

# EVALUACIÓN DE LA FLORA MICROBIANA HALÓFILA CONTAMINANTE DEL PESCADO SECO-SALADO ELABORADO EN EL ESTADO SUCRE

## Evaluation of Halophile Microbial Flora Spoiling Dry-Salted Fish Processed in Sucre State

Crucita Graü<sup>1-3</sup>, Luis Elguezabal<sup>2</sup>, Osmicar Vallenilla<sup>3</sup> y Aracelys Zerpa<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Postgrado de Biología Aplicada. Cumaná, Edo. Sucre.

<sup>2</sup> Instituto universitario de Tecnología de Cumaná, Edo. Sucre. <sup>3</sup> Instituto de Investigaciones Agrícolas, Centro de Investigaciones Agropecuarias de los Estados Sucre y Nueva Esparta. Cumaná, Edo. Sucre, Venezuela. E-mail: sucre@inia.gov.ve

### RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue la caracterización de la microflora halófila contaminante presente en muestras de pescado seco salado elaborado artesanalmente en el estado Sucre. Se analizaron un total de 250 muestras procedentes de cuatro localidades de la región: Cariaco, San Antonio del Golfo, Caimancito y el Morro de Puerto Santo. Las especies seleccionadas fueron las siguientes: *Katsuwonus pelamis*, *Eutinnus alleteratus*, *Trichiurus lepturus*, *Istiophorus albicans* y *Aetobatus narinari*. Los análisis bacteriológicos se orientaron de acuerdo a la concentración de sal contenida en el producto y a los posibles gérmenes contaminantes, siguiendo la metodología recomendada por APHA. Utilizando agar TSA con adición de NaCl (5, 10, 15, 20%). La detección, aislamiento e identificación de la microflora halófila se realizó según la metodología recomendada por Samson y col. Los resultados revelaron una elevada contaminación microbiana en todas las muestras analizadas, correspondiéndole el valor máximo para el recuento de bacterias halófilas de  $5,3 \times 10^6$  UFC/g a las muestras de *Katsuwonus pelamis*. El valor máximo para recuentos de hongos correspondió a  $4,8 \times 10^5$  UFC/g en las muestras de *Eutinnus alleteratus*. Las bacterias halófilas predominantes fueron identificadas como: *Pseudomonas salinaria*, *Micrococcus sp.*, *Pediococcus halophylus* y *sarcina litoralis*. En cuanto a los hongos, se llevaron a cabo importantes aislamientos, pertenecientes en su mayoría al género *Aspergillus*, con la prevalencia de las especies: *A. penicillioides* y *A. terreus*. Se concluye que por la categoría de los microorganismos detectados, el producto implica un riesgo para la salud del consumidor.

**Palabras clave:** Bacterias, mohos, contaminantes, pescado, seco-salado.

### ABSTRACT

The purpose of this research was to characterize the halophile microbial flora, a contaminant present in dry salted fish samples elaborated by artisan labor in Sucre state. A total of 250 samples were analyzed, proceeding from 4 localities in the region: Cariaco, San Antonio del Golfo, Caimancito and el Morro de Puerto Santo. The species selected were the following: *Katsuwonus pelamis*, *Eutinnus alleteratus*, *Trichiurus lepturus*, *Istiophorus albicans*, and *Aetobatus narinari*. Bacteriological analysis were oriented according to the salt concentrations contained in the product and the possible germ contaminants, following the methodology recommended by APHA. Agar TSA was utilized with additions of NaCl (5, 10, 15, and 20%). The detection, isolation of and identification of halophile microbial flora was done according to the methodology recommended by Samson and collaborators. The results reveal a high level of microbial contamination in all of the samples tested, and the maximum values corresponded to a halophile bacterial count of  $5.3 \times 10^6$  UFC/g in the *Katsuwonus pelamis* samples. The maximum fungus count was  $4.8 \times 10^5$  UFC/g in the *Eutinnus alleteratus* samples. The predominant halophile bacteria were identified as: *Pseudomonas salinaria*, *Micrococcus sp.*, *Pediococcus halophylus* and *sarcina litoralis*. In reference to fungus, important isolations were made corresponding principally to the genus *Aspergillus*, with a prevalence of the species: *A. penicillioides* and *A. terreus*. The conclusion is that the product presents a health risk for consumers due to the categories of microorganisms detected.

