

DIN EN ISO 23611-4



ICS 13.080.05; 13.080.30

Ersatz für
DIN EN ISO 23611-4:2011-09

**Bodenbeschaffenheit –
Probenahme von Wirbellosen im Boden –
Teil 4: Probenahme, Extraktion und Bestimmung von Boden bewohnenden
Nematoden (ISO 23611-4:2022);
Deutsche Fassung EN ISO 23611-4:2022**

Soil quality –
Sampling of soil invertebrates –
Part 4: Sampling, extraction and identification of soil-inhabiting nematodes
(ISO 23611-4:2022);
German version EN ISO 23611-4:2022

Qualité du sol –
Prélèvement des invertébrés du sol –
Partie 4: Prélèvement, extraction et identification des nématodes du sol (ISO 23611-4:2022);
Version allemande EN ISO 23611-4:2022

Gesamtumfang 37 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 23611-4:2022) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190 „Soil quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 444 „Umweltbezogene Charakterisierung fester Matrices“ erarbeitet, 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“ im DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW).

Die Normenreihe ISO 23611 besteht unter dem Haupttitel *Soil quality — Sampling of soil invertebrates* aus den folgenden Teilen:

- *Part 1: Hand-sorting and extraction of earthworms*
- *Part 2: Sampling and extraction of micro-arthropods (Collembola and Acarina)*
- *Part 3: Sampling and extraction of enchytraeids*
- *Part 4: Sampling, extraction and identification of soil-inhabiting nematodes*
- *Part 5: Sampling and extraction of soil macro-invertebrates*
- *Part 6: Guidance for the design of sampling programmes with soil invertebrates*

Es ist erforderlich, bei den Arbeiten nach diesem Dokument Fachleute oder Facheinrichtungen einzuschalten.

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

ISO 10390	siehe	DIN EN ISO 10390
ISO 11268-3	siehe	DIN EN ISO 11268-3
ISO 11272	siehe	DIN EN ISO 11272
ISO 11274	siehe	DIN EN ISO 11274
ISO 11277	siehe	DIN ISO 11277
ISO 11461	siehe	DIN EN ISO 11461
ISO 18400-101	siehe	DIN ISO 18400-101

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

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 23611-4:2011-09 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) es wurden Beispiele von Nematoden-Monitoringprogrammen (einschließlich der Darstellung ihrer Ergebnisse) als informativer Anhang hinzugefügt;
- b) redaktionelle Überarbeitung der Norm.

Frühere Ausgaben

DIN ISO 23611-4: 2008-11

DIN EN ISO 23611-4: 2011-09

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 10390, *Boden, behandelter Bioabfall und Schlamm — Bestimmung des pH-Werts*

DIN EN ISO 11268-3, *Bodenbeschaffenheit — Wirkungen von Schadstoffen auf Regenwürmer — Teil 3: Anleitung für die Bestimmung von Wirkungen unter Freilandbedingungen*

DIN EN ISO 11272, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Trockenrohddichte*

DIN EN ISO 11274, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung des Wasserrückhaltevermögens — Laborverfahren*

DIN EN ISO 11461, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung des Wassergehalts des Bodens als Volumenanteil mittels Stechzylinder — Gravimetrisches Verfahren*

DIN ISO 11277, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Partikelgrößenverteilung in Mineralböden — Verfahren mittels Siebung und Sedimentation*

DIN ISO 18400-101, *Bodenbeschaffenheit — Probenahme — Teil 101: Grundzüge der Vorbereitung und Anwendung eines Probenahmeplans*

— Leerseite —

Deutsche Fassung

Bodenbeschaffenheit —
Probenahme von Wirbellosen im Boden —
Teil 4: Probenahme, Extraktion und Bestimmung von Boden
bewohnenden Nematoden (ISO 23611-4:2022)

Soil quality —
Sampling of soil invertebrates —
Part 4: Sampling, extraction and identification of
soil-inhabiting nematodes (ISO 23611-4:2022)

