

DIN ISO 15799

ICS 13.080.99

Einsprüche bis 2018-05-02
Vorgesehen als Ersatz für
DIN ISO 15799:2004-05

Entwurf

**Bodenbeschaffenheit –
Anleitung zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Böden und
Bodenmaterialien (ISO/DIS 15799:2017);
Text Deutsch und Englisch**

Soil quality –

Guidance on the ecotoxicological characterization of soils and soil materials
(ISO/DIS 15799:2017);

Text in German and English

Qualité du sol –

Lignes directrices relatives à la caractérisation écotoxécologique des sols et des matériaux du
sol (ISO/DIS 15799:2017);

Texte en allemand et anglais

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2018-03-02 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 117 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Inhalt

	Seite
Nationales Vorwort.....	3
Nationaler Anhang NA (informativ) Literaturhinweise	5
Vorwort	7
Einleitung	8
1 Anwendungsbereich.....	9
2 Normative Verweisungen	9
3 Begriffe	9
3.1 Boden und Bodenmaterial	9
3.2 Fläche und Standorte	11
4 Anwendungsbereich.....	11
4.1 Böden und Standorte, für die ökotoxikologische Prüfverfahren berücksichtigt werden sollten:	11
4.2 Böden und Standorte, für die ökotoxikologische Prüfungen nicht erforderlich sind.....	11
5 Auswahl der Prüfverfahren unter Berücksichtigung der Verwertung/Wiederverwendung von Böden und Bodenmaterial und von Bodenfunktionen.....	12
5.1 Die Anwendung von Ökotoxizität-Prüfreiheiten.....	12
5.2 Allgemeine Kriterien für die Auswahl von Prüfungen.....	12
5.3 Berücksichtigungen bei der Untersuchung von Bodenfunktionen.....	13
5.3.1 Rückhaltefunktion	13
5.3.2 Lebensraumfunktion.....	13
6 Probenahme, Transport, Lagerung und Probenvorbehandlung.....	16
7 Anwendungsbeschränkungen der vorgeschlagenen biologischen Prüfverfahren für Böden/Bodenmaterialien.....	16
Anhang A (informativ) Vereinheitlichte Datenblätter zu empfohlenen Prüfverfahren.....	17
Literaturhinweise.....	54

Nationales Vorwort

Das internationale Dokument (ISO/DIS 15799:2017) ist unverändert in diesen Norm-Entwurf übernommen worden.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Unterausschuss NA 119-01-02-04 UA „Biologische Verfahren“ im DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW).

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 internationalen Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 6341	siehe DIN EN ISO 6341
ISO 7346	siehe DIN EN ISO 7346 (alle Teile)
ISO 8692	siehe DIN EN ISO 8692
ISO 10253	siehe DIN EN ISO 10253
ISO 10381-6	siehe DIN ISO 10381-6
ISO 10872	siehe DIN ISO 10872
ISO 11063	siehe DIN EN ISO 11063
ISO 11074	siehe DIN EN ISO 11074
ISO 11267	siehe DIN EN ISO 11267
ISO 11268-1	siehe DIN EN ISO 11268-1
ISO 11268-2	siehe DIN EN ISO 11268-2
ISO 11269-1	siehe DIN EN ISO 11269-1
ISO 11269-2	siehe DIN EN ISO 11269-2
ISO 11348 (all parts)	siehe DIN EN ISO 11348 (alle Teile)
ISO 14238	siehe DIN EN ISO 14238
ISO 14240-1	siehe DIN EN ISO 14240-1
ISO 14240-2	siehe DIN EN ISO 14240-2
ISO 15088	siehe DIN EN ISO 15088
ISO 15685	siehe DIN ISO 15685
ISO 15952	siehe DIN EN ISO 15952
ISO 16072	siehe DIN EN ISO 16072
ISO 16387	siehe DIN EN ISO 16387
ISO 17155	siehe DIN ISO 17155
ISO/DIS 18400-206	siehe E DIN ISO 18400-206
ISO 18772	siehe DIN EN ISO 18772

ISO 19204	siehe DIN ISO 19204
ISO 20079	siehe DIN EN ISO 20079
ISO 22030	siehe DIN EN ISO 22030
ISO 23611-6	siehe DIN EN ISO 23611-6
ISO 23753-1	siehe DIN EN ISO 23753-1
ISO 23753-2	siehe DIN EN ISO 23753-2
ISO 29200	siehe DIN ISO 29200
ISO/TS 22939	siehe DIN ISO/TS 22939 (DIN SPEC 91203)
ISO/TS 29843-1	siehe DIN CEN ISO/TS 29843-1 (DIN SPEC 91201-1)
ISO/TS 29843-2	siehe DIN CEN ISO/TS 29843-2 (DIN SPEC 91201-2)

Änderungen

Gegenüber DIN ISO 15799:2004-05 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) vereinheitlichte Datenblätter zu empfohlenen Prüfverfahren in Anhang A wurden aktualisiert und angepasst (z. B. ISO 20963 gestrichen und ISO 18311, ISO 18187 sowie Verfahren zur DNA-Analyse ergänzt);
- b) die Norm wurde redaktionell überarbeitet.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN CEN ISO/TS 29843-1 (DIN SPEC 91201-1), *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Diversität von Bodenmikroorganismen — Teil 1: Verfahren mittels Phospholipidfettsäure(PLFA)-Analyse und Phospholipidetherlipid(PLEL)-Analyse*

DIN CEN ISO/TS 29843-2 (DIN SPEC 91201-2), *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Diversität von Bodenmikroorganismen — Teil 2: Verfahren mittels Phospholipidfettsäure(PLFA)-Analyse unter Verwendung des einfachen PLFA-Extraktionsverfahrens*

DIN EN ISO 6341, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der Hemmung der Beweglichkeit von Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea) — Akuter Toxizitäts-Test*

DIN EN ISO 7346 (alle Teile), *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der akuten letalen Toxizität von Substanzen gegenüber einem Süßwasserfisch [Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)]*

DIN EN ISO 8692, *Wasserbeschaffenheit - Süßwasseralgen-Wachstumshemmtest mit einzelligen Grünalgen*

DIN EN ISO 10253, *Wasserbeschaffenheit — Wachstumshemmtest mit marinen Algen Skeletonema costatum und Phaeodactylum tricornutum*

DIN EN ISO 11063, *Bodenbeschaffenheit — Verfahren zur direkten Extraktion von DNA aus Bodenproben*

DIN EN ISO 11074, *Bodenbeschaffenheit — Wörterbuch*

DIN EN ISO 11267, *Bodenbeschaffenheit — Hemmung der Reproduktion von Collembolen (Folsomia candida) durch Verunreinigungen*

DIN EN ISO 11268-1, *Bodenbeschaffenheit — Wirkungen von Schadstoffen auf Regenwürmer — Teil 1: Bestimmung der akuten Toxizität auf Eisenia fetida/Eisenia andrei*

DIN EN ISO 11268-2, *Bodenbeschaffenheit — Wirkungen von Schadstoffen auf Regenwürmer — Teil 2: Bestimmung der Wirkung auf die Reproduktionsleistung von Eisenia fetida/Eisenia andrei*

DIN EN ISO 11269-1, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Wirkungen von Schadstoffen auf die Bodenflora — Teil 1: Verfahren zur Messung der Wurzelwachstumshemmung*

DIN EN ISO 11269-2, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Wirkungen von Schadstoffen auf die Bodenflora — Teil 2: Wirkung von verunreinigten Böden auf Saataufbau und frühes Wachstum höherer Pflanzen*

DIN EN ISO 11348 (alle Teile), *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von Vibrio fischeri (Leuchtbakterientest)*

DIN EN ISO 14238, *Bodenbeschaffenheit — Biologische Verfahren — Bestimmung der Stickstoffmineralisierung und -nitrifizierung in Böden und der Einflüsse von Chemikalien auf diese Prozesse*

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

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

DIN EN ISO 15088, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der akuten Toxizität von Abwasser auf Zebrafisch-Eier (Danio rerio)*

DIN EN ISO 15952, *Bodenbeschaffenheit — Wirkungen von Schadstoffen auf Jungtiere von Landschnecken — Bestimmung der Wirkungen auf das Wachstum durch Bodenverunreinigung*

DIN EN ISO 16072, *Bodenbeschaffenheit — Laborverfahren zur Bestimmung der mikrobiellen Bodenatmung*

DIN EN ISO 16387, *Bodenbeschaffenheit — Wirkungen von Verunreinigungen auf Enchytraeidae (Enchytraeus sp.) — Bestimmung der Wirkungen auf die Reproduktion*

DIN EN ISO 18772, *Bodenbeschaffenheit — Anleitung für Elutionsverfahren für die nachfolgende chemische und ökotoxikologische Prüfung von Böden und Bodenmaterialien*

DIN EN ISO 20079, *Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der toxischen Wirkung von Wasserinhaltsstoffen und Abwasser gegenüber Wasserlinsen (Lemna minor) — Wasserlinsen-Wachstumshemmtest*

DIN EN ISO 22030, *Bodenbeschaffenheit — Biologische Verfahren — Chronische Toxizität in höheren Pflanzen*

DIN EN ISO 23611-6, *Bodenbeschaffenheit — Probenahme von Wirbellosen im Boden — Teil 6: Anleitung für die Planung der Probenahme von Wirbellosen im Boden*

DIN EN ISO 23753-1, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität in Böden — Teil 1: Verfahren mit Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)*

DIN EN ISO 23753-2, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität in Böden — Teil 2: Verfahren mit Iodotetrazoliumchlorid (INT)*

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 ISO 10872, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der toxischen Wirkung von Sediment- und Bodenproben auf Wachstum, Fertilität und Reproduktion von Caenorhabditis elegans (Nematoda)*

DIN ISO 15685, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der potentiellen Nitrifizierung und Hemmung der Nitrifizierung — Schnellverfahren mittels Ammoniumoxidation*

DIN ISO 17155, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Abundanz und Aktivität der Bodenmikroflora mit Hilfe von Atmungskurven*

DIN ISO 19204, *Bodenbeschaffenheit — Vorgehensweise zur standortbezogenen ökologischen Risikobewertung von Bodenverunreinigungen (TRIAD-Ansatz zur Bewertung der Bodenbeschaffenheit)*

DIN ISO 29200, *Bodenbeschaffenheit — Beurteilung der genotoxischen Wirkungen auf höhere Pflanzen — Mikrokern-Prüfung mit Vicia faba*

DIN ISO/TS 22939 (DIN SPEC 91203), *Bodenbeschaffenheit — Messung von Enzymaktivitätsmustern in Bodenproben mit fluorogenen Substraten in Mikrotiterplatten*

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*

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 der ISO durchgeführt. Jede Mitgliedskörperschaft, die sich für ein Thema interessiert, für das ein Technisches Komitee eingesetzt wurde, ist berechtigt, in diesem Komitee mitzuarbeiten. Internationale (staatliche und nichtstaatliche) Organisationen, die mit der ISO in Verbindung stehen, sind an den Arbeiten ebenfalls beteiligt. Die ISO arbeitet bei allen Angelegenheiten der elektrotechnischen Normung eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

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. Insbesondere die für die verschiedenen ISO-Dokumententypen notwendigen Annahmekriterien sollten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Besonders zu beachten ist, dass einige der Elemente dieses Dokuments Gegenstand von Patentrechten sein können. ISO darf nicht für die Kennzeichnung einiger oder all dieser Patentrechte verantwortlich gemacht werden. 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).

Alle in diesem Dokument verwendeten Handelsnamen werden als Information zum Nutzen der Anwender angegeben und stellen keine Empfehlung dar.

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

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 190, *Soil quality*, Unterkomitee SC 7, *Soil and site assessment* erarbeitet.

Diese zweite Ausgabe ersetzt die erste Ausgabe (ISO 15799:2003), die technisch überarbeitet wurde.

