

	Bodenbeschaffenheit Wirkung von Schadstoffen auf Regenwürmer (<i>Eisenia fetida</i>) Teil 2: Bestimmung der Wirkung auf die Reproduktionsleistung (ISO 11268-2 : 1998)	DIN ISO 11268-2
--	--	----------------------------------

ICS 13.080.30

Soil quality —
 Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*) —
 Part 2: Determination of effects on reproduction
 (ISO 11268-2 : 1998)

Qualité du sol —
 Effets des polluants vis-à-vis des vers de terre (*Eisenia fetida*) —
 Partie 2: Détermination des effets sur la reproduction
 (ISO 11268-2 : 1998)

Die Internationale Norm ISO 11268-2 : 1998-07-01 „Soil quality — Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*) — Part 2: Determination of effects on reproduction“ ist unverändert in diese Deutsche Norm übernommen worden.

Vorwort

Diese Norm wurde vom ISO/TC 190 „Bodenbeschaffenheit“ erarbeitet. Für Deutschland war der Normenausschuß Wasserwesen (NAW), Arbeitsausschuß I B 4 „Boden — Biologische Verfahren“, an der Bearbeitung beteiligt.

Es ist erforderlich, bei der Anwendung dieser Norm Fachleute oder Facheinrichtungen einzuschalten.

Für die in Abschnitt 2 und in Anhang E 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 E DIN ISO 11272
 ISO 11274 siehe E DIN ISO 11274
 ISO 11277 siehe E DIN ISO 11277
 ISO 11465 siehe DIN ISO 11465
 ISO 14240 siehe DIN ISO 14240-1 und DIN ISO 14240-2

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN ISO 10390
 Bodenbeschaffenheit — Bestimmung des pH-Wertes (ISO 10390 : 1994)

DIN ISO 10694
 Bodenbeschaffenheit — Bestimmung von organischem Kohlenstoff und Gesamtkohlenstoff nach trockener Verbrennung (Elementaranalyse) (ISO 10694 : 1995)

DIN ISO 11260
 Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der effektiven Kationenaustauschkapazität und der Basensättigung unter Verwendung von Bariumchloridlösung (ISO 11260 : 1994 und ISO 11260 Internationale Änderung 1 : 1996)

DIN ISO 11268-1
 Bodenbeschaffenheit — Wirkungen von Schadstoffen auf Regenwürmer (*Eisenia fetida*) — Teil 1: Verfahren zur Bestimmung der akuten Toxizität unter Verwendung von künstlichem Bodensubstrat (ISO/DIS 11268-1 : 1993)

E DIN ISO 11272
 Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Trockenrohdichte (ISO/DIS 11272 : 1992)

Fortsetzung Seite 2 bis 11

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

E DIN ISO 11274

Bodenbeschaffenheit — Bestimmung des Wasserrückhaltevermögens — Laborverfahren (ISO/E DIS 11274 : 1992)

E DIN ISO 11277

Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Partikelgrößenverteilung in Mineralböden — Verfahren durch Sieben und Sedimentation nach Entfernen der löslichen Salze, der organischen Substanz und der Carbonate (ISO/DIS 11277 : 1994)

DIN ISO 11465

Bodenbeschaffenheit — Bestimmung des Trockenrückstandes und des Wassergehalts auf der Grundlage der Masse — Gravimetrisches Verfahren (ISO 11465 : 1993)

DIN ISO 14240-1

Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der mikrobiellen Biomasse von Böden — Teil 1: Substrat-induziertes Respirationsverfahren (ISO 14240-1 : 1997)

DIN ISO 14240-2

Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der mikrobiellen Biomasse von Böden — Teil 2: Fumigations-Extraktionsverfahren (ISO 14240-2 : 1997)

Deutsche Übersetzung

Bodenbeschaffenheit

Wirkung von Schadstoffen auf Regenwürmer (*Eisenia fetida*)