Qualité du sol —
Prélèvement des invertébrés du sol —
Partie 4: Prélèvement, extraction et identification des
nématodes du sol (ISO 23611-4:2022)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 16. Juli 2022 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	3
Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Kurzbeschreibung	7
5 Reagenzien	8
6 Werkstoffe und Prüfeinrichtung	9
6.1 Probenahme	9
6.2 Extraktion	9
6.3 Auszählen	9
6.4 Fixierung und Vorbereitung der Massen-Objektträger	10
6.5 Bestimmung	10
7 Durchführung	10
7.1 Allgemeines	10
7.2 Probenahme	10
7.3 Extraktion	12
7.4 Auszählen	13
7.5 Fixierung und Herstellung der Massen-Objektträger	13
7.6 Bestimmung	14
8 Auswertung der Ergebnisse	14
9 Prüfbericht	16
Anhang A (informativ) Bilder zur Ausrüstung und zu den Verfahren bei der nematologischen Forschung	17
Anhang B (informativ) Angaben zur Verfügbarkeit des Oostenbrink-Elutriators	20
Anhang C (informativ) Angaben zum Extraktionsverfahren mit Baermann-Trichter/Schale	22
Anhang D (informativ) Beispiele für die Verwendung von wirbellosen Bodenlebewesen in Bodenüberwachungsprogrammen (einschließlich Darstellung der Ergebnisse)	24
D.1 Allgemeines	24
D.2 Repräsentative Probenahme von Nematoden in verschiedenen Lebensraum-/ Bodentypen	24
D.3 Bewertung der biologischen Qualität von Böden	26
Literaturhinweise	30

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 23611-4:2022) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190 „Soil quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 444 „Umweltbezogene Charakterisierung fester Matrices“ erarbeitet, 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 Februar 2023, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Februar 2023 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.

Dieses Dokument ersetzt EN ISO 23611-4:2011.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Liste dieser Institute ist auf den Internetseiten von CEN abrufbar.

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 23611-4:2022 wurde von CEN als EN ISO 23611-4:2022 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*, in Zusammenarbeit mit dem Europäischen Komitee für Normung (CEN), Technisches Komitee CEN/TC 444, *Umweltbezogene Charakterisierung fester Matrices*, in Übereinstimmung mit der Vereinbarung zur technischen Zusammenarbeit zwischen ISO und CEN (Wiener Vereinbarung) erarbeitet.

Diese zweite Ausgabe ersetzt die erste Ausgabe (ISO 23611-4:2007), die technisch überarbeitet wurde. Die wesentlichen Änderungen sind folgende:

- Beispiele für die Verwendung von Nematoden in Bodenüberwachungsprogrammen (einschließlich der Darstellung ihrer Ergebnisse) wurden als informativer Anhang hinzugefügt (siehe Anhang D).

Eine Auflistung aller Teile der Normenreihe ISO 23611 ist auf der ISO-Internetseite abrufbar.

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

Dieses Dokument wurde erarbeitet, um dem wachsenden Bedarf nach Normung bodenzoologischer Feldverfahren gerecht zu werden. Derartige Verfahren, die in erster Linie bei der Probenahme, Extraktion und Handhabung von Wirbellosen im Boden Anwendung finden, werden für folgende Zwecke benötigt:

- biologische Klassifizierung von Böden, einschließlich der Beurteilung der Bodenqualität [37] [42] [57];
- terrestrische Bioindikation und Langzeitbeobachtung [25] [28] [31] [50];
- Bewertung der Wirkungen von Chemikalien auf Bodentiere im Freiland (siehe ISO 11268-3 [4]).

Die für diese Zwecke benötigten Daten werden durch genormte Verfahren gewonnen, da sie die Grundlage für weit reichende Entscheidungen (z. B. ob ein bestimmter Standort saniert werden sollte oder nicht) bilden können. Tatsächlich ist der Mangel an derartigen genormten Verfahren einer der wichtigsten Gründe dafür, dass Bioklassifizierungen und Biobeurteilungen terrestrischer Habitats (d. h. von Bodenhabitats) im Vergleich zu aquatischen Standorten bisher relativ selten durchgeführt wurden.

Nematoden stellen einen wichtigen und großen Teil der Bodenfauna dar. Einige Autoren schätzen, dass diese Gruppe die wahrscheinlich am stärksten dominierende Gruppe der mehrzelligen Organismen (Metazoa) auf der Erde bildet [52]. Nematoden treten von der Antarktis bis zu den Tropen und von Tiefseesedimenten bis hin zu Bergregionen auf. Sie sind an allen Orten aktiv, an denen sie ausreichend Wasser und organisches Material vorfinden. Die Artenvielfalt und funktionelle Vielfalt sind beeindruckend [14]. Nematoden sind allgemein als Parasiten bei Tieren und Pflanzen bekannt; der überwiegende Teil der Nematodenfauna beteiligt sich jedoch an Abbauprozessen, in dem er sich von Bakterien und Pilzen ernährt.

