

Regenwurm / Earthworm
(*Lumbricus terrestris*, *Aporrectodea longa*)

Markus Quack, Martina Bartel, Roland Klein, Mechthild Neitzke,
Kathrin Nentwich, Martin Paulus, Gerhard Wagner

Universität Trier, FB VI – Biogeographie, Wissenschaftspark
Trier-Petrisberg, D-54286 Trier

Inhalt	Seite	Contents	Seite
1 Zielsetzung	2	1 Objective	2
2 Funktion der Probenart	2	2 Function of the Specimen Type	2
3 Zielkompartimente	4	3 Target Compartments	4
4 Festlegungen für die Probenahme	4	4 Predefinitions for the Sampling	4
4.1 Artbestimmung	4	4.1 Species Determination	4
4.2 Auswahl und Abgrenzung der Probenahmeflächen	5	4.2 Selection and Definition of the Sampling Sites	5
4.3 Auswahl der Individuen und Stichprobengröße	7	4.3 Selection of Individuals and Random Sample Number	7
4.4 Probenahmezeitraum und -häufigkeit	8	4.4 Sampling Period and Frequency	8
4.5 Gebietsbezogener Probenahmeplan	8	4.5 Area Related Sampling Scheme	8
5 Durchführung der Probenahme	8	5 Implementation of the Sampling Procedure	8
5.1 Technische Vorbereitungen	9	5.1 Technical Preparations	9
5.2 Erforderliche Ausrüstung und Reinigungsvorschriften	9	5.2 Required Equipment and Cleaning Procedures	9
5.3 Probenahmetechnik	11	5.3 Sampling Technique	11
6 Biometrische Probencharakterisierung	14	6 Biometric Specimen Characterization	14
7 Literatur	15	7 Literature	15
Anhang		Appendices	
▪ Checkliste zur Vorbereitung und Durchführung der Probenahme		▪ Checklist to Prepare and Conduct the Sampling	
▪ Sicherheitsrichtlinie für den Fang von Regenwürmern mit elektrischem Strom		▪ Safety Guideline for Trapping Earthworms by Means of an Electric Current	
▪ Probendatenblätter		▪ Specimen Data Sheets	

**Verfahrensrichtlinien für Probenahme, Transport, Lagerung und chemische Charakterisierung von
Umwelt- und Humanorganproben**

**Guidelines for Sampling, Transport, Storage and Chemical Characterisation of
Environmental- and Human Organ Samples**

Stand: Januar 2003 / Version: January 2003

1 Zielsetzung

Die Umweltprobenbank des Bundes (UPB) stellt ein System dar, um über einen längeren Zeitraum hinweg chemische Veränderungen in marinen, limnischen und terrestrischen Ökosystemen retrospektiv untersuchen zu können.

Dabei ist die Probenahme der erste und wichtigste Schritt zur Sicherung der Proben- und Datenqualität. Das Hauptziel der Probenahme besteht darin, Proben zu identifizieren, zu sammeln und zu charakterisieren, die repräsentativ für die ausgewählten Gebiete sind. Eine weitere Aufgabe der UPB, die bei dem Erstellen von Probenahmerichtlinien berücksichtigt werden muss, ist die langfristige Reproduzierbarkeit.

Repräsentativität und Reproduzierbarkeit sind zusammen mit der Minimierung von Kontamination und Verlust von chemischen Informationen Vorbedingung für valide Vergleiche über einen längeren Zeitraum hinweg.

Zur Verbesserung der Probenqualität ist beim Vorliegen neuer Erkenntnisse eine Aktualisierung der Probenahmerichtlinien vorgesehen. Die vorliegende Richtlinie stellt die Fortschreibung der Fassung von KLEIN et al. (1995) dar.

2 Funktion der Probenart

Regenwürmer sind als bodenbewohnende Organismen auf sehr unterschiedliche Weise an den komplexen Prozessen der Bodenentwicklung beteiligt und nehmen als Saprophyten eine zentrale Stellung bei der Umsetzung von organischer Materie und der daran gebundenen Energie (Destruktion) ein (HENSEN 1877; DARWIN 1881; LEE 1985). Von ihren zahlreichen Funktionen seien hier nur einige der wichtigsten aufgelistet (u.a. TOPP 1981; EDWARDS & LOFTY 1977; DUNGER & FIEDLER 1989):

- Aufbereitung der toten organischen Substanz durch Zerkleinerung und dadurch Beschleunigung der Abbaurrate und des *turn-over* von Stoffen in Ökosystemen (vgl. WILLEMS et al. 1996)
- Einarbeitung der toten organischen Substanz in den Mineralboden und dadurch Erhöhung der Bodenfruchtbarkeit (u.a. AUERSWALD et al. 1996)
- Auflockerung des Boden- und Humusformgefüges durch die Anlage von Wohnröhren, was die Durchwurzelbarkeit des Bodens fördert (u.a. JÉGOU et al. 2002)

1 Objective

The German Environmental Specimen Bank (ESB) constitutes a system to survey retrospectively chemical changes in marine, limnic and terrestrial ecosystems in the long-term.

At this, sampling is the first and most important step to secure the quality of samples and data. Main objective of the sampling is to identify, collect and characterise representative specimen for the selected areas. A further task of the Environmental Specimen Bank, which must be considered by developing a sampling guideline, is to allow for long-term reproducibility.

Representativeness and reproducibility are together with the minimisation of contamination or loss of chemical information the preconditions to achieve valid comparisons in the long run.

To improve sample quality, it is intended to update the sampling guideline in case of new experience. The guideline on hand is the updating of the version by KLEIN et al. (1995).

2 Function of the Specimen Type

Earthworms as organisms living in the soil, are involved in various ways in the complex processes of soil formation, and as saprophytes, they occupy the central position in decomposing organic material and the energy combined with (destruction) (HENSEN 1877; DARWIN 1881; LEE 1985). From their numerous functions only a few of the most important are listed here (e.g. TOPP 1981; EDWARDS & LOFTY 1977; DUNGER & FIEDLER 1989):

- Preparation of the dead organic substance by comminution and thus acceleration of the decomposition and turn-over rate of substances within ecosystems (cf. WILLEMS et al. 1996)
- Incorporation of the dead organic substance in the mineral soil and thus increase in soil fertility (e.g. AUERSWALD et al. 1996)
- loosening of the soil- and mould-form-structure by the construction of habitat tunnels which leads to improved conditions for root penetration (e.g. JÉGOU et al. 2002)

- Steigerung der Wasserinfiltrationsrate durch die Anlage eines Röhrensystems und dadurch Verminderung der Bodenerosion (u.a. JÉGOU et al. 1998)
- Erhöhung der Stabilität von Böden durch die Bildung von organo-mineralischen Verbindungen (Ton-Humus-Komplexe) im Darmtrakt der Regenwürmer

Die intensive Beteiligung an den Nährstoffkreisläufen exponiert die Regenwürmer in extremer Weise für alle im Ökosystem befindlichen Stoffe und hat zur Folge, dass beim Vorhandensein toxischer Substanzen ein großes Gefährdungspotential für die darauf aufbauenden Nahrungsketten existiert. Dies hat sehr häufig dazu geführt, einige Vertreter dieser Gruppe als Akkumulationsindikatoren im Freiland und Labor zu untersuchen und in Überwachungsprogrammen einzusetzen (u.a. WHEATLEY & HARDMAN 1968; DAVIS & FRENCH 1969; GISH 1970; VAN HOOK 1974; WRIGHT & STRINGER 1980; EBING et al. 1984; EDWARDS 1984; HAQUE & EBING 1988; MORGAN & MORGAN 1990; WEIGMANN 1991; GONZALEZ et al. 1994; EBERE & AKINTONWA 1995; FITZGERALD 1996; SALAGOVIC et al. 1996; SHEPPARD et al. 1997; WILCKE & ZECH 2000; SCOTT-FORDSMAND & WEEKS 2000; BOOTH et al. 2001; JOHNSON et al. 2002).

Für die Zwecke der UPB eignen sich die tiefgrabenden (anektischen oder anaökischen) Arten, die sich insbesondere von toter organischer Substanz ernähren und zum Graben ihrer Röhren Mineralboden aufnehmen (u.a. BOUCHE 1972). Dadurch stellen sie einen Zusammenhang zwischen der zumeist organischen Bodenaufgabe und den darunter liegenden Bodenhorizonten her und zeigen Belastungssituationen des gesamten Mediums Boden auf. Die beiden Arten *Lumbricus terrestris* und *Aporrectodea longa* wurden aus folgenden Gründen als geeignete Probenarten für die UPB ausgewählt:

- Sie sind in Deutschland die am weitest verbreiteten tiefgrabenden Arten
- Es sind die einzigen Vertreter der Destruenten in terrestrischen Ökosystemen, die aufgrund ihres Körpergewichtes und ihrer Häufigkeit in ausreichender Biomasse verfügbar sind (u.a. TARRADELLAS et al. 1982).
- Als wichtige Bodenbildner nehmen sie im Energiefluss und Stoffumsatz der Ökosysteme eine zentrale Stellung ein

- Increase of the water infiltration rate by the creation of a tunnel system and thus a decrease of the tendency to soil erosion (e.g. JÉGOU et al. 1998)
- Increase in the soil stability by the generation of organo-mineral compositions (clay-humus-complexes) in the worm's intestine tract

Their intensive involvement in the nutrient cycles highly exposes the earthworms towards all substances existing in an ecosystem, and as a consequence, if toxic substances are present, a large hazard potential exists for the food-chains based on earthworms. This had very often led to investigations on some representatives of this species as accumulation indicators in the field as well as in the laboratory, and to use them in monitoring programmes (e.g. WHEATLEY & HARDMAN 1968; DAVIS & FRENCH 1969; GISH 1970; VAN HOOK 1974; WRIGHT & STRINGER 1980; EBING et al. 1984; EDWARDS 1984; HAQUE & EBING 1988; MORGAN & MORGAN 1990; WEIGMANN 1991; GONZALEZ et al. 1994; EBERE & AKINTONWA 1995; FITZGERALD 1996; SALAGOVIC et al. 1996; SHEPPARD et al. 1997; WILCKE & ZECH 2000; SCOTT-FORDSMAND & WEEKS 2000; BOOTH et al. 2001; JOHNSON et al. 2002).

For ESB purposes, deep-burrowing species (anectic or anaecious ones) especially feeding on dead organic substances and incorporating mineral soil while building their channels are particularly well suited (e.g. BOUCHE 1972). Hereby, they establish a close relationship between the mostly organic soil cover and the soil horizons below, and exhibit the pollution situations of the medium soil as a whole. The both species *Lumbricus terrestris* and *Aporrectodea longa* were chosen as suitable specimens for the ESB for the following reasons:

- They are in Germany the deep-burrowing species with the widest distribution range
- They are the only representatives of decomposers in terrestrial ecosystems providing a sufficient amount of biomass due to their body weight and frequency of occurrence (e.g. TARRADELLAS et al. 1982)
- As important soil formers they occupy a central position in the energy flow and turnover inside ecosystems

- Sie nehmen als Nahrungsgrundlage für sehr viele Beutegreifer eine exponierte Stellung in den terrestrischen Nahrungsnetzen ein
- Sie sind im Allgemeinen sehr standorttreu

Mit Hilfe der beiden Regenwurmarten wird im Rahmen der UPB die trophische Ebene der Destruenten in terrestrischen Ökosystemen repräsentiert und zur langfristigen Überwachung der Stoffbelastung benutzt (LEWIS et al. 1989; RISS & MÜLLER 1989).