Im Vergleich zur vorherigen Ausgabe wurden die folgenden wesentlichen Änderungen vorgenommen:

- standardisierte Formen empfohlener Prüfsysteme in Anhang A wurden ergänzt und aktualisiert (z. B. wurden ISO 20963 gelöscht und ISO 18311, ISO 18187 hinzugefügt);

Einleitung

Die Mehrzahl der vorhandenen genormten „ökotoxikologischen“ Prüfverfahren (Biotests) wurde erarbeitet, um das ökotoxische Potential einer Prüfsubstanz, die einem Boden oder Bodenmaterial zugegeben wurde, zu beschreiben. Diese Verfahren können mit einigen Änderungen auch zur ökotoxikologischen Beschreibung von Böden und Bodenmaterial mit Bezug auf deren Funktion in Abhängigkeit von der beabsichtigten Nutzung eingesetzt werden. Biotests stellen eine Ergänzung zur herkömmlichen chemischen Analyse dar. Ergebnisse chemischer Untersuchungen können für ökotoxikologische Untersuchungen herangezogen werden, wenn Informationen zu Einzelsubstanzen vorliegen, einschließlich der Eigenschaften der Chemikalien, z. B. über das Bioakkumulationspotential. Diese Art der Information ist häufig gering (falls sie überhaupt vorhanden ist) und enthält keine Angaben zu möglichen Interaktionen (Synergismen/Antagonismen) zwischen den Chemikalien und der komplexen Bodenmatrix. Darüber hinaus ist eine umfassende Bestimmung und Quantifizierung von Substanzen praktisch nicht durchführbar. Deshalb können ökotoxikologische Prüfungen von Böden zur Untersuchung der potentiellen Toxizität der komplexen Mischung von Chemikalien verwendet werden. Die Extrapolation von der Laborprüfung zu den tatsächlichen Umweltbedingungen erfordert die angemessene Berücksichtigung wesentlicher Umweltfaktoren bei den Prüfungsbedingungen sowie die Auswahl geeigneter ökotoxikologischer Endpunkte.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument gehört zu einer Reihe von Normen, die Anleitungen zur Charakterisierung von Böden und Bodenmaterial mit Bezug zu bestimmten Funktionen und Nutzungen enthalten, einschließlich Erhalt der Biodiversität. Es gilt in Verbindung mit den anderen Normen dieser Reihe. Diese Internationale Norm enthält eine Anleitung für die Auswahl der Untersuchungsverfahren zur Bestimmung des ökotoxikologischen Potentials von Böden und Bodenmaterial (z. B. Bodenaushub, saniertes Bodenmaterial, Verfüllmaterial, Aufschüttungen) mit Berücksichtigung ihrer vorgesehenen Nutzung sowie möglicher schädlicher Wirkungen auf aquatische Lebewesen und Bodenlebewesen. Dies ist ein Abbild der Wirksamkeit der Lebensraum- und Rückhaltefunktion. Tatsächlich sind die in diesem Dokument aufgeführten Verfahren für die Verwendung mit einem TRIAD-Ansatz geeignet, d. h. für eine ökologische Bewertung potentiell kontaminierter Böden (siehe ISO 19204).

Dieses Dokument enthält keine Prüfverfahren zur Bestimmung der Bioakkumulation.

Dieses Dokument ist nicht für die ökologische Bewertung von nicht verunreinigten Böden mit naturnaher, landwirtschaftlicher oder forstwirtschaftlicher Nutzung anwendbar. Solche Böden sind jedoch von Interesse als Referenzböden für die Bewertung von Böden aus verunreinigten Standorten.

Die Auswertung von Ergebnissen, die nach den vorgeschlagenen Verfahren erhalten werden, ist nicht Gegenstand dieses Dokuments.

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:

- IEC Electropedia: unter <http://www.electropedia.org/>
- ISO Online browsing platform: unter <https://www.iso.org/obp>

3.1 Boden und Bodenmaterial

3.1.1

Boden

obere Schicht der Erdrinde, die aus mineralischen Teilchen, organischer Substanz, Wasser, Luft und lebendigen Organismen besteht

[QUELLE: ISO 11074:2015]

3.1.2

Bodenmaterial

Bodenaushub, Baggergut, künstlich hergestellte Böden, sanierte Böden und Auffüllungsböden

3.1.3

Bodenaushub

jedes natürliche Material, das ausgehoben wurde und üblicherweise bei Baumaßnahmen anfällt, einschließlich Oberboden, Unterboden, verwittertes Ausgangsgestein sowie das Ausgangsgestein selbst

[QUELLE: ISO 15176:2002]

3.1.4

Standardboden

im Feld entnommener Boden, dessen wesentliche Eigenschaften (z. B. pH-Wert, Gehalt an organischer Substanz) innerhalb eines bekannten Mittelwert-Bereichs¹⁾ bezüglich der Bodeneigenschaften liegen

3.1.5

Lebensraumfunktion

Eigenschaft von Boden/Bodenmaterialien, als Lebensraum für Mikroorganismen, Pflanzen, Bodenlebewesen und deren Interaktionen (Biozönose) zu dienen

3.1.6

Rückhaltefunktion

Eigenschaft von Böden/Bodenmaterialien, Schadstoffe so zu absorbieren, dass diese nicht über den Wasserpfad mobilisiert und in die Nahrungskette verlagert werden können

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Lebensraum- und Rückhaltefunktionen schließen die folgenden Bodenfunktionen nach ISO 11074:2015 ein:

- Steuerung von Stoff- und Energiekreisläufen als Kompartiment von Ökosystemen;
- Grundlage für das Leben von Pflanzen, Tieren und Menschen;
- Träger von genetischem Reservoir;
- Grundlage für den Ertrag landwirtschaftlicher Produkte;
- Pufferung der Verlagerung des Wassers, von Kontaminanten oder anderen Substanzen in das Grundwasser.

3.1.7

bodengefährdender Stoff

Stoffe oder Wirkstoffe im Boden, von denen auf Grund ihrer Eigenschaften, Menge oder Konzentration eine Beeinträchtigung der Bodenfunktion und der Bodennutzung ausgeht

Anmerkung 1 zum Begriff: Siehe auch **Kontaminant** (2.2.4) und **potentieller Schadstoff** (2.2.5).

[QUELLE: ISO 11074:2015]

3.1.8

Kontaminant

Stoff oder Wirkstoff im Boden als Ergebnis menschlicher Tätigkeit

Anmerkung 1 zum Begriff: Es wird in dieser Definition nicht davon ausgegangen, dass Schaden aus der Anwesenheit des Kontaminants herrührt – siehe auch **Schadstoff** (2.2.3) und **potenziell gefährdender Stoff** (2.2.5).

[QUELLE: ISO 15176:2002]

3.1.9

potentieller Schadstoff

Stoff, der bei Vorliegen ausreichender Konzentration oder Menge schädlich für Menschen und die Umwelt sein kann; er kann als Ergebnis menschlicher Tätigkeit (**Kontaminant**) oder natürlich vorliegen

[QUELLE: ISO 15176:2002]

1) Ein Beispiel für Standardböden sind „Eurosoils“ (siehe [28] in den Literaturhinweisen)

3.2 Fläche und Standorte

3.2.1

Wiederverwendung

nützliche und schadlose Verwendung von Bodenmaterialien

Anmerkung 1 zum Begriff: Für die Zwecke dieser Internationalen Norm wird unter Wiederverwendung die Verbringung von Bodenmaterial zu einem anderen Standort zur Anwendung in der Landwirtschaft, im Gartenbau, in der Forstwirtschaft, in Parks, in Erholungsbereichen und bei Baumaßnahmen verstanden.

[QUELLE: ISO 15176:2002]

4 Anwendungsbereich

4.1 Böden und Standorte, für die ökotoxikologische Prüfverfahren berücksichtigt werden sollten:

- Prüfung der Fähigkeit eines Bodens, natürliche Biozönosen oder landwirtschaftliche Nutzung nachhaltig sicherzustellen;
- Prüfung der kombinierten Ökotoxizität aller in Böden oder Bodenmaterialien vorhandenen bioverfügbaren Kontaminanten;
- Prüfung der Ökotoxizität potentieller Schadstoffe in Fällen, wo Boden/Bodenmaterial Grund- und Oberflächenwasser beeinträchtigen kann;
- Prüfung der Ökotoxizität von gering kontaminierten Böden oder Bodenmaterialien (Verfüllungen, Aufschüttungen) (bis 1 m Tiefe), die ohne weitere Behandlung am Standort verbleiben können;
- Nachweis der Potentiellen Ökotoxizität, die nicht über chemische Analysen erfasst werden kann;
- Überwachung und Steuerung des Erfolgs der Bodenbehandlung (Off-Site, On-Site, In-situ);
- Überwachung und Steuerung von Böden/Bodenmaterialien, die gereinigt wurden und an der Oberfläche wieder eingebaut werden können.

4.2 Böden und Standorte, für die ökotoxikologische Prüfungen nicht erforderlich sind

Vorausgesetzt, dass Grundwasser-Verunreinigung ausgeschlossen werden kann, sind ökotoxikologische Prüfungen in den folgenden Fällen nicht erforderlich:

- bei verunreinigten Böden, die als gefährlicher Abfall eingestuft sind oder eindeutig durch chemische/analytische Parameter gekennzeichnet sind. In solchen Fällen kann eine ökotoxikologische Prüfung im Rahmen einer Abschlussuntersuchung nach Sanierung und zur Prozesskontrolle bei der biologischen Reinigung (Remediation) sinnvoll sein;
- bei gewerblich/industriell genutzten Flächen ohne Absichten diese einer gartenbaulichen/landwirtschaftlichen Nutzung zuzuführen;
- bei Bodenmaterial oder Verfüllungsmaterialien in einem Bereich, der wirksam versiegelt wird durch Überbauung oder andere Arten geringdurchlässiger Abdeckungen, wie Beton, Teer oder Asphalt.

5 Auswahl der Prüfverfahren unter Berücksichtigung der Verwertung/Wiederverwendung von Böden und Bodenmaterial und von Bodenfunktionen

5.1 Die Anwendung von Ökotoxizität-Prüfreiheiten

Toxische Stoffe können verschiedene Arten (in einigen Fällen Genotypen) in einem Ökosystem bei unterschiedlichen Konzentrationen beeinflussen. Der ideale Ansatz für eine vollständige ökotoxikologische Charakterisierung von Schadstoffen ist, eine Reihe von Prüfungen mit mehreren Arten, die zu verschiedenen taxonomischen und trophischen Gruppen gehören, zu verwenden, um falsche negative Ergebnisse durch Anpassung eines Prüfsystems (genotypische Veränderungen) an einen speziellen Schadstoff im Vergleich mit nicht verunreinigten Böden zu vermeiden. Solche Untersuchungen unter Feld- oder ähnlichen Bedingungen werden selten durchgeführt und können sehr teuer sein.

Die ideale Situation kann vereinfacht durch die Einführung einfacherer Prüfstrategien und der Anwendung von Sicherheitsfaktoren für die erhaltenen Ergebnisse erhalten werden. Die Diversität der Arten in Bezug auf die Sensibilität gegenüber toxischen Stoffen ist jedoch so wichtig, dass sie zu einer hohen Unsicherheit der Ergebnisse führt, wenn die Prüfung nur an einer Art oder Funktion durchgeführt wird. Es wird deshalb empfohlen, die Prüfung mindestens unter Berücksichtigung eines mikrobiellen Prozesses, einer Art des Pflanzenreichs und einer Art des Tierreichs, bei letzterer wird dies üblicherweise eine saprophage/detrivore Art sein, auszuführen; werden mehrere Arten geprüft, dann sollte eine predatorische Art in die Prüfreihe einbezogen werden. Die Mindestanzahl der zu prüfenden Arten hängt von den Regelungen ab, denen die Prüfreihe entsprechen muss. Diese Internationale Norm beschreibt nur die Grundlagen ihrer Anwendung. Weitere Betrachtungen für die Auswahl für Prüfungen, die Bodenorganismen verwenden, enthält 5.3.

5.2 Allgemeine Kriterien für die Auswahl von Prüfungen

Kriterien für die Auswahl von Ökotoxizitätstests wurden im Zusammenhang mit Gefährdungsabschätzungen und der Klassifikation von Chemikalien aufgestellt. Diese Kriterien sollten ebenfalls für die ökotoxikologische Charakterisierung von verunreinigten Böden angewendet werden. Kriterien waren: wissenschaftliche Validierung, ökologische Bedeutung, Praktikabilität und Akzeptanz (siehe [27] und [28]).

Die grundlegenden Anforderungen, die Prüfverfahren erfüllen müssen, um als Internationale Normen akzeptiert werden zu können, sind die Reproduktionsleistung, die statistische Validierung, die allgemeine Akzeptanz und Durchführbarkeit.

Die Wichtigkeit eines Kriteriums hängt von der jeweiligen Situation ab. Entscheidungen sind dahingehend zu treffen, welche Kriterien sehr wichtig sind oder durch praktische Überlegungen verändert werden müssen, z.B. die einfache Zucht von Prüforganismen im Laboratorium oder die Verfügbarkeit verschiedener Lebensstadien für eine Prüfung im Jahresverlauf.

Die in diesem Dokument enthaltenen und empfohlenen Prüfverfahren wurden für Gefährdungsabschätzungen von Chemikalien erarbeitet und international harmonisiert (z. B. durch ISO, OECD und EU). In den meisten dieser Prüfverfahren wurde die Möglichkeit der Anpassung des Prüfschemas für Zwecke, wie im Anwendungsbereich dieser Internationalen Norm beschrieben, vorgesehen. Zusätzlich hängt die Auswahl der ökotoxikologischen Prüfverfahren zur Untersuchung von Böden/Bodenmaterialien von ihrer beabsichtigten Verwertung/Wiederverwendung und den schützenswerten Bodenfunktionen ab, insbesondere der Rückhalte- und der Lebensraumfunktion.