**Key words:** Bacteria, molds, contaminants, fish, salt-dried.

### INTRODUCCIÓN

La técnica de salar y secar ha sido utilizada desde tiempos muy remotos, como una buena alternativa para la preservación del pescado; su carne es sumamente corruptible y se

deteriora rápidamente durante su almacenamiento. Sin embargo a pesar de ser muy utilizada, miles de toneladas del producto se pierden cada año alrededor del mundo y una elevada proporción del pescado consumido de esta forma, no es de la mejor calidad y nivel nutritivo [19].

En Venezuela, alrededor de la quinta parte de todo el pescado que se desembarca, es sometido a un proceso de salado y secado al sol, actividad ésta que para muchos pescadores alejados de la costa, es la única forma de preservar estos productos [23]. Sin embargo es poca la información disponible en cuanto a la producción y comercialización de este rubro debido a la naturaleza fragmentaria de su producción y a su elaboración, netamente artesanal. Por otra parte, es importante hacer mención que continuará siendo uno de los métodos más sencillos para preservar el pescado aún cuando es evidente que su procesamiento y almacenamiento deben ser mejorados para garantizar la calidad e inocuidad de este producto. Su elaboración se realiza sin cumplir con las normas sanitarias establecidas, implicando un riesgo potencial para la salud del consumidor.

Durante el proceso de elaboración del pescado seco-salado se altera la naturaleza de la materia prima produciéndose modificaciones tanto físicas como químicas, debido a complejas reacciones enzimáticas. Cabe destacar, que el efecto preservador de la sal está limitado por su real incorporación a la carne del pescado y en consecuencia, al alcance de valores de  $a_w$  que impiden el desarrollo de ciertos microorganismos, así como la de bloquear reacciones bioquímicas paralelas. En el deterioro del pescado salado, el crecimiento de microorganismos está relacionado directamente con la actividad del agua. Las alteraciones se registran casi totalmente durante el curado seco o en pila y una de las causas más comunes se debe al desarrollo bacteriano [23]. Existen bacterias que se desarrollan en presencia de sales variando de las halotolerantes hasta las halófilas estrictas. La presencia o predominio de cada grupo bacteriano está relacionado directamente con la concentración de sales, pH, temperatura, presión o nivel de oxígeno, entre otros factores. La fuente más importante de estas bacterias radica principalmente en algunos tipos de sal [15].

Las bacterias halófilas por sus características proteolíticas causan olores anormales y el ablandamiento de la carne con el consiguiente rechazo del producto por parte del consumidor [20]. Otro tipo de contaminación por microorganismos, detectable es la denominada "dun", producida por hongos y levaduras, caracterizándose por la aparición de manchas o puntos de color pardo tostado en la superficie de la carne. Las alteraciones que ocurren en el pescado salado durante el almacenamiento cursan con un ablandamiento gradual, el desarrollo de olores y sabores fuertes, afectándose las características deseables del producto. Obviamente, del control de calidad depende de que se eviten grandes riegos desde el punto de vista sanitario y económico ocasionado por efecto de descomposición y rechazo del producto.

Por ser el pescado seco-salado un producto de elaboración artesanal y de consumo tradicional en la población venezolana, se logró con este trabajo de investigación evaluar la microflora halófila contaminante que interviene en la alteración y disminución de su calidad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización de este estudio se analizaron un total de 250 muestras recolectadas en el periodo entre agosto de 2000 a marzo de 2001. Se seleccionaron cinco especies de pescados secos-salados por su importancia comercial, procedentes de cuatro localidades de la región nororiental del estado Sucre: Cariaco, San Antonio del Golfo, Caimancito y el Morro de Puerto Santo. Las especies seleccionadas fueron las siguientes: *Katsuwonus pelamis* (Atún Listado), *Eutinnus alletteratus* (Cabaña Pintada), *Trichiurus lepturus* (Tajalí), *Istiophorus albicans* (Palagar) y *Aetobatus narinari* (Chucho). La recolección, traslado y posterior manejo se llevó a cabo según las recomendaciones de la American Public Health Association (APHA) [1]. Las muestras se transportaron bajo estrictas condiciones de asepsia, empleándose para tal fin, cavas de anime y bolsas plásticas con cierre hermético. Después de su recepción fueron procesadas en el laboratorio de Microbiología de Productos Pesqueros del Centro de Investigaciones Agrícolas del estado Sucre (CIAE-Sucre) –Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Los análisis se realizaron por triplicados, tres ejemplares por muestreo y especie. La preparación de los medios de cultivos para la detección, aislamiento e identificación de los microorganismos se efectuó de acuerdo a la actividad de agua ( $a_w$ ), % de humedad, pH y concentración de sal contenida en el producto.

