

Hongos filamentosos presentes en productos cárnicos fermentados secos

Tesis de Doctorado en Biología
Opción Microbiología
PEDECIBA

Umberto Galvalisi Carzoglio

Director: Lina Bettucci
Laboratorio de Micología
Facultad de Ciencias - Facultad de Ingeniería

Co Director: Sandra Lupo
Laboratorio de Micología
Facultad de Ciencias - Facultad de Ingeniería

Tribunal: Alicia Arias

Claudia Lareo

Magela Laviña

AGRADECIMIENTOS

Después de casi cinco años llegó el momento de escribir las últimas líneas de esta tesis y por lo tanto llegó el momento de agradecer a todas las personas que contribuyeron a la realización de este trabajo.

En primer lugar quiero agradecer a mi tutora, la Dra. Lina Bettucci, quien me aceptó hace 11 años como estudiante de la Maestría en Biotecnología y luego como estudiante de Doctorado. Desde aquel momento sentí su apoyo permanente en esta difícil labor de investigar, además obviamente de la transmisión de conocimientos calificados y de su calidad humana.

A mi co-tutora, la Dra. Sandra Lupo, le agradezco el compromiso y la gran dedicación destinada a este trabajo a lo largo de los casi cinco años, así como también su rigor científico y la transmisión de importantes conceptos.

A todo el grupo de compañeros del Laboratorio de Micología, a los actuales y a los que ya no están, que de una forma u otra siempre colaboraron y ayudaron a que las cosas sean más amenas.

A mis amigos por el impulso permanente, en especial a Gustavo y Rafael.

Por supuesto quiero dedicar este trabajo a mis padres y a mi hermano por su permanente respaldo. También quiero dedicarlo a la memoria de mis abuelos Julio y Mirta y de mi hermano Nacho.

Y obviamente a las dos personas más importantes de mi vida, Genaro y Rosina, con quienes día a día tratamos de construir una familia basada en el esfuerzo y la comprensión, valores que les reconozco a ambos. En estas líneas me gustaría asegurar que este trabajo fue por y para ellos pensando en un mejor futuro.

La realización de esta Tesis Doctoral fue posible gracias a la beca BE_POS_2010_1_2643 otorgada por la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) y también al apoyo económico recibido por el Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA).

RESUMEN

Durante la elaboración de los productos cárnicos fermentados secos, el proceso conocido como “emplume”, o cobertura por hongos filamentosos, consiste en el desarrollo de una película blanca uniforme de mohos sobre la superficie de éstos. Los hongos durante la maduración regulan las variaciones de humedad, mejoran la calidad microbiológica, tienen efecto antioxidante y confieren un aspecto característico. Además, en el proceso de elaboración de los productos cárnicos fermentados secos se producen cambios físicos, químicos y bioquímicos que son los responsables de la obtención de un producto inocuo.

El emplume obtenido mediante inoculación espontánea o natural, que es lo empleado en Uruguay, posee cepas fúngicas que pueden, eventualmente, ser productoras de micotoxinas causantes de intoxicaciones agudas y crónicas en el ser humano o bien otras que pueden provocar alteraciones en el aspecto y aroma del producto.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar la composición de la comunidad de hongos filamentosos presentes en diferentes embutidos fermentados secos y evaluar la capacidad toxicogénica.

Se analizaron 45 unidades correspondientes a tres productos: salami, longaniza y chacarero provenientes de tres de las principales empresas del país. El aislamiento de los hongos se realizó mediante el barrido de un área representativa de cada uno de los productos, dilución y posterior siembra sobre Agar Extracto de Malta (MEA). Para la identificación de las diferentes colonias, éstas fueron repicadas en placas de Petri conteniendo MEA, pH: 4,5 e incubadas a 25 °C. La identificación de los aislamientos se realizó a partir de las características macro y micromorfológicas así como también de las características moleculares. La identificación de las especies pertenecientes al género *Penicillium* se realizó de acuerdo con el protocolo de Pitt. Para la identificación molecular de las especies se amplificaron las secuencias de la región ITS (espaciadores de transcripción interna específicos del rADN) y de parte de la secuencia de dos genes nucleares, β -tubulina y calmodulina y un gen mitocondrial denominado citocromo oxidasa 1 (COX1). La técnica de los microsatélites amplificados al azar (RAMS), se utilizó para realizar el estudio de la variabilidad

genotípica de las distintas especies identificadas. La capacidad toxicogénica de las distintas cepas se determinó mediante un ensayo biológico como la prueba de mortalidad de larvas de *Artemia salina*. La capacidad de producción del ácido ciclopiazónico (ACP), citrinina (CIT), ocratoxina A (OA) y patulina (PAT) de las distintas cepas se determinó por cromatografía en capa fina (TLC). A los efectos de evaluar la producción de los metabolitos del indol se realizó la reacción de Ehrlich. Todas las especies fúngicas fueron evaluadas cualitativamente en su capacidad de producir penicilina mediante la utilización de un cultivo de 24 horas de una cepa de *Staphylococcus aureus* sensible y otra resistente a dicho antibiótico. También se determinó la presencia de los tres genes biosintéticos de este antibiótico.

Los resultados obtenidos mostraron un predominio de especies pertenecientes al género *Penicillium*, destacándose *Penicillium nalgiovense*, especie utilizada principalmente en Europa como cultivo iniciador de superficie durante el proceso de elaboración de este tipo de productos cárnicos. La identificación molecular complementó a la identificación morfológica, siendo el gen de la β -tubulina el que mostró mayor poder de resolución a nivel de especie. Los patrones de bandas obtenidos con los cinco marcadores RAMS utilizados no se correlacionaron con las especies así como tampoco con los sustratos a partir de los cuales fueron obtenidos los distintos aislamientos. La mayoría de las cepas fúngicas evaluadas mostraron no ser tóxicas aunque algunas fueron capaces de producir micotoxinas tales como: *Penicillium polonicum*, *Penicillium paneum*, *Penicillium coprophilum* y *Penicillium salamii*. Las cepas pertenecientes a la especie *P. polonicum* fueron las únicas capaces de producir metabolitos del indol. Ninguna de las cepas pertenecientes al género *Penicillium* fue capaz de producir penicilina. Sin embargo, es de destacar que las cepas pertenecientes a *Penicillium vanluykii* aisladas de las longanizas correspondientes a la empresa A fueron capaces de producir un halo de inhibición en las placas con Agar Luria sembradas con las bacterias sensibles a este antibiótico así como también en las placas con Agar Luria sembradas con las bacterias resistentes a la penicilina. Considerando que cepas de esta especie son capaces de producir roquefortina C, una MCTX capaz de inhibir el crecimiento bacteriano, el efecto observado podría deberse a esta MCTX.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN

1.1- Productos cárnicos fermentados secos	1
1.1.1- Definición	1
1.1.2- Tecnología de Elaboración	2
1.1.3- Microbiología de los productos cárnicos fermentados	7
1.1.3.1- Lactobacilos.....	7
1.1.3.2- Micrococáceas	8
1.1.3.3- Hongos filamentosos y levaduras	8
1.1.4- Fenómenos bioquímicos en la elaboración de embutidos cárnicos fermentados.....	10
1.1.4.1- Fermentación de carbohidratos.....	10
1.1.4.2- Utilización de nitritos	10
1.1.4.3- Lipólisis	10
1.1.4.4- Proteólisis	11
1.1.5- Hongos asociados al proceso de elaboración de productos cárnicos fermentados.....	12
1.1.5.1- Antecedentes históricos del género <i>Penicillium</i>	13
1.1.5.1.2- Importancia del género <i>Penicillium</i>	18
1.1.6- Identificación y tipificación de hongos mediante técnicas moleculares .	19
1.1.6.1- PCR con cebadores específicos.....	19
1.1.6.2- Microsatélites	20
1.1.6.3- Secuencias repetidas intersimple (ISSR)	21
1.1.7- Variabilidad genética	22
1.1.8- Micotoxinas.....	22
1.1.8.1- Análisis de micotoxinas.....	26

2. ANTECEDENTES

3. HIPÓTESIS

4. OBJETIVOS

4.1- Objetivo general.....	33
4.2- Objetivos específicos	33

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1- Muestreo	34
5.2- Aislamiento de los hongos.....	34
5.3- Caracterización de los aislamientos	35
5.3.1- Caracterización morfológica de los aislamientos del género <i>Penicillium</i>	35
5.3.2- Caracterización molecular de los aislamientos	36
5.3.2.1- Extracción de ADN	36
5.3.2.2- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	37
5.3.2.3- Análisis filogenético	38
5.4- Variabilidad genética	39
5.5- Capacidad toxicogénica	41
5.6- Detección de metabolitos secundarios	42
5.6.1- Micotoxinas (MCTX)	42
5.6.1.1- Evaluación de la producción de Ácido ciclopiazónico (ACP)	43
5.6.1.2- Evaluación de la producción de Citrinina (CIT)	43
5.6.1.3- Evaluación de la producción de Ocratoxina A (OA)	44
5.6.1.4- Evaluación de la producción de Patulina (PAT).....	44
5.6.2- Evaluación del indol	45
5.6.3- Evaluación de la producción de penicilina	45
5.7- Análisis de los datos.....	46
6. RESULTADOS	
6.1- Caracterización morfológica de los aislamientos	49
6.2- Caracterización molecular de los aislamientos y análisis filogenético	49
6.3- Especies presentes en los distintos productos cárnicos fermentados secos ..	60
6.3.1- Especies fúngicas presentes en salamines	60
6.3.2- Especies fúngicas presentes en longanizas	61
6.3.3- Especies fúngicas presentes en chacareros.....	63
6.4- Variabilidad genética (RAMS)	65
6.5- Capacidad toxicogénica	75
6.5.1- Capacidad toxicogénica de las cepas fúngicas aisladas a partir de los salamines	75

6.5.2- Capacidad toxicogénica de las cepas fúngicas aisladas a partir de las longanizas	76
6.5.3- Capacidad toxicogénica de las cepas fúngicas aisladas a partir de los chacareros.....	76
6.6- Detección de metabolitos secundarios	77
6.6.1- Evaluación de la producción de micotoxinas.....	77
6.6.1.1- Evaluación de la producción de micotoxinas por parte de las cepas fúngicas aisladas a partir de salamines.....	77
6.6.1.2- Evaluación de la producción de micotoxinas por parte de las cepas fúngicas aisladas a partir de longanizas.....	78
6.6.1.3- Evaluación de la producción de micotoxinas por parte de las cepas fúngicas aisladas a partir de chacareros	78
6.6.2- Evaluación de la producción de metabolitos del indol	79
6.6.3- Evaluación de la producción de penicilina	79
7. DISCUSIÓN	
7.1- Identificación de los aislamientos fúngicos.....	81
7.2- Especies presentes en los distintos productos cárnicos fermentados secos ..	85
7.3- Variabilidad genética	88
7.4- Capacidad toxicogénica y evaluación de la producción de metabolitos secundarios	91
8. CONCLUSIONES	
9. BIBLIOGRAFÍA	
10. ANEXOS	
10.1- Abreviaciones.....	118
10.2- Materiales	122
10.3- Composición de los medios de cultivo y soluciones tampón.....	125
10.4- Datos y análisis estadístico	127
10.4.1- Número de propágulos/cm ² correspondientes a hongos filamentosos y levaduras obtenidos a partir de los distintos tipos de productos cárnicos fermentados secos.	127
10.4.2- Evaluación de la capacidad toxicogénica de las cepas fúngicas aisladas a partir de los productos salamín frente a <i>A.salina</i> (% sobrevivencia)	135

10.4.3- Evaluación de la capacidad toxicogénica de las cepas fúngicas aisladas a partir de los productos longaniza frente a <i>A.salina</i> (% sobrevivencia)	159
10.4.4- Evaluación de la capacidad toxicogénica de las cepas fúngicas aisladas a partir de los productos chacarero frente a <i>A.salina</i> (% sobrevivencia).....	188
10.4.5-Patrones de banda obtenidos con los cinco marcadores RAMS utilizados	203
10.4.6- Descripción de las especies fúngicas identificadas pertenecientes al género <i>Penicillium</i> y sus teleomorfos de acuerdo con Pitt (1979) correspondientes a los 23 morfotipos.	218

1. INTRODUCCIÓN

La carne ha sido un alimento muy apreciado por el hombre desde la antigüedad, sin embargo, dado su carácter perecedero sólo podía consumirse en épocas de caza. Es por esto que surgió la necesidad de ampliar la vida útil de la misma a través del desarrollo de diversos métodos como el ahumado, salazón o desecado (Ordóñez & De la Hoz, 2001; Bengoa, 2002). Actualmente, la pérdida de estacionalidad en la disponibilidad de la carne y el desarrollo de distintos procesos tecnológicos transformaron la fabricación de los embutidos en un método encaminado a la obtención industrial de productos de alta calidad y con características muy distintas a las de las materias primas originales. Además, su prolongada vida útil, sin necesidad de recurrir a otras formas de conservación y el escaso riesgo sanitario que conlleva su ingesta, ha hecho que la producción de embutidos fermentados y madurados sea uno de los sectores más importantes en la industria cárnica (Ordóñez & De la Hoz, 2001).

1.1- Productos cárnicos fermentados secos

1.1.1- Definición

De acuerdo al Reglamento Bromatológico Nacional-Decreto 315/1994 (actualizado al 2001) se entiende por chacinado “a un alimento elaborado a base de carne o sangre o mezcla de ambas con o sin el agregado de vísceras u otros productos animales, vegetales, autorizados por la presente reglamentación debiendo estar exentos de aponeurosis, tendones, ligamentos y cartílagos, a excepción de los chacinados cocidos, en los que se admite tejidos colágenos, a los efectos de su transformación en gelatina, sometidos o no a un proceso de curación y/o ahumado”.

Los chacinados se clasifican de acuerdo con la tecnología aplicada en su elaboración en:

- a) frescos no embutidos y embutidos

- b) secos
- c) cocidos no embutidos y embutidos
- d) salados

Los chacinados secos “son aquellos preparados a base de carne y grasa crudas, picadas, de las especies bovina, suina y otras autorizadas, con la adición de ingredientes autorizados en este reglamento, que han sido sometidos a un proceso de maduración y desecación. Se presentan embutidos en tripas naturales o artificiales” (Reglamento Bromatológico Nacional, Capítulo 13 “Carne y derivados”, Sección 3 “Chacinados”, 2001).

1.1.2- Tecnología de Elaboración

El proceso de elaboración de los embutidos fermentados secos se realiza en tres etapas (Ordóñez & De la Hoz, 2001):

- a) picado y mezclado de los ingredientes
- b) fermentación
- c) maduración

a) El picado y la mezcla de los ingredientes consiste básicamente en picar la carne, mezclarla con las sales de curado (nitratos, nitritos y cloruro de sodio), especias y otros ingredientes, así como también el picado de la grasa y su adición a la masa anterior. El picado de la carne se realiza a temperaturas bajas, entre -1°C y -3°C , de forma que el corte sea limpio y no se libere grasa intramuscular, lo que podría producir alteraciones del color durante la maduración (Ordóñez & De la Hoz, 2001). Se aconseja la utilización de carne pulposa y no exudativa de vacunos y cerdos bien alimentados. Este tipo de carne se caracteriza por poseer una óptima acción amortiguadora y una óptima capacidad de retención de agua a valores de pH entre 5.4 y 6.0 (Bengoa, 2002). El cloruro de sodio es el ingrediente que se añade en mayor proporción a los embutidos, generalmente entre 2.2 y 2.8%. Desde el punto de vista tecnológico el cloruro de sodio contribuye a la ligazón de los distintos componentes del embutido y por lo tanto al desarrollo de la textura, permitiendo una solubilización proteica mayor y su posterior gelificación. Además, posee una acción bacteriostática sobre la microbiota responsable de la alteración de la carne,

dado que induce junto con otros solutos un descenso de la actividad de agua (a_w) (Ordóñez & De la Hoz, 2001; Bengoa, 2002; Solignat, 2002).

Las especias se utilizan en proporciones del 0.5-2% y tienen un efecto estimulador del crecimiento de bacterias lácticas, debido al elevado contenido en manganeso, elemento necesario para algunas enzimas de la cadena respiratoria de este tipo de bacterias. También presentan actividad antioxidante, debido a la capacidad quelante de algunos metales, al inhibir la fase inicial de la autooxidación (Ordóñez & De la Hoz, 2001; Bengoa 2002).

Los carbohidratos se utilizan, en el mismo rango de porcentajes que las especias (0.5-2%), con la finalidad de lograr una correcta fermentación y producir un adecuado descenso de pH. Esto permite el desarrollo de bacterias ácido sensibles (bacterias lácticas) muy necesarias para obtener las características deseadas del producto. No es conveniente utilizar carbohidratos rápidamente fermentables (por ejemplo: dextrosa y sacarosa) dado que provocarían un descenso brusco del pH y por lo tanto impedirían el crecimiento de las bacterias lácticas. (Ordóñez & De la Hoz, 2001; Bengoa 2002; Solignat, 2002).

Los nitritos pueden utilizarse como tales o en forma de nitratos. Participan en la formación del color, desarrollo del sabor y del aroma, además de tener efectos antioxidantes y antimicrobianos. A pesar de esto, existe una serie de inconvenientes asociados a su uso, como lo son la formación de nitrosaminas. Por ello las cantidades de nitrito y nitrato que pueden utilizarse están reguladas en la mayoría de los países, en España la cantidad máxima permitida de nitritos en productos fermentados es de 150 ppm y de nitratos es de 300 ppm (Ordóñez & De la Hoz, 2001; Solignat, 2002).

Se utilizan cultivos iniciadores que se añaden al comienzo del proceso de elaboración, al mezclarse los ingredientes. Un cultivo iniciador es un cultivo individual o mixto de microorganismos seleccionados de acuerdo a sus características metabólicas que se añaden a un producto alimenticio para mejorar su calidad, aumentar su seguridad y/u obtener un producto con determinadas características (López-Díaz *et al.*, 2001 a). Sin embargo, recientemente se ha marcado una diferenciación entre “cultivo iniciador” propiamente dicho, que sería aquel cuya principal finalidad es mejorar las propiedades sensoriales del producto (aroma, textura y sabor) y “cultivo protector” que sería el que se emplea para

inhibir la microbiota perjudicial para la salud del consumidor (patógena y toxigénica) (López-Díaz *et al.*, 2001 a).

El picado de la grasa se realiza también a bajas temperaturas. La grasa más adecuada para la fabricación de estos productos es la de cerdo, que presenta un menor contenido en ácidos grasos insaturados, siendo la más utilizada la procedente del tocino (Ordóñez & De la Hoz, 2001).

Luego se realiza la mezcla en una amasadora para conseguir una distribución homogénea de todos los ingredientes. Generalmente se realiza aplicando vacío para eliminar el oxígeno de la masa puesto que éste interfiere en la formación del color y sabor (Ordóñez & De la Hoz, 2001; Bengoa, 2002).

Inmediatamente después se procede a embutir la masa en máquinas al vacío a 2° C. Pueden utilizarse tripas naturales o sintéticas (Ordóñez & De la Hoz, 2001; Solignat, 2002) que deben permitir la difusión del agua desde el interior del producto y deben adaptarse a los cambios de tamaño del embutido provocados por la deshidratación. También deben permitir la eliminación del dióxido de carbono de la masa del embutido para evitar la formación de espacios huecos. Recién durante el almacenamiento es conveniente disminuir o evitar la permeabilidad de la tripa, puesto que junto al vapor de agua y al dióxido de carbono se desprenden también sustancias aromáticas y saborizantes que contribuyen a la pérdida del valor sensorial de estos productos (Ordóñez & De la Hoz, 2001; Bengoa, 2002).

Las tripas naturales principalmente utilizadas son las obtenidas de los intestinos de vaca, cerdo y oveja aunque también pueden utilizarse el estómago de cerdo y el esófago de reses vacunas (Cava López & Andrés Nieto, 2001). Los productos embutidos en tripas artificiales se encuentran protegidos por más tiempo de los fenómenos de oxidación de las grasas y también del proceso de enmohecimiento, debido a que la tripa presenta un estado constantemente seco. Las tripas artificiales se elaboran con hidrato de celulosa, tejidos de sostén con revestimiento proteico, proteínas endurecidas, poliamidas, poliésteres, polipropileno y polietileno. Dada la composición básicamente natural de los primeros tres polímeros, éstos son denominados productos naturales regenerados. Los otros elementos constituyen las tripas sintéticas (Cava López & Andrés Nieto, 2001; Orduña, *et al.* 2004).

Antes que comience la fermentación, algunos fabricantes realizan una etapa llamada estabilización. En ésta, la temperatura del producto se eleva paulatinamente durante un período de tiempo suficiente para que los cultivos de microorganismos iniciadores se adapten al medio y puedan comenzar con su actividad (Bengoa, 2002). Otros fabricantes y principalmente en Europa inoculan a los productos cárnicos fermentados secos con hongos filamentosos o también con levaduras como cultivos iniciadores de superficie, a los efectos de obtener productos con mejores propiedades organolépticas.

b) La fermentación constituye la etapa más importante del proceso. Se lleva a cabo en cámaras con humedad, temperatura y velocidad de aire controladas, en las que se mantienen temperaturas de 20-26° C y humedades relativas del 90-95% durante 24-96 horas (Ordóñez & De la Hoz, 2001; Bengoa, 2002). Durante el proceso se alcanzan niveles de a_w entre 0.96 y 0.94. En esta etapa se producen cambios microbiológicos y físicoquímicos, tales como la utilización de los hidratos de carbono por parte de los cultivos iniciadores para la producción de ácido láctico que permitirá la correcta acidificación y consiguiente coagulación proteica determinando la firmeza del corte. Durante esta etapa también se produce la formación de color por acción del nitrito de sodio sobre la mioglobina de la carne, transformándola en una molécula estable denominada nitrosomioglobina (Bengoa, 2002)

c) La maduración de los embutidos se realiza también en cámaras con humedad y temperatura controladas (Ordóñez & De la Hoz, 2001; Solignat, 2002). Las condiciones ambientales pueden variar de acuerdo al tipo de embutido que se fabrique, pero generalmente se realizan a temperaturas entre 10 y 15° C y 75-85% de humedad relativa. La velocidad del aire puede ser aproximadamente 1m/s y debe repartirse uniformemente por la cámara y alrededor de los embutidos para que el secado sea homogéneo. Durante este período de maduración se producen reacciones enzimáticas endógenas y de origen microbiano que degradan lípidos y proteínas. También se produce una fuerte deshidratación, alcanzándose niveles de a_w comprendidos entre 0.92 y 0.88. En estas condiciones el crecimiento bacteriano se inhibe si se evita la condensación de agua en la superficie del embutido. Hacia el

final de la maduración se produce un aumento del pH debido principalmente al consumo de ácido láctico por parte de la microbiota superficial y por la acumulación de productos de degradación de las proteínas, como amoníaco y aminas (Ordóñez & De la Hoz, 2001).

Como se describió anteriormente, durante el proceso de elaboración se producen cambios físicos, químicos y bioquímicos que son los responsables de la obtención de un producto inocuo y que a su vez cumpla con las características organolépticas típicas del producto (Bengoa, 2002). La acción conjunta de varios factores, denominados “serie de obstáculos bacteriostáticos en el embutido crudo” (Fig. 1), es lo que permite la correcta elaboración de este tipo de productos (Leistner *et al.*, 1990). En primer lugar, la adición de sales a la masa hace descender el valor de la a_w con relación al de la carne fresca. El próximo obstáculo importante es el potencial redox (Eh). Al comienzo de la elaboración, la trituración de las materias primas incorpora oxígeno, partiendo de un valor Eh alto, generando la posibilidad de crecimiento de bacterias aerobias. La utilización de sales, azúcares y otros agentes reductores provocan una disminución del Eh, que actúa inhibiendo el crecimiento de bacterias aerobias deteriorantes y a su vez favorece el crecimiento de las bacterias lácticas.

Luego aparece como obstáculo la flora competitiva, principalmente formada por el crecimiento de las bacterias lácticas, que como resultado de la fermentación de los azúcares provocan un descenso del pH, impidiendo el crecimiento de bacterias deteriorantes y patógenas. Otro de los obstáculos lo constituye el pH, cuyo valor depende del tipo de azúcares utilizados, del tipo de carne y de las temperaturas utilizadas. Con el transcurrir de la maduración el pH tiende a subir a niveles que no dan una completa seguridad al producto. Finalmente, el valor de a_w constituye el obstáculo más efectivo (Bengoa, 2002; Huerta *et al.*, 2002).

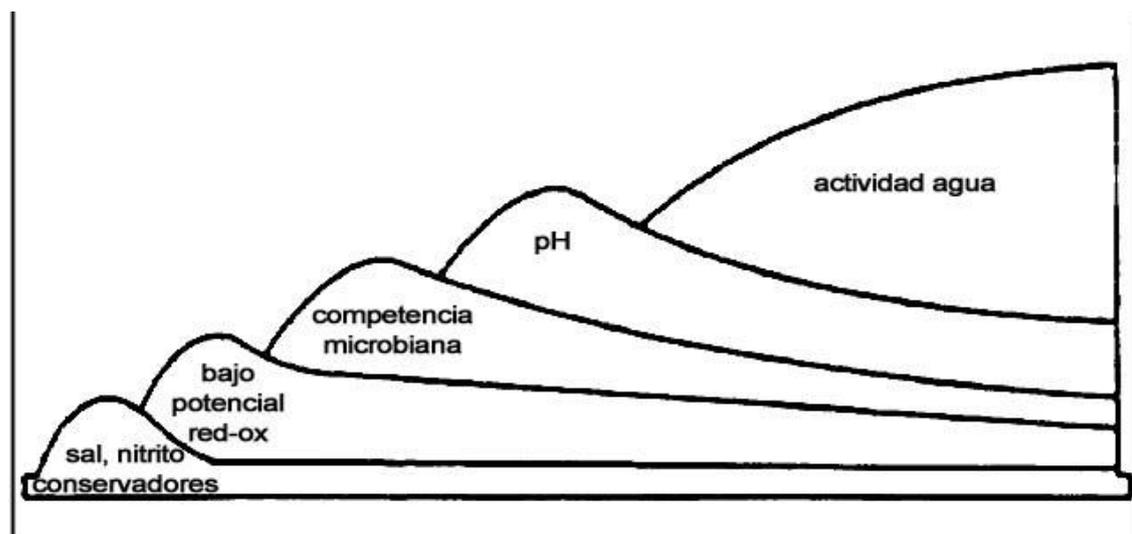


Fig. 1. Secuencia de los obstáculos bacteriostáticos en los embutidos fermentados secos (Tomado de Tecnología de productos cárnicos crudos-curados y salazones)-IV Curso Internacional en Tecnología de Productos Cárnicos, 2005).

1.1.3- Microbiología de los productos cárnicos fermentados

La composición de la microbiota de los embutidos antes del período de fermentación es muy heterogénea, dado que depende de los ingredientes utilizados, principalmente la grasa y la carne. Por lo tanto, en un embutido recién preparado pueden aislarse: lactobacilos, micrococáceas, enterobacterias (*Salmonella*, *Escherichia*, *Yersinia*, etc.) y algunas especies de los géneros *Clostridium*, *Pediococcus* y *Bacillus*; también hongos filamentosos y levaduras (Ordóñez & De la Hoz, 2001; Huerta *et al.*, 2002).

1.1.3.1- Lactobacilos

Los lactobacilos homofermentativos constituyen la población dominante durante la maduración debido sobre todo a su efecto inhibitorio sobre otras bacterias. Las especies más frecuentemente encontrados en este tipo de productos son *Lactobacillus sake*, *L. curvatus* y *L. plantarum* (Carrascosa, 2001; Huerta *et al.*, 2002). Su función principal es la fermentación de los azúcares que provoca la acumulación de ácido láctico. Si bien presentan actividad lipolítica, ésta no parece ser muy marcada. Lo mismo ocurre con la actividad proteolítica, aunque algunas cepas de lactobacilos son capaces de hidrolizar péptidos (Carrascosa, 2001).

1.1.3.2- Micrococáceas

Las bacterias pertenecientes a esta familia, presentes en los embutidos, corresponden a los géneros *Staphylococcus* y *Micrococcus*. Las especies más frecuentemente identificadas son *Staphylococcus xilosus*, *S. saprophyticus* y *Kocuria varians* (antes *Micrococcus varians*) (Ordóñez & De la Hoz, 2001; Huerta *et al.*, 2002). En general las especies pertenecientes al género *Staphylococcus* crecen mejor en anaerobiosis por lo que son más abundantes que los micrococos. Durante la fermentación, la población de micrococos experimenta un incremento previo al que se produce en los lactobacilos, para mantenerse y descender en etapas posteriores de la maduración. Las principales características de estas bacterias, relacionadas con los fenómenos que ocurren en la maduración, son la actividad nitrato y nitrito reductasa, que permite el desarrollo de color del producto y la actividad catalasa. Luego de la fermentación existen peróxidos, procedentes de la acción de los lactobacilos así como también originados abióticamente. La catalasa tisular pierde rápidamente su actividad durante este proceso, por ello la presencia de catalasa procedente de las micrococáceas es fundamental para degradar el peróxido de hidrógeno y por tanto impedir alteraciones en el color dado que podrían oxidar a la mioglobina. Algunos autores sostienen que las micrococáceas, por su capacidad de producir lipasas, pueden participar en la formación de ácidos grasos libres que luego son degradados a ácidos grasos de cadena corta y carbonilos, formándose peróxidos con metabolitos intermedios los que participan en el sabor y aroma del producto. Puede ser que estas bacterias, dada su actividad proteolítica, colaboren en la proteólisis y en la liberación de aminoácidos (Ordóñez & De la Hoz, 2001; Huerta *et al.*, 2002).

1.1.3.3- Hongos filamentosos y levaduras

Los hongos filamentosos y las levaduras colonizan con frecuencia la superficie de los embutidos, siempre que la humedad relativa de la cámara de maduración no sea demasiado baja (Ordóñez & De la Hoz, 2001; López-Díaz *et al.*, 2001 b; Huerta *et al.*, 2002).

Los requisitos que debe cumplir un cultivo de hongos filamentosos para su utilización en la industria alimentaria de acuerdo con López-Díaz *et al.* (2001 a) son

poseer una capacidad toxicogénica nula “*in vitro*” y en el producto; presentar velocidades de germinación y crecimiento rápidas; presentar actividades proteolíticas y lipolíticas óptimas según el producto; no producir antibióticos y presentar un color uniforme del micelio en el producto.

Los efectos positivos de los hongos filamentosos que se encuentran en la superficie durante la maduración son (López-Díaz *et al.*, 2001 a; Bengoa, 2002):

- poseer efecto antioxidante, debido a que provocan la baja de la tensión superficial de oxígeno en la superficie, mejorando el color y evitando el enranciamiento de las grasas;
- regular la salida de agua del embutido compensando, dentro de determinados límites, las desviaciones en la humedad relativa del sector de maduración;
- tener capacidad de actuar sobre las proteínas y la grasa de la mezcla, lo que contribuye de una manera sustancial al desarrollo del aroma del producto final (esta actividad es debida a la liberación de enzimas lipolíticas y enzimas proteolíticas capaces de atravesar la tripa);
- evitar el crecimiento de microorganismos indeseados en la superficie.

Los efectos desfavorables son la producción de micotoxinas y la elevación del pH hasta valores cercanos a 7. En estas condiciones de pH pueden desarrollarse microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus*.

Varios géneros de levaduras tales como *Candida*, *Klyveromyces*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Yarrowia*, *Rhodotorula*, *Debaryomyces*, *Cryptococcus* y *Trichosporon* fueron encontrados en productos cárnicos fermentados secos (Fung & Vichienroj, 1995; Encinas *et al.*, 2000). Algunos autores sugirieron que la presencia de *Debaryomyces hansenii* (Zopf) Lodder & Kreger-van Rij, en este tipo de productos cárnicos, podría contribuir al sabor y aroma, dado que esta levadura ha sido descrita como portadora de actividad proteolítica y lipolítica (Sesma & Ramírez, 1976; Encinas *et al.*, 2000). Sin embargo, esta actividad parece ser inhibida en estos productos por el bajo pH de los mismos (Selgas *et al.*, 2003). Estos mismos autores en 2003, trabajando con este tipo de productos obtenidos comercialmente aislaron 172 cepas de levaduras. Si bien las levaduras presentan actividad enzimática proteolítica y lipolítica, las características organolépticas de los mismos no resultan significativamente diferentes a las características de los

productos sin inocular. Por lo tanto, la influencia de las levaduras en el proceso de maduración de los productos fermentados es dudosa (Selgas *et al.*, 2003).

