

DIN EN ISO 23611-1



ICS 13.080.30

Entwurf

Einsprüche bis 2017-01-25
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN ISO 23611-1:2011-09

**Bodenbeschaffenheit –
Probenahme von Wirbellosen im Boden –
Teil 1: Handauslese und Extraktion von Regenwürmern
(ISO/DIS 23611-1:2016);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 23611-1:2016**

Soil quality –
Sampling of soil invertebrates –
Part 1: Hand-sorting and extraction of earthworms (ISO/DIS 23611-1:2016);
German and English version prEN ISO 23611-1:2016

Qualité du sol –
Prélèvement des invertébrés du sol –
Partie 1: Tri manuel et extraction des vers de terre (ISO/DIS 23611-1:2016);
Version allemande et anglaise prEN ISO 23611-1:2016

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2016-11-25 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an naw@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW), 10772 Berlin, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 42 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 23611-1:2016) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190 „Soil quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 444 „Umweltbezogene Charakterisierung“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom NEN (Niederlande) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Gremium 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).

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

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung der prEN ISO 23611-1 beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Für die in diesem Dokument zitierten Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen:

ISO 10381-1	siehe	DIN ISO 10381-1
ISO 10381-6	siehe	DIN ISO 10381-6
ISO 11260	siehe	DIN EN ISO 11260
ISO 11268-3	siehe	DIN EN ISO 11268-3
ISO 11277	siehe	DIN ISO 11277

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 23611-1:2011-09 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) die Extraktion mit Formalin wurde durch die Extraktion mit AITC ersetzt und entsprechende Textteile in der Norm angepasst;
- b) die Norm wurde redaktionell überarbeitet.

Nationaler Anhang NA
(informativ)

Literaturhinweise

DIN ISO 10381-1, *Bodenbeschaffenheit — Probenahme — Teil 1: Anleitung zur Aufstellung von Probenahme-programmen*

DIN ISO 10381-6, *Bodenbeschaffenheit — Probenahme — Teil 6: Anleitung zur Entnahme, Behandlung und Lagerung von Boden unter aeroben Bedingungen für die Beurteilung mikrobiologischer Prozesse sowie der Biomasse und der Diversität unter Laboratoriumsbedingungen*

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

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

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

— Leerseite —

**Bodenbeschaffenheit — Probenahme von Wirbellosen im Boden — Teil 1:
Handauslese und Extraktion von Regenwürmern (ISO/DIS 23611-1:2016)**

*Qualité du sol — Prélèvement des invertébrés du sol — Partie 1: Tri manuel et extraction des vers de terre
(ISO/DIS 23611-1:2016)*

Soil quality — Sampling of soil invertebrates — Part 1: Hand-sorting and extraction of earthworms (ISO/DIS 23611-1:2016)

ICS:

Deskriptoren:

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokumentstufe: parallele Umfrage
Dokumentsprache: D

STD Version 2.8f

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Kurzbeschreibung	8
5 Reagenzien	8
6 Geräte	8
7 Durchführung	9
7.1 Probenahme der Regenwürmer	9
7.1.1 Allgemeines	9
7.1.2 Handauslese	10
7.1.3 AITC-Extraktion	11
7.2 Konservierung	12
7.3 Bestimmung der Biomasse	12
8 Auswertung der Ergebnisse	12
9 Prüfbericht	13
Anhang A (informativ) Sonstige Probenahmeverfahren	14
A.1 Elektrisches Extraktionsverfahren	14
A.2 Extraktion mit Senf	14
Anhang B (informativ) Bestimmung von Regenwurmarten	15
Anhang C (informativ) Das modifizierte TSBF-Verfahren	16
Anhang D (informativ) Bestimmung der maximalen Wasserhaltekapazität	17
D.1 Allgemeines	17
D.2 Geräte	17
D.3 Durchführung	17
D.4 Berechnung der Wasserhaltekapazität	17
Literaturhinweise	18

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 23611-1:2016) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190 „Soil quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 444 „Umweltbezogene Charakterisierung“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom NEN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN ISO 23611-1:2011 ersetzen.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 23611-1:2016 wurde vom CEN als prEN ISO 23611-1:2016 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung von Nationalen Normungsorganisationen (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird normalerweise von ISO Technischen Komitees 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 Organisationen, staatlich und nicht-staatlich, in Liaison mit ISO, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) bei allen elektrotechnischen Themen 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. Im Besonderen sollten die für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten notwendigen Annahmekriterien 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 empfangenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname wird als Information zum Nutzen der Anwender angegeben und stellt keine Anerkennung dar.

