

INDICE

Página

ABSTRACT

1. <u>INTRODUCCION</u>	1
2. <u>ASPECTOS GENERALES</u>	
2.1 Historia	3
2.2 Consideraciones generales sobre levaduras.....	6
2.3 Aspectos importantes de las mutaciones	8
2.4 Medios diferenciales	10
2.5 Metabolitos secundarios	15
2.5.1 Generalidades sobre los alcaloides	17
2.5.2 Alcaloides de la Quina	21
3. <u>MATERIALES Y METODOS</u>	
3.1 Linajes	28
3.2 Medios de Cultivo	30
3.2.1 Medio Completo de Levadura (YEPD)	30
3.2.2 Medio Mínimo Sintético (MM)	30
3.2.3 WLN (DIFCO - B424)	31
3.2.4 Medio Sintético sin Arginina (MSA)	32
3.2.5 Medio 4	34
3.2.6 Solución de sales	34



3.2.7	YEPD + Alcaloides	35
3.3	Esterilización	35
3.4	Procedimiento	36
3.4.1	Estudios sobre el efecto del sulfato de quinidina y del sulfato de quinina en las levaduras cultivadas en medio mínimo (MM), medio completo (YEPD) y medio diferencial (WLN)	37
3.4.1.1	Efecto de inhibición de levaduras <u>Saccharomyces cerevisiae</u> en presencia de los alcaloides quinina y quinidina en medio completo (YEPD)	38
3.4.2	Estudio de la acción de alcaloides sobre células de levaduras, utilizando glucosa y glicerina como fuente de carbono	39
3.4.3	Efecto del sulfato de quinina y del sulfato de quinidina en condiciones de fermentación	39
3.4.4	Estudio sobre el crecimiento de levaduras en concentraciones de 0,1% y 0,15% de sulfato de quinina y sulfato de quinidina en pH ácido y básico	40
3.4.5	Obtención de mutantes resistentes al sulfato de quinina y al sulfato de quinidina en los linajes KI y Zymasil de <u>Saccharomyces cerevisiae</u>	41
3.4.5.1	Obtención de mutantes resistentes a 0,4% de sulfato de quinidina	42
3.4.5.2	Obtención de mutantes resistentes a 0,4% de sulfato de quinina mediante técnica de enriquecimiento	42

3.4.6	Estudio para verificar la resistencia cruzada a la quinidina de clones de Zymasil y KI resistentes a la quinina	44
3.4.7	Estudio para verificar la resistencia cruzada a la quinina en los mutantes Zymasil y KI resistentes a la quinidina	45
3.4.8	Estudio de la resistencia cruzada de los mutantes KI y Zymasil en diferentes fuentes de carbono	45
3.4.9	Crecimiento de diferentes linajes de levaduras en medio ácido y básico	45
3.4.10	Estudio de la acción de la glucosa y la glicerina sobre levaduras resistentes a 0,4% de sulfato de quinina y 0,4% de sulfato de quinidina	47
3.4.11	Estudio de la acción del sulfato de quinina y del sulfato de quinidina sobre productos de fusión	48
3.4.12	Estudio de la mutagenicidad de células de levadura bajo la acción del sulfato de quinidina	49
3.4.12.1	Estudio de la acción del alcaloide sulfato de quinidina en la inducción de la reversión en levaduras auxotróficas arginina-deficientes	49
3.4.13	Estudio de la acción del alcaloide sulfato de quinina en la inducción de la reversión en levaduras auxotróficas arginina-deficientes	52
3.4.14	Estudio de la acción del alcaloide sulfato de quinina sobre un mutante arginina-deficiente	55



3.4.15	Estudio de la resistencia al sulfato de quinina asociado a la reversión	55
3.4.16	Estudio de la acción del alcaloide sulfato de quinina asociado a UV lejano, en células de levadura	56
3.4.17	Frecuencia de mutantes.....	58
3.4.18	Curva de supervivencia del linaje 80 a(B) en diferentes tratamientos con sulfato de quinina	65
4.	<u>RESULTADOS Y DISCUSION</u>	
4.1	Estudios sobre el efecto del sulfato de quinidina y sulfato de quinina en medio sólido	66
4.1.1	Crecimiento de levaduras en medio mínimo con Sulfato de Quinidina	66
4.1.2	Crecimiento de levaduras en medio completo con Sulfato de Quinidina	69
4.1.3	Crecimiento de levaduras en medio completo con Sulfato de Quinidina	71
4.1.4	Efecto del Sulfato de Quinina en presencia de 5% de glucosa en medio YEPD	73
4.2	Crecimiento de levaduras en medio WLN en presencia de Sulfato de Quinidina	75
4.2.1	Sulfato de quinidina en Medio Sólido (WLN)	76
4.2.2	Sulfato de quinina en Medio Sólido (WLN)	76
4.3	Efecto de los alcaloides sobre las levaduras usando diferentes fuentes de carbono	79

4.3.1	Efecto del sulfato de quinina sobre el crecimiento de células de levadura utilizando diferentes fuentes de carbono	79
4.3.2	Efecto del sulfato de quinidina sobre células de levadura utilizando diferentes fuentes de carbono	84
4.4	Desprendimiento de CO ₂ en condiciones de fermentación	86
4.4.1	Efecto del sulfato de quinidina en el desprendimiento de CO ₂ en condiciones de fermentación	87
4.4.2	Efecto del sulfato de quinina en el desprendimiento de CO ₂ en condiciones de fermentación	90
4.5	Efecto del sulfato de quinina y del sulfato de quinidina en la fermentación malolcohólica en productos de fusión	94
4.6	Obtención de mutantes resistentes al sulfato de quinina y al sulfato de quinidina	99
4.6.1	Efecto del sulfato de quinina y sulfato de quinidina en levaduras resistentes a 0,4% de alcaloide en condiciones de fermentación	110
4.7	Estudio del crecimiento de levaduras resistentes a 0,4% de sulfato de quinina y sulfato de quinidina en pH ácido y básico	114
4.8	Mutagénesis	117
4.8.1	Estudio de la sensibilidad en levaduras bajo la acción de alcaloides	118

4.8.2	Acción del sulfato de quinidina sobre la reversión de auxotróficos arginina-deficientes	119
4.8.3	Estudio de la acción del sulfato de quinina en la inducción de reversión en levaduras auxotróficas para la arginina	122
4.8.4	Estudio del efecto del sulfato de quinidina sobre un mutante arginina deficiente en medio líquido YEPD 20	125
4.8.5	Estudio de la resistencia al sulfato de quinina asociada a la reversión	126
4.8.6	Estudio de la acción del sulfato de quinina asociado con el ultravioleta lejano en células de levadura	127
	<u>CONCLUSIONES</u>	132
	<u>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</u>	134