1.1.4- Fenómenos bioquímicos en la elaboración de embutidos cárnicos fermentados

1.1.4.1- Fermentación de carbohidratos

La fermentación de los azúcares se produce con mayor intensidad en las primeras etapas de la maduración y es realizada principalmente por las bacterias lácticas (Ordóñez & De la Hoz, 2001). La fermentación de los carbohidratos puede realizarse por la vía homoláctica o por la vía heteroláctica, pero en los embutidos predomina la primera dado que los lactobacilos homofermentativos son los que prevalecen. Además de estas dos rutas, los azúcares pueden degradarse aeróbicamente siempre que exista una alta concentración de oxígeno en la mezcla, dando como productos finales dióxido de carbono y agua. Pero como la mayoría de la microbiota es láctica, la mayoría de los carbohidratos se transforman en ácido láctico. Otros productos finales que pueden producirse en pequeñas cantidades a partir de los azúcares son el ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico (Carrascosa, 2001).

1.1.4.2- Utilización de nitritos

Los nitratos y nitritos deben reducirse, por acción de microorganismos (micrococos y estafilococos), a óxido nítrico que es el compuesto activo. La contribución de los nitritos en el sabor de los productos cárnicos está completamente demostrada, aunque no se conoce bien el mecanismo. La capacidad antioxidante de los nitritos se explicaría por la formación de un complejo con los grupos hemo, esto evitaría la liberación de hierro ferroso, el cual tiene un efecto catalítico en la oxidación lipídica (Ordóñez & De la Hoz, 2001; Huerta *et al.*, 2002).

1.1.4.3- Lipólisis

Los lípidos constituyen la fracción principal de los embutidos curados y son precursores de muchas sustancias aromáticas mediante fenómenos hidrolíticos y

oxidativos que inciden en la calidad sensorial del producto. Las enzimas bacterianas y sobre todo las endógenas de la carne son, además de las condiciones ambientales, los factores desencadenantes de estos cambios (Carrascosa, 2001). Los triglicéridos son atacados en sus enlaces éster por las lipasas tisulares y/o microbianas y liberan ácidos grasos, diglicéridos, monoglicéridos y glicerol, que posteriormente dan lugar a los compuestos del aroma, como son, el diacetilo, acetaldehído, ácido acético y ácido propiónico (Carrascosa, 2001; Ordóñez & De la Hoz, 2001). Las micrococáceas constituyen el principal microorganismo participante de la lipólisis en los embutidos, si bien los lactobacilos también producen lipasas. Muchos hongos filamentosos (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*) y levaduras (*Candida*, *Torulopsis*) son también lipolíticos (Carrascosa, 2001).

El principal problema que presenta la oxidación de los lípidos en los alimentos reside en la formación de compuestos volátiles, que cuando alcanzan determinado nivel, le otorgan al producto un olor y sabor desagradable. No obstante, un cierto grado de oxidación es favorable en la obtención del olor y sabor característicos. Los sustratos de estas reacciones son los ácidos grasos insaturados, originándose peróxidos lipídicos, epóxidos, furanos, alcoholes y compuestos volátiles, que presentan el grupo funcional carbonilo, tales como aldehídos y cetonas, siendo estos últimos los más importantes para el aroma del producto.

1.1.4.4- Proteólisis

La hidrólisis primaria de proteínas es realizada principalmente por enzimas musculares endógenas, mientras que la hidrólisis secundaria que es la que transforma los polipéptidos en pequeños péptidos y aminoácidos se debe en un 40% a la acción de enzimas de origen microbiano y en un 60% a enzimas de origen animal (Bolumar, 2004). Esto junto con otros fenómenos conforman las características sensoriales del embutido: textura, sabor y aroma (Fig. 2) (Rodríguez *et al.*, 1998; Ordóñez & De la Hoz, 2001; Huerta *et al.*, 2002).

Henriksen & Stahneke (1997) estudiaron las fracciones peptídicas de embutidos fermentados, analizando su composición y su relación con el sabor, concluyendo que las fracciones con los péptidos más pequeños y aminoácidos potenciaban los sabores amargo, ácido y salado. Sin embargo, también hay estudios que indican que una

mayor producción de aminoácidos no siempre implica un sabor más intenso (De Masi *et al.*, 1990).

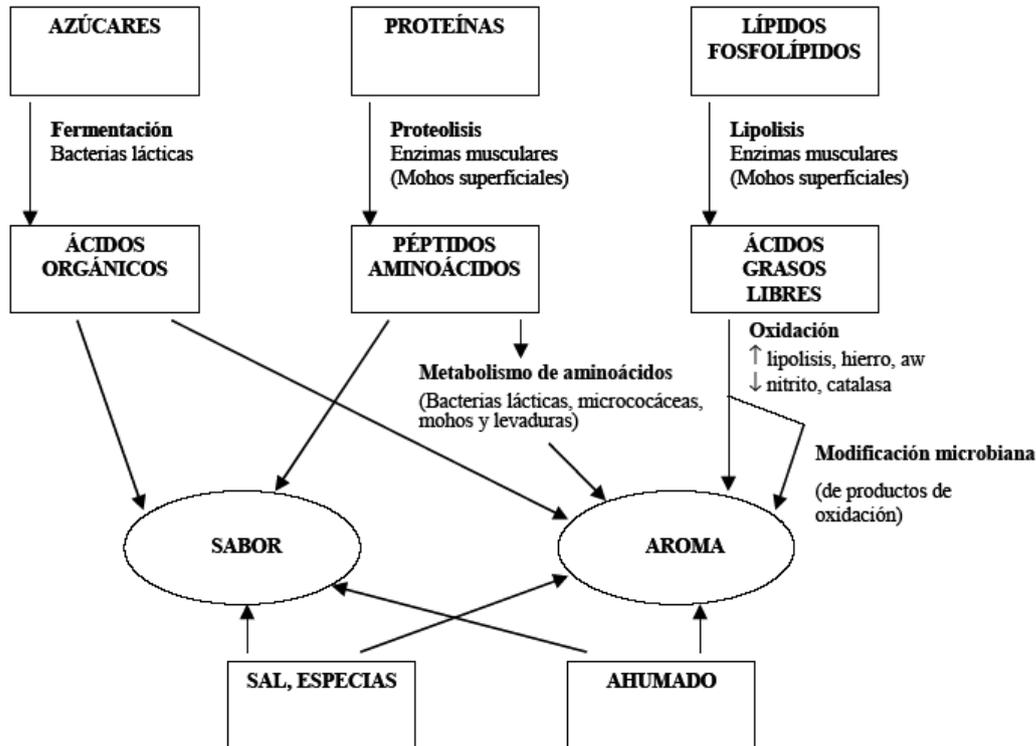


Fig. 2. Principales mecanismos de generación de sabor y aroma a lo largo de la maduración de embutidos fermentados secos (Tomado de Bolumar, 2004)

1.1.5- Hongos asociados al proceso de elaboración de productos cárnicos fermentados

Debido a su naturaleza heterotrófica y a la habilidad para adaptarse a diversas condiciones ambientales, los hongos filamentosos pueden crecer en sustratos muy diversos, entre los que se encuentran algunos alimentos. Las especies de hongos aisladas con mayor frecuencia en alimentos pertenecen a los géneros *Penicillium*, *Aspergillus* y *Fusarium* aunque las características de cada alimento condicionan el desarrollo de unas especies u otras (Filtenborg *et al.*, 1996).

Los productos cárnicos donde los hongos filamentosos pueden tener un interés tecnológico son ciertos embutidos secos y semisecos (López-Díaz *et al.*, 2001 b). En general, en Europa, estos productos junto con ciertas variedades de queso, son los

únicos alimentos en donde participan activamente los hongos filamentosos para su elaboración (López-Díaz *et al.*, 2001 b). Entre los hongos que se encuentran habitualmente en la carne y productos cárnicos se aislaron principalmente especies pertenecientes a los géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus* y *Mucor* (López-Díaz *et al.*, 2001 b).

El aspecto más preocupante de una población fúngica en los alimentos lo constituye la capacidad de la misma de producir micotoxinas, por lo que resulta necesario controlar su producción. Entre los métodos físicos de control se encuentra la utilización de tratamientos térmicos, radiaciones ionizantes y altas presiones. También puede utilizarse el envasado en atmósferas modificadas o controladas o bien agentes químicos, como los ácidos orgánicos, aceites esenciales y peróxido de hidrógeno.

En particular con los productos cárnicos fermentados los fabricantes frecuentemente buscan formas para eliminar los hongos que crecen en la superficie de los mismos y que en ocasiones le dan un aspecto poco agradable al producto. Por ejemplo, se recurre a la limpieza de la superficie con cepillos o bien se utilizan productos químicos antifúngicos. En un estudio de tres tipos de salamines italianos Singh & Dincho (1994) concluyeron que el sorbato de potasio, previo tratamiento con algún ácido orgánico (como por ejemplo el ácido acético), fue más efectivo que el tratamiento con primaricina.

Para controlar las poblaciones fúngicas que se desarrollan en la superficie de estos productos podrían utilizarse cultivos iniciadores constituidos por cepas de hongos filamentosos capaces de inhibir el crecimiento de hongos potencialmente peligrosos por competencia.

1.1.5.1- Antecedentes históricos del género *Penicillium*

El género *Penicillium* fue descrito por primera vez por Link en 1809. En aquella oportunidad Link describió tres especies: *P. glaucum*, *P. candidum* y *P. expansum*. Sin embargo, en 1824, abandonó el término *P. expansum* y agrupó a todas las especies del género *Penicillium* de color verde bajo el nombre de *P. glaucum* (Martínez Benítez 2003). Este hecho marcó profundamente la taxonomía de este género, dado que durante años la mayoría de las especies del género fueron agrupadas como *P. glaucum* (Pitt *et al.*, 2000).

Brefeld en 1874 (citado por Martínez Benítez 2003), publicó el estudio “Life history of *Penicillium*” con descripciones de *P. glaucum*, que según algunas interpretaciones, se corresponden con la especie *P. expansum*. En este mismo trabajo describió e ilustró el primer teleomorfo relacionado con *Penicillium*, ahora clasificable como perteneciente a *Eupenicillium*. Por su parte, en 1877 Van Tieghem publicó descripciones de una forma perfecta clasificable actualmente como una especie del género *Talaromyces*. (Pitt, 1979).

Dierckx en 1901 realizó un amplio estudio sobre el género *Penicillium* en una única publicación donde planteó la necesidad de trabajar con cultivos puros y de efectuar las descripciones de las colonias obtenidas bajo condiciones de cultivo estandarizadas. Dierckx describió 25 especies nuevas, siendo hasta ese entonces el mayor aporte realizado al conocimiento del género *Penicillium*. Más adelante, Biourge quien fuera estudiante de Dierckx, continuó con su trabajo y describió 60 especies nuevas en la publicación “Liste Onomastique du genre *Penicillium*” (Martínez Benítez, 2003).

Bainier, Sartori, Zaleski y Westling, entre otros, han realizado aportes importantes al conocimiento del género *Penicillium*, dando nombres a especies del género *Penicillium* utilizadas actualmente (Martínez Benítez, 2003).

En 1906, en “Fungi in cheese ripening”, Thom describió por primera vez las especies *P. roqueforti* y *P. camemberti* relacionadas con la producción de quesos. Más adelante, en 1910 publicó “Cultural studies of species of *Penicillium*” en el que destacaba la importancia del uso de medios de cultivo estandarizados y aportaba los primeros datos sobre la temperatura como factor de control del crecimiento. En este trabajo se publicó la primera clave de identificación para el género y se describieron 13 especies nuevas (Martínez Benítez, 2003). Thom afirmó que no pudo adecuar las especies *P. glaucum* y *P. candidum*, descritas por Link en 1809, con las especies que describió en su tratado. Sin embargo, debido a la especificidad del hábital de *P. expansum* en fruta en mal estado, esta especie mantuvo su identidad, por lo que la propuso como la especie tipo del género (Pitt *et al.*, 2000). En 1930, Thom publicó “The *Penicillia*” una revisión en la cual se clasificaban todas las especies descritas hasta ese momento en cuatro subgéneros. Dichos subgéneros se dividían a su vez en secciones y subsecciones, dando lugar a la primera clasificación sistemática completa del género *Penicillium* (Martínez Benítez, 2003). Los géneros

Scopulariopsis, *Gliocladium* y *Paecilomyces* fueron tratados como géneros relacionados a *Penicillium* pero separados del mismo (Pitt, 1979).

En 1949 Raper & Thom (citado por Martínez Benítez 2003), debido al interés generado por el uso de *Penicillium chrysogenum* para la obtención de penicilina publicaron una revisión del género *Penicillium* “A manual of the Penicillia”. Este trabajo constituyó un avance importante que incluía la descripción y clasificación de 137 especies distribuidas en 4 secciones y 41 series. Esta clasificación se basaba principalmente en la morfología macro y microscópica y en la textura de las colonias (Pitt, 1979; Martínez Benítez, 2003). Durante mucho tiempo el trabajo de Raper & Thom fue aceptado como el único tratado descriptivo estandarizado (Martínez Benítez, 2003). Sin embargo, dado que la clasificación estaba basada principalmente en la textura de la colonia, la identificación era problemática (Samson *et al.*, 1984). Posteriormente Fassatiová (1977) y Ramírez (1982) utilizaron varias características culturales y micromorfológicas para elaborar la clasificación.

Samson *et al.* (1976) revisaron la subsección *Fasciculata* y especies afines clasificando las especies mediante criterios de micromorfología de conidióforos y conidios. Esta revisión sigue lo propuesto por Raper & Thom (1949) para la subsección y la simplifica parcialmente mediante la sinonimización de varias especies. Al mismo tiempo introdujeron algunas especies bien definidas y otras no tanto como *P. verrucosum* (Samson *et al.*, 1984).

En 1979, Pitt publicó una gran revisión del género, “The genus *Penicillium*”. Esta obra está basada en el sistema taxonómico de Raper & Thom (1949). Propone la subdivisión del género *Penicillium* en cuatro subgéneros y diez secciones basados en la morfología microscópica y características fisiológicas como la velocidad de crecimiento de las colonias a determinadas temperaturas (5 °C, 25 °C y 37 °C) y en medios de cultivo con distinta composición y distintas actividades hídricas. A esta obra se le criticó la importancia que Pitt le otorga a las velocidades de crecimiento o sea los valores de los diámetros de las colonias desarrolladas en los distintos medios de cultivo a los 7 días (Martínez Benítez, 2003). Pitt y Samson (1993) propusieron una lista de nombres para la familia *Trichocomaceae* en el “Fifteenth International Botanical Congress” con 223 especies de *Penicillium* y de 61 holomorfos pertenecientes a los géneros *Eupenicillium* y *Talaromyces*. Esta lista no

fue aceptada en el referido Congreso, pero quedó como referencia para los géneros de esta familia.

Considerando que los tratados taxonómicos descritos se basaban fundamentalmente en las características morfológicas y en algunos casos también en las características fisiológicas, a partir de la década del 70 comenzaron a publicarse trabajos utilizando otras características de *Penicillium* spp. Algunos de estos trabajos se basaron en estudios de cromatografía y diferencias en los ácidos grasos de cadena larga y de los constituyentes de la pared celular. Estos estudios no aportaron resultados importantes para el género *Penicillium* (Martínez Benítez, 2003).

Ciegler y colaboradores (1973) sugirieron que la producción de los metabolitos secundarios y más concretamente las micotoxinas podrían tener valor taxonómico.

Frisvad & Filtenborg (1983), realizaron cromatografías en capa fina (TLC) en las que sobre una cromatoplaqueta se aplicaban directamente discos de agar con la colonia, sin la necesidad de realizar una extracción de las micotoxinas con solventes. Frisvad (1990) realizó muchos trabajos dirigidos principalmente a la taxonomía de los *Penicillium* terverticilados y también revisó el subgénero *Furcatum*. Frisvad *et al.* (2014) propusieron una clasificación para las especies pertenecientes al subgénero *Penicillium* basada en el análisis de las características macro y micromorfológicas así como de las características fisiológicas, dentro de las cuales se incluyó el crecimiento a 5, 15, 25, 30 y 37 °C y con 5% de NaCl y 15% de sacarosa. También se incluyeron las respuestas del crecimiento en medios conteniendo urea, nitrito y creatina. Además, todas las especies fueron analizadas en cuanto a su capacidad de producir metabolitos secundarios. Estos autores concluyeron que los caracteres morfológicos y la capacidad de producción de metabolitos secundarios fueron los más consistentes para la identificación y clasificación de las especies aunque también fueron importantes los caracteres fisiológicos y nutricionales.

Otra de las características fisiológicas a las que se les propuso valor taxonómico es la producción de enzimas. En base a este criterio, el estudio de Cruickshank & Pitt (1987) apoyó en su mayor parte la clasificación de las especies del subgénero *Penicillium sensu* Pitt (1979).

Más recientemente, los estudios moleculares han contribuido a resolver algunos problemas sobre la identificación de *Penicillium* spp. En 1990, Logrieco *et al.* analizaron secuencias de ARN ribosómico corroborando la identidad de muchas

especies pertenecientes al subgénero *Penicillium*. La filogenia de *Penicillium* spp. respecto a sus teleomorfos y a otros géneros relacionados también ha sido estudiada mediante diversas técnicas. Taylor *et al.* (1990) demostraron mediante el uso de enzimas de restricción de la secuencia de ADN ribosómico que *Talaromyces* spp. contiene anamorfos de *Penicillium* spp. y de *Paecilomyces* spp.

Los estudios basados en la biología molecular han ayudado a entender las clasificaciones realizadas en los distintos tratados. Diversos estudios han demostrado que los holomorfos de las especies del subgénero *Biverticillium* tienen su ancestro en *Talaromyces* (Martínez Benítez, 2003). Por otro lado, las especies pertenecientes a los otros tres subgéneros *Aspergilloides*, *Furcatum* y *Penicillium* parecen provenir de *Eupenicillium* (Martínez Benítez, 2003). En el año 2000, Peterson analizando el ADN ribosomal de especies de *Eupenicillium* spp. encontró que las especies de los tres subgéneros están relacionadas con especies de *Eupenicillium*. La clásica división en subgéneros según la complejidad del conidióforo parece no corresponder siempre con las relaciones filogenéticas según los resultados obtenidos por Peterson (2000). Por ejemplo, *P. vulpinum* que presenta fiálides acerosas, fue clasificada según Pitt (1979) como perteneciente al subgénero *Biverticillium*. Sin embargo, estudios basados en la secuencia de ADN ribosómico y en patrones de RAPD (Polimorfismo de ADN amplificado arbitrariamente) sitúan a *P. vulpinum* dentro de los *Penicillium* terverticilados. Estos estudios fueron confirmados con los patrones de metabolitos secundarios producidos por la especie (Frisvad *et al.*, 1989). En 2004, Samson *et al.*, demostraron que en un análisis de parsimonia de los alineamientos de la β -tubulina, la filogenia se correspondió en términos generales con la clasificación en secciones y series de las especies del género *Penicillium* pertenecientes al subgénero *Penicillium*. Más recientemente, en 2014 Visagie *et al.*, recomendaron la utilización del gen de la β -tubulina para la identificación rutinaria de las especies pertenecientes al género *Penicillium* mientras que para la descripción de nuevas especies sugirieron la utilización de al menos dos marcadores como ITS y β -tubulina aunque de ser posible recomendaron la utilización de otros dos marcadores como el gen de la calmodulina y el *RPB2* (gen que codifica para la segunda principal subunidad de la ARN polimerasa II).

Otros estudios realizados en *Penicillium* spp. con fines taxonómicos se basan en la asimilación de ciertas fuentes de carbono o nitrógeno, diferencias en algunos componentes, como los ácidos grasos o los polisacáridos de la pared celular, similitudes antigénicas o resistencia a ciertos antibióticos como la cicloheximida. Algunos de estos criterios junto con los más empleados de morfología o fisiología se incluyeron en diversos sistemas informáticos para una rápida identificación. Kiil (2000) (citado por Martínez Benítez 2003) describió un sistema de identificación informatizado basado en la asimilación de fuentes de carbono y otro de captación y análisis digital de imágenes. Sin embargo, estos sistemas descritos no suelen tener mucho éxito debido a la complejidad taxonómica de *Penicillium* (Martínez Benítez, 2003).

1.1.5.1.2- Importancia del género *Penicillium*

En muchas oportunidades los alimentos destinados al consumo humano o animal constituyen el hábitat de *Penicillium* spp. Algunas especies son consideradas patógenas de frutas, verduras frescas y cereales (Martínez Benítez, 2003). Otras especies de *Penicillium* presentan asociaciones específicas con determinados alimentos, lo que permite identificaciones presuntivas, como es el caso de *P. digitatum* y *P. italicum* patógenos en cítricos y *P. expansum* en manzanas, peras, cerezas y otras frutas (Filtenborg *et al.*, 1996) aunque, uno de los principales problemas que ocasionan las especies de *Penicillium* para el hombre y los animales radica en la posible producción en los alimentos de micotoxinas y antibióticos.

El principal uso industrial de las especies de *Penicillium* fue la producción de penicilina, cuyo descubrimiento fue realizado por Fleming en 1928. A partir aproximadamente del año 1940 se utilizaron cepas de *P. chrysogenum* Thom en procesos industriales para producir el antibiótico (Martínez Benítez, 2003). Laich *et al.* (2002) ha citado la producción de penicilina por parte de *P. griseofulvum* Dierckx (Laich *et al.*, 2002).

Otras especies de *Penicillium* son utilizadas para la elaboración de quesos. Tal es el caso de *P. roqueforti* Thom para la producción del queso Roquefort y *P. camemberti* Sopp para la producción de Camembert y similares (Nielsen *et al.*, 1998; López-Díaz *et al.*, 2001). Otras especies se utilizan industrialmente para la obtención de

enzimas, principalmente pectinasas, catalasa y glucosa oxidasa (Alonso del Rivero & Delfín, 2002; Martínez Benítez, 2003). Las especies de *Penicillium* así como otros géneros de hongos microscópicos comparten rutas metabólicas con animales y plantas y poseen la capacidad de sintetizar metabolitos complejos, muchos de los cuales son similares a moléculas de organismos superiores y son utilizados como fármacos. Un estudio reciente cita la detección de un compuesto producido por *P. aurantiogriseum* que es capaz de inhibir el crecimiento de células humanas de cáncer de colon (Igarashi *et al.*, 2002).

1.1.6- Identificación y tipificación de hongos mediante técnicas moleculares

Las características macroscópicas de las colonias de los hongos filamentosos pueden variar considerablemente dentro de una especie en función de su estado fisiológico (Wiley, 1981) pero las características microscópicas son relativamente más estables y siguen siendo utilizadas, junto con otras características para su identificación como se vio anteriormente, además de las técnicas inmunológicas y cromatográficas.

Los distintos métodos basados en PCR comúnmente empleados para la identificación de hongos filamentosos incluyen los que se basan en polimorfismos para la longitud de fragmentos de restricción y de fragmentos amplificados (RFLPs y AFLPs, respectivamente), en ADN polimórfico amplificado al azar (RAPDs) y en la amplificación de fragmentos de genes como el factor de elongación 1 α , la calmodulina y regiones genómicas no codificantes del rADN como el Espaciador Interno Transcrito (ITS).

1.1.6.1- PCR con cebadores específicos

Una de las regiones más empleadas actualmente para la distinción entre especies de hongos filamentosos y que se utiliza en este trabajo, es la del ADN ribosómico (rADN). Los genes que codifican para rADN en eucariotas están repetidos en tándem con varios cientos de copias por genoma (González Salgado, 2009). Cada copia consiste en regiones altamente conservadas, que incluyen los genes que codifican para las subunidades de rRNA 18s; 5,8s y 28s (White *et al.*, 1990), alternadas con regiones espaciadoras variables (ITS e IGS).

Los espaciadores ITS (Internal Transcribed Spacer) consisten en dos regiones variables no codificantes llamadas ITS1 e ITS2, que están localizadas entre los genes del rARN 18s y 5,8s y 28s respectivamente. La región IGS (Intergenic Spacer Region) separa las unidades 18s y 28s del rADN y no se transcribe, mientras que las regiones ITS sí lo hacen.

La elección del rADN para realizar estudios filogenéticos se debe a que se encuentra presente en todos los seres vivos lo que permite que se puedan establecer comparaciones entre casi cualquier organismo. Otra característica definitiva son los diferentes niveles de variabilidad que presentan las distintas regiones de la unidad de rADN (genes codificadores y espaciadores ITS e IGS) (Hillis y Dixon, 1991). Las regiones más conservadas (genes) permiten la comparación de especies más alejadas evolutivamente mientras que el estudio de las regiones variables (espaciadores) permite realizar estudios entre especies más cercanas (González Salgado, 2009). Así, se han desarrollado protocolos de detección por PCR para especies de *Aspergillus* y *Penicillium* basados en genes codificadores de la subunidad pequeña del rARN de ambos organismos respectivamente (Makimura *et al.*, 1994), mientras que sus regiones espaciadoras se emplean para la identificación de especies del mismo género. Por ejemplo, se ha utilizado la región IGS para la discriminación de especies próximas de *Fusarium* (Jurado *et al.*, 2005). La región ITS tiene un tamaño de aproximadamente 600 pb, mientras que la región IGS tiene entre 1700-2800 pb, y su nivel de variabilidad es mayor que la región ITS y mayor que los genes codificadores, lo que la hacen idónea para discriminar especies estrechamente relacionadas en hongos filamentosos (White *et al.*, 1990; Parenicová *et al.*, 2001).

1.1.6.2- Microsatélites

Los genomas de eucariotas están densamente poblados por diferentes secuencias repetidas, algunas más complejas como el caso de los minisatélites y otras más sencillas conocidas como microsatélites. Estos últimos consisten de pequeñas secuencias “sequence motif” de 1 a 4 nucleótidos adyacentes repetidos lado a lado. En los genomas eucariotas, los microsatélites son más frecuentes, están arbitrariamente distribuidos y forman loci genéticos mucho más polimórficos que los loci hipervariables constituidos por los minisatélites. Los microsatélites constituyen

la clase de marcadores moleculares más polimórfica en la actualidad (Ferreira y Grattapaglia, 1998).

1.1.6.3- Secuencias repetidas intersimple (ISSR)

La técnica de análisis “Inter-Simple Sequence Repeat” (ISSR), también denominada “Random Amplified Microsatellites” (RAMS) fue originalmente desarrollada por Zietkiewicz *et al.* (1994) para analizar diversidad genética en animales y plantas. Los ISSR son un tipo de marcador genético que permite detectar los niveles de variación en las regiones microsatélites que se encuentran dispersas en varios genomas, particularmente el nuclear. Estas regiones consisten en repeticiones en tandem de motivos simples como (CT)_n ó (CA)_n, ubicadas entre secuencias no repetitivas del genoma nuclear eucariota. Los motivos repetidos pueden ser penta, tetra, tri o dinucleótidos. Estos marcadores son amplificados por la reacción en cadena de la polimerasa a partir de la presencia de un oligonucleótido o cebador complementario a un microsatélite, diseñado para unirse a los motivos repetidos de di y trinucleótidos. Los cebadores de ISSRs consisten en un motivo repetido de di o trinucleótidos complementario a la secuencia del microsatélite. En ocasiones es posible agregar a esta secuencia un par de nucleótidos extra arbitrarios en el extremo 3´ o en el 5´, que juegan el papel de “anclas” asegurando así que la amplificación se inicie siempre en el extremo 5´ o en el 3´ del microsatélite, respectivamente. Se ha visto que los ISSRs frecuentemente amplifican varias bandas en una sola reacción. Este patrón característico de productos de amplificación se considera la “huella digital genética” de cada uno de los individuos analizados. El polimorfismo entre individuos de la misma población puede detectarse ya que el análisis es sensible a la presencia/ausencia del elemento genómico reconocido por el cebador y a la longitud de la secuencia intermedia amplificada. Las ventajas que ofrece esta técnica se centran principalmente en la alta variación que puede detectar, así como su reproducibilidad debida principalmente a las altas temperaturas de hibridación utilizadas durante la amplificación. Asimismo, no son necesarias altas concentraciones de ADN (González & Aguirre, 2007).

Estos marcadores pueden ser utilizados en la resolución de múltiples problemas biológicos como por ejemplo en la identificación de individuos, distinción de variedades intraespecíficas (particularmente en especies con importancia

económica), identificación de paternidad y maternidad, mapeo genético, evaluación de diversidad y subdivisión genética en poblaciones (Bornet *et al.*, 2001; González & Aguirre, 2007).

1.1.7- Variabilidad genética

Los hongos poseen diversos mecanismos para obtener variación genética en su ciclo de vida, ya sea durante la reproducción sexual o durante la propagación vegetativa (Brasier, 1992). La variabilidad resultante puede afectar las relaciones del patógeno con su huésped a varios niveles y dicha flexibilidad genética permitirá al hongo adaptarse a los cambios en las condiciones ambientales, además de la introducción de nuevos genotipos.

El objetivo de estudiar la estructura de una población fúngica es describir y cuantificar la variación genética en la población y usar la variación para inferir información sobre los procesos evolutivos que pueden afectar a dicha población. Las fuerzas evolutivas como la mutación, migración, selección, flujo de genes y recombinación cambian la frecuencia de alelos en la población y determinan su estructura genética. La estructura de la población generalmente se interpreta como la presencia de patrones de diversidad genética dentro y entre las poblaciones (Milgroom, 1996).

La biología de los hongos, que incluye, el modo de reproducción, la anastomosis hifal entre individuos genéticamente diferentes y muchos aspectos de la transmisión genética tiene consecuencias importantes sobre la estructura de la población (Milgroom, 1996).

1.1.8- Micotoxinas

Las micotoxinas (MCTX) son metabolitos secundarios de bajo peso molecular producidos por distintas especies fúngicas durante la fase estacionaria del crecimiento, que no cumplen ninguna función en el metabolismo primario de las mismas (Sweeney & Dobson, 1998; Rey & Silvestre, 2002). Son diversas en su estructura, biosíntesis y toxicidad y los hongos filamentosos que las producen tienen distintas estrategias de vida, desde patógenos obligados de plantas y endófitos a saprófitos activos en el campo y el almacenamiento (Moss, 1996). La presencia de

MCTX está estrechamente relacionada con el crecimiento fúngico. Esto es, si no hay desarrollo de hongos no habrá producción de MCTX. Sin embargo, la presencia de hongos no implica su producción, ya sea porque no se dieron las condiciones adecuadas o por que las cepas no son toxigénicas. Las condiciones que permiten la formación de MCTX son más restringidas que aquellas que permiten el crecimiento (Northolt & Bullerman, 1982).

Las estimaciones de la FAO establecen que el 25% de la producción mundial de cereales y materias primas destinadas al consumo humano y animal, están contaminadas con algún tipo de toxina de origen fúngico y que entre el 25 y 40% de estos cereales están contaminados con varios tipos de MCTX (Da Cruz, 1996). Según datos publicados por el Sistema de Alerta Rápida para Alimentos y Piensos (RASFF), las MCTX son las sustancias tóxicas o contaminantes que presentan mayor número de notificaciones, seguidos por los de origen biológico y los plaguicidas (http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/index_en.htm). A pesar de la poca estabilidad observada a veces en la producción de una MCTX en condiciones de laboratorio, no se puede descartar la posibilidad de que especies que hasta ahora no han sido consideradas como potencialmente toxicogénicas puedan ser una nueva fuente de MCTX en su hábitat natural (Abarca *et al.*, 2000).