3 Zielkompartimente

Mit Ausnahme einiger Metalle ist nur wenig über Schadstoffkompartimentierungen im Wurmkörper bekannt. Da sich zudem eine Sektion bestimmter Wurmteile nur schwer standardisieren lässt, weil damit der Verlust von Blut und Coelomflüssigkeit verbunden ist und die Gefahr der Kontamination besteht, werden **Ganzkörperproben** genommen. Da aber der Darminhalt von seiner qualitativen und quantitativen Zusammensetzung individuellen, zeitlichen und räumlichen Schwankungen von erheblichem Ausmaß unterworfen ist (MORGAN & MORGAN 1990), ist eine Vergleichbarkeit der Proben nicht gegeben. Aus diesem Grund besteht die Notwendigkeit, den **Darminhalt vom Wurmkörper zu trennen**. Als Probe werden dementsprechend die an einer Probenahme fläche gesammelten **adulten Individuen von *Lumbricus terrestris* oder *Aporrectodea longa* ohne Darminhalt** verwendet. Eine Separierung einzelner Körperkompartimente erfolgt nicht.

Durch die Trennung von Wurmkörper und Darminhalt steht letzterer **als weiteres Zielkompartiment** ebenfalls zur Verfügung. In dem Kot können auch Stoffe untersucht werden, die im Wurm selbst nicht oder schlecht nachweisbar sind. Hierzu zählen beispielsweise polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAULUS et al. 1994; KLEIN & PAULUS 1995).

4 Festlegungen für die Probenahme

4.1 Artbestimmung

Es bedarf praktischer Erfahrung, um die beiden Arten sicher im Gelände bestimmen zu können (vgl. WILCKE 1939; RICHTER 1949; BOUCHE 1972). Die makroskopischen Bestimmungsmerkmale beider Zielarten sind in Abb. 1 dargestellt.

- As food base for a great many predatory animals they have a prominent role within terrestrial food-webs
- In general, they are closely linked to their habitats

For the ESB, by dint of the both earthworm species the trophic level of the decomposers is represented and used for long-term monitoring of pollution burdens (LEWIS et al. 1989; RISS & MÜLLER 1989).

3 Target Compartments

With the exception of some metals, there is only little knowledge about the pollution compartmentalisation in the worm body. Since moreover a dissection of particular worm parts is hard to standardise - because it is associated with the loss of blood and coelom liquid, and the risk of contamination – **whole-body samples** are taken. Due to the fact that the intestinal content varies considerably in its qualitative and quantitative composition with the individual, time, and region (MORGAN & MORGAN 1990) there is no comparability of these samples given. For this reason it is necessary to **separate the intestinal content from the worm body**. According to this, **adult individuals of *Lumbricus terrestris* or *Aporrectodea longa* without intestinal content** collected at one sampling site are used as sample. A separation of individual body compartments is not performed.

By the segregation of worm body from intestinal content, the latter is available as **further target compartment**. In the excrement it is possible to analyse substances, which are not or poorly traceable in the worm itself. Among these count e.g. polycyclic aromatic hydrocarbons (PAULUS et al. 1994; KLEIN & PAULUS 1995).

4 Predefinitions for the Sampling

4.1 Species Determination

Practical experience is required to definitely identify the both species on site (cp. WILCKE 1939; RICHTER 1949; BOUCHE 1972). The macroscopic distinguishing marks of both target species are depicted in fig 1.

Lumbricus terrestris



Aporrectodea longa



dunkelbraun-violett unterseits heller als oberseits darkbrown-purple underside brighter than top side	Farbe Colour	rauchgrau, stark irisierend und unterseits ± gleich smoke-grey, highly iridescent and underside ± identical
90–300 mm	Länge / Length	120–160 mm
6–9 mm	Durchmesser / Diameter	6–8 mm
groß, die stark erhabenen Drüsenhöfe gehen auf das 14. und 15. Segment über big, the notably prominent glandular swellings pass into the 14. and 15. segment	männliche Poren Male Pores	groß, aber auf das 15. Segment beschränkt big, but restricted to the 15. segment
31. oder 32.–37. Segment rötlich gefärbt 31. or 32.–37. segment reddish coloured	Clitellum	27. oder 28–35. Segment schokoladenbraun 27. or 28–35. segment chocolate-brown
33.–36. Segment	Pubertätswälle / Pubertal Swellings	32.–34. Segment
Borsten des 25., 26. und 27. Segmentes auf Drüsen- papillen und zu Furchenborsten umgewandelt Bristles of the 25., 26. and 27. segment on glandular papillae and transmuted to furrow bristles	ventrale Borsten Ventral Bristles	Borsten des 9., 10. und 11. Segmentes auf Drüsenpapillen Bristles of the 9., 10. and 11. segment on glandular papillae

Abb. 1 Wichtige makroskopische Merkmale der beiden Zielarten

Fig. 1 Important Macroscopic Attributes of the both Target Species

4.2 Auswahl und Abgrenzung der Probenahmeeflächen

Vor der ersten Probenahme in einem Probenahmegebiet ist ein **Screening** zur Festlegung der Probenahmeefläche(n), der Zielart und der Stichprobengröße durchzuführen. Weitere Ziele der Voruntersuchung sind, die Verfügbarkeit der beiden Probenarten, die Streubreite der Schadstoffgehalte sowie das räumlichen Muster der Schadstoffbelastung zu untersuchen. Zur Verdeutlichung der Vorgehensweise dient das Ablaufschema in Abb. 2. Der erste Schritt des Screenings ist eine Kartierung aller potenziell für die beiden Regenwurmart geeigneten Flächen, die vergleichbare Nutzungseinheiten, Vegetation und edaphische Bedingungen aufweisen. Über diese Flächen wird ein Raster (Rastergröße z.B. 50x50 m) gelegt, aus dem mindestens 15 Felder als Entnahmestellen zufällig ausgewählt werden. Randlich gelegene Fel-

4.2 Selection and Definition of the Sampling Sites

Preceding the first sampling in an area under investigation, a **screening** will be conducted to define the sampling sites, the target species, and the random sample number. Further objective of this pre-study is to investigate the availability of the both specimens, the variation within the pollutant concentrations, and the spatial scheme of the pollution burden. The procedure is elucidated in figure 2. First step within the screening is a mapping of all sites potentially suited for both of the earthworm species, which show comparable usage units, vegetation, and edaphic conditions. A grid (raster size e.g. 50 m x 50 m) will be laid over these sites, from which at least 15 sections will be randomly selected as sampling points. Marginal sections, being smaller than the size defined, will be excluded from the random selection (PAULUS et al.

der, die kleiner als vorgeschrieben sind, werden bei der Zufallsauswahl nicht berücksichtigt (PAULUS et al. 1990). Die Böden der ausgewählten Entnahmestellen sind entsprechend der Bodenkundlichen Kartieranleitung (Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe 1994) zu charakterisieren.

1990). The soils of the sampling points selected should be characterised following the edaphic mapping guideline (Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe 1994 - German Federal Agency for Earth Sciences and Raw Materials 1994).

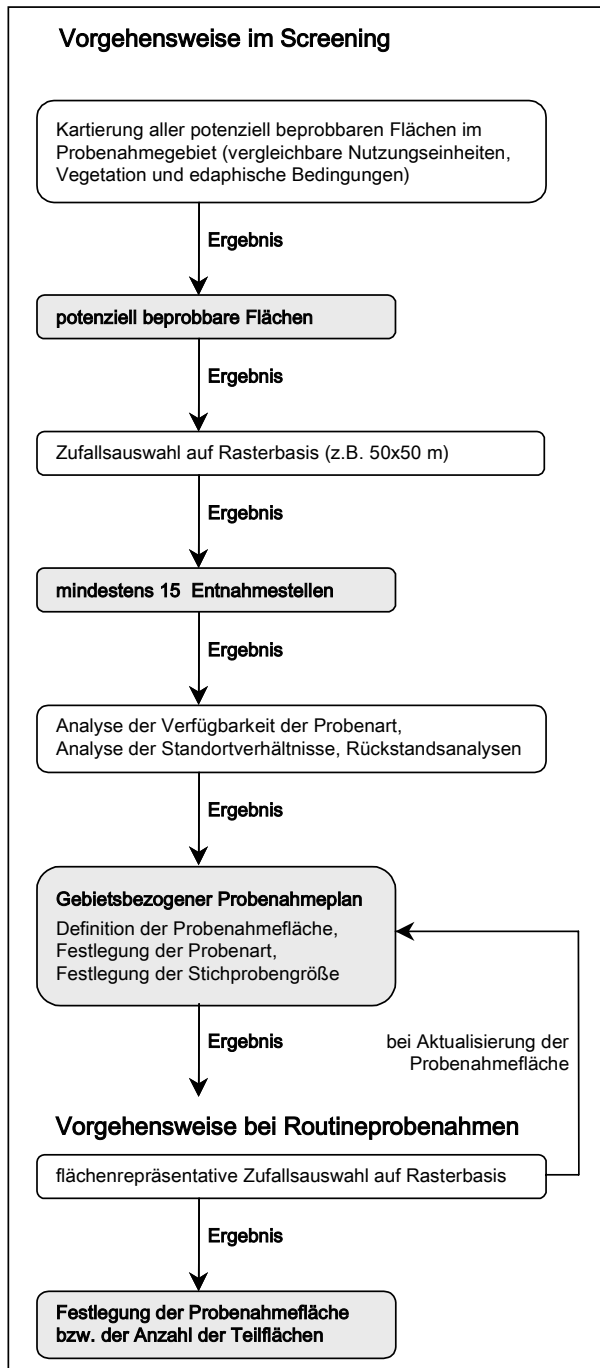


Abb. 2 Ablaufschema zur Durchführung von Screenings und Routineprobenahmen

Nach der Auswertung der Fang- und Analysenergebnisse des Screenings sowie der Bodencharakterisierung werden die drei nachfolgenden Festlegungen getroffen:

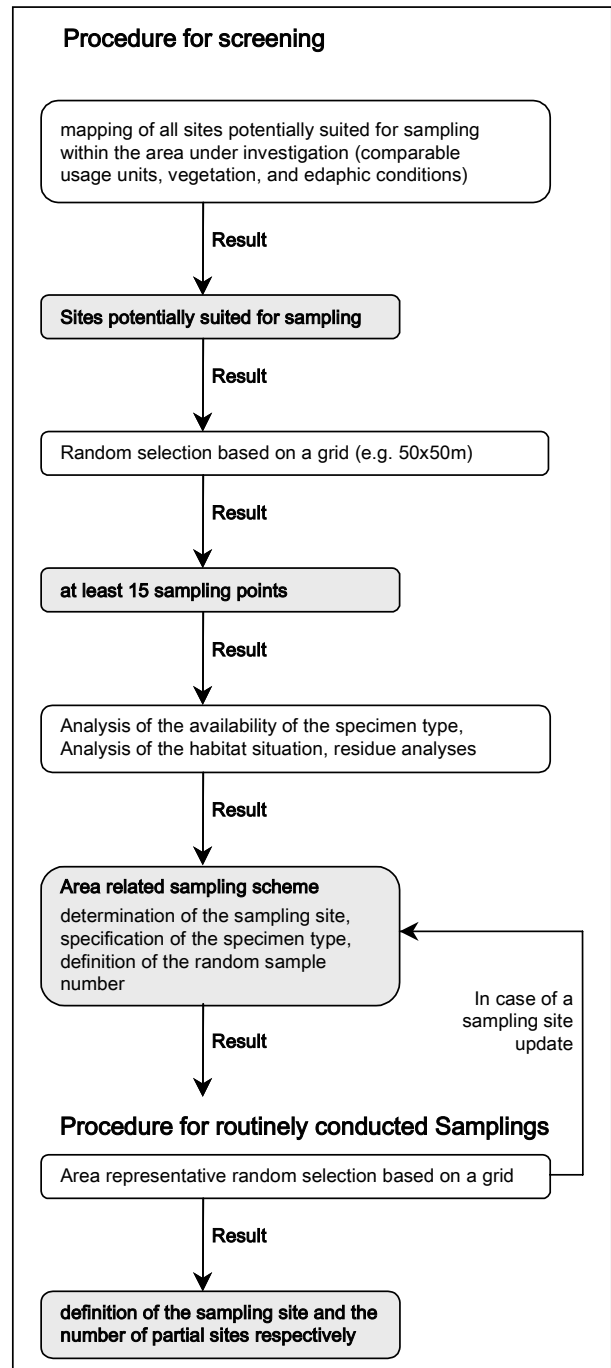


Fig. 2 Flowchart for the Implementation of Screenings and Routinely Conducted Samplings

