

DIN EN ISO 23611-5



ICS 13.080.30

Einsprüche bis 2023-07-26
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN ISO 23611-5:2013-05

Entwurf

**Bodenbeschaffenheit –
Probenahme von Wirbellosen im Boden –
Teil 5: Probenahme und Extraktion von Makroinvertebraten
(Großwirbellosen) im Boden (ISO/DIS 23611-5:2023);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 23611-5:2023**

Soil quality –
Sampling of soil invertebrates –
Part 5: Sampling and extraction of soil macro-invertebrates (ISO/DIS 23611-5:2023);
German and English version prEN ISO 23611-5:2023

Qualité du sol –
Prélèvement des invertébrés du sol –
Partie 5: Prélèvement et extraction des macro-invertébrés du sol (ISO/DIS 23611-5:2023);
Version allemande et anglaise prEN ISO 23611-5:2023

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2023-05-26 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 oder Am DIN-Platz, 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 54 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 23611-5:2023) 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 Abfall- und Bodenuntersuchung (Koordinierung ISO/TC 190; ISO/TC 275, CEN/TC 308, CEN/TC 444, CEN/SABE/ENV)“ 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.

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

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

ISO 10390	siehe	DIN EN ISO 10390
ISO 11274	siehe	DIN EN ISO 11274
ISO 11277	siehe	DIN ISO 11277
ISO 11461	siehe	DIN EN ISO 11461

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 23611-5:2013-05 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Dokument redaktionell überarbeitet.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

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

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*

– *Entwurf* –

E DIN EN ISO 23611-5:2023-07

– Leerseite –

**Bodenbeschaffenheit – Probenahme von Wirbellosen im Boden – Teil 5: Probenahme und Extraktion von Makroinvertebraten (Großwirbellosen) im Boden
(ISO/DIS 23611-5:2023)**

Soil quality – Sampling of soil invertebrates – Part 5: Sampling and extraction of soil macro-invertebrates
(ISO/DIS 23611-5:2023)

Qualité du sol – Prélèvement des invertébrés du sol – Partie 5: Prélèvement et extraction des macro-invertébrés du sol (ISO/DIS 23611-5:2023)

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Kurzbeschreibung	7
5 Reagenzien	7
6 Prüfeinrichtung	7
7 Durchführung im Gelände	8
7.1 Allgemeines	8
7.2 Sammeln von Makroinvertebraten aus der Streuzone	8
7.3 Sammeln von Makroinvertebraten aus dem Boden	8
7.3.1 Allgemeines	8
7.3.2 Regionen mit gemäßigttem Klima	9
7.3.3 Tropische Regionen	9
8 Durchführung im Labor	9
8.1 Behandlung der gesammelten Proben	9
8.2 Konservierung der Exemplare	10
8.3 Bestimmung der Biomasse	11
9 Auswertung der Ergebnisse	11
10 Prüfbericht	11
Anhang A (normativ) Hintergrundinformationen	13
Anhang B(fehlende Statusangabe in der Referenzfassung) Beprobung der Boden bewohnenden Makrofauna unter Einsatz von Bodenfallen	14
Anhang C(fehlende Statusangabe in der Referenzfassung) Beispiel für ein Monitoring mit Bodenfallen (entnommen aus Silva et al., 2015 [68])	16
Literaturhinweise	22

Bilder

Bild C.1	19
Bild C.2	20
Bild C.3	20

Tabellen

Tabelle C.1	16
-----------------------	----

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 23611-5:2023) 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.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN ISO 23611-5:2013 ersetzen.

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.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 23611-5:2023 wurde von CEN als prEN ISO 23611-5:2023 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

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-Directives, 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-Directives, 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 Welt handelsorganisation (WTO) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT) berücksichtigt, enthält der folgende Link: www.iso.org/iso/foreword.html.

ISO 23611-5 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190, *Soil quality*, Unterkomitee SC 4, *Biological methods* erarbeitet.

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

- *Part 1: Hand-sorting and formalin 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 Bedarf nach Normung von Probenahme- und Extraktionsverfahren für Makroinvertebraten im Boden in verschiedenen europäischen Ländern (mit gemäßigttem Klima) und Ländern mit tropischem Klima gerecht zu werden. Diese Verfahren werden für die folgenden Zwecke benötigt:

- biologische Klassifizierung von Böden einschließlich der Beurteilung der Bodenbeschaffenheit (z. B. Literaturhinweise [14], [28] und [37]);
- terrestrische Bioindikation und Langzeitbeobachtung (z. B. Literaturhinweise [65], [74], [75] und [76]).