### Análisis físico-químicos

**Determinación del porcentaje de humedad.** Se realizó mediante el método adoptado por la Association of official Analytical Chemists AOAC [2], utilizando una Termobalanza (OHAUS N° 6010, Scala Corp. Unión New Jersey, USA) hasta peso constante.

**Determinación del porcentaje de cloruros.** El contenido de sales se determinó mediante el método de MOHR adoptado por [2, 7, 8].

**Determinación de pH.** Se realizó según la norma COVENIN 1315-79 [6]. Se homogenizó la muestra de pescado con agua bidestilada en una proporción 1:1, efectuándose la medición con un pH-metro digital (Marca Corning 220).

**Determinación de la actividad de agua ( $a_w$ ).** La actividad de agua se determinó mediante el empleo de un medidor del punto de rocío (Decagon, cx-2) previamente equilibrado con una batería de soluciones salinas saturadas, aceptando la relación entre el punto de rocío y la presión de vapor de agua [20].

**Detección, recuento y aislamiento de bacterias halófilas.** Los procedimientos de detección, recuento y aislamiento se establecieron de acuerdo a la metodología recomendada por American Public Health Association APHA [1], se procedió a remover asépticamente parte de la musculatura del pescado seco salado y a preparar un homogenizado tomando 25g del músculo y adicionándole 225 ml de agua peptonada alcalina (APW, Merck, Darmstadt, German) para obtener una dilución de  $10^{-1}$ . A partir de esta dilución se realizaron diluciones seriadas hasta  $10^{-6}$ . Posteriormente se sembró por duplicado y por inclusión, un mililitro de cada dilución en placas de Petri estériles, previamente identificadas y contentivas de Agar Trypticase de Soya, TSA (BBL, Baltimore Biological Laboratories, USA) con adición de NaCl (5, 10, 15 y 20%); tomando en consideración las características nutricionales y requerimientos salinos de las bacterias halófilas y las halotolerantes. Las placas fueron incubadas a  $20 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$  por 5 días. Los resultados se expresaron en unidades formadoras de colonias por gramos de muestra (UFC/g). Las colonias desarrolladas fueron repicadas en placas de Agar TSA con NaCl a las concentraciones antes mencionadas, con el objeto de aislarlas. Posteriormente se les caracterizó morfológicamente mediante la técnica de coloración de Gram, modificada por Hucker y Conn [14].

**Identificación de bacterias Halófilas mediante pruebas bioquímicas.** Las cepas caracterizadas como bacilos Gram Negativos se identificaron hasta especie, utilizando esquemas establecidos en el manual de Bergey [4]. A las cepas Gram positivas se les aplicó la prueba de la catalasa [12], motilidad, hidrólisis de la gelatina, transformación de la arginina-dihidrolasa (ADH), la esculina y fermentación de carbohidratos [21]. La identificación se efectuó mediante la comparación de los resultados obtenidos con esquemas de identificación previamente establecidos por Kocur [17].

**Detección, recuento y aislamiento de la micoflora halófila.** Se realizó de acuerdo a la norma COVENIN 1337-90 [9] y a la metodología recomendada por Samson y col [21]. Como medios de cultivo se utilizaron, el agar MEA (Malt Extract Agar, Merck) con 20% de sacarosa y NaCl (5, 10, 15 y 20%) y el Potato Dextrosa Agar (PDA, Merck) acidificado con 2 gotas de ácido tartárico al 10% y NaCl (5, 10, 15 y 20%), a todos los medios preparados se les determinó la  $a_w$ . Las placas sembradas se incubaron por 5 días a  $25/\pm 0,^{\circ}\text{C}$ . Los resultados se expresaron en unidades formadoras de colonias (UFC/g) por gramos de muestra.