Nematoden treten in fast jeder Bodenprobe in großer Anzahl ($0,2 \times 10^6 \text{ m}^{-2}$ bis $9 \times 10^6 \text{ m}^{-2}$) und mit einer großen Artenvielfalt (10 bis 100 Arten) auf [12]. Darüber hinaus besteht ein umfassendes ökologisches Spektrum an Ernährungstypen und Beziehungen innerhalb des Nahrungsnetzes zwischen den Nematoden, z. B. Bakterivore, Fungivore, Herbivore, Prädatoren und Omnivore [57] [58]. Diese Faktoren machen die Gruppe so geeignet als Indikatoren für die ökologische Bodenbeschaffenheit [56]; dennoch ist aus Gründen des Vergleichs und der Kombination der Ergebnisse eine Normung der Verfahren dringend erforderlich.

In den vergangenen 100 Jahren hat sich die Nematologie in Hinblick auf Landwirtschaft, Probenahmen zwecks Beratung und phytosanitären Bestimmungen stark weiterentwickelt, da einige terrestrische Nematoden große Schäden an Nutzpflanzen verursachen. Bezüglich der Verfahren existieren in verschiedenen Teilen der Erde unterschiedliche „Schulen“, die jeweils ihre eigene Geschichte sowie ihre jeweiligen praktischen Vor- und Nachteile aufweisen. Ein umfassender Überblick ist bei Oostenbrink [14] und Southey [48] [49] zu finden. Die in jüngerer Zeit beschriebenen Verfahren (oder Varianten) wurden häufig aufgrund eines besonderen Interesses an bestimmten pflanzenparasitischen Arten entwickelt. In den letzten 20 Jahren wurden neue Methoden entwickelt, die eine DNA-basierte taxonomische Identifizierung von Nematodenarten ermöglichen [21] [34] [54]. Dadurch wird die taxonomische Analyse von Nematoden für eine breitere Gemeinschaft von Nichtfachleuten zugänglich.

Seit Bongers [16] den Maturity-Index (Reifeindex) einführte, hat sich der Einsatz von Nematoden bei der Bioindikation in Bezug auf die Bodenbeschaffenheit rasch verstärkt [56]. Heutzutage werden Nematoden in zahlreichen Ländern auf der ganzen Welt für die ökologische Bodenforschung und -überwachung verwendet. Überwachungsaktivitäten stellen besondere Anforderungen an die Methodik. So ist es beispielsweise erforderlich, routinemäßig eine große Anzahl von Bodenproben zu verarbeiten und dabei die Kosten auf einem angemessenen Niveau zu halten. Einige der ursprünglich für die Probenahme zu Beratungszwecken in der Landwirtschaft entwickelten Verfahren eignen sich sehr gut auch für die ökologische Forschung. Sie bilden die Grundlage der in diesem Dokument beschriebenen spezifischen Varianten.

Bei den Nematoden, die mit dem vorgeschlagenen Verfahren charakterisiert werden, handelt es sich um alle im Boden vorkommenden, frei lebenden Formen von Nematoden. Sie umfassen Nematoden, die sich nicht von Pflanzen ernähren, sowie auch ektoparasitäre pflanzenfressende Nematoden und frei lebende Stadien endoparasitärer Nematoden. Die mengenmäßige Bestimmung obligater pflanzenfressender Nematoden in Wurzeln erfordert besondere Verfahren. Grundlegende Informationen zur Ökologie von Nematoden und ihrer Verwendung als Bioindikatoren sind im Literaturverzeichnis zu finden.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Verfahren zur Probenahme und Handhabung frei lebender Nematoden aus terrestrischen Freilandböden fest, das als eine Voraussetzung für die Verwendung dieser Tiere als Bioindikatoren (z. B. zur Beurteilung der Beschaffenheit eines Bodens als Lebensraum für Organismen) dient.

Dieses Dokument wird angewendet für alle terrestrischen Biotope, in denen Nematoden vorkommen. Die allgemeine Planung der Probenahme für Freilanduntersuchungen ist in ISO 18400-101 festgelegt.

Dieses Dokument ist wegen der Unterschiede in der Probenmatrix (z. B. Wassersäule) nicht auf aquatische Nematoden anwendbar. Methoden für einige andere Gruppen von Bodenorganismen wie Regenwürmer, Collembolen, Enchytraeiden oder Makroinvertebraten werden in ISO 23611-1, ISO 23611-2, ISO 23611-3 und ISO 23611-5 behandelt.

Dieses Dokument behandelt nicht die Charakterisierung des Standortes nach bodenkundlichen Gesichtspunkten, die für die Probenahme von Wirbellosen im Boden nachdrücklich empfohlen wird. ISO 10390, ISO 10694, ISO 11272, ISO 11274, ISO 11277, ISO 11461 und ISO 11465 behandeln zur Bestimmung des pH-Wertes, der Korngrößenverteilung, des C/N-Verhältnisses, des Gehaltes an organischem Kohlenstoff und des Wasserrückhaltevermögens geeignetere Verfahren.