Nach genormten Verfahren erhobene Daten können genauer beurteilt werden, da sie zuverlässigere Vergleiche zwischen Standorten ermöglichen (z. B. verunreinigte gegenüber nicht verunreinigten Standorten, Änderungen der Landnutzungspraktiken).

Böden beherbergen weltweit artenreiche und sehr vielfältige Lebensgemeinschaften von Makroinvertebraten. Deren Biologie und Ökologie wurden umfassend untersucht. Boden bewohnende Wirbellose sind in der Tat unersetzliche Mitwirkende bei der Bodenbildung und beim Bodenschutz in natürlichen Ökosystemen. Ihre Bedeutung für das Bodensystem ergibt sich aus ihrer Individuendichte (Abundanz) und ihrer Diversität sowie aus ihrer Rolle in biologischen Schlüsselprozessen. Sie sind empfindliche Indikatoren für die Bodenbeschaffenheit und anerkannte Vermittler von dessen Fruchtbarkeit (z. B. Literaturhinweise [58] und [52]). Innerhalb der enormen Diversität von Arten liegen verschiedene Anpassungsstrategien und Größenbereiche vor, eine spezielle Gruppe, so genannte Ökosystemgestalter des Bodens, umfasst große Wirbellose, die tatsächlich die Aktivitäten anderer kleinerer Organismen durch die mechanischen Aktivitäten, die sie im Boden ausführen (z. B. Literaturhinweise [18] und [46]), bestimmen.

Boden bewohnende Makroinvertebraten umfassen ein breites Spektrum von ökologischen Funktionen im Boden: Zersetzung organischen Materials durch ihre eigene Aktivität und durch Stimulierung der bodenmikrobiologischen Aktivität (z. B. Literaturhinweise [2], [3] und [36]), Prädatismus (Räubertum), der eine wichtige Rolle in Nahrungsnetzen spielt (z. B. Literaturhinweise [9], [51], [56], [59] und [63]), Bodenaggregation durch die Erzeugung von organo-mineralischen Strukturen (z. B. Nester, unterirdische Gänge, Kotballen), die von Tagen bis zu Monaten und Jahren bestehen können, und Bioturbation (z. B. Literaturhinweis [28]) usw. Diese Merkmale, verbunden mit einem breiten taxonomischen Wissen, ermöglichten es, sie in mehreren Forschungsprogrammen zur Untersuchung der Auswirkungen von forstwirtschaftlichen Praktiken (z. B. Literaturhinweise [11], [36], [47], [57], [60] und [70] oder von Verfahren zur Ernteertragssteigerung (z. B. Literaturhinweise [8], [19], [27], [29], [30], [33], [38], [55] und [62]) als Untersuchungsorganismen zu verwenden. Aufgrund dieser Eigenschaften eignen sich diese Organismen zur Verwendung als Bioindikatoren für besonders durch bestimmte Landnutzungspraktiken und Verschmutzungen verursachte Änderungen der Bodenbeschaffenheit (z. B. Literaturhinweise [21], [35], [45], [48], [49], [54], [60] und [74]).

Das in diesem Teil von ISO 23611 vorgeschlagene Verfahren umfasst die Probenahme aller Makroinvertebraten im Boden. Die Probenahme von Regenwürmern wird jedoch bereits in ISO 23611-1 behandelt. Dieses Verfahren ist in ISO 23611 1:2006, Anhang C, als alternatives Verfahren zur Probenahme von Regenwürmern beschrieben.