Teil 2: Bestimmung der Wirkung auf die Reproduktionsleistung

Inhalt

	Seite		Seite
Einleitung	3	Anhang B (informativ) Auszähltechniken für die aus den Kokons geschlüpften juvenilen Würmer	7
1 Anwendungsbereich	3	Anhang C (informativ) Bestimmung der Wasserhaltekapazität des künstlichen Bodens ...	7
2 Normative Verweisungen	3	Anhang D (informativ) Laborversuch zu subletalen Wirkungen von Pflanzenschutzmitteln auf <i>Eisenia fetida fetida</i> oder <i>Eisenia fetida andrei</i>	8
3 Definitionen	4	Anhang E (informativ) Bestimmung der Wirkung auf die Reproduktionsleistung von Regenwürmern in verunreinigten Böden .	9
4 Grundlage des Verfahrens	4	Anhang F (informativ) Leistungsfähigkeit des Verfahrens	9
5 Prüfmaterialeien	4	Anhang G (informativ) Literaturhinweise	11
6 Geräte	5		
7 Durchführung	5		
8 Berechnung und Darstellung der Ergebnisse	6		
9 Gültigkeit des Verfahrens	6		
10 Prüfbericht	6		
Anhang A (informativ) Beispiel eines Anzuchtverfahrens für <i>Eisenia fetida fetida</i> und <i>Eisenia fetida andrei</i>	7		

Einleitung

Dieser Teil von ISO 11268 beschreibt ein Verfahren für die Prüfung der Wirkung einer in einen künstlichen Boden eingebrachten Chemikalie. 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 Schwellenwerte (NEL) für Pestizide oder andere ausgebrachte Chemikalien bestimmen zu können.

Dieser Teil von ISO 11268 wurde unter Berücksichtigung der von der Organisation für wirtschaftliche Entwicklung und Zusammenarbeit und der Europäischen Union (siehe Verweise in Anhang G) empfohlenen Prüfverfahren erstellt.

1 Anwendungsbereich

Dieser Teil von ISO 11268 beschreibt ein Verfahren zur Bestimmung der Wirkung einer über die Haut oder die Nahrung aufgenommenen Substanz auf Reproduktionsleistung, Sterblichkeit und Wachstum von *Eisenia fetida* unter Verwendung eines künstlichen, mit einer definierten Menge Substanz behandelten Bodensubstrats.

Das Verfahren eignet sich nicht für flüchtige Substanzen, deren Henry-Konstante (H) oder Luft-Wasser Verteilungskoeffizient größer als 1 oder deren Dampfdruck bei 25 °C größer als 0,0133 Pa ist.

ANMERKUNG 1: Das Prüfverfahren enthält keine Vorschriften zur Überprüfung der Persistenz der Prüfschubstanz.

ANMERKUNG 2: Hinweise, wie das Verfahren für vergleichende Untersuchungen oder eine Überwachung der Bodenbeschaffenheit sowie für die landwirtschaftliche Praxis — z. B. zur Bestimmung der Wirkung von Pflanzenschutzmitteln — anzupassen ist, sind in Anhang D und E enthalten.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Normen enthalten Festlegungen, die durch die Verweisungen in diesem Text auch für diese Internationale Norm gelten. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung waren die angegebenen Ausgaben gültig. Alle Normen unterliegen der Überarbeitung. Vertragspartner, deren Vereinbarungen auf dieser Internationalen Norm basieren, sind gehalten, nach Möglichkeit die neuesten Ausgaben der nachfolgend aufgeführten Normen anzuwenden. IEC- und ISO-Mitglieder verfügen über Verzeichnisse der gegenwärtig 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 11274¹⁾

Soil quality — Determination of the water retention characteristics — Laboratory method

¹⁾ In Vorbereitung

ISO 11465 : 1993

Soil quality — Determination of dry matter and water content on a mass basis — Gravimetric methods

3 Definitionen

Für die Zwecke dieses Teils von ISO 11268 gelten die folgenden Definitionen.

3.1 Wachstum: Zunahme der Biomasse, (d. h. Frischgewicht der Organismen) in Prozent des Frischgewichts der Organismen bei Versuchsbeginn.

3.2 Reproduktionsleistung: Unter festgelegten Versuchsbedingungen die durchschnittliche Anzahl der Nachkommen je Testgefäß nach 8 Wochen.

3.3 Reproduktionsrate: Durchschnittliche Anzahl der aus den abgelegten Kokons geschlüpften und bis zum Ende der Versuchsdauer überlebenden Nachkommen für jeden adulten, nach 4 Wochen noch lebenden Regenwurm.

3.4 LOEC (Lowest Observed Effect Concentration): Die niedrigste in der Prüfung verwendete Konzentration der Prüfsubstanz, bei der sich im Vergleich zur Kontrolle eine signifikante Wirkung zeigt, ausgedrückt als Masse der Prüfsubstanz bezogen auf die Trockenmasse des Prüfsubstrats.

3.5 NOEC (No Observed Effect Concentration): Die höchste in der Prüfung verwendete Konzentration der Prüfsubstanz bei der weder letale noch andere Wirkungen (z. B. Gewichtsänderungen) beobachtet werden, ausgedrückt als Masse der Prüfsubstanz bezogen auf die Trockenmasse des Prüfsubstrats.