Algunas MCTX son producidas por cepas fúngicas de las especies presentes en productos cárnicos fermentados secos, entre las que destacan:

El ácido ciclopiazónico (ACP) es un ácido tetrámico del indol, que es producido por muchas especies de *Aspergillus* y *Penicillium* (Fig.3A). *P. commune* Thom es reconocido como el principal productor de ACP. Dicho microorganismo fue aislado de productos cárnicos, incluyendo productos fermentados cárnicos y jamones curados (Sosa *et al.*, 2002). El ACP es derivado del triptófano, y se encuentra como aminoácido libre en jamones curados secos.

Existen tres áreas de actividad biológica de esta MCTX en sistemas animales: 1) habilidad para alterar la homeostasis del calcio debido a que es un inhibidor específico de la ATPasa dependiente del calcio del retículo sarcoplásmico del músculo esquelético y cardíaco y posiblemente del retículo endoplásmico de las células animales, 2) inducción de alteraciones de carga en las membranas plasmáticas y mitocondrias y 3) su efecto antioxidante (Riley & Goeger, 1992).

Además, el ACP altera la permeabilidad al calcio en vesículas del retículo sarcoplásmico y en células. El ácido ciclopiazónico puede prevenir la peroxidación lipídica inducida por la patulina (otro metabolito fúngico). Esta propiedad hace que actúe como un antioxidante probablemente por su capacidad de quelar el hierro (Riley & Goeger, 1992). Esta micotoxina mostró además actividad inmunosupresora a bajas dosis, causa necrosis de diferentes tejidos y tiene efecto citotóxico (Sosa *et al.*, 2002). El ACP y las aflatoxinas pueden ser producidas simultáneamente por cepas de *A. flavus* (Riley & Goeger, 1992; Horn & Dorner, 1999).

La citrinina (CIT) es una MCTX que produce daño renal en animales monogástricos, como perros y cerdos. Frecuentemente co-ocurre con la ocratoxina A y se la ha asociado a nefropatías micotóxicas en cerdos (Bragulat *et al.*, 2008). Es también embriotóxica, teratogénica y genotóxica (Scott, 2004). El efecto sobre humanos es todavía desconocido (Sweeney & Dobson, 1998) (Fig. 3B). Es producida principalmente por *P. citrinum* Sopp, pero *P. verrucosum* y *P. expansum*, en menor medida, han sido considerados también como productores (El Banna *et al.*, 1987; Bragulat *et al.*, 2008).

La ocratoxina A (OA), así como el resto de las ocratoxinas, es un derivado isocumarínico unido al grupo amino de la L-B-fenilalanina (Fig. 3C) y es producida en climas templados por *P. verrucosum* y *P. nordicum* Dragoni & Marino (Larsen *et al.*, 2001), pero en partes del mundo más cálidas es producida por varias especies de *Aspergillus*, como: *A. ochraceus*, *A. sulphureus*, *A. sclerotiorum*, *A. melleus*, *A. carbonarius* (Bainier) Thom y *A. citricus* Mosseray (Moss, 2002). La producción de esta micotoxina también fue citada para *Penicillium viridicatum* (Pitt, 1987) y para *Aspergillus fumigatus* (Szabotko *et al.*, 1981).

En al menos once países existen o se han proyectado reglamentos sobre la OA; las concentraciones permitidas varían de 1 a 50 mg/kg en alimentos y de 100 a 1000 mg/kg en piensos. En Dinamarca, para determinar si los productos de una determinada canal de cerdo son aceptables se analiza el contenido de OA de un riñón de dicha canal. La carne y determinados órganos del cerdo pueden consumirse

como alimentos si el contenido de OA del riñón no es superior a 25 y 10 mg/kg, respectivamente (van Egmond, 1997).

El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios recomendó una ingesta semanal tolerable provisional de OA de 100 ng/kg de peso corporal, correspondiente a aproximadamente 14 ng diarios por kg de peso corporal (López, A., 2010).

La OA se caracteriza por tener un largo tiempo de residencia en el organismo de los animales y puede ocurrir lo mismo en la carne de animales que se hayan alimentado con productos contaminados por ocratoxina. Esta MCTX es predominantemente nefrotóxica y está implicada en la epidemiología de las nefropatías en cerdos y posiblemente en la nefropatía endémica balcánica, en humanos. Sin embargo, la principal causa de interés en esta MCTX es su carácter carcinogénico (Moss, 2002; Bennett & Klich, 2003).

La patulina (PAT) es una molécula relativamente pequeña producida principalmente por especies fúngicas pertenecientes a los géneros *Penicillium* y *Aspergillus* (Moss *et al.*, 2002). Se define como una alfa-beta lactona y se la denomina 4-hidroxi- 4H-furo (3,2-c) pirano-2 (6H)-1 (Fig. 3D). *P. expansum* es una de las principales especies productoras de esta MCTX en manzanas (Wilson & Nuovo, 1973). Estudios de inoculación subcutánea de esta MCTX en ratas demostraron cierto poder carcinogénico atribuido a la insaturación α , β , junto con un doble enlace conjugado externo unido en la posición 4 del anillo lactona (Scussel, 1998; Bennett & Klich, 2003). La producción de patulina posiblemente varía mucho entre aislamientos provenientes de diferentes sustratos y regiones (Sommer *et al.*, 1974).

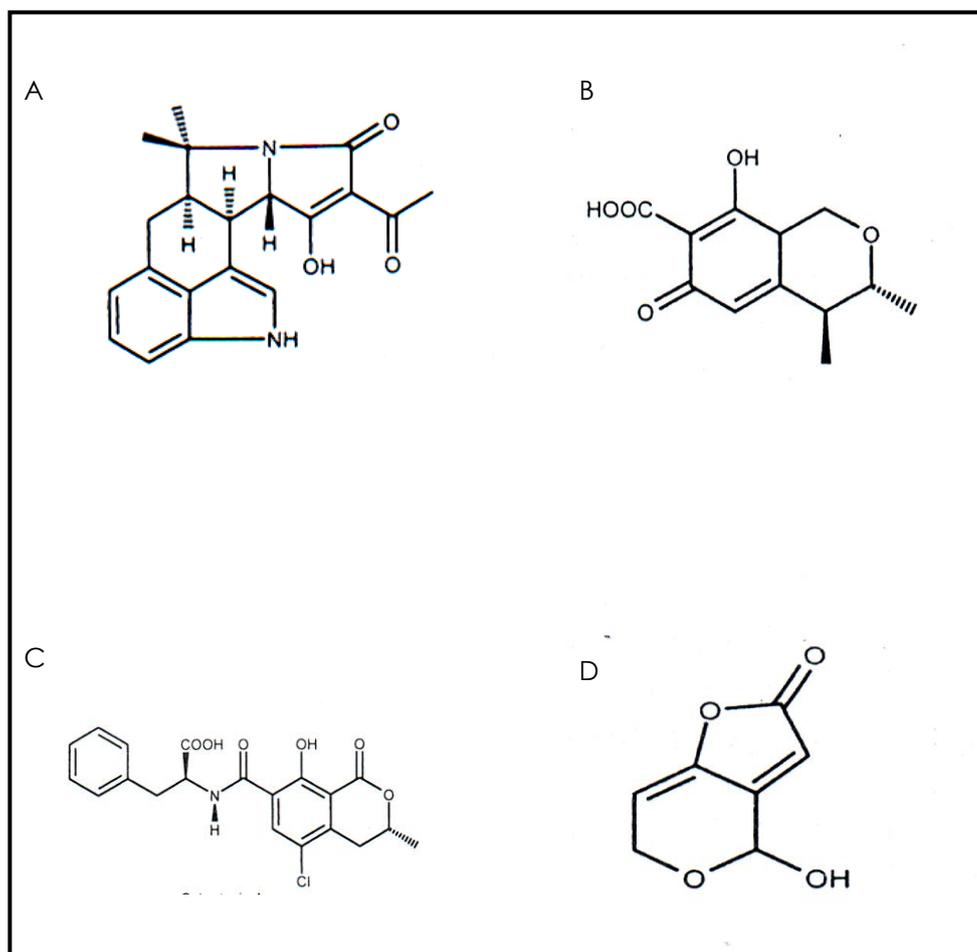


Fig. 3. Estructura química de las distintas micotoxinas encontradas en productos cárnicos fermentados, A: ácido ciclopiazónico; B: citrinina; C: ocratoxina y D: patulina

1.1.8.1- Análisis de micotoxinas

La obligación de aplicar los límites reglamentarios ha impulsado el desarrollo de métodos analíticos para la identificación y cuantificación de las MCTX en alimentos, piensos y matrices biológicas (Arroyo, 2014). Existen diversos métodos de análisis recomendados para la determinación de MCTX en alimentos, como los métodos oficiales de análisis de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC) donde se pueden encontrar más de 50 métodos validados para la determinación de diversas MCTX en gran variedad de alimentos, o los métodos normalizados propuestos por la Organización Internacional para la Normalización (ISO).

Los métodos de determinación y cuantificación de MCTX se han ido modificando a lo largo de los años, así como los procedimientos de extracción y purificación. Debido a la variedad de las estructuras de estas toxinas es imposible utilizar una técnica estándar para su análisis y/o detección. En la selección de un método para el análisis de MCTX es necesario considerar el propósito para el cual se la utiliza, la matriz que se va a analizar, el límite de detección requerido, la experiencia y la infraestructura disponible. Las técnicas utilizadas deben ser exactas, precisas, reproducibles, fácilmente aplicable en los laboratorios y en la medida de lo posible ser económicas (Bellver, 2013).

2. ANTECEDENTES

Si bien existen abundantes estudios referidos a la producción de MCTX por parte de distintas especies de hongos en cereales, no ocurre lo mismo con los productos cárnicos, a nivel mundial y también en nuestro país.

En este orden, estudios realizados en distintas partes del mundo sobre la microbiota de la superficie de varios tipos de embutidos revelaron que la mayoría de las cepas aisladas pertenecían a los géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Eurotium* y *Scopulariopsis*.

Andersen en 1994 demostró que la composición de la microbiota en el final del proceso de elaboración de embutidos fermentados naturalmente estaba constituida principalmente por especies pertenecientes al género *Penicillium* (96%). El 4% restante correspondió a especies pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Eurotium*, *Mucor*, *Wallemia* y levaduras. *Penicillium nalgiovense* autor fue la especie predominante constituyendo el 50 % de la microbiota total. Otras especies encontradas fueron: *P. olsonii* Bainier & Sartory, *P. oxalicum* Currie & Thom y *Penicillium capsulatum* Raper & Fennell, las cuales al igual que *P. nalgiovense*, se adaptaron bien al microambiente de estos productos, además de presentar una actividad enzimática capaz de influir en el producto final.

En 1998, Nielsen *et al.* estudiaron la influencia de cultivos iniciadores fúngicos sobre el crecimiento y la producción de metabolitos secundarios de hongos contaminantes asociados al queso Camembert. Como cultivos iniciadores utilizaron una cepa de *P. nalgiovense*, una de *P. camemberti*, una de *P. roqueforti* y una de *Geotrichum candidum* Link. Los resultados obtenidos en medio de cultivo (“*in vitro*”) mostraron que la cepa de *P. nalgiovense* fue la que presentó un mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento de los hongos contaminantes y además causó la mayor reducción en la producción de metabolitos secundarios. Sin embargo, sobre el queso Camembert, *G. candidum* fue el que presentó una inhibición significativa de los hongos contaminantes.

Otro grupo de investigadores (Bruna *et al.*, 2000) estudiaron el efecto de la inoculación superficial y/o la adición de un extracto intracelular de una cepa atoxicogénica, con actividad proteolítica y lipolítica de *Mucor racemosus* Bull a “salchichones” (productos secos fermentados) durante el proceso de maduración. Los resultados mostraron una modificación en el contenido tanto de aminoácidos como ácidos grasos libres respecto del grupo control, así como también en las

propiedades sensoriales. Por su parte el tratamiento combinado, es decir el de superficie conjuntamente con el extracto intracelular mejoró significativamente las propiedades sensoriales respecto del grupo control, al final del proceso de maduración.

Este mismo grupo de investigadores utilizaron una cepa atoxicogénica, proteolítica y lipolítica de *P. aurantiogriseum* y al igual que en el caso descrito anteriormente probaron la capacidad de esta cepa de acelerar la producción de compuestos volátiles y de mejorar las propiedades sensoriales de productos fermentados secos (Bruna *et al.*, 2001).

En 2001 (b), López-Díaz *et al.* aislaron de la superficie de “chorizo de Cantimpalos”, una variedad española de productos cárnicos fermentados, 54 cepas fúngicas, de las cuales 38 pertenecieron al género *Penicillium* y las restantes al orden *Mucorales*. Las principales especies identificadas dentro del género *Penicillium* fueron *P. commune* Thom y *P. olsonii*. Los autores observaron que todas las cepas de *P. commune* produjeron ácido ciclopiazónico, mientras que las cepas de *P. olsonii* no produjeron ácido ciclopiazónico, ácido micofenólico, roquefortina C, patulina u ocratoxina A. Además, se realizó un bioensayo con el crustáceo *Artemia salina* que demostró la alta toxicidad de *P. commune*, mientras que los aislados de *P. olsonii* no fueron tóxicos para el crustáceo. Estos resultados conjuntamente con su inhabilidad de producir penicilina, podrían postular a *P. olsonii* como un posible cultivo iniciador.

Por su parte en República Checa, Mizakova *et al.* (2002) identificaron varias especies de hongos en productos cárnicos crudos, de salames, así como en productos cárnicos crudos fermentados. Las especies más frecuentes pertenecían a los géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Acremonium*, *Mucor* y *Cladosporium*, siendo los dos primeros géneros los que poseen especies potencialmente productoras de MCTX. A su vez, en Argentina, Pose *et al.* (2003) aislaron e identificaron especies fúngicas capaces de colonizar la superficie de salamines tipo italiano, encontrando que esas especies pertenecían a los géneros *Penicillium*, *Aspergillus* y *Eurotium*. Las especies pertenecientes a *Penicillium* fueron las que predominaron.

Más recientemente, en 2004, Comi *et al.* identificaron las especies fúngicas que crecieron en las etapas de pre-maduración y maduración durante el proceso de elaboración de una clase de jamón seco típico de la región de Istria, en Croacia. Las

especies identificadas fueron similares tanto en la etapa de pre-maduración como en la de maduración. *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. y *Eurotium* spp., principalmente *Eurotium repens* de Bary. representaron aproximadamente el 97% de la microbiota total encontrada en la superficie de este tipo de producto. También en 2004, Tabuc *et al.*, en un estudio preliminar evaluaron la microbiota de la superficie de dos tipos de productos cárnicos franceses, jamones secos curados y salamines. En ambos tipos de productos predominaron las especies pertenecientes al género *Penicillium*. Obtuvieron 37 aislamientos pertenecientes a 12 especies de *Penicillium*, siendo *P. nalgiovense* la más representada con una frecuencia de aparición del 30 % siendo menor en los jamones secos curados.

En el año 2015, Perrone *et al.* describieron una nueva especie aislada a partir de productos cárnicos curados y a la cual denominaron *P. salamii*. Esta especie está muy relacionada a *P. olsonii* en base a estudios filogenéticos así como también en base a similitudes fenotípicas y en el perfil de extrolitos. Estos autores encontraron que las cepas pertenecientes a *P. salamii* fueron las que predominaron en la superficie de salamines en niveles similares a los encontrados para *P. nalgiovense*.

En 2009, Iacumin *et al.* confirmaron la presencia de OA en los productos cárnicos del tipo de los salames secos. En dicho estudio la OA se encontró solamente en las tripas, no así en el interior de este tipo de productos. Este resultado sugirió que la transmisión indirecta de OA desde los animales que consumieron alimentos contaminados con dicha MCTX ocurre raramente. La posible explicación a los altos niveles de OA encontrados a nivel de la tripa se encuentra en el crecimiento de hongos micotoxicogénicos sobre ésta.

Sin embargo, en 2010, Dall'Asta *et al.* determinaron la presencia de OA en el músculo de cerdos alimentados con alimentos contaminados con esta MCTX así como también en salames y jamones curados secos elaborados con la carne de los cerdos contaminados. La contribución más importante al contenido de OA en los productos cárnicos fue debido al crecimiento de una población de hongos filamentosos toxicogénicos en la superficie de los mismos.

Sosa *et al.*, 2002 demostraron la capacidad de producción de ACP por aislamientos de *P. commune* aislados de jamones curados secos. También demostraron que no hubo correlación directa entre el crecimiento y la capacidad de producción de ACP

por parte de los distintos aislamientos. La temperatura fue el parámetro ambiental que más influyó en la producción de ACP, pero se observó una interacción entre la temperatura y la actividad hídrica que afectó significativamente el crecimiento y la producción de ACP.

En 2007, Di Conza *et al.* estudiaron la presencia de regiones microsátélites (GTG)₅ en especies pertenecientes al género *Penicillium* potenciales productoras de citrinina y además investigaron la utilidad de estas regiones para caracterizar las especies. Para esto utilizaron aislamientos pertenecientes a *P. citrinum* y *P. chrysogenum* obtenidos a partir de diferentes alimentos. Los resultados mostraron la presencia de los microsátélites como secuencias cortas y repetidas en todas las especies estudiadas. Además, los patrones de bandas obtenidos en todas las cepas de *P. citrinum* fueron muy similares y permitieron agruparlas según la cantidad de citrinina producida mientras que los aislamientos de *P. chrysogenum* no pudieron ser agrupados de la misma manera.

Más recientemente, en 2010 Giraud *et al.* desarrollaron 17 marcadores microsátélites en hongos importantes en la industria quesera como lo son *P. camemberti* y *P. roqueforti*. El polimorfismo de estos marcadores fue estudiado utilizando 23 aislamientos de *P. camemberti*, 26 aislamientos de *P. roqueforti*, 2 aislamientos de *P. chrysogenum* y 2 aislamientos de *P. nalgiovense*, siendo estas dos últimas especies las utilizadas para producir productos cárnicos fermentados. Este estudio permitió la selección de varios marcadores útiles para la diferenciación de especies incluyendo el marcador PC4 como probable “barcode” para estas especies de interés económico.

En Uruguay existen pocos antecedentes. En 1999, Piñeiro *et al.*, demostraron el crecimiento de hongos micotoxigénicos, pertenecientes principalmente a los géneros *Penicillium* y *Aspergillus* durante el proceso de emplume natural en salames de distinta procedencia. Por su parte, Galvalisi *et al.*, 2012 demostraron que todas las cepas fúngicas aisladas e identificadas a partir de salamines tipo italiano correspondieron a especies del género *Penicillium*, siendo algunas benéficas como *Penicillium nalgiovense* y otras potencialmente toxicogénicas.

3. HIPÓTESIS

3.1- Existe una amplia variabilidad taxonómica y toxicogénica en la composición de la microbiota colonizadora de la superficie de los productos cárnicos fermentados secos.

3.2- Los diferentes tipos de embutidos fermentados secos, de acuerdo con su proceso de elaboración, serán colonizados por diferentes especies. Éstas contienen cepas con capacidad diferente de producir MCTX.

4. OBJETIVOS

4.1- Objetivo general

Caracterizar desde un punto de vista morfológico y molecular los hongos que participan en la maduración de diferentes productos cárnicos fermentados secos y determinar la capacidad toxicogénica a fin de preservar la calidad sanitaria de estos productos

4.2- Objetivos específicos

4.2.1- Aislar, identificar y cuantificar los hongos filamentosos encontrados en la superficie de los distintos productos cárnicos fermentados secos.

4.2.2- Evaluar la variabilidad genética entre las distintas especies identificadas mediante la utilización de los marcadores RAMS.

4.2.3- Determinar el perfil toxicogénico de los distintos aislamientos de cada especie.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1- Muestreo

Los productos cárnicos fermentados secos seleccionados para realizar el presente trabajo fueron: salamines tipo italiano, longanizas y chacareros. Se analizaron 15 unidades de cada tipo de producto cárnico elaborados por tres de las principales empresas chacineras de nuestro país, sin la utilización de cultivos iniciadores de superficie y embutidos en tripas naturales. Los productos fueron adquiridos en la misma superficie comercial.

5.2- Aislamiento de los hongos

De la superficie de cada uno de los productos cárnicos, se cortó un fragmento de tripa de 1 cm² de cada uno de los extremos y del centro del producto cárnico (superficie total: 3 cm²). Con la finalidad de obtener el mayor número de propágulos fúngicos, los fragmentos fueron colocados en 10 ml de una solución de agua destilada estéril con Tween 80 al 0.1% y agitados durante un minuto en vórtex. A partir de la suspensión obtenida, se realizaron diluciones seriadas (10⁻³ -10⁻⁵) (Fig. 4). Luego con una pipeta estéril se tomaron 0.5 ml de cada suspensión, con las que se sembraron en superficie placas de Petri conteniendo 15 ml de Agar Extracto de Malta 2 % (MEA) a pH 4.5. Se efectuaron 5 réplicas y se incubaron a 25° C durante 5 días.

El recuento total de las colonias se realizó a los 5 días de incubación, eligiendo la dilución a partir de la cual se desarrollaron entre 10 y 100 colonias por placa. Se contaron las colonias a medida que iban emergiendo. Se calculó el número de propágulos por cm² de superficie de los embutidos, asumiéndose que cada colonia provenía de un propágulo. Las colonias fueron transferidas a medio de cultivo fresco (MEA; pH: 4.5) para su conservación.

De todos los aislamientos obtenidos se colocaron 3 discos de agar con micelio en una solución de glicerol al 10% (v/v agua) estéril a -80°C.

Las levaduras no fueron identificadas porque no estaba dentro del objetivo del presente trabajo, sin embargo fueron contabilizadas en conjunto y de esta forma poder establecer la relación con los hongos filamentosos.

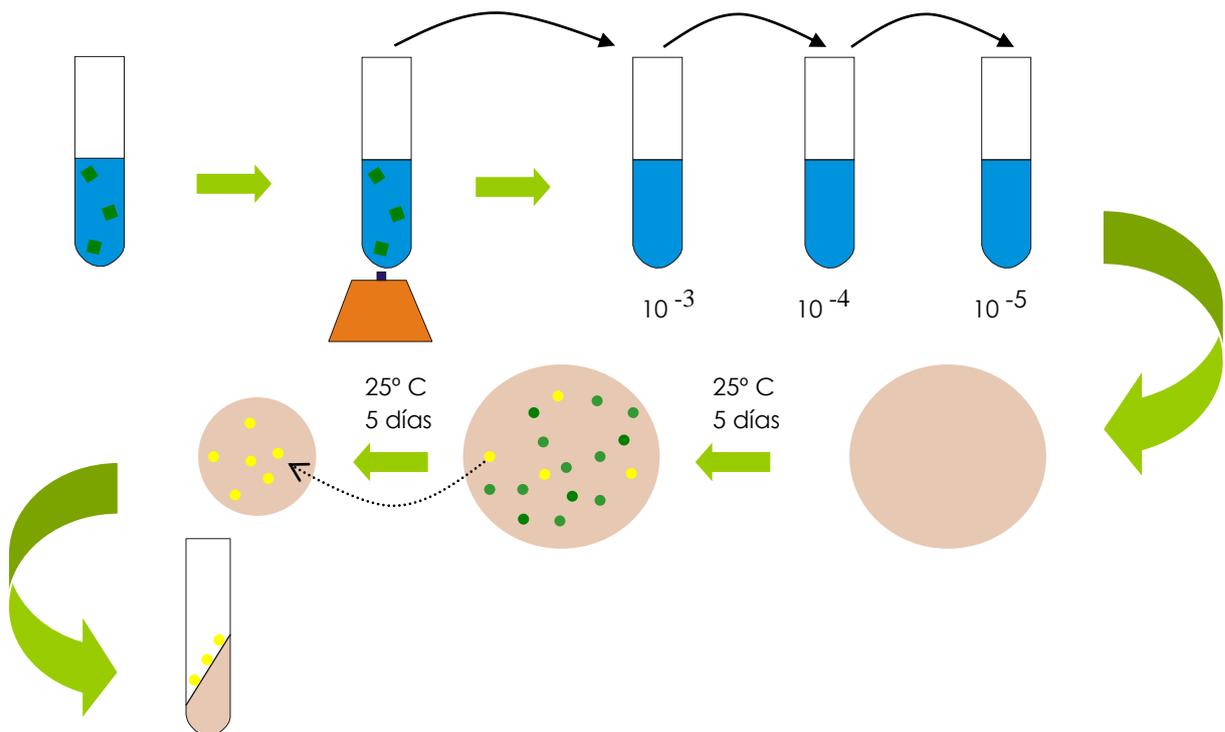


Fig. 4. Esquema del aislamiento de las especies fúngicas

5.3- Caracterización de los aislamientos

5.3.1- Caracterización morfológica de los aislamientos del género *Penicillium*

La caracterización de los aislamientos del género *Penicillium* se realizó siguiendo el protocolo de Pitt (Pitt, 1979) que tiene en cuenta tanto las características macroscópicas y microscópicas, como las ecofisiológicas. Entre las características macroscópicas se destacan el diámetro de la colonia, la coloración del anverso y reverso de la placa, textura de la colonia, presencia de gotas de exudado y de pigmentos difusibles en el medio de cultivo.

Las principales características microscópicas son el número de niveles de ramificación en el aparato conidial; la longitud del estípite; el número, la disposición y la longitud de ramas, métulas y fiálides; la forma, tamaño y color de los conidios y las características de la pared de estas estructuras. Son también importantes la presencia de esclerocios y cleistotecios.

Se consideró el crecimiento a 5, 25 y 37° C en Agar Czapek extracto de levadura (CYA); MEA y Agar nitrato 25% glicerol (G25N) solo a 25° C.

La inoculación se realizó en tres puntos a partir de una suspensión de conidios en agar-agua (0.1%) en tres placas de Petri conteniendo cada uno de los medios antes mencionados.

La identificación de los aislamientos se realizó en base a las características micro y macromorfológicas, fundamentalmente de las estructuras reproductoras.

5.3.2- Caracterización molecular de los aislamientos

Se seleccionó un aislamiento de cada morfotipo definido mediante la metodología de Pitt (1979) y proveniente de cada producto cárnico para la identificación a nivel de especie mediante sus características moleculares (34 aislamientos). Para ello se utilizaron las secuencias de la región ITS (espaciadores de transcripción interna específicos del ADNr) y de parte de la secuencia de dos genes nucleares, β -tubulina y calmodulina que codifican para las proteínas homónimas respectivamente. Estos tres marcadores son derivados del ADN nuclear. Además, se utilizó el gen *COX1* que codifica para la enzima citocromo oxidasa 1 y es de origen mitocondrial.

5.3.2.1- Extracción de ADN

A partir de las cepas obtenidas, una porción de micelio fue transferida a placas de Petri con el medio de cultivo MEA. Los cultivos fueron incubados a 25° C durante 5 días. Luego de dicho período el micelio fue cosechado y transferido a un tubo estéril de 1,5 ml. La extracción de ADN genómico se realizó a partir de micelio utilizando cetil-trimetil amonio bromado (CTAB) como buffer de extracción siguiendo la metodología de Lee & Taylor, 1990. Al micelio se le agregaron 400 μ l de buffer de lisis (Tris Hcl 1M pH8, EDTA Na₂ 0,5M, SDS 3%) y se rompió el micelio mecánicamente por medio de machacadores. Se agregó 5 μ l de proteinasa K al 2% y se incubó a 60°C durante 30 min. Luego se agregó 112 μ l de NaCl 5M y 52 μ l de CTAB 10X (CTAB 10% (g/vol), Tris Hcl pH 8, 100 mM, NaCl 1,4M, EDTA 20 mM, beta-mercaptoetanol 0,2% (vol/vol), se mezcló y se incubó a 65°C durante 10 min en baño seco. Se adicionó 570 μ l de cloroformo isoamílico (24:1) se mezcló y agitó bien

y se incubó en freezer a -20°C durante 30 min. Luego se centrifugó a 10000 rpm durante 10 min y 500 μl de la fase acuosa se trataron con 20 μl de acetato de sodio 3M y se incubó en freezer durante 30 min. Se centrifugó a 10000 rpm durante 10 min y se descartó el pellet de micelio mientras que los ácidos nucleicos crudos quedaron disueltos en el sobrenadante. Este sobrenadante fue tratado con 0,55 volúmenes de isopropanol, se incubó a -20°C durante 30 min y se centrifugó a 10000 rpm durante 5 min. El pellet de ácidos nucleicos se lavó con 200 μl de etanol 70% y se centrifugó a 10000 rpm durante 5 min. Se descartó el etanol y se dejó secar el pellet durante 1 h a 45°C en baño seco. Este pellet se resuspendió luego en 100 μl de H_2O miliQ y se trató con 1 μl de ARNasa (5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) y se incubó en baño seco a 37°C durante 60 min.

5.3.2.2- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Se amplificaron mediante PCR los siguientes marcadores moleculares: ITS, β -tubulina, calmodulina y *COX1*. En la Tabla 1 se muestran los cebadores utilizados.

Tabla 1. Cebadores utilizados para la amplificación de diferentes regiones del genoma de *Penicillium* spp. y *Talaromyces* spp. para los estudios moleculares.

Nombre del cebador	Región amplificada	Secuencia del cebador 5' -3'	Referencia
ITS4	ITS1-5.8S-ITS2	TCCTCCGCTTATTGATATGC	White <i>et al.</i> , 1990
ITS5	ITS1-5.8S-ITS2	GGAAGTAAAGTCGTAACAAGG	White <i>et al.</i> , 1990
Bt2A	Gen β -tubulina	GGTAACCAATCGGTGCTGCTTTC	Glass <i>et al.</i> , 1995
Bt2B	Gen β -tubulina	ACCCTCAGTGTAGTGACCCCTTGGC	Glass <i>et al.</i> , 1995
cmd5	Gen calmodulina	CCGAGTACAAGGARGCCTTC	Hong <i>et al.</i> , 2006
CF4	Gen calmodulina	TTYTGATCATRAGYTGGAC	Peterson <i>et al.</i> , 2005
PenF1	Gen citocromo oxidasa 1	GACAAGAAAGGTGATTTTTATCTTC	Seifert <i>et al.</i> , 2007
AspR1	Gen citocromo oxidasa 1	GGTAATGATAATAATAATACAGCT	Seifert <i>et al.</i> , 2007
cmd6	Gen calmodulina	CCGATRGAGGTCATRACGTGG	Hong <i>et al.</i> , 2006
CF1	Gen calmodulina	GCCGACTCTTTGACYGARGAR	Peterson <i>et al.</i> , 2005

La amplificación de los cuatro marcadores se realizó con la misma mezcla de reacción que incluyó: 2,5 μl de la mezcla de deoxinucleótidos (dATP, dCTP, dTTP y dGTP) 2,5 mM; 0,5 μl de los cebadores de ambos sentidos 10 μM ; 0,75 μl de MgCl_2

50 mM; 0,25 µl de Taq ADN polimerasa 5U; 2,5 µl de la solución amortiguadora 10x; 3 µl de ADN y 15 µl de agua destilada, obteniendo un volumen final de 25 µl.

Los parámetros de ciclado para la región ITS y para la proteína β-tubulina fueron las siguientes: una desnaturalización inicial a 94° C durante 3 min seguido de 35 ciclos de tres pasos incluyendo desnaturalización a 94° C por 1 min 10 s, hibridación a 50° C por 45 s y extensión a 72° C por 1 min y un ciclo de extensión final a 72° C por 5 min.

Las condiciones de amplificación del gen de la calmodulina fueron las siguientes: una desnaturalización inicial a 94° C durante 5 min seguido de 34 ciclos de tres pasos incluyendo desnaturalización a 94° C por 50 s, hibridación a 48° C por 50 s y extensión a 72° C por 1 min y un ciclo de extensión final a 72° C por 7 min.

Las condiciones de amplificación del gen de la citocromo oxidasa 1 (COX1) fueron las siguientes: una desnaturalización inicial a 95° C durante 3 min seguido de 35 ciclos de tres pasos incluyendo desnaturalización a 95° C por 1 min, hibridación a 55° C por 45 s y extensión a 72° C por 1 min y un ciclo de extensión final a 72° C por 10 min.