**Identificación de los hongos.** Se efectuó a partir de cultivos puros, utilizándose como medios Agar Czapek, Agar DG 18 (Dichloran 18% Glicerol Agar, para especies xerofílicas, excepto Eurotium) y PDA acidificado. Se realizaron montajes húmedos y microcultivos. Para la identificación se emplearon las descripciones de Fassatiouva [11]; Koneman [18] y Samson y col [22].

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la TABLA I se presenta los resultados de los análisis microbiológicos realizados a las muestras de pescados secos-salados. Estos resultados se tomaron como valores de referencia para relacionarlos con ciertos parámetros como pH, humedad y actividad de agua, los cuales fueron factores determinantes en el perfil microbiano del alimento en particular. Se relacionó el predominio de cada grupo de acuerdo a la naturaleza físico-químico del producto. Los análisis microbiológicos revelaron un alto grado de contaminación microbiana. Los valores obtenidos fueron los siguientes: para el recuento de bacterias, el valor máximo correspondió a  $5,3 \times 10^6$  UFC/g en las muestras de Atún Listado (*Katsuwonus pelamis*), estas mues-

TABLE I  
RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LAS MUESTRAS DE PESCADOS SECOS-SALADOS

Muestras	pH	% Humedad	% NaCl	$a_w$	Recuento total de bacterias (UFC/G) TSA 15% NaCl	Recuento total de hongos (UFC/g) MEA 15% NaCl
<i>Istiophorus albicans</i> (Palagar)	6,8	54,5	17,73	0,773	$1,6 \times 10^5$	$4,5 \times 10^4$
<i>Aetobatus narinari</i> (Chucho)	7,2	61,1	18,72	0,790	$4,5 \times 10^6$	$2,1 \times 10^5$
<i>Trichiurus lepturus</i> (Tajalí)	6,8	47,9	19,66	0,750	$3,7 \times 10^6$	$3,4 \times 10^3$
<i>Euthynnus alleteratus</i> (Cabaña pintada)	6,9	59,2	16,2	0,788	$2,6 \times 10^6$	$4,8 \times 10^5$
<i>Katsuwonus pelamis</i> (Atún listados)	6,9	61,2	16,4	0,792	$5,3 \times 10^6$	$2,3 \times 10^5$

tras presentaron un elevado porcentaje de humedad (61,2%) y un contenido de NaCl de 16,4%, mientras que el valor máximo para recuento de hongos correspondió a  $4,8 \times 10^5$  UFC/g en las muestras de Cabaña Pintada (*Euthynnus alleteratus*), con un porcentaje de humedad de 59,2% y de 16,2% de NaCl. Estos resultados coinciden con los reportados por Iriarte y González [16], Villalobos y Graü [23], quienes evaluaron la calidad microbiológica de varias especies de pescado secos salados procesadas en la región Oriental del país. Los investigadores sugirieron que el alto grado de contaminación detectado en el producto se debió a la implementación de una metodología no adecuada para lograr un secado y salado óptimo, concluyendo que el deficiente tratamiento postcosecha permitió que fuese un medio apropiado para el desarrollo de bacterias halófilas y de hongos.

Con respecto a la actividad de agua, los valores obtenidos en casi todas las muestras de pescados secos-salados analizadas, exceptuando *Trichiurus lepturus* (TABLA I) evidenciaron el deterioro del producto por la acción de microorganismos capaces de desarrollarse a valores de  $a_w$  de 0,79 a 0,77. Los productos pesqueros salados y secos usualmente tienen valores de  $a_w$  iguales o menores de 0,75. Pero a valores de  $a_w$  0,70 no se garantiza la estabilidad y es posible la alteración por algunos hongos [20]. La  $a_w$  afecta considerablemente la susceptibilidad que tiene el pescado en el proceso de salado y secado al deterioro microbiano. Los microorganismos tienen una necesidad absoluta del agua para poder desarrollarse, por consiguiente a medida que disminuye la  $a_w$ , de sus niveles óptimos, el metabolismo microbiano se va inhibiendo cada vez más hasta que se detiene por completo su desarrollo [19, 20]. Todos los microorganismos tienen un máximo, un óptimo y un mínimo para crecer y en el caso de bacterias halófilas y mohos xerófilos por lo general, esto ocurre a un rango de  $a_w$  comprendido entre 0,75 a 0,65. De acuerdo a este criterio el producto está sujeto al crecimiento de microorganismos. Es importante señalar la marcada tendencia del pH de las muestras hacia la neutralidad. Un pH neutro o alcalino es señal de deterioro o que el pescado ha sido salado en condiciones inadecuadas [19, 23].