Tabelle 1 enthält ein Beispiel für ein Entscheidungsschema auf der Grundlage der relevanten Funktionen.

Tabelle 1 — Bedeutung ökotoxikologischer Prüfverfahren für die beabsichtigte Wiederverwendung des Bodens

Wiederverwendung von Böden	Bodenfunktion		
	Rückhaltefunktion	Lebensraumfunktion	
	Aquatische Organismen	Pflanzenwachstum	Bodenbiozönose
	Bestimmung biologischer Wirkungen		
unterhalb versiegelter Flächen	gering ^a	gering	gering
gewerbliche und industriell genutzte unversiegelte Flächen	hoch	gering	gering
Deponieabdeckung	hoch	hoch	gering
Grünflächen, Parks und Erholungsgebiete	hoch	hoch	hoch
gärtnerisch und landwirtschaftlich genutzte Flächen	hoch	hoch	hoch
^a gilt nur für die ungesättigte Bodenzone			

5.3 Berücksichtigungen bei der Untersuchung von Bodenfunktionen

5.3.1 Rückhaltefunktion

Der Transport über die Wasserphase (löslich, kolloidal und partikulär) spielt eine herausragende Rolle in der Gefährdungseinschätzung von kontaminierten Böden. Dies nicht nur, weil Wasser Kontaminanten mobilisieren kann, sondern auch, weil Kontaminanten und Metabolite in der Wasserphase eine potentiell schädigende Wirkung auf Mikroorganismen, Pflanzen und die Bodenfauna haben.

Wässrige Eluate sind für die Prüfung ökotoxischer Wirkungen auf Organismen über den Wasserpfad geeignet. Es sollte berücksichtigt werden, dass Stoffe, die durch Wasser mobilisiert wurden, weiteren Veränderungen, z. B. Metabolismus oder Hydrolyse beim Transport ins Grundwasser und von dort in Oberflächengewässer unterliegen können und Konzentrationen durch Verdünnung verringert werden. Darüber hinaus können Stoffe über größere Zeiträume aufgrund von Änderungen der Umwelt (z. B. pH-Wert, chemische und biologische Transformationen) mobilisiert werden. Eluate können als frühe Indikatoren für die Verunreinigung von Poren- und Grundwasser dienen, bevor es zu einer Beeinträchtigung von Oberflächengewässern und Trinkwasser kommt.

Bei diesen Bedingungen ist die Untersuchung des Grundwassers und von Eluaten von besonderer Bedeutung, unabhängig von der beabsichtigten Bodennutzung.

5.3.2 Lebensraumfunktion

5.3.2.1 Allgemeines

Die Eignung des Bodens für lebende Organismen kann am besten durch Prüfverfahren erfolgen, die Organismen und Prozesse einschließen, die für verschiedene taxonomische Gruppen repräsentativ sind.

5.3.2.2 Bodenmaterial als Kontrolle für biologische Untersuchungen an festen Matrices

Prinzipiell werden in ökotoxikologischen Prüfungen jegliche in einer Behandlung gemessenen Endpunkte mit denen, die in der Kontrolle gemessen wurden, verglichen.

Um die Eignung eines Bodens als Lebensraum von Bodenorganismen zu prüfen, ist es erforderlich, den verunreinigten Boden oder Bodenmaterial mit einem Kontrollmaterial zu vergleichen, das auch zur Herstellung von Verdünnungsreihen mit der verunreinigten Probe verwendet wird.

Verschiedene Arten von Kontrollmaterial können verwendet werden:

- ein nicht verunreinigter Boden mit bodenkundlichen Eigenschaften, die denen der zu prüfenden Probe vergleichbar sind;
- ein inertes Material (z. B. Quarzsand);
- ein zertifizierter natürlicher Boden (z. B. Standard-Boden);
- ein genormter künstlicher Boden (siehe ISO 11268-1, ISO 11268-2 und ISO 11267).

Die Wahl zwischen diesen Kontrollmaterialien sollte vollständig abhängig von den Zielen der ökotoxikologischen Untersuchungen, der Art der angewendeten biologischen Verfahren und den Anforderungen der Prüforganismen sein. Diese Anleitung kann nicht für alle biologischen Verfahren verallgemeinert werden. Darüber hinaus kann die Zugabe von Sand zu einem Boden oder Bodenmaterial zu einer dichten Mischung führen, die mit dem Wachstum und der Entwicklung vieler Organismen (z. B. Pflanzenwachstums-Prüfungen) nicht vereinbar ist. Falls es für die genauere Nachbildung der natürlichen Umwelt der Organismen vorteilhaft ist, sollte ein komplexeres Kontrollmaterial (z. B. künstlicher Boden) zur Verdünnung verwendet werden, auch wenn dieses mit den Schadstoffen reagieren sollte. Die Einbringung eines Organismus in ein Medium, das nicht die wesentlichen Eigenschaften seines natürlichen Lebensraums erfüllt, kann Stress auslösen.

- Wird eine Dosis-Wirkungs-Kurve benötigt, kann eines der oben genannten Kontrollmaterialien zur Verdünnung des verunreinigten Substrats verwendet werden.
- Wenn das Ziel der Untersuchung die Klassifizierung von Boden oder Bodenmaterial aufgrund der ökotoxikologischen Gefahren ist, sollte vorzugsweise inertes Material (z. B. Quarzsand) verwendet werden, das nicht mit den in der Probe vorhandenen Schadstoffen reagiert und dessen Zusammensetzung und Körnung vereinheitlicht werden kann.

Die Anforderungen an das Kontrollmaterial müssen die unterschiedlichen Bodennutzungen sowie Art und Herkunft des Bodens (z. B. Boden in ungestörter Lagerung, Verfüllungsmaterial, Bodenaushub, sanierter Boden) in Betracht ziehen. Nährstoffmangel sowie die physische Beschaffenheit können Unterschiede im Pflanzenwachstum und Tierverhalten verursachen, die nicht unbedingt auf die Schadstoffsituation und das Gefährdungspotential zurückzuführen sind.

- Wenn das Ziel die Bewertung der Ökotoxizität eines Bodens oder eines Bodenmaterials eines verunreinigten Standorts ist, ist die Verwendung eines nicht verunreinigten Kontrollmaterials zu bevorzugen, das eine vergleichbare Beschaffenheit wie die zu untersuchende Probe aufweist.
- Wenn das Ziel der Bewertung der Ökotoxizität eines Bodens oder eines Bodenmaterials ist, das für einen bestimmten Zweck wieder verwendet werden kann, ist die Verwendung eines Materials als Kontrollmaterial zu bevorzugen, das in Zukunft mit Boden oder Bodenmaterial vermischt werden darf.

5.3.2.3 Boden als Substrat (Medium) für Bodenmikroorganismen

Die Bodenmikroflora bildet durchschnittlich 80 % der Masse der im Boden lebenden Organismen. Zusammen mit der Mikrofauna sind die wesentlichen Funktionen der Mikroflora die Zersetzung und der Abbau komplexer organischer Substanzen in einfach verfügbare Nährstoffe und damit die Aufrechterhaltung der natürlichen Stoffkreisläufe des Kohlenstoffs, Stickstoffs, Phosphors und Schwefels.

Die substrat-induzierte Atmung ist ein Indikator für die mikrobielle Populationsdichte.

Nitrifizierende Bakterien, die für die Oxidation des Ammoniums in Nitrit und vom Nitrit in Nitrat verantwortlich sind, gehören zu einer sehr empfindlich reagierenden Mikroorganismusgruppe. Eine verringerte Nitrifizierung muss nicht unbedingt zu Veränderungen des Ökosystems führen, kann jedoch als empfindlicher Indikator für die Hemmung eines wichtigen Bodenprozesses verwendet werden.

Der Zweck der Bestimmung der mikrobiellen Bodenmasse oder anderer mikrobieller Prozesse in Böden liegt in der Bestimmung der nachhaltigen Bodenfruchtbarkeit, der möglichen Eignung zum Abbau organischen Materials und der Wirkung von applizierten Materialien auf die mikrobielle Lebensgemeinschaft.

5.3.2.4 Boden als Substrat für das Pflanzenwachstum

Nach den Mikroorganismen weisen Pflanzenwurzeln die größte biologische Oberfläche im Boden auf. Ihre Kontaktflächen mit Bodenpartikeln werden durch vorhandene Wurzelhaare und mycorrhizale Gemeinschaften (VA-Pilzwurzeln mit Kulturpflanzen und zusätzlich Ectomycorrhizae mit verholzten Pflanzen) vergrößert.

Wie auch für andere empfohlene Bioprüfverfahren sind Prüfungen mit höheren Pflanzen entworfen worden, um die Bioverfügbarkeit und Wirkung von Schadstoffen zu untersuchen, die durch chemische Analysenverfahren entsprechend bestimmt oder nicht bestimmt wurden. Durch Einhalten einer Prüfzeit von mindestens 14 d sind kurzfristige Veränderungen des Bodens durch die Prüfpflanze selbst berücksichtigt.

Die Anreicherung von Schadstoffen in Pflanzen, ihre Metabolisierung und die Wirkungen auf Verbraucher sind nicht Gegenstand der Prüfung. Sie sind nicht anwendbar, um die Bodenfruchtbarkeit und die Produktivität eines Bodens zu ermitteln.

5.3.2.5 Boden als Substrat für bodenbewohnende Fauna

- Bodentiere erfüllen im Wesentlichen die vier folgenden Funktionen:
- mechanische Bodenbewegungen (Entwässerung, Belüftung, Durchmischung, mechanische Vermengung);
- chemische Veränderungen (verstärkte Verfügbarkeit von Nitrat und Phosphat aus Exkrementen, beschleunigte Bildung von Ton-Humus-Komplexen, nachdem das Substrat den Darmtrakt passiert hat);
- biologische Veränderungen (Verteilung von Mikroorganismen in der Bodenmatrix, synergistische Wirkungen durch Anregung der mikrobiellen Aktivität und Zersetzung von organischer Substanz);
- signifikante Verbindungen der Nahrungskette.

Für die Untersuchung der Wirkungen von Schadstoffen auf die Bodenfauna sind Kurzzeit- und Langzeitprüfungen verfügbar. Zur Prüfung der Lebensraumfunktion wird zum Teil die Beschreibung über subletale Prüfparameter empfohlen.

Da ein einzelnes Prüfverfahren die riesige Anzahl der sehr unterschiedlichen Wirbellosen ungenügend erfassen kann, sollte eine Prüfreihe verwendet werden. Die folgenden Kriterien sollten bei der Auswahl der einzelnen Prüforganismen beachtet werden:

- trophisches Niveau: z. B. saprophage und räuberische Arten sollten enthalten sein;
- taxonomische/physiologische Gruppen: um die Artenvielfalt der Bodengemeinschaft abzudecken, sind zumindest Repräsentative von Anneliden und Arthropoden zu wählen;
- Größenklasse/Explosivbahn: Micro-, Meso- und Makrofaunaarten repräsentieren nicht nur verschiedene Größenklassen, sondern auch unterschiedliche Lebensweisen und deshalb Wege der Aussetzung (z. B. Porenwasser gegen Nahrungsaufnahme);
- ökologische Rolle: mindestens boden- und abfallbewohnende Arten sind zu berücksichtigen.

Ausschließlich international genormte Verfahren sollten verwendet werden.

6 Probenahme, Transport, Lagerung und Probenvorbehandlung

Bevor die Bodenbeschaffenheit durch eines der vorgeschlagenen Verfahren untersucht wird, sind Bodenproben von dem zu untersuchenden Standort zu entnehmen (ISO 23611-6). Die Entnahme von Bodenproben sollte durch geschulte Fachleute mit ausreichender Kenntnis über die Probenahme, die Handhabung von Proben und Sicherheitsmaßnahmen auf verunreinigten Standorten und Probenahmestellen erfolgen. Die Probenahmestrategie und -durchführung hängt ab von dem zu untersuchenden Standort, der Art der Verunreinigung und dem Zweck der biologischen Prüfungen (z. B. Quantität der Bodenproben kann zwischen 100 g und 100 kg schwanken, je nachdem, welche Prüfung gewählt wird).

Alle Daten über die Probenahme, den Transport und die Probenvorbehandlung sind aufzuzeichnen. Anleitungen zur Planung von Probenahmeprogrammen, Probenahmetechniken, Sicherheit, der Untersuchungen von Kulturböden, städtischen und industriell genutzten Standorten sowie zur Entnahme, Handhabung und Lagerung von Boden für die Ermittlung aerober/anaerober mikrobieller Prozesse unter Laborbedingungen enthält ISO 10381-6. Ein neuer Leitfaden zur Entnahme, Behandlung und Lagerung von Boden für die Beurteilung von biologischen funktionalen und strukturellen Endpunkten im Labor befindet sich in Vorbereitung (ISO/DIS 18400-206). Für die Vorbereitung von Eluaten für die Prüfung der Rückhaltefunktion mit aquatischen Prüfverfahren werden ISO 18772 und EN 14735 empfohlen.

