DIN EN ISO 23611-3

DIN

ICS 13.080.30

Entwurf

Einsprüche bis 2018-04-16
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN ISO 23611-3:2011-09

Bodenbeschaffenheit – Probenahme von Wirbellosen im Boden – Teil 3: Probenahme und Extraktion von Enchytraeen (ISO/DIS 23611-3:2018); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 23611-3:2018

Soil quality –
Sampling of soil invertebrates –
Part 3: Sampling and extraction of enchytraeids (ISO/DIS 23611-3:2018);
German and English version prEN ISO 23611-3:2018

Qualité du sol –
Prélèvement des invertébrés du sol –
Partie 3: Prélèvement et extraction des enchytréides (ISO/DIS 23611-3:2018);
Version allemande et anglaise prEN ISO 23611-3:2018

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2018-02-16 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 43 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

© DIN Deutsches Institut für Normung e. V. · Jede Art der Vervielfältigung, auch auszugsweise, nur mit Genehmigung des DIN Deutsches Institut für Normung e. V., Berlin, gestattet.
Alleinverkauf der Normen durch Beuth Verlag GmbH, 10772 Berlin

Preisgruppe 12
www.din.de
www.beuth.de

Documents Document Sharing Hub
2814340
Full document details: E DIN EN ISO 23611-3:2018-03

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 23611-3:2018) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190 „Soil quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 444 „Prüfverfahren für die umweltbezogene Charakterisierung fester Matrices“, dessen Sekretariat von NEN (Niederlande) gehalten wird, im Rahmen der Wiener Vereinbarung erarbeitet.

Das zuständige deutsche 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).

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

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

DIN EN ISO 23611 besteht aus folgenden Teilen, die unter dem Haupttitel „*Bodenbeschaffenheit — Probenahme von Wirbellosen im Boden*“ veröffentlicht werden:

— *Teil 1: Handauslese und Formalinextraktion von Regenwürmern*;

— *Teil 2: Probenahme und Extraktion von Mikroarthropoden (Collembolen und Milben)*;

— *Teil 3: Probenahme und Extraktion von Enchytraeen*;

— *Teil 4: Probenahme, Extraktion und Bestimmung von Boden bewohnenden Nematoden*

— *Teil 5: Probenahme und Extraktion von Makroinvertebraten (Großwirbellosen) im Boden*

— *Teil 6: Anleitung für die Planung der Probenahme von Wirbellosen im Boden*

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

ISO 10390	siehe DIN ISO 10390
ISO 10694	siehe DIN ISO 10694
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 11465	siehe DIN ISO 11465
ISO 14240-1	siehe DIN EN ISO 14240-1
ISO 14240-2	siehe DIN EN ISO 14240-2
ISO 18400-101	siehe DIN ISO 18400-101
ISO 18400-206	siehe DIN ISO 18400-206
ISO 23611-1	siehe DIN EN ISO 23611-1
ISO 23611-2	siehe DIN EN ISO 23611-2

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 23611-3:2011-09 wurden die folgenden Änderungen vorgenommen:

a) Anhang C „Beispiele für die Verwendung von Bodenwirbellosen im Rahmen von Bodenmonitoringprogrammen“ neu aufgenommen;

b) relevante Publikationen zur Identifizierung und Literaturhinweise aktualisiert.

AVA Documents Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 23611-3:2018-03

Nationaler Anhang NA
(informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 14240-1, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der mikrobiellen Biomasse von Böden — Teil 1: Substratinduziertes Respirationsverfahren*

DIN EN ISO 14240-2, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der mikrobiellen Biomasse von Böden — Teil 2: Fumigations-Extraktionsverfahren*

E DIN ISO 18400-101, *Bodenbeschaffenheit — Probenahme — Teil 101: Rahmen für die Vorbereitung und Anwendung eines Probenahmeplans (z. Z. ISO/DIS 18400-101:2014)*