Subsequent to the evaluation of trapping and analysis results from the screening, and to the soil characterisation, the following three definitions will be made:

- Die Probenahmeflächen für die Routineprobenahmen werden festgelegt, wobei vor jeder Probenahme die Kartierung der nach den oben genannten Kriterien geeigneten Flächen zu aktualisieren ist. Je nach Ökosystemtyp und Größe des Probenahmegebietes wird die Anzahl der Probenahmeflächen schwanken. Eine Probenahmefläche kann sich dabei aus mehreren geeigneten Teilflächen zusammensetzen, die räumlich nicht zusammen liegen müssen. Lage und Größe der Probenahmefläche(n) sind im gebietsbezogenen Probenahmeplan anzugeben.
- Wird für ein Probenahmegebiet nur eine Probenahmefläche ausgewählt, sind mindestens zehn Entnahmestellen zufällig nach dem in Abb. 2 beschriebenen Verfahren auszuwählen. Werden mehrere Probenahmeflächen bestimmt, richtet sich die Anzahl der Entnahmestellen pro Probenahmefläche nach der Größe, der Lage, der Nutzungskonstanz und den edaphischen Bedingungen der Flächen.
- Die Festlegung der Probenart erfolgt ebenfalls anhand der Screeningergebnisse, wobei die Verfügbarkeit das wichtigste Entscheidungskriterium ist. Insgesamt gesehen stellt sich *Lumbricus terrestris* gegenüber *Aporrectodea longa* als die geeignetere Probenart dar, insbesondere weil sie bezüglich ihres Akkumulationsverhaltens besser untersucht ist. Deshalb sollte überall dort, wo beide Arten gleich häufig sind, *Lumbricus terrestris*, und nur dort, wo diese Art nicht oder schlecht verfügbar ist, *Aporrectodea longa* ausgewählt werden.
- The sampling sites for routinely conducted samplings will be determined, at which preceding each sampling date the map showing the appropriate sites must be brought up-to-date following the criteria mentioned above. Due to the respective ecosystem type and the size of the sampling area, the number of the sampling sites will vary. One sampling site may consist of several appropriate partial sites, which must not be located in conjunction with each other. Location and size of the sampling site(s) must be registered in the area-related sampling scheme.
- If only one sampling site for an area under investigation will be selected, at least ten sampling points must be randomly selected in accordance with the procedure described in fig.2. If several sampling sites are defined, the number of sampling points per sampling site depends on the size, location, permanence of use, and edaphic conditions of the sites.
- The determination of the specimen type is also done from the results of the screening at which the availability is the major decision-making criterion. Altogether, *Lumbricus terrestris* turns out to be the more suitable specimen type compared to *Aporrectodea longa*, especially because it is better investigated concerning its accumulation behaviour. For this reason, in every location where both species occur equally frequent *Lumbricus terrestris* should be selected, and only if this species is not or poorly available *Aporrectodea longa* should be chosen.

4.3 Auswahl der Individuen und Stichprobengröße

Geschlechtsreife Individuen von *Lumbricus terrestris* und *Aporrectodea longa*, die an der Ausbildung des Clitellums zu erkennen sind, stellen die einzige (Alters)Gruppe dar, die sicher im Gelände anhand äußerer, mit bloßem Auge gut erkennbarer Merkmale bestimmt werden kann (Abb. 1).

Pro Entnahmestelle können gegebenenfalls mehrere schmale Fangstreifen ausgewählt werden, die mind. 5 m breit und 30 m lang sein sollen. Die pro Entnahmestelle zu sammelnde Regenwurmmasse ist im gebietsbezogenen Probenahmeplan festzuschreiben. Vom statistischen Standpunkt aus sind **mind. 50 Individuen** eine ausreichende Anzahl. Das entspricht im Falle von *Lumbricus terrestris* etwa 150-200 g und im Falle von *Aporrectodea*

4.3 Selection of Individuals and Random Sample Number

Sexually mature individuals of *Lumbricus terrestris* and *Aporrectodea longa*, who can be identified by the development of the Clitellum, represent the only age group which can be reliably determined in the field on the basis of external characters clearly observable with the naked eye (fig. 1)

If necessary, several small trapping zones per sampling point may be selected, which should be at least 5 m broad and 30 m long. The earthworm mass to be collected per sampling point must be defined in the area-related sampling scheme. From the statistical viewpoint, **at least 50 individuals** are a sufficient quantity. This is in the case of *Lumbricus terrestris* equivalent to approx. 150-200g and in the case of *Aporrectodea longa*

longa etwa 80-100 g als Mindestmenge an Probenmaterial pro Entnahmestelle. Aus diesem Probenumfang ergibt sich eine Kotmenge von ca. 40 bzw. 20 g.

4.4 Probenahmezeitraum und -häufigkeit

Um einen möglichst hohen Anteil an geschlechtsreifen Tieren zu gewinnen und die Würmer in dem im Jahresverlauf ökologisch-physiologisch stabilsten (Aktivitäts)Zeitraum sammeln zu können, wird die Regenwurmprobenahme im Herbst, von **Oktober bis Mitte Dezember**, durchgeführt. Frühere und spätere Termine sind aufgrund der temperaturbedingten Inaktivität der Regenwürmer zu meiden. Die Probenahme sollte bei langjährigen Programmen, wie im Fall der UPB, **jährlich** zum gleichen Zeitpunkt erfolgen.

4.5 Gebietsbezogener Probenahmeplan

Auf der Grundlage der Probenahmerichtlinie müssen für die einzelnen Probenahmegebiete spezifische Festlegungen getroffen werden, um die langfristige Kontinuität der Probenahme ausreichend absichern zu können. Dies betrifft u.a. die Lage und Abgrenzung der Probenahmeflächen bzw. Entnahmestellen. Zur Erleichterung der Vorbereitung und zur Durchführung der Probenahme sollten auch weitere Gebietscharakteristika (Adressen der Flächeneigentümer) festgehalten werden. Hierzu ist ein gebietsbezogener Probenahmeplan anzufertigen und bei Bedarf zu aktualisieren.

5 Durchführung der Probenahme

Alle bei der Probenahme und der biometrischen Probenbeschreibung erhobenen Daten sind in den entsprechenden Probendatenblättern (s. Anhang) zu vermerken. Zu jeder Probenahme ist darüber hinaus ein Protokoll mit folgendem Inhalt anzufertigen:

- An der Probenahme beteiligte Personen inkl. dem Leiter der Probenahme und externer Helfer
- Chronologischer Ablauf der Probenahme
- Die für die Probenahme zugrundeliegende Fassung der Probenahmerichtlinie und des gebietsbezogenen Probenahmeplans sowie
- Abweichungen von der Probenahmerichtlinie und dem gebietsbezogenen Probenahmeplan

equivalent to approx. 80-100g as minimum sample material per sampling point. From this sample amount follows an excremental mass from approx. 40g and 20g respectively.

4.4 Sampling Period and Frequency

To obtain the highest number possible of sexually mature animals and to collect earthworms in the ecologically-physiologically most stable (activity) time span in the course of the year, the sampling of earthworms is conducted in autumn, from **October to the middle of December**. Earlier and later dates must be avoided because of the temperature-caused inactivity of the earthworms. In case of long lasting programs, as in case of the ESB, the sampling may be conducted **yearly** at the same date.

4.5 Area Related Sampling Scheme

Based on the sampling guideline, specific determinations for the individual areas under investigation must be made to sufficiently secure the continuousness of the sampling on the long run. It concerns among other things the location and demarcation of the sampling sites and the sampling points respectively. To ease the prearrangement and the conduction of the sampling, further area characteristics (addresses of the site owners) should be registered. To this, an area related sampling scheme has to be made and updated if necessary.

5 Implementation of the Sampling Procedure

All data collected in course of the sampling and through the biometric sample description must be documented in the respective specimen data sheets (see appendix). Furthermore, for each sampling a record with the following content must be kept:

- All persons involved in the sampling, including the conductor and external assistants
- Chronological course of the sampling
- The underlying version of the sampling guideline and the area related sampling scheme for the current sampling, as well as
- Alterations to the sampling guideline and the area related sampling scheme

5.1 Technische Vorbereitungen

Der Fang mit Strom erfordert Sicherheitsvorkehrungen, die in der "Sicherheitsrichtlinie für den Fang von Regenwürmern mit elektrischem Strom für die Umweltprobenbank" dargelegt sind (siehe Anlage). Jede an der Probenahme beteiligte Person ist vom Leiter der Probenahme:

- Über die Gefahren beim Fangen von Regenwürmern mit elektrischem Strom zu unterrichten
- In die Handhabung der zu verwendenden Elektroregenvurmfanganlage einzuweisen und
- Mit der "Sicherheitsrichtlinie für den Fang von Regenwürmern mit elektrischem Strom für die Umweltprobenbank" vertraut zu machen

Ist die Entnahmestelle mit hohem Gras bedeckt, das eine wirksame und reproduzierbare Probenahme nicht mehr zulässt, müssen die einzelnen Streifen vor der Probenahme gemäht werden.

5.2 Erforderliche Ausrüstung und Reinigungsvorschriften

Freiland:

- Generator (Aggregat) (220 V) mit 4-Takt-Ottomotor
- Feuchtraumgeschütztes Gehäuse mit Regeltrafo, Ampèremeter, Notausschalter und Schutzsicherung
- Elektroden mit Verbindungskabel
- Verlängerungskabel (mind. 50 m)
- Verbindungskabel von Elektrodenreihen zum Ampèremeter (ca. 2x50 m)
- Tragbares Voltmeter inkl. zwei Stichlingen zum Messen der Schrittspannung
- Absperrband mit Stangen und Warnschilder
- Elektrischer Rasenmäher bzw. Sense oder elektrischer Rasentrimmer inkl. Rechen
- Probendatenblätter zur Dokumentation während der Probennahme (Entnahmestelle, Witterung sowie Probenahmetechnik und Lagerung)
- Gummistiefel und Gummihandschuhe nach VDE 0680 Teil 1
- Isolierte Edelstahlpinzetten

5.1 Technical Preparations

The trapping by means of electric current requires safety-precautions specified in the "Safety Guideline for Trapping Earthworms by Means of an Electric Current for the Environmental Specimen Bank" (see appendix). Each person involved in the sampling must be informed by the conductor of the sampling about:

- The hazards by trapping earthworms by means of electric current
- The operating instructions for the electric earthworm trapping gear
- The "Safety Guideline for Trapping Earthworms by Means of an Electric Current for the Environmental Specimen Bank"

If the sampling site is covered with high grass, not allowing for an effective and reproducible sampling, the individual trapping zones have to be mowed preceding the start of the sampling.