1 Anwendungsbereich

Dieser Teil von ISO 23611 legt ein Verfahren zur Probenahme, Extraktion und Konservierung von Makroinvertebraten aus Böden, einschließlich der Streuzone, fest. Das vorgeschlagene Verfahren ist Voraussetzung für die Verwendung dieser Tiere als Bioindikatoren (z. B. zur Beurteilung der Beschaffenheit eines Bodens als Lebensraum für Organismen). Die wichtigsten Voraussetzungen dieses Verfahrens sind das Vorliegen einer schnellen Beurteilung (Abschließen der Beprobung einer Probenahmestelle nur mit Grundausrüstung und einer geringen Anzahl von technischen Hilfskräften innerhalb von ein bis zwei Tagen), die Fähigkeit, alle taxonomischen Gruppen von Boden bewohnenden Makroinvertebraten gleichzeitig und am gleichen Ort zuzuordnen. Das Verfahren im Rahmen des Programms zur Untersuchung der Biologie und Fruchtbarkeit tropischer Böden (TSBF-Verfahren, en: Tropical Soil Biology and Fertility Program) wurde weiterentwickelt und es wurden einige Modifikationen eingebracht, um es in Regionen mit gemäßigttem Klima anzuwenden.

Die Probenahme- und Extraktionsverfahren dieses Teils von ISO 23611 sind auf nahezu alle Bodenarten anwendbar mit Ausnahme von Böden aus extremen klimatischen Bedingungen (harte, gefrorene oder überflutete Böden) sowie anderen Matrices als Boden, z. B. Baumstämme, Pflanzen oder Flechten.

Der Probenahmeplan ist in ISO 23611-6 festgelegt.

ANMERKUNG 1 Das in diesem Teil von ISO 23611 festgelegte Verfahren beruht auf einer Anleitung, die im Rahmen des Programms zur Untersuchung der Biologie und Fruchtbarkeit tropischer Böden (TSBF-Verfahren) [1] entwickelt wurde.

ANMERKUNG 2 Grundlegende Informationen zur Ökologie der Makroinvertebraten und ihrer Verwendung lassen sich den in den Literaturhinweisen aufgeführten Quellen entnehmen.

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

Makroinvertebraten

Bodenorganismus, dessen Größe 10 mm überschreitet

Anmerkung 1 zum Begriff: Zu weiteren Einzelheiten siehe Anhang A.

BEISPIEL Diese umfassen insbesondere die folgenden Gruppen: Oligochaeta, Gastropoda, Chilopoda, Diplopoda, Iso-poda, Arachnida und verschiedene Insekten: Coleoptera, Orthoptera, Hymenoptera, Hemiptera, Dermaptera, Lepidoptera (Larven) und Diptera (Larven).

3.2

Masse nach der Konservierung

fixierte Frischmasse

Konservierungsgewicht

Masse der Individuen nach der Konservierung in Formalin oder Ethanol (wenn die für die Konservierung verwendete Substanz von den Geweben aufgenommen wurde)

4 Kurzbeschreibung

Boden bewohnende Makroinvertebraten werden im Freiland mit Hilfe eines Metallrahmens zur Abgrenzung der Bodenoberfläche der Probenahmestelle gesammelt. In der Streu und im Boden vorliegende Makroinvertebraten werden getrennt eingesammelt. In Regionen mit gemäßigttem Klima wird ein Reagens verwendet, um die Makroinvertebraten aus dem Boden zu extrahieren. Die Probenahme wird mit der Handauslese abgeschlossen. Die Tiere werden konserviert und zur weiteren Identifizierung (Bestimmung) ins Labor transportiert (z. B. Literaturhinweise [4], [5], [6], [7], [10], [12], [13], [16], [17], [22], [24], [25], [26], [31], [32], [34], [42], [43], [44], [50], [53], [64], [66], [67], [71], [72], [73] und [77]). Die Abundanzwerte werden üblicherweise auf eine Fläche (1 m²) umgerechnet.

5 Reagenzien

5.1 Ethanol (70%ig, Volumenanteil).

5.2 Formalin [Formaldehyd-Lösung], 4%ig (Volumenanteil).

Für die Konservierung der Exemplare sollten sowohl 70%iges Ethanol als auch 4%iges Formalin zur Verfügung stehen (4%iges Formalin ist für Taxa mit weichen Körperteilen geeigneter, die nach einer Fixierdauer von etwa 4 d in Ethanol überführt werden können).

5.3 Formalin, 0,2%ig (Volumenanteil), hergestellt durch Verdünnen von 25 ml Formalin (39%ig) in 5 l Wasser, für die Extraktion von Boden bewohnenden Makroinvertebraten.