Eine Erläuterung der Bedeutung ISO-spezifischer Benennungen und Ausdrücke, die sich auf Konformitätsbewertung beziehen, sowie Informationen über die Beachtung der Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO) zu technischen Handelshemmnissen (TBT, en: Technical Barriers to Trade) durch ISO enthält der folgende Link: www.iso.org/iso/foreword.html.

Das für dieses Dokument verantwortliche Komitee ist ISO/TC 190, *Soil quality*, Subcommittee SC 4, *Biological methods*.

Diese zweite ersetzt die erste Ausgabe (ISO 23611-1:2006), die technisch überarbeitet wurde.

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

- *Part 1: Hand-sorting and extraction of earthworms*
- *Part 2: Sampling and extraction of micro-arthropods (Collembola and Acarina)*
- *Part 3: Sampling and soil 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*

Einleitung

Dieser Teil von ISO 23611 wurde erarbeitet, um dem wachsenden Bedarf nach Normung bodenzoologischer Freilandverfahren gerecht zu werden. Derartige Verfahren, die in erster Linie bei der Probenahme, Extraktion und Behandlung von Wirbellosen im Boden Anwendung finden, sind für die folgenden Zwecke notwendig:

- biologische Klassifizierung von Böden einschließlich der Beurteilung der Bodenqualität [25], [31], [39];
- terrestrische Bioindikation und Langzeitbeobachtung [11], [14], [33];
- Beurteilung der Wirkungen von Chemikalien auf Bodentiere (ISO 11268-3).

Die für diese Zwecke benötigten Daten müssen unter Anwendung genormter Verfahren gewonnen werden, da sie die Grundlage für weit reichende Entscheidungen sein können (z. B. ob ein bestimmter Standort renaturiert werden sollte oder nicht). Tatsächlich ist der Mangel an derartigen genormten Verfahren einer der wichtigsten Gründe dafür, dass Einstufungen und Bewertungen terrestrischer Habitats (d. h. von Bodenhabitats) aufgrund biologischer Verfahren im Vergleich zu aquatischen Standorten bisher relativ selten durchgeführt wurden.

Da es weder möglich noch nützlich ist, Verfahren für alle Bodenorganismen zu normen, wurden die wichtigsten ausgewählt. Dieser Teil von ISO 23611 beschreibt die Probenahme von Regenwürmern.

Ursprünglich wurden die in dieser Internationalen Norm beschriebenen Verfahren für taxonomische und ökologische Untersuchungen zur Rolle von Regenwürmern in verschiedenen Bodenökosystemen entwickelt. Diese Tiere sind in Regionen mit gemäßigttem Klima zweifellos die wichtigsten Wirbellosen im Boden; in geringerem Maß gilt dies auch für Böden in Regionen mit tropischem Klima [30], [16], [18]. Seit Darwin (1881) [siehe 8] ist ihr Einfluss auf die Bodenstruktur (z. B. Durchlüftung, Wasserrückhaltevermögen) und Bodenfunktionen, wie Streuzersetzung und Nährstoffkreislauf, wohl bekannt [10]. Aufgrund ihrer oft sehr hohen Biomasse sind sie auch in vielen terrestrischen Nahrungsnetzen von wesentlicher Bedeutung.