5.2 Required Equipment and Cleaning Procedures

Field work:

- Generator (power engine) (220 V) with four-stroke Otto engine
- Dampness proofed casing with control transformer, ampere meter, emergency switch, and protective fuse
- Electrodes with connecting cable
- Extension cable (at least 50 m)
- Connecting cable between the lines of electrodes and the ampere meter (approx. 2x50 m)
- Portable volt meter, incl. two sticklebacks to measure the pace voltage
- Cordon for barricading, with poles and danger signs
- Electric lawn mower or scythe, or electric lawn trimmer incl. rake
- Specimen data sheets for documentation during the sampling (sampling point, atmospheric conditions, sampling technique and storage)
- Rubber boots and rubber gloves in accordance with VDE 0680 part 1
- Insulated stainless steel tweezers

- Mind. vier Entkotungsvorrichtungen inkl. Petrischalen aus Boro-Silikat-Glas (10 cm Durchmesser, 1,8 cm Höhe) mit Deckel (Abb.4)
- Waage (Wägebereich mind. 3 kg, Messgenauigkeit 1 g)
- Zellstofftücher und wasserfester Edding
- Bestimmungsschlüssel für Regenwürmer
- Topographische Karten des Probenahmegebietes
- Luft- und Bodenthermometer
- Bohrstock, Gummihammer und Bodenkundliche Kartieranleitung

Labor:

- Probendatenblatt Sammelergebnisse
- Edelstahlpinzetten
- Reinluftarbeitsplatz mit Partikel- und Aktivkohlefilterung
- Einmalhandschuhe
- Kühlvorrichtung (8-12° C)
- Edelstahlgefäß (1,5 l und 5,5 l) mit Deckel und Klammern
- Flüssigstickstoff
- Kühlvorrichtungen zum raschen Tiefkühlen und Lagern der Proben in der Gasphase über flüssigem Stickstoff (LIN)

Reinigungsvorschriften:

Die Reinigung der Probengefäße und -geräte erfolgt in einer Laborspülmaschine (z.B. Mielabor G7783) mit chlorfreiem Intensivreiniger (z.B. Nerodisher F) im ersten Reinigungsgang. Nach Kalt- und Heißspülung (ca. 90-95° C) erfolgt eine Neutralisation mit ca. 30%iger Phosphorsäure in warmem Wasser; anschließend erfolgen Heiß- und Kaltspülgänge mit deionisiertem Wasser. Nach dem Spülen werden die Gefäße bei ca. 130° C im Trockenschrank mindestens eine Stunde nachbehandelt (zur Sterilisation). Anschließend lässt man die Gefäße geschlossen abkühlen. Bei Kunststoffen entfällt die Sterilisation.

- At least four defecation devices incl. Petri-dishes made of boro-silicate-glass (10 cm diameter, 1.8 cm height), with lid (fig. 4)
- Balance (effective range up to at least 3 kg, accuracy 1 g)
- Cellulose towels and watertight Edding-pen
- Identification key for earthworms
- Topographic maps of the area under investigation
- Air thermometer and soil thermometer
- Drilling rod, rubber hammer, and edaphic mapping guideline

Laboratory:

- Specimen Data Sheet “Collection Results”
- Tweezers made of stainless steel
- Clean bench with particles- and activated carbon filtration
- Disposable gloves
- Cooling device (8-12°C)
- Stainless steel vessel (1.5 and 5.5 l) with lid and fastener
- Liquid nitrogen
- Cooling device for the rapid deep-freezing and storage of the samples in the gas phase above liquid nitrogen (LIN)

Cleaning Procedures:

The cleaning of the sample vessels and the other equipment for the sampling will be processed in a laboratory dish washer (e.g. Mielabor G7783) with a chlorine-free powerful cleaning agent (e.g. Nerodisher F) in a first cleaning course. After cool and hot (approx. 90 -95°C) rinsing, a neutralization with phosphorus acid (approx. 30 %) in warm water is carried out, followed by hot and cool rinsing with deionised water. After the rinsing, the vessels and other equipment are treated (for the purpose of sterilisation) in a compartment dryer for at least one hour at approx. 130°C. Afterwards, the vessels remain closed while they are left to cool down. For synthetic materials the sterilisation is not to apply.

5.3 Probenahmetechnik

Nach dem Schema in Abb. 3 werden Generator, Ampèremeter und Elektrodenreihen auf dem Fangstreifen angeordnet. Das Stromaggregat wird so platziert, dass keine Kontamination der Fangstreifen und der Proben erfolgen kann. Die **Windrichtung** muss deshalb regelmäßig kontrolliert werden, um gegebenenfalls die Platzierung des Gerätes zu ändern.

Die beiden Elektrodenreihen werden in einem Abstand von bis zu 30 m zickzackförmig in den Boden gesteckt. Die Zickzackform wird empfohlen, weil sich dadurch die Fangfläche pro Reihe gegenüber einer geradlinigen Anordnung der Elektroden erhöht.

Nach Einschalten des Generators wird die Schrittspannung gemessen und die Stromstärke an dem eingebauten Ampèremeter abgelesen. Die Messung der Schrittspannung mittels eines Spannungsmessers erfolgt an zwei Stichlingen, die direkt an den Elektrodenreihen im Abstand von einer Schrittlänge in den Boden gesteckt werden. Erreichen die Werte für Schrittspannung und/oder Stromstärke trotz 220 V Ausgangsspannung so niedrige Werte, dass keine Regenwürmer an der Bodenoberfläche erscheinen, müssen die Elektrodenreihen näher zusammengesteckt werden. Exakte Angaben zu einer geeigneten Spannung können nicht gemacht werden, da je nach Leitfähigkeit des Bodens auch bei niedrigen Werten gute Fangerfolge möglich sind. Nach regenarmen Sommern und demzufolge trockenen Böden befinden sich die Regenwürmer noch im Ruhestadium. Sie können dann mittels Strom nicht an die Bodenoberfläche getrieben werden. Die Probenahme kann in diesem Fall erst nach Regenfällen bzw. ausreichender Benetzung des Bodens durchgeführt werden.

Da die Probenahme mit Wechselstrom durchgeführt wird, erscheinen die Regenwürmer an beiden Elektrodenreihen im Umfeld von etwa 30 bis 50 cm an der Bodenoberfläche. Das Absammeln geschieht stets an beiden Elektrodenreihen, wobei die Probenehmer immer hinter der jeweiligen Reihe stehen (Abb. 3).

Beide **Elektrodenreihen** werden durch Umstecken der Elektroden **aufeinander zu bewegt**. Das Umstecken birgt für den Probenehmer die Gefahr, Spannung an den blanken Stellen der Elektroden abzugreifen. Deshalb darf immer nur eine Elektrode angefasst und umgesteckt werden (vgl. Sicherheitsrichtlinie in der Anlage). Die Umsteckhäufigkeit und -geschwindigkeit richtet sich hierbei nach

5.3 Sampling Technique

Following the scheme in fig. 3, generator, ampere meter, and the electrode lines will be arranged on the trapping zones. The power set has to be located in a way to make sure that no contamination of the trapping zones and the samples may occur. For this reason, the **wind direction** must be checked regularly, and the generator must be relocated, if necessary.

Both electrode lines are stuck in a zigzag pattern into the soil in a distance of max. 30 m to each other. The zigzag pattern is recommended because it enlarges the trapping area per line, compared to a linear arrangement of the electrodes.

After switching on the generator, the pace voltage is measured, and the current will be read at the installed ampere meter. Measuring the pace voltage by means of a voltmeter is performed at the two sticklebacks, put into the soil directly at the electrode lines, separated by a distance of one pace. If the values for pace voltage and/or the current are, despite of 220V output voltage, too low to bring the earthworms to the soil surface, the both electrode lines must be put closer together. Exact statements to a suitable voltage cannot be made, because depending on the conductivity of the soil, even in case of low values good trapping profits can result. Subsequent to arid summers and resultant dried out soils, the worms are still in a repose state. Electric current will not bring them up. In this case, sampling may be conducted subsequently to rainfalls and not until sufficient moistening of the soil respectively.

Due to the fact that alternating current is used for sampling, the earthworms will appear at the soil surface at both electrode lines within a radius of approx. 30 to 50 cm. Collection will always take place at both lines of electrodes, at which the sampling staff will always stay behind the respective line (fig. 3).

Both **lines of electrodes** will be **moved towards each other** by re-sticking the electrodes. For the sampling staff, the re-sticking constitutes the danger to grip voltage at the not insulated parts of the electrodes. Therefore, only one electrode at a time should be touched and re-stuck. (compare Safety Guideline in the appendix). Frequency and rate of the re-sticking depend in this connection on the

der Zeitspanne, innerhalb derer die Individuen an der Bodenoberfläche erscheinen.

Die an den Elektroden erscheinenden Individuen der Zielart, die ein Clitellum ausgebildet haben, werden mit Edelstahlstahlpinzetten vom Boden aufgesammelt, von anhaftenden Bodenpartikeln oder Grasresten durch Abstreifen mit einer Pinzette gesäubert und zu etwa zehn Individuen direkt in vorher gewogene und beschriftete Petrischalen eingesetzt. Diese Zahl garantiert, dass die Würmer während der fünftägigen Hälterung in den Schalen nicht austrocknen. Die Würmer dürfen erst nach dem vollständigen Verlassen ihrer Röhren mit der Pinzette gegriffen werden, da sie ansonsten verletzt werden können. Verletzte Individuen werden nicht gesammelt.

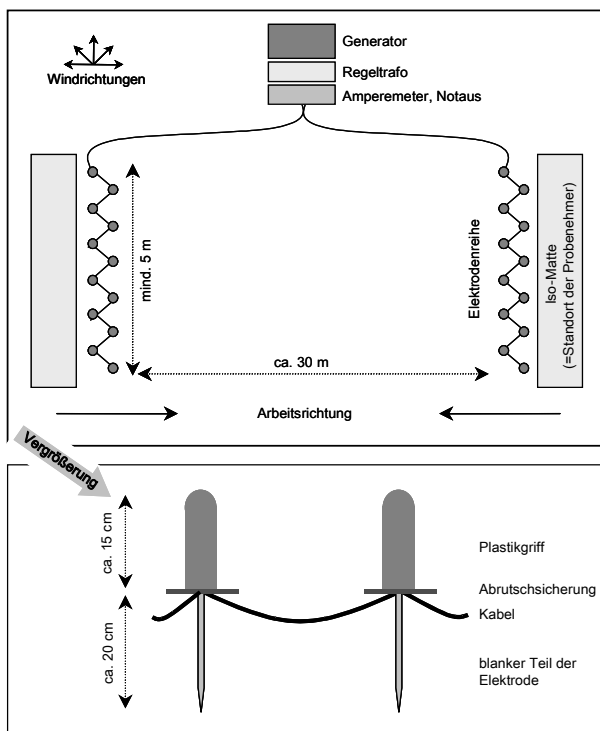


Abb. 3: Anordnung der Fangvorrichtung

Nach dem Einsetzen eines Individuums wird die Petrischale zur Vermeidung von Kontaminationen und zur Verhinderung der Fluchtmöglichkeit mit einem Deckel verschlossen. Ist eine Petrischale mit genügend Würmern besetzt, wird sie erneut gewogen und in die **Entkotungsvorrichtung** gestellt (Abb. 4). Ist letztere mit allen Petrischalen gefüllt, wird sie sofort verschlossen und in einen Kühlschrank mit einer Temperatur von 8-12 °C gebracht.

time span in which the individuals appear at the soil surface.