3.6 EC 50: Die Konzentration, bei der zu Versuchsende die Reproduktionsrate im Vergleich zur Kontrolle um 50 % herabgesetzt ist, ausgedrückt als Masse der Prüfsubstanz je Trockenmasse des Prüfsubstrats.

4 Grundlage des Verfahrens

Die Wirkung auf die Reproduktionsleistung, das Wachstum und die prozentuale Sterblichkeit adulter Regenwürmer (spezies *Eisenia fetida fetida* oder *Eisenia fetida andrei*), die in ein künstliches Bodensubstrat mit verschiedenen Konzentrationen der Prüfsubstanz gesetzt werden, wird bestimmt. Die Applikation der Prüfsubstanz erfolgt durch einmalige Zugabe. Nach vier Wochen werden Sterblichkeit und Wirkung auf die Biomasseentwicklung bestimmt. Nach weiteren vier Wochen erfolgt die Bestimmung der Wirkung auf die Reproduktionsleistung durch Auszählen der aus den Kokons geschlüpften Nachkommen.

Alle Prüfkonzentrationen oberhalb des LOEC-Werts müssen eine schädigende Wirkung aufweisen, die gleich oder größer der beim LOEC-Wert beobachteten Wirkung ist.

Besteht keine Vorkenntnis über den voraussichtlich wirksamen Konzentrationsbereich der Prüfsubstanz, so ist es zweckmäßig, den Versuch in zwei Schritten durchzuführen:

- Ein Vorversuch zur akuten Toxizität, wie in ISO 11268-1 beschrieben, der anzeigen soll, bei

welchen Konzentrationen alle Tiere sterben bzw. überleben. Er dient zur Eingrenzung der im Hauptversuch zu prüfenden Konzentrationen;

- Der eigentliche Reproduktionstest zur Bestimmung derjenigen Konzentration einer Chemikalie, die nach gleichmäßiger Einmischung in den künstlichen Boden auf die Anzahl der aus den Kokons geschlüpften Nachkommen im Vergleich zur Kontrolle keine signifikanten Wirkungen zeigt (NOEC) sowie der niedrigsten wirksamen Konzentration (LOEC).

5 Prüfmateriale

5.1 Biologisches Material

Adulte Regenwürmer einer der beiden Arten *Eisenia fetida fetida* oder *Eisenia fetida andrei* (siehe Verweisung in Anhang F), die mindestens zwei Monate, jedoch nicht über ein Jahr alt sind und über ein ausgebildetes Clitellum verfügen. Das Frischgewicht der einzelnen Regenwürmer muß zwischen 300 mg und 600 mg liegen.

Die Synchronisation der Zucht wird erreicht, indem adulte Würmer in Zuchtgefäße (siehe Anhang A) gesetzt und nach spätestens vier Wochen wieder entnommen werden. Der Nachwuchs aus den verbleibenden Kokons erreicht nach frühestens zwei Monaten das Adultenstadium.

Zur Eingewöhnung sind die ausgewählten Würmer vor ihrer Verwendung 1 bis 7 Tage in einen künstlichen Boden zu setzen. Das Futter, welches auch in der Prüfung gegeben wird (siehe 5.3), ist in ausreichender Menge zuzusetzen (siehe 5.2.1).

5.2 Prüfsubstrat

5.2.1 Bodensubstrat

Das Substrat, das für die Herstellung des künstlichen Bodens (5.2.2) verwendet wird, muß die folgende Zusammensetzung haben:

Bestandteil des künstlichen Bodens	in % der Trockenmasse
Sphagnum-Torf, luftgetrocknet und fein gemahlen, ohne sichtbare Pflanzenreste	10 %
Kaolin, luftgetrocknet mit einem Kaolinitgehalt nicht unter 30 %	20 %
Industrieller Quarzsand, luftgetrocknet (vorwiegend Feinsand mit über 50 % Partikeln der Korngrößen 0,05 mm bis 0,2 mm), in Abhängigkeit von der benötigten CaCO ₃ -Menge	70 %

Vor der Prüfung ist das Prüfsubstrat mit dem Futter zu vermischen. Bei Verwendung von getrocknetem Rinderdung (siehe 5.3) sollten 5 g je 500 g Bodentrockenmasse verwendet werden.

Bei Prüfungsbeginn ist zur Einstellung des pH-Werts auf $6,0 \pm 0,5$ ausreichend (etwa 0,5 %) pulverförmiges, zur Analyse geeignetes Calciumcarbonat (CaCO₃) zuzufügen.