7 Anwendungsbeschränkungen der vorgeschlagenen biologischen Prüfverfahren für Böden/Bodenmaterialien

Die biologischen Prüfsysteme sind nur für einen eingeschränkten Bereich flüchtiger Schadstoffe geeignet. Zu diesem Zweck sollten andere Verfahren entwickelt werden. Ebenso kann die Wirkung organischer Schadstoffe, die unter aeroben Bedingungen leicht abbaubar sind, mit den beschriebenen Verfahren nur unvollständig nachgewiesen werden. In diesen Fällen sollten alternative Verfahren für die Probenahme und Probenvorbehandlung angewendet werden.

Die in A.1 und A.2 vorgeschlagenen terrestrischen und aquatischen Prüfverfahren wurden für die Ermittlung des ökotoxischen Potentials von Chemikalien entwickelt. Die Charakterisierung von Böden oder Bodeneluaten war nicht das eigentliche Anwendungsgebiet. Die Verfahren müssen daher an die spezifischen Anforderungen der Untersuchung von Böden und Standorten angepasst werden.

Anhang A (informativ)

Vereinheitlichte Datenblätter zu empfohlenen Prüfverfahren

A.1 Terrestrische Prüfverfahren

A.1.1 Bodenfauna

A.1.1.1 Collembolen – Wirkungen auf die Reproduktionsleistung

1. Titel des Prüfverfahrens	Bodenbeschaffenheit — Hemmung der Reproduktion von Collembolen (<i>Folsomia candida</i>) durch Bodenkontaminationen
2. Harmonisierung	international
3. Referenzen	ISO 11267
4. Kurzbeschreibung	Bestimmung der Wirkung auf die Reproduktionsleistung von Springschwänzen über einen Prüfzeitraum von vier Wochen
5. Art der Prüfung	statisch subchronisch
6. Prüforganismen	Springschwänze
Anzuchtarten	<i>Folsomia candida</i> Willem 1902
Alter	10 d bis 12 d
Ernährung	Trocken-Hefe
7. Prüfsubstrat	künstlicher Boden, kontaminierter Boden
Volumen	30 g (Frischmasse)/Behälter
8. Prüfbedingungen	
Prüfkammer	abgeschlossene Prüfkammer mit Temperatur-Kontrolleinrichtung
Temperatur	20 °C ± 2 °C
pH-Wert	6 ± 0,5 für die Prüfung kontaminierter Böden pH-Wert nicht einstellen
Lichtintensität/Lichtqualität	400 lx bis 800 lx
Photoperiode	12 h : 12 h oder 16 h : 8 h
Bodenwassergehalt	40 % bis 60 % der gesamten Wasserhaltekapazität
9. Anzahl der Wiederholungen	mindestens 4
10. Prüfdauer/Inkubation	28 d
11. Negative Kontrollprobe/ Verdünnung des Bodens	Referenz- oder Standardboden (z. B. künstlicher Boden)
12. Validitätskriterien	Kontrolle: Sterblichkeit < 20 %, min. Reproduktion 100 „Jungtiere“, CV ≤ 30 %
13. Positive Kontrollprobe/ Referenzschadstoff Mittlerer EC50, CV	Borsäure oder Betosip (a.i. 157 g/l Phenmedipham)
14. Statistik	ANOVA, multipler t-Test, u-Test, Regressionsrechnung
15. Prüfparameter	Sterblichkeit der adulten Tiere, Hemmung der Reproduktionsleistung
16. Endpunkte	EC (x = % Wirkungsniveau, z. B. 10, 50), NOEC, NOER
17. Einschränkungen/ Kommentare	Die Prüfung wurde ursprünglich zur Prüfung von Substanzen entwickelt, die einem künstlichen Bodensubstrat appliziert werden. Die Prüfung ist ebenfalls für Böden und Bodenmaterialien unbekannter Qualität geeignet,

	z. B. von kontaminierten Standorten, gedüngten Böden, Böden nach Sanierung, industrielle, landwirtschaftliche oder andere zu untersuchende Standorte sowie Abfallmaterialien.
--	---

A.1.1.2 Regenwürmer – Akute Toxizität

1. Titel des Prüfverfahrens	Bodenbeschaffenheit — Wirkungen von Schadstoffen auf Regenwürmer — Teil 1: Bestimmung der akuten Toxizität auf <i>Eisenia fetida</i> / <i>Eisenia andrei</i> Messung der akuten Toxizität auf <i>Eisenia fetida</i> / <i>Eisenia andrei</i>
2. Harmonisierung	international
3. Referenzen	ISO 11268-1
4. Kurzbeschreibung	Die prozentuale Mortalität von ausgewachsenen Regenwürmern (Art: <i>Eisenia fetida</i> oder <i>Eisenia andrei</i>), die dem Prüfboden ausgesetzt sind, wird mit der von Proben, die einem Kontrollboden ausgesetzt sind, verglichen.
5. Art der Prüfung	akut, statisch
6. Prüforganismen	Regenwürmer
Anzuchtarten	<i>Eisenia fetida</i> Savigny, <i>E. andrei</i> Bouché
Alter	> 2 Monate
Ernährung	keine
7. Prüfsubstrat	Prüf- oder Standardboden (z. B. künstlicher Boden)
Volumen	500 g (Trockenmasse)
8. Prüfbedingungen	
Prüfkammer	abgeschlossene Prüfkammer mit regelbarer
Temperatur	20 °C ± 2 °C
pH-Wert	6 ± 0,5, im Feld gesammelte Böden, Boden- oder Abfallmaterialien: Boden-pH sollte nicht korrigiert werden, da dies die Bioverfügbarkeit von Bodenkontaminationen beeinflussen kann.
Lichtintensität/Lichtqualität	400 lx bis 800 lx
Photoperiode	12 h:12 h oder 16 h:8 h
Bodenwassergehalt	40 % bis 60 % Wasserhaltkapazität
9. Anz. Replikate	4
10. Prüfdauer/Inkubation	14 d
11. Negative Kontrollprobe/ Verdünnung des Bodens	Standardboden oder künstlicher Boden
12. Validitätskriterien	Kontrolle: Sterblichkeit < 10 %, Verlust an Biomasse ≤ 20 %
13. Positive Kontrollprobe/ Referenzschadstoff	Borsäure. Signifikante Wirkung auf die Mortalität sollte zwischen 3 000 mg und 4 500 mg Borsäure pro Kilogramm künstlichen Bodens (Trockenmasse) beobachtet werden.
14. Statistik	Fishers exakte Prüfung ANOVA
15. Prüfparameter	Sterblichkeit, Biomasse
16. Endpunkte	LC50 – 14 d
17. Einschränkungen/ Kommentare	Die Prüfung wurde ursprünglich zur Prüfung von Substanzen entwickelt, die einem künstlichen Bodensubstrat appliziert werden. Die Prüfung ist ebenfalls für Böden und Bodenmaterialien unbekannter Qualität geeignet, z. B. von kontaminierten Standorten, gedüngten Böden, Böden nach Sanierung, landwirtschaftlichen oder anderen, betroffenen Standorten sowie Abfallmaterialien. In einem neuen Anhang wird die Prüfungsdurchführung unter tropischen Bedingungen beschrieben. Die Prüfung wurde erfolgreich zur Bewertung von Abfällen genutzt.

A.1.1.3 Regenwürmer – Wirkungen auf die Reproduktionsleistung

1. Titel des Prüfverfahrens	Bodenbeschaffenheit — Wirkungen von Schadstoffen auf Regenwürmer — Teil 2: Bestimmung der Wirkung auf die Reproduktionsleistung von <i>Eisenia fetida</i> / <i>Eisenia andrei</i>
2. Harmonisierung	international
3. Referenzen	ISO 11268-2
4. Kurzbeschreibung	Die Wirkung auf die Reproduktion von ausgewachsenen Regenwürmern (Art: <i>Eisenia fetida</i> oder <i>Eisenia andrei</i>), die dem Prüfboden ausgesetzt sind, wird mit der auf Proben, die einem Kontrollboden ausgesetzt sind, verglichen.
5. Art der Prüfung	subchronisch, statisch
6. Prüforganismen	Regenwürmer
Anzuchtarten	<i>Eisenia fetida</i> Savigny, <i>E. andrei</i> Bouché
Alter	> 2 Monate < 1 Jahr
Ernährung	Kuhdung
7. Prüfsubstrat	Prüf- oder Standardboden (z. B. künstlicher Boden)
Volumen	500 g bis 600 g Trockenmasse
8. Prüfbedingungen	
Prüfkammer	Abgeschlossene Prüfkammer mit regelbarer
Temperatur	20 °C ± 2 °C
pH-Wert	6 ± 0,5, im Feld gesammelte Böden, Boden- oder Abfallmaterialien: Boden-pH sollte nicht korrigiert werden, da dies die Bioverfügbarkeit von Bodenkontaminationen beeinflussen kann.
Lichtintensität/Lichtqualität	400 lx bis 800 lx
Photoperiode	12 h : 12 h oder 16 h : 8 h
Bodenwassergehalt	40 % bis 60 % Wasserhaltekapazität
9. Anz. der Wiederholungen	4
10. Prüfdauer/Inkubation	8 Wochen
11. Negative Kontrollprobe/ Verdünnung des Bodens	Standardboden oder künstlicher Boden
12. Validitätskriterien	Kontrollprobe: 30 Jungtiere/Behälter, CV ≤ 30 %, Sterblichkeit adulter Tiere ≤ 10 %
13. Positive Kontrollprobe/ Referenzschadstoff	Borsäure. Signifikante Wirkung auf die Mortalität sollte zwischen 3 000 mg und 4 500 mg Borsäure pro Kilogramm künstlichen Bodens (Trockenmasse) beobachtet werden.
14. Statistik	multipler t-Test, u-Test, Regressionsrechnung
15. Prüfparameter	Sterblichkeit, Wachstum, Reproduktion
16. Endpunkte	EC50, NOEC
17. Einschränkungen/ Kommentare	Wie für ISO 11268-1. In einem neuen Anhang wird die Prüfungsdurchführung unter tropischen Bedingungen beschrieben. Die Prüfung wurde erfolgreich zur Bewertung von Abfällen genutzt.

A.1.1.4 Enchytraeidae – Wirkungen auf die Reproduktionsleistung

1. Titel des Prüfverfahrens	Bodenbeschaffenheit — Wirkungen von Verunreinigungen auf Enchytraeidae (Enchytraeus sp.) — Bestimmung der Wirkungen auf die Reproduktion
2. Harmonisierung	international
3. Referenzen	ISO 16387
4. Kurzbeschreibung	Die Wirkung auf die Reproduktion von ausgewachsenen Enchytraeen (Art: <i>Enchytraeus sp.</i>), die dem Prüfboden ausgesetzt sind, wird mit der auf Proben, die einem Kontrollboden ausgesetzt sind, verglichen.
5. Art der Prüfung	subchronisch, statisch
6. Prüforganismen	Enchytraeiden
Anzuchtarten	<i>Enchytraeus albidus</i> Henle und andere Arten der <i>Enchytraeus sp.</i> , insbesondere <i>E. crypticus</i> , siehe [37]
Alter	adulte Würmer mit Eiern im Bereich des Clitellums
Ernährung	gerollter Hafer
7. Prüfsubstrat	Prüfboden, Feldböden oder künstlicher Boden
Volumen	20 g Trockenmasse/Behälter
8. Prüfbedingungen	
Prüfkammer	abgeschlossene Prüfkammer mit regelbarer
Temperatur	20 °C ± 2 °C
pH-Wert	6 ± 0,5
Lichtintensität/Lichtqualität	400 lx bis 800 lx
Photoperiode	möglichst 16 h : 8 h
Bodenwassergehalt	40 % bis 60 % Wasserhaltkapazität
9. Anz. der Wiederholungen	2 bis 4 in Abhängigkeit von der Prüfungsplanung (NOEC/EC _x)
10. Prüfdauer/Inkubation	6 Wochen (Abschlussprüfung)
11. Negative Kontrollprobe/Verdünnung des Bodens	Künstlicher Boden, Feldboden (z. B. LUFA 2.2)
12. Validitätskriterien	Kontrollansatz: Mort. ≤ 20 %, Mindestanzahl von Jungtieren 25/Behälter CV ≤ 50 %
13. Pos. Kontrollprobe/Referenzschadstoff Mittlerer EC50, CV	Carbendazim EC50 (1,2 ± 0,8) mg a.i./kg
14. Statistik	Multipler t-Test, Regressionsanalyse, Probitanalyse
15. Prüfparameter	Sterblichkeit, Reproduktion
16. Endpunkte	LC50, NOEC, EC _x
17. Einschränkungen/ Kommentare	Die Prüfung wurde erfolgreich zur Bewertung von Abfällen genutzt.