Individuals appearing around the electrodes, which belong to the target species and have its clitellum evolved, will be collected from the soil by means of stainless steel tweezers, freed from adhering soil or grass particles by stripping it away with tweezers, and straight away put into pre-weighed and –labelled Petri-dishes ten together. This number guarantees, that the worms will not dry up in the dishes during the five days of conditioning. Unless having completely left their channels, the worms shall not be gripped with the tweezers to avoid potential injuring. Injured individuals will not be collected.

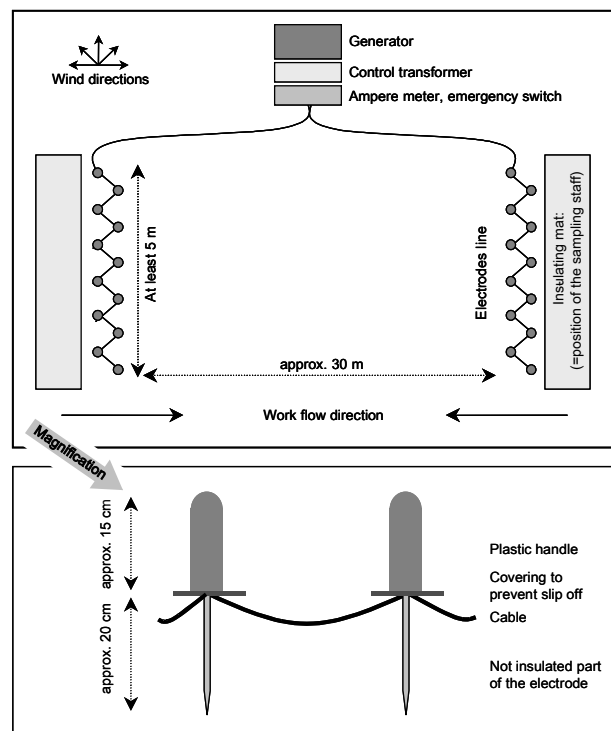


Fig. 3: Arrangement of the Trapping Gear

Subsequent to inserting one individual, the Petri dish will be sealed with a lid to avoid contaminations and the possibility to escape. If one Petri dish is filled sufficiently with worms, it will be re-weighed and put into the **defecating device** (fig. 4). When the defecating device is filled with all Petri dishes, it will be immediately closed and transferred into a refrigerator with a temperature of 8-12°C.

Alle gefangenen Individuen verbleiben fünf Tage (120 Stunden) in der Entkotungsvorrichtung und somit im (dunklen) Kühlschrank. Versuche bei unterschiedlichen Temperaturen haben ergeben, dass diese Temperaturspanne die besten Ergebnisse bezüglich der Darmentleerung liefert, ohne dass (bei genügend hoher Individuenzahl pro Petrischale, s.o.) die Gefahr des Austrocknens der Würmer besteht, und ohne dass eine Remobilisierung der im Wurmkörper gebundenen Schadstoffe stattfindet (KLEIN & PAULUS 1995).

Nach 24 Stunden ist der **Kot** mit einer Edelstahlpinzette aus jeder Petrischale zu sammeln, gemeinsam (d.h. Kot aus allen Petrischalen) zu wiegen und in einem Edelstahlgefäß (1,5 l) über flüssigem Stickstoff zu lagern. Geschädigte oder abgestorbene Regenwürmer werden gegebenenfalls entfernt. Das Öffnen der Petrischalen ist nur unter Reinluftbedingungen durchzuführen.

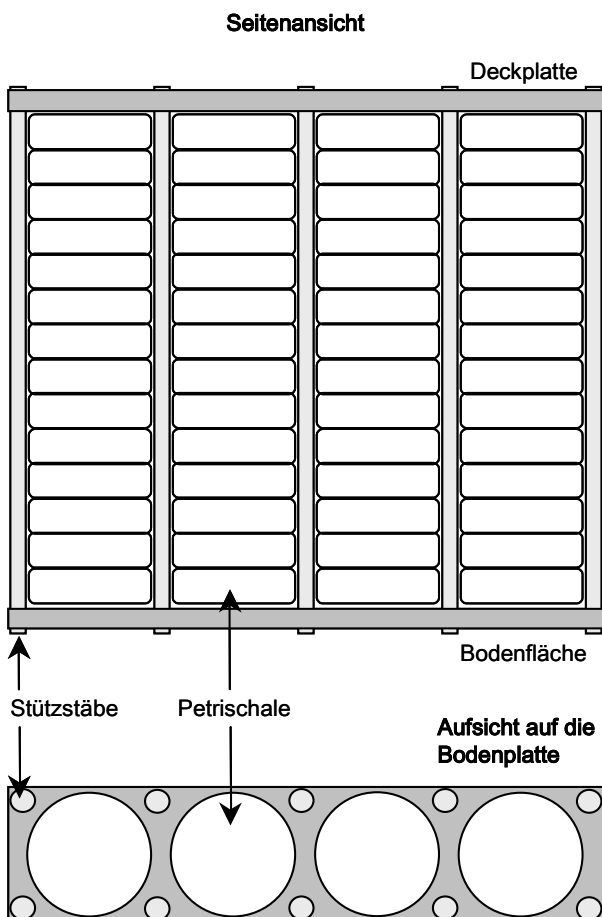


Abb. 4: Entkotungsvorrichtung

Nach fünf Tagen wird dieser Arbeitsprozess wiederholt, wobei der abgesammelte Kot in dasselbe Edelstahlgefäß gegeben wird, indem sich der nach 24 Stunden gewonnene Kot befindet. Bei diesem

All individuals captured remain for five days (120hrs) in the defecating device and thus inside the (dark) refrigerator. Experiments with varying temperatures revealed that this temperature span is best suited for optimal defecation, avoiding the risk that the worms dry up (if a sufficient high number of individuals per Petri dish is given) and avoiding as well a remobilisation of contaminants absorbed in the worm body (KLEIN & PAULUS 1995).

After 24 hours the **excrement** will be collected from the Petri dishes by means of stainless steel tweezers, weighed together (i.e. excrement out of all Petri dishes), and stored in a stainless steel vessel (1.5 l) above liquid nitrogen. Harmed or dead earthworms will be removed, should the situation arise. The Petri dishes should be opened only under clean air conditions.

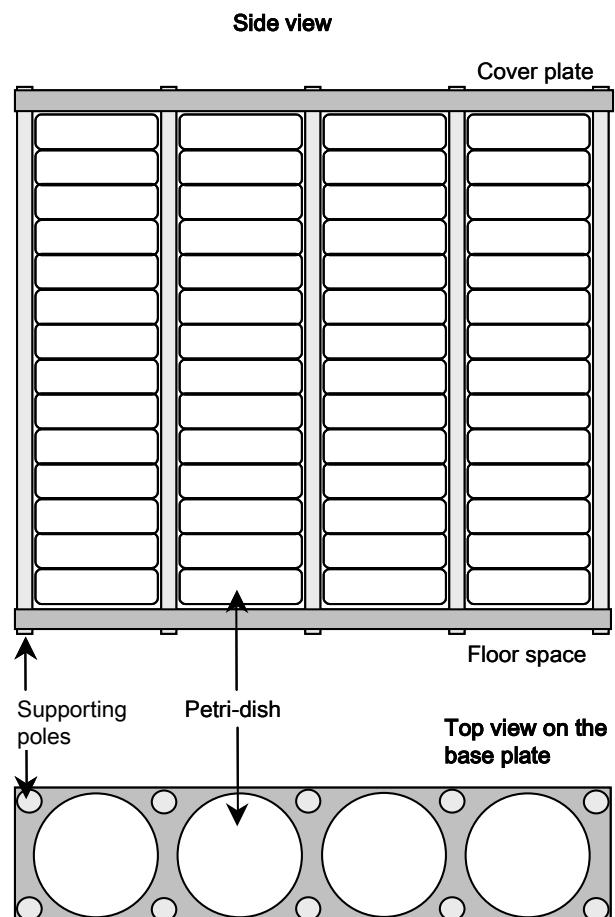


Fig. 4: Defecating Device

After five days the same procedure will be repeated, at which the excrement collected will be added into the stainless steel vessel containing the excrement from the previous collection. In course

Arbeitsschritt sind die Würmer pro Schale zu zählen. Nach dem Absammeln des Kotes werden die Würmer in den Petrischalen für ca. drei Stunden in eine Tiefkühltruhe (-20°C) gestellt. Dadurch geben sie weiteren Kot in kurzer Zeit ab und werden gleichzeitig abgetötet.

Anschließend werden die Würmer im tiefgefrorenen Zustand aus den Petrischalen genommen, mit einer Edelstahlpinzette vom Kot getrennt, gewogen und in Edelstahlgefäße (5,5 l) umgesetzt, die sofort in die Gasphase über flüssigem Stickstoff gestellt werden. Diese Arbeiten sind ebenfalls bei Reinluftbedingungen durchzuführen, ohne dass die Würmer auftauen. Der in der Tiefkühltruhe abgegebene Kot wird verworfen, da er sehr schnell auftaut. Alle erhobenen Daten samt der Gefäßnummern sind im entsprechenden Probendatenblatt einzutragen.

6 Biometrische Probencharakterisierung

Zur Beschreibung der gesammelten Regenwurmproben werden bei der Probenaufarbeitung folgende Parameter bestimmt (vgl. Kap. 5.3):

- Gesamtgewicht der entkoteten Würmer auf 1 g genau
- Gesamtgewicht des abgegebenen Kotes auf 1 g genau
- Anzahl der in der Probe enthaltenen Wurmindividuen ohne Darminhalt

Daraus lassen sich die durchschnittlichen Wurmgewichte pro Individuum und die pro Individuum durchschnittlich abgegebene Kotmenge errechnen.

of this work step the individuals per dish will be counted. Subsequent to the excrement collection, the worms in the Petri dishes will be placed in a deep-freezer (-20°C) and stay there for approx. three hours. As a consequence, they release further excrement in a little while and are killed concurrently.

Subsequently the worms will be put out of the Petri dishes in the deep frozen state, separated from their excrement by means of stainless steel tweezers, weighed, and transferred into stainless steel vessels (5.5 l) which are immediately stored in the gas phase above liquid nitrogen. These works have to be processed under clean-air conditions too, without allowing the worms to thaw. The excrement released in the deep-freezer will be dismissed, because it starts thawing very quickly. All data ascertained, together with the vessel numbers, will be entered in the corresponding specimen data sheet.

6 Biometric Specimen Characterization

In course of the sample processing the following parameters are determined to describe the earthworm samples collected:

- Overall weight of the defecated worms to 1 g accuracy
- Overall weight of the released excrement to 1 g accuracy
- Number of worm individuals without intestinal content contained in the sample

The outcome of this is the feasibility to calculate the average worm weights per individual, as well as the average released excrement mass per individual.