Todas las reacciones de amplificación se verificaron mediante una electroforesis en gel de agarosa. Para ello, el gel se preparó al 1% utilizando una solución amortiguadora de TBE 1X; se utilizó 1,5 µl del colorante Gel Red™ (Biotium) y los productos de amplificación en un volumen de 5 µl. Como marcador molecular se utilizó un ADN ladder de 100 pb. En todos los casos la corrida electroforética se realizó a 70 V durante 1 hora. Finalmente se procedió a la observación del gel con un transiluminador de luz ultra violeta.

5.3.2.3- Análisis filogenético

Los productos de amplificación fueron secuenciados en los laboratorios Macrogen, República de Corea. Dichas secuencias fueron analizadas con el software MEGA 6.0 (Tamura *et al.*, 2013) y posteriormente se analizó su similitud con las secuencias en la base de datos del GenBank usando Blastn. Con el objetivo de confirmar las identificaciones se realizó un análisis filogenético de las secuencias obtenidas en el presente trabajo. Estas secuencias se alinearon con aquéllas que presentaron mayor

puntaje en el Basic Local Alignment Search Tool Nucleotid (Blastn) y con secuencias de referencia de cada especie que también fueron obtenidas del GenBank. El alineamiento se llevó a cabo con el algoritmo ClustalW del software MEGA 6.0 y luego fue optimizado manualmente. Se construyeron los árboles filogenéticos utilizando el método de máxima parsimonia en base al algoritmo de búsqueda tree-bisection-reconnection (TBR). Los gaps fueron eliminados completamente. La robustez de los nodos fue determinada por el método de Bootstrap con 1000 réplicas.

5.4- Variabilidad genética

Se estudió la variabilidad genética a nivel inter e intraespecífico mediante la utilización de los marcadores Random Amplified Microsatellites (RAMS), los cuales se caracterizan por ser polimórficos y además porque no se requiere conocimiento previo de la información genómica. Éstos, son marcadores amplificados por PCR en presencia de un cebador complementario a un microsatélite diana.

Se utilizaron cinco cebadores: CCA; CGA; (GACA)₄; GAG (CAA)₅ y (GTG)₅, cuyas secuencias se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2. Cebadores RAMS utilizados para la amplificación del genoma de *Penicillium* spp. y *Talaromyces* spp.

Nombre del cebador	Secuencia del cebador 5´-3´	Referencia
CCA	*DDBCCACCACCACCACCA	Guo <i>et al.</i> , 2004
CGA	*DHBCGACGACGACGACGA	Guo <i>et al.</i> , 2004
(GACA) ₄	GACAGACAGACAGACA	Imwidthaya <i>et al.</i> , 2001
GAG (CAA) ₅	GAGCAACAACAACAACA	Stenglein <i>et al.</i> , 2006
(GTG) ₅	GTGGTGGTGGTGGTG	Di Conza <i>et al.</i> , 2007

*En los cebadores degenerados, H puede ser (A, T o C); B puede ser (G, T o C) y D puede ser (G, A o T)

Las distintas amplificaciones fueron realizadas en un volumen final de 25 µl conteniendo: 2,5 µl de la solución amortiguadora 10x; 2,0 µl de la mezcla de deoxinucleótidos (dATP, dCTP, dTTP y dGTP) 2,5 mM; 1,5 µl de MgCl₂ 50 mM; 9,0 µl

del cebador 10 μM ; 0,25 μl de Taq ADN polimerasa 5U; 3 μl de ADN y 6,75 μl de agua destilada.

Las condiciones de amplificación fueron distintas según el cebador utilizado:

cebador CCA: una desnaturalización inicial a 95° C durante 3 min seguido de 35 ciclos de tres pasos incluyendo una desnaturalización a 95° C por 1 min, hibridación a 52° C por 50 s y extensión a 72° C por 1 min 30 s y un ciclo de extensión final a 72° C por 10 min.

cebador CGA: una desnaturalización inicial a 95° C durante 3 min seguido de 35 ciclos de tres pasos incluyendo una desnaturalización a 95° C por 1 min, hibridación a 51° C por 50 s y extensión a 72° C por 1 min 30 s y un ciclo de extensión final a 72° C por 10 min.

cebador (GACA)₄: una desnaturalización inicial a 95° C durante 3 min seguido de 35 ciclos de tres pasos incluyendo una desnaturalización a 95° C por 1 min, hibridación a 46° C por 50 s y extensión a 72° C por 1 min 30 s y un ciclo de extensión final a 72° C por 10 min.

cebador GAG (CAA)₅: una desnaturalización inicial a 95° C durante 3 min seguido de 35 ciclos de tres pasos incluyendo una desnaturalización a 95° C por 1 min, hibridación a 46° C por 50 s y extensión a 72° C por 1 min 30 s y un ciclo de extensión final a 72° C por 10 min.

cebador (GTG)₅: una desnaturalización inicial a 95° C durante 3 min seguido de 35 ciclos de tres pasos incluyendo una desnaturalización a 95° C por 1 min, hibridación a 50° C por 50 s y extensión a 72° C por 1 min 30 s y un ciclo de extensión final a 72° C por 10 min.

Los productos de amplificación fueron visualizados en geles de agarosa al 1,5% utilizando TBE 1X como solución amortiguadora. Se utilizó 1,5 μl del colorante Gel Red™ (Biotium) y los productos de amplificación en un volumen de 5 μl . El tamaño de los fragmentos fue estimado por comparación con un ADN ladder de 1 kb. En

todos los casos la corrida electroforética se realizó a 50 V durante 2 horas. Finalmente se procedió a la observación del gel con un transiluminador de luz ultra violeta. Las reacciones de PCR con cada uno de los cebadores fueron repetidas al menos tres veces y solamente se consideraron las bandas nítidas y reproducibles.

El análisis de los patrones de bandas resultantes de la caracterización de los aislamientos mediante los distintos RAMS se realizó elaborando un dendograma. Para la elaboración del mismo se midió el tamaño de todas las bandas obtenidas con cada uno de los cinco marcadores empleados. Los resultados obtenidos se transformaron en una matriz de datos, en la que cada columna representa un aislamiento y en la que cada fila representa a las bandas de distinto tamaño, las que se consideraron un locus. Las bandas se consideraron caracteres binarios y se evaluaron como “1” la presencia y como “0” la ausencia de ellas. Sólo se incluyeron en el análisis aquellas bandas que se pudieron leer de forma inequívoca.

5.5- Capacidad toxicogénica

La capacidad toxicogénica de las distintas especies identificadas se determinó mediante la estimación de la mortalidad de larvas de *Artemia salina* (Harwig & Scott, 1971; Leslie *et al.*, 2004; Skrobek *et al.*, 2006; González *et al.*, 2007) cuya ventaja es la posibilidad de disponer de grandes cantidades de larvas activas en forma sencilla en 24 horas. Además, estas larvas presentan una baja tasa de mortalidad natural (Harwig & Scott, 1971; Leslie *et al.*, 2004). Para ello se inocularon matraces conteniendo 25 ml del medio de cultivo líquido Extracto de levadura-sacarosa (YES) con una suspensión de 10^4 conidios/ml de cada una de las especies y se incubaron a 25° C y 150 rpm durante 7 días. De cada uno de los matraces se tomaron alícuotas de 3 ml y se centrifugaron a 10000 rpm durante 10 minutos, a los efectos de eliminar el micelio. El sobrenadante fue esterilizado por filtración con filtros millipore 0.22 μ m. Una vez obtenidos los distintos filtrados, se realizaron diluciones a 1/10, 1/50 y 1/100 en agua destilada estéril.

Los huevos de *A. salina* se colocaron en una cubeta con agua destilada estéril y cloruro de sodio (NaCl, 2.4 %) e incubaron durante 24 horas a 25° C. Una vez eclosionadas las larvas, éstas se colocaron en placas de cultivo de células (20 a 30 larvas por pocillo) en un volumen de 2 ml de agua destilada estéril y cloruro de

sodio (2.4 %) y fueron expuestas a 0.1 ml de las distintas diluciones de los filtrados de cada uno de los hongos. Se realizaron 6 réplicas y se utilizó el medio de cultivo YES sin inocular como blanco. Luego de incubadas durante 24 horas a 25° C se determinó la mortalidad de las mismas, mediante la observación bajo microscopio estereoscópico.

La toxicidad de las especies se consideró de acuerdo al siguiente criterio: 0-9 % de mortalidad: no tóxica, 10-49 %: débilmente tóxica, 50-89 %: tóxica y 90-100%: muy tóxica (Harwig & Scott, 1971; González *et al.*, 2007).

5.6- Detección de metabolitos secundarios

La detección de los distintos metabolitos secundarios se realizó en aquellos aislamientos que presentaron algún nivel de toxicidad.

5.6.1- Micotoxinas (MCTX)

La capacidad de producción de Ácido ciclopiazónico (ACP), Citrinina (CIT), Ocratoxina A (OA) y Patulina (PAT) de las distintas especies fúngicas se determinó por cromatografía en capa fina (TLC) (Paterson & Bridge, 1994).

La preparación de los patrones de las MCTX ensayadas se realizó con: cloroformo en el caso del ACP, etanol en el caso de la CIT, metanol para la OA y acetato de nitrilo para la PAT. Las concentraciones de cada MCTX en la solución patrón son las que se especifican en la Tabla 3.

Tabla 3. Concentraciones empleadas en las soluciones patrón de cada MCTX ensayada

Micotoxina	Concentración de la solución patrón (µg/ml)
ACP	50
CIT	5
OA	1
PAT	25

5.6.1.1- Evaluación de la producción de Ácido ciclopiazónico (ACP)

A fin de evaluar la producción de ACP se cultivaron las distintas especies fúngicas en YES a 25° C durante 10 días. A partir de cada colonia se obtuvieron 3 discos de 5 mm de diámetro de agar con micelio y se colocaron sobre cromatoplasmas de aluminio con sílicagel 60 como fase estacionaria y sin indicador de fluorescencia. También se inoculó la cromatoplasma con 5 µl de la solución patrón de ACP. Previo a la aplicación, las cromatoplasmas fueron sumergidas en una solución de ácido oxálico al 2 % en etanol y secadas en estufa a 80° C durante una hora. Luego las mismas se dividieron en carriles de aproximadamente 1 cm de ancho, dejando 0.3 cm entre un carril y otro y se marcó un frente de 10 cm en el que se desarrolló la corrida cromatográfica. Las cromatoplasmas se introdujeron en una cubeta de vidrio en posición vertical, con la línea de base por encima del nivel de la fase móvil y se dejaron desarrollar hasta que el frente de la fase móvil alcanzó la línea de 10 cm establecida para la corrida. La fase móvil estuvo compuesta por benceno: ácido acético: metanol (90:5:7). Una vez terminada la corrida, las placas se extrajeron de la cubeta y se dejó evaporar el exceso de la fase móvil en una cámara extractora de gases. El ACP fue visualizado al rociar las placas con p-dimetilaminobenzaldehído al 1 % en 75 ml de etanol y 25 ml de ácido clorhídrico, detectándose como una banda de color azul (Horn & Dorner, 1999).

5.6.1.2- Evaluación de la producción de Citrinina (CIT)

Las distintas especies fúngicas se cultivaron en el medio de cultivo Agar YES a 25° C durante 10 días. A partir de cada colonia se obtuvieron 3 discos de 5 mm de diámetro de agar con micelio y se colocaron en tubos de 1,5 ml. Luego se le agregó a cada tubo 1 ml de metanol y se centrifugó a 10000 rpm durante 10 min. El sobrenadante fue evaporado a sequedad (Astoreca *et al.*, 2011). Finalmente, el residuo fue resuspendido en metanol para ser aplicado en cantidades de 10 µl sobre las cromatoplasmas de aluminio con sílicagel 60 como fase estacionaria. También se sembraron 5 µl de la solución patrón de citrinina sobre las placas cromatográficas. Estas tenían un indicador de fluorescencia UV₂₅₄. El tratamiento de las mismas fue similar en cuanto a la división de carriles y el establecimiento del frente de corrida

y la línea de base. La fase móvil estaba compuesta por tolueno: acetato de etilo: ácido fórmico (6:3:1). Luego que se desarrollaron las placas, las mismas se extrajeron de la cubeta y fueron secadas a temperatura ambiente. La citrinina fue detectada por fluorimetría a 330 nm (Bailly *et al.*, 2005).

5.6.1.3- Evaluación de la producción de Ocratoxina A (OA)

Las distintas especies fúngicas se cultivaron en el medio de cultivo Agar YES a 25° C durante 10 días. A partir de cada colonia se obtuvieron 3 discos de 5 mm de diámetro de agar con micelio y se colocaron en tubos de 1,5 ml. Luego se le agregó a cada tubo 1 ml de metanol y se centrifugó a 10000 rpm durante 10 min. El sobrenadante fue evaporado a sequedad. Finalmente, el residuo fue resuspendido en metanol para ser aplicado en cantidades de 10 µl sobre las cromatoplasmas de aluminio con sílicagel 60 como fase estacionaria. También se sembraron 5 µl de la solución patrón de ocratoxina A sobre las placas cromatográficas. Estas tenían un indicador de fluorescencia UV₂₅₄. El tratamiento de las mismas fue similar en cuanto a la división de carriles y el establecimiento del frente de corrida y la línea de base. La fase móvil estaba compuesta por tolueno: acetato de etilo: ácido fórmico en (5:4:1). Luego que se desarrollaron las placas, las mismas se extrajeron de la cubeta y fueron secadas a temperatura ambiente, la OA fue detectada por fluorimetría a 333 nm (Bailly *et al.*, 2005).

5.6.1.4- Evaluación de la producción de Patulina (PAT)

Igual que para la determinación del ACP, las distintas especies de hongos fueron cultivadas en el medio de cultivo Agar YES, a 25° C durante 10 días. A los 10 días de incubación, se retiró el medio de cultivo de cada una de las placas de Petri y se homogeneizó con 100 ml de acetato de etilo. Posteriormente se filtró, se tomaron 50 ml del filtrado y se evaporaron hasta un volumen de 10 ml. Luego se sembraron 50 µl de cada extracto fúngico y 5 µl de la solución patrón de patulina sobre las placas cromatográficas. Estas tenían un indicador de fluorescencia UV₂₅₄. El tratamiento de las mismas fue similar en cuanto a la división de carriles y el establecimiento del frente de corrida y la línea de base. La fase móvil estaba compuesta por tolueno: acetato de etilo: ácido fórmico (6:3:1). Luego que se

desarrollaron las placas, las mismas se extrajeron de la cubeta y fueron secadas a temperatura ambiente. Las placas se revelaron con una solución acuosa de metil benzotiazolinona hidrazona al 0.5% (MBTH) y finalmente se secaron en estufa a 130° C durante 15 minutos. La patulina se visualizó como una banda de color amarillo (Frisvad, 1988; Vero *et al.*, 1999).

5.6.2- Evaluación del indol

La prueba del indol detecta de forma rápida metabolitos estructuralmente relacionados al indol por parte de algunas especies del género *Penicillium*.

Las distintas especies fúngicas se cultivaron en el medio de CYA a 25° C durante 7 a 10 días. A partir de cada colonia se obtuvo 1 disco de 5 mm de diámetro de agar con micelio y se colocó sobre un papel de filtro embebido con el reactivo de Ehrlich (2 g de 4-dimetilaminobenzaldehído que se disolvieron en una mezcla de 85 ml de etanol al 96% y 15 ml de HCl 10N). Al cabo de 2 a 6 min si aparece un anillo violeta se considera positiva la reacción para la producción de metabolitos del indol. Si la reacción se produce entre los 7 y 10 min la reacción se considera positiva débil (Lund, 1995).

5.6.3- Evaluación de la producción de penicilina

Se evaluó la capacidad de todas las especies fúngicas de producir penicilina. Para esto se cultivaron los aislamientos de las distintas especies sobre MEA durante 7 días a 25° C. Luego de este período se cortaron discos de agar con micelio del centro de la colonia y se colocaron en placas con Agar Nutriente composición previamente sembradas como tapiz con 0.1 ml de un cultivo de 24 horas en caldo Luria (LB) de una cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) sensible a la penicilina y otras con una cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) resistente al mismo antibiótico. Las placas fueron incubadas a 4° C durante 6 horas y luego se incubaron a 37° C durante 24 horas (López-Díaz *et al.*, 2001). Se efectuaron tres réplicas. Como control positivo se utilizaron discos de penicilina de 10 unidades cada uno, siendo cada unidad equivalente a 0.6 µg de penicilina G.

La presencia de los tres genes biosintéticos de la penicilina: δ -(L- α -aminoadipil)-L-cisteinil-D-valina (*pcbAB*), isopenicilina N sintetasa (*pcbC*) y acil-CoA-isopenicilina N-acil transferasa (*penDE*), se evaluó mediante cebadores específicos (Farber *et al.*, 1994). En la Tabla 4 se muestran los cebadores utilizados.

Tabla 4. Cebadores utilizados para la amplificación de los genes biosintéticos de la penicilina.

Nombre del cebador	Secuencia del cebador 5´-3´	Referencia
<i>acv1</i>	CGTGCTGGATGACACCAAGGCACG	Farber <i>et al.</i> , 1994
<i>acv2</i>	CACCAGGATTATCCGATTCAGTGAT	Farber <i>et al.</i> , 1994
<i>ipns1</i>	TGTGGCCGGACGAGAAGAAGCATCC	Farber <i>et al.</i> , 1994
<i>ipns2</i>	TCTTGTTGATTAGACTAACTAATCC	Farber <i>et al.</i> , 1994
<i>aat1</i>	ACCAAAGAGAACCTGATCCGGTTAA	Farber <i>et al.</i> , 1994
<i>aat2</i>	ATGACAAACATCTCATCAGGGTTGG	Farber <i>et al.</i> , 1994

La mezcla de reacción incluyó 2,5 μ l de la mezcla de deoxinucleótidos (dATP, dCTP, dTTP y dGTP) 2,5 mM; 0,5 μ l de los cebadores de ambos sentidos 10 μ M; 0,75 μ l de MgCl₂ 50 mM; 0,25 μ l de Taq ADN polimerasa 5U; 2,5 μ l de la solución amortiguadora 10x; 3 μ l de ADN y 15 μ l de agua destilada, obteniendo un volumen final de 25 μ l. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: una desnaturalización inicial a 95° C durante 3 min seguido de 35 ciclos de tres pasos incluyendo desnaturalización a 95° C por 1 min, hibridación a 48° C por 3 min y extensión a 72° C por 4 min y un ciclo de extensión final a 72° C por 10 min.

5.7- Análisis de los datos

El número de propágulos por cm² de superficie de los embutidos se determinó calculando el promedio del número de colonias desarrolladas a partir de la dilución adecuada, teniendo en cuenta el factor de dilución y el volumen del inóculo empleados, asumiendo además que cada colonia se desarrolla a partir de un propágulo.

La **densidad relativa de aparición** de cada una de las especies fúngicas se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Densidad (\%)} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de aislamientos de una especie} \times 100}{\text{n}^\circ \text{ total de aislamientos}}$$

Para evaluar si existían diferencias significativas entre el número de aislamientos correspondientes a los hongos filamentosos y el número de aislamientos correspondientes a las levaduras, obtenidos a partir de los diferentes productos cárnicos y considerando que los datos no presentaron una distribución normal se utilizó el test no paramétrico de Kruskal y Wallis. En caso de detectar diferencias significativas se utilizó el test de Mann-Whitney. Se consideró significativo un valor de $p < 0.05$.

Para evaluar la capacidad toxicogénica de los aislamientos de las distintas cepas frente a *A. salina* se calculó el **porcentaje de mortalidad** según:

$$\% \text{ mortalidad} = 100 - \frac{(\text{n}^\circ \text{ de larvas vivas tratadas} \times 100)}{\text{n}^\circ \text{ de larvas vivas blanco}}$$

La toxicidad de las especies se consideró de acuerdo al siguiente criterio: 0-9 % de mortalidad: no tóxica, 10-49 %: débilmente tóxica, 50-89 %: tóxica y 90-100%: muy tóxica.

Para determinar si existieron diferencias significativas entre las tres diluciones de cada uno de los aislamientos fúngicos respecto del control y considerando que los datos no presentaron una distribución normal, a pesar de haberse transformado los porcentajes de sobrevivencia mediante la función $x \rightarrow \arcsen \sqrt{x}$, se utilizó el test no paramétrico de Kruskal y Wallis. En caso de detectar diferencias significativas se utilizó el test de Tukey para conocer entre que aislamientos hubo diferencias. Se consideró significativo un valor de $p < 0.05$.

El grado de similitud genética fue estimado con el programa SimQual (NTSYS.pc versión 2.01, F.J. Rohlf, Exeter Software, NY; Rohlf, 1990), teniendo en cuenta todos los pares de las cepas ensayadas de acuerdo al coeficiente de Dice (Sd):

$$Sd = \frac{2N_{xy}}{N_x + N_y},$$

donde N_x y N_y representan los números de fragmentos amplificados en la cepa X e Y respectivamente y donde N_{xy} representa el número de fragmentos amplificados compartidos por ambas cepas (Dice, 1945). Los dendogramas de similitud genética fueron construidos usando el método de medias aritméticas UPGMA con el programa SAHN del NTSYS. El dendograma con la mejor topología fue elegido basándose en el valor cofenético del MXCOMP, un programa de comparación de matrices del NTSYS. Los cálculos de similitudes genéticas fueron obtenidos usando el programa SAS, versión 6.11 (SAS Institute, Cary, NC).

Los análisis estadísticos fueron realizados con el programa Sigma Stat versión 3.5 y el programa PAST, los mismos se encuentran en el capítulo Anexos (capítulo 10).

6. RESULTADOS

6.1- Caracterización morfológica de los aislamientos

Para definir las especies desde el punto de vista morfológico se evaluaron los atributos característicos de cada uno de los aislamientos desde el punto de vista macro y microscópico.

A partir de estas dos aproximaciones, los 325 aislamientos quedaron agrupados en 24 morfotipos. De éstos, 20 pertenecieron al subgénero *Penicillium*, que presentaron el aparato conidiógeno con tres niveles de ramificación (Terverticilados), 1 perteneció al subgénero *Biverticillium* presentando dos niveles de ramificación en el aparato conidiógeno (Biverticilados) y 2 pertenecieron al subgénero *Aspergilloides*, cuyo aparato conidiógeno presentó un único nivel de ramificación (Monoverticilados). El otro morfotipo correspondió al género *Cladosporium*. La mayoría de los morfotipos presentaron colonias de color verde y los menos, colonias de color blanca.

Las características macroscópicas y microscópicas que se observaron a partir de las colonias en los medios de cultivo MEA y CYA a distintas temperaturas y actividades hídricas, correspondientes a los morfotipos caracterizados de *Penicillium*, se describen en Anexos (Anexo 10.4.6).

6.2- Caracterización molecular de los aislamientos y análisis filogenético

De los 325 aislamientos, 34 provenientes de los tres tipos de productos cárnicos, se estudiaron por similitud de secuencias de ADN y se caracterizaron mediante la amplificación de cuatro marcadores moleculares: ITS, β -tubulina, calmodulina y *COX1* (Tabla 5).

Utilizando los cebadores ITS4 e ITS5 se obtuvo un amplicón de 600 pb que comprende los dos espaciadores internos transcritos ITS1 e ITS2 así como también el gen del rRNA 5.8S. Cabe mencionar que con este marcador todos los aislamientos fueron amplificados, excepto tres.

Por su parte, el producto de amplificación obtenido con los cebadores Bt2a y Bt2b, que comprende parte del gen de la β -tubulina fue de 500 pb. Con este marcador todos los aislamientos fueron amplificados excepto uno.

El producto de amplificación obtenido con los cebadores específicos cmd5 y CF4, que comprende parte del gen de la calmodulina, fue de 600 pb. Con estos cebadores no se obtuvo producto con el ADN de todos los aislamientos por ello se modificó la temperatura de hibridación, pero los resultados en algunos casos no mejoraron y por lo tanto no se obtuvo ninguna banda. Debido a ello se utilizaron otros pares de cebadores que amplifican la misma región, en distintas combinaciones: CF1 y CF4; cmd5 y cmd6 y CF1 y cmd6 pudiéndose obtener producto de amplificación con los cebadores CF1 y CF4. Con las restantes combinaciones de cebadores las amplificaciones no fueron exitosas. De los marcadores nucleares, la calmodulina presentó una menor eficiencia de amplificación (67,6%) en comparación con los otros dos marcadores nucleares utilizados.

Finalmente, el producto de amplificación obtenido con los cebadores Pen F1 y Asp R1, que comprende parte del gen de la citocromo oxidasa 1 fue de 545 pb.

Tabla 5. Regiones del genoma amplificadas en cada aislamiento

Código de los aislamientos	Procedencia	ITS	B-tubulina	Calmodulina	COX1
C1 _{1a} (T)	Chacarero	✓	✓	-	ND
C1 _{2a} (T)	Chacarero	✓	✓	✓	ND
C1 _{2b} (T)	Chacarero	-	✓	-	ND
C1 _{3a} (T)	Chacarero	-	✓	-	ND
C6 _{2a} (B)	Chacarero	✓	✓	✓	✓
C3 _{3a} (T)	Chacarero	✓	✓	-	✓
C13 ₄ (T)	Chacarero	✓	✓	-	✓
C5 _{6a} (T)	Chacarero	✓	✓	-	✓
C15 ₆ (M)	Chacarero	✓	✓	✓	✓
C5 _{7b} (T)	Chacarero	✓	✓	✓	✓
L2 _{1a} (T)	Longaniza	✓	✓	-	ND
L11 _{1a} (T)	Longaniza	✓	✓	✓	✓
L1 _{2a} (M)	Longaniza	✓	✓	✓	✓

L6 _{2a} (T)	Longaniza	/	/	/	/
L11 _{2b} (T)	Longaniza	/	/	/	/
L3 _{3a} (T)	Longaniza	/	/	/	/
L8 _{3a} (T)	Longaniza	/	/	/	ND
L11 _{4a} (T)	Longaniza	/	/	/	/
L3 ₆ (T)	Longaniza	/	/	-	/
L15 _{6b} (T)	Longaniza	/	/	/	/
S1 _{1a} (T)	Salamín	/	/	/	ND
S6 _{1a} (T)	Salamín	/	/	/	/
S12 _{1a} (T)	Salamín	/	/	/	ND
S2 _{2b} (T)	Salamín	/	/	-	ND
S11 _{2a} (T)	Salamín	/	/	/	/
S1 _{3a} (T)	Salamín	-	/	-	ND
S2 _{3a} (T)	Salamín	/	/	/	ND
S7 _{3b} (T)	Salamín	/	-	/	/
S15 _{3a} (T)	Salamín	/	/	/	/
S1 _{4a} (T)	Salamín	/	/	/	/
S11 _{4a} (T)	Salamín	/	/	-	ND
S11 _{5a} (T)	Salamín	/	/	/	ND
S15 ₇ (T)	Salamín	/	/	/	/
S12 _{8a} (T)	Salamín	/	/	/	/

/: amplificación exitosa (B): aparato conidiógeno biverticilado

-: amplificación no exitosa (M): aparato conidiógeno monoverticilado

ND: no determinado (T): aparato conidiógeno terverticilado

En el análisis filogenético de las secuencias correspondientes a la región ITS se incluyeron un total de 306 caracteres. Luego de la búsqueda se retuvieron los 9 árboles más parsimoniosos (longitud de los árboles (TL=136 pasos); índice de consistencia (CI=0,90) e índice de retención (RI=0,92)). La Fig. 5 muestra uno de los árboles más parsimoniosos.

El marcador ITS permitió separar los aislamientos que presentan un aparato conidiógeno con tres niveles de ramificación (terverticilados) de aquellos aislamientos que presentan un aparato conidiógeno con uno y dos niveles de ramificación (mono y biverticilados respectivamente). Todos los aislamientos terverticilados (subgénero *Penicillium*) quedaron agrupados en un solo clado. No fue posible, por lo tanto, separar los aislamientos en secciones a las que corresponden dentro de este subgénero. Tampoco logró la separación a nivel de especies dentro del subgénero *Penicillium*.

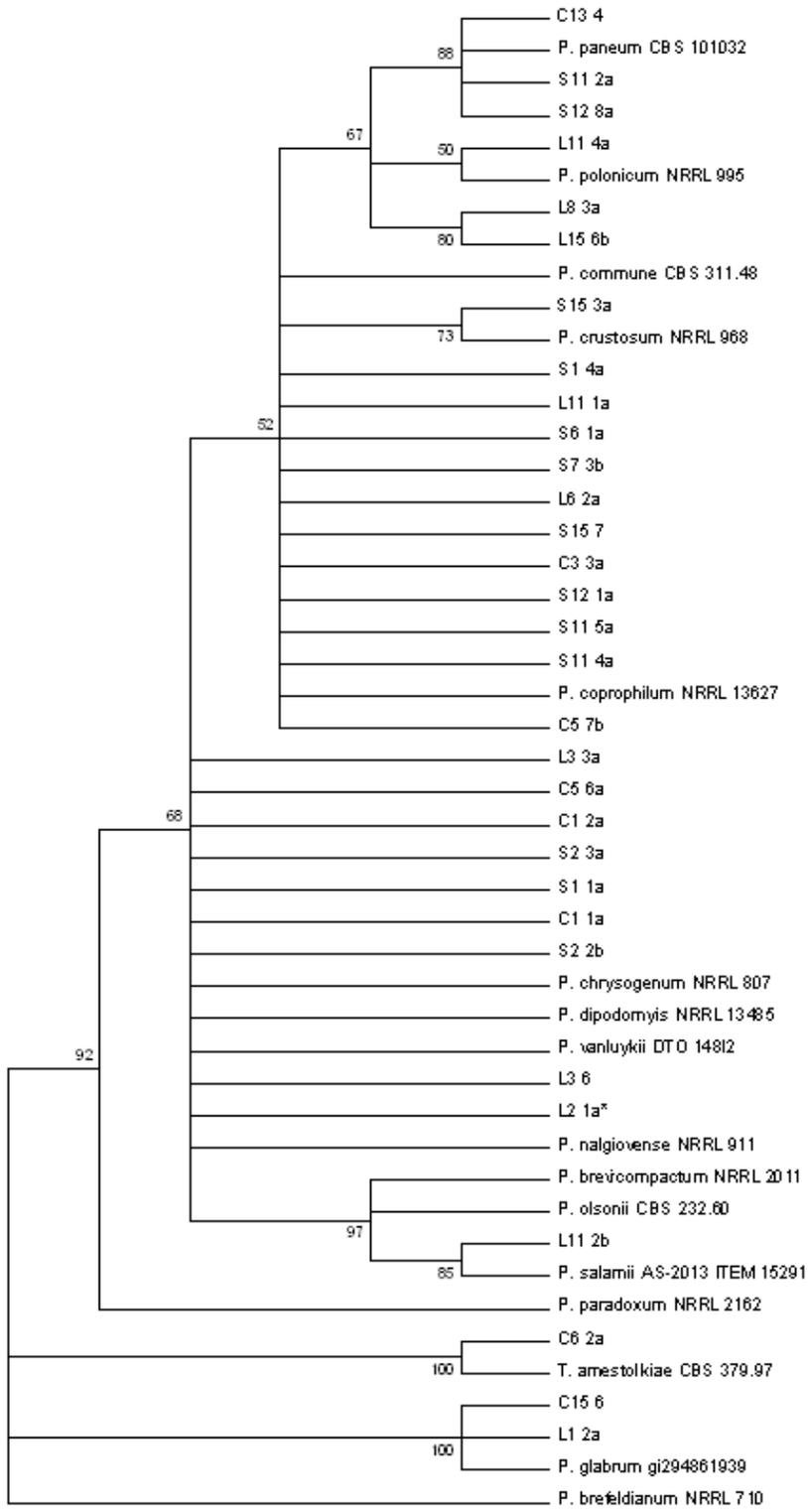


Fig. 5. Árbol filogenético con base en el método de Máxima Parsimonia utilizando las secuencias ITS de 31 aislamientos obtenidos en el presente trabajo y las secuencias depositadas en el GenBank. En los nodos se muestran los valores de bootstrap mayores al 50% basados en 1000 réplicas. Se utilizó como grupo externo *P. brefeldianum*.