E DIN ISO 18400-206, *Bodenbeschaffenheit — Probenahme — Teil 206: Anleitung zur Entnahme, Behandlung und Lagerung von Boden für die Beurteilung von biologischen funktionalen und strukturellen Endpunkten im Labor (z. Z. ISO/DIS 18400-206:2017)*

DIN EN ISO 23611-1, *Bodenbeschaffenheit — Probenahme von Wirbellosen im Boden — Teil 1: Handauslese und Formalinextraktion von Regenwürmern*

DIN EN ISO 23611-2, *Bodenbeschaffenheit — Probenahme von Wirbellosen im Boden — Teil 2: Probenahme und Extraktion von Mikroarthropoden (Collembolen und Milben)*

DIN ISO 10390[*)], *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung des pH-Wertes*

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

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

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

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

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

DIN ISO 11465[***)], *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Trockensubstanz und des Wassergehalts auf Grundlage der Masse — Gravimetrisches Verfahren*

[*)] DIN ISO 10390 wurde zurückgezogen, dafür kann DIN EN 15933:2012-11 *„Schlamm, behandelter Bioabfall und Boden — Bestimmung des pH-Werts“* angewendet werden.

[**)] DIN ISO 10390 wurde zurückgezogen, dafür kann DIN EN 15936:2012-11 *„Schlamm, behandelter Bioabfall, Boden und Abfall — Bestimmung des gesamten organischen Kohlenstoffs (TOC) mittels trockener Verbrennung*“ angewendet werden.

[***)] DIN ISO 10390 wurde zurückgezogen, dafür kann DIN EN 15934:2012-11 *„Schlamm, behandelter Bioabfall, Boden und Abfall — Berechnung des Trockenmassenanteils nach Bestimmung des Trockenrückstands oder des Wassergehalts*“ angewendet werden.

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 23611-3:2018-03

— Leerseite —

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 23611-3:2018-03

– Entwurf –

CEN/TC 444

Datum: 2018-01

prEN ISO 23611-3:2018

CEN/TC 444

Sekretariat: NEN

Bodenbeschaffenheit — Probenahme von Wirbellosen im Boden — Teil 3: Probenahme und Extraktion von Enchytraeen (ISO/DIS 23611-3:2018)

Qualité du sol — Prélèvement des invertébrés du sol — Partie 3 : Prélèvement et extraction des enchytréides (ISO/DIS 23611-3:2018)

Soil quality — Sampling of soil invertebrates — Part 3: Sampling and extraction of enchytraeids (ISO/DIS 23611-3:2018)

ICS:

Deskriptoren:

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

STD Version 2.9d

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 23611-3:2018-03

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort ... 3

Vorwort ... 4

Einleitung ... 5

1 Anwendungsbereich ... 6

2 Begriffe ... 6

3 Kurzbeschreibung ... 7

4 Reagenzien ... 7

5 Geräte ... 7

6 Durchführung ... 8
6.1 Bodenprobenahme ... 8
6.2 Extraktion der Enchytraeen ... 8
6.3 Mikroskopische Artenbestimmung ... 9
6.4 Konservierung der Enchytraeen ... 10
6.5 Gültigkeit des Extraktionsvorgangs ... 10
6.6 Bestimmung der Biomasse ... 10

7 Auswertung der Ergebnisse ... 11

8 Prüfbericht ... 11

Anhang A (informativ) Für die Artenbestimmung von Enchytraeen relevante Publikationen ... 12

Anhang B (informativ) Schnellextraktion von Enchytraeen ... 13

Anhang C (informativ) Beispiele für die Verwendung von Bodenwirbellosen im Rahmen von Bodenmonitoringprogrammen (einschließlich der Darstellung ihrer Ergebnisse) ... 15
C.1 Allgemeines ... 15
C.2 Bewertung der biologischen Beschaffenheit von Böden ... 15