7 Literatur / Literature

- AUERSWALD, K.; WEIGAND, S.; KAINZ, M. & PHILIPP, C. (1996): Influence of soil properties on the population and activity of geophagous earthworms after five years of bare fallow. *Biol. and Fertil. Soils* 23(4): 382-387.
- BARKER, R.J. (1958): Notes on some ecological effects of DDT sprayed on elms. *L. Wildl. Manage.* 22(3): 269-274.
- BOOTH, L.H.; HODGE, S. & O'HALLORAN, K. (2001): Use of biomarkers in earthworms to detect use and abuse of field applications of a model organophosphate pesticide. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 67: 633-640.
- BOUCHE, M.B. (1972): Lumbriciens de France - ecologie et systematique. *Ann. Zool. Écol. Anim.* 72: 151-170.
- Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe (Hrsg.): Bodenkundliche Kartieranleitung. 4. verb. und erw. Auflage. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart. 392 Seiten.
- DARWIN, C. (1881): The formation of vegetable mould through the action of worms. London, 326 Seiten.
- DAVIS, B.N.K. & FRENCH, M.C. (1969): The accumulation and loss of organochlorine insecticide residues by beetles, worms and slugs in sprayed fields. *Soil Biol. Biochem.* 1: 45-55.
- DUNGER, W. & FIEDLER, H.J. (1989): Methoden der Bodenbiologie. Gustav Fischer, Stuttgart.
- EBERE, A.G. & AKINTONWA, A. (1995): Acute toxicity studies with earthworms, *Lumbricus terrestris*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 55: 766-770.
- EBING, W.; PFLUGMACHER, J. & HAQUE, A. (1984): Der Regenwurm als Schlüsselorganismus zur Messung der Bodenbelastung mit organischen Fremdstoffen. *Berichte Landwirtschaft* 62: 222-255.
- EDWARDS, C.A. & LOFTY, J.R. (1977): Biology of Earthworms. Chapman & Hall, London. 333 Seiten.
- EDWARDS, C.A. (1984): Report of the 2nd stage in development of a standardized laboratory method for assessing the toxicity of chemical substances to earthworms. Commission of the European Communities Eur Report 0 (9360) I-IV. Seite 1-99.
- FITZGERALD, D.G.; WARNER, K.A.; LANNO, R.P. & DIXON, D.G. (1996): Assessing the effects of modifying factors on pentachlorophenol toxicity to earthworms – Applications of body residues. *Environ. Toxicol. Chem.* 15(12): 2299-2304.
- GISH, C.D. (1970): Organochlorine insecticide residues in soils and soil invertebrates from agricultural lands. *Pesticides Monitoring Journal* 3(4): 241-252.
- GONZALEZ, M.J.; RAMOS, L. & HERNANDEZ, L.M. (1994): Distribution of trace metals in sediments and the relationship with their accumulation in earthworms. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 57: 135-150.
- HAQUE, A. & EBING, W. (1988): Uptake and accumulation of pentachlorophenol and sodiumpentachlorophenate by earthworms from water and soil. *The Science of the Total Environment* 68: 113-125.
- HENSEN, U. (1877): Die Thätigkeit des Regenwurms (*Allolobophora longa*) für die Fruchtbarkeit des Erdbodens. *Z. wiss. Zool.* 28: 354-364.
- JÉGOU, D.; CLUZEAU, D.; WOLF, J.J.; GANDON, Y. & TRÉHEN, P. (1998): Assessment of the burrow system of *Lumbricus terrestris*, *Aporrectodea giardi*, and *Aporrectodea caliginosa* using X-ray computed tomography. *Biol. Fertil. Soils* 26: 116-121.
- JÉGOU, D.; BRUNOTTE, J.; ROGASIK, H.; CAPOWIEZ, Y.; DIESTEL, H.; SCHRADER, S. & CLUZEAU, D. (2002): Impact of soil compaction on earthworm burrow systems using X-ray computed tomography – preliminary results. *European Journal of Soil Biology* 38: 329-336.
- JOHNSON, D.L.; JONES, K.C.; LANGDON, C.J.; PEARCE, T.G. & STEMPLE, K.T. (2002): Temporal changes in earthworm availability and extractability of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. *Soil Biol. Biochem.* 34: 1363-1370.
- KLEIN, R., ALTMAYER, M. & SPRENGART, J. (1993): Richtlinie zur Probenahme und Probenbearbeitung der Umweltprobenbank des Bundes - Regenwurm (*Lumbricus terrestris* und *Aporrectodea longa*). Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit. Bonn.
- KLEIN, R.; ALTMAYER, M. & PAULUS, M. (1995): Richtlinie zur Probenahme und Probenbearbeitung Regenwurm (*Lumbricus terrestris* und *Aporrectodea [Allolobophora] longa*). In: Umweltbundesamt (Hrsg.) (1996): Umweltprobenbank des Bundes – Verfahrensrichtlinien für Probenahme, Transport, Lagerung und chemische Charakterisierung von Umwelt- und Human-Organproben. Erich Schmidt Verlag, Berlin.
- LEE, K.K. (1985): Earthworms, their ecology and relationships with soils and land use. Academic Press, New York. 411 Seiten.
- LEWIS, R.A.; PAULUS, M.; HORRAS, C. & KLEIN, B. (1989): Auswahl von ökologischen Umweltbeobachtungsgebieten in der Bundesrepublik Deutschland. Abschlussbericht zum F&E-Vorhaben 106 05 056 im Auftrag des Umweltbundesamtes. Saarbrücken.
- MORGAN, J.E. & MORGAN, A.J. (1990): The distribution of copper, lead, zinc, and calcium in the tissues of the earthworm *Lumbricus rubellus* sampled from one contaminated and four polluted soils. *Oecologia* 84(4): 559-566.
- PAULUS, M.; HORRAS, C.; KLEIN, B. & LEWIS, R.A. (1990): Vertiefte Auswahl von Probenahmegebieten für die Umweltprobenbank und ökologische Beratung zu ihrem Betrieb. Abschlussbericht zum F&E-Vorhaben 108 08 001 im Auftrag des Umweltbundesamtes. Saarbrücken.
- PAULUS, M.; ALTMAYER, M.; KLEIN, R.; HILDEBRANDT, A.; OSTAPCZUK, P. & OYXNOS, K. (1994): Aufbau flächenrepräsentativer Probenahmen von Umweltproben zur Schadstoffanalytik am Beispiel der Regenwürmer in landwirtschaftlich genutzten Räumen. *UWSF Z. Umweltchem. Ökotox.* 6(6): 375-383.
- RICHTER, R. (1949): Bestimmungstabelle für einheimische Lumbriciden. *Senckenbergiana* 30: 171-181.
- RISS, B. & MÜLLER, P. (1989): Ökologische und rückstandsanalytische Untersuchungen zur Eignungsprüfung von Regenwurmartens als Indikatororganismen für die Umweltprobenbank. Abschlussbericht zum Forschungsvorhaben 108 08 059 im Auftrag des Umweltbundesamtes. Saarbrücken.
- SALAGOVIC, J.; GILLES, J.; VERSCHAEVE, L. & KALINA, I. (1996): The comet assay for the detection of genotoxic damage in the earthworms – A promising tool for assessing the biological hazards of polluted sites. *Folia Biol.* 42(1-2): 17-21.
- SCOTT-FORDSMAND, J.J. & WEEKS, J.M. (2000): Biomarkers in earthworms. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 165: 117-159.
- SHEPPARD, S.C.; BEMBRIDGE, J.D.; HOLMSTRUP, M. & POSTHUMA, L. (Hrsg.) (1997): Advances in earthworm ecotoxicology. Proceedings from the Second International Workshop on Earthworm Ecotoxicology, 2.-5. April 1997, Amsterdam. Setac Press, Pensacola. 413 Seiten.
- TARRADELLAS, J.; DIERCXENS, P. & BOUCHE, M.B. (1982): Methods of extraction and analysis of PCBs from earthworms. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 13: 55-67.
- TOPP, W. (1981): Biologie der Bodenorganismen. UTB 1101. Quelle & Meyer, Heidelberg.

- VAN HOOK, R.J. (1974): Cadmium, lead and zinc distributions between earthworms and soils – Potential hazards for biological accumulation. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 12: 509-512.
- WEIGMANN, G. (1991): Heavy metal levels in earthworms of a forest ecosystem influenced by traffic and air pollution. *Water Air Soil Pollut.* 57/58: 655-663.
- WHEATLEY, G.A. & HARDMAN, J.A. (1968): Organochlorine insecticide residues in earthworms in arable soils. *J. Sci. Fd. Agri.* 19: 219-225.
- WILCKE, D.E. (1939): Bestimmungstabelle für einheimische Lumbriciden. *Senckenbergiana* 30(4/6): 171-181.
- WILCKE, W. & ZECH, W. (2000): Availability of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) to earthworms in urban soils. *Environ. Sci. Technol.* 34: 4335-4340.
- WILLEMS, J.J.; MARINISSEN, J.C. & BLAIR, J. (1996): Effects of earthworms on nitrogen mineralization. *Biol. Fertil. Soils* 23(1): 57-63.
- WRIGHT, M.A. & STRINGER, A. (1980): Lead, zinc and cadmium content of earthworms from pasture in the vicinity of an industrial smelting complex. *Environ. Poll.* 23: 313-32.

Checkliste zur Vorbereitung und Durchführung der Probenahme

Probenarten:	Regenwurm (<i>Lumbricus terrestris</i> und <i>Aporrectodea longa</i>)
Zielkompartimente:	Adulte Regenwürmer ohne Darminhalt, Regenwurmkot
Stichprobenumfang:	Mindestens 50 Individuen pro Entnahmestelle
Probenahmezeitraum:	Oktober bis Mitte Dezember
Probenahmehäufigkeit:	1 Probenahme pro Jahr
Erforderliche Ausrüstung:	<p>Freiland:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Probendatenblätter zur Dokumentation während der Probenahme (Entnahmestelle, Witterung, Sammelergebnisse sowie Probenahmetechnik und Lagerung) ○ Fangvorrichtung und Zubehör ○ isolierte Pinzetten zum Absammeln der Würmer ○ Wasserfester Edding zur Beschriftung der Petrischalen und der Edelstahlgefäße ○ Laborwaage (Wägebereich bis 3 kg, Messgenauigkeit 0,1 g) ○ Entkotungsvorrichtung inkl. Petrischalen ○ Luftthermometer, Bodenthermometer ○ Kühlschrank zur Zwischenlagerung der in der Entkotungsvorrichtung befindlichen Regenwürmer ○ Transportfahrzeug inkl. Reinluftarbeitsplatz mit Aktivkohle- und Partikelfilterung <p>Labor:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Probendatenblatt „Probenahmetechnik und Lagerung“ zur Dokumentation des Gewichtes des abgesammelten Kotes ○ Edelstahlpinzetten ○ Einmalhandschuhe ○ Waage (Messgenauigkeit 0,1 g) ○ Reinluftarbeitsplatz mit Aktivkohle- und Partikelfilterung ○ Kühlvorrichtungen zum raschen Tiefkühlen und Lagern der Proben in der Gasphase über flüssigem Stickstoff (LIN) ○ Edelstahlgefäße (1,5 l und 5,5 l) mit Deckel und Klammern
Probenverpackung bis zur -aufarbeitung:	Edelstahlgefäße (1,5 l und 5,5 l) (Aufbewahrung der Regenwürmer bis zur vollständigen Entkotung in den Petrischalen der Entkotungsvorrichtung)
Probentransport und -zwischenlagerung:	Kühlvorrichtungen zum raschen Tiefkühlen und Lagern der Proben in der Gasphase über flüssigem Stickstoff (LIN) (Aufbewahrung bis zur vollständigen Entkotung im Laborkühlschrank bei ca. 8-12° C)
Biometrische Probencharakterisierung:	<ul style="list-style-type: none"> ○ Gesamtgewicht der entkoteten Würmer auf 1 g genau ○ Gesamtgewicht des abgegebenen Kotes auf 1 g genau ○ Anzahl der gesammelten Wurmindividuen ohne Darminhalt