2 Normative Verweisungen

Es gibt keine normativen Verweisungen in diesem Dokument.

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 <https://www.electropedia.org/>

3.1

Nematode

kleiner, unsegmentierter, frei lebender Wurm (mit einer Länge bis zu einigen Millimetern), der zur Klasse der Nematoda gehört

Anmerkung 1 zum Begriff: Nematoden ohne Boden bewohnende Stadien sind in diesem Kontext nicht abgedeckt.

3.2

Standort

Untersuchungsgebiet oder -parzelle, das/die (unter anderem) auf der Grundlage der Zusammensetzung der Nematodenfauna charakterisiert wird

3.3

Sammelprobe

zusammengesetzte Bodenprobe aus vielen kleinen Bodenkernen, die dazu dient, einen Eindruck von der durchschnittlichen Zusammensetzung der Nematodenfauna zu erhalten

3.4

Bodenprobenehmer

Werkzeug zur Entnahme von Bodenmaterial auf rasche und genormte Weise

3.5

Massen-Objektträger

mikroskopischer Objektträger, auf dem zum Zwecke der *Artenbestimmung* (3.7) 300 bis 400 Nematoden eingebettet sind

3.6

Bestimmung

Bestimmung von Art, Gattung oder Familie eines Individuums auf der Grundlage morphologischer Merkmale (Mundwerkzeuge, Geschlechtsorgane, Körperverhältnis) unter Anwendung eines Bestimmungsschlüssels

3.7

Kolonialisierer-Dauersiedler-Skala (cp-Skala)

en colonizer-persister (cp) scale

ökologische Klassifizierung von Nematoden

Anmerkung 1 zum Begriff: Nach Bongers [16] [17].

Anmerkung 2 zum Begriff: Das Prinzip verhält sich analog zu den r-K-Lebensstrategien im Verlauf einer Sukzession zwischen denen nach den Grundlagen der Ökologie unterschieden wird. Familien von Nematoden, die sich nicht von Pflanzen ernähren, werden einer der fünf cp-Gruppen zugeordnet. Das ist auch die Grundlage für die Berechnung des Maturity-Index.

4 Kurzbeschreibung

Die Nematoden werden mit einer kleinen zylindrischen Hülse (Durchmesser: etwa 2 cm; Länge: 10 cm oder 15 cm) oder einem Stangenbohrer (siehe Bild A.2) in Bodenproben gesammelt. Zu Überwachungszwecken werden die Bodenproben zu einer Sammelprobe von einer homogenen Fläche zusammengefasst. Die Gesamtzahl der zu entnehmenden Proben ist von der Größe der untersuchten Fläche und deren Homogenität (z. B. Pedologie, Landnutzung, Kulturpflanzen) abhängig. Die einzelnen Proben können vor Ort in genormten Kunststofftüten oder Kunststoffeimern zusammengetragen werden. Die zusammengesetzte Sammelprobe ist für die direkte Untersuchung zu groß und wird daher gemischt und in Teilproben unterteilt. Vor Ort und während des Transports zum Labor sind die Bodenproben gegen starke Temperaturschwankungen, Wasserverlust und intensive mechanische Störungen zu schützen. Sie können maximal vier Wochen bei 4 °C gelagert werden.

ANMERKUNG 1 Das vorstehend beschriebene Probenahmeverfahren wurde aus dem „Holländischen Verfahren“ [49] zur Bestimmung des Befalls eines Feldes mit Kartoffelzystennematoden abgeleitet und wird seit vielen Jahren in verschiedenen europäischen Ländern angewendet.

Das Trichterverfahren nach Oostenbrink wird für die routinemäßige Extraktion von Bodenproben empfohlen, z. B. im Rahmen eines Überwachungsnetzwerkes. Das Oostenbrink-Verfahren ist nicht das einfachste Verfahren für die Anwendung unter allen möglichen Umständen. Dennoch weist es zahlreiche Vorteile auf: Es ist hoch genormt und konstant in Hinblick auf die Extraktionseffizienz. Das Nasstrichterverfahren nach Oostenbrink kombiniert drei grundlegende Verfahrensweisen zur Trennung der Nematoden vom Boden: Waschen, Sieben, aktive Bewegung. Daher werden mit diesem Verfahren bessere Ergebnisse erzielt als mit jeweils einem der grundlegenden Verfahren allein. Weitere Vorteile sind im Folgenden angegeben:

- relativ große Bodenproben jedes Bodentyps können gleichzeitig behandelt werden (100 g bis 500 g);
- saubere Nematodensuspensionen;
- Isolierung der meisten lebenden und aktiven Nematoden;

- es bestehen bereits viele Jahre Erfahrung mit einer sehr großen Anzahl von routinemäßig durchgeführten Bodenextraktionen;
- das Verfahren wird an vielen Orten auf der ganzen Welt eingesetzt.

