

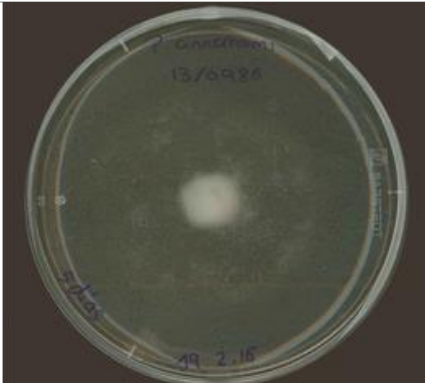


DENOMINACIÓN	CMA-PARPBH				MC-1
DETECCIÓN DE	<i>Phytophthora</i> spp.				Código
CONSERVACIÓN	2-8 °C	CADUCIDAD	7 días - 1 mes	PRECAUCIONES	Proteger de la luz

ALCANCE / REFERENCIA	Medio semiselectivo especialmente desarrollado para el aislamiento de <i>Phytophthora</i> spp. a partir de material vegetal (raicillas, madera, hojas, ...) o trampas vegetales.
----------------------	--

INGREDIENTES	REFERENCIA	UBICACIÓN / CÓDIGO	CANTIDAD
<u>Medio Base</u>			
CMA	Oxoid CM0103 / 500g		17 g
Agua destilada hasta			1L
<u>Solución inhibidora</u>			
Pimaricina (Natamicina 2,5%)	Sigma P0440		10 mg
Ampicilina (Ampicilina trihidrato >96%)	Sigma A6140		200 mg
Rifampicina	Sigma R3501		10 mg
PCNB	Sigma P8556		100 mg
Benomilo	Aldrich 38, 158-6		20 mg
Himexazol	VWR 44450		25 ó 50 ⁽⁵⁾ mg

PREPARACIÓN
<u>Medio Base</u> Disolver en matraz de 2 L. Esterilizar a 121°C durante 15 min. No es necesario ajustar el pH.
<u>Solución inhibidora</u> <i>Preparar:</i> Pimaricina ⁽¹⁾ : 400 µL de pimaricina 2,5 % Ampicilina ⁽²⁾ : pesar y disolver en 5 mL de NaOH 0,1M (no se disuelve bien en etanol). Rifampicina: pesar y disolver en 2 mL de etanol 70%. PCNB ⁽³⁾ : pesar y disolver en 5 mL de etanol absoluto. Benomilo ⁽⁴⁾ : pesar y disolver en 2 mL de etanol absoluto. Deshacer grumos pipeteando con micropipeta de 1 mL. Himexazol ⁽⁵⁾ : pesar y disolver en 2 ó 4 mL de agua destilada estéril. Si se utiliza Tachigaren 36%: 69,4 ó 138,8 µL. <i>Añadir al medio base:</i> Dejar enfriar el medio base por debajo de 50°C, manteniéndolo en agitación suave. Añadir los inhibidores, de uno en uno, en cabina de flujo laminar. No es necesario esterilizar por filtración (0,45 µm)

CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO	IMAGEN
Control de crecimiento: comprobar el crecimiento y morfología de una cepa de referencia. Control de inhibición: comprobar que otro hongo distinto de <i>Phytophthora</i> y alguna bacteria, no es capaz de crecer.	
IMAGEN: cultivo de <i>P. cinnamomi</i> a los 5d a 25 °C en PARPBH ₅₀ -CMA.	



OBSERVACIONES

- Atención a las referencias de los productos: puede haber diferencias en las concentraciones de la materia activa, así como el solvente a utilizar en el caso de presentaciones en polvo que no sean solubles en agua.

(1)Pimaricina: se degrada con la luz, por lo que se debe proteger de su exposición lo máximo posible. Atención a la concentración de su materia activa (Natamicina).

(2)Ampicilina: existen distintas referencias en las que utilizan 150 mg (Laboratorio de Referencia), 200 mg (jung, *et al*) y 250 mg (Juana Isabel Páez).

(3)PCNB: Muy tóxico, manejar con cuidado.

(4)Benomilo: Muy tóxico, manejar con cuidado.

(5)Himexazol: inhibe a *Pythium* y a dosis por encima de 25 mg puede inhibir algunas *Phytophthoras*.

PROBLEMA: el producto Tachigaren (36% v/v) ya no se comercializa en España. Se propone Referencia VWR 44450 disponible en presentaciones de 5 g, 25 g y 100 g.