Literaturhinweise ... 18

Bilder

Bild 1 — Extraktionsschale mit Bodenprobe ... 9
Bild 2 — Sedimentschicht (einschließlich Enchytraeen) ... 9
Bild B.1 — Schematischer Aufbau des Verfahrens (aus [12]) ... 14
Bild C.1 — Amöbendarstellung von Monitoringergebnissen niederländischer Landwirtschaftsbetriebe ... 16

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 23611-3:2018-03

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 23611-3:2018) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190 „Soil quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 444 „Prüfverfahren für die umweltbezogene Charakterisierung fester Matrices“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NEN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN ISO 23611-3:2011 ersetzen.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 23611-3:2018 wurde von CEN als prEN ISO 23611-3:2018 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Documents
Document Sharing Hub
Full document details: E DIN EN ISO 23611-3:2018-03

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsorganisationen (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 Themen 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.

Eine Erläuterung zum freiwilligen Charakter von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT) berücksichtigt, enthält der folgende Link: www.iso.org/iso/foreword.html.

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

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

Die wesentlichen Änderungen im Vergleich zur Vorgängerausgabe sind folgende:

— die Ergänzung um Beispiele für Programme zum Bodenmonitoring anhand von Regenwürmern (einschließlich einer Darstellung ihrer Ergebnisse) als informativer Anhang.

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

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 23611-3:2018-03

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 Bodenbeschaffenheit (z. B. [36], [25], [33], [4], [27]);

— terrestrische Bioindikation und Langzeitmonitoring(z. B. [34], [15], [30], [4]);

— Bewertung der Wirkungen von Chemikalien auf Bodentiere ([18], [26], [28]).

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 Einstufungen und Bewertungen terrestrischer Habitate (d. h. von Bodenhabitaten) aufgrund biologischer Verfahren im Vergleich zu aquatischen Standorten bisher relativ selten durchgeführt wurden.

Ursprünglich wurden die hier beschriebenen Verfahren für taxonomische und ökologische Untersuchungen zur Rolle von Enchytraeen in verschiedenen Bodenökosystemen entwickelt. Diese Tiere gehören in Regionen mit gemäßigtem Klima zweifellos zu den wichtigsten Wirbellosen im Boden (hauptsächlich in sauren Böden [7]). Ihr Einfluss auf die Bodenfunktionen wie Streuzersetzung und Nährstoffkreislauf ist wohl bekannt [17], [23]. Aufgrund ihrer oft sehr großen Anzahl (und ihrer Populationsbiomasse) sind sie auch in vielen terrestrischen Nahrungsnetzen von wesentlicher Bedeutung [6]. Einige Arten wurden durch den Menschen unbeabsichtigt über viele Böden der Welt verbreitet.

Da es weder möglich noch nützlich ist, Verfahren für alle Bodenorganismen zu normen, wurden die Wichtigsten ausgewählt. Mikrobiologische Parameter werden bereits von bestehenden ISO-Normen (z. B. ISO 14240-1, ISO 14240-2, ISO 17601, ISO 29843-1 und ISO 29843-2) abgedeckt.

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 23611-3:2018-03

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Verfahren zur Probenahme, Handhabung und Extraktion von Enchytraeen aus terrestrischen 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 Enchytraeen und ihrer Verwendung als Bioindikatoren in der terrestrischen Umwelt lassen sich den im Literaturverzeichnis aufgeführten Quellen entnehmen.

Dieses Dokument gilt für alle terrestrischen Biotope, in denen Enchytraeen leben. Der für Freilanduntersuchungen im Allgemeinen gültige Probenahmeplan ist bereits in ISO 18400-101 festgelegt. Diese Einzelheiten können in Abhängigkeit von den klimatischen/regionalen Bedingungen des zu beprobenden Standorts variieren. Verweisung [6] vermittelt einen Überblick zur Bestimmung der Wirkungen von Verunreinigungen auf Enchytraeen unter Freilandbedingungen.