6 Prüfeinrichtung

Es werden die übliche Laborausrüstung und Folgendes verwendet:

6.1 Petrischalen.

6.2 Stereomikroskop.

6.3 Kunststofffläschchen.

6.4 Entomologische Pinzette.

6.5 Stift, Notizbuch, wasserfester Marker, Etiketten.

6.6 Maßbänder.

6.7 Messer (Sichelmesser).

6.8 Spaten.

6.9 Säcke aus Kunststoffgewebe, zum Ausbreiten auf dem Boden.

6.10 Präzisionswaage.

6.11 Große, flache Kunststoffschalen (500 mm × 400 mm × 100 mm), zum Sortieren von Boden und Streu.

6.12 Pflanzkelle.

6.13 Kleine Kunststoffschalen.

6.14 Feinpinzette (oder entomologische Pinzette), Pipette, dünne Pinsel.

6.15 Probenfläschchen, in verschiedenen Größen, mit sicher schließenden alkoholundurchlässigen Verschlüssen (Wegwerffläschchen aus Kunststoff oder wiederverwendbare Fläschchen aus Kunststoff/Glas)

6.16 Tuschestift (wasserfest).

6.17 Fester Karton für Schilder, zum Abstecken der Grenzen.

6.18 Große, strapazierfähige Kunststoffbeutel (verschießbar).

6.19 Tisch und Stühle aus Kunststoff, zum Sortieren.

6.20 Abdeckung, zum Schutz vor Starkregen.

6.21 Polyvinylhandschuhe, zum Schutz der Hände vor Formalin.

6.22 Metallrahmen, vorzugsweise 250 mm × 250 mm.

Probenrahmen (250 mm × 250 mm × 50 mm) aus nichtrostendem Stahl und mit geschärften Kanten, um die Probenahmestelle abzugrenzen, aus der die Tiere aus der Streuschicht und dem Boden zu entnehmen sind.

6.23 Gießkanne.

6.24 Schere, zum Schneiden der Vegetation innerhalb des Rahmens.

6.25 Feldwaagen.

7 Durchführung im Gelände

7.1 Allgemeines

Die Probenahme sollte dann erfolgen, wenn angenommen werden kann, dass die erreichbare Biodiversität am höchsten ist. In Regionen mit gemäßigttem Klima entspricht das dem Frühjahr oder Herbst, in den Tropen sollte die Probenahme gegen Ende der Regenzeit durchgeführt werden.

Bei der Probenahme von Wirbellosen im Boden wird dringend empfohlen, den Standort auf seine physikalisch-chemischen Eigenschaften zu untersuchen. Im Besonderen sollten der pH-Wert, die Korngrößenverteilung, das C/N-Verhältnis, der Gehalt an organischem Kohlenstoff und das Wasserrückhaltevermögen nach ISO 10390, ISO 10694, ISO 11274, ISO 11277, ISO 11461 und ISO 11465 gemessen werden. Im Boden des Standorts vorhandene natürliche Mineralien sollten ebenfalls beschrieben werden.

7.2 Sammeln von Makroinvertebraten aus der Streuzone

An jedem Probenahmepunkt (= Monolith) (der zuvor nach den Regeln des Probenahmeplans festgelegt wurde) wird mit einem Metallrahmen (5.22) eine Streuprobe gesammelt. Der Metallrahmen wird mit der Hand in die Streu gedrückt. Die Streu innerhalb des Rahmens wird entfernt und vor Ort manuell mittels einer großen Schale (5.11) geprüft. In der Streu vorhandene Wirbellose werden in 4%igem Formalin (4.2) konserviert.

7.3 Sammeln von Makroinvertebraten aus dem Boden

7.3.1 Allgemeines

In Ländern mit gemäßigttem Klima erfolgt die Extraktion von Boden bewohnenden Makroinvertebraten in zwei Schritten (siehe 6.3.2.1 und 6.3.2.2), während in Ländern mit tropischem Klima nur der zweite Schritt auszuführen ist (siehe 6.3.3). In beiden Fällen darf die Extraktion von Makroinvertebraten durch den Einsatz von Bodenfallen ergänzt werden (siehe Anhang B und Anhang C für weitere Einzelheiten).