In der vorigen Version dieser Internationalen Norm wurde Formalin als Extraktionsmittel empfohlen. In den letzten Jahren häuften sich jedoch die Anzeichen, dass Formalin vor allem in Bezug auf Humantoxizität über Eigenschaften verfügt, die Anlass zu Bedenken geben. Im Dezember 2012 hat der Ausschuss für Risikobeurteilung (RAC, en: Risk Assessment Committee) der Europäischen Chemikalienagentur (ECHA, en: European Chemicals Agency) erklärt, dass es hinreichend wissenschaftliche Beweise gäbe, diese Chemikalie als „vermutlich karzinogen für den Menschen“ (Kategorie Ib) einzustufen. Darüber hinaus wurden negative Auswirkungen auf Nichtzielorganismen (einschließlich Bodenmikroorganismen, Mesofauna und Pflanzen) in einem Bericht festgehalten (z. B. [7]). Daher wurde diese Substanz ersetzt.

Aufgrund der zunehmenden Vorbehalte gegen die Verwendung von Formalin wurden verschiedene Alternativen untersucht. Allylisothiocyanat (AITC) wurde auf seine Wirkung als chemisches Austreibungsmittel für die Probenahme von Regenwürmern geprüft [40]. In vielen Arten der *Cruciferae* ist AITC ein natürliches Abbauprodukt von Glucosinolaten, d. h. der Inhaltsstoff, der Senf den scharfen Geschmack verleiht. Der Europäischen Chemikalienagentur (ECHA) zufolge sind keine Regulierungsmaßnahmen im Rahmen der Risikobewertung für den Menschen bzw. die Umwelt vorgesehen, d. h. es bestehen keine Bedenken bezüglich der Verwendung.

Innerhalb der letzten Jahre sind einige Studien durchgeführt worden, in denen an den gleichen Standorten und zum gleichen Zeitpunkt der Extraktionswirkungsgrad von Formalin mit dem von AITC verglichen wurde. Nach [22] wurden bei der Verwendung von Formalin und AITC als Extraktionsmittel keine Unterschiede hinsichtlich der Anzahl bzw. Biomasse der an den Extraktionsstellen entnommenen Regenwürmer festgestellt. In einem kürzlich verfassten, nicht veröffentlichten Positionspapier [siehe 28] wurden beim Vergleich des Wirkungsgrads der zwei Extraktionsmittel keine maßgeblichen Unterschiede hinsichtlich der Anzahl/Biomasse von Regenwürmern erkannt. Mit Bezug auf die Wechselwirkungen an der Extraktionsstelle wurden ebenfalls keine Auswirkungen festgestellt. Dies deutet darauf hin, dass bezüglich des Wirkungsgrads der Extraktionsmittel keine standortspezifischen Unterschiede beobachtet wurden. Bei der Darstellung der Korrelation zwischen der Anzahl der mit AITC und der Anzahl der mit Formol extrahierten Würmer in einem Bland-Altman-Diagramm (in der Medizin ein übliches Mittel zum Vergleich eines Goldstandard-Verfahrens mit einem alternativen Verfahren) wurde keine wesentliche systematische Abweichung des AITC-Verfahrens gegenüber dem Formalin-Verfahren festgestellt, was auf die Ähnlichkeit/Austauschbarkeit der zwei Verfahren hindeutet.

1 Anwendungsbereich

Dieser Teil von ISO 23611 legt ein Verfahren zur Probenahme und Behandlung von Regenwürmern aus Freilandböden fest, mit dessen Hilfe die Voraussetzungen für die Verwendung dieser Tiere als Bioindikatoren (z. B. zur Beurteilung der Beschaffenheit eines Bodens als Lebensraum für Organismen) geschaffen werden.

Grundlegende Informationen zur Ökologie von Regenwürmern und ihrer Verwendung als Bioindikatoren in der terrestrischen Umwelt können den im Literaturverzeichnis aufgeführten Quellen entnommen werden.

Dieser Teil von ISO 23611 gilt für alle terrestrischen Biotope, in denen Regenwürmer leben. Der für Freilanduntersuchungen im Allgemeinen gültige Probenahmeplan ist bereits in ISO 10381-1 festgelegt, und eine Anleitung zur Bestimmung der Wirkungen von Schadstoffen auf Regenwürmer unter Freilandbedingungen wird in ISO 11268-3 gegeben. Diese Einzelheiten können den nationalen Anforderungen entsprechend oder in Abhängigkeit von den klimatischen/regionalen Bedingungen des zu beprobenden Standorts variieren (siehe auch Anhang C).