A.1.1.5 Nematoden – Wirkungen auf Wachstum, Fruchtbarkeit und Reproduktion

1. Titel des Prüfverfahrens	Wasserqualität und Bodenqualität — Bestimmung der toxischen Wirkung von Sediment- und Bodenproben auf Wachstum, Fruchtbarkeit und Reproduktion von <i>Caenorhabditis elegans</i> (Nematoden)
2. Harmonisierung	international
3. Referenzen	ISO 10872
4. Kurzbeschreibung	Die Wirkungen auf Wachstum, Fruchtbarkeit und Reproduktion von jungen Nematoden (Art: <i>C. elegans</i>), die dem Prüfboden ausgesetzt sind, werden mit denen von Proben verglichen, die einem Kontrollboden ausgesetzt sind.
5. Art der Prüfung	chronisch, statisch
6. Prüforganismen	Nematoden
Anzuchtarten	<i>Caenorhabditis elegans</i> (Maupas, 1899)
Alter	Jungtiere des ersten Stadiums (J1; exponierte Prüforganismen)
Ernährung	definiertes Nährmedium, das das Bakterium <i>Escherichia coli</i> enthält
7. Prüfsubstrat	Feldböden
Volumen	0,500 ± 0,010 g (Trockenmasse) pro Well
8. Prüfbedingungen	
Prüfkammer	12-Well-Multischalen, 3,5 cm ² /Well
Temperatur	20 °C ± 2 °C (Zimmertemperatur)
pH-Wert	nicht angegeben (5,4 bis 6,5 Werte zeigen den Bereich der Kontrollböden)
Lichtintensität/Lichtqualität	nicht angegeben
Photoperiode	im Dunkeln
Bodenwassergehalt	80 % Wasserhaltekapazität
9. Anz. Replikate	mindestens 4
10. Prüfdauer/Inkubation	96 Stunden
11. Negative Kontrollprobe/ Verdünnung des Bodens	LUFA 2.2 oder künstlicher Boden
12. Validitätskriterien	mittlere Wiederherstellung von exponierten Prüforganismen vom Kontrollansatz ist ≥ 80 % und ≤ 120 %; der mittlere Prozentwert von Männchen in der Kontrollprobe ist ≤ 10 %; der Prozentwert von Männchen in einer einzelnen Kontrollwiederholung ist ≤ 20 %; die mittlere Fruchtbarkeit in der Kontrollprobe ist ≥ 80 %; die mittlere Reproduktionsleistung in der Kontrollprobe ist ≥ 30 Nachkommen pro exponiertem Prüforganismus
13. Pos. Kontrollprobe/ Referenzschadstoff Mittlerer EC50, CV	Benzylcetyldimethylammonium-Chlorid-Monohydrat (BAC C16; 5.14), in Wasser geprüft. Bei 15 mg/l sollte das Wachstum in einem Bereich von 20 % bis 80 % gehemmt sein. Zusätzlich muss die EC50 des BAC mindestens alle 12 Monate bestimmt werden. Die EC50 (Wachstum) in Wasser muss im Bereich von 8 mg bis 22 mg BAC/l liegen.
14. Statistik	nicht angegeben
15. Prüfparameter	Wachstum, Fruchtbarkeit, Reproduktion
16. Endpunkte	Abweichung von der Kontrollprobe; EC _x
17. Einschränkungen/ Kommentare	Die Wiederherstellung exponierter Prüforganismen aus dem Kontrollsediment oder dem Kontrollboden ist ein Indikator für die Genauigkeit bei der Zugabe von Prüforganismen und für die Genauigkeit der Nematoden-Abscheidung. Die Bestimmung von ≥ 80 % und ≤ 120 % Wiederherstellung als Validitätskriterien stellt eine bestimmte Genauigkeit für die Berechnungen der Reproduktion sicher. Die Prüfung wurde erfolgreich zur Bewertung von Abfällen genutzt.

A.1.1.6 Schnecken – Wirkungen auf das Wachstum

1. Titel des Prüfverfahrens	Bodenbeschaffenheit — Wirkungen von Schadstoffen auf Jungtiere von Landschnecken — Bestimmung der Wirkungen auf das Wachstum durch Bodenverunreinigung
2. Harmonisierung	international
3. Referenzen	ISO 15952
4. Kurzbeschreibung	Die Wirkungen der Bodenkontamination auf Wachstum und Überleben junger Schnecken, normalerweise <i>Helix aspersa aspersa</i> , werden in künstlichem oder natürlichem Boden bestimmt und mit denen verglichen, die an Proben beobachtet werden, die einem Kontrollboden ausgesetzt sind.
5. Art der Prüfung	halbstatisch
6. Prüforganismen	Schnecken (Gastropoden)
Anzuchtarten	<i>Helix aspersa aspersa</i> (= <i>Cornu aspersum</i>) Müller (1774); andere Arten der Helicidae möglich.
Alter	Jungtiere (3 Wochen bis 5 Wochen alt); Frischmasse von $(1 \pm 0,3)$ g; Gehäusedurchmesser von $(15,5 \pm 1)$ mm
Ernährung	auf Mehl basierende Nahrung, bestehend aus Getreide, Grünfutter, Mineralsalzen und Vitaminen (im Handel erhältlich)
7. Prüfsubstrat	künstlicher Boden oder natürlicher Boden (nicht angegeben)
Volumen	140 g (Trockenmasse) im Fall von künstlichem Boden; der Boden des Prüfbehälters muss einen Zentimeter hoch bedeckt sein.
8. Prüfbedingungen	
Prüfkammer	Behälter: 24 cm (Länge) $\pm$ 10,5 cm (Breite) $\pm$ 8 cm (Höhe)
Temperatur	20 °C $\pm$ 2 °C (Zimmertemperatur)
pH-Wert	Künstlicher Boden: $6 \pm 0,5$; natürliche Böden nicht angegeben
Lichtintensität/Lichtqualität	50 lux – 100 lux
Photoperiode	Tag-Nacht-Photoperiode von 18 h bis 6 h
Bodenwassergehalt	50 % bis 60 % der gesamten Wasserhaltekapazität
9. Anz. der Wiederholungen	mindestens 3
10. Prüfdauer/Inkubation	28 d (plus eine Aufzuchtdauer von 3 bis 5 Wochen)
11. Negative Kontrollprobe/ Verdünnung des Bodens	künstlicher Boden oder natürlicher Boden (nicht angegeben)
12. Validitätskriterien	Prozentsatz der Sterblichkeit: ≤ 10 % am Ende der Prüfung; Variationskoeffizient (Wachstum) ≤ 40 %; mittlere Körpermasse: Erhöhung um mindestens einen Faktor 4 über die gesamte Laufzeit der Prüfung; mittlerer Gehäusedurchmesser: Erhöhung um mindestens einen Faktor 1,5;
13. Positive Kontrollprobe/ Referenzschadstoff Mittlerer EC50, CV	EC50, Masse (28 d) des CdCl ₂ : 350 mg – 650 mg Cd pro kg trockenem Prüfsubstrat; EC50, Durchmesser (28 d) des CdCl ₂ : 500 mg – 800 mg Cd pro kg trockenem Prüfsubstrat.
14. Statistik	geeignete Verfahren (z. B. das Logistikmodell); Beispiele werden angegeben.
15. Prüfparameter	Sterblichkeit, Körpermasse, Gehäusedurchmesser
16. Endpunkte	für Körpermasse und Gehäusedurchmesser: Wachstumskoeffizient pro Wiederholung und mittlerer Prozentsatz der Wachstumshemmung. Grafische Darstellung der Prüfungsergebnisse mit Konzentration auf Dosis-Wirkungs-Beziehung für die Wirkungen
17. Einschränkungen/ Kommentare	Die Prüfung wurde erfolgreich mit Abfallmaterialien durchgeführt.

A.1.1.7 Köderstreifen – akute Wirkungen

1. Titel des Prüfverfahrens	Bodenbeschaffenheit — Verfahren zur Prüfung der Auswirkungen von Bodenverunreinigungen auf die Fraßaktivität von bodenbewohnenden Organismen im Feld
2. Harmonisierung	international
3. Referenzen	ISO 18311
4. Kurzbeschreibung	Bestimmung der Fraßaktivität von Bodenwirbellosen mittels perforierter, mit künstlicher Futtermischung gefüllter Kunststoffstreifen (= Köder)
5. Art der Prüfung	chronisch, statisch
6. Prüforganismen	Lebensgemeinschaft Wirbelloser im natürlichen Feld
Anzuchtarten	nicht verfügbar
Alter	nicht verfügbar
Ernährung	nicht verfügbar
7. Prüfsubstrat	natürlicher Boden in ungestörtem Zustand
Volumen	nicht verfügbar
8. Prüfbedingungen	
Prüfkammer	nicht verfügbar (Feldstandorte)
Temperatur	nicht verfügbar (Feldbedingungen)
pH-Wert	nicht definiert
Lichtintensität/Lichtqualität	nicht verfügbar (Feldbedingungen)
Photoperiode	nicht verfügbar (Feldbedingungen)
Bodenwassergehalt	50 % Wasserhaltekapazität
9. Anz. Wiederholungen	3
10. Prüfdauer/Inkubation	je nach Klima: Tropen (etwa 7 d); Gemäßigt (Kontinental): 10 d bis 20 d (Frühjahr/Herbst), bis zu 112 d (einschl. Sommer)
11. Neg. Kontrollprobe	Boden (unbehandelt, nicht verunreinigt)
12. Validitätskriterien	Kontrollprobe: mindestens 30 % der Köder auf einem von 16 Tiefenniveaus durchstoßen.
13. Pos. Kontrollprobe	nicht verfügbar
14. Statistik	z. B. GLM-Analyse für Binomialverteilung (hängt von der Auslegung ab)
15. Prüfparameter	Anzahl der „Futter“-Öffnungen einschließlich ihrer vertikalen Verteilung
16. Endpunkte	Prozentsatz der durchstochenen Köder und deren vertikale Verteilung
17. Einschränkungen/Kommentare	aktive Lebensgemeinschaft Wirbelloser im Boden ist am Prüfstandort erforderlich

A.1.2 Bodenflora

A.1.2.1 Bodenflora – Hemmung des Wurzelwachstums

1. Titel des Prüfverfahrens	Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Wirkungen von Schadstoffen auf die Bodenflora — Teil 1: Verfahren zur Messung der Wurzelwachstumshemmung
2. Harmonisierung	international
3. Referenzen	ISO 11269-1
4. Kurzbeschreibung	Wachstum vorgekeimter Samen unter kontrollierten Bedingungen. Die Unterschiede der Wurzellängen der Setzlinge, die in verschiedenen Prüfmedien gewachsen sind, im Vergleich zu Kontrollproben zeigen eine Wirkung an.

5. Art der Prüfung	akut, statisch
6. Prüforganismen	Kulturpflanzen
Anzuchtarten	Gerste (<i>Hordeum vulgare</i> L.), Hafer (<i>Avena sativa</i> L.), Weizen (<i>Triticum aestivum</i>)
Alter	Samen
Ernährung	keine
7. Prüfsubstrat	Boden Kontrollboden, Sand
Volumen	≤ 500 g Trockenmasse/Behälter
8. Prüfbedingungen	
Prüfkammer	Phytotron, Gewächshaus, Gewächshaus
Temperatur	Tag: 20 °C ± 2 °C; Nacht: 16 °C ± 2 °C
Lichtintensität/Lichtqualität	≥ 2 500 lx
Photoperiode	Tag: 12 bis 16 h; Nacht 8 h bis 12 h
Bodenwassergehalt	(70 ± 5) % Wasserhaltekapazität
9. Anzahl der Wiederholungen	3
10. Prüfdauer/Inkubation	≈ Exposition: 4 d; Vorkeimung: 2 d bis 3 d je nach Art
11. Negative Kontrollprobe/Verdünnung des Bodens	Standardboden, künstlicher Boden, Referenzboden, Sand
12. Validitätskriterien	Wurzellänge in Sand-Kontrollprobe im einem definierten Bereich; CV < 20 % in Sand-Kontrollboden
13. Positive Kontrollprobe/Referenzschadstoff Mittlerer EC50, CV	Nickelsulfat; Borsäure
14. Statistik	ANOVA Dunnet-Prüfung, jegliche geeignete statistische Verfahren zur Berechnung von EC _x (10, 20, 50) mit Vertrauensgrenzen (P = 0,95).
15. Prüfparameter	Wurzellänge
16. Endpunkte	LC50, NOEC, EC _x
17. Einschränkungen/Kommentare	Das Verfahren ist auf alle Böden, Bodenmaterialien, Abfälle und Chemikalien anwendbar, die einem Boden appliziert werden können, mit Ausnahme sehr flüchtiger Kontaminanten oder wenn Kontaminanten nur die Fotosynthese beeinflussen. Das Verfahren kann eingesetzt werden, um Böden hinsichtlich Veränderungen ihrer Aktivität zu prüfen oder Wirkungen durch applizierte Substanzen zu bestimmen. Das Verfahren ist nicht dazu geeignet, die Eignung eines Bodens für nachhaltiges Pflanzenwachstum nachzuweisen. Bei verunreinigten Böden kann es notwendig sein, das Prüfsubstrat vor der Prüfung mit nicht verunreinigtem Boden oder Sand zu verdünnen. Der vorgeschlagene Pflanzentest ist nicht für Bodenproben mit einer sehr gestörten Lagerung geeignet (z. B. Mischungen aus Böden und Geröll). In diesen Fällen kann eine Wachstumshemmung ohne besondere Verunreinigung auftreten.