En el análisis filogenético de las secuencias correspondientes al gen de la β -tubulina se incluyeron un total de 187 caracteres. Luego de la búsqueda se retuvieron los 3 árboles más parsimoniosos (TL=334 pasos, CI=0,67 y RI=0,83). La Fig. 6 muestra uno de los árboles más parsimoniosos.

El análisis de parsimonia produjo un dendograma con un patrón de ramificación que mostró un clado (68% Bootstrap) que agrupa a todos los aislamientos pertenecientes al subgénero *Penicillium*. Dentro de este clado, el marcador β -tubulina permitió la separación en secciones. Tal es el caso del subclado constituido por los aislamientos L2_{1a}, C1_{2b}, L3₆, L3_{3a}, C5_{6a}, C1_{2a}, S2_{3a}, S2_{2b}, S1_{1a}, C1_{1a} y S1_{3a} que se agruparon con la secuencia tipo de la especie *P. vanluykii* que pertenece a la sección *Chrysogena* (85% Bootstrap). Por su parte, los aislamientos L11_{1a}, S11_{2a}, S11_{4a}, C5_{7b}, S1_{4a}, S6_{1a}, C1_{3a}, L6_{2a}, C3_{3a}, S12_{1a} y S11_{5a} se agruparon en un subclado con la secuencia tipo de la especie *P. nalgiovense* que también pertenece a la sección *Chrysogena* (91% Bootstrap). Los aislamientos C13₄, S12_{8a} y S11_{2a} se agruparon en un subclado con la secuencia tipo de *P. paneum* que pertenece a la sección *Roqueforti*. Otro de los subclados estuvo constituido por los aislamientos S15_{3a}, L11_{4a}, L8_{3a} y L15_{6b} correspondientes a la sección *Viridicata* del subgénero *Penicillium*. Dentro de este subclado, el marcador β -tubulina permitió a su vez diferenciar esos aislamientos de acuerdo a la serie a la que pertenecen los mismos, quedando el primero de los aislamientos agrupado con *P. crustosum* en la serie *Camemberti* (100% Bootstrap) y los restantes tres aislamientos con *P. polonicum* en la serie *Viridicata*. Finalmente, el aislamiento L11_{2b} se agrupó con la secuencia tipo de la especie *P. salamii* perteneciente a la sección *Brevicompecta* y el aislamiento S15₇ se agrupó con la especie *P. coprophilum* con un 100% de robustez.

El aislamiento C6_{2a} proveniente del producto chacarero y caracterizado por presentar un aparato conidiógeno biverticilado se agrupó con la secuencia tipo de la especie *T. amestolkiae* con un porcentaje de robustez de 100%.

Los aislamientos monoverticilados C15₆ y L1_{2a} provenientes de los productos chacarero y longaniza respectivamente se agruparon con la especie *P. glabrum*, formando clado con la especie de referencia externa *P. brefeldianum*.

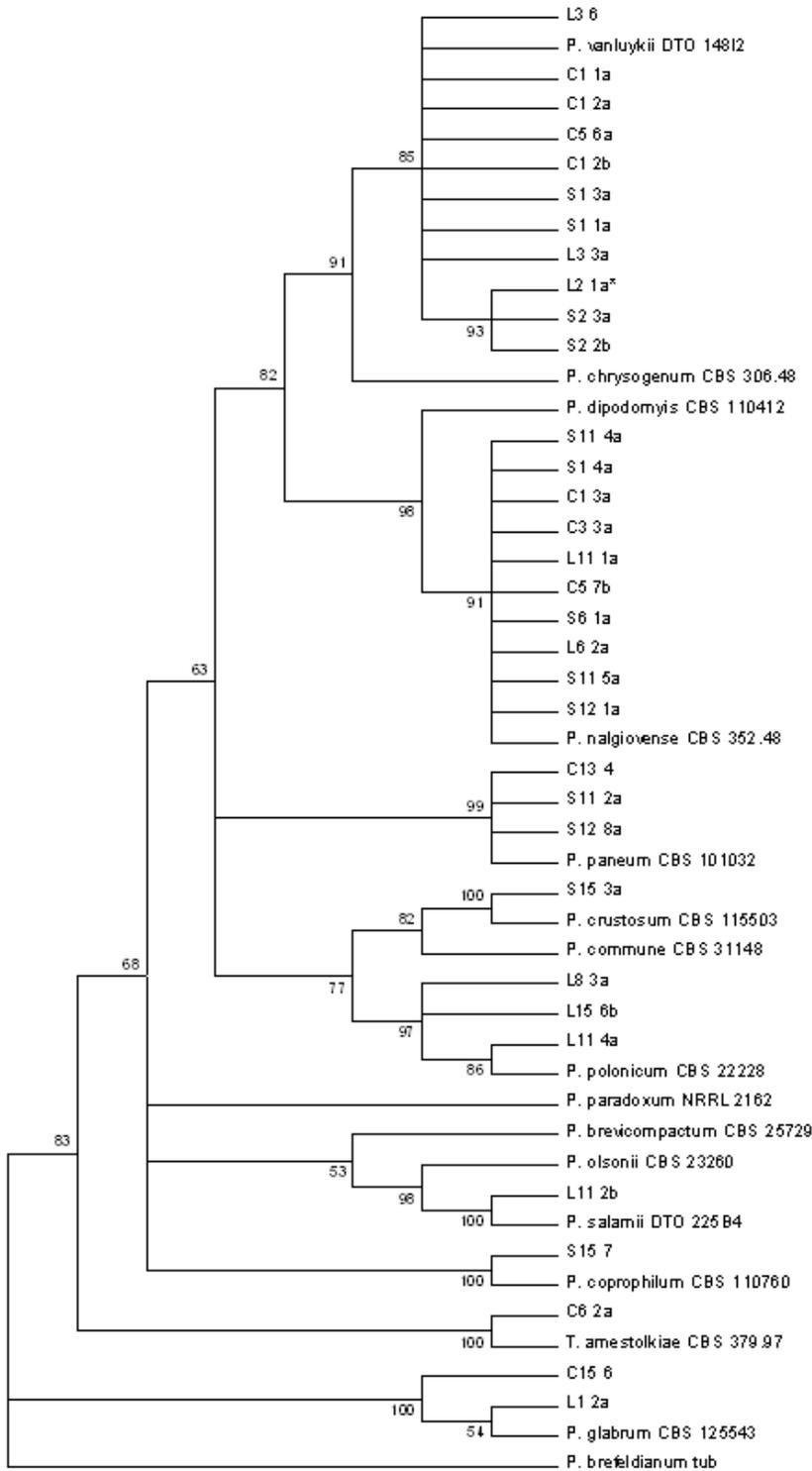


Fig. 6. Árbol filogenético con base en el método de Máxima Parsimonia utilizando las secuencias β tubulina de 33 aislamientos obtenidos en el presente trabajo y las secuencias depositadas en el GenBank. En los nodos se muestran los valores de bootstrap mayores al 50% basados en 1000 réplicas. Se utilizó como grupo externo *P. brefeldianum*.

En el análisis filogenético de las secuencias correspondientes al gen de la calmodulina se incluyeron un total de 262 caracteres. Luego de la búsqueda se retuvieron los 6 árboles más parsimoniosos (TL=334 pasos, CI=0,60 y RI=0,82). La Fig. 7 muestra uno de los árboles más parsimoniosos.

El análisis de parsimonia obtenido con el gen de la calmodulina produjo un dendograma que permitió separar claramente los aislamientos monoverticilados, biverticilados y terverticilados. Se observó un clado constituido por todos los aislamientos que presentaron un aparato conidiógeno terverticilado (78% Bootstrap). A su vez, dentro de este clado se observaron varios subclados. Uno de éstos está constituido por los aislamientos S11_{2a}, L11_{1a}, C5_{7b}, S1_{4a}, S7_{1b}, L6_{2a} y S11_{5a} que se agruparon con la secuencia tipo de la especie *P. nalgiovense* que pertenece a la sección *Chrysogena* (93% Bootstrap). También, se observó otro subclado constituido por los aislamientos C1_{2a}, L3_{3a}, S1_{1a} y S2_{3a} que se agruparon indistintamente tanto con la especie *P. vanluykii* como con la especie *P. chrysogenum* que también pertenecen a la sección *Chrysogena* (99% Bootstrap). Otro de los subclados estuvo constituido por el aislamiento S12_{8a} que se agrupó con la especie *P. paneum* perteneciente a la sección *Roqueforti*. Por su parte, el aislamiento S15_{3a} se agrupó en otro subclado con la especie *P. crustosum* perteneciente a la sección *Viridicata* con un valor de robustez de 99%. Los aislamientos L8_{3a}, L11_{2b}, S15₇, L15_{6b} y L11_{4a} constituyeron un subclado entre ellos sin agruparse con ninguna secuencia tipo de especies pertenecientes al subgénero *Penicillium*.

Con un 99% de robustez se encuentra el clado integrado por el aislamiento C6_{2a} que presentó un aparato conidiógeno con dos niveles de ramificación proveniente del producto chacarero y que se agrupó con la secuencia tipo de la especie *T. amestolkiae*.

Otro de los clados está constituido por los aislamientos monoverticilados L1_{2a} y C15₆ que se agruparon con la secuencia tipo de la especie *P. glabrum*.

Tampoco este marcador fue capaz de resolver a nivel de especies todos los aislamientos que están dentro del subgénero *Penicillium*.

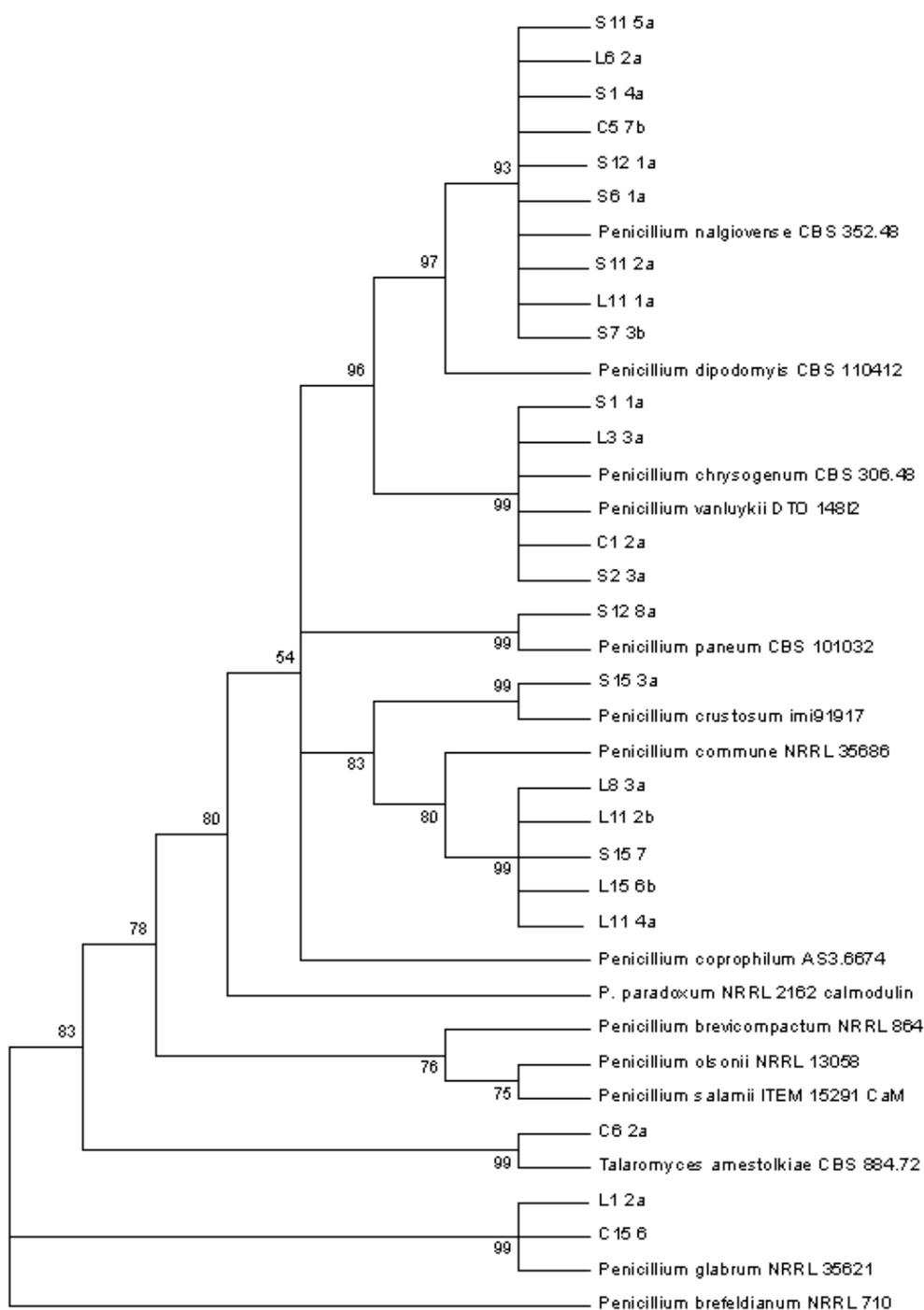


Fig. 7. Árbol filogenético con base en el método de Máxima Parsimonia utilizando las secuencias de calmodulina de 23 aislamientos obtenidos en el presente trabajo y las secuencias depositadas en el GenBank. En los nodos se muestran los valores de bootstrap mayores al 50% basados en 1000 réplicas. Se utilizó como grupo externo a *P. brefeldianum*.

En el análisis filogenético de las secuencias correspondientes a *COX1* se incluyeron un total de 244 caracteres. Luego de la búsqueda se retuvieron 9 árboles más parsimoniosos (TL=226 pasos, CI=0,82 y RI=0,86). La Fig. 8 muestra uno de los árboles más parsimoniosos.

El análisis de parsimonia obtenido con el gen *COX1* produjo un dendograma con un patrón de ramificación que no permitió separar claramente los aislamientos monoverticilados, biverticilados y terverticilados. Se observó un gran clado que agrupó los aislamientos biverticilados con los terverticilados. A su vez, dentro de este clado se observaron varios subclados. Uno de éstos está constituido por los aislamientos C13₄, L6_{2a}, S12_{8a}, S11_{2a}, S15₇ y L15_{6b} que se agruparon con la secuencia tipo de la especie *P. paneum* que pertenece a la sección *Roqueforti*. Otro de los subclados estuvo constituido por los aislamientos S15_{3a} y L11_{4a}. Dentro de este subclado, el marcador *COX1* permitió a su vez diferenciar estos dos aislamientos de acuerdo a la serie a la que pertenecen los mismos, quedando el aislamiento S15_{3a} agrupado con *P. crustosum* en la serie *Camemberti* y el otro aislamiento con *P. polonicum* en la serie *Viridicata*. Ambas series pertenecen a la sección *Viridicata* del subgénero *Penicillium*.

Los aislamientos L11_{1a}, C5_{7b}, S7_{3b} y S6_{1a} se agruparon con la especie *P. nalgiovense* que pertenece a la sección *Chrysogena*. Por su parte, los aislamientos C5_{6a}, L3₆ y L1_{3a} se agruparon con la especie *P. chrysogenum* que también pertenece a la sección *Chrysogena*. Otro de los subclados fue el constituido por el aislamiento L11_{2b} que se agrupó indistintamente con las especies *P. olsonii* y *P. brevicompactum*, ambas pertenecientes a la sección *Brevicompacta*. Los aislamientos S1_{4a} y C6_{2a} quedaron sin agrupar con ninguna de las especies. Finalmente, los aislamientos L1_{2a} y C15₆ quedaron agrupados con la secuencia tipo de la especie *P. glabrum*.

Este marcador no fue capaz de resolver los distintos subgéneros dentro del género *Penicillium* así como tampoco fue capaz de resolver las secciones a las que correspondieron los aislamientos dentro del subgénero *Penicillium*.

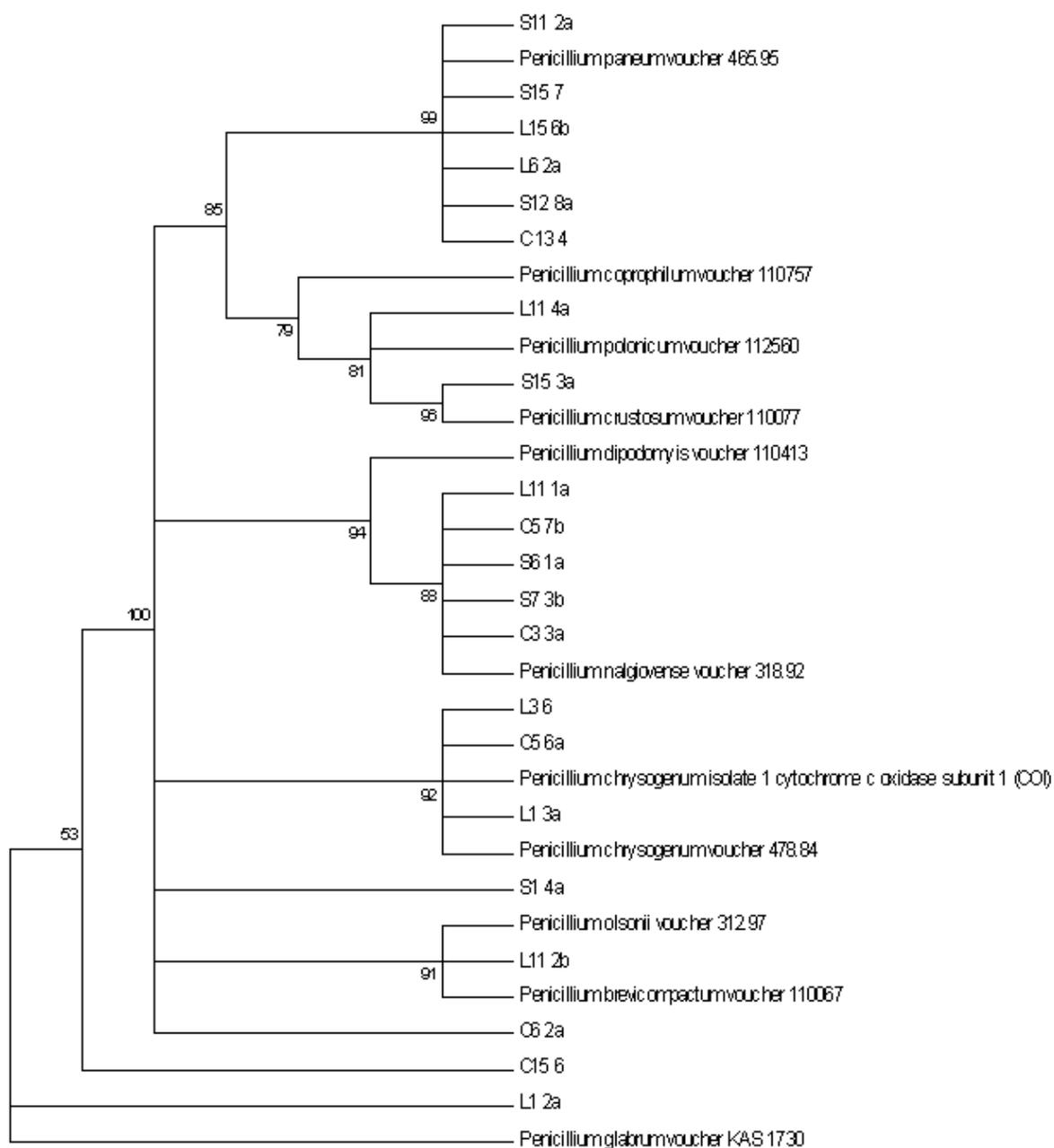


Fig. 8. Árbol filogenético con base en el método de Máxima Parsimonia utilizando las secuencias de *COX1* de 21 aislamientos obtenidos en el presente trabajo y las secuencias depositadas en el GenBank. En los nodos se muestran los valores de bootstrap mayores al 50% basados en 1000 réplicas. Se utilizó como referencia externa a la especie *P. glabrum*.

6.3- Especies presentes en los distintos productos cárnicos fermentados secos

A partir del análisis de cuarenta y cinco unidades de productos cárnicos fermentados secos, considerando salamines, longanizas y chacareros se aislaron e identificaron ocho especies pertenecientes al género *Penicillium*, una especie perteneciente al género *Talaromyces* y una especie perteneciente al género *Cladosporium*.

6.3.1- Especies fúngicas presentes en salamines

A partir del análisis de los quince salamines provenientes de las empresas A, B y C se comprobó que el número de aislamientos correspondientes a las levaduras fue significativamente mayor al número de aislamientos correspondientes a los hongos filamentosos ($p < 0,05$). Los hongos filamentosos aislados de estos quince productos cárnicos se correspondieron con cinco especies pertenecientes al género *Penicillium*. Las levaduras no fueron identificadas (Tabla 6).

Considerando el conjunto constituido por los cinco salamines provenientes de la empresa A, se observaron diferencias significativas entre el número de aislamientos correspondientes a los hongos filamentosos y los aislamientos correspondientes a las levaduras ($p < 0,05$). A partir del análisis de esos salamines se aislaron e identificaron *P. vanluykii* y *P. nalgiovense*, siendo *P. vanluykii* la especie más abundante con una densidad del 71,7 % (Tabla 6).

En los salamines correspondientes a la empresa B se aisló e identificó únicamente la especie *P. nalgiovense* (Tabla 6). Considerando el conjunto constituido por los cinco salamines elaborados por esta empresa, no se encontraron diferencias significativas entre el número de aislamientos correspondientes a los hongos filamentosos y el número de aislamientos correspondientes a las levaduras ($p > 0,05$).

Finalmente, en los cinco salamines pertenecientes a la empresa C los hongos filamentosos aislados correspondieron a varias especies pertenecientes al género *Penicillium*. Las especies fueron: *P. nalgiovense*, *P. crustosum*, *P. coprophilum* y *P. paneum*. La especie *P. nalgiovense* fue la que predominó con una densidad de aparición de 86,9 % (Tabla 6). Considerando el conjunto constituido por los cinco

salamines correspondientes a esta empresa, el número de aislamientos correspondientes a los hongos filamentosos fue significativamente menor al número de aislamientos correspondientes a las levaduras ($p < 0,05$).

Tabla 6. Número de propágulos (10^4)/ cm^2 provenientes de los salamines

Especies	Empresa A		Empresa B		Empresa C	
	Nº propágulos/ cm^2	Densidad de aparición (%)	Nº propágulos/ cm^2	Densidad de aparición (%)	Nº propágulos/ cm^2	Densidad de aparición (%)
<i>P. coprophilum</i>	0	0	0	0	13	0,3
<i>P. crustosum</i>	0	0	0	0	477	9,6
<i>P. nalgiovense</i>	153	28,3	6100	100	4320	86,9
<i>P. paneum</i>	0	0	0	0	160	3,2
<i>P. vanluykii</i>	387	71,7	0	0	0	0
Total hongos filamentosos	540		6100		4970	
Total levaduras	7200		16000		23000	

6.3.2- Especies fúngicas presentes en longanizas

A partir del análisis de las quince longanizas correspondientes a las marcas comerciales A, B y C se comprobó que el número de aislamientos correspondientes a los hongos filamentosos fue significativamente menor al número de aislamientos correspondientes a las levaduras ($p < 0,05$). Los hongos filamentosos se correspondieron con cinco especies pertenecientes al género *Penicillium* y una especie perteneciente al género *Cladosporium*. Las levaduras no fueron identificadas (Tabla 7).

A partir del análisis de las cinco longanizas provenientes de la empresa A se aislaron e identificaron dos especies pertenecientes al género *Penicillium*: *P. glabrum* y *P. vanluykii*, siendo esta última la especie más abundante en todas las longanizas provenientes de la empresa A, con una densidad del 86,7 % (Tabla 7). En el conjunto constituido por las cinco longanizas correspondientes a la marca A, se encontraron

diferencias significativas entre el número de aislamientos correspondientes a los hongos filamentosos y el número de aislamientos correspondientes a las levaduras ($p < 0,05$).

En las longanizas correspondientes a la marca B se aislaron dos especies de *Penicillium* distintas: *P. nalgiovense* y *P. polonicum*. La especie perteneciente al género *Cladosporium* fue *Cladosporium cladosporioides*. En las longanizas de esta empresa, *P. nalgiovense* fue la especie más abundante (91,6 %) (Tabla 7). Considerando el conjunto constituido por las cinco longanizas correspondientes a la empresa B, el número de aislamientos correspondientes a los hongos filamentosos fue significativamente menor al número de aislamientos correspondientes a las levaduras ($p < 0,05$).

Finalmente, en las cinco longanizas provenientes de la empresa C, los hongos filamentosos aislados correspondieron todos a especies pertenecientes al género *Penicillium*: *P. nalgiovense*, *P. salamii*, *P. polonicum* y *P. vanluykii*. *P. nalgiovense* fue la especie que predominó con una densidad de aparición de 72,8 % (Tabla 7). En las longanizas pertenecientes a la empresa C, también se encontraron diferencias significativas entre el número de aislamientos correspondientes a los hongos filamentosos y el número de aislamientos correspondientes a las levaduras ($p < 0,05$).

Tabla 7. Número de propágulos (10^4)/cm² provenientes de las longanizas

Especies	Empresa A		Empresa B		Empresa C	
	Nº. propágulos/cm ²	Densidad de aparición (%)	Nº propágulos/cm ²	Densidad de aparición (%)	Nº propágulos/cm ²	Densidad de aparición (%)
<i>P. glabrum</i>	100	13,3	0	0	0	0
<i>P. nalgiovense</i>	0	0	840	91,6	420	72,8
<i>P. polonicum</i>	0	0	74	8,1	36	6,2
<i>P. salamii</i>	0	0	0	0	120	20,8
<i>P. vanluykii</i>	650	86,7	0	0	1	0,2
<i>C. cladosporioides</i>	0	0	3	0,3	0	0
Total filamentosos	750		917		577	
Total levaduras	7100		26000		5200	

6.3.3- Especies fúngicas presentes en chacareros

El análisis de los quince chacareros provenientes de las empresas A, B y C mostró que el número de aislamientos correspondientes a los hongos filamentosos fue significativamente menor al número de aislamientos correspondientes a las levaduras ($p < 0,05$).

Los hongos filamentosos correspondieron al género *Penicillium*, una especie al género *Talaromyces* y una especie al género *Cladosporium*. Las levaduras no fueron identificadas (Tabla 8).

Los resultados obtenidos mostraron que a partir del análisis de los cinco chacareros provenientes de la empresa A se aislaron e identificaron dos especies pertenecientes al género *Penicillium*. Dentro de este género se identificaron *P. nalgiovense* y *P. vanluykii*, siendo esta última la especie más abundante en todos los chacareros provenientes de la empresa A. Su densidad de aparición fue del 80,9 % (Tabla 8). Considerando el conjunto constituido por los cinco chacareros

correspondientes a la empresa A, se observaron diferencias significativas entre el número de aislamientos correspondientes a los hongos filamentosos y el número de aislamientos correspondientes a las levaduras ($p < 0,05$).

En los productos correspondientes a la marca B, los hongos filamentosos correspondieron a *Talaromyces amestolkiae* y a *C. cladosporioides*. *T. amestolkiae* fue la especie más abundante con una densidad de aparición de 99,6 % (Tabla 8). Considerando el conjunto constituido por los cinco chacareros correspondientes a la empresa B, el número de aislamientos de los hongos filamentosos fue significativamente menor al número de aislamientos correspondientes a las levaduras ($p < 0,05$).

Por último, en los cinco chacareros pertenecientes a la empresa C los hongos filamentosos aislados correspondieron todos a especies pertenecientes al género *Penicillium*: *P. glabrum* y *P. paneum*. La especie *P. glabrum* fue la que predominó con una densidad de aparición de 63,6 % (Tabla 8). Se destacó la ausencia de hongos filamentosos en uno de estos productos. Considerando el conjunto constituido por los cinco chacareros correspondientes a la empresa C, el número de aislamientos correspondientes a los hongos filamentosos fue significativamente menor al número de aislamientos correspondientes a las levaduras ($p < 0,05$).

Tabla 8. Número de propágulos (10^4)/ cm^2 provenientes de los chacareros

Especies	Empresa A		Empresa B		Empresa C	
	Nº propágulos/ cm^2	Densidad de aparición (%)	Nº propágulos/ cm^2	Densidad de aparición (%)	Nº propágulos/ cm^2	Densidad de aparición (%)
<i>P. glabrum</i>	0	0	0	0	7	63,6
<i>P. nalgiovense</i>	130	19,1	0	0	0	0
<i>P. paneum</i>	0	0	0	0	4	36,4
<i>P. vanluykii</i>	550	80,9	0	0	0	0
<i>T. amestolkiae</i>	0	0	267	99,6	0	0
<i>C. cladosporioides</i>	0	0	1	0,4	0	0
Total filamentosos	680		268		11	
Total levaduras	5700		15000		14800	

6.4- Variabilidad genética (RAMS)

Los resultados de la amplificación de los 34 aislamientos con los marcadores CCA, CGA, (GACA)₄, GAG (CAA)₅ y (GTG)₅ produjeron veintidos, veinticuatro, veintiuno, veintidos y veintitres patrones de banda diferentes respectivamente (Fig. 16 a 20, Anexo 10.4.5). Estos patrones de banda obtenidos con cada uno de los marcadores no se correlacionaron con las especies así como tampoco con los sustratos a partir de los cuales fueron aislados.

Los once aislamientos identificados como *P. vanluykii* presentaron cinco patrones genéticos con diferente número de bandas con el cebador CCA y cuyos tamaños estuvieron comprendidos entre los 500 y 3800 pb. Con el cebador CGA presentaron seis patrones de banda diferentes con entre dos y nueve bandas con pesos moleculares comprendidos entre los 450 y 4200 pb mientras que con el marcador (GACA)₄, *P. vanluykii* presentó cinco perfiles genéticos diferentes constituidos por cuatro y cinco loci cuyos tamaños variaron entre los 400 y 3500 pb. Con el marcador GAG (CAA)₅ se obtuvieron cinco patrones genéticos diferentes constituidos por entre dos y siete loci con pesos moleculares comprendidos entre los 600 y 5000 pb. En tanto, con (GTG)₅, los once aislamientos presentaron cinco patrones de banda diferentes constituidos por entre tres y siete bandas comprendidas entre los 500 y 4200 pb (Tabla 9; Fig. 11 a 15, Anexo 10.4.5).

Tabla 9. Patrones de banda correspondientes a la especie *P. vanluykii* con los distintos cebadores RAMS

<i>P. vanluykii</i>		
Marcador	Patrones de banda	Aislamientos
CCA	Patrón 1: 3800, 3200, 2200, 2000, 600, 500	1, 2 y 3
	Patrón 2: 2000, 1200, 700	8, 9, 10 y 11
	Patrón 3: 3800, 3200, 2500, 2000, 1800, 1500, 1200, 600	12 y 14
	Patrón 4: 1700, 800, 600, 550	22
	Patrón 5: 2500, 800	36
CGA	Patrón 1: 4200, 3500, 3000, 2800, 2200, 1700, 1500, 550, 450	1, 2 y 3
	Patrón 2: 3500, 1600, 1500, 1000, 550	8, 9 y 12
	Patrón 3: 4200, 3500, 3000, 2800, 2200, 1700, 1500, 1000, 550	10
	Patrón 4: 1500, 1400	14 y 17
	Patrón 5: 1300, 1000, 800, 500	34
	Patrón 6: 3000, 2000, 1250	36
(GACA) ₄	Patrón 1: 1600, 1500, 1200, 1000, 650	1, 2 y 3
	Patrón 2: 2000, 1750, 1200, 900, 700	8, 9, 10 y 12
	Patrón 3: 3500, 1750, 1600, 1000, 700	13 y 14
	Patrón 4: 1100, 650, 500, 400	35
	Patrón 5: 3500, 2900, 1750, 1500, 1300	36
GAG (CAA) ₅	Patrón 1: 2800, 2000, 1600, 1300	1, 2 y 3
	Patrón 2: 2000, 1800, 1350, 800	8, 9, 10 y 11
	Patrón 3: 5000, 4000, 3000, 2000, 1600, 1300, 800, 700, 600	14 y 17
	Patrón 4: 2500, 1800, 1500	22
	Patrón 5: 3000, 2100, 2000	36
(GTG) ₅	Patrón 1: 4000, 3000, 2500, 2000, 1800, 1600, 1250	1, 2 y 3
	Patrón 2: 4200, 3500, 3000, 1800	8, 9, 10 y 11
	Patrón 3: 3000, 2500, 2000, 1800, 1250, 800	13 y 14
	Patrón 4: 1800, 1600, 1500, 1000, 600, 500	34
	Patrón 5: 2500, 1800, 1500	36

Los doce aislamientos pertenecientes a *P. nalgiovense* mostraron diez perfiles genéticos diferentes con el marcador CCA con entre dos y ocho bandas cuyos tamaños estuvieron comprendidos entre los 400 y 3800 pb. Con el cebador CGA

también presentaron diez perfiles genéticos diferentes que mostraron entre una y nueve bandas con tamaños que variaron entre los 450 y 3500 pb. El marcador (GACA)₄ produjo nueve patrones de banda diferentes que estuvieron constituidos por entre dos y seis bandas cuyos tamaños variaron entre los 400 y 3500 pb. Con el marcador GAG (CAA)₅ se obtuvieron nueve patrones de banda diferentes constituidos por entre tres y nueve loci de entre 600 y 6000 pb. En tanto, con (GTG)₅ los aislamientos mostraron ocho perfiles genéticos diferentes en los que se observaron entre dos y seis bandas comprendidas entre los 450 y 3500 pb (Tabla 10; Fig. 11 a 15, Anexo 10.4.5).

