

Bodenbeschaffenheit
Hemmung der Reproduktion von Collembolen
(*Folsomia candida*) durch Bodenschadstoffe
(ISO 11267:1999)

DIN
ISO 11267

ICS 13.080.30

Soil quality — Inhibition of reproduction of
Collembola (*Folsomia candida*) by soil pollutants
(ISO 11267:1999)

Qualité du sol — Inhibition de la reproduction de
Collembola (*Folsomia candida*) par des polluants du sol
(ISO 11267:1999)

Die Internationale Norm ISO 11267:1999-04-01 „Bodenbeschaffenheit — Hemmung der Reproduktion von Collembolen (*Folsomia candida*) durch Bodenschadstoffe“ wurde unverändert in diese Deutsche Norm übernommen.

Nationales Vorwort

Diese Internationale Norm wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190 „Bodenbeschaffenheit“ aufgestellt. Für Deutschland war der NAW I 2 „Boden- und Abfalluntersuchung“ an der Bearbeitung beteiligt.

Es ist erforderlich, bei den Arbeiten nach dieser Norm Fachleute oder Facheinrichtungen einzuschalten.

Für die im Abschnitt 2 und in den Anhängen C und D und im Literaturverzeichnis zitierten Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen:

ISO 10390 siehe DIN ISO 10390
ISO 10694 siehe DIN ISO 10694
ISO 11260 siehe DIN ISO 11260
ISO 11268-1 siehe DIN ISO 11268-1
ISO 11272 siehe DIN ISO 11272
ISO 11274 siehe DIN ISO 11274
ISO 11277 siehe DIN ISO 11277
ISO 11465 siehe DIN ISO 11465
ISO 14240-1 siehe DIN ISO 14240-1

Fortsetzung Seite 2 bis 17

Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e. V.

Nationaler Anhang NA
(informativ)
Literaturhinweise

DIN ISO 10390, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung des pH-Wertes.*

DIN ISO 10694, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung von organischem Kohlenstoff und Gesamtkohlenstoff nach trockener Verbrennung (Elementaranalyse).*

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

DIN ISO 11268-1, *Bodenbeschaffenheit — Wirkung von Schadstoffen auf Regenwürmer (Eisenia Fetida) — Teil 1: Verfahren zur Bestimmung der akuten Toxizität unter Verwendung von künstlichem Bodensubstrat.*

DIN ISO 11272, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Trockenrohdichte.*

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

DIN ISO 11277, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung für Partikelgrößenverteilung in Mineralböden — Verfahren durch Sieben und Sedimentation nach Entfernen der löslichen Salze, der organischen Substanz und der Carbonate.*

DIN ISO 11465, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung des Trockenrückstandes und des Wassergehalts auf Grundlage der Masse — Gravimetrisches Verfahren.*

DIN ISO 14240-1, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der mikrobiellen Biomasse von Boden — Teil 1: Respirationsverfahren.*

Deutsche Übersetzung

Bodenbeschaffenheit

Hemmung der Reproduktion von Collembolen (*Folsomia candida*) durch Bodenschadstoffe