7.3.2 Regionen mit gemäßigttem Klima

7.3.2.1 Formalinextraktion

Auf die durch den Metallrahmen (5.22) begrenzte Bodenoberfläche wird mit einer Gießkanne (5.23) 0,2%ige Formalin-Lösung (4.3) verteilt. Zweimal werden je 1,5 l Formalin im Abstand von 10 min aufgebracht. Die an die Oberfläche kommenden Boden bewohnenden Wirbellosen werden eingesammelt und in Fläschchen (5.3) mit 4%igem Formalin (4.2) konserviert.

7.3.2.2 Handauslese von „passiven“ Makroinvertebraten

Am Ende der Formalinextraktion wird der Metallrahmen (5.22) entfernt und die oberen 150 mm des Bodens innerhalb der Fläche des Rahmens (250 mm × 250 mm) werden ausgehoben. Der ausgehobene Boden wird in einen Kunststoffbeutel (5.18) gegeben, der mit einer Abdeckung verschlossen werden kann, um ein Entweichen von Tieren aus der Bodenprobe zu verhindern.

Aus dem Behälter werden geeignete Teilproben des Bodens entnommen und in einer großen Schale (5.11) ausgebreitet. Makroinvertebraten werden eingesammelt und in Fläschchen (5.3) mit Formalin (4.2) konserviert. Nach der Handauslese der Makroinvertebraten wird die Entnahmestelle wieder mit dem Boden aufgefüllt, um das Entstehen von Löchern an der Probenahmestelle zu vermeiden.

7.3.3 Tropische Regionen

In Ländern mit tropischem Klima werden Boden bewohnende Makroinvertebraten mit einer Bodenscholle (Monolith) von 250 mm × 250 mm × 300 mm entnommen. Der Monolith wird abgetrennt, indem mit einem Spaten (5.8) einige Zentimeter außerhalb des Quadrats (Metallrahmen) Stiche erfolgen und anschließend ringsherum ein 20 mm breiter und 300 mm tiefer Graben ausgehoben wird. Das erleichtert das Teilen der Probe in horizontale Schichten und das Einsammeln von Tieren, die aus dem Block entweichen.

Der abgesteckte Block wird in drei Schichten, 0 mm bis 100 mm, 100 mm bis 200 mm und 200 mm bis 300 mm, geteilt und das Boden- und Streumaterial wird in Schalen (5.11) von Hand ausgelesen. Da Formalin in tropischen Regionen nicht angewendet wird, sollte die Probenahmetiefe verdoppelt werden, um sicherzustellen, dass auch endogene Spezies von Regenwürmern eingesammelt werden.

Bei Staaten bildenden Insekten wird empfohlen, besondere Maßnahmen in Betracht zu ziehen, die deren hohe Abundanz und ausgeprägte fleckenhafte Verteilung berücksichtigen; ein Nest kann Millionen von Individuen enthalten, von denen bei einem kurzen Transekt möglicherweise keines in die Probe eingeht, wodurch der Beitrag der Art in Bezug auf eine Vergesellschaftung der Makrofauna vollständig fehlen kann. Andererseits kann ein dicht besiedeltes Nest, das direkt durch einen Monolithen beprobt wird, zu einer starken Überschätzung der zahlenmäßigen Gesamtdichte bzw. der Biomassedichte führen. Im Allgemeinen sollte der TSBF-Transekt so angeordnet werden, dass ein direkter Kontakt mit Termiten- und Ameisennestern vermieden wird. Hinsichtlich der Erörterung siehe Literaturhinweise [35] und [36]. Die Vorschrift für ein Transekt von 100 m × 2 m zur Beurteilung der Biodiversität von Termiten (und einer Darstellung der Ernährungsgruppe) ist in Literaturhinweis [48] angeführt. Unter geeigneten Umständen kann diese Vorschrift gleichzeitig mit dem TSBF-Transekt angewendet werden.

ANMERKUNG Zusätzlich zur allgemeinen Charakterisierung des Standortes ist es sinnvoll, den tatsächlichen Wassergehalt des zu beprobenden Bodens zu bestimmen.

8 Durchführung im Labor

8.1 Behandlung der gesammelten Proben

Im Labor werden die Proben entweder mit destilliertem Wasser oder mit Leitungswasser in einer Petrischale mit Hilfe eines Pinsels gereinigt oder die Organismen werden auf einem 0,5-mm- bis 1-mm-Sieb unter den Wasserhahn gehalten. Anschließend werden die Tiere in neue Fläschchen (5.15) mit Ethanol (70%ig, Volu-

menanteil) (4.1) gegeben. Organismen mit weiche Körperteilen werden mindestens 4 d oder, falls möglich, für immer in Formalin aufbewahrt.