Tabla 10. Patrones de banda correspondientes a la especie *P. nalgiovense* con los distintos cebadores RAMS

<i>P. nalgiovense</i>		
Marcador	Patrones de banda	Aislamientos
CCA	Patrón 1: 3800, 3200, 2500, 2000, 1800, 1500, 1200	4 y 5
	Patrón 2: 2500, 2000, 1500, 1200	6 y 7
	Patrón 3: 3800, 3200, 2500, 2000, 1800, 1500, 1200, 600	13
	Patrón 4: 1600, 1400, 1300, 500	16
	Patrón 5: 2500, 2000, 1500, 1200	17
	Patrón 6: 2000, 1600, 1000, 500, 400	26
	Patrón 7: 800, 500	27
	Patrón 8: 2200, 1800, 1300, 800, 600, 400	28
	Patrón 9: 2200, 1800, 800	31
	Patrón 10: 2200, 1800, 1400, 800	32
CGA	Patrón 1: 3500, 2800, 2000, 1600, 1400, 1000, 550, 450	4, 5 y 6
	Patrón 2: 3500, 2800, 2000, 1600, 1400, 1000, 750, 550, 450	7
	Patrón 3: 1600, 1500, 1400, 1000, 550	11
	Patrón 4: 3500, 2800, 2000, 1600, 1400, 1000, 550, 450	13
	Patrón 5: 550	16
	Patrón 6: 1700, 1500, 1000, 800, 500	24
	Patrón 7: 3000, 2500, 2000, 1600, 1500, 700, 500	26
	Patrón 8: 3000, 2800, 2500, 1600, 1000, 800, 500	30
	Patrón 9: 1000, 500	31
	Patrón 10: 1300, 100, 800, 500	35
(GACA) ₄	Patrón 1: 1200, 650	4, 5 y 6

	Patrón 2: 3500, 1750, 1500, 650	7
	Patrón 3: 3500, 2900, 2000, 1750	11
	Patrón 4: 3500, 2900, 2000, 1500, 1000, 700	16
	Patrón 5: 3500, 1750, 1600, 1000, 700	17
	Patrón 6: 1300, 900, 600, 500, 400	24
	Patrón 7: 1200, 650	25
	Patrón 8: 2000, 1400, 1100, 850, 550	26
	Patrón 9: 1000, 900, 600, 500, 400	30, 32
GAG (CAA) ₅	Patrón 1: 6000, 4000, 3000, 1600, 1300, 900	4 y 5
	Patrón 2: 3000, 2000, 800	6, 7 y 12
	Patrón 3: 5000, 4000, 3000, 2000, 1600, 1300, 800, 700, 600	13
	Patrón 4: 5000, 3000, 1600, 1300	16
	Patrón 5: 4000, 3800, 2100, 2000, 1800, 1600, 1300, 900	26
	Patrón 6: 3000, 1700, 1300, 1000	27
	Patrón 7: 3000, 1700, 1300	28
	Patrón 8: 5000, 3000, 1700, 1300, 600	31
	Patrón 9: 3000, 1700, 1300, 800, 600	33
(GTG) ₅	Patrón 1: 2000, 1600, 1250	4, 5, 6, 7 y 12
	Patrón 2: 2000, 500	16
	Patrón 3: 3000, 2500, 2000, 1800, 1250, 800	17
	Patrón 4: 3500, 3000	24
	Patrón 5: 2000, 1700, 1500, 800, 600, 450	26
	Patrón 6: 1500, 800, 700, 500	27
	Patrón 7: 3000, 2000, 1500, 700, 500	30
	Patrón 8: 1100, 700	31

La especie *P. polonicum* representada por tres aislamientos, presentó dos patrones de bandas con el marcador CCA constituidos cada uno por cinco bandas con pesos moleculares que variaron entre los 400 y 2000 pb. Con el cebador CGA, cada aislamiento mostró un perfil genético diferente con seis bandas en dos de los aislamientos y con ocho bandas en el restante aislamiento. Los tamaños de dichas bandas estuvieron comprendidos entre los 450 y 2500 pb. El marcador (GACA)₄ produjo tres perfiles genéticos constituidos por cinco bandas en dos de ellos y por seis bandas en el restante y cuyos pesos moleculares variaron entre los 400 y 2000 pb. Con el marcador GAG (CAA)₅, los tres aislamientos presentaron dos patrones de banda diferentes que mostraron una y nueve bandas de entre 800 y 4000 pb. El

cebador (GTG)₅ produjo tres patrones de banda diferentes con cinco, seis y siete bandas con tamaños comprendidos entre los 450 y 2500 pb (Tabla 11; Fig. 11-15, Anexo 10.4.5).

Tabla 11. Patrones de banda correspondientes a la especie *P. polonicum* con los distintos cebadores RAMS

<i>P. polonicum</i>		
Marcador	Patrones de banda	Aislamientos
CCA	Patrón 1: 2000, 1700, 1000, 550, 400	23
	Patrón 2: 2000, 1700, 1500, 1000, 500	29 y 34
CGA	Patrón 1: 2500, 1500, 1400, 700, 650, 500	22
	Patrón 2: 1600, 1500, 1000, 900, 800, 450	29
	Patrón 3: 2500, 1500, 1300, 900, 800, 700, 600, 450	32
(GACA) ₄	Patrón 1: 1000, 900, 800, 500, 400	22
	Patrón 2: 1300, 1000, 800, 550, 400	28
	Patrón 3: 2000, 1300, 1000, 800, 500, 450	33
GAG (CAA) ₅	Patrón 1: 4000, 3800, 2500, 2100, 2000, 1800, 1500, 1300, 800	23 y 34
	Patrón 2: 1300	29
(GTG) ₅	Patrón 1: 2500, 2000, 1800, 1250, 800, 600, 500	22
	Patrón 2: 2200, 2000, 1500, 800, 700, 450	28
	Patrón 3: 2000, 1500, 800, 600, 450	32

El patrón de bandas obtenido con el marcador CCA para los dos aislamientos identificados como *P. paneum* presentaron cuatro bandas cada uno, pero de tamaños diferentes que estuvieron comprendidos entre los 500 y 2500 pb. Con el cebador CGA mostraron patrones constituidos por tres bandas cada uno y cuyos pesos moleculares variaron entre los 450 y 1300 pb mientras que con el cebador (GACA)₄ también presentó patrones de banda diferentes que mostraron dos y cuatro

bandas de entre 400 y 2500 pb. El marcador GAG (CAA)₅ produjo perfiles genéticos diferentes que mostraron dos y seis bandas y cuyos tamaños estuvieron comprendidos entre los 700 y 3800 pb. Mientras que, con (GTG)₅ los patrones de banda también fueron diferentes presentando dos y tres bandas con tamaños que variaron entre los 600 y 2500 pb (Tabla 12; Fig. 11 a 15, Anexo 10.4.5).

Tabla 12. Patrones de banda correspondientes a la especie *P. paneum* con los distintos cebadores RAMS

<i>P. paneum</i>		
Marcador	Patrones de banda	Aislamientos
CCA	Patrón 1: 2000, 1500, 800, 500	18
	Patrón 2: 2500, 2000, 800, 500	19
CGA	Patrón 1: 1300, 600, 500	18
	Patrón 2: 1300, 700, 450	19
(GACA) ₄	Patrón 1: 2500, 1000, 800, 500	18
	Patrón 2: 1750, 400	19
GAG (CAA) ₅	Patrón 1: 3800, 3000, 2000, 1500, 1000, 700	18
	Patrón 2: 2000, 1500	19
(GTG) ₅	Patrón 1: 2500, 1000, 800	18
	Patrón 2: 700, 600	19

Los dos aislamientos correspondientes a *P. glabrum* presentaron diferentes perfiles genéticos con CCA mostrando ambos una banda cada uno pero con distintos tamaños, 800 y 900 pb. Con el cebador CGA también presentaron distintos perfiles genéticos, presentando en un caso ocho bandas y en el otro cinco bandas con tamaños comprendidos entre los 450 y 4000 pb mientras que con (GACA)₄, uno de los aislamientos presentó un patrón constituido por tres bandas y el otro un patrón de

seis bandas. Los tamaños de éstas estuvieron comprendidos entre los 400 y 2500 pb. Con el marcador GAG (CAA)₅ los perfiles genéticos fueron diferentes y si bien mostraron dos bandas cada uno, los tamaños de éstas fueron diferentes y variaron entre los 700 y 1800 pb. El cebador (GTG)₅ produjo perfiles genéticos distintos constituidos por dos y siete bandas. Éstas presentaron pesos moleculares de entre 450 y 3000 pb (Tabla 13; Fig. 11 a 15, Anexo 10.4.5).

Tabla 13. Patrones de banda correspondientes a la especie *P. glabrum* con los distintos cebadores RAMS

<i>P. glabrum</i>		
Marcador	Patrones de banda	Aislamientos
CCA	Patrón 1: 800	21
	Patrón 2: 900	24
CGA	Patrón 1: 1700, 1200, 600, 500, 450	21
	Patrón 2: 4000, 3000, 2500, 2000, 1700, 1250, 700, 500	23
(GACA) ₄	Patrón 1: 600, 450, 400	21
	Patrón 2: 2500, 1500, 800, 600, 550, 400	23
GAG (CAA) ₅	Patrón 1: 1800, 700	21
	Patrón 2: 1800, 800	24
(GTG) ₅	Patrón 1: 3000, 2800, 1600, 1500, 900, 500, 450	21
	Patrón 2: 900, 550	23

El único aislamiento identificado como *P. crustosum* presentó un perfil genético con CCA constituido por cuatro bandas cuyos tamaños estuvieron comprendidos entre los 500 y 1600 pb. Con el cebador CGA, presentó un patrón de bandas caracterizado por estar constituido por una sola banda cuyo tamaño fue de 550 pb mientras que con el marcador (GACA)₄ presentó un perfil genético formado por seis bandas de entre 700

y 3500 pb. El marcador GAG (CAA)₅ mostró un perfil genético formado por cuatro bandas cuyos tamaños variaron entre los 1300 y 5000 pb. Con (GTG)₅ se obtuvo un patrón de bandas constituido por tres bandas de entre 1000 y 3000 pb (Tabla 14; Fig. 11 a 15, Anexo 10.4.5).

Tabla 14. Patrones de banda correspondientes a la especie *P. crustosum* con los distintos cebadores RAMS

<i>P. crustosum</i>		
Marcador	Patrones de banda	Aislamientos
CCA	Patrón 1: 1600, 1400, 1300, 500	15
CGA	Patrón 1: 550	15
(GACA) ₄	Patrón 1: 3500, 2900, 2000, 1500, 1000, 700	15
GAG (CAA) ₅	Patrón 1: 5000, 3000, 1600, 1300	15
(GTG) ₅	Patrón 1: 3000, 2000, 1000	15

Con el marcador CCA, el único aislamiento de *P. coprophilum* presentó un perfil genético con cuatro bandas cuyos tamaños estuvieron comprendidos entre los 400 y 2000 pb. El cebador CGA produjo un patrón de bandas caracterizado por estar constituido por una sola banda cuyo tamaño fue de 1200 pb mientras que con el marcador (GACA)₄ presentó un perfil genético constituido por dos bandas de 450 y 1500 pb. Con el marcador GAG (CAA)₅ el aislamiento presentó un patrón formado por cuatro bandas cuyos tamaños estuvieron comprendidos entre los 700 y 1600 pb. Mientras tanto, con (GTG)₅ el aislamiento presentó un patrón de bandas constituido por cinco bandas de entre 700 y 2500 pb (Tabla 15; Fig. 11 a 15, Anexo 10.4.5).

Tabla 15. Patrones de banda correspondientes a la especie *P. coprophilum* con los distintos cebadores RAMS

<i>P. coprophilum</i>		
Marcador	Patrones de banda	Aislamientos
CCA	Patrón 1: 2000, 1000, 500, 400	20
CGA	Patrón 1: 1200	20
(GACA) ₄	Patrón 1: 1500, 450	20
GAG (CAA) ₅	Patrón 1: 1600, 1300, 900, 700	20
(GTG) ₅	Patrón 1: 2500, 1800, 1500, 1000, 700	20

El aislamiento identificado como *P. salamii* presentó un perfil genético con CCA mostrando cinco bandas cuyos tamaños estuvieron comprendidos entre los 600 y 2000 pb. El cebador CGA también presentó un patrón constituido por cinco bandas de entre 500 y 1700 pb al igual que con el marcador (GACA)₄ que también presentó un perfil genético constituido por cinco bandas pero en este caso con pesos moleculares de entre 400 y 1100 pb. Con el marcador GAG (CAA)₅ el aislamiento presentó un perfil genético formado por tres bandas cuyos tamaños estuvieron comprendidos entre los 900 y 1600 pb y con el cebador (GTG)₅ el aislamiento presentó un patrón de bandas constituido por cinco bandas de entre 500 y 3000 pb (Tabla 16; Fig. 11 a 15, Anexo 10.4.5).

Tabla 16. Patrones de banda correspondientes a la especie *P. salamii* con los distintos cebadores RAMS

<i>P. salamii</i>		
Marcador	Patrones de banda	Aislamientos
CCA	Patrón 1: 2000, 1500, 1100, 1000, 600	33
CGA	Patrón 1: 1700, 1300, 1200, 600, 500	33
(GACA) ₄	Patrón 1: 1100, 550, 500, 450, 400	34
GAG (CAA) ₅	Patrón 1: 1600, 1000, 900	35
(GTG) ₅	Patrón 1: 3000, 2000, 1500, 800, 500	33

El aislamiento identificado como *T. amestolkiae* presentó un perfil genético con CCA constituido por seis bandas cuyos tamaños estuvieron comprendidos entre los 500 y 2000 pb. Con CGA presentó nueve bandas cuyos pesos moleculares variaron entre los 450 y 3000 pb mientras que con el marcador (GACA)₄ presentó un perfil formado por cinco bandas de entre 400 y 1100 pb. Los marcadores GAG (CAA)₅ y (GTG)₅ produjeron perfiles genéticos constituidos por siete bandas de entre 600 y 5000 pb y por nueve bandas de entre 500 y 2800 pb, respectivamente (Tabla 17; Fig. 11 a 15, Anexo 10.4.5).

Tabla 17. Patrones de banda correspondientes a la especie *T. amestolkiae* con los distintos cebadores RAMS

<i>T. amestolkiae</i>		
Marcador	Patrones de banda	Aislamientos
CCA	Patrón 1: 2000, 1600, 1500, 1200, 1000, 500	30
CGA	Patrón 1: 3000, 2800, 2500, 1600, 1250, 1000, 700, 600, 500, 450	28

(GACA) ₄	Patrón 1: 1100, 550, 500, 450, 400	29
GAG (CAA) ₅	Patrón 1: 5000, 3000, 2100, 1600, 1250, 750, 600	30
(GTG) ₅	Patrón 1: 2800, 2700, 2500, 2000, 1700, 1500, 1000, 700, 500	29

6.5- Capacidad toxicogénica

En la mayoría de los casos la toxicidad se evidenció en la dilución menor (1/10), encontrándose diferencias significativas ($p < 0.05$) en el efecto de los filtrados (Anexo 10.4.4).

6.5.1- Capacidad toxicogénica de las cepas fúngicas aisladas a partir de los salamines

Las cepas pertenecientes a las especies *P. coprophilum* y *P. paneum* presentaron una leve toxicidad. Por el contrario, las cepas pertenecientes a las especies *P. vanluykii* y *P. crustosum* no fueron tóxicas. Se destacó la presencia de cepas correspondientes a *P. nalgiovense* que fueron no tóxicas y otras que fueron débilmente tóxicas (Tabla 18).

Tabla 18. Toxicidad sobre *A. salina* de los filtrados (1/10) de las cepas fúngicas aisladas de los salamines

Especies	Nº aislamientos	% mortalidad (mín)	% mortalidad (máx)	% mortalidad (prom)	Toxicidad	Empresa
<i>P. coprophilum</i>	1	10,9	10,9	10,9	DT	C
<i>P. crustosum</i>	10	0	1,1	0,67	NT	C
<i>P. nalgiovense</i>	10	0	1,1	0,59	NT	A
<i>P. nalgiovense</i>	10	0	1,3	0,90	NT	B
<i>P. nalgiovense</i>	10	0	1,5	0,57	NT	B
<i>P. nalgiovense</i>	10	0	1,3	0,9	NT	C
<i>P. nalgiovense</i>	10	0	1,2	0,54	NT	C
<i>P. nalgiovense</i>	10	0	1,2	0,53	NT	C
<i>P. nalgiovense</i>	10	12,4	26,8	20,2	DT	C
<i>P. paneum</i>	10	9,9	23,1	17,8	DT	C
<i>P. vanluykii</i>	10	0	1,1	0,23	NT	A
<i>P. vanluykii</i>	10	0	1,8	0,61	NT	A
<i>P. vanluykii</i>	10	0	1,8	0,83	NT	A

DT: débilmente tóxica

NT: no tóxica

6.5.2- Capacidad toxicogénica de las cepas fúngicas aisladas a partir de las longanizas

Del conjunto de las quince longanizas se aislaron cepas fúngicas pertenecientes a las especies *P. glabrum* y *C. cladosporioides* que fueron no tóxicas. Sin embargo, las cepas pertenecientes a las especies *P. polonicum* y *P. salamii* fueron débilmente tóxicas. Al igual que con los salamines, las cepas pertenecientes a *P. nalgiovense* fueron débilmente tóxicas en tanto otras fueron no tóxicas. Por su parte, las cepas pertenecientes a *P. vanluykii* presentaron el mismo comportamiento que las cepas de *P. nalgiovense* (Tabla 19).

Tabla 19. Toxicidad sobre *A. salina* de los filtrados (1/10) de las cepas fúngicas aisladas de las longanizas

Especies	Nº aislamientos	% mortalidad (mín)	% mortalidad (máx)	% mortalidad (prom)	Toxicidad	Empresa
<i>P. glabrum</i>	10	0	0,6	0,21	NT	A
<i>P. nalgiovense</i>	10	0	0,6	0,17	NT	B
<i>P. nalgiovense</i>	10	10,3	24,8	17,1	DT	B
<i>P. nalgiovense</i>	10	0	0,6	0,26	NT	C
<i>P. polonicum</i>	10	10,9	23,9	17,4	DT	B
<i>P. polonicum</i>	10	2,7	28,8	18,2	DT	B
<i>P. polonicum</i>	10	7,5	22,8	15,9	DT	B
<i>P. polonicum</i>	2	10,6	12,5	11,5	DT	B
<i>P. polonicum</i>	10	9,4	22,5	17,0	DT	C
<i>P. polonicum</i>	10	16,2	31,2	21,6	DT	C
<i>P. salami</i>	10	10,6	26,9	16,5	DT	C
<i>P. vanluykii</i>	10	11,7	28,6	19,4	DT	A
<i>P. vanluykii</i>	10	0	0,6	0,19	NT	A
<i>P. vanluykii</i>	1	0	0	0	NT	A
<i>P. vanluykii</i>	1	0	0	0	NT	C
<i>C. cladosporioides</i>	2	0	0	0	NT	B

DT: débilmente tóxica

NT: no tóxica

6.5.3- Capacidad toxicogénica de las cepas fúngicas aisladas a partir de los chacareros

En estos productos las cepas pertenecientes a las especies *P. glabrum*, *P. vanluykii*, *T. amestolkiae* y *C. cladosporioides* fueron no tóxicas. Las cepas pertenecientes a

P. paneum fueron débilmente tóxicas mientras que las cepas pertenecientes a *P. nalgiovense* fueron no tóxicas ó débilmente tóxicas (Tabla 20).

Tabla 20. Toxicidad sobre *A. salina* de los filtrados (1/10) de las cepas fúngicas aisladas de los chacareros

Especies	Nº aislamientos	% mortalidad (mín)	% mortalidad (máx)	% mortalidad (prom)	Toxicidad	Empresa
<i>P. glabrum</i>	1	0,4	0,4	0,4	NT	C
<i>P. nalgiovense</i>	2	11,5	13,4	12,5	DT	A
<i>P. nalgiovense</i>	10	0,1	0,7	0,35	NT	A
<i>P. paneum</i>	1	10,4	10,4	10,4	DT	C
<i>P. paneum</i>	1	11,8	11,8	11,8	DT	C
<i>P. vanluykii</i>	10	0	0,7	0,24	NT	A
<i>P. vanluykii</i>	10	0	0,4	0,08	NT	A
<i>P. vanluykii</i>	10	0	0,7	0,31	NT	A
<i>P. vanluykii</i>	10	0	0,7	0,23	NT	A
<i>T. amestolkiae</i>	10	0	0,7	0,12	NT	B
<i>T. amestolkiae</i>	10	0	0,7	0,3	NT	B
<i>T. amestolkiae</i>	2	0,2	0,2	0,2	NT	B
<i>C. cladosporioides</i>	1	0,2	0,2	0,2	NT	B

DT: débilmente tóxica

NT: no tóxica

6.6- Detección de metabolitos secundarios

6.6.1- Evaluación de la producción de micotoxinas

Del total de las especies evaluadas, *P. paneum*, *P. coprophilum*, *P. salamii* y *P. polonicum* presentaron capacidad de producir estos metabolitos secundarios, representando el 40% del total de las especies y el 23% del total de los aislamientos identificados. Por otra parte, el 50% de las especies del género *Penicillium* fueron micotoxicogénicas.

6.6.1.1- Evaluación de la producción de micotoxinas por parte de las cepas fúngicas aisladas a partir de salamines

P. coprophilum aislada de los salamines de la empresa C fue la única capaz de producir la OA mientras que las cepas pertenecientes a *P. paneum* fueron capaces

de producir PAT. Ninguna cepa fúngica aislada de este tipo de productos cárnicos fue capaz de producir CIT así como tampoco ACP (Tabla 21).

Tabla 21. Determinación de la producción de MCTX por parte las cepas fúngicas tóxicas aisladas a partir de los salamines

Especies	Nº aislamientos	Empresa	ACP	CIT	OA	PAT
<i>P. coprophilum</i>	1	C	-	-	+	-
<i>P. nalgiovense</i>	10	C	-	-	-	-
<i>P. paneum</i>	10	C	-	-	-	+

6.6.1.2- Evaluación de la producción de micotoxinas por parte de las cepas fúngicas aisladas a partir de longanizas

Las cepas correspondientes a la especie *P. polonicum* fueron las únicas capaces de producir OA. Por su parte las cepas correspondientes a la especie *P. salamii* fueron las únicas capaces de producir CIT. Ninguna de las cepas fúngicas fueron capaces de producir ACP y tampoco PAT (Tabla 22).

Tabla 22. Determinación de la producción de MCTX por parte las cepas fúngicas tóxicas aisladas a partir de las longanizas

Especies	Nº aislamientos	Empresa	ACP	CIT	OA	PAT
<i>P. vanluykii</i>	10	A	-	-	-	-
<i>P. nalgiovense</i>	10	B	-	-	-	-
<i>P. polonicum</i>	32	B	-	-	+	-
<i>P. polonicum</i>	20	C	-	-	+	-
<i>P. salamii</i>	10	C	-	+	-	-

6.6.1.3- Evaluación de la producción de micotoxinas por parte de las cepas fúngicas aisladas a partir de chacareros

De este tipo de productos se aislaron cepas capaces de producir únicamente PAT. Éstas, pertenecieron a la especie *P. paneum*. No se aislaron cepas capaces de producir ACP, CIT y OA (Tabla 23).

Tabla 23. Determinación de la producción de MCTX por parte las cepas fúngicas tóxicas aisladas a partir de los chacareros

Especies	Nº aislamientos	Empresa	ACP	CIT	OA	PAT
<i>P. nalgiovense</i>	2	A	-	-	-	-
<i>P. paneum</i>	2	C	-	-	-	+

6.6.2- Evaluación de la producción de metabolitos del indol

Se realizó la evaluación de la producción de metabolitos del indol en la cual se evidenció la producción de éstos por parte de las cepas pertenecientes a la especie *P. polonicum* aisladas a partir de las longanizas (Fig. 9). Las cepas fúngicas pertenecientes al resto de las especies de *Penicillium* no fueron capaces de producirlos.



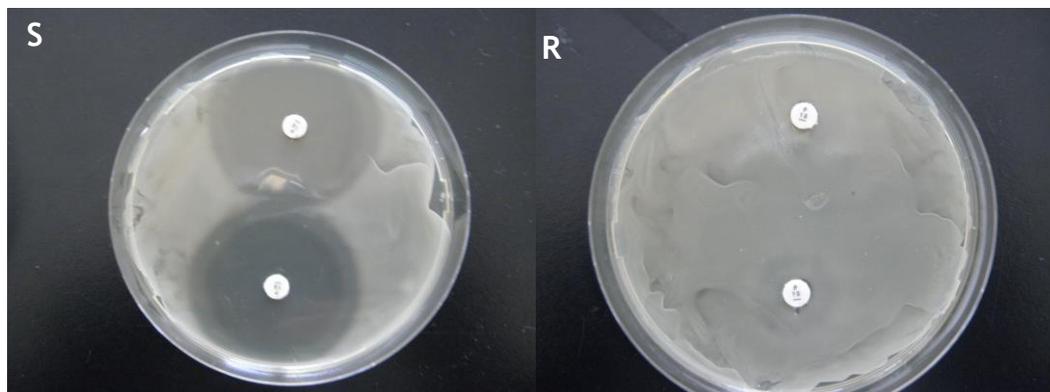
Fig. 9. Evaluación de la producción de metabolitos del indol (reacción de Ehrlich)

6.6.3- Evaluación de la producción de penicilina

La evaluación cualitativa de la producción de penicilina por parte de las cepas pertenecientes al género *Penicillium* mostró que ninguna de ellas fue capaz de producirla. Sin embargo, es de destacar que las cepas pertenecientes a la especie *P. vanluykii* aisladas de las longanizas correspondientes a la marca A fueron capaces de producir un halo de inhibición en las placas con Agar Luria sembradas con las bacterias sensibles a este antibiótico así como también en las placas con Agar Luria sembradas con las bacterias resistentes a la penicilina (Fig. 10).

La evaluación molecular de las cepas mostró que ninguna de éstas fueron portadoras de los genes biosintéticos de la penicilina.

A)



B)

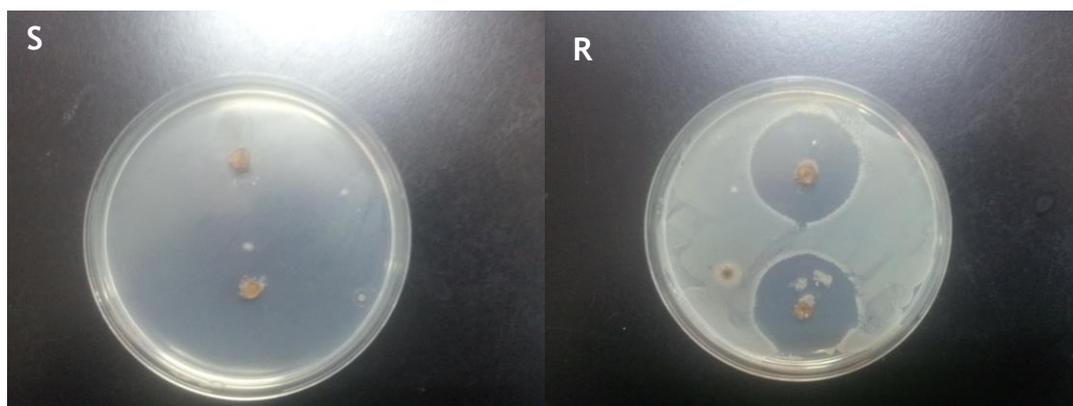


Fig. 10. Evaluación de la producción de penicilina de las distintas cepas fúngicas.

A- Control positivo de la producción de penicilina.

B- Evaluación de la producción de penicilina por *P. vanluykii*.

S: Cepa de *Staphylococcus aureus* sensible a la penicilina.

R: Cepa de *Staphylococcus aureus* resistente a la penicilina.

7. DISCUSIÓN

7.1- Identificación de los aislamientos fúngicos

La caracterización morfológica tanto macro como microscópica de los aislamientos, siguiendo la metodología de Pitt (Pitt, 1979) no permitió la delimitación de los aislamientos más allá del subgénero: *Aspergilloides*, *Biverticillum* y *Penicillium*. Por ello, la identificación molecular fue decisiva para conocer cuales fueron las especies colonizadoras de los embutidos. Disponer de la identificación de las especies hace posible incorporar conocimientos sobre ellas en cuanto a la producción de metabolitos, enzimas y su utilización como potenciales iniciadores.

El producto de amplificación de la región ITS obtenido para los aislamientos correspondientes al género *Penicillium* así como para aquéllos correspondientes al género *Talaromyces*, fue un amplicón de 600 pb. Este resultado coincide con los obtenidos por Flórez *et al.*, 2006 quienes obtuvieron una banda de 600 pb correspondiente al amplicón en cepas de *Penicillium* aisladas a partir de quesos y con los resultados obtenidos por Skouboe *et al.*, (1999) en las especies terverticiladas de *Penicillium*.

En el presente trabajo el producto de amplificación del gen de la β -tubulina presentó un tamaño de 500 pb, lo cual fue coincidente con el tamaño esperado y que fue reportado por Serra *et al.* en el año 2008. Por su parte, el amplicón correspondiente al gen de la calmodulina presentó un tamaño de 600 pb. Este dato fue coincidente con el reportado en 2007 por Wang *et al.*, quienes realizaron un estudio filogenético de especies pertenecientes al género *Penicillium*, *Eupenicillium* y *Talaromyces* en base a la secuencia parcial del gen de la calmodulina.

Por último, el producto de amplificación del gen *COX1* presentó un tamaño de 545 pb y esto fue coincidente con el trabajo realizado en el año 2009 por Chen *et al.*, quienes intentaron desarrollar cebadores para la identificación de especies pertenecientes al subgénero *Penicillium*.