Checklist to Prepare and Conduct the Sampling

Specimen Type:	Earthworm (<i>Lumbricus terrestris</i> und <i>Aporrectodea longa</i>)
Target Compartments:	Adult earthworms without intestinal content, worm excrement
Random sample number:	At least 50 individuals per sampling point
Sampling Period:	October until middle of December
Sampling Frequency:	1 sampling per year
Required Equipment:	<p>Field work:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Specimen data sheets for documentation during the sampling (sampling point, atmospheric condition, collection results, as well as sampling technique and storage) ➤ Trapping gear and supplies ➤ Insulated tweezers to collect the worms ➤ Watertight Edding pen for labelling the Petri dishes and stainless steel vessels ➤ Laboratory balance (effective range up to at least 3 kg, accuracy 0.1 g) ➤ Defecating device incl. Petri dishes ➤ Air-thermometer, soil-thermometer ➤ Refrigerator for the interim storage of the worms inside the defecating device ➤ Transport vehicle incl. Clean bench with particles- and activated carbon filtration <p>Laboratory:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Specimen data sheet „Sampling technique and storage“ for the documentation of the weight of the excrement collected ➤ Several pairs of stainless steel tweezers ➤ Disposable gloves ➤ Balance (accuracy 0.1 g) ➤ Clean bench with particles- and activated carbon filtration ➤ Cooling devices for the rapid deep-freezing and storage of the samples in the gas phase above liquid nitrogen (LIN) ➤ Stainless steel vessels (1.5 and 5.5 l) with lids and fasteners
Sample Packing until Further Processing:	Stainless steel vessels (1.5 and 5.5 l) (storage of the earthworms until their complete defecation in the Petri dishes inside the defecating device)
Transport and Interim Storage:	Cooling devices for the rapid deep-freezing and storage of the samples in the gas phase above liquid nitrogen (LIN) (storage until defecation is completed in a laboratory refrigerator at approx. 8-12° C)
Biometric Sample Characterisation:	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Overall weight of the defecated worms to 1 g accuracy ➤ Overall weight of the released excrement to 1 g accuracy ➤ Number of worm individuals collected without intestinal content

Sicherheitsrichtlinie für den Fang von Regenwürmern mit elektrischem Strom für die Umweltprobenbank

als Anlage zur Richtlinie zur Probenahme und Probenbearbeitung "Regenwurm", Stand: Januar 2003

Grundlagen

Der Fang von Regenwürmern mit elektrischem Strom für die UPB erfolgt ausschließlich mit einer von einem anerkannten Sachverständigen geprüften und mit einer Prüfplakette versehenen Anlage.

Vor Beginn jeder Probenahme ist vom verantwortlichen Leiter der Probenahme zu prüfen, ob die Prüf Fristen noch Gültigkeit besitzen (Merkblatt GUV 22.1, April 1989).

Die jeweils aktuelle Fassung der Richtlinie zur Probenahme von Regenwürmern der UPB beschreibt die exakte Vorgehensweise beim Fang von Regenwürmern mit elektrischem Strom. Sie ist genau zu befolgen.

Die Bestimmungen DIN 57 105, Teil1, VDE 0105 Teil1 (Betrieb von Starkstromanlagen - Allgemeine Festlegungen) und DIN 57 680 Teil1, VDE 0680 Teil 1 (Körperschuttmittel) sowie UVV "Elektrische Anlagen und Betriebsmittel" (GUV 2.10) bleiben unberührt.

Die vorliegenden Sicherheitsrichtlinie richtet sich nach den Punkten 4-7 der VDE-Bestimmung 0105 Teil 5 (Betrieb von Starkstromanlagen – Zusatzfestlegungen für Elektrofischereianlagen).

Einsatz von Arbeitskräften

Vor Beginn des Betriebes der Elektroregenwurmfanganlage sind daran beteiligte Personen von dem verantwortlichen Leiter der Probenahme zu unterrichten und einzuweisen.

Beim Betreiben der Elektroregenwurmfanganlage sind unbefugte Personen vor Gefahren zu warnen und gegebenenfalls aus dem Gefahrenbereich zu verweisen.

Die Elektroregenwurmfanganlage darf nur von dem verantwortlichen Leiter der Probenahme gemeinsam mit mindestens einem unterwiesenen

Safety Guideline for Trapping Earthworms by Means of an Electric Current for the Environmental Specimen Bank

as appendix to the guideline for sampling and sample preparation „Earthworm“, version January 2003

Basic principles

Trapping earthworms by means of an electric current for the ESB is performed solely with a gear, checked and labelled with a test badge by an accredited expert.

Before the start of the sampling the responsible conductor has to check whether the verification period is still valid (technical bulletin GUV 22.1, April 1989).

The effective version of the guideline for sampling earthworms for the ESB describes the precise procedure for trapping earthworms by means of electric current. It must be carried out accurately.

The provisions DIN 57 105, part1, VDE 0105 part1 (Betrieb von Starkstromanlagen - Allgemeine Festlegungen / Operation of heavy current gears – general stipulations) and DIN 57 680 part1, VDE 0680 part1 (Körperschuttmittel / Body protection equipment) as well as UVV "Elektrische Anlagen und Betriebsmittel" (Electric facilities and utilities) (GUV 2.10) will remain unaffected.

The safety guideline on hand complies with point 4-7 of the VDE provision 0105 part 5 (Betrieb von Starkstromanlagen – Zusatzfestlegungen für Elektrofischereianlagen / Operation of heavy current gears – additional specification for electric fishing gears).

Assignment of labour force

Preceding the start of the operation of the electric earthworm trapping gear, the persons involved must be informed and instructed by the responsible conductor of the sampling.

During the operation of the electric earthworm trapping gear, unauthorised persons must be advised against dangers and expelled from the range of dangers respectively.

The electric earthworm trapping gear may only be operated by the responsible conductor of the sampling together with at least one instructed assistant.

Helfer betrieben werden. Eine an der Probenahme beteiligte Person muss sich immer in unmittelbarer Nähe des Notausschalters in Sicht- und Rufkontakt mit der(n) an der(n) Elektrodenreihe(n) stehenden Person(en) aufhalten, um die Anlage bei Gefahr sofort frei zu schalten (s.u.).

Der verantwortliche Leiter der Probenahme und mindestens ein Helfer müssen mit den im Merkblatt ZH 1/403 "Erste Hilfe bei Unfällen durch elektrischen Strom" angegebenen Wiederbelebungsmaßnahmen vertraut sein.

Bedienen der Elektroregenwurmfanganlage

Alle an der Probenahme beteiligten Personen müssen während des Betriebes der Elektroregenwurmfanganlage Handschuhe und Gummistiefel benutzen, die hinsichtlich ihrer elektrischen Isoliereigenschaft den Bedingungen von VDE 0680 Teil 1 entsprechen. Die Griffleisten der Edelstahlpinzetten zum Ergreifen der Regenwürmer müssen mindestens mit einem Textilband isoliert sein.

Isolierende Schutzkleidung muss vor jedem Gebrauch von dem Benutzer auf offensichtliche Schäden untersucht werden. Nach dem Gebrauch ist die isolierende Schutzkleidung zu säubern und zu trocknen.

Bewegliche Leitungen sind schonend zu behandeln und vor Beschädigungen durch Kanten, schwere Belastung und dergleichen zu schützen. Sie dürfen im Betrieb und beim Transport der Geräte nicht auf unzulässigen Zug beansprucht werden.

Die Anschlussvorrichtungen – auch Steckvorrichtungen – für Elektrodenleitungen müssen beim Herstellen oder Lösen des Anschlusses freigeschaltet sein. Bevor die Elektroregenwurmfanganlage in Betrieb gesetzt wird, müssen der Schutz gegen direktes Berühren und bei indirektem Berühren sichergestellt sein. Vor jeder Inbetriebnahme ist die Elektroregenwurmfanganlage, besonders deren Zuleitung, gründlich auf äußere Beschädigungen zu untersuchen. Geräte und Anlagenteile, die gefährbringend beschädigt sind, dürfen nicht betrieben werden.

Der Gefahrenbereich ist festzulegen und durch Absperrband und Warnschilder kenntlich zu machen. Der Schalter zum Freischalten der Elektrodenzuleitungen der Elektroregenwurmfanganlage darf erst auf Anordnung des verantwortlichen Leiters der Probenahme eingeschaltet werden. Nach

One person involved in the sampling must always stay in direct nearness to the emergency switch and in intervisibility and voice contact to the person(s) at the electrode lines, to immediately disconnect the gear in case of danger (see below).

The responsible conductor of the sampling and at least one assistant must be familiar with the resuscitation actions described in provision ZH 1/403 "Erste Hilfe bei Unfällen durch elektrischen Strom" (First aid in case of accidents with electric current)

Handling of the electric earthworm trapping gear

All persons involved in the sampling have to wear during the operation of the electric earthworm trapping gear gloves and rubber boots which comply concerning its insulating capacity with the requirements in VDE 0680 part 1. The plates of the stainless steel tweezers for earthworm catching must be insulated by means of a textile tape at the least.

Insulating protective clothing must be checked preceding each usage for obvious damages by the user. Subsequent to the usage, the insulating protective clothing needs to be cleaned and dried.

Flexible cords must be handled with care and be protected against damages by edges, heavy weight and the like. During operation and transport they may not be stress by improper traction.

The connection gadgets – as well pluggings – for electrode cords must be disconnected during the plugging in and unplugging of the connection. Preceding the operation of the electric earthworm trapping gear, the protection against direct and indirect contact must be ensured. Preceding each initial operation, the electric earthworm trapping gear, in particular its supply line, must be thoroughly checked for external damages. Devices and gear components being dangerously damaged, must not be run.

The range of dangers must be defined and indicated by danger signs and barricading cordon. The switch for disconnecting the electrode supply lines of the electric earthworm trapping gear may be flicked on not until the order of the responsible conductor of the sampling. Immediately after the

der Inbetriebnahme der Elektroregenwurmfanganlage ist sofort die Schrittspannung in der Nähe der Elektrodenreihen zu messen. Bei Überschreiten von 50 V muss entweder die Ausgangsspannung über einen Regeltrafo herabgesetzt oder die Anlage freigeschaltet werden.

Die Elektroden dürfen nur an dem isolierten Griff angefasst werden. Auch beim Tragen der Schutzkleidung ist ein Anfassen des blanken Endes unzulässig. Eine an der Probenahme beteiligte Person darf immer nur eine Elektrode in die Hand nehmen. Die Elektroregenwurmfanganlage muss bei Gefahr oder Unregelmäßigkeiten sofort freigeschaltet werden.

Sind diese Maßnahmen nicht ausreichend sicher zu stellen, ist die gesamte Elektroregenwurmfanganlage außer Betrieb zu setzen.

Darüber hinaus ist die Elektroregenwurmfanganlage bei Niederschlägen, insbesondere Regen, Nieselregen und Schneefall, abzubauen.

startup of the electric earthworm trapping gear , the pace voltage near the electrode lines must be gauged. When 50 V are exceeded, the initial voltage must be reduced using the control transformer or the gear must be disconnected.

The electrodes may only be touched at the insulated handle. Even if the protective clothing is worn, touching the not insulated part is unallowable. A person involved in the sampling may only handle one electrode at a time. In case of danger or anomalies the electric earthworm trapping gear must be disconnected promptly.

If these measures can not be secured adequately, the entire electric earthworm trapping gear must be decommissioned.

Above all, in case of precipitation, in particular rain, drizzle and snow, the electric earthworm trapping gear must be uninstalled.

