

DIN EN 17722:2025-03 (D)

Pflanzen-Biostimulanzien - Bestimmung von Mykorrhizapilzen; Deutsche Fassung EN 17722:2024

| Inhalt | Seite |
|--|-------|
| Europäisches Vorwort..... | 8 |
| Einleitung | 9 |
| 1 Anwendungsbereich..... | 10 |
| 2 Normative Verweisungen | 10 |
| 3 Begriffe | 10 |
| 4 Verfahren zur Quantifizierung von Mykorrhizae | 13 |
| 4.1 Allgemeines..... | 13 |
| 4.2 Herstellung der Erstprobe..... | 14 |
| 4.2.1 Allgemeines..... | 14 |
| 4.2.2 Flüssige (wasserbasierte) Formulierungen..... | 15 |
| 4.2.3 Flüssige (ölbasierte) Formulierungen – emulgierbares Konzentrat (EC, en: emulsifiable concentrate)..... | 15 |
| 4.2.4 Feste Formulierungen – wasserdispergierbares Pulver (WP, en: wettable powder)..... | 15 |
| 4.2.5 Feste Formulierungen – wasserdispergierbares Granulat (WDG, en: water dispersible granules)..... | 15 |
| 4.2.6 Feste Formulierungen – Pellets, Granulate und Mikrogranulate (langsame Freisetzung) | 15 |
| 4.2.7 Festes Substrat | 15 |
| 4.2.8 Optionales Verfahren zur Homogenisierung für Feststoffe | 16 |
| 4.3 Zählverfahren..... | 16 |
| 4.3.1 Allgemeines..... | 16 |
| 4.3.2 Verfahren Nr. 1: Sporenisolierung und Zählung mit MTT..... | 16 |
| 4.3.3 Verfahren Nr. 2: Verfahren zur Klärung und Färbung der Wurzelproben und zur Zählung der Sporen/Vesikel in den gefärbten Wurzelproben | 20 |
| 4.3.4 Zählung der UPM [9] im Produkt nach Verfahren Nr. 1 + Verfahren Nr. 2 | 23 |
| 4.3.5 Verfahren Nr. 3: Endomykorrhiza-Bioassay..... | 23 |
| 4.3.6 Verfahren Nr. 4: Zählung von Ektomykorrhizae und ericoiden Mykorrhizae auf Platten | 31 |
| 5 Molekulare Charakterisierung und Identifizierung von Mykorrhiza-Isolaten | 35 |
| 5.1 Allgemeines..... | 35 |
| 5.2 Materialien und Geräte..... | 35 |
| 5.3 Verfahren zur molekularen Charakterisierung und Identifizierung von Mykorrhiza-Isolaten | 36 |
| 5.3.1 Reinigung von Sporen | 36 |
| 5.3.2 DNA-Extraktion..... | 36 |
| 5.3.3 Vorbereitung für Polymerase-Kettenreaktion (PCR)..... | 37 |
| 5.3.4 Vorbereitung für Gelelektrophorese | 39 |
| 5.3.5 Direkte Sequenzierung (ausgelagertes Sequenzierlabor)..... | 40 |
| 6 Verfahren zur molekularen Charakterisierung und Identifizierung von Ektomykorrhizae und ericoiden Mykorrhizae | 41 |
| 6.1 Allgemeines..... | 41 |
| 6.2 Materialien | 41 |
| 6.2.1 Pilzmaterial..... | 41 |
| 6.2.2 Molekularbiologische Kits/Reagenzien..... | 41 |
| 6.2.3 Geräte..... | 42 |
| 6.3 Detaillierte Beschreibung des Verfahrens..... | 43 |

| | | |
|---|---|----|
| 6.3.1 | Materialvorbereitung | 43 |
| 6.3.2 | DNA-Extraktion und Qualitätskontrolle | 43 |
| 6.3.3 | PCR-Amplifikation von ITS-Sequenzen | 43 |
| 6.3.4 | Gelelektrophorese und Visualisierung der PCR-Produkte | 44 |
| Anhang A (informativ) Wiederholpräzision und Vergleichpräzision des Verfahrens | | 45 |
| A.1 | Im Ringversuch verwendete Materialien | 45 |
| A.2 | Ergebnisse des Ringversuchs | 46 |
| Anhang ZA (informativ) Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und den grundlegenden Anforderungen der abzudeckenden Verordnung (EU) 2019/1009 zur Bereitstellung von EU-Düngeprodukten auf dem Markt..... | | 48 |
| Literaturhinweise | | 49 |

Bilder

| | | |
|--------|---|----|
| Bild 1 | — Verschiedene Arten von Mykorrhizae und Fortpflanzungseinheiten..... | 13 |
| Bild 2 | — Siebe | 17 |
| Bild 3 | — Schematische Darstellung der MPN-Untersuchung | 26 |
| Bild 4 | — Definition der MPN-Bewertung aus 3 Fallstudien | 28 |
| Bild 5 | — Beispiel für eine MPN-Berechnung mit der Rechner ¹⁰ -Software [15] | 31 |

Tabellen

| | | |
|--------------|--|----|
| Tabelle 1 | — Zu verwendende Verfahren zur Zählung von UPM mit und ohne Pflanzenkulturen..... | 13 |
| Tabelle 2 | — Ergebnisse aus der Beobachtung der Sporen nach 24 h und nach 42 h bis 48 h | 19 |
| Tabelle 3 | — Probenahme und Probenvorbereitung mit Mykorrhiza-UPM-Konzentration | 34 |
| Tabelle 4 | — Benötigte Reagenzien und Kits (je Probe)..... | 35 |
| Tabelle 5 | — Geräte, Glasartikel und sonstiges Zubehör | 35 |
| Tabelle 6 | — Reihenfolge für die DNA-Extraktion..... | 36 |
| Tabelle 7 | — Primersequenzen | 37 |
| Tabelle 8 | — Bestandteile für PCR..... | 38 |
| Tabelle 9 | — Primer für die ITS-Sequenzierung von ECM/ErMF-Pilzgenen | 43 |
| Tabelle A.1 | — Materialien, die im Ringversuch zur Zählung und Bestimmung von Mykorrhizapilzen in Pflanzen-Biostimulanzien untersucht wurden | 45 |
| Tabelle A.2 | — Ergebnisse des Ringversuchs zur Zählung von Mykorrhizapilzen in Pflanzen- Biostimulanzien | 46 |
| Tabelle A.3 | — Proben, die für den Ringversuch zur Bestimmung von Mykorrhizapilzen in Pflanzen-Biostimulanzien ausgegeben wurden | 47 |
| Tabelle ZA.1 | — Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und der Verordnung (EU) 2019/1009 | 48 |