El marcador ITS fue propuesto como “código de barras o barcode” a nivel de especie en los hongos, entendiéndose por este concepto a las secuencias de genes nucleares y/o mitocondriales estandarizados que permiten la identificación efectiva de organismos vivos (Chen *et al.*, 2009). Como se mencionó anteriormente, los resultados obtenidos en el presente trabajo con el marcador ITS mostraron un bajo poder de resolución a nivel de especies dentro del género *Penicillium* pero

principalmente dentro del subgénero *Penicillium*. Esto podría explicarse por la baja variabilidad existente en dicho marcador molecular entre especies morfológicamente diferentes. El resultado obtenido en el presente trabajo con el marcador ITS está de acuerdo con otros trabajos en los que muchas especies pertenecientes a diferentes géneros no han podido ser resueltas con dicho marcador. Tal es el caso de *Carbone et al.*, quienes en 1993 revelaron una muy pequeña variación en la región ITS 1 entre especies relacionadas pertenecientes a géneros de *Sclerotiniaceae*. Otro ejemplo es el aportado por *Skouboue et al.* que en el año 1999 demostraron que las relaciones entre todas las especies terverticiladas correspondientes al género *Penicillium* no pudieron ser claramente establecidas. Esto debido a que las secuencias obtenidas con el marcador ITS presentaron pocos sitios filogenéticamente informativos como consecuencia del bajo grado de variabilidad de este marcador. Más recientemente, en el año 2012 *Houbraken et al.* describieron seis nuevas especies dentro de la sección *Chrysogena* de acuerdo con los criterios morfológicos, el perfil de metabolitos secundarios y el estudio multilocus. Estos autores, al igual que *Skouboue et al.* en 1999, encontraron que el marcador ITS presentó un poder de resolución mínimo para distinguir especies muy relacionadas dentro de la sección *Chrysogena*. Sin embargo, en el año 1992 *O'Donnell et al.* presentaron en su trabajo la existencia de suficiente variabilidad dentro de la región ITS en algunas especies patógenas de plantas pertenecientes al género *Fusarium*. También, la secuencia de nucleótidos de ITS se utilizó para el desarrollo de cebadores específicos para la identificación del patógeno humano *P. marneffeii* (*Lo Buglio et al.*, 1995). Más recientemente, en 2011 *Houbraken et al.* establecieron que el marcador ITS presentó un poder discriminatorio suficiente para diferenciar las nuevas especies *P. araracuarensis*, *P. elleniae*, *P. penarojense*, *P. vanderhammenii* y *P. wotroi* de otras especies ya existentes. Además, cada una de estas nuevas especies formó un único clado con este marcador.

En base a lo anterior, los estudios basados solamente en las secuencias de rADN no pudieron resolver los problemas taxonómicos y filogenéticos en el género *Penicillium* y sus teleomorfos relacionados. Por lo tanto, es deseable el análisis independiente de varios genes. Por ello, los genes de proteínas se postularon como buenas alternativas, como por ejemplo es el caso de los genes que codifican para la β -tubulina, la calmodulina y el factor de elongación 1- α .

En este trabajo y como consecuencia del bajo poder de resolución del marcador ITS principalmente con las especies de *Penicillium* terverticiladas se recurrió a la utilización de los genes de la β -tubulina y de la calmodulina como marcadores moleculares complementarios. Esto también fue realizado por otros investigadores como es el caso de Samson *et al.* (2004); Samson *et al.* (2011); Rivera *et al.* (2011) y Visagie *et al.* (2014). En consonancia con lo anterior, en 2002 Peterson *et al.*, establecieron cuatro especies de *Penicillium* con el análisis de la secuencia parcial de los genes de la calmodulina, β -tubulina y también rADN. En 2004, Peterson recuperó el estatus de especie de *P. biourgeianum* la cual está cercanamente relacionada a *P. brevicompactum* y *P. olsonii* sobre la base del análisis de las secuencias parciales de los genes de la calmodulina, factor de elongación 1- α y rADN. También, en 2004 Samson *et al.*, demostraron que en un análisis de parsimonia de los alineamientos de β -tubulina, la filogenia se correspondió en términos generales con la clasificación en secciones y series de las especies del género *Penicillium* pertenecientes al subgénero *Penicillium*. Si bien estos autores consideraron a la β -tubulina un excelente marcador a nivel de especies también plantearon la necesidad del estudio de otros genes a los efectos de obtener una filogenia más robusta. Por su parte, en 2011 Rivera *et al.* realizaron un análisis multilocus con los marcadores ITS, *COX1*, β -tubulina, calmodulina y factor de elongación 1- α , para demostrar que la morfoespecie *P. sclerotiorum* era un complejo constituido por siete especies morfológicamente similares pero filogenéticamente distintas. Los árboles obtenidos con ITS y con *COX1* presentaron un nivel de resolución menor comparado con aquellos obtenidos con los otros 3 marcadores utilizados.

En el análisis filogenético realizado en el presente trabajo se demostró que los niveles de resolución tanto de la β -tubulina como de la calmodulina fueron mayores a los obtenidos con el marcador ITS a nivel de especies dentro del género *Penicillium* y sus teleomorfos. Este resultado podría explicarse por una mayor variabilidad de estos genes entre las distintas especies.

Sin embargo, la β -tubulina que fue el marcador que permitió identificar la mayoría de los aislamientos, no agrupó adecuadamente al aislamiento S11_{2a}. que formó parte del clado integrado por los aislamientos que se correspondieron con la especie *P. paneum*. Este resultado es incongruente considerando que las características

macro y micromorfológicas del aislamiento S11_{2a} no coinciden con las de *P. paneum*. Además, dicho aislamiento no produjo patulina que fue una de las características presentadas por los aislamientos identificados como *P. paneum* en este trabajo. Esta especie está reconocida como productora de patulina (Frisvad *et al.*, 2014). Por su parte, el gen de la calmodulina permitió agrupar a este aislamiento con aquellos que se correspondieron con la especie *P. nalgiovense* y que presentaron características macro y micromorfológicas coincidentes con la del aislamiento S11_{2a}.

El gen de la calmodulina no agrupó correctamente a los aislamientos L11_{2b} y S15₇ de acuerdo con las características morfológicas de los mismos. La imposibilidad de lograr un correcto agrupamiento de estos dos aislamientos con el gen de la calmodulina podría explicarse por la falta de variabilidad de este marcador y a que no existe en las bases de datos una secuencia tipo de la especie *P. polonicum*.

De acuerdo a los resultados obtenidos con el gen *COX1*, los aislamientos L6_{2a}, S11_{2a}, S15₇ y L15_{6b} quedaron agrupados con la secuencia tipo de la especie *P. paneum*. Sin embargo, este resultado no es congruente con las características morfológicas de los aislamientos identificados en este trabajo como *P. paneum* pero tampoco con una de sus características bioquímicas, como fue la producción de patulina por parte de los mismos. Estas incongruencias podrían explicarse por la incapacidad del marcador *COX1* de diferenciar aislamientos correspondientes a distintas especies como consecuencia de una insuficiente variabilidad de dicho gen. Esto último, podría también explicar por qué el aislamiento S1_{4a} no fue agrupado en ningún subclado. El aislamiento C6_{2a} tampoco pudo ser identificado con el gen *COX1*, cuando este mismo aislamiento con los dos marcadores más informativos como lo fueron la β -tubulina y la calmodulina, fue agrupado con la secuencia tipo de *T. amestolkiae*. Una posible explicación podría ser la falta de bases de datos más completas, considerando la dificultad de encontrar secuencias tipo del gen *COX1* correspondientes a la especie *T. amestolkiae*.

Finalmente, el aislamiento L11_{2b} se agrupó con la secuencia tipo correspondiente a la especie *P. olsonii*. Este resultado no coincidió con el obtenido con el gen de la β -tubulina, el marcador más informativo de los utilizados en el presente trabajo, con el cual dicho aislamiento se agrupó con la secuencia correspondiente a la especie *P. salamii* descrita recientemente con un 100% de robustez. Esto podría explicarse

debido a la imposibilidad de encontrar la secuencia tipo del gen *COX1* correspondiente a la especie *P. salamii*. De todas formas, cabe destacar que ambas especies están cercanamente relacionadas al punto que ambas pertenecen a la sección *Brevicompecta* dentro del subgénero *Penicillium*.

Más allá de estos inconvenientes, los resultados obtenidos permitieron identificar todas las especies de *Penicillium* encontradas en los productos analizados en base al análisis de la secuencia de la β tubulina. En el único caso en el que las características bioquímicas y morfológicas no coincidieron, la secuencia de calmodulina permitió resolver la identidad de esta especie agrupándola con *P. nalgiovense*. Este gen tiene la ventaja de amplificarse fácilmente, permitiendo diferenciar especies morfológicamente cercanas con la ventaja que existe una buena base de datos de referencia (Samson *et al.*, 2004).

Si bien Visagie *et al.* en 2014 demostraron que el gen de calmodulina presentó un poder de discriminación similar al obtenido con la β -tubulina, en nuestro trabajo el nivel de resolución encontrado fue menor y además fue muy difícil de amplificar, no lográndose un resultado positivo en muchos casos.

7.2- Especies presentes en los distintos productos cárnicos fermentados secos

Una amplia variedad de productos cárnicos fermentados son elaborados en todo el mundo. Tradicionalmente las piezas son colonizadas por la microbiota espontánea del ambiente, cuya composición y desarrollo depende de la naturaleza del producto, de las condiciones y el tiempo de maduración. Si bien son productos elaborados con diferentes protocolos, las especies identificadas en general pertenecen a los géneros *Penicillium*, *Aspergillus* y *Eurotium*.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo están de acuerdo con otros estudios realizados por Perrone *et al.* (2015); Asefa *et al.* (2010); Castellari *et al.* (2010); Castellari *et al.* (2006); Pose *et al.* (2003); López-Díaz *et al.* (2001 (b)); Roncaglia *et al.* (1994) y Dragoni *et al.* (1991) que encontraron que en distintos tipos de productos cárnicos fermentados las especies dominantes pertenecían al género *Penicillium*, sin embargo las especies aisladas por ellos no fueron las mismas que las

halladas en este trabajo. Por ejemplo, López-Díaz *et al.* (2001) encontraron que las especies dominantes fueron *P. olsonii* y *P. chrysogenum*.

Con respecto a *C. cladosporioides*, aislada de las longanizas y de los chacareros, se la ha encontrado frecuentemente en los productos cárnicos y también en las muestras de aire de las plantas elaboradoras de estos productos (Samson *et al.*, 2002). Este resultado es coincidente con el reportado por Castellari *et al.* (2010), Mizakova *et al.* (2002) y Papagianni *et al.* (2007) sobre productos cárnicos fermentados de Argentina, Eslovaquia y Grecia respectivamente. Sin embargo, en el año 2008 Sorensen *et al.*, aislaron cepas pertenecientes al género *Cladosporium* a partir de muestras de aire de las fábricas pero no de la superficie de los productos cárnicos fermentados.

En ninguno de los productos cárnicos analizados se aislaron especies pertenecientes al género *Aspergillus*. Esto es coincidente con los resultados aportados por Tabuc *et al.* (2004), quienes a partir de salamines tipo italiano elaborados en Francia y provenientes de un local comercial, no aislaron ninguna especie perteneciente al género *Aspergillus*. Esto es contrario a lo que encontraron en productos similares elaborados en España (Tabuc *et al.*, 2004), lo que podría ser atribuible a la diferencia de clima existente en los respectivos lugares de manufactura o al manejo de la cadena de comercialización del producto. También en Argentina Castellari *et al.* (2010) aislaron cepas pertenecientes a las especies *Aspergillus parasiticus* y *Aspergillus ochraceus* a partir de chorizos fermentados secos.

Es interesante destacar la abundancia de *P. nalgiovense* en los salamines provenientes de las empresas B y C y en las longanizas de las empresas B y C con densidades de aparición de 100%, 86,9%, 91,6% y 72,8% respectivamente. El hallazgo de *P. nalgiovense* como especie predominante en varios de los productos cárnicos de las distintas empresas se corresponde con los trabajos de Perrone *et al.*, 2015; Castellari *et al.*, 2010; Asefa *et al.*, 2009 y Pose *et al.*, 2003. Este hecho también se corresponde con que esta es la especie más utilizada como cultivo iniciador en Europa para lograr la mayor uniformidad posible en las características de los productos cárnicos fermentados. Sin embargo, los resultados obtenidos no son coincidentes con los datos de densidad de aparición obtenidos por otros autores. Por ejemplo, en el trabajo realizado en 1994 en el norte de Italia por Andersen *et al.*, la densidad de aparición de este hongo representó el 50% de la microbiota total. En

productos cárnicos fermentados griegos, Papagianni *et al.*, 2007 encontraron que *P. nalgiovense* representó el 19 % de la microbiota total. Por su parte, en un trabajo realizado en Noruega en 2009 por Asefa *et al.*, *P. nalgiovense* fue la especie más aislada de productos cárnicos ahumados y no ahumados, representando el 38 % del total de la microbiota. En 2011, Sonjak *et al.* encontraron *P. nalgiovense* con una densidad de aparición del 51 % en productos cárnicos fermentados en Eslovenia. La alta densidad relativa encontrada en el presente trabajo contrastaría con los valores encontrados en otros países. Aparte de las eventuales diferencias de condiciones en las que se lleva a cabo la elaboración y maduración de estos productos cabe pensar si no se habrá realizado una inoculación artificial a los productos analizados durante este trabajo.

Esto es importante porque en el desarrollo de nuevos cultivos iniciadores de superficie para productos cárnicos fermentados, el primer paso sería seleccionar cepas de aquella especie capaz de prevalecer sobre las demás en este tipo de productos cárnicos.

La misma observación correspondería realizar con respecto a *P. vanluykii* aislada de los salamines y las longanizas provenientes de la empresa A, con una densidad de aparición de 71,7% y 86,7% respectivamente, como así también con *T. amestolkiae* y *P. paneum* que predominaron en los chacareros procedentes de las empresas B y C respectivamente.

Es interesante destacar que el aislamiento de *P. salamii* de las longanizas procedentes de la marca C, fue descrita recientemente por Perrone *et al.* (2015). Esta especie pertenece a la sección *Brevicompecta* y se comprobó que está muy relacionada con *P. olsonii* en base a estudios filogenéticos así como también en base a similitudes fenotípicas y en el perfil de extrolitos. Perrone *et al.* (2015) encontraron que las cepas pertenecientes a esta especie fueron las que predominaron en la superficie de salamines en niveles similares a los encontrados para *P. nalgiovense*. Esto constituye una diferencia con lo obtenido en el presente trabajo, en donde *P. salamii* fue aislada de longanizas y no de salamines además de que no fue la especie más abundante.

En la mayoría de los productos cárnicos analizados, independientemente de la empresa de procedencia, el número de aislamientos correspondientes a los hongos filamentosos fue menor al número de aislamientos correspondientes a las levaduras.

Andersen en 1994 concluyó que en la primera parte del procesamiento de este tipo de productos cárnicos, las levaduras constituían el 95% de la flora fúngica. A medida que el proceso avanza se logra un equilibrio entre las levaduras y los hongos filamentosos, siendo éstos los que predominaban en la etapa final (la del secado) constituyendo aproximadamente el 95% de la microbiota total. Este cambio probablemente es causado por la disminución de la humedad de los productos cárnicos, dado que los hongos en general son más tolerantes que las levaduras a las bajas actividades hídricas. Estos resultados son coincidentes con los obtenidos en 2010 por Asefa *et al.*, quienes demostraron un dominio de las levaduras en la microbiota de la superficie de los productos cárnicos desde el comienzo del proceso de elaboración hasta la etapa del secado, en la que observaron el predominio de los hongos filamentosos. Esta observación fue tanto en los productos cárnicos secos ahumados como en los no ahumados. Sin embargo, Comi *et al.*, 2004 reportó la presencia de hongos filamentosos desde el comienzo del proceso de elaboración. Considerando lo anterior, en el presente trabajo el predominio de las levaduras sobre los hongos filamentosos podría ser atribuible a que el período de secado no haya sido suficiente antes de liberar el producto a la cadena de comercialización o bien que las condiciones en el secadero no fueran las adecuadas.

El número de aislamientos de hongos filamentosos aislados de todos los salamines (empresas A, B, C) no presentaron diferencias significativas, lo mismo se observó entre los aislamientos provenientes de las longanizas y de los chacareros. Dentro de estos últimos, se destacó el muy bajo número de hongos filamentosos obtenidos de los chacareros procedentes de la empresa C, destacando la ausencia de hongos filamentosos en uno de los productos analizados. Esto probablemente pueda explicarse a diferencias en las condiciones a las que estuvieron sometidos durante su maduración.

7.3- Variabilidad genética

Estudios sobre la variabilidad genética a nivel molecular fueron realizados previamente dentro del género *Penicillium*, principalmente mediante la técnica de ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD). Tal es el caso de Durand *et al.* (1993) utilizaron 21 marcadores RAPD y obtuvieron patrones de bandas idénticos para las

distintas especies de *Penicillium* ensayadas. En 2010, Roslan *et al.* demostraron mediante la utilización de la misma técnica una considerable variación genotípica entre aislamientos pertenecientes al género *Penicillium* obtenidos de diferentes fuentes en el estado de Sarawak, Malasia. Por su parte, Tiwari *et al.* en 2011 estudiaron diferentes especies de *Penicillium* con 20 marcadores RAPD y encontraron que todos los marcadores utilizados fueron polimórficos.

Sin embargo, existen pocos trabajos realizados sobre variabilidad genética en el género *Penicillium* utilizando los microsatélites amplificados al azar (RAMS). Por lo tanto, uno de los objetivos del presente trabajo fue utilizar estos marcadores moleculares como herramienta para estudiar la variabilidad genética de las especies de *Penicillium* que fueron identificadas en base a criterios macromorfológicos, micromorfológicos, fisiológicos y moleculares.

En el presente trabajo, el alto número de loci observado entre las distintas especies de *Penicillium* con cada uno de los cinco marcadores RAMS utilizados, fue comparable con lo obtenido en otros trabajos en los cuales se utilizó la misma técnica (Hantula *et al.*, 1997; Hantula *et al.*, 1998; Vainio *et al.*, 1998; Guo *et al.*, 2004). Este resultado indicaría que los marcadores CCA, CGA, (GACA)₄, GAG (CAA)₅ y (GTG)₅ son motivos que se encuentran en una alta frecuencia en las distintas especies pertenecientes al género *Penicillium* y por lo tanto podría ser una herramienta interesante para estudiar la variación genética de poblaciones.

Considerando que la mayoría de las especies pertenecientes al género *Penicillium* presentan reproducción asexual, sería esperable observar una baja variación genotípica. Sin embargo, los resultados de este trabajo mostraron una alta variación genética. Resultados similares fueron los que obtuvieron en 2004 Guo *et al.*, estudiando 112 aislamientos de *Alternaria alternata* donde encontraron una alta variación genotípica a pesar de que su hipótesis era la contraria por tratarse de especies pertenecientes a un género que presenta predominantemente reproducción asexual. Para evaluar la diferencia en la variación genotípica entre la forma asexual y sexual Tuthill (2004) amplificó el ADN de cepas correspondientes a *P. miczynskii* y también de cepas de *Eupenicillium shearii* con 12 marcadores RAMS concluyendo que *P. miczynskii* tuvo el más bajo componente clonal.

Si bien no son conocidas con exactitud las causas de la diversidad genética en hongos que carecen de reproducción sexual, se podría considerar como una posible

explicación a las mutaciones y también a la reproducción parasexual, que no es un proceso de reproducción sexual regular y con el cual se obtiene variabilidad genética por una recombinación de caracteres sin el concurso directo de la reproducción sexual (Fulgueira, 2013).

Los resultados obtenidos con los cinco marcadores RAMS utilizados, mostraron que cada uno de ellos produjeron distintos perfiles genéticos en aislamientos que fueron identificados desde el punto de vista morfológico, fisiológico y molecular como pertenecientes a una misma especie. Estos cinco marcadores mostraron idénticos patrones de bandas para aislamientos que fueron obtenidos a partir de los distintos productos cárnicos objeto de análisis en el presente trabajo. Sin embargo, existen algunos ejemplos en los cuales se obtuvo un mismo patrón de bandas en aislamientos provenientes del mismo sustrato. Tal es el caso de los perfiles genéticos obtenidos con el marcador CCA para los aislamientos S12_{1a} y S11_{2a}, los cuales fueron identificados como *P. vanluykii* y que fueron aislados a partir de los salamines provenientes de la empresa C. Lo mismo se observó con los patrones de banda obtenidos para los mismos aislamientos con el marcador GAG (CAA)₅.

Considerando lo anterior, se podría establecer en general que ninguno de los marcadores RAMS utilizados en este trabajo fueron capaces de separar las distintas especies pertenecientes al género *Penicillium*. Sin embargo, es de destacar que todos los marcadores utilizados fueron capaces de diferenciar entre los aislamientos identificados como *P. vanluykii* aquel que presentó la capacidad de producir un metabolito secundario que inhibió a las cepas de *Staphylococcus aureus* sensible y resistente a la penicilina (Fig. 16 a 20, Anexo 10.4.5). Algo similar se observó con el aislamiento S6_{1a}, el cual fue identificado como *P. nalgiovense* y que se caracterizó por presentar colonias de color blanco en placas con medio de cultivo MEA, a diferencia de los restantes aislamientos correspondientes a la misma especie que presentaron colonias de color verde. Los cinco marcadores RAMS utilizados en este trabajo fueron capaces de producir un perfil genético único para el aislamiento S6_{1a} (Fig. 16 a 20, Anexo 10.4.5).

Por otra parte, los cinco marcadores RAMS utilizados, CCA; CGA; (GACA)₄; GAG (CAA)₅ y (GTG)₅, no permitieron agrupar a los aislamientos productores de patulina y los productores de ocratoxina A (*P. paneum* y *P. polonicum* respectivamente). Este último resultado difiere del obtenido por Di Conza *et al.*, (2007) quienes utilizando

el marcador (GTG)₅ obtuvieron patrones de bandas muy similares en todas las cepas de *P. citrinum* y además les permitió agruparlas según la cantidad de citrinina producida por las distintas cepas. Mientras que, las cepas de *P. chrysogenum* también productoras de citrinina no pudieron ser agrupadas de la misma manera. Basados en los resultados obtenidos en el presente trabajo, los RAMS podrían constituir una buena herramienta para el estudio de variabilidad genética dentro del género *Penicillium* como una alternativa a la técnica de los RAPD's, que fue la técnica predominantemente utilizada por distintos investigadores para evaluar la variabilidad genética dentro de dicho género. Además, los RAMS presentan algunas ventajas comparativas con respecto a los RAPD's dado que es más rápida, fácil y económica. También los RAMS presentan una mayor reproducibilidad y especificidad que los RAPD's, lo cual se explica por la utilización de cebadores más largos y condiciones de amplificación más exigentes, principalmente temperaturas de hibridación más altas.

7.4- Capacidad toxicogénica y evaluación de la producción de metabolitos secundarios

En 1971 Harwig & Scott, analizaron setenta filtrados de hongos provenientes de cereales y de alimentos implicados en patologías de animales y encontraron un número menor de cepas tóxicas para *A. salina* (16%), que en este trabajo (32,9%). La toxicidad que presentaron las distintas cepas fúngicas evaluadas podría ser atribuible a la producción de metabolitos secundarios, entre los cuales se pueden citar: antibióticos (penicilina, cefalosporina), fitotoxinas, pigmentos y micotoxinas (MCTX).

Es probable que la toxicidad se debiera a la producción de MCTX por algunas de las cepas ya que la producción de penicilina fue negativa para todas las cepas fúngicas. En 1971 Harwig & Scott encontraron que algunos filtrados y extractos de hongos presentaron toxicidad sobre las larvas de *A. salina*, pero que ésta no pudo ser atribuible a la presencia de metabolitos secundarios conocidos. Esto podría deberse probablemente a que muchos hongos filamentosos son capaces de producir ácidos grasos que son tóxicos para las larvas (Davis *et al.*, 1975).

La toxicidad de *P. paneum* podría deberse principalmente a la capacidad que posee de producir PAT. Esta MCTX es producto del metabolismo secundario de varias especies de hongos filamentosos entre los que se encuentra *P. expansum* como la especie típica. *P. paneum* también produce roquefortina C y roquefortina D (Frisvad *et al.*, 2014) por lo que podría suponerse que la toxicidad de las cepas pertenecientes a esta especie estuviera asociada a las roquefortinas.

La ocratoxina A (OA) producida por las cepas pertenecientes a las especies *P. polonicum* y *P. coprophilum* podría explicar la toxicidad observada sobre *A. salina*. Cabe destacar que *P. verrucosum*, principalmente encontrada en cereales y *P. nordicum* en productos cárnicos curados, poseen la capacidad de producir ocratoxina A. Ambas, especies están relacionadas filogenéticamente (Frisvad *et al.*, 2002). Czerwiecki *et al.*, 2002; Torelli *et al.*, 2006 y Vega *et al.*, 2006 demostraron que otras especies de *Penicillium* presentes en la superficie de distintos productos cárnicos también son capaces de producir ocratoxina. Tal es el caso de *P. cyclopium*, *P. chrysogenum*, *P. oxalicum*, *P. olsonii* y *P. brevicompactum*. Frisvad *et al.* (2014) establecieron que *P. polonicum* tiene un papel importante en la Nefropatía Endémica de los Balcanes, enfermedad causada por la OA. *P. polonicum* también puede producir otras MCTX tales como ácido penicílico, puberulina y verrucosidina (Frisvad *et al.*, 2014; Núñez *et al.*, 2000), que no fueron determinadas en el presente trabajo. Mas aún, cepas de *P. coprophilum* son capaces de producir roquefortina C y alternariol (Frisvad *et al.*, 2014) y la toxicidad de la cepa de *P. vanluykii* podría ser atribuible a su capacidad de producir roquefortina C y D, andrastina A y crisogina (Luchese *et al.*, 2000; Houbraken *et al.*, 2012).

En el caso de *P. salamii*, su toxicidad podría ser atribuible a la producción de citrinina (CIT). Dicho resultado no coincide con el perfil de extrolitos reportado en 2015 por Perrone *et al.*, quienes revelaron que *P. salamii* es una especie capaz de producir asperfenamato, crisogina, xantoepocina y alcaloides del indol.

Un resultado interesante lo constituyó el aislamiento de cepas pertenecientes a la especie *P. nalgiovense* que fueron no tóxicas y otras que mostraron una toxicidad leve. La toxicidad de estas últimas podría estar asociada a la capacidad de esta especie de producir nalgiovensina, nalgiofaxina y diaportinas (Frisvad *et al.*, 2014; Larsen *et al.*, 2002). La presencia de estas cepas tóxicas coincide con lo reportado en 2002 por Larsen *et al.*, quienes encontraron que los extractos de dos cepas de *P.*

nalgiovense utilizadas como cultivos iniciadores, resultaron tóxicos cuando la toxicidad de las mismas se evaluó sobre cultivos celulares. En este caso la toxicidad se atribuyó al alto contenido en diaportinas.

Especies tales como *P. glabrum* y *P. crustosum* que son capaces de producir MCTX entre otros metabolitos secundarios no resultaron tóxicas para las larvas de *A. salina*. *P. glabrum* es productora de citromicetina (López, 2010) y *P. crustosum* es capaz de producir roquefortina C y penitremo A (Frisvad & Filtenborg, 1989; Kokkonen *et al.*, 2005). También ocurrió lo mismo con *T. amestolkiae*, especie capaz de producir ácido mitorubrírico y vermicelina de acuerdo a Yilmaz *et al.* (2012). Esto podría deberse a que no todas las cepas de una especie producen MCTX o bien a que las larvas de *A. salina* no son sensibles a todos los metabolitos secundarios que pueden producir los hongos. Esta explicación sería también aplicable para aquellas cepas de *P. nalgiovense* que no mostraron toxicidad.

En este trabajo ninguna de las cepas fúngicas aisladas fue capaz de producir ácido ciclopiazónico (ACP), si bien Leistner en 1984 reportó que el ACP es la principal MCTX producida por las especies pertenecientes al género *Penicillium* aisladas de los productos cárnicos fermentados. La especie típica productora de ACP es *P. commune*, que tiene la capacidad de producir esta MCTX en un amplio rango de temperatura y a_w (Sosa *et al.*, 2002). También existen otras especies pertenecientes a este género capaces de producirla, tal es el caso de *P. griseofulvum* (Galvalisi *et al.*, 2012).

En 1994, Andersen encontró que el 20% de las especies identificadas en su estudio sobre evolución de la microbiota en productos cárnicos embutidos fermentados en Italia fueron capaces de producir MCTX, a diferencia de lo encontrado en el presente trabajo donde el 40% del total de las especies presentaron la capacidad de producir estos metabolitos secundarios. Además, indicó que es de gran importancia realizar la correcta identificación de las especies con el objetivo de detectar la presencia de aislamientos potencialmente productores de MCTX y antibióticos. Por su parte, Ludemann *et al.* (2004) indicaron que el 51% de las especies de *Penicillium*, identificadas en salamines comercializados en diferentes supermercados de la provincia de Buenos Aires, fueron micotoxigénicas. En estudios posteriores realizados por Castellari (2006) y Castellari *et al.* (2008) se determinó que entre el 43% y el 50% de las especies fúngicas identificadas y con alta

frecuencia de aislamiento, en los ambientes de las fábricas ubicadas en la zona sudeste de la provincia de Buenos Aires, eran potenciales productoras de MCTX.

Como se mencionó anteriormente ninguna de las cepas fúngicas fue capaz de producir penicilina. Este resultado podría ser importante para el caso en el que se intente desarrollar cultivos iniciadores de superficie para la producción de algunos alimentos. Para que una especie fúngica pueda ser utilizada como cultivo iniciador no debe producir penicilina, pero además, tampoco debe presentar los genes biosintéticos que codifiquen para este antibiótico (Farber, 1994). Desde el punto de vista de la producción de penicilina todas las especies fúngicas aquí estudiadas podrían ser utilizadas como cultivos iniciadores dado que ninguna fue capaz de producir este antibiótico. La evaluación cualitativa de la producción de este antibiótico por las distintas cepas fúngicas fue coincidente con la evaluación molecular de las cepas dado que ninguna de éstas fueron portadoras de los genes biosintéticos de la penicilina. Lamentablemente no fue posible disponer de la cepa control positiva para asegurar este resultado.

Estos resultados son de gran interés, puesto que la producción de este metabolito secundario estaba descripta principalmente en cepas de *P. nalgiovense* y *P. chrysogenum* (Farber, 1994; Laich *et al.*, 2002, Castellari *et al.*, 2010). Más tarde, en 2011 Houbraken *et al.*, demostraron la producción de penicilina por parte de cepas de ocho especies: *P. allí-sativi*, *P. dipodomys*, *P. flavigenum*, *P. tardochrysogenum*, *P. rubens*, *P. vanluykii*, *P. chrysogenum* y *P. nalgiovense*, todas ellas pertenecientes a la sección *Chrysogena*.

En 2003, Laich *et al.* propusieron la interrupción del primer gen (*pcbAB*) de la vía biosintética de la penicilina en una cepa de *P. nalgiovense*. Estos autores demostraron que las cepas mutantes presentaban la misma capacidad que las cepas salvajes de colonizar la superficie de los salames y controlar el crecimiento de otros hongos filamentosos que aparecen habitualmente sobre la superficie de este tipo de productos cárnicos. Además, establecieron que no hubo diferencias significativas en la población bacteriana entre los salames inoculados con una cepa salvaje y una mutante en el gen *pcbAB*, indicando que la disminución de la población bacteriana sobre la superficie de este tipo de alimento no es debida a la habilidad de producir penicilina por parte de algunas cepas, sino a la alta competencia por los nutrientes del micelio en crecimiento de *P. nalgiovense*.

Es de destacar que la cepa perteneciente a la especie *P. vanluykii* aislada de las longanizas provenientes de la empresa A, fue capaz de producir un halo de inhibición frente a las bacterias sensibles a la penicilina como a las resistentes. Este hecho sugiere que se trataría de un metabolito secundario con actividad antibacteriana pero que no sería la penicilina. Por otra parte, dado que cepas de esta especie son capaces de producir roquefortina C, una MCTX capaz de inhibir el crecimiento bacteriano, el efecto observado podría deberse a esta MCTX (Laich *et al.*, 2002).