Die Verfahren für einige andere Bodenorganismengruppen, wie Regenwürmer und Arthropoden, sind in ISO 23611-1, ISO 23611-2, ISO 23611-4 und ISO 23611-5 festgelegt.

Dieses Dokument gilt nicht für semi-terrestrische Böden (d. h. in oder nahe reinem Wasser lebend) und kann unter extremen klimatischen oder geographischen Bedingungen (z. B. im Hochgebirge) schwierig anzuwenden sein.

Für die Probenahme von Wirbellosen in Böden wird nachdrücklich empfohlen, den Standort zu charakterisieren (z. B. Berücksichtigung der Bodeneigenschaften, des Klimas und der Bodennutzung). Eine derartige Charakterisierung wird jedoch in diesem Teil von ISO 23611 nicht behandelt. ISO 10390, ISO 10694, ISO 11272, ISO 11274, ISO 11277, ISO 11461 und ISO 11465 sind zur Bestimmung des pH-Wertes, der Korngrößenverteilung, des C/N-Verhältnisses, des organischen Kohlenstoffgehalts und des Wasserrückhaltevermögens geeigneter.

2 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:

— IEC Electropedia: unter http://www.electropedia.org/

— ISO Online Browsing Platform: unter http://www.iso.org/obp

2.1
Enchytraeen
kleine, Boden bewohnende Würmer (einige Millimeter bis wenige Zentimeter in der Länge), die zur Familie der Enchytraeidae, Ordnung Oligochaeta, Klasse Clitellata, Stamm Annelida gehören (Volksname: Topfwürmer [35])

BEISPIEL Arten der Gattungen *Enchytraeus*, *Fridericia* oder *Cognettia*.

Documents
Document Sharing Hub
Full document details: E DIN EN ISO 23611-3:2018-03

3 Kurzbeschreibung

Die Probenahme von Enchytraeen aus dem Boden an einem bestimmten Standort erfolgt mittels eines Bodenbohrers (üblicher Durchmesser von 3 cm bis 6 cm) (5.1). Nach der Probenahme werden die Bodenproben mit den darin enthaltenden Enchytraeen ins Labor transportiert. Anschließend werden die Enchytraeen mit einem Nassextraktionsverfahren aus dem Boden extrahiert. (Diese Verfahrensweise ist seit langem bekannt [13], [20], [24].) Nach der Extraktion werden die Enchytraeen lebendig identifiziert und erforderlichenfalls so konserviert, dass sie in einer Artensammlung (z. B. für taxonomische Zwecke) für unbestimmte Zeit aufbewahrt werden können.

Die Bestimmung der Biomasse von Enchytraeen ist ebenfalls in diesem Teil von ISO 23611 beschrieben. Die Werte können für die Abundanz und Biomasse auf die Fläche des Bodenbohrers oder, in selteneren Fällen, auf Volumenparameter zurückgerechnet werden.

ANMERKUNG 1 Die Probenahme von Enchytraeen ist oft Teil wesentlich umfangreicherer Monitoringprogramme, in denen versucht wird, die gesamte Bodenfauna oder Teile davon (z. B. Mesofauna) zu berücksichtigen. Die Planung derartiger Programme ist nicht in diesem Teil von ISO 23611 enthalten (siehe jedoch z. B. [3]).

ANMERKUNG 2 Einige Hinweise zur Taxonomie von Enchytraeen sind in Anhang A gegeben.

4 Reagenzien

4.1 Leitungswasser (ohne toxische Eigenschaften, z. B. aufgrund von Verunreinigung mit Kupfer).

4.2 Ethanol, 70 % (Volumenanteil).

4.3 Bengalrosa, 4,5,6,7-Tetrachlor-2',4',5',7'-tetraiodfluorescein, zubereitet als Färbemittel.

4.4 Bouin-Fixiermittel (-gemisch), gepufferte Lösung von Formaldehyd, Essigsäure und Pikrinsäure.

4.5 Paracarmin, Färbemittel, das aus einem Gemisch von Karminsäure, Aluminiumchlorid und Calciumchlorid in ethanolischer Lösung hergestellt wird.

