER, die im Vergleich zum Kontrollansatz innerhalb einer vorgegebenen Expositionsdauer keine statistisch signifikante Wirkung (Wahrscheinlichkeit $p < 0,05$) zeigt

3.10

Reproduktion

Reproduktionsleistung

durchschnittliche Anzahl der Nachkommen je Prüfgefäß nach einer 28-tägigen Inkubation unter den festgelegten Prüfbedingungen

3.11

Referenzboden

nicht kontaminierter Boden, der vergleichbare pedologische Eigenschaften (Nährstoffkonzentrationen, pH-Wert, Gehalt an organischem Kohlenstoff und Bodentextur) wie der *Prüfboden* (3.14) aufweist

3.12

Standardboden

Freilandboden oder künstlicher Boden, dessen wesentliche Eigenschaften (pH-Wert, Bodentextur, Gehalt an organischer Substanz) innerhalb eines bekannten Bereichs liegen

BEISPIEL EURO-Soils, künstlicher Boden, LUFA-Standardboden.

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Eigenschaften von Standardböden können von denen des Prüfbodens abweichen.

3.13

Kontrollboden

Referenz- oder *Standardboden* (3.12), der als Kontrolle und als Medium zur Herstellung von Verdünnungsreihen mit Prüfböden/Analysenproben oder einer Referenzsubstanz verwendet wird und die Validitätskriterien erfüllt

Anmerkung 1 zum Begriff: Bei einem natürlichen Boden ist es ratsam, seine Eignung für eine Prüfung und die Erfüllung der Validitätskriterien für die Prüfung nachzuweisen, bevor er in einer Hauptprüfung verwendet wird.

3.14

Prüfboden

Probe von Freilandboden oder chemisch angereichertem Boden, dessen Toxizität für Milben zu bestimmen ist

3.15

Prüfmischung

Mischung von kontaminiertem Boden oder der Prüfsubstanz (z. B. Chemikalie, Biofeststoff, Abfall) mit *Kontrollboden* (3.13)

Anmerkung 1 zum Begriff: Prüfmischungen werden in Prozent des kontaminierten Bodens auf der Grundlage der Bodentrockenmasse angegeben.

3.16

Prüfmischungsverhältnis

Verhältnis von Prüfboden zu Kontrollboden in einer *Prüfmischung* (3.15)

Anmerkung 1 zum Begriff: Um die Dosis-Wirkungs-Beziehung zu ermitteln, dürfen unterschiedliche Verhältnisse in einer Verdünnungsreihe verwendet werden.

4 Kurzbeschreibung

Es werden die Wirkungen auf die Reproduktionsleistung adulter, im Labor gezüchteter Milben *Oppia nitens*, die dem Prüfboden ausgesetzt wurden, mit denen verglichen, die bei Organismen in Kontrollboden beobachtet wurden. Die Wirkungen, falls zutreffend, werden durch Exposition gegenüber einer Prüfmischung des kontaminierten Bodens und einem Kontrollboden oder gegenüber unterschiedlichen Konzentrationen einer in einen Kontrollboden eingemischten Prüfsubstanz bestimmt. Die Prüfmischungen werden zu Beginn der Prüfung hergestellt und innerhalb des Prüfzeitraums nicht erneuert.

Die Prüfung wird mit 15 adulten Milben aus alterssynchronisierten Kulturen (im Alter von 8 d bis 10 d nach der Ekdysis (d. h. Häutung) zur adulten Form) je Prüfgefäß gestartet. Die Prüfung wird in 30-ml-Glasgefäßen mit einem Feuchtgewicht durchgeführt, die einem Volumen von etwa 20 ml Boden entspricht, und für jede Aufbereitung werden mindestens fünf Replikate vorbereitet. Die Prüfung erfolgt über 28 d bei $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$. Während dieser Zeit schlüpfen aus den von den adulten Milben gelegten Eiern Nachkommen (F_1). Die Anzahl der produzierten Nachkommen wird bestimmt. Außerdem wird am Ende der Prüfung die Überlebensrate der adulten Milben bestimmt. In Abhängigkeit von der Versuchsplanung werden die in den Prüfungen gewonnenen Ergebnisse mit einem Kontrollansatz verglichen oder, falls es sich um ein Design mit Verdünnungsreihe(n) handelt, zur Bestimmung der Konzentration verwendet, die zu einer Reduktion der produzierten juvenilen Formen um $x\%$ im Vergleich zum Kontrollansatz (EC_x , 28 d) führt. Bei einer Prüfkonzentration, die schätzungsweise eine Mortalität von $x\%$ zur Folge hat (LC_x , 28 d), ist ein optionaler Endpunkt der Prüfung erreicht. Bei einer Versuchsplanung, bei der die Hypothese auf mehreren Konzentrationen basiert, wird die Reproduktionsleistung der Milben, die den Prüfmischungen ausgesetzt