La descripción original de la prueba del indol se realizó para diferenciar especies que presentaban buen crecimiento en el medio de cultivo CREA (Lund, 1995). Sin embargo, en el presente trabajo esta prueba se realizó a partir de colonias que crecieron en el medio de cultivo CYA durante 10 días, considerando los resultados obtenidos por Martínez Benítez en 2003 quien demostró que al evaluar conjuntamente los medios de cultivo CYA, CREA y CSN, observó que la respuesta más sensible fue a partir del medio de cultivo CYA. Pitt & Hocking (1997) señalaron que una respuesta positiva a esta reacción presenta mayor valor que una respuesta negativa a la misma. Todas las cepas pertenecientes a la especie *P. polonicum* dieron positivas a la prueba del indol tal como lo observara Frisvad *et al.* (2014). La sencillez de la técnica y los datos que aporta en algunos casos justifican su uso como criterio taxonómico complementario para la identificación de las especies terverticiladas. Así, Pitt & Hocking (1997) incluyeron la prueba del indol para diferenciar *P. commune* de *P. solitum*, morfológicamente muy similares. Martínez Benítez (2003) demostró que muy pocas especies del género *Penicillium* pertenecientes a los subgéneros *Aspergilloides*, *Furcatum* y *Biverticillium* eran indol positivo excepto *P. oxalicum* y *P. purpurogenum*. Por su parte, en 2011 Houbraken *et al.* establecieron que la reacción de Ehrlich de especies de la sección *Citrina*, no era indol positiva salvo *P. aurantiacobrunneum*.

Se considera que ha sido muy importante lograr la identificación de los hongos presentes en los productos cárnicos en proceso de maduración y maduros y poder proceder cuando se detecta la presencia de especies toxicogénicas.

8. *CONCLUSIONES*

Del total de los productos cárnicos analizados, independientemente de la empresa de procedencia y del tipo de producto, el número de aislamientos correspondientes a los hongos filamentosos fue significativamente menor al número de aislamientos correspondientes a las levaduras.

Las especies de hongos filamentosos aisladas a partir de todos los productos cárnicos fermentados secos pertenecieron al género *Penicillium*, *Talaromyces* y *Cladosporium*. *Penicillium* fue el género que presentó mayor densidad relativa de aparición en el conjunto de todos los productos cárnicos analizados.

Los aislamientos de *P. nalgiovense* obtenidos a partir de los distintos tipos de productos cárnicos y provenientes de diferentes empresas de chacinados, tendría particular importancia puesto que es la especie más utilizada como cultivo iniciador de superficie en Europa para lograr las características deseadas en este tipo de alimentos. También constituyó un hallazgo interesante el aislamiento de *P. salamii*, descrita en el año 2015 y propuesta en base a sus características fisiológicas como candidata para ser utilizada como cultivo iniciador de superficie.

No se encontró una gran variabilidad taxonómica en la composición de la microbiota presente en la superficie de los productos cárnicos fermentados secos.

La región espaciadora interna transcrita del rADN (ITS), propuesta como “código de barras o barcode” a nivel de especie en los hongos, presentó un bajo poder de resolución a nivel de especies dentro del género *Penicillium*.

Dentro del género *Penicillium*, el marcador β -tubulina fue el que permitió resolver mejor a nivel de especie.

La identificación a nivel de especie dentro del género *Penicillium* requiere un abordaje múltiple que incluya el estudio de las características macromorfológicas, micromorfológicas, fisiológicas y también moleculares.

La técnica de los microsatélites amplificados al azar (RAMS) podría constituir una buena herramienta para el estudio de variabilidad genética dentro del género *Penicillium*.

Si bien ninguno de los marcadores RAMS fue especie específico, todos ellos fueron capaces de generar patrones genéticos únicos en aislamientos con alguna particularidad, como el aislamiento correspondiente a *P. nalgiovense* de color blanco y el aislamiento *P. vanluykii* capaz de producir un metabolito a determinar y que fue obtenido a partir de las longanizas de la empresa A.

La detección de micotoxinas mediante TLC resultó un buen método de barrido a los efectos de detectar aquellas cepas capaces de producir micotoxinas dentro del género *Penicillium*.

El 23% de los aislamientos fueron capaces de producir alguna de las cuatro micotoxinas ensayadas.

Ninguno de los aislamientos pertenecientes al género *Penicillium* fueron capaces de producir penicilina.

Los aislamientos correspondientes a la especie *P. vanluykii* obtenidos a partir de las longanizas de la marca comercial A fueron capaces de producir un metabolito con propiedades antibióticas que no fue penicilina.

9. BIBLIOGRAFÍA

ABARCA, M.L.; BRAGULAT, M.R.; CASTELLÁ, G.; ACCENSI, F. & CABAÑES, F.J. 2000. Hongos productores de micotoxinas emergentes. Rev. Iberoam. Micol., 17: S63-S68.

ALONSO DEL RIVERO, M. & DELFÍN, J. 2002. Purificación parcial de glucosa oxidasa a partir del hongo *Penicillium funiculosum* para uso en el diagnóstico. Revista Biología. Vol. 16, N°2.

ANDERSEN, S.J. 1994. Compositional changes in surface mycoflora during ripening of naturally fermented sausages. Journal of Food Protection, 58: 426-429.

ARROYO-MANZANARES, N.; HUERTAS-PÉREZ, J.F.; GÁMIZ-GRACIA, L. & GARCÍA-CAMPAÑA, A.M. 2014. Control de micotoxinas en alimentos. Boletín Graseqa N° 7: 16-31.

ASEFA, D.T.; GJERDE, R. O.; SIDHU, M.S.; LANGSCRUD, S.; KURE, C.F.; NESBAKKEN, T. & SKAAR, I. 2009. Moulds contaminants on Norwegian dry-cured meat products. Int. Journal of Food Microbiol., 128 (3): 435-439.

ASEFA, D.T.; KURE, C.F.; GJERDE, R. O.; OMER, M.K.; LANGSCRUD, S.; NESBAKKEN, T. & SKAAR, I. 2010. Fungal growth pattern, sources and factors of mould contamination in a dry-cured meat production facility. Int. Journal of Food Microbiol., 140: 131-135.

ASTORECA, A.L.; DALCERO, A.M.; FERNÁNDEZ PINTO, V. & VAAMONDE, G. 2011. A survey on distribution and toxigenicity of *Aspergillus* section *Flavi* in poultry feeds. Int. Journal of Food Microbiol., 146: 38-43.

BAILLY, J.D.; TABUC, C.; QUERIN, A. & GUERRE, P. 2005. Production and stability of Patulin, Ochratoxin A, Citrinin and Cyclopiazonic acid on dry cured ham. Journal of Food Protection, Vol. 68, N° 7: 1516-1520.

BELLVER, M.J. 2013. Evaluación del riesgo de exposición a ocratoxina A. Tesis de Doctorado. Universitat de Valencia.

BENGOA, M.S. 2002. El salame y la tecnología aplicada en la elaboración de crudos madurados. Revista Prinal, págs 20-23.

BENNETT, J.W. & KLICH, M. 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews.*, 16: 497-516.

BOLUMAR GARCÍA, J.T. 2004. Caracterización del sistema proteolítico de *Debaryomyces hansenii* aislada de embutidos curados. Tesis de Doctorado. Universitat de Valencia. Servei de Publicacions.

BORNET, B. & BRANCHARD, M. 2001. Nonanchored inter simple sequence repeat (ISSR) markers: reproducible and specific tools for genome fingerprinting. *Plant Molecular Biology Reporter*, 19: 209-215.

BRAGULAT, M.R.; MARTÍNEZ, E.; CASTELLÁ, G. & CABAÑES, F.J. 2008. Ochratoxin A and citrinin producing species of the genus *Penicillium* from feedstuffs. *Int. Journal of Food Microbiol.*, 126: 43-48

BRASIER, C. 1992. Evolutionary Biology of Phytophthora. Part 1. Genetic system, sexuality and the generation of variation. *Annual Review of Phytopathology*, 30: 153-171.

BRUNA, J.M.; FERNÁNDEZ, M.; HIERRO, E.M.; ORDÓÑEZ, J.A. & DE LA HOZ, L. 2000. Improvement of the sensory properties of dry fermented sausages by the superficial inoculation and/or the addition of intracellular extracts of *Mucor racemosus*. *Journal of Food Science*, 65: 731-736.

BRUNA, J.M.; HIERRO, E.M.; DE LA HOZ, L.; MOTTRAM, D.S.; FERNÁNDEZ, M. & ORDÓÑEZ, J.A. 2001. The contribution of *Penicillium aurantiogriseum* to the volatile composition and sensory quality of dry fermented sausages. *Meat Science*, 59: 97-107.

CARBONE, I. & KOHN, L.M. 1993. Ribosomal DNA sequence divergence within internal transcribed spacer 1 of the Sclerotiniaceae. *Mycologia*, 85: 415-427.

CARRASCOSA SANTIAGO, A.V. 2001. Cultivos iniciadores para la industria cárnica. En Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos. Ediciones Martín y Macías, Madrid, España. Págs 943-965.

CASTELLARI, C. 2006. Caracterización de la microbiota superficial de productos cárnicos embutidos secos y selección de cepas fúngicas para la elaboración de cultivos iniciadores. Tesis de *Magister Scientiae*. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata. Argentina. 270 p.

CASTELLARI, C., LAICH, F. & QUADRELLI, A.M. 2010. Surface mycobiota on Argentinian dry fermented sausages. *Int. Journal of Food Microbiol.*, 142: 149-155.

CASTELLARI, C., QUADRELLI, A.M. & LAICH, F.S. 2008. Especies fúngicas micotoxigénicas en la superficie de productos cárnicos embutidos secos. 6° Congreso Latinoamericano de Micología. Mar del Plata.

CAVA LÓPEZ, R. & ANDRÉS NIETO, A.I. 2001. Tripas naturales y artificiales. En: Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos. Ediciones Martín y Macías, Madrid, España. Págs 967-982.

CHEN, W.; SEIFERT, K.A. & LÉVESQUE, C.A. 2009. A high density *COX1* barcode oligonucleotide array for identification and detection of species of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. *Molecular Biology Resources*, 9 (Suppl. 1), 114-129.

CIEGLER, A.; VESONDER, R.F. & JACKSON, L.K. 1973. Production and biological activity of patulin and citrinin from *Penicillium expansum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 33: 1004-1006.

COMI, G.; ORLIC, S.; REDZEPOVIC, S.; URSO, R. & IACUMIN, L. 2004. Moulds isolated from Istrian dried ham at the pre-ripening and ripening level. *Int. Journal of Food Microbiol.*, 96: 29-34.

CRUICKSHANK, R.H. & PITT, J.I. 1987. Identification of species in *Penicillium* subgenus *Penicillium* by enzyme electrophoresis. *Mycologia*, 79: 614-620.

CZERWIECKI, L. 2001. Ochratoxin A and other mycotoxins in Polish cereals and foods. *Mycotoxin Res.*, 17: 125-128.

DA CRUZ, L.C.H. Micotoxinas. En: *Perspectiva Latinoamericana*. 1996. Págs 1-12.

DALL'ASTA, C., GALAVERNA, G.; BERTUZZI, T.; MOSERITI, A.; PIETRI, A.; DOSSENA, A. & MARCHELLI, R. 2010. Occurrence of ochratoxin A in raw ham muscle, salami and dry-cured ham from pigs fed with contaminated diet. *Food Chemistry*, 120: 978-983.

DAVIS, N.D.; WAGENER, R.E.; DALBY, D.K.; MORGAN-JONES, G. & DIENER, U.L. 1975. Toxigenic fungi in food. *Applied Microbiology*, 30: 159-161.

DE MASI, T.; WERLAW, F.B.; DICK, R.L. & ACTON, J.C. 1990. Nonprotein nitrogen (NPN) and free aminoacids contents of dry fermented and non fermented sausages. *Meat Science*, 34: 205-216.

DICE, L. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology*, 26: 297-302.

DI CONZA, J.A.; NEPOTE, A.F.; GONZÁLEZ, A.M. & LURÁ, M.C. 2007. (GTG)₅ microsatellite regions in citrinin-producing *Penicillium*. *Rev. Iberoam. Micol.*, 24: 34-37.

DRAGONI, I.; CANTONI, C. & PAPA, A. 1991. Surface mycoflora of dry sausages in Carnia, Italy. *Ind. Aliment.* 30: 842-844.

DURAND, N.; REYMOND P. & FEVRE, M. 1993. Randomly Amplified Polymorphic DNAs assess recombination following and induced pares sexual cycle in *Penicillium roqueforti*. *Current Genetics*, 24: 417-420.

EL-BANNA, A.A; PITT, J.L. & LEISTNER, L. 1987. Production of mycotoxins by *Penicillium* species. Syst. Appl. Microbiol., 10: 42-46.

ENCINAS, J.P.; LÓPEZ DÍAZ, T.M.; GARCÍA LÓPEZ, M.L.; OTERO, A. & MORENO, B. 2000. Yeast populations on Spanish fermented sausages. Meat Science, 54: 203-208.

FARBER, P. & GEISEN, R. 1994. Antagonistic activity of the food related filamentous fungus *Penicillium nalgiovense* by the production of penicillin. Applied and Environmental Microbiology, 60: 3401-3404.

FASSATIOVÁ, O. 1977. A taxonomic study of *Penicillium* series *Expansa* Thorn emend. Fassatiová. Acta Universitatis Carolinae Biologica, 12: 283-335.

FERREIRA, M.E. & GRATTAPAGLIA, D. 1998. Marcadores basados en la amplificación de microsatélites. En: Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético. Ferreira, M.E. & Grattapaglia, D., primera edición Embrapa-Cenargen, Brasilia, Brasil. Págs 55-62.

FILTENBORG, O.; FRISVAD, J.C. & THRANE, U. 1996. Moulds in food spoilage. Int. Journal of Food Microbiol., 33: 85-102.

FLÓREZ, A.B.; ÁLVAREZ-MARTÍN, P.; LÓPEZ-DÍAZ, T.M. & MAYO, B. 2006. Morphotypic and molecular identification of filamentous fungi from Spanish blue-veined Cabrales cheese, and typing of *Penicillium roqueforti* and *Geotrichum candidum* isolates. International Dairy Journal, 17: 350-357.

FRISVAD, J.C & SAMSON, R. 2014. Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. Studies in Mycology, 49: 1-174.

FRISVAD, J.C, 1988. Fungal species and their specific production of mycotoxins. En: Introduction to Foodborne Fungi. Samson, R.A. & Van Reenen-Hoekstra, E.S. (Eds), 3rd edn. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Netherlands. Págs 239-251.

FRISVAD, J.C. & FILTENBORG, O. 1983. Classification of terverticillate penicillia based on profiles of mycotoxins and other secondary metabolites. Applied and Environmental Microbiology, 46: 1301-1310.

FRISVAD, J.C. & FILTENBORG, O. 1989. Terverticillate penicillia: chemotaxonomy and mycotoxin production. Mycologia, 81: 837-861.

FRISVAD, J.C. & THRANE, U. 2002. Mycotoxin production by common filamentous fungi. En: SAMSON, R.A.; HOEKSTRA, E.S.; FRISVAD, J.C. & FILTENBORG, O (EDS) Introduction to food and airborne fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, pp 321-330.

FULGUEIRA, C. 2013. Reproducción sexual de los hongos. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario, Argentina.

FUNG, D.Y.C. & VICHENROJ, K. 1995. "Introduction to food fermentation". Dept. of Animal Sciences and Industry, Kansas State University, Manhattan, Kansas.

GALVALISI, U.; LUPO, S.; PICCINI, J. & BETTUCCI, L. 2012. *Penicillium* species present in Uruguayan salami. Rev. Argentina Microbiol., 44: 36-42.

GLASS, N.L. & DONALDSON, G.C. 1995. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous *Ascomycetes*. Applied and Environmental Microbiology, 61: 1323-1330.

GIRAUD, F.; GIRAUD, T.; AGUILETA, G.; FOURNIER, E.; SAMSON, R.; CRUAUD, C.; LACOSTE, S.; ROPARS, J.; TELLIER, A. & DUPONT, J. 2010. Microsatellite loci to recognize species for the cheese starter and contaminating strains associated with cheese manufacturing. *Int. Journal of Food Microbiol.*, 137: 204-213.

GONZÁLEZ, A & AGUIRRE, X. 2007. Inter simple sequence repeats (ISSRs). En: *Ecología Molecular*. Eguiarte, E.; Souza, V. & Aguirre, X. Primera edición, abril 2007, Ciudad de México, México. Págs 567-571.

GONZÁLEZ, A.M.; PRESA, M.; LATORRE, M.L. & LURÁ, M.C. 2007. Detección de metabolitos fúngicos con actividad tóxica mediante bioensayo sobre *Artemia salina*. *Rev. Iberoam. Micol.*, 24: 59-61.

GONZÁLEZ SALGADO, A. 2009. Diagnóstico y control de especies de *Aspergillus* productoras de ocratoxina A. Tesis de Doctorado. Universidad Complutense de Madrid.

GUO, L-D.; XU, L.; ZHENG, W-H & HYDE, K.D. 2004. Genetic variation of *Alternaria alternata* an endophytic fungus isolated from *Pinus tabulaeformis* as determined by random amplified microsatellites (RAMS). *Fungal Diversity*, 16: 53-65.

HANTULA, J. & MULLER, M.M. 1997. Variation within *Cremmeniella abietina* in Finland and other countries as determined by random amplified microsatellites (RAMS). *Mycological Research*, 101: 169-175.

HANTULA, J.; NIEMI, E.M.; KAITERA, J.; JALKANEN, R. & KURKELA, T. 1998. Genetic variation of the resin top fungus in Finland as determined by random amplified microsatellites (RAMS). *European Journal of Forest Pathology*, 28: 361-372.

HARWIG, J. & SCOTT, P.M. 1971. Brine shrimp (*Artemia salina* L.) larvae as a screening system for fungal toxins. *Applied Microbiology*, 21: 1011-1016.

HENRIKSEN, A.P. & STAHNEKE, L.H. 1997. Sensory and chromatographic evaluations of water soluble fractions from dried sausages. *J. Agric. Food Chem.*, 45: 2679-2684.

HILLIS, D.M. & DIXON, M.T. 1991. Ribosomal DNA: Molecular evolution and phylogenetic inference. *Quarterly Review of Biology*, 66: 411-433.

HONG, S-B.; CHO, H-S. & SHIN, H-D. 2006. Novel *Neosartorya* species isolated from soil in Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56: 477-486.

HORN, B.W. & DORNER, J.W. 1999. Regional differences in production of aflatoxin B₁ and cyclopiazonic acid by soil isolates of *Aspergillus flavus* along a transect within the United States. *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 1444-1449.

HOUBRAKEN, J.; LÓPEZ-QUINTERO, C.A.; FRISVAD, J.C.; BOEKHOUT, T.; THEELEN, B.; FRANCO MOLANO, A.E. & SAMSON, R.A. 2011. *Penicillium araracuarensis* sp. nov.; *Penicillium elleniae* sp. nov.; *Penicillium penarojense* sp. nov., *Penicillium vanderhammenii* sp. nov. and *Penicillium wotroi* sp. nov., isolated from leaf litter. *Int. Journal of Systematic and Evolutionary Microbiol.*, 61: 1462-1475.

HOUBRAKEN, J.; FRISVAD, J.C.; SEIFERT, K.A.; OVERY, D.P.; TUTHILL, D.M.; VALDEZ, J.G. & SAMSON, R.A. 2012. New penicillin-producing *Penicillium* species and an overview of section *Chrysogena*. *Persoonia*, 29: 78-100.

HUERTA, R.; LÓPEZ, M.; JORDANO, R. & MEDINA, L. 2002. Microbiología de los productos cárnicos fermentados. *Alimentaria*. Enero-Febrero 02: 53-61.

IACUMIN, L.; CHIESA, L.; BOSCOLO, D.; MANZANO, M.; CANTONI, C. & ORLIC, S. 2009. Moulds and ochratoxin A on surfaces of artisanal and industrial dry sausages. *Food Microbiol.*, 26: 65-70.

IGARASHI, Y.; SEKINE, A.; FUKAZAWA, H.; UEHARA, Y.; YAMAGUCHI, K.; ENDO, Y. & OKUDA, T. 2002. Anicequol, a novel inhibitor for anchorage-independent growth of tumor cells from *P. aurantiogriseum* Dierck TP-F0213. *J. Antibiot.*, 55: 371-376.

IMWIDTHAYA, P.; THIPSUVAN, K.; CHAIPRASERT, A.; DANCHAIVIJITRA, S.; SUTTHENT, R. & JEARANAISILAVONG, J. 2001. *Penicillium marneffeii*: types and drug susceptibility. *Mycopathologia*, 149: 109-115.

JURADO, M., VAZQUEZ, C., PATINO, B. & GONZALEZ-JAEN, M.T. 2005. PCR detection assays for the trichothecene-producing species *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. equiseti* and *F. sporotrichioides*. *Systematic and Applied Microbiology*, 28 (6): 562-568.

KOKKONEN, M.; JESTOI, M. & RIZZO, A. 2005. The effect of substrate on mycotoxin production of selected *Penicillium* strains. *Int. Journal of Food Microbiol.*, 99: 207-214.

LAICH, F.; FIERRO, F. & MARTIN, J.F. 2003. Isolation of *Penicillium nalgiovense* strains impaired in penicillin production by disruption of the *pcbAB* gene and application as starters on cured meat products. *Mycol. Res.*, 107: 717-726.

LAICH, F.; FIERRO, F. & MARTIN, J.F. 2002. Production of penicillin by fungi growing on food products: identification of a complete penicillin gene cluster in *Penicillium verrucosum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 1211-1219.

LARSEN, T.O.; SVENDSEN, A. & SMEDSGAARD, J. 2001. Biochemical characterization of Ochratoxin A-producing strains of the genus *Penicillium*. *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 3630-3635.

LARSEN, T.O.; GAREIS, M. & FRISVAD, J.C. 2002. Cell cytotoxicity and mycotoxin and secondary metabolite production by common *Penicillia* on cheese agar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6148-6152.

- LEE, S. B. & TAYLOR, J. W. 1990. Isolation of DNA from fungal mycelia and single spores. En: Innis, M.A., editor, Gelfand, D.H., editor, Sninsky, J.J., editor, White, T.J., editor. PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, Londres, 282-287.
- LEISTNER, L. 1984. Toxinogenic penicillia occurring in feeds and foods: a review. Food Tech. Aust. 36: 404-406.
- LEISTNER, L. 1990. Mold fermented foods: Recent developments. Food Biotechnology. 4: 433-441.
- LESLIE, J.F.; ZELLER, K.A; LOGRIECO, A.; MULE, G.; MORETTI, A. & RITIENI, A. 2004. Species diversity of and toxin production by *Gibberella fujikuroi* species complex strains isolated from native prairie grasses in Kansas. Applied and Environmental Microbiology, 70: 2254-2262.
- LOBUGLIO, K.F. & TAYLOR, J.W. 1995. Phylogeny and PCR identification of the human pathogenic fungus *Penicillium marneffe*. Journal of Clinical Microbiol., 33: 85-89.
- LOGRIECO, A., PETERSON, S.W. & WICLOW, D.T. 1990. Ribosomal RNA comparisons among taxa of the terverticillate Penicillia. En: Modern concepts in *Penicillium* and *Aspergillus* classification. Ed: Samson, R.A, Pitt J.I. Plenum Press, Londres. Págs 343-355.
- LÓPEZ, A. 2010. Especies fúngicas micotoxigénicas en productos cárnicos embutidos secos. Trabajo de tesis para optar al título de Ingeniero Técnico Agrícola. Universidad Nacional de Mar del Plata. Universidad Pública de Navarra.
- LÓPEZ-DÍAZ T. M.; GONZÁLEZ, C.; RODRÍGUEZ, R.; ENCINAS, J.P. & OTERO, A. 2001 a. Utilización de mohos y levaduras en la elaboración de embutidos cárnicos fermentados. Alimentaria. Marzo 01: 25-32.

LÓPEZ-DÍAZ, T.M.; SANTOS, J.A.; GARCÍA-LÓPEZ, M.L. & OTERO, A. 2001 b. Surface mycoflora of a Spanish fermented meat sausage and toxigenicity of *Penicillium* isolates. *Int. Journal of Food Microbiol.*, 68: 69-74.

LUCHESE, R.H. 2000. Produtos cárneos fermentados versus micotoxinas. En: *Atualidades em micotoxinas e armazenagem de graos*. Scussel, V.M. (ed.) CAL/CCA/UFSC, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. Págs 85-92.

LUDEMAN, V.; POSE, G.; POLLIO, M.L. & SEGURA, J. 2004. Determination of growth characteristics and lipolytic and proteolytic activities of *Penicillium* strains isolated from Argentinean salami. *Int. Journal of Food Microbiol.*, 96: 13-18.

LUND, F. 1995. Differentiating *Penicillium* species by detection of indole metabolites using a filter paper method. *Letters in Applied Microbiol.*, 20: 228-231.

MARTÍNEZ BENÍTEZ, E. 2003. Estudio de especies micotoxígenas del género *Penicillium*: *Penicillium verrucosum* Dierckx. Tesis de Doctorado. Department de Sanitat i d` Anatomía Animals. Facultat de Veterinaria. Universitat Autònoma de Barcelona.

MAKIMURA, K., MURAYAMA, S. Y. & YAMAGUCHI, H. 1994. Specific detection of *Aspergillus* and *Penicillium* species from respiratory specimens by polimerase chain reaction (PCR). *Japanese Journal of Medical Sciences and Biology*, 47: 141-156.

MILGROOM, M. 1996. Recombination and multilocus structure of fungal population. *Annual Review of Phytopathology* 34: 457-477.

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA. Reglamento Bromatológico Nacional. Decreto N° 315/94 de fecha 05/07/1994. Anotado y concordado con apéndice normativo. Diario Oficial. Dirección Nacional de Impresiones y Publicaciones Oficiales. Capítulo 13. Carne y derivados. Sección 1. Carne y subproductos, págs. 128-135.

MIZAKOVA, A.; PIPOVA, M. & TUREK, P. 2002. The occurrence of molds in fermented raw meat products. Czech J. Food Sci., Vol.20, No.3: 89-94.

MOSS, M. 1996. Mycotoxins, centenary review. Mycological Research, 100: 513-523.

MOSS, M.O. 2002. Mycotoxin review-1. *Aspergillus* and *Penicillium*. Mycologist. Volume 16. Part 3, 116-119.

NIELSEN, M.; FRISVAD, J. & NIELSEN, P. 1998. Protection by fungal starters against growth and secondary metabolite production of fungal spoilers of cheese. Int. Journal of Food Microbiol., 42: 91-99.

NORTHOLT, M. & BULLERMAN, L. 1982. Prevention of mold growth and toxin production through control of environmental conditions. Journal of Food Protection, 45: 519-526.

NÚÑEZ, F.; DÍAZ, M.C.; RODRÍGUEZ, M.; ARANDA, E.; MARTIN, A. & ASECIO, M.A. 2000. Effects of substrate, water activity, and temperature on growth and verrucosidin production by *Penicillium polonicum* isolated from dry-cured ham. Journal of Food Protection, 63: 231-236.

O'DONNELL, K. 1992. Ribosomal DNA internal transcribed spacers are highly divergent in the phytopathogenic ascomycete *Fusarium sambucinum* (*Gibberella pulicaris*). Current Genetics, 22: 213-220.

ORDÓÑEZ PEREDA, J.A. & DE LA HOZ PERALES, L. 2001. Embutidos crudos curados. Tipos. Fenómenos madurativos. Alteraciones. En: Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos. Ediciones Martín y Macías, Madrid, España. Págs 1063-1090.

ORDUÑA PUYAL, F.J.; ESCUDERO RANERA, D.D.; DEÁN, J.J.; LÓPEZ UNZU, T.D.; ARIAS LÓPEZ, D.J. & TABUENCA SÁNCHEZ, L.J. 2004. Tripas y envolturas para la industria alimentaria. En: Tecnología de productos cárnicos crudos-curados y salazones. IV Curso Internacional en Tecnología de productos cárnicos. IRTA, CECOP-PTC, Barcelona, España 2005.

PAPAGIANNI, M.; AMBROSIADIS, I. & FILIOUSIS, G. 2007. Mould growth on traditional greek sausages and penicillin production by *Penicillium* isolates. *Meat Science*, 76: 653-657.

PARENICOVA, L., SKOUBOE, P., FRISVAD, J., SAMSON, R., ROSSEN, L., HOOR-SUYKERBYUK, M.T. & VISSER, J. 2001. Combined molecular and biochemical approach identifies *Aspergillus japonicus* and *Aspergillus aculeatus* as two species. *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 521-527.

PATERSON, R.R.M. & BRIDGE, P.D. 1994. Chromatographic Methods. En: Biochemical techniques for filamentous fungi, IMI Technical Handbooks, No. 1. CAB International, Surrey, UK. Págs 55-78.

PERRONE, G.; SAMSON, R.A.; FRISVAD, J.C.; SUSCA, A.; GUNDE-CIMERMAN, N.; EPIFANI, F. & HOUBRAKEN, J. 2015. *Penicillium salamii*, a new species occurring during seasoning of dry-cured meat. *Int. Journal of Food Microbiol.*, 193: 91-98.

PETERSON, S.W. 2000. Phylogenetic analysis of *Penicillium* species based on ITS and LSU-rDNA nucleotide sequences. En: Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus* classification. Ed Samson, R.A.; Pitt, J.I. Harwood Publishers. Amsterdam. Págs 163-178.

PETERSON, S.W. & SIGLER, L. 2002. Four new species of *Penicillium* with melanized conidiophores. *Mycological Research*, 106 (9): 1109-1118.

PETERSON, S.W.; BAYER, E.M. & WICKLOW, D.T. 2004. *Penicillium thiersii*, *Penicillium angular* and *Penicillium decaturense*, new species isolated from wood-decay fungi in North America and their phylogenetic placement from multilocus DNA sequence analysis. *Mycologia*, 96 (6): 1280-1293.

PETERSON, S.W.; VEGA, F. & POSADA, F. 2005. *Penicillium coffeae*, a new endophytic species isolated from a coffee plant and its phylogenetic relationship to *P. fellutanum*, *P. thiersii* and *P. brocae* based on parsimony analysis of multilocus DNA sequences. *Mycologia*, 97: 659-666.

PIÑEIRO, M.; REPISO, L. & BOGA, B. 1999. Caracterización de cepas fúngicas productoras de micotoxinas en el emplume de embutidos secos. Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU).

PITT, J.I. 1979. The genus *Penicillium* and its teleomorphic status *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press Ed., London.

PITT, J.I. & HOCKING, A.D. 1997. Fungi and food spoilage. Chapman and Hall, New York.

PITT, J.I., SAMSON, R.A. & FRISVAD, J.C. 2000. List of accepted species and their synonyms in the family *Trichocomaceae*. En: Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus* classification. Ed: Samson, R.A, Pitt, J.I. Harwood Publishers, Amsterdam. Págs 9-49.

PITT, J.I. & SAMSON, R.A. 1993. Species names in current use in the *Trichocomaceae* (Fungi, Eurotiales). *Regnum Vegetabile*, 128: 13-57.

PITT, J.I. 1987. *Penicillium viridicatum*, *Penicillium verrucosum* and production of ochratoxin A. *Applied and Environmental Microbiology*, 53: 266-269.

POSE, G.; LUDEMAN, V.; POLLIO, M.L. & SEGURA, J. 2003. Micoflora autóctona de la superficie de embutidos secos fermentados. La Industria Cárnica Latinoamericana. No. 129: 28-32.

RAMÍREZ, C. 1982. Manual and atlas of the Penicillia. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.

REY, A.M & SILVESTRE, A.A. 2002. Las micotoxinas. En: Comer sin riesgos 2. Las enfermedades transmitidas por alimentos. Rey, A.M. & Silvestre, A.A (ed), Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina. Págs 263-271.

RILEY, R.T & GOEGER, D.E. 1992. Cyclopiazonic acid: speculation on its function in fungi. En Handbook of applied mycology. Vol. 5. Mycotoxins in ecological systems. Bhatnagar, D.; Lillehoj, E.B. & Arora, D.K. (Eds), 4th edn. Marcel Dekker, Inc. New York. U.S.A. Págs 385-402.

RIVERA, K.G. & SEIFERT, K.A. 2011. A taxonomic and phylogenetic revision of the *Penicillium sclerotiorum* complex. *Studies in Mycology*, 70: 139-158.

RODRÍGUEZ, M.; NÚÑEZ, F.; CÓRDOBA, J.J.; BERMÚDEZ, M.E. & ASECIO, M.A. 1998. Evaluation of proteolytic activity of micro-organisms isolated from dry cured ham. *Journal of Applied Microbiology*, 85: 905-912.

RONCAGLIA, O.K.; DRAGONI, I.; PAPA, A. & VALLONE, L. 1994