Für die taxonomische Bestimmung werden die Exemplare in Petrischalen (5.1) gelegt und unter einem Stereomikroskop (5.2) betrachtet. Eine praktische Art und Weise der Bestimmung von Makroinvertebraten ist, sie zuerst nach Ordnungen zu gruppieren. Jede Ordnung wird dann unter Anwendung von Bestimmungsschlüsseln (Beispiele für Bestimmungsschlüssel sind in den Literaturhinweisen angeführt (siehe Literaturhinweise [4], [5], [6], [7], [10], [12], [13], [17], [22], [24], [25], [26], [31], [32], [34], [42], [43], [44], [53], [66], [67], [72], [73] und [77])) in Familien geteilt und jede Familie in Arten.

Idealerweise sollte die taxonomische Bestimmung auf der Artenebene basieren. Wenn die Identifizierung der Artenebenen aufgrund zeitlicher Beschränkungen, begrenzter taxonomischer Fachkenntnisse oder fehlender Bestimmungsschlüssel nicht möglich ist, z. B. hauptsächlich in tropischen Regionen, stellt die Sortierung nach der Gattung (und einigen höheren taxonomischen Einheiten) einen guten Kompromiss zwischen der Einteilung nach der morphologischen Art und auf der Ebene der Ordnung dar, besonders da dies eine Zuordnung der meisten Arten zu einer funktionellen Gruppe ermöglicht.

WARNUNG — Für den Umgang mit Formalin sollten entsprechende Vorkehrungen (d. h. Handschuhe, Maske) getroffen werden, um die durch Einatmen oder Hautkontakt bedingten Gefahren zu vermeiden. Nach dem von den Herstellerfirmen für 37%ige Formaldehyd-Lösung herausgegebenen Datenblatt zur Materialicherheit ist diese Verbindung hautreizend und wird als krebserregend betrachtet (Menschen: begrenzt nachgewiesen; Tiere: hinreichend nachgewiesen). Sie ist in den Industrieländern für den wissenschaftlichen Gebrauch amtlich zugelassen.

8.2 Konservierung der Exemplare

Bei jeder gemischten Bodenprobe von Makrofauna sollten die folgenden Schritte eingehalten werden, um genormte konservierte Exemplare zu erhalten:

- a) Wenn das Tier keine weichen Körperteile hat, sollte der Organismus in 70%igem Ethanol (handelsübliches Ethanol sollte verdünnt werden) konserviert werden.
- b) Wenn das Tier weiche Körperteile hat, sollte der Organismus in 4%igem Formalin fixiert und wenn möglich in der gleichen Lösung konserviert werden. Alternativ kann 80%iges Ethanol verwendet werden (wenn der Organismus mindestens 4 d mit 4%igem Formalin fixiert wurde).
- c) In allen Fällen sollten die Proben getrennt in verschiedenen Fläschchen nach der kleinsten Analyseeinheit (d. h. einem Monolith, wenn die Daten auf dieser Ebenen verglichen werden) aufbewahrt werden.
- d) Jedes Fläschchen sollte ohne Verwendung von Codenummern beschriftet werden und die Beschriftung sollte mindestens mit wasserfester Tinte, wie z. B. Tusche, und unter Verwendung von festem Papier, wie z. B. Ziegenpergament, erfolgen. Jedes Etikett sollte folgende Angaben enthalten:
 - Land;
 - Region;
 - Fundort;
 - Name des Probennehmers;
 - Datum der Probenahme.
- e) Zur Aufbewahrung der Exemplare:
 - sind Fläschchen (oder Glasröhrchen) zu verwenden, die nicht durch Ethanol oder Formalin zersetzt werden, mit Schraubverschluss;

- sind die Füllstände von Ethanol und Formalin zu überwachen, um sie konstant zu halten;
- sind die Fläschchen geschützt vor direktem Sonnenlicht aufzubewahren;
- ist die Konservierungslösung von jedem Fläschchen einmal in fünf Jahren zu erneuern.