4.6 Kanadabalsam, eine natürliche, gelbliche, viskose Flüssigkeit, die 13 % bis 14 % (Volumenanteil) Canadinsäure ($C_{20}H_{38}O_2$), 48 % bis 50 % (Volumenanteil) α- und β-Canadinolsäure ($C_{19}H_{30}O_2$) und 5 % (Volumenanteil) Canadoesen ($C_{21}H_{40}O$) enthält.

5 Geräte

5.1 Bodenbohrer (z. B. Durchmesser von 3 cm bis 6 cm, Bodenkernlänge von 10 cm bis 30 cm) mit variabler Gesamtlänge (abhängig von der Verwendung eines Handgriffs) und stoßabsorbierendem Kunststoff- oder Holzhammer.

5.2 handelsübliche Plastikbeutel (z. B. 1-l-Tiefkühlbeutel).

5.3 Temperaturaufzeichnungsgerät oder **Minimum-Maximum-Thermometer**.

5.4 handelsübliche Kunststoffschalen, Durchmesser etwa 20 cm, Höhe etwa 10 cm.

5.5 handelsübliche Kunststoffsiebe, Durchmesser etwa 15 cm, Maschenweite etwa 0,5 mm.

5.6 handelsübliche 60-W-Glühlampen, als Heizeinrichtung.

5.7 Glasgeräte, z. B. Petrischalen (quadratische Form) der Größe 8 cm × 8 cm oder kleine Glasgefäße (z. B. 50 ml).

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 23611-3:2018-03

5.8 Großes, scharfes Messer.

5.9 Kühlschrank.

5.10 Präpariermikroskop mit schwacher Vergrößerung (10-fach bis 40-fach).

5.11 Mikroskop mit starker Vergrößerung (60-fach bis 400-fach) und Interferenzkontrastbeleuchtung.

5.12 Federstahlpinzette (flach).

5.13 Übertragungswerkzeug: Pasteurpipette, weiche Stahlpinzette oder Hakennadel.

6 Durchführung

6.1 Bodenprobenahme

Für die Untersuchung der Enchytraeengemeinschaft werden Bodenproben mit einem Bodenbohrer (5.1) formzerstörend genommen. Der Bodenbohrer wird vorsichtig in den Boden gepresst. Die Tiefe hängt von der Bodennutzung und vom Bodentyp ab, schwankt jedoch üblicherweise zwischen 10 cm (z. B. Waldboden) und bis zu 30 cm (z. B. Anbauflächen), d. h. diejenigen Schichten, in denen der Großteil der Enchytraeen lebt. In seltenen Fällen, z. B. wenn dicke Wurzeln vorhanden sind, kann ein stoßabsorbierender Kunststoff- oder Holzhammer zur Probenahme verwendet werden. Nach der Entnahme des Bodenbohrers wird dessen Ventil geöffnet und der Bodenkern vorsichtig mit der Hand entnommen. Der Kern wird mit einem Messer (5.8) in Zylinder (z. B. 3 cm bis 4 cm hoch) geteilt. Diese Bodenzylinder können in kleinen Plastikbeuteln (5.2) im Kühlschrank (5.9) bei etwa 4 °C bis 6 °C für eine Dauer von vorzugsweise nicht länger als ein bis zwei Wochen (Lagerung sollte in keinem Fall einen Monat überschreiten [9]) aufbewahrt werden. Der Bodenbohrer wird nach Verwendung mit Wasser gereinigt.

6.2 Extraktion der Enchytraeen

Die Extraktion der Würmer erfolgt im Grunde durch ihre aktive Bewegung durch die mit Wasser gesättigte Probe in die mit Wasser gefüllte Schale (5.4).

