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