A.1.2.2 Bodenflora – Wirkung auf Auflauf und Wachstum

1. Titel des Prüfverfahrens	Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Wirkungen von Schadstoffen auf die Bodenflora — Teil 2: Wirkung von verunreinigten Böden auf Saataufwurf und Wachstum höherer Pflanzen
2. Harmonisierung	international
3. Referenzen	ISO 11269-2
4. Kurzbeschreibung	Die Prüfung misst den Aufgang und das frühe Wachstum von mindestens zwei Bodenpflanzenarten (eine einkeimblättrige und eine zweikeimblättrige). Die Prüfung vergleicht die Entwicklung von Pflanzen in Prüfboden und/oder einer Reihe von Mischungen mit einem Kontrollboden.
5. Art der Prüfung	Subakut, statisch
6. Prüforganismen	Kulturpflanzen (einkeimblättrige und zweikeimblättrige Arten)
Anzuchtarten	Hafer (<i>Avena sativa</i>), Rübsamen (<i>Brassica rapa</i>) oder Speiserübe (<i>Brassica rapa ssp. rapa</i>)
Alter	Samen
Ernährung	Verdünnung handelsüblichen Flüssigdüngers
7. Prüfsubstrat	Boden, Bodenmaterial, gedüngte Böden (Kompost, Schlamm, Abfall)
Volumen	500 g
8. Prüfbedingungen	
Prüfkammer	Phytotron, Gewächshaus, Gewächshaus
Temperatur	(23 ± 3) °C
pH-Wert	pH (KCl): 5,0 bis 7,5
Lichtintensität/Lichtqualität	7 000 lx
Photoperiode	Tag; 16 h; Nacht 8 h
Bodenwassergehalt	
9. Anzahl der Wiederholungen	4
10. Prüfdauer/Inkubation	14 d bis 21 d nach 50 % Auflauf in den Kontrollgefäßen
11. Negative Kontrollprobe/ Verdünnung des Bodens	Standardboden, künstlicher Boden, Referenzboden
12. Validitätskriterien	In Kontrolltöpfen: Auflauf ausreichend, um 7 gesunde Keimlinge pro Topf zu erhalten; mittlere Überlebensrate der aufgelaufenen Keimlinge ist mindestens 90 % über die Dauer der Untersuchung; es gibt keine sichtbaren phytotoxischen Wirkungen (z. B. Chlorose, Nekrose, Welken, Blatt und Stielverformungen) und die Pflanzen zeigen nur normale Variationen im Wachstum und in der Morphologie für die gewählten Arten
13. Pos. Kontrollprobe/ Referenzschadstoff Mittlerer EC50, CV	Natriumtrichloracetat, Borsäure
14. Statistik	Analyse der Schwankung und mehrfache Vergleiche
15. Prüfparameter	Aufwurf, Wachstum
16. Endpunkte	NOEC, LOEC, EC20, EC50, ER20, ER50
17. Einschränkungen/ Kommentare	Wie für ISO 11269-1 (siehe A.1.2.1) Wie auch im Falle anderer Biotests sind Prüfungen mit höheren Pflanzen dazu ausgelegt, die Schadstoffsituation und Bioverfügbarkeit von Schadstoffen zu berücksichtigen, die durch chemische Analysen nicht bestimmt worden sind. Durch Einhalten einer Prüfzeit von mindestens 14 Tagen sind kurzfristige Veränderungen des Bodens durch die Prüf-pflanze selbst berücksichtigt.

	Die Anforderungen an den Kontrollboden müssen die unterschiedlichen Bodennutzungen sowie Art und Herkunft des Bodens (z. B. Boden in ungestörter Lagerung, Verfüllungsmaterial, Bodenaushub, sanierter Boden) in Betracht ziehen. Verschiedene Bodenverdichtungen und Nährstoffmangel sowie Unterschiede im Wasserrückhaltevermögen und Porenvolumen können Unterschiede in den Pflanzen hervorbringen.
--	---

A.1.2.3 Bodenflora – Wirkung auf Auflauf und Wachstum

1. Titel des Prüfverfahrens	Bodenbeschaffenheit — Chronische Toxizität in höheren Pflanzen
2. Harmonisierung	international
3. Referenzen	ISO 22030
4. Kurzbeschreibung	Die Hemmung des Wachstums und der Reproduktionsfähigkeit von zwei Arten höherer Pflanzen wird unter kontrollierten Bedingungen bestimmt. Die Prüfung vergleicht die Entwicklung von Pflanzen in Prüfboden und/oder einer Reihe von Mischungen mit einem Kontrollboden.
5. Art der Prüfung	chronisch, statisch
6. Prüforganismen	Kulturpflanzen (einkeimblättrige und zweikeimblättrige Arten)
Anzuchtarten	Hafer (<i>Avena sativa</i>), Rübsaat-Sorte mit kurzen Zyklen (<i>Brassica rapa</i> CrGC syn. Rbr)
Alter	Samen
Ernährung	Verdünnung handelsüblichen Flüssigdüngers
7. Prüfsubstrat	Boden, Bodenmaterial, gedüngte Böden (Kompost, Schlamm, Abfall)
Volumen	500 g
8. Prüfbedingungen	
Prüfkammer	Phytotron, Gewächshaus, Gewächshaus
Temperatur	(23 ± 3) °C
pH-Wert	pH (KCl): 5,0 bis 7,5
Lichtintensität/Lichtqualität	(13 000 ± 2 000) lx
Photoperiode	Tag: 16 h; Nacht 8 h.
Bodenwassergehalt	Der Boden sollte feucht sein (jedoch nicht stark durchnässt): Zum Beginn der Prüfung sind 80 % der WHC _{max} für <i>Avena sativa</i> und 60 % der WHC _{max} für <i>Brassica rapa</i> (ISO 11269-2) ausreichend.
9. Anz. der Wiederholungen	4
10. Prüfdauer/Inkubation	Erste Ernte: 14 d bis 21 d nach 50 % Auflauf in den Kontrollgefäßen. <i>A. sativa</i> sollte geerntet werden, nachdem die Blütenstände in der Kontrollbehandlung hervorgetreten sind (nach 7 bis 8 Wochen) und für die Rübsaat mit kurzen Zyklen, wenn die Samenhülsen sich in der Kontrollbehandlung entwickelt haben (nach 5 bis 6 Wochen).
11. Negative Kontrollprobe/ Verdünnung des Bodens	Standardboden, künstlicher Boden, Referenzboden
12. Validitätskriterien	Die Auflaufrate der Kontrollpflanzen muss mindestens 75 % (Mittelwert aller Parallelansätze) betragen; Gesunde Pflanzen dürfen nicht etiolieren, und Blüten sollten während der ersten drei Wochen (Rübsaat mit kurzen Zyklen) bzw. 8 Wochen (Hafer) entstehen. Es darf während der Prüfung nicht mehr als eine der aufgelaufenen Pflanzen pro Topf sterben.
13. Positive Kontrollprobe/ Referenzschadstoff Mittlerer EC50, CV	Natriumtrichloracetat, Borsäure oder Zinksulfat.

14. Statistik	Analyse der Schwankung und mehrfache Vergleiche
15. Prüfparameter	Saataufbau. Nach 14 Tagen: Auftreten von sichtbaren Blütenknospen pro Pflanze und Anzahl der Blüten pro Pflanze (nur <i>B. rapa</i>); Frischgewicht pro Pflanze; Anteil der lebenden Pflanzen. Abschließende Ernte: Wachstumsstadium nach BBCH-Schema, Anzahl aller Blüten pro Pflanze (nur <i>A. sativa</i>); Anzahl der Samenhülsen, die fruchtbare Samen tragen (sichtbar angeschwollen) (nur <i>B. rapa</i>); Frischgewicht der Sprösslinge (<i>A. sativa</i> : ohne Blütenstände; <i>B. rapa</i> : ohne Samenhülsen); Frischgewicht der Blütenstände (<i>A. sativa</i>) oder Samenhülsen (<i>B. rapa</i>); Wassergehalt der Sprösslinge, Blütenstände und Samenhülsen jedes Topfes (Wiederholung), Trockengewicht der Sprösslinge; Trockengewicht der Blütenstände (<i>A. sativa</i>) oder Samenhülsen (<i>B. rapa</i>); Anteil der toten Pflanzen (Prozentwert der Pflanzen im Vergleich zur Anzahl nach dem Ausdünnen).
16. Endpunkte	NOEC, LOEC, EC20, EC50, ER20, ER50
17. Einschränkungen/ Kommentare	Wie für ISO 11269-1 und ISO 11269-2.

A.1.2.4 Bodenflora – *Vicia faba* Mikrokern-Prüfung

1. Titel des Prüfverfahrens	Bodenbeschaffenheit — Beurteilung der genotoxischen Wirkungen auf höhere Pflanzen — <i>Vicia faba</i> Mikrokern-Prüfung
2. Harmonisierung	international
3. Referenzen	ISO 29200
4. Kurzbeschreibung	Diese Prüfung basiert auf der Erfassung von Mikrokernen in den Zellen der Spitzen der Seitenwurzeln von <i>Vicia faba</i> (Ackerbohne). Die Häufigkeit der Mikrokernkerne wird in den Zellen der Kontroll-Wurzeln und in denen, die dem Boden (oder Bodenmaterial) oder dem Wasserextrakt des zu prüfenden Bodens ausgesetzt wurden, bestimmt. Eine statistische Prüfung ermöglicht dann die Bestimmung der Signifikanz der Prüfung.
5. Art der Prüfung	Genotoxizitäts-Prüfung
6. Prüforganismen	Ackerbohne
Anzuchtarten	<i>Vicia faba</i>
Alter des Prüforganismus	Samen
Ernährung	nein
7. Prüfsubstrat	Feldböden
Volumen/Masse	200 g, 200 ml (Minimum für Wasserextrakte)
8. Prüfbedingungen	
Prüfkammergröße	Klimakammer, Phytotron
Temperatur	24 °C ± 1 °C
pH-Wert	pH (Wasser) 5,0 - 8,0
Lichtintensität/Lichtqualität	≥ 5 000 lx
Photoperiode	16 h/8 h Tag/Nacht
Sonstige	70 % WHC
9. Anz./Behälter, Anz. Wiederholungen	3
10. Prüfdauer	48 h
11. Neg. Kontrollprobe/ Verdünnung des Bodens	natürlicher Boden (z. B. LUFA), Referenzboden

12. Validitätskriterien	Für jede Konzentration ist die Häufigkeit der Mikrokerne zuverlässig, wenn der mittlere mitotische Index größer ist als 20 sich teilende Zellen für 1 000 beobachtete Zellen. Eine positive Reaktion wird mit der Referenzsubstanz erhalten.
13. Positive Kontrollprobe/ Referenzschadstoff Mittlerer EC50 (und CV)	Maleinhydrazid ist als Referenzsubstanz empfohlen. Die Positivkontrolle wird bei einer Konzentration von 10 mol/l bis 5 mol/l, bzw. 1,12 mg/kg und 1,12 mg/l für Festphasen- und Flüssigphasen-Exposition durchgeführt.
14. Statistik	Die Verwendung einer nichtparametrischen Methode (z. B. Kruskal-Wallis-Test gefolgt von Dunns multiplem Vergleichstest) ist empfohlen, um signifikante Unterschiede zwischen der Kontrolle und den Prüfkonzentrationen herauszuheben.
15. Prüfparameter	durchschnittliche Anzahl von Mikrokerneln pro 1 000 beobachteten Zellen
16. Endpunkte	NOEC, LOEC, EC _x
17. Einschränkungen/ Kommentare	Dieses Verfahren ermöglicht die Beurteilung der Genotoxizität (Toxizität für genetisches Material) für Böden und Bodenmaterialien wie Kompost, Schlamm, Abfall, Düngesubstanz und Chemikalien. Es kann auch für den Nachweis genotoxischer Substanzen in Bodeneluat verwendet werden.

