

INTRODUCCIÓN.....	6
Ocratoxina A.....	8
Hongos productores de OTA.....	10
Factores que influyen en la producción de OTA.....	13
Factores que influyen la presencia de OTA en uvas.....	16
Presencia de OTA en vinos.....	19
Medidas correctivas para disminuir la presencia en OTA en vinos.....	19
Legislación.....	20
Características fisicoquímicas de la OTA.....	21
Métodos de extracción y purificación para la detección de OTA en uvas y vino.....	22
Métodos de identificación molecular de hongos.....	24
Algunas regiones génicas utilizadas para la identificación molecular de hongos.....	27
OBJETIVOS.....	30
Objetivo general.....	31
MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
Desarrollo de un método sencillo de biología molecular para la diferenciar las especies pertenecientes a la Sección <i>Nigri</i> del género <i>Aspergillus</i> descritas como contaminantes de uva.....	34
Métodos de extracción, purificación, detección y cuantificación de OTA.....	40
Preparación de la solución Stock de Ocratoxina A.....	41
Método de detección cualitativa de OTA.....	41
Método de cuantificación de OTA.....	41
Métodos de extracción de OTA de jugo de uva y vino de la variedad Tannat.....	42
Método de purificación alternativo.....	43
Aislamiento e identificación de cepas posibles productoras de ocratoxina A.....	44
Caracterización de las cepas pertenecientes a la Sección <i>Nigri</i> aisladas.....	49
Estudio de la capacidad de producir OTA en uva Tannat.....	51
Determinación <i>in vitro</i> de la sensibilidad a fungicidas de uso convencional.....	52
Cuantificación de <i>Aspergillus carbonarius</i> por PCR en tiempo real.....	54
Cepas utilizadas.....	55
Extracción de ADN.....	55
Puesta a punto de PCR en tiempo real para la cuantificación de <i>A. carbonarius</i> .....	55
Influencia de la matriz en la PCR en tiempo real.....	57
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	58
Desarrollo de un método sencillo de biología molecular para la diferenciar las especies pertenecientes a la Sección <i>Nigri</i> del género <i>Aspergillus</i> descritas como contaminantes de uva.....	60
Métodos de extracción, purificación, detección y cuantificación de OTA.....	73
Método de detección cualitativa de OTA.....	74
Métodos de extracción de OTA de jugo de uva y vino de la variedad Tannat.....	76
Método de purificación.....	77
Aislamiento e identificación de cepas posibles productoras de ocratoxina A.....	80
Caracterización de las cepas pertenecientes a la Sección <i>Nigri</i> aisladas.....	98
Estudio de la capacidad de producir OTA en medio de cultivo.....	99
Estudio de la capacidad de producir OTA en uva Tannat.....	102
Determinación <i>in vitro</i> de la sensibilidad a fungicidas de uso convencional.....	105
Cuantificación de <i>Aspergillus carbonarius</i> por PCR en tiempo real.....	109
Puesta a punto de PCR en tiempo real para la cuantificación de <i>A. carbonarius</i> .....	110
Influencia de la matriz la PCR en tiempo real.....	111
CONCLUSIONES y PERSPECTIVAS.....	113
BIBLIOGRAFÍA.....	115
ANEXOS.....	127
Anexo 1.....	128
Buffer CTAB.....	129
CTAB solución de precipitación.....	129
NaCl 1.2M.....	129
NaOH 1M.....	130
ARNasa.....	130

Anexo 2.....	131
Anexo 3.....	134
Czapek Yeast Agar(CYA) .....	135
Yeast Sucrose agar (YES agar) .....	136
Anexo 4.....	137
Anexo 5.....	140
Anexo 6.....	143
Anexo 7.....	146