Die Extraktion sollte so schnell wie möglich nach der Probenahme (siehe 6.1) vorgenommen werden. Die Schalen (5.4) werden vorsichtig mit Leitungswasser (4.1) gefüllt, bis die leeren Siebe (5.5) vollständig vom Wasser bedeckt sind. Die Proben (d. h. Bodenzylinder) werden in die Siebe gegeben und erforderlichenfalls (z. B. bei schweren Lehmböden) vorsichtig mit der Hand zerkrümelt (siehe Bild 1). Der Boden der Siebe sollte den Boden der Schalen nicht berühren. Um bei der Extraktion der Enchytraeen aus den Proben eine Extraktionseffizienz von mehr als 90 % sicherzustellen, sollte die Extraktion aus Boden 2 d bis 7 d und die aus Streu 0,5 d bis 2 d bei (12 ± 2) °C (Wassertemperatur) andauern. Die Extraktionsdauer ist hauptsächlich vom organischen Gehalt der Probe abhängig. Diese Zeiten können entsprechend den organisatorischen Erfordernissen und der Anzahl der Individuen in der Probe angepasst werden. Bei Sauerstoffmangel sterben die Würmer jedoch schnell. Dieses Problem kann vermieden werden, indem das Wasser nach (18 bis 24) h und (falls die Extraktionszeit 2 d überschreitet) nochmals nach 48 h gewechselt wird. Eine Beschleunigung der Extraktion durch Anbringen einer Wärmequelle [z. B. eine 60-W-Glühlampe (5.6)] über der Probe kann hilfreich sein, sollte jedoch vorsichtig vorgenommen werden (d. h. langsamer Temperaturanstieg über mindestens 3 h), da anderenfalls – in Abhängigkeit von der Art – viele Tiere, insbesondere Jungtiere und Teilungsstadien, im Boden verbleiben (siehe Anhang B).

ANMERKUNG 1 Um die Menge an Ablagerungen am Boden der Extraktionsschalen zu verringern, kann vor dem Einbringen der Bodenprobe ein feines Wischtuch (Maschenweite 0,5 mm) in das Sieb gelegt werden [31].

Am Ende des Extraktionsverfahrens werden die Siebe entfernt und der Boden wird entsprechend den örtlichen Abfallbestimmungen verworfen und entsorgt. Das Wasser wird langsam und vorsichtig aus der Schale abdekantiert. Dabei sollte der Feinstanteil des Bodens am Grund der Schalen nicht gestört werden (siehe Bild 2). In den Schalen muss eine geringe Wassermenge (bis zu einer Höhe von 5 mm bis 10 mm) verbleiben.

Documents
Document Sharing Hub
Full document details: E DIN EN ISO 23611-3:2018-03

Anschließend wird der Feinstanteil des Bodens in dem überstehenden Wasser suspendiert, in eine Petrischale (5.7) gegeben und kurze Zeit gelagert, bis sich die Bodenpartikel abgesetzt haben und das Wasser klar ist. Da die weißlichen Würmer schwerer als Wasser sind, sich jedoch selten in der dünnen Bodenschicht verstecken können, können sie unter einem Präpariermikroskop (5.10) leicht aus der Petrischale gesammelt werden. Dafür kann eine Pasteurpipette, eine weiche Stahlpinzette oder eine Hakennadel (5.13) verwendet werden, eine Beschädigung der Würmer muss jedoch in jedem Fall vermieden werden. Besonders einfach ist die Gesamtanzahl zu ermitteln, indem die Petrischalenoberfläche in parallele Reihen unterteilt wird und diese dann nacheinander untersucht werden. Aufgrund ihrer weißen Farbe sind die Würmer vor den üblicherweise bräunlichen Bodenpartikeln deutlich zu erkennen. Die Tiere werden in kleine Kunststoff- oder Glasgefäße (z. B. 20 ml) überführt.