A.1.2.5 Bodenflora – Keimung und frühes Wachstum höherer Pflanzen

1. Titel des Prüfverfahrens	Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der toxischen Wirkung von Schadstoffen auf die Keimung und das frühe Wachstum höherer Pflanzen
2. Harmonisierung	international
3. Referenzen	ISO 18763
4. Kurzbeschreibung	Dieses Verfahren vergleicht die Keimung der Samen und das frühe Wachstum einkeimblättriger und zweikeimblättriger Pflanzen in einem Prüfboden und/oder einer Reihe von Mischungen mit einem Kontrollboden. Dieses Verfahren kann auch für die Prüfung von Kompost, Schlamm oder Abfall verwendet werden. Samen von einer einkeimblättrigen und zwei zweikeimblättrigen Pflanzen werden unter kontrollierten Bedingungen dem Prüfmaterial ausgesetzt. Nach (72 ± 1) h wird die Anzahl der gekeimten Samen aufgezeichnet und die Länge der Wurzeln der Prüfpflanzen wird im Prüfboden und im Kontrollboden gemessen. Am Ende der Inkubationsdauer kann die Länge jeder Wurzel (und jedes Keims, falls gewünscht) direkt mit einem Lineal gemessen und notiert werden. Die Berechnung des Verhältnisses aus Keim- und Wurzellänge ist ein möglicher, zusätzlicher Wirkungsparameter.
5. Art der Prüfung	akut, statisch
6. Prüforganismen	Kulturpflanzen (einkeimblättrige und zweikeimblättrige Arten)
Anzuchtarten	<i>Sorghum saccharatum</i> (L.), <i>Lepidium sativum</i> L., <i>Sinapis alba</i> L.
Alter des Prüforganismus	Samen
Ernährung	keine
7. Prüfsubstrat	Prüfboden, gedüngte Böden (Kompost, Schlamm, Abfall)
Volumen/Masse	90 cm ³ des Prüfbodens
8. Prüfbedingungen	Samen werden auf ein schwarzes Filterpapier gelegt, das auf der befeuchteten Erde liegt
Prüfkammergröße	transparente Platten aus Polyvinylchlorid (PVC), die etwa 90 cm ³ Prüfboden aufnehmen können.
Temperatur	25 ± 1 °C

pH-Wert	
Lichtintensität/Lichtqualität	kein Licht
Photoperiode	keine
Sonstige	
9. Anz./Behälter, Anz. Wiederholungen	3
10. Prüfdauer	(72 ± 1) h
11. Neg. Kontrollprobe/ Verdünnung des Bodens	natürlicher Boden (z. B. LUFA), künstlicher Boden
12. Validitätskriterien	70 % der Samen der drei Prüfarten müssen in der Negativkontrolle am Ende der dreitägigen Expositionsdauer gekeimt haben Die mittlere Wurzellänge in der Negativkontrolle muss für die drei Prüfarten mindestens 30 mm betragen, und sie muss 40 mm betragen, falls die Messungen auf der mittleren Länge der längsten Wurzel basieren.
13. Positive Kontrollprobe/ Referenzschadstoff Mittlerer EC50 (und CV)	Borsäure (250 mg/kg)
14. Statistik	keine Angaben (Verweis auf ISO/TS 20281)
15. Prüfparameter	gekeimte Samen, Wurzellänge, Keimlänge (optional)
16. Endpunkte	Hemmung der Keimung und Länge im Vergleich mit einem Kontrollansatz
17. Einschränkungen/ Kommentare	Die Samen und Wurzeln sind nicht in direktem Kontakt mit der hydratisierten Bodenprobe (Trennung durch ein schwarzes Filter). Die Bodenbehandlung vor der Prüfung (Lufttrocknung, Sieben und Zusatz von Wasser, um 100 % WHC zu erreichen) kann die Bodenstruktur signifikant verändern.

A.1.3 Bodenmikroorganismen

A.1.3.1 Mineralisierung und Nitrifikation

1. Titel des Prüfverfahrens	Bodenbeschaffenheit — Biologische Verfahren — Bestimmung der Stickstoffmineralisierung und -nitrifizierung in Böden und der Einflüsse von Chemikalien auf diese Prozesse
2. Harmonisierung	international
3. Referenzen	ISO 14238
4. Kurzbeschreibung	Raten oder Ausmaß der N-Mineralisierung in aeroben Böden werden durch Messung der Konzentrationen von Ammonium, Nitrit und Nitrat bestimmt, die während der Stickstoffmineralisierung aus der organischen Substanz oder zugeführter stickstoffhaltiger organischer Verbindungen freigesetzt werden.
5. Art der Prüfung	
6. Prüforganismen	in einem Prüfboden vorhandene Mikroorganismen
Anzuchtarten	für diese Prüfung nicht zutreffend
Alter	für diese Prüfung nicht zutreffend
Ernährung	für diese Prüfung nicht zutreffend
7. Prüfsubstrat	im Feld behandelte Boden nach ISO 10381-6
Volumen	50 g bis 100 g empfohlen; oder grobe Inkubation bei der Teilprobenahme

8. Prüfbedingungen	
Prüfkammer	geeigneter Behälter; Bodenschicht < 3 cm.
Temperatur	(20 ± 2) °C
pH-Wert	intrinsischer pH-Wert des Bodens
Lichtintensität/Lichtqualität	Dunkelheit (Toxizitätsprüfung)
Photoperiode	—
Bodenwassergehalt	40 % bis 60 % Wasserhaltekapazität oder etwa 0,02 MPa Ansaugdruck (Toxizitätsprüfung)
9. Anz. Wiederholungen	3
10. Prüfdauer/Inkubation	28 d
11. Negative Kontrollprobe/Verdünnung des Bodens	Boden
12. Validitätskriterien	keine
13. Positive Kontrollprobe/Referenzschadstoff Mittlerer EC50, CV	keine
14. Statistik	Regressionsanalyse
15. Prüfparameter	Mineralisierungsrate, Nitrifikationsrate
16. Endpunkte	Konzentration des mineralischen Stickstoffs; hemmende Dosis (ID %)
17. Einschränkungen/Kommentare	Das Dokument beschreibt Laborverfahren in unterschiedlichen Böden oder zum Vergleich der N-Mineralisierung in einem Boden, die zu verschiedenen Zeiten im Jahr gemessen wurde. Zur Prüfung der Wirkung von Chemikalien auf die Stickstoffmineralisierung kann ein einfacheres Prüfschema verwendet werden, um die Gegenüberstellung von Dosis-Wirkungs-Beziehungen zu ermöglichen.

A.1.3.2 Ammoniumoxidation – Schnellprüfung

1. Titel des Prüfverfahrens	Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der potentielle Nitrifizierung und der Hemmung der Nitrifizierung — Schnelltest durch Ammoniumoxidation
2. Harmonisierung	international
3. Referenzen	ISO 15685
4. Kurzbeschreibung	Autotrophe ammoniumoxidierende Bakterien in Böden werden Ammoniumsulfat in einer bei pH = 7,2 gefütterten Bodensuspension ausgesetzt. Die Nitrit-Akkumulationsrate während einer Inkubationszeit von 6 h wird als Schätzwert für die Aktivität verwendet.
5. Art der Prüfung	
6. Prüforganismen	autotrophe ammoniumoxidierende Bakterien im Prüfboden
Anzuchtarten	für diese Prüfung nicht zutreffend
Alter	für diese Prüfung nicht zutreffend
Ernährung	für diese Prüfung nicht zutreffend
7. Prüfsubstrat	Bodensuspension; nach ISO 10381-6 vorbereiteter Boden
Volumen	25 g feuchter Boden in 100 ml Medium
8. Prüfbedingungen	
Prüfkammer	Glasflaschen (geeigneten Volumens) auf Oszillationstisch
Temperatur	25 °C
pH-Wert	ungefähr 7,2

Lichtintensität/Lichtqualität	nicht angegeben
Photoperiode	—
Bodenwassergehalt	nicht anwendbar
9. Anzahl der Wiederholungen	2
10. Prüfdauer/Inkubation	6 h
11. Negative Kontrollprobe/ Verdünnung des Bodens	keine
12. Validitätskriterien	Ammoniumoxidierende Aktivität des Bodens zwischen 200 ng N/g Boden/h und 800 ng N/g Boden/h
13. Positive Kontrollprobe/ Referenzschadstoff Mittlerer EC50, CV	keine
14. Statistik	Mittelwert, Standardabweichung
15. Prüfparameter	Rate der Ammoniumoxidation
16. Endpunkte	bei der Prüfung von Chemikalien EC10, EC50
17. Einschränkungen/ Kommentare	Die Prüfung ist ein Schnellverfahren zur Bestimmung der potentiellen Rate der Ammoniumoxidation, der ersten Stufe in der autotrophen Nitrifikation in nitrifizierenden Böden. Die Messung kann als Bewertung der potentiellen Aktivität nitrifizierender Populationen zum Zeitpunkt der Probenahme angewendet werden. Sie kann als schneller Screeningtest für die Bodenbeschaffenheit verwendet werden und ist geeignet, um sowohl die Wirkungen von chemischen Substanzen in Böden als auch die Wirkungen von Aufzuchtverfahren zu prüfen. Prüfsubstanzen mit geringer Wasserlöslichkeit erfordern besondere Beachtung.

A.1.3.3 Bodenatmung

1. Titel des Prüfverfahrens	Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Aktivität der Boden-Mikroflora mittels Atmungskurven
2. Harmonisierung	international
3. Referenzen	ISO 17155
4. Kurzbeschreibung	Die CO ₂ -Produktion oder der O ₂ -Verbrauch (Atmungsgeschwindigkeit) ungedüngter Böden sowie die Zersetzung eines leicht zersetzbaren Substrats (Glukose + Ammonium + Phosphat) wird regelmäßig überwacht (z. B. jede Stunde). Aus den CO ₂ -Produktions- oder den O ₂ -Verbrauchsdaten können die verschiedenen mikrobiischen Parameter (Basal-atmung, substratinduzierte Atmung, lag-Phase) berechnet werden.
5. Art der Prüfung	
6. Prüforganismen	im Prüfboden vorhandene Mikroorganismen
Anzuchtarten	für diese Prüfung nicht zutreffend
Alter	für diese Prüfung nicht zutreffend
Ernährung	für diese Prüfung nicht zutreffend
7. Prüfsubstrat	im Feld behandelter Boden nach ISO 10381-6 (ISO/DIS 18400-206)
	Teilproben sollten 1 g organische Substanz enthalten. Wenn Mineralböden verwendet werden, sollten die Teilproben nicht weniger als 20 g enthalten.
8. Prüfbedingungen	
Prüfkammer	geeigneter Behälter eines Respirometers
Temperatur	20 °C

pH-Wert	intrinsischer pH-Wert des Bodens
Lichtintensität/Lichtqualität	nicht angegeben
Photoperiode	—
Bodenwassergehalt	< 400 % des Gehalts an organischer Substanz
9. Anz. der Wiederholungen	3 für jeden Kontaminationsgrad
10. Prüfdauer/Inkubation	ungefähr 5 d
11. Negative Kontrollprobe/ Verdünnung des Bodens	nicht zutreffend
12. Validitätskriterien	keine
13. Positive Kontrollprobe/ Referenzschadstoff Mittlerer EC50, CV	keine
14. Statistik	Mittelwert für jede Probe. Die mikrobiellen Parameter sollten gegen die Konzentration der kontaminierenden Substanz aufgetragen werden und mittels Regressionsanalyse ausgewertet werden.
15. Prüfparameter	Basalatmung, substratinduzierte Respiration, lag-Phase
16. Endpunkte	bei der Prüfung von Chemikalien EC10, EC50
17. Einschränkungen/ Kommentare	Die Prüfung kann in Kontaminationsuntersuchungen im Feld- und Labormaßstab angewendet werden. Sie ist geeignet für A ₀ oder weitere Schichten von podsolischen Waldböden und Ackerböden. Bei Mineralböden sind begleitende Untersuchungen des geeigneten Wassergehalts und der Probengröße erforderlich. Die Prüfung kann auch für Böden unbekannter Beschaffenheit und für Böden, die in verschiedenen Kontaminationsstufen beprobt werden, angewendet werden. Bei kontaminierten Böden ist der Quotient aus Basalatmung und substratinduzierter Respiration viel größer als in nichtkontaminierten Böden. Kontaminierte Böden zeigen sehr viel längere lag-Phasen als nichtkontaminierte Böden.

