

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