Dieser Teil von ISO 23611 gilt nicht für semiterrestrische Böden. Die Anwendung unter extremen klimatischen oder geographischen Bedingungen (z. B. im Hochgebirge) kann schwierig sein. Die Verfahren für einige andere Bodenorganismengruppen wie z. B. Collembolen werden in anderen Teilen von ISO 23611 behandelt.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. 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 10381-6, *Soil quality — Sampling — Part 6: Guidance on the collection, handling and storage of soil under aerobic conditions for the assessment of microbiological processes, biomass and diversity in the laboratory*

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 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*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Regenwürmer

megadrile bodenbewohnende Regenwürmer (Länge ausgewachsener Individuen: wenige Zentimeter bis über 1 m) der Ordnung *Oligochaeta* (Klasse der *Clitellata*, Stamm der *Anneliden*)

BEISPIEL Arten der Familien der *Lumbricidae* (holarktisch), *Glossoscolecidae* (Lateinamerika), *Eudrilidae* (Afrika) oder *Megascolecidae* [Asien, Nordamerika (Pazifikküste)].

3.2

eingebürgerte Arten

Regenwürmer, wie sie heute weltweit in vielen Regionen auftreten; üblicherweise vom Menschen eingeführt

Anmerkung 1 zum Begriff: Zu den bekannten Beispielen für eingebürgerte Arten gehören verschiedene *Lumbricidae* wie z. B. *Aporrectodea caliginosa* (die ursprünglich aus Eurasien stammt, inzwischen aber auch in Nord- und Südamerika und Australien beheimatet ist) oder die in den gesamten Tropen verbreitete Art *Pontoscolex corethrurus* (die wahrscheinlich aus Nordbrasilien und/oder Guyana bzw. Britisch-Guayana stammt).

Anmerkung 2 zum Begriff: Siehe [18].

3.3

Clitellum

kokonbildende Hautverdickung als Ring oder Sattel am Vorderteil vollentwickelter Würmer

4 Kurzbeschreibung

Regenwürmer werden an einem gegebenen Standort unter Anwendung einer Kombination von zwei verschiedenen Verfahren aus dem Boden entnommen:

- Handauslese von Tieren aus einem bestimmten Flächenbereich (z. B. 0,25 m²) oder Volumen (z. B. 50 cm × 50 cm × 20 cm);
- Extraktion von Wurmern aus dem Boden durch Aufbringen von AITC.

Das erstgenannte Verfahren ist seit ungefähr 100 Jahren bekannt, während die Verwendung der neuen Extraktionsflüssigkeit vor ungefähr 15 Jahren vorgeschlagen wurde [6], [40].

Nach der Extraktion werden die Regenwürmer fixiert und zum Labor transportiert. Dort werden sie so konserviert, dass sie unbegrenzt in einer Sammlung (z. B. für taxonomische Zwecke) aufbewahrt werden können. Zusätzlich ist die Bestimmung der Biomasse von Regenwürmern beschrieben. Abschließend können die Individuendichte- und Biomassewerte auf die Fläche (üblicherweise 1 m²) oder, seltener, auf das Volumen umgerechnet werden.

ANMERKUNG 1 Unter bestimmten Umständen können alternative Verfahren (wie z. B. elektrische Extraktion) nützlich sein, sie können jedoch für ein allgemein gültiges Verfahren nicht empfohlen werden (siehe Anhang A).

ANMERKUNG 2 Die Probenahme von Regenwürmern ist oftmals Bestandteil wesentlich umfangreicherer Beobachtungsprogramme, in deren Rahmen der Versuch unternommen wird, die gesamte Bodenfauna oder Teile davon (z. B. die Makrofauna) zu untersuchen. Die Planung derartiger Programme wird in diesem Teil von ISO 23611 nicht behandelt.