UMWELTPROBENBANK DES BUNDES

Probendatenblatt 1: Entnahmestelle

Regenwurm (*Lumbricus terrestris* / *Aporrectodea longa*)

Identifikation

[illegible]

Entnahmestelle: _ _ _

Gauß-Krüger-Koordinaten

Rechtswert: _____ Hochwert: _____

Datum: _____ Ellipsoid: _____

Höhe über NN: ___ ___ ___ ___ m

Hangneigung: _____

























Exposition: _____

Nutzung:

Bemerkung:	
------------	--

Bearbeiter:

Stand: Januar 2003

UMWELTPROBENBANK DES BUNDES Probendatenblatt 2: Witterung Regenwurm (<i>Lumbricus terrestris</i> / <i>Aporrectodea longa</i>)											
Identifikation: ____ / X / ____ / ____ / ____											
Entnahmestelle: ____											
Datum des letzten Niederschlagsereignisses vor der Probenahme: ____ . ____ . ____ Art des Niederschlags: ____ (s. Tab. unten)											
Beginn der Probenahme:		Ende der Probenahme:									
____ . ____ . ____	Datum der Probenahme	____ . ____ . ____									
____ : ____	Uhrzeit	____ : ____									
____	Lufttemperatur in 1,5 m Höhe (°C)	____									
____	Bodentemperatur in 10 cm Tiefe (°C)	____									
____ / 8	Wolkenbedeckung	____ / 8									
____	Wolkenart	____									
____	Windrichtung	____									
____	Windstärke in Grad Beaufort (s. Tab. unten)	____									
____	Art des Niederschlags (s. Tab. unten)	____									
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20%; text-align: center; vertical-align: middle;"> Wolkenart </td> <td style="width: 20%;"> 0 = unbewölkt 1 = Cirren 2 = Stratus 3 = Cumulus 4 = Stratocumulus 5 = Nebel </td> <td style="width: 20%; text-align: center;">  Cirren </td> <td style="width: 20%; text-align: center;">  Stratus </td> <td style="width: 20%; text-align: center;">  Cumulus </td> <td style="width: 20%; text-align: center;">  Stratocumulus </td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td style="text-align: center;">     </td> </tr> </table>			Wolkenart	0 = unbewölkt 1 = Cirren 2 = Stratus 3 = Cumulus 4 = Stratocumulus 5 = Nebel	 Cirren	 Stratus	 Cumulus	 Stratocumulus			   
Wolkenart	0 = unbewölkt 1 = Cirren 2 = Stratus 3 = Cumulus 4 = Stratocumulus 5 = Nebel	 Cirren	 Stratus	 Cumulus	 Stratocumulus						
		   									
Art des Niederschlags 0 = kein Niederschlag 1 = Regen 2 = Nieselregen 3 = Schnee 4 = Tau 5 = Reif 6 = Starkregen 7 = Hagel		Windstärke (nach Beaufort) 0 = Windstille (Flaute) 1 = sehr leichte Brise 2 = leichte Brise, bewegt Blätter 3 = schwache Brise, bewegt Zweige 4 = mäßige Brise, bewegt dünne Äste 5 = frische Brise, bewegt mittlere Äste 6 = starker Wind, bewegt dicke Äste 7 = steifer Wind, schüttelt Bäume									

UMWELTPROBENBANK DES BUNDES

Probendatenblatt 3: Sammelergebnisse

Regenwurm (*Lumbricus terrestris* / *Aporrectodea longa*)

Identifikation: _____ / X / _____ / _____ / _____

Entnahmestelle: _ _ _

--

[illegible]

UMWELTPROBENBANK DES BUNDES Probendatenblatt 4: Probenahmetechnik und Lagerung Regenwurm (<i>Lumbricus terrestris</i> / <i>Aporrectodea longa</i>)				
Identifikation: _____ / X / _____ / _____ / _____				
Entnahmestelle: _____				
Fangtag 1: Schalen Nr. von _____ bis _____				
	Beginn des Fanges	Ende des Fanges/ Beginn des Entkotungsvorganges	Ende des Entkotungsvorganges	
Datum				
Uhrzeit				
Fangtag 2: Schalen Nr. von _____ bis _____				
	Beginn des Fanges	Ende des Fanges/ Beginn des Entkotungsvorganges	Ende des Entkotungsvorganges	
Datum				
Uhrzeit				
Probenahme: _____ m ² Gesamte Fangstreifenfläche einer Entnahmestelle _____ Anzahl der Fangstreifen an einer Entnahmestelle Schrittspannung in Volt von _____ bis _____ Stromstärke in Ampere von _____, _____ bis _____, _____				
Sammelergbnis: <input type="checkbox"/> Lumbricus terrestris <input type="checkbox"/> Aporrectodea longa _____ Individuenzahl entkoteter Regenwürmer _____, _____ g Gewicht der entkoteten Regenwürmer _____, _____ g Gewicht des nach 24 Std. abgesammelten Kotes _____, _____ g Gewicht des nach 120 Std. abgesammelten Kotes _____, _____ g Gesamtgewicht des abgesammelten Kotes				
Lagerung				
Nummer des Edelstahlgefäßes	Leergewicht [g]	Vollgewicht [g]	Einwaage [g]	
_____	_____	_____	_____	entkotete Regenw.
_____	_____	_____	_____	abgesammelter Kot

UMWELTPROBENBANK DES BUNDES

Probenahmeprotokoll

Regenwurm (*Lumbricus terrestris* / *Aporrectodea longa*)

Probenahmegebiet: _____ Identifikation: _____

Zugrundeliegende Fassung der Probenahmerichtlinie: _____

Zugrundeliegende Fassung des Probenahmeplanes: _____

1. Ziel der Probenahme: _____

2. Tatsächlicher Probenahmezeitraum:

Datum	Uhrzeit		Proben Nr.		Bemerkungen
	von	bis	von	bis	

3. Teilnehmer: Leitung/Protokoll: _____
Uni Trier: _____
Externe Beteiligte: _____

4. Checkliste zum Probenahmeplan und zur Probenahmerichtlinie: ☒ eingehalten

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> 4.1 Probenahmezeitraum | <input type="checkbox"/> 4.6 Probenahmetechnik/Fangmethode |
| <input type="checkbox"/> 4.2 Probenahmefläche und Entnahmestelle
(Auswahl/Abgrenzung) | <input type="checkbox"/> 4.7 Probenmenge |
| <input type="checkbox"/> 4.3 Auswahl der Probenindividuen | <input type="checkbox"/> 4.8 Datenerhebung |
| <input type="checkbox"/> 4.4 Technische Vorbereitungen | <input type="checkbox"/> 4.9. Transport und Zwischenlagerung |
| <input type="checkbox"/> 4.5 Reinigungsvorschriften für Verpackungen | |

Nummer, Art und Grund der Abweichung als Klartext:

Bemerkungen: _____

Protokollführer

Datum

Unterschrift

GERMAN ENVIRONMENTAL SPECIMEN BANK

Specimen Data Sheet 1: Sampling Point

Earthworm (*Lumbricus terrestris* / *Aporrectodea longa*)

Identification

___	___	/ X /	___	___	/	___	___	___	___	Specimen Type
										Specimen Condition
										Collection Date (MM/YY)
										Area under Investigation (AUI)
										Sampling Region (SR)
										Sampling Site (SS)
										Additional Information

Sampling Point: ___

Gauß-Krüger-Coordinates

Easting: _____ Northing: _____
 Date: _____ Ellipsoid: _____

Altitude: _____ m

Slope Gradient: _____

Exposure: _____

Landuse: _____

Remarks: _____

Person(s) in Charge: _____

GERMAN ENVIRONMENTAL SPECIMEN BANK
Specimen Data Sheet 2: Weather Conditions
Earthworm (*Lumbricus terrestris* / *Aporrectodea longa*)









Identification: _____ / **X** / _____ / _____ / _____

Sampling Point: _____

Last precipitation date preceding the sampling: ____ . ____ . ____

Type of Precipitation: ____
 (see table below)

Start of the Sampling:		End of the Sampling:
____ . ____ . ____	Sampling Date	____ . ____ . ____
____ : ____	Time	____ : ____
____	Air Temperature in 1,5 m Height (°C)	____
____	Soil Temperature in 10 cm Depth (°C)	____
____ / 8	Cloud Covering	____ / 8
____	Type of Clouds	____
____	Wind Direction	____
____	Wind Force in Degree Beaufort (see table below)	____
____	Type of Precipitation (see table below)	____

Type of Clouds	0 = unclouded				
	1 = Cirrus				
	2 = Stratus				
	3 = Cumulus				
	4 = Stratocumulus				
	5 = Fog				
					
		Cirrus	Stratus	Cumulus	Stratocumulus

Type of Precipitation

- 0 = No Precipitation
- 1 = Rain
- 2 = Drizzle
- 3 = Snow
- 4 = Dew
- 5 = Rime
- 6 = Torrential Rain
- 7 = Hail

Wind Force (according to Beaufort)

- 0 = Calm
- 1 = Very Slight Breeze
- 2 = Slight Breeze, moves leaves
- 3 = Light Breeze, moves twigs
- 4 = Moderate Breeze, moves thin branches
- 5 = Bright Breeze, moves medium sized branches
- 6 = Strong Wind, moves thick branches
- 7 = Stiff Wind, shakes trees

Earthworm (*Lumbricus terrestris* / *Aporrectodea longa*)

_____ / **X** / _____ / _____ / _____ / _____

Sampling Point:

[illegible]

GERMAN ENVIRONMENTAL SPECIMEN BANK Specimen Data Sheet 4: Sampling Technique and Storage Earthworm (<i>Lumbricus terrestris</i> / <i>Aporrectodea longa</i>)				
Identification: ____ / X / ____ / ____ / ____				
Sampling Point: ____				
Collection, 1st day: dishes no. from ____ to ____				
	Collection start	Collection end/ Start of the defecation	Defecation end	
Date				
Time				
Collection, 2nd day: dishes no. from ____ to ____				
	Collection start	Collection end/ Start of the defecation	Defecation end	
Date				
Time				
Sampling: ____ m ² total area of trapping zones at one sampling point ____ number of trapping zones at one sampling point Pace voltage in Volt from ____ to ____ Current in Ampere from __, __ to __, __				
Collection Result: <input type="checkbox"/> Lumbricus terrestris <input type="checkbox"/> Aporrectodea longa ____ Number of defecated individuals ____, __ g weight of the defecated earthworms ____, __ g weight of the excrement collected after 24 hrs. ____, __ g weight of the excrement collected after 120 hrs. ____, __ g overall weight of the excrement collected				
Storage				
Number of the stainless steel vessel	Weight Empty [g]	Weight Filled [g]	Weighted Sample [g]	
____	____	____	____	Defecated earthworms
____	____	____	____	excrement collected

GERMAN ENVIRONMENTAL SPECIMEN BANK
Sampling Record
Earthworm (*Lumbricus terrestris* / *Aporrectodea longa*)

Sampling Area: _____ Identification: _____

Underlying Version of the Sampling Guideline: ____ . ____ . ____

Underlying Version of the Sampling Scheme: ____ . ____ . ____

1. Objective of the Sampling: _____

2. Actual Timeframe of the Sampling

Date	Tme		Sample no.		Remarks
	from	to	from	to	

3. Participants: Conductor/Recorder: _____
 Trier University: _____
 External Assistants: _____

4. Checklist referring to Sampling Scheme and Sampling Guideline: ☒ as prescribed

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> 4.1 Sampling Period | <input type="checkbox"/> 4.6 Sampling Technique/Method of Capture |
| <input type="checkbox"/> 4.2 Sampling Site and Sampling Point
(Selection/Definition) | <input type="checkbox"/> 4.7 Sample Amount |
| <input type="checkbox"/> 4.3 Selection of the Individual Specimens | <input type="checkbox"/> 4.8 Data Collection |
| <input type="checkbox"/> 4.4 Technical Preparations | <input type="checkbox"/> 4.9. Transport and Interim Storage |
| <input type="checkbox"/> 4.5 Cleaning Procedure for the Packages | |

Number and Kind of, and Reason for Possible Variations (clear text):

Remarks: _____

 Recorder Date Signature