Como se indica en la TABLA I, con la primera de las muestras de pescados secos-salados se llevaron a cabo recuentos elevados de hongos. Aún cuando el producto visiblemente no presentó el aspecto mohoso, la presencia de un gran número de esporas o conidios evidenció la posibilidad de una contaminación por manejo inadecuado o la elaboración del producto con una materia prima de dudosa calidad. Estas observaciones son comprensibles si consideramos la ecología de los hongos aislados, en su mayoría caracterizados por ser hongos de almacenamiento, pertenecientes al género *Aspergillus*. Las especies predominantes fueron identificadas como *A. terreus*, *A. Penicillioides* y *A. niger*. Los hongos aislados se encuentran dentro de la categoría de hongos filamentosos xerotolerantes. Es importante hacer mención que la habilidad de estos hongos filamentosos de crecer a valores de  $a_w$  bajos radica en su capacidad proteolítica, aminolítica y lipolítica [5]. La

actividad de agua mínima para el crecimiento de *Aspergillus terreus* y *Aspergillus niger* es de 0,78 [3]. La  $a_w$  mínima reportada para *Aspergillus penicillioides* y *Eurotium chevalieri* es de 0,77 y 0,71 respectivamente [22]. Por lo que se explica su detección en las muestras de pescados secos-salados, en las que los valores de  $a_w$  oscilaron entre 0,77-0,79. Las colonias de *Aspergillus terreus* crecieron rápidamente a 25°C en el Agar Extracto de Malta (MEA) y Czapek. En cinco días se transformaron de color canela-beige a marrón oscuro, de textura algodonosa a granulosa a medida de que se produjo una esporulación profusa (FIG.1 A). Observaciones microscópicas permitieron identificar a *Aspergillus terreus*, se caracterizó por presentar una cabeza conidial compacta, claramente columnar y conidioforos hiálinos. La vesícula subglobosa o en forma de cúpula presentando métulas y fiálides al borde por lo que se clasifica como biseriado (FIG. 1B). *Aspergillus terreus* es habi-