ANMERKUNG 3 Einige Hinweise für die Taxonomie eingebürgerter (weltweit in vielen Regionen vorkommender) Regenwurmart, die hauptsächlich zur Familie der *Lumbricidae* gehören, werden in Anhang B gegeben.

5 Reagenzien

5.1 Formalin [Formaldehyd-Lösung 4 % (Volumenanteil)].

5.2 Allyl-isothiocyanate (AITC) [synthetischer Grad (etwa 94 % bis 97 % (Volumenanteil))].

5.3 Ethanol, [70 % (Volumenanteil)].

6 Geräte

Es sind die übliche Laborausrüstung und Folgendes zu verwenden:

6.1 Kunststoffbehälter, Kapazität 250 ml und 500 ml, zur Aufbewahrung der Würmer.

6.2 Gummihandschuhe.

6.3 Pinzette.

6.4 Starke Kunststoffplane, 1 m² bis 2 m².

6.5 Spaten oder Schaufel.

6.6 Präpariermikroskop, mit niedriger Vergrößerung (10fach bis 40fach).

6.7 Waage, Wägebereich 0,01 g bis 200 g.

6.8 Wasserkanister, vorzugsweise für 20 l, mit Wasser (20 l je Probenahmestelle).

6.9 Gießkanne.

6.10 Stift, Notizbuch, wasserfester Marker, Etiketten für die Kunststoffbehälter.

6.11 Thermometer, z. B. zum Messen der Lufttemperatur.

6.12 Trockenschrank, für die Bestimmung des Wassergehalts im Boden.

7 Durchführung

7.1 Probenahme der Regenwürmer

7.1.1 Allgemeines

Die Probenahme von Regenwürmern erfolgt nach zwei verschiedenen, miteinander zu kombinierenden Verfahren: der Handauslese und der AITC-Extraktion. Unter Verweis auf mehrere Vergleichsuntersuchungen wird die Kombination von physikalischen und chemischen Verfahren in den verschiedenen Abhandlungen über die Ökologie der Regenwürmer (z. B. [9], [10], [18]) unabhängig von der Art des chemischen Repellents eindeutig empfohlen.

Die Probenahme sollte in solchen Jahreszeiten durchgeführt werden, in denen die Tiere nicht durch die Umweltbedingungen (d. h. niedrige Bodenfeuchte und/oder hohe Temperaturen) in die Diapause gezwungen werden (d. h. nicht auf AITC reagieren). In Regionen mit gemäßigttem Klima gehören zu diesen für die Probenahme ungünstigen Zeiten der Winter und besonders der Hochsommer [18]. Die an derselben Probenahmestelle, aber nach den beiden verschiedenen Verfahren entnommenen Regenwürmer sollten in getrennten Kunststoffbehältern aufbewahrt werden. Nach Beendigung der Probenahme wird die ausgehobene und durchsuchte Erde an der ursprünglichen Stelle wieder ausgebracht. In einigen Fällen ist es angebracht, nur eins der beiden Verfahren anzuwenden; so ist z. B. keine AITC-Extraktion notwendig, wenn am betreffenden Standort keine tief im Boden grabenden Tiere leben. Andererseits ist Handauslese an Standorten, an denen Riesenregenwürmer leben (Teile von Südamerika, Südostasien und Australien), nicht angebracht [26]. Ein sehr ähnliches Verfahren, bekannt als modifiziertes TSBF-Verfahren, ist besonders für tropische Regionen geeignet (siehe Anhang C).

ANMERKUNG Üblicherweise wird die Artenbestimmung der Regenwürmer nach der Konservierung durchgeführt. Sie kann aber auch an den noch lebenden Würmern vorgenommen werden, wenn das Artenspektrum an der betreffenden Probenahmestelle bekannt ist [35] (siehe auch Anhang B).

Falls die gesammelten Regenwürmer für weitere Analysen oder Prüfungen zu verwenden sind, z. B. für Biomarker-Messungen oder in Biotests, wird die Aufbewahrung und Inkubation in einem kleinen Teil der Bodenprobe empfohlen. Falls eine AITC-Extraktion erfolgt, müssen die Würmer vor der Inkubation im Boden mit Leitungswasser gespült werden.