8.3 Bestimmung der Biomasse

Die Biomasse wird unter Verwendung des konservierten Materials bestimmt. Die Oberfläche der Tiere sollte vorsichtig mit Filterpapier getrocknet werden und anschließend sollten die Tiere mit einer Präzisionswaage (0,001 g) gewogen werden.

Es ist nahezu unmöglich, die Wirbellosen nach deren Einfangen am Leben zu erhalten, um deren Frischmasse zu ermitteln. In den meisten Fällen werden die Wirbellosen in 70%igem Ethanol (Volumenanteil) oder 4%igem Formalin (Volumenanteil) konserviert. Letzteres wird bei Regenwürmern empfohlen, die zuerst in Formalin fixiert werden sollten, bevor sie in 70%igem Ethanol aufbewahrt werden. Die Konservierung ist immer mit einer Abnahme der Masse verbunden, da das Körperwasser durch osmotische Kräfte entzogen wird. Die verlorene Menge kann zwischen 15 % und 40 % liegen, in Abhängigkeit vom Wassergehalt des Tieres und von dessen physiologischem Zustand. Da die meisten Untersuchungen nur auf einen Vergleich verschiedener Standorte und/oder Situationen ausgerichtet sind, führt der Masseverlust wahrscheinlich nicht zu einer Verzerrung der Ergebnisse. Wenn genaue Daten zur Frischmasse benötigt werden, ist es leicht, eine aliquote Menge jeder Gruppe aufzubewahren und einige Tage nach dem Fixieren die Masse von lebenden und fixierten Exemplaren zu vergleichen.

9 Auswertung der Ergebnisse

Die folgenden Messendpunkte können für die biologische Klassifizierung eines Bodens, einschließlich Bioindikation oder Biomonitoring (z. B. in Hinblick auf anthropogene Belastung wie Chemikalien oder Änderungen der Landnutzung) verwendet werden:

- Abundanz (Anzahl der Individuen je Fläche);
- Biomasse;
- Anzahl der Arten oder sonstiger taxonomisch oder ökologisch definierter Gruppen;
- Diversitätsindizes (Alpha-, Beta- und Gamma-Diversität).

Zunächst werden die Individuen (Gesamtzahl oder je Art oder Gruppe) gezählt und ihre Anzahl als Individuen je Probe angegeben. Danach wird die Gesamtabundanz der Individuen mit einem Faktor (16) multipliziert, um die Anzahl der Individuen je Quadratmeter zu erhalten.

Die im Gelände ermittelte Frischmasse ist die ideale Weise zur Berechnung der Biomasse. Ist das nicht möglich, ist die Verwendung der nach der Konservierung vorliegenden fixierten Frischmasse zulässig. Weitere Verfahren werden in der Literatur angeführt, zum Beispiel die Frischmasse nach dem Aufsaugen, Trockenmasse nach dem Trocknen bei 60 °C über Nacht, Trocknen bis zur Massekonstanz bei höheren Temperaturen, Frischmasse nach dem Entdarmen (Ausnehmen), Trockenmasse nach dem Entdarmen, Frischmasse $\times$ eine Konstante (für den angenommenen Wassergehalt) und Kopfbreite (bezogen auf eine Kalibrierkurve). Diese haben jedoch eine geringere biologische Bedeutung als die Frischmasse.

10 Prüfbericht

Der Prüfbericht muss mindestens die folgenden Angaben enthalten:

- a) eine Verweisung auf diesen Teil von ISO 23611 (d. h. ISO 23611-5:2011);
- b) eine vollständige Beschreibung des Versuchsaufbaus und der angewendeten Verfahren;

- c) Charakterisierung des Untersuchungsstandorts (insbesondere der Bodeneigenschaften);
- d) Probenahmeverfahren;
- e) Beschreibung der Probenahmebedingungen, einschließlich Datum, Dauer und Tageszeit der Probenahme im Gelände und der Witterungsparameter, z. B. der Lufttemperatur und -feuchte, Regen oder Schneefall usw.;
- f) Einzelheiten des zur Extraktion des biologischen Materials angewendeten Verfahrens;
- g) auf 1 m² oder eine andere Normgröße umgerechnete Werte, falls erforderlich;
- h) eine Zusammenfassung der erhaltenen Ergebnisse;
- i) eine Auswertung der Ergebnisse;
- j) alle Informationen, die sich im Verlauf der gesamten Untersuchung erschlossen haben, einschließlich aller gemessenen Rohdaten und aller gegebenenfalls aufgetretenen Probleme.

