

# 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 <sup>10</sup> -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