Die Anzahl der Proben, die gleichzeitig extrahiert werden können, ist theoretisch unbegrenzt. Aufgrund der Größe der Wasserschalen kann das Platzangebot jedoch begrenzt sein. Da die Proben (d. h. mindestens das Wasser) gekühlt werden müssen, können üblicherweise nur bis zu 40 bis 50 Proben gleichzeitig behandelt werden. Diese Einschränkungen können umgangen werden, indem das Verfahren in einem kühlen Raum, z. B. in einem Keller, durchgeführt wird.

ANMERKUNG 2 In seltenen Fällen können Enchytraeen mit Dipterenlarven (die oft bräunliche oder schwarze Kopfkapseln besitzen) oder Nematoden (nicht-peristaltische Fortbewegung, üblicherweise kleiner und sich schneller bewegend als Oligochaeten) verwechselt werden. Außerdem können Pilzfäden (Hyphen) oder feines Wurzelmaterial fälschlicherweise für Enchytraeen gehalten werden, da sie die gleiche Länge und Farbe haben können. Ihnen fehlt jedoch immer die Segmentierung von Oligochaeten-Würmern.

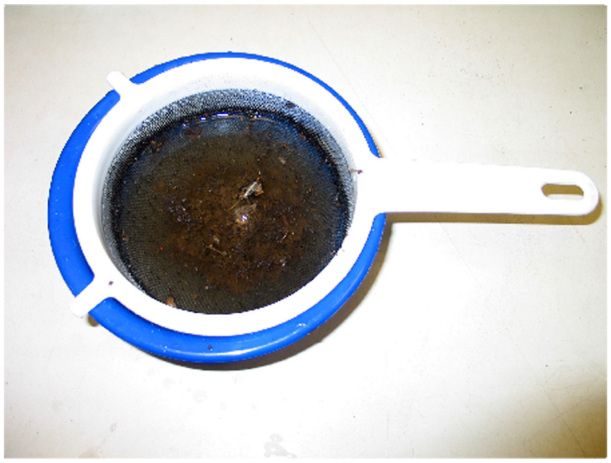

Bild 1 — Extraktionsschale mit Bodenprobe

Bild 2 — Sedimentschicht (einschließlich Enchytraeen)

6.3 Mikroskopische Artenbestimmung

Die mikroskopische Artenbestimmung sollte möglichst bald erfolgen, da die Tiere sogar bei Aufbewahrung im Kühlschrank (5.9) nach einigen Tagen in Wasser sterben. Es kann eine Pasteurpipette, eine weiche Stahlpinzette oder eine Hakennadel (5.13) vorsichtig verwendet werden, um Tiere mit einem Tropfen Wasser auf einen Objektträger zu überführen. Falls sich die Würmer auf dem Objektträger zu schnell bewegen, können sie mit CO_2 betäubt werden (z. B. mit einem Tropfen kohlensäurehaltigem Mineralwasser, die Anwendung sollte jedoch vorsichtig erfolgen, da die Würmer ansonsten getötet werden).

ANMERKUNG Die Artenbestimmung der Enchytraeen ist schwierig. Aus diesem Grund wird in vielen Fällen nur die Anzahl der Tiere bestimmt. Andernfalls wird der in [19] und [32] sowie in späteren Veröffentlichungen (siehe Anhang A) angegebene Bestimmungsschlüssel angewendet. Als Kompromiss kann ein ortsspezifischer Bestimmungsschlüssel verwendet werden, da üblicherweise lediglich 3 bis 25 Arten an einem bestimmten Ort auftreten (in diesem Fall können oft in Ethanol fixierte Würmer bis auf Artebene bestimmt werden). Einen Überblick über die zur Bestimmung einer bestimmten Art erforderlichen Informationen (Parameter, Zeichnungen usw.) vermittelt [11].

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 23611-3:2018-03