Anhang A (normativ)

Hintergrundinformationen

Boden bewohnende Makroinvertebraten können auch als Organismen definiert werden, die zu Taxa gehören, bei denen mehr als 90 % der Exemplare mit bloßem Auge sichtbar sind. Boden bewohnende Makroinvertebraten umfassen die folgenden Gruppen: Oligochaeta (Annelida), Gastropoda (Gehäuse- und Nacktschnecken), Coleoptera (Larven und adulte Individuen), Isoptera, Diplopoda, Chilopoda, Hymenoptera, Arachnida, Dytiscoptera, Orthoptera, Hemiptera, Dermaptera, Isopoda, Lepidoptera (Larven) und Diptera (Larven). Auszuschließen sind speziell Gruppen mit einer verhältnismäßig geringen Anzahl von Exemplaren, die mit dem bloßem Auge sichtbar sind, wie Nematoda (z. B. *Mermithidae*), Enchytraeidae, Collembola, Acarina, Symphyla, Paupoda und Diplura. Die hauptsächlich taxonomischen Einheiten sollten als Standardeinheiten für die Probenahme von Makrofauna eingesetzt werden. Die Auswahl von 17 hauptsächlich Taxa erfolgte durch den IBOY-Workshop unter Anwendung der MDB (Datenbank für die Makrofauna), in der Angaben aus etwa 32 Ländern und von nahezu 1 000 beprobten Standorten enthalten sind. Die 17 Taxa, Oligochaeta (Ordnung *Opisthopora*), Coleoptera (Larven und adulte Individuen), Isoptera, Diplopoda, Chilopoda, Formicidae, Gastropoda, Aranaea, Blattoidea, Orthoptera, Dermaptera, Isopoda, Hemiptera, Lepidoptera-Larven, Diptera (Larven und adulte Individuen) und Überreste (Insekten und keine Insekten), entsprechen den wichtigsten Boden bewohnenden Makroinvertebraten in Bezug auf Abundanz und Biomasse.

Die Auswahl eines Monoliths mit einer Größe von 250 mm × 250 mm × 300 mm beruht auf umfangreicher, wenn auch größtenteils empirischer Erfahrung. Zuerst von Zajonc (1956) angewendet, wurde das Verfahren als eine Norm für das „Tropical Soil Biology and Fertility program“ vorgeschlagen [1] [54]. Die Größe des Monoliths ist für Böden in tropischen und gemäßigten Klimata gleich. Ziel war es, ein Verfahren vorzuschlagen, das nicht übermäßig zeitaufwändig war und gleichzeitig eine genaue Beurteilung der Zusammensetzungen und Strukturen von Lebensgemeinschaften Boden bewohnender Makroinvertebraten ermöglichte. Das Verfahren erwies sich als äußerst erfolgreich und wurde zu einer Norm, die an mehreren hundert Standorten angewendet wurde. Obwohl die Untersuchungen auf bestimmte Gruppen ausgerichtet waren, insbesondere Termiten, Regenwürmer oder Ameisen, bei denen verschiedene Probenumfänge bevorzugt werden, stellt die vorgeschlagene Größe einen sehr guten Kompromiss dar, der es ermöglicht, eine angemessene Anzahl von Parallelproben zu erhalten und die meisten Ordnungen in einer einzelnen Probe zu repräsentieren. Größere Proben sind übermäßig zeitaufwändig, wodurch es nicht möglich ist, hinreichend Parallelproben zu entnehmen. In den meisten Fällen kann eine Gruppe von vier gut ausgebildeten Personen 10 Proben am Tag sortieren. Nichtveröffentlichte Freilanduntersuchungen haben gezeigt, dass an einem Standort 15 Proben bis 20 Proben notwendig sind, um die Varianz auf einen vertretbar geringen Anteil des Mittelwertes (< 20 %) zu verringern. Der Vergleich von Standorten mit unterschiedlichen Pflanzendecken oder Böden und/oder von Standorten, die einer unterschiedlichen Bewirtschaftung unterliegen, ermöglicht jedoch das Auffinden wesentlicher Unterschiede mit nur fünf Proben, vorausgesetzt, es wird eine angepasste statistische Behandlung (häufig multivariate Analyse) angewendet.