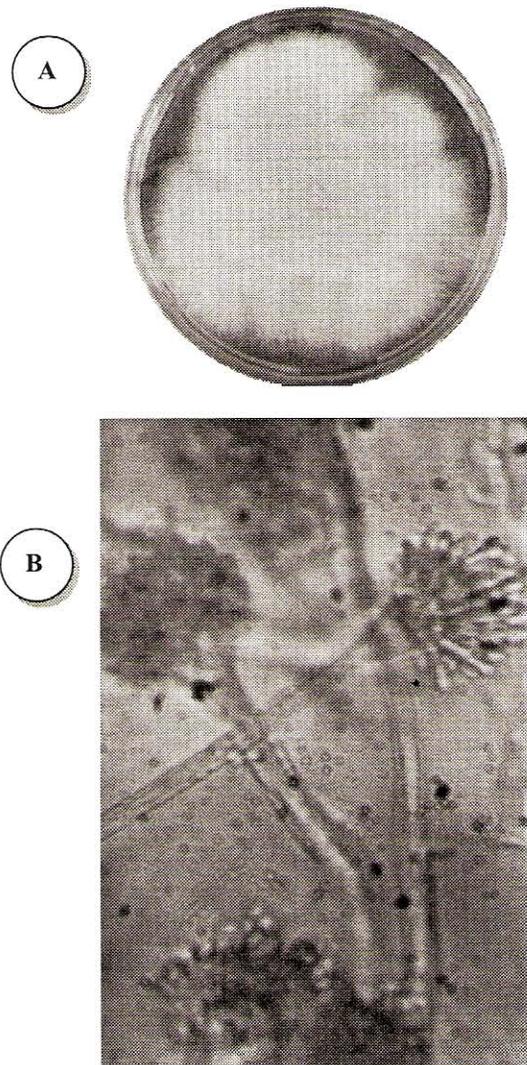


FIGURA 1. *Aspergillus terreus*. A: COLONIAS DESPUÉS DE UNA SEMANA DE CRECIMIENTO EN MEA. B: CABEZA CONIDIAL COMPACTA. COLUMNAR. VESÍCULA SUBGLOBOSA, FIÁLIDES SOSTENIDAS POR MÉTULAS, BICERIIDO. 400X

tante común en suelos y alimentos particularmente almacenados, es un importante productor de metabolitos tóxicos. Es probablemente termofílico y se conoce muy poco sobre su fisiología [22].

*Aspergillus penicillioides* creció pobremente en las placas de Agar Czapek, sin embargo el crecimiento y esporulación fue más abundante en las placas de Agar Extracto de Malta (MEA) con 20% de sacarosa y cloruro de sodio. Su coloración varió de verde claro a verde oscuro (FIG.2 A y B). *Aspergillus penicillioides*, se ubicó taxonómicamente por presentar una cabeza conidial radiada en etapas tempranas de crecimiento, haciéndose columnar con la madurez del microorganismo. Fiálides directamente sobre la vesícula (uniseriado), conidios elipsoidales ornamentados (FIG. 2C). Se reporta como habitante común en producto como especies, frutas secas y ambientes interiores [22].

*Aspergillus niger* comenzó su crecimiento como una colonia blanca tornándose rápidamente en el Agar Extracto de Malta, de color negro oscuro, desarrollando un efecto apimientado en el medio.

En cuanto a la flora bacteriana aisladas de las muestras de pescados secos-salados se reporta a *Pseudomonas salinaria* y *Pediococcus halophylus* como las bacterias predominante en todas las muestras analizadas. El carácter de extrema halofilia, sus características morfológicas, y sus reacciones bioquímicas influenciadas por la concentración de NaCl y de muchos cationes en los medios de cultivo permitieron la identificación de estos microorganismos (TABLAS II y III).

El crecimiento óptimo de *Pediococcus halophylus* se evidenció a la concentración de 15% de NaCl en los medios de cultivos (TABLA III). La prueba de la catalasa resultó positiva para *Pseudomonas salinaria* y negativa para *Pediococcus halophylus*. Estudios previos [13] sostienen que cierto grupo de bacterias poseen una catalasa que no contiene grupo prostético Hem, formado por cuatro átomos de hierro trivalente que retiene su estado oxidado durante la actividad enzimática. *Pediococcus halophylus* por ser una bacteria capaz de producir ácido láctico y de poseer esta pseudocatalasa que carece del grupo prostético Hem, demostró una reacción negativa a la prueba.

*Pseudomonas salinaria* reaccionó positivamente a la prueba de la citocromooxidasa a una concentración de 20% de NaCl en el medio de cultivo, demostrando su condición de organismo extremadamente halofílico. Sin embargo, investigaciones realizadas por Christian y Gibbson [10] indican que esta enzima se inactiva irreversiblemente cuando ciertas bacterias son cultivadas en medios con adición de NaCl a concentraciones superiores de 10%.

## CONCLUSIONES

Los resultados de los análisis bacteriológicos revelaron una mayor incidencia de las bacterias *Pseudomonas salinaria* y *Pediococcus halophylus*. Ambas bacterias son consideradas