Nach der Probenahme werden die Nematoden mit Hilfe des Oostenbrink-Elutriators¹ (Modell III) aus dem Boden extrahiert (siehe Bild A.3 und Anhang B). Bei diesem Verfahren trennt ein aufwärts gerichteter Wasserstrom die Nematoden von Bodenpartikeln und hält sie in der Suspension, während die schwereren Partikel absinken [10] [33] [44] [49]. Diese Suspension aus Nematoden und kleinen Partikeln geht durch drei Siebe hindurch (Maschenweite: 45 µm). Der Rückstand wird von den Sieben auf ein Wattefilter (Milchfilter) gespült. Das Wattefilter wird auf einem unterstützenden Sieb befestigt und in eine Schale mit 100 ml Leitungswasser gegeben. In drei Tagen trennen sich die Nematoden durch ihre aktive Abwärtsbewegung von den Partikeln auf dem Filter. So kriechen die lebenden Nematoden durch das Filter in die Schale mit dem Leitungswasser.

Nach der Extraktion werden die Nematoden in zweimal 10 ml der 100-ml-Suspension ausgezählt, dann eingengt, konserviert und auf Massen-Objektträgern fixiert. Abschließend werden mindestens 150 Individuen oder ein fester Prozentsatz der Gesamtzahl in der Probe unter dem Mikroskop bestimmt.

Ausgewachsene Nematoden können bis zur Artebene bestimmt werden. Populationen im Boden bestehen jedoch häufig überwiegend aus Jungtieren und die taxonomische Gattungsebene stellt eine praktische (wenn auch weniger empfindliche) Art der Unterscheidung dar.

Alternative Extraktionsverfahren wie der Seinhorst-Elutriator [44] der Baermann-Trichter (siehe Anhang C) können unter bestimmten Umständen geeignet sein, werden jedoch nicht als allgemeine Verfahren empfohlen, da der Oostenbrink-Elutriator robust, einfach zu bedienen und im Allgemeinen den meisten anderen Verfahren in quantitativer Hinsicht überlegen ist. Für konservierte Proben, die nicht lebende Organismen enthalten, ist das Verfahren mit dem Oostenbrink-Elutriator nicht geeignet. Hier werden Flotations-/Zentrifugations-Verfahren unter Verwendung von kolloidalem Siliziumdioxid empfohlen, da sie die Extraktion aller Formen von Nematoden zulassen [26].

ANMERKUNG 2 Dieses Dokument ist nicht auf aquatische Nematoden anwendbar, da diese nicht durch das Filter hindurchgehen. Für Sedimentproben sind spezielle Zentrifugierungsverfahren verfügbar.

ANMERKUNG 3 Die Bestimmung mit einem Lichtmikroskop beruht auf morphologischen Merkmalen. In einigen Fällen, z. B. bei Jungtieren, ist es nicht möglich, die Versuchsobjekte auf Artebene oder auch Gattungsebene zu unterscheiden. Neue Verfahren wie DNA-Barcoding oder Metabarcoding [40] [54] bieten eine morphologieunabhängige Taxonomie, sodass auch Jungtiere bis zur Artebene oder Gattungsebene bestimmt werden können.

ANMERKUNG 4 Die Beprobung von Nematoden ist häufig Teil von umfassenderen Überwachungsprogrammen, die versuchen, die gesamte Bodenfauna oder Teile davon (z. B. die Mesofauna) zu erfassen. Beispiele für die Verwendung von wirbellosen Bodenlebewesen finden sich in Anhang D. Die Gestaltung solcher Programme ist nicht Gegenstand dieses Dokuments.

5 Reagenzien

5.1 Formalin [Formaldehyd-Lösung, 60 ml/l].

5.2 Paraffin, mit einem Schmelzpunkt von annähernd 60 °C.

¹ Oostenbrink-Elutriator ist die Herstellerbezeichnung des Produktes, z. B. geliefert von der Fa. MEKU Erich Pollähne GmbH (<https://www.meku-pollaehne.de/Nematologie/Oostenbrink-Elutriator/oostenbrink-elutriator.html>). Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch ISO. Gleichwertige Produkte dürfen verwendet werden, wenn sie nachweisbar zu identischen Ergebnissen führen.