

# DIN EN 17718:2025-03 (D)

## Pflanzen-Biostimulanzien - Bestimmung von *Rhizobium* spp.; Deutsche Fassung EN 17718:2024

---

Inhalt	Seite
Europäisches Vorwort.....	7
Einleitung .....	8
1 Anwendungsbereich.....	9
2 Normative Verweisungen .....	9
3 Begriffe .....	9
4 Zählung von <i>Rhizobium</i> spp., <i>Mesorhizobium</i> spp., <i>Ensifer</i> spp. oder <i>Bradyrhizobium</i> spp.....	10
4.1 Allgemeines.....	10
4.2 Probenvorbereitung.....	10
4.2.1 Allgemeines.....	10
4.2.2 Flüssige (wasserbasierte) Formulierungen.....	10
4.2.3 Flüssige (ölbasierte) Formulierungen – emulgierbares Konzentrat (EC, en: emulsifiable concentrate).....	11
4.2.4 Feste Formulierungen – wasserdispergierbares Pulver (WP, en: wettable powder).....	11
4.2.5 Feste Formulierungen – wasserdispergierbares Granulat (WDG, en: water dispersible granules).....	11
4.2.6 Feste Formulierungen – Pellets, Granulate und Mikrogranulate (langsame Freisetzung).....	11
4.2.7 Festes Substrat .....	11
4.3 Reihenverdünnung.....	11
4.4 Herstellung der Nährmedien.....	12
4.5 Auszählen von Ausstrichplatten.....	12
4.6 Plattenzählungen von <i>Rhizobiaceae</i> in sterilem Verdünnungsmittel .....	13
4.7 Wachstumsmedien .....	13
4.8 Berechnung .....	14
5 Speziesbestimmung von <i>Rhizobium</i> spp., <i>Mesorhizobium</i> spp., <i>Ensifer</i> spp., <i>Bradyrhizobium</i> spp. mittels genetischer Analyse .....	14
5.1 Allgemeines.....	14
5.2 Vorbereitung der Probe für die Extraktion der genomischen DNA .....	14
5.2.1 Isolierung und Vorbereitung der Mikroorganismen.....	14
5.2.2 Probenkonzentration.....	14
5.2.3 DNA-Extraktion und Lagerung.....	15
5.2.4 Partielle PCR-Amplifikation der 16S-rRNA-Gene .....	15
Anhang A (normativ) Formulierungen von Nährmedien.....	17
A.1 YT-Medium (Trypton-Hefeextrakt-Medium) für <i>Rhizobium</i> spp., <i>Mesorhizobium</i> spp. und <i>Ensifer</i> spp.....	17
A.1.1 Inhaltsstoffe von YT-Medium .....	17
A.1.2 Verfahren zur Herstellung von YT-Medien.....	17
A.2 Mannit-Agar mit modifiziertem Hefeextrakt (YEMA) als alternatives Medium für <i>Rhizobium</i> spp. ....	18
A.2.1 Inhaltsstoffe von YEMA-Medium (und vorgeschlagene Lieferanten).....	18
A.2.2 Verfahren zur Herstellung des YEMA-Mediums.....	18
A.3 Reasoner's 2A-Agarmedium (R2A) für <i>Bradyrhizobium</i> spp. ....	18
A.3.1 Inhaltsstoffe von R2A-Medium (und vorgeschlagene Lieferanten).....	18
A.3.2 Verfahren zur Herstellung von Reasoner's 2A-Agarmedium (R2A).....	19
A.4 Kongorot-Stammlösung für YEMA-Medium.....	19

A.4.1	Herstellung der Kongorot-Stammlösung.....	19
A.5	0,1 M Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS) .....	19
A.6	Nährbouillon.....	20
A.7	Gepuffertes Peptonwasser .....	20
A.7.1	Zusammensetzung.....	20
A.7.2	Herstellung.....	20
Anhang B (informativ) Wiederholpräzision und Vergleichpräzision des Verfahrens.....		21
B.1	Im Ringversuch verwendete Materialien .....	21
B.2	Ergebnisse des Ringversuchs .....	22
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.....		24
Literaturhinweise .....		25

## Bilder

Bild 1	— Schema von Reihenverdünnungen .....	12
--------	---------------------------------------	----

## Tabellen

Tabelle 2	— Wachstumsmedien zur Züchtung der verschiedenen Mikroorganismen .....	13
Tabelle A.1	— Inhaltsstoffe von YT-Medium.....	17
Tabelle A.2	— Inhaltsstoffe von YEMA-Medium.....	18
Tabelle A.3	— Inhaltsstoffe von R2A-Medien .....	18
Tabelle A.4	— Inhaltsstoffe der Kongorot-Stammlösung .....	19
Tabelle B.1	— Materialien, die im Ringversuch zur Zählung und Bestimmung von <i>Rhizobium</i> spp., <i>Mesorhizobium</i> spp., <i>Ensifer</i> spp. oder <i>Bradyrhizobium</i> spp. in Pflanzen- Biostimulanzien untersucht wurden .....	21
Tabelle B.2	— Ergebnisse des Ringversuchs zur Zählung und Bestimmung von <i>Rhizobium</i> spp., <i>Mesorhizobium</i> spp., <i>Ensifer</i> spp. oder <i>Bradyrhizobium</i> spp. in Biostimulanzien .....	22
Tabelle B.3	— Proben, die für den Ringversuch zur Zählung und Bestimmung von <i>Rhizobium</i> spp., <i>Mesorhizobium</i> spp., <i>Ensifer</i> spp. oder <i>Bradyrhizobium</i> spp. in Biostimulanzien ausgegeben wurden.....	23
Tabelle ZA.1	— Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und der Verordnung (EU) 2019/1009 .....	24