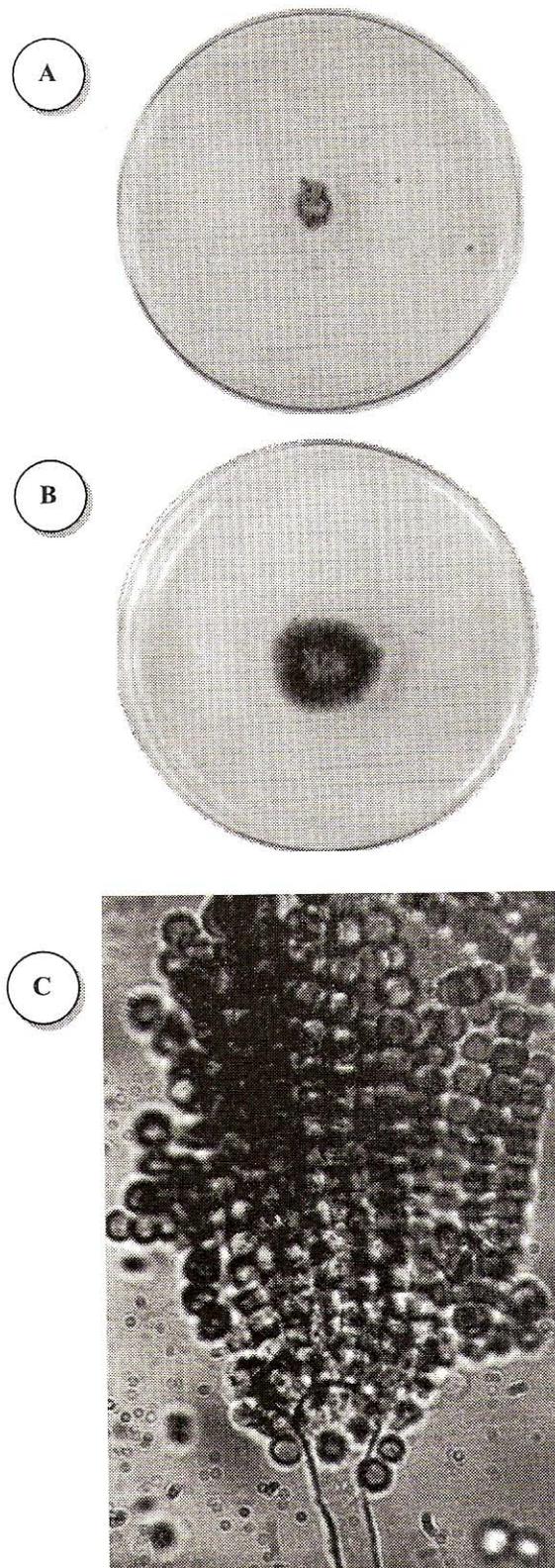


FIGURA 2. *Aspergillus penicillioides*. A: COLONIAS DESPUÉS DE UNA SEMANA DE CRECIMIENTO EN AGAR CZAPEK. B: COLONIA EN MEA CON 20% DE SACAROSA. C: DETALLES DE LA CABEZA CONIDIAL COMPACTA, COLUMNAR. VESÍCULA SUBGLOBOSA. FIÁLIDES DIRECTAMENTE SOBRE LA VESÍCULA, UNISERIADO. 950X



como formadoras de histamina. Sustancia muy activa que provoca diversos desordenes fisiológicos en individuos afectados, entre ellos shock anafiláctico. En cuanto a la detección y aislamiento de mohos en las distintas muestras de pescado seco salado se reporta una mayor incidencia del género *Aspergillus*, con predominancia de las especies identificadas como *A. penicillioides*, *A. terreus* y *A. niger*. Aún cuando son considerados como hongos toxigénicos, se descarta la producción de metabolitos secundarios o sustancias micotoxigénicas a valores  $a_w$  tan bajos. Sin embargo, representa un riesgo para la salud pública. El mejor ejemplo es la variedad de procesos humanos pulmonares y generalizados ocasionados por la inhalación de esporas de una o más especies de *Aspergillus*. *Aspergillus terreus* y *Aspergillus niger* son invasores frecuentes, relacionados con la otomicosis, son especies termotolerantes y hasta cierto grado tolerantes a los tejidos y son capaces de evadir las defensas del huésped.