Inhalt

	Seite		Seite
Vorwort	4	A.1.1 Zuchtsubstrat	11
Einleitung	4	A.1.2 Zuchtgefäße	11
1 Anwendungsbereich	4	A.1.3 Klimabedingungen	11
2 Normative Verweisungen	4	A.1.4 Futter	11
3 Begriffe	5	A.1.5 Umsetzen	11
4 Grundlage des Verfahrens	5	A.1.6 Gewinnung gleichaltriger Prüforganismen	11
5 Materialien	5	A.2 Umsetzen der Collembolen in die Prüfgefäße	12
5.1 Biologisches Material	5	Anhang B (informativ)	
5.2 Prüfsubstrat	6	Verfahren zum Auszählen juveniler Springschwänze	13
5.2.1 Bodensubstrat	6	Anhang C (informativ)	
5.2.2 Kontrollsubstrat	6	Bestimmung der Wasserhaltekapazität des künstlichen Bodens	14
5.2.3 Referenzsubstanz	6	C.1 Allgemeines	14
6 Geräte	6	C.2 Materialien	14
7 Durchführung	7	C.3 Verfahren	14
7.1 Prüfungsansatz	7	C.4 Berechnung der Wasserhaltekapazität (WHC)	14
7.1.1 Prüfkonzentrationen	7	Anhang D (informativ)	
7.1.2 Einbringen der Prüfsubstanz	7	Anleitung zur Einstellung des pH-Werts des künstlichen Bodens	15
7.1.3 Einsetzen der Prüforganismen	8	Anhang E (informativ)	
7.1.4 Kontrollgefäße	8	Bestimmung der Wirkungen von kontaminierten Böden auf die Reproduktionsleistung von Collembolen	16
7.2 Vorprüfung (optional)	8	E.1 Einleitung	16
7.3 Hauptprüfung	8	E.2 Grundlage des Verfahrens	16
7.4 Bestimmung der überlebenden Springschwänze	9	E.3 Geräte	16
8 Berechnung und Darstellung der Ergebnisse	9	E.4 Durchführung	16
8.1 Berechnung	9	E.4.1 Herstellung der Prüfböden	16
8.1.1 Allgemeines	9	E.4.2 Durchführung der Prüfung	16
8.1.2 NOEC-Wert-Ableitung	9	E.5 Angabe der Ergebnisse	16
8.1.3 EC _x -Wert-Ableitung	9	Literaturhinweise	17
8.2 Darstellung der Ergebnisse	9		
9 Gültigkeit der Prüfung	10		
10 Prüfbericht	10		
Anhang A (informativ)			
Haltung und Vermehrungsverfahren für Collembolen	11		
A.1 Haltungs- und Vermehrungsbedingungen	11		

Vorwort

Die ISO (Internationale Organisation für Normung) ist die weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitglieds Körperschaften). Die Erarbeitung Internationaler Normen obliegt den Technischen Komitees der ISO. Jede Mitglieds Körperschaft, die sich für ein Thema interessiert, für das ein Technisches Komitee eingesetzt wurde, ist berechtigt, in diesem Komitee mitzuarbeiten. Internationale (staatliche und nichtstaatliche) Organisationen, die mit der ISO in Verbindung stehen, sind an den Arbeiten ebenfalls beteiligt. Die ISO arbeitet bei allen Angelegenheiten der elektrotechnischen Normung eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Internationale Normen werden in Übereinstimmung mit den in den ISO/IEC-Richtlinien, Teil 3, angegebenen Festlegungen erstellt.

Die von den Technischen Komitees verabschiedeten internationalen Norm-Entwürfe werden den Mitglieds Körperschaften zur Abstimmung vorgelegt. Die Veröffentlichung als Internationale Norm erfordert Zustimmung von mindestens 75 % der abstimmenden Mitglieds Körperschaften.

Die Internationale Norm ISO 11267 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190, Bodenbeschaffenheit, Unterausschuss SC 4, „Biologische Verfahren“ erarbeitet.

Die Anhänge A bis E dieser Norm sind nur zur Information.

Einleitung

Diese Internationale Norm beschreibt ein Verfahren zur Prüfung der Wirkung von Chemikalien auf die Reproduktionsleistung von Collembolen in einem künstlichen Boden. Nach entsprechender Anpassung eignet es sich jedoch auch für vergleichende Untersuchungen an Böden, z. B. um die Wirkung von Bodensanierungsmaßnahmen zu bewerten oder um subletale Effekte einschätzen und No-Effect-Levels für Pflanzenschutzmittel und andere applizierte Chemikalien bestimmen zu können.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm legt ein Verfahren zur Bestimmung der Wirkung einer über die Haut oder die Nahrung aufgenommenen Substanz auf die Reproduktionsleistung von *Folsomia candida* unter Verwendung eines künstlichen, mit einer definierten Menge Substanz behandelten Bodensubstrats fest.

Das Verfahren ist nicht anwendbar für flüchtige Substanzen, deren Henry-Konstante (H) oder Luft-Wasser-Verteilungskoeffizient größer als 1 oder deren Dampfdruck bei 25 °C größer als 0,013 3 Pa ist.

ANMERKUNG 1 Es kann nicht sichergestellt werden, dass die Prüfsubstanz während der gesamten Versuchsdauer stabil bleibt. Das beschriebene Prüfverfahren zieht jedoch einen Abbau der Prüfsubstanz nicht in Betracht.