A.1.3.4 Enzymaktivitäten mittels eines Mikroplatten-Verfahrens mit lyophilisierten fluorogenen Substraten

1. Titel des Prüfverfahrens	Bodenbeschaffenheit — Messung von Enzymaktivitätsmustern in Bodenproben mit fluorogenen Substraten in Mikrotiterplatten
2. Harmonisierung	international
3. Referenzen	ISO/TS 22939
4. Kurzbeschreibung	Das Verfahren basiert auf der Verwendung von in den Puffer gelösten Bodenproben, die in Multi-Well-Platten mit lyophilisierten, fluorogenen Substraten inkubiert werden. Nach der Inkubation werden die Enzymaktivitäten als Fluoreszenz (355 nm/460 nm) mit einem Plattenlese-Fluorometer gemessen.
5. Art der Prüfung	—
6. Prüforganismen	in einem Prüfboden vorhandene Mikroorganismen
Anzuchtarten	für diese Prüfung nicht zutreffend
Alter	für diese Prüfung nicht zutreffend
Ernährung	für diese Prüfung nicht zutreffend
7. Prüfsubstrat	Bodensuspension; behandelte Boden nach ISO 10381-6 (ISO/DIS 18400-206)
Volumen	4 g Boden werden 120 ml des gewählten Puffers hinzugefügt; 200 µl der endgültigen 1:100- oder 1:1 000-Lösung werden verwendet

8. Prüfbedingungen	
Prüfkammer	96-Well-Mikroplatten auf einem Schüttler
Temperatur	(30 ± 2) °C
pH-Wert	5,5 (Acetat-Puffer) oder bei Bodenproben-pH (modifizierter Universalpuffer)
Lichtintensität/Lichtqualität	nicht angegeben
Photoperiode	—
Bodenwassergehalt	nicht anwendbar
9. Anz. Wiederholungen	4
10. Prüfdauer/Inkubation	3 h
11. Negative Kontrollprobe/Verdünnung des Bodens	nicht zutreffend
12. Validitätskriterien	—
13. Positive Kontrollprobe/Referenzschadstoff Mittlerer EC50, CV	—
14. Statistik	Mittelwert
15. Prüfparameter	Freisetzungsrates von 4-Methylumbelliferon (Arylsulfatase, α-Glucosidase, Cellobiosidase, β-Xylosidase, β-Glucosidase, Phosphodiesterase, Chitinase, Phosphomonoesterase) oder 7-Amino-4-Methylcumarin (Leucine-Aminopeptidase, Alanine-Aminopeptidase) aus künstlichen, fluorogenen Substraten.
16. Endpunkte	Konzentration von 4-Methylumbelliferon oder 7-Amino-4-Methylcumarin
17. Einschränkungen/Kommentare	Vorbereitung von Mikroplatten mit gefriergetrockneten Substraten erfordert ein Gerät zur Lyophilisation. Zur Vorbereitung der Bodensuspension wird ein Labor-Homogenisierer oder Ultraschall-Disaggregator verwendet.

A.1.3.5 Dehydrogenase-Aktivität unter Verwendung von Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)

1. Titel des Prüfverfahrens	Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität in Böden — Teil 1: Verfahren mit Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)
2. Harmonisierung	international
3. Referenzen	ISO 23753-1
4. Kurzbeschreibung	TTC-Lösung wird einer Bodenprobe hinzugefügt und die Mischung wird inkubiert. Das freigesetzte Triphenylformazan (TPF) wird mit Aceton extrahiert und durch Photometrie bei einer Wellenlänge von 485 nm bestimmt.
5. Art der Prüfung	—
6. Prüforganismen	in einem Prüfboden vorhandene Mikroorganismen
Anzuchtarten	für diese Prüfung nicht zutreffend
Alter	für diese Prüfung nicht zutreffend
Ernährung	für diese Prüfung nicht zutreffend
7. Prüfsubstrat	Bodensuspension, behandelter Boden nach 10381-6 (ISO/DIS 18400-206)
Volumen	5 g natürlich feuchten Bodens in 5 ml Medium; für L-, F-, H-Horizonte werden Bodenteile von 0,5 g oder 1 g empfohlen
8. Prüfbedingungen	
Prüfkammer	Messküvetten

Temperatur	25 °C
pH-Wert	7,8 für sauren Boden (pH unter 6), 7,6 für neutralen Boden (pH 6 bis 7), 7,4 für karbonatreichen Boden (pH über 7)
Lichtintensität/Lichtqualität	dunkel
Photoperiode	—
Bodenwassergehalt	nicht anwendbar
9. Anz. Wiederholungen	3
10. Prüfdauer/Inkubation	16 h
11. Negative Kontrollprobe/Verdünnung des Bodens	nicht zutreffend
12. Validitätskriterien	—
13. Positive Kontrollprobe/Referenzschadstoff Mittlerer EC50, CV	—
14. Statistik	Mittelwert
15. Prüfparameter	TPF-Produktionsrate
16. Endpunkte	TPF-Konzentration
17. Einschränkungen/Kommentare	Im Fall von Böden mit reduzierenden Eigenschaften (z. B. staunasser Boden) sollte die Dehydrogenaseaktivität nicht als Maß für die biologische Aktivität im Boden verwendet werden. Abiotische Komponenten wie Eisen(II)-Verbindungen oder Sulfide können TTC reduzieren.

A.1.3.6 Dehydrogenase-Aktivität unter Verwendung von Iodotetrazoliumchlorid (INT)

1. Titel des Prüfverfahrens	Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität in Böden — Teil 2: Verfahren mit Iodotetrazoliumchlorid (INT)
2. Harmonisierung	international
3. Referenzen	ISO 23753-2
4. Kurzbeschreibung	INT-Lösung wird einer Bodenprobe hinzugefügt und die Mischung wird inkubiert. Das freigesetzte Iodonitrotetrazoliumformazan (INTF) wird (im Fall von Humuserde) mit Aceton extrahiert und durch Photometrie bei einer Wellenlänge von 485 nm bestimmt.
5. Art der Prüfung	—
6. Prüforganismen	in einem Prüfboden vorhandene Mikroorganismen
Anzuchtarten	für diese Prüfung nicht zutreffend
Alter	für diese Prüfung nicht zutreffend
Ernährung	für diese Prüfung nicht zutreffend
7. Prüfsubstrat	Bodensuspension, behandelter Boden nach 10381-6 (ISO/DIS 18400-206)
Volumen	Teile von 2,00 g bis 5,00 g natürlich feuchten Bodens in 2 ml bis 5 ml Medium
8. Prüfbedingungen	
Prüfkammer	Messküvetten
Temperatur	30 °C
pH-Wert	7,7 für Boden mit einem Karbonatanteil über 2 % oder 7,9 für Boden mit einem Karbonatanteil nicht über 2 %
Lichtintensität/Lichtqualität	dunkel
Photoperiode	—
Bodenwassergehalt	nicht anwendbar

9. Anz. Wiederholungen	4
10. Prüfdauer/Inkubation	18 h
11. Negative Kontrollprobe/ Verdünnung des Bodens	nicht zutreffend
12. Validitätskriterien	—
13. Positive Kontrollprobe/ Referenzschadstoff Mittlerer EC50, CV	—
14. Statistik	Mittelwert
15. Prüfparameter	INTF-Produktionsrate
16. Endpunkte	INTF-Konzentration
17. Einschränkungen/ Kommentare	Im Fall von Böden mit reduzierenden Eigenschaften (z. B. staunasser Boden) sollte die Dehydrogenaseaktivität nicht als Maß für die biologische Aktivität im Boden verwendet werden. Abiotische Komponenten wie Eisen(II)-Verbindungen oder Sulfide können INT reduzieren.

A.1.3.7 *Arthrobacter globiformis* – Festkontakttest unter Verwendung von Dehydrogenaseaktivität

1. Titel des Prüfverfahrens	Bodenbeschaffenheit — Feststoffkontakttest unter Verwendung der Dehydrogenaseaktivität von <i>Arthrobacter globiformis</i>
2. Harmonisierung	international
3. Referenzen	ISO 18187
4. Kurzbeschreibung	Hemmung der Dehydrogenaseaktivität von <i>A. globiformis</i> mit dem Redox-Farbstoff Resazurin
5. Art der Prüfung	akut, statisch
6. Prüforganismen	<i>Arthrobacter globiformis</i> (Bodenbakterium)
Anzuchtarten	<i>Arthrobacter globiformis</i> Stammnummer ATCC 8010
Alter des Prüforganismus	Inokulum aus Nährmedium zum Beginn der Expositionsphase
Ernährung	keine
7. Prüfsubstrat	Böden und Bodenmaterialien (Abfälle)
Volumen/Masse	(600 ± 6) mg
8. Prüfbedingungen	
Prüfkammergröße	24-Well-Mikroplatten
Temperatur	(30 ± 1) °C (Inkubation)
pH-Wert	7,0 ± 2,0
Lichtintensität/Lichtqualität	nicht anwendbar
Photoperiode	nicht anwendbar
Sonstige	Bewegung: 150 min ⁻¹
9. Anz./Behälter, Anz. Wiederholungen	6 Behandlungen <i>pro</i> Mikroplatte, 4 Wiederholungen <i>pro</i> Behandlung
10. Prüfdauer	3 h (einschließlich 1 h Messung der Enzymaktivität)
11. Neg. Kontrollprobe/ Verdünnung des Bodens	Referenzboden, natürlicher Standardboden (z. B. Lufa 2.2), künstlicher Boden oder Quarzsand, je nach Prüfsubstrat
12. Validitätskriterien	Der Absolutwert der durchschnittlichen relativen Fluoreszenz der Negativkontrolle erhöht sich um einen Faktor > 5 innerhalb der Messdauer 0 min bis 60 min; die Referenzsubstanz induziert eine durchschnittliche Hemmung zwischen 30 % und 80 % bei 600 mg C16-BAC kg ⁻¹ Lufa 2.2 Bodentrockenmasse

	Der Variationskoeffizient für die durchschnittliche Steigung der relativen Fluoreszenz im Negativkontroll-Parallelansatz ist unter 15 %
13. Positive Kontrollprobe/Referenzschadstoff Mittlerer EC50 (und CV)	C16-BAC, 600 mg C16-BAC kg ⁻¹ Lufa 2.2 Boden-Trockenmasse induziert eine durchschnittliche Hemmung von <i>ca.</i> 58 %
14. Statistik	lineare Regressionsanalyse (z. B. logistische Regression) Einweg-Analyse der Variationen, gefolgt von einer mehrfach vergleichenden <i>post-hoc</i> -Prüfung (z. B. Tukey- oder Dunnett-Prüfungen)
15. Prüfparameter	Dehydrogenaseaktivität
16. Endpunkte	EC50 (95 % Vertrauensgrenzen), NOEC, LOEC Schwellenwert: 30 % Hemmung der Dehydrogenaseaktivität (im Vergleich zur Negativkontrolle)
17. Einschränkungen/Kommentare	nicht anwendbar für Proben mit pH <5 oder >9 Böden, die farbige Substanzen oder einen hohen Prozentsatz organischer Substanz enthalten, können den Farbstoff stören und/oder das Fluoreszenzniveau beeinflussen; nicht anwendbar für Prüfungsproben, die flüchtige Verunreinigungen enthalten.

A.1.3.8 Biomasse – SIR-Verfahren

1. Titel des Prüfverfahrens	Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der mikrobiellen Biomasse von Böden — Teil 1: Substrat-induziertes Respirationsverfahren
2. Harmonisierung	international
3. Referenzen	ISO 14240-1
4. Kurzbeschreibung	Boden wird mit einer Reihe aufsteigender Glucosekonzentrationen beaufschlagt, bis eine maximale Atmungsrate erreicht ist. Aus dieser Rate wird die aktive Biomasse geschätzt.
5. Art der Prüfung	—
6. Prüforganismen	in einem Prüfboden vorhandene Mikroorganismen
Anzuchtarten	für diese Prüfung nicht zutreffend
Alter	für diese Prüfung nicht zutreffend
Ernährung	für diese Prüfung nicht zutreffend
7. Prüfsubstrat	im Feld behandelter Boden nach ISO 10381-6
Volumen	nicht angegeben
8. Prüfbedingungen	
Prüfkammer	für einen Respirometer geeigneter Behälter
Temperatur	(22 ± 1) °C
pH-Wert	der intrinsische pH-Wert des Prüfbodens
Lichtintensität/Lichtqualität	nicht angegeben
Photoperiode	—
Bodenwassergehalt	die intrinsische Bodenfeuchte des Prüfbodens
9. Anz. der Wiederholungen	3
10. Prüfdauer/Inkubation	6 h
11. Negative Kontrollprobe/Verdünnung des Bodens	nicht zutreffend
12. Validitätskriterien	keine
13. Positive Kontrollprobe/Referenzschadstoff Mittlerer EC50, CV	keine