Se recomienda como medidas preventivas para evitar la contaminación del producto mantener las condiciones de higiene durante el procesamiento y almacenamiento del pescado, así como la utilización de concentraciones adecuadas de sal, la calidad de la misma y empleo de técnicas apropiadas, el control de transportadores de esporas de mohos como es el caso de ciertos ácaros, moscas y roedores y la implementación de soluciones viables para empaquetar y almacenar el pescado seco-salado, casi inexistentes en nuestra producción nacional.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. C. Vanderzaut and D.F. Splittstoesser Edt. Washington, D.C. 1.065 pp. 1992.
- [2] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of Analysis**. 15<sup>th</sup> edition. Washington, D.C. 1205 pp. 1990.
- [3] AYERST, G. The effects of moisture and temperature on growth and spore germination of some Fungi. **J. Stored Prod. Res.** (5): 127-141. 1969.
- [4] BERGEY, D. **Bergey's Manual Determinative Bacteriology**. 8<sup>th</sup> edition. Williams & Wilkings Co. Baltimore, U.S.A. 1246 pp. 1993.
- [5] BEUCHAT, L. R.; HOCKING, A. D. . Some considerations when analyzing foods for the presence of xerophilic fungi. **J. Food. Protection**. (53): 984-989. 1990.
- [6] COMISION VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). 1315-79. Alimentos. Determinación del pH. Acidez iónica. Ministerio de Fomento. Caracas. 3pp. 1979.
- [7] COMISION VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). 1193-81. Alimentos. Determinación de cloruros. Ministerio de Fomento. Caracas. 5pp. 1981.
- [8] COMISION VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). 2394-86. Alimentos. Pescado seco y salado. Ministerio de Fomento. Caracas. 3 pp. 1986.
- [9] COMISION VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). 1337-90. Métodos para recuento de mohos y levaduras. Ministerio de Fomento. Caracas. 6pp. 1990.
- [10] CHRISTIAM, J. H. B.; GIBBSON. The physiological basic salt tolerance in halophilic bacteria. **J. Microbiol.** (3): 249. 1957.
- [11] FASSATIOVA, O. Mould filamentous fungi in "Technical microbiology". **Progress in industrial microbiology**. Vol. 22 Elsevier New York. 233 pp. 1986.
- [12] FUNG, D.; PETRISHKO, D. Capillary tube catalase test. **Appl. Microbiol.** 26 (4): 631-632. 1973.
- [13] GARVIE, E. I. *Genus Pedicoccus clausen* 1903. pp. 455-464 In **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. 2. Ed. Sneath P.H.A. Mair, N. S., Sharpe, M. E. And Holt, J. G. P. Baltimore: Williams and Wilkins. 1.075-1.079. 1986.
- [14] HUCKER, G. J.; CONN, H J. Methods of Gram Staining. New York. Arg. Exp. Sta. Tech. Bull. 93. 1-37. 1923.
- [15] INGRAM, M.; KITCHELL, A. Salt as preservation for foods. **J. Food Technol.** (2): 1-15. 1967.
- [16] IRIARTE, M. M.; GONZÁLEZ, C. Características químicas y microbiológicas de la Raya seca-salada (*Dasyatis americana*). **Mem. Soc. Cienc. Natu. La Salle**. Suplemento. 1: 111-124. 1988.
- [17] KOCUR, M.; HODGKISS, W. Taxonomic status of the genus halococcus. **Int. J. Syst. Bacteriol.** (23): 151-156. 1974.
- [18] KONEMAN, E. W.; ROBERTA, D. G. **Micología**. 3era edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Argentina. 220 pp. 1992.
- [19] LUPIN, H. M. Principles of salting and drying hake. Technical consultation on the latin american hake industry. **FAO. Fisheries report**. F 11 V/R 203 suppl. (1): 161-176. 1978.
- [20] LUPIN, H. M.; BOERI, R. L.; MOSCHAIR, S. M. Water activity and salt content relationship in moisted salted fish products. **J. Food. Technol.** (16): 31-38. 1981.
- [21] MAC FADDIN, J. F. **Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica**. Editorial Panamericana. Buenos Aires. Argentina. 301pp. 1980.
- [22] SAMSON, R. A.; HOEKSTRA, E. S.; FRISVAD, J. C.; FILTENBORG, O. (eds). **Introduction to food-borne fungi**. Fourth Edition. Centraalbureau Voor Schimmelcultures, Baarn, DELFT. The Netherlands. 322 pp. 1995.
- [23] VILLALOBOS DE B, L. B.; GRAÜ DE M, C. Análisis microbiológico y químico del pescado seco-salado comercializado en el Edo. Sucre, Venezuela. **Bol. Inst. Oceanogr.** Venezuela, Univ. Oriente. (34): 25-32. 1995.