ANMERKUNG 2 Hinweise, wie das Verfahren für vergleichende Untersuchungen oder ein Monitoring der Bodenbeschaffenheit anzupassen ist, enthält Anhang E.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden normativen Dokumente enthalten Festlegungen, die durch Verweisung in diesem Text Bestandteil dieser Internationalen Norm sind. Bei datierten Verweisungen gelten spätere Änderungen oder Überarbeitungen dieser Publikationen nicht. Anwender dieser Internationalen Norm werden jedoch gebeten, die Möglichkeit zu prüfen, die jeweils neuesten Ausgaben der nachfolgend angegebenen normativen Dokumente anzuwenden. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen normativen Dokuments. Mitglieder von ISO und IEC führen Verzeichnisse der gültigen Internationalen Normen.

ISO 10390:1994, *Soil quality — Determination of pH*.

ISO 11268-1:1993, *Soil quality — Effects of pollutants on earthworms (Eisenia fetida) — Part 1: Determination of acute toxicity using artificial soil substrate*.

ISO 11274, *Soil quality — Determination of the water retention characteristics — Laboratory method*.

ISO 11465:1993, *Soil quality — Determination of dry matter and water content on a mass basis — Gravimetric methods*.

3 Begriffe

Für die Anwendung dieser Norm gelten die folgenden Begriffe.

3.1

lowest observed effect concentration

LOEC

niedrigste in der Prüfung verwendete Konzentration der Prüfsubstanz, bei der sich im Vergleich zur Kontrolle eine signifikante Wirkung zeigt

ANMERKUNG Die schädigende Wirkung aller Prüfkonzentrationen oberhalb des LOEC-Wertes muss gleich oder größer als bei diesem sein.

3.2

no observed effect concentration

NOEC

höchste Prüfkonzentration einer Prüfsubstanz, bei der keine letale oder andere Wirkung (z. B. eine Verringerung der Nachkommenzahl) beobachtet werden

3.3

EC10

Konzentration, bei der zu Prüfungsende die Vermehrungsrate im Vergleich zur Kontrolle um 10 % herabgesetzt ist

ANMERKUNG Alle Wirkungsschwellen werden als Menge Prüfsubstanz bezogen auf die Trockenmasse des Prüfsubstrats ausgedrückt (5.2.4).

3.4

EC50

Konzentration, bei der zu Prüfungsende die Vermehrungsrate im Vergleich zur Kontrolle um 50 % herabgesetzt ist

ANMERKUNG Alle Wirkungsschwellen werden als Menge Prüfsubstanz bezogen auf die Trockenmasse des Prüfsubstrats ausgedrückt (5.2.4).

3.5

Reproduktion

Anstieg der durchschnittlichen Anzahl der Nachkommen je Prüfgefäß nach einer Inkubationszeit von 28 Tagen unter den spezifischen Prüfbedingungen

4 Grundlage des Verfahrens

Die Wirkung unterschiedlicher Konzentrationen einer Prüfsubstanz auf 10 bis 12 Tage alte Springschwänze (*Folsomia candida*) in einem definierten künstlichen Substrat wird bestimmt. Die Springschwänze werden so lange inkubiert, bis nach Erreichen der Geschlechtsreife der adulten Tiere die Eiablage erfolgt ist und die geschlüpften Larven gezählt sind. In den Kontrollen schlüpfen die Larven üblicherweise nach 28 Tagen.

5 Materialien

5.1 Biologisches Material

Die Prüfung wird mit juvenilen, 10 bis 12 Tage alten Springschwänzen der Art *Folsomia candida* (Willem) durchgeführt (zur Synchronisation der Zucht siehe Anhang A.1).

5.2 Prüfsubstrat

Das Prüfsubstrat besteht aus dem angefeuchteten Ausgangssubstrat (künstlicher Boden nach ISO 11268-1), der Prüfsubstanz und deionisiertem Wasser.

5.2.1 Bodensubstrat

bezogen auf den Massenanteil der Trockenmasse

Sphagnum-Torf, luftgetrocknet und fein gemahlen, ohne sichtbare Pflanzenreste	10 %
Kaolinit-Ton (luftgetrocknet) mit einem Kaolinitanteil nicht unter 30 %	20 %
Industrieller Quarzsand (luftgetrocknet und vorwiegend Feinsand mit über 50 % Partikeln der Korngrößen 0,05 mm bis 0,2 mm)	70 %

Bei Prüfbeginn ist zur Einstellung des pH-Werts auf $6,0 \pm 0,5$ (gemessen in 1 mol/KCl-Lösung) ausreichend (0,5 % bis 1 %) pulverförmiges, chemisch reines Calciumcarbonat (CaCO_3) zuzufügen. Die pH-Wert-Bestimmung erfolgt nach ISO 10390.

ANMERKUNG 1 Die benötigte Calciumcarbonat-Menge hängt von den einzelnen Komponenten des Bodensubstrats ab und ist unmittelbar vor Prüfbeginn durch Messungen an den Teilproben zu ermitteln (siehe Anhang D).

Die trockenen Bestandteile werden sorgfältig mittels eines großen Labormischers oder in einem Haushaltsmischer im korrekten Mischungsverhältnis vermengt. Zur Herstellung des Ausgangssubstrats wird während des Mischens ein Teil der benötigten Menge deionisierten Wassers zugegeben. Der Gesamtwassergehalt des Prüf- und Kontrollsubstrats muss so eingestellt werden, dass das Substrat eine krümelige Struktur erhält, die es den Collembolen ermöglicht, in Substrathohlräume einzudringen. Üblicherweise lässt sich diese Struktur mit einem Wassergehalt erreichen, der 40 % bis 60 % der maximalen Wasserhaltekapazität entspricht. Diese wird nach ISO 11274 oder nach dem in Anhang C.1 beschriebenen Verfahren bestimmt. In einem zusätzlichen Gefäß für die Kontrolle und jede Prüfkonzentration werden unmittelbar vor Prüfbeginn sowie bei Prüfende Wassergehalt und pH-Wert einer fertig gemischten Probe bestimmt.

ANMERKUNG 2 Alle Wasser- und Quarzsandmengen, die später zur Einbringung der Prüfsubstanz in den Boden benötigt werden, sollten berücksichtigt werden.

5.2.2 Kontrollsubstrat

Das Kontrollsubstrat enthält das Ausgangssubstrat und deionisiertes Wasser. Sofern sich bei der Vorbereitung der Prüfung ergibt, dass ein Trägerstoff erforderlich ist, wird eine zusätzliche Kontrolle benötigt.

5.2.3 Referenzsubstanz

Zur Qualitätssicherung des Prüfsystems sollten regelmäßig (z. B. ein- bis zweimal jährlich) Prüfungen mit einer Referenzsubstanz durchgeführt werden.

Warnhinweis Zur Vermeidung einer Gefährdung durch Ingestion oder Hautkontakt bei den Arbeiten mit diesen Chemikalien sollten geeignete Sicherheitsvorkehrungen getroffen werden.

Als Referenzsubstanzen werden die in einem Ringversuch geprüften Pflanzenschutzmittel Betanal plus (Wirkstoffgehalt 160 g/l Phenmedipham) und E 605 forte (Wirkstoffgehalt 507,5 g/l Parathion) empfohlen.

ANMERKUNG Betanal plus: Signifikante Wirkungen auf die Reproduktionsleistung ($\alpha = 0,05$) wurden bei Konzentrationen zwischen 100 mg und 200 mg des Präparats je kg Substrattrockenmasse beobachtet. E 605 forte: Wirkungen auf Mortalität und Reproduktionsleistung wurden bei Konzentrationen zwischen 0,18 mg und 0,32 mg des Präparats bzw. zwischen 0,1 mg und 0,18 mg des Präparats je kg Substrattrockenmasse beobachtet.

6 Geräte

Übliche Laboratoriumsausstattung sowie:

6.1 Glasgefäße (dicht verschließbar) mit einem Volumen von etwa 100 ml und etwa 5 cm Durchmesser.

6.2 Geräte zur pH-Wert- und Wassergehaltsbestimmung des Substrats.

6.3 Absaugvorrichtung zum Umsetzen der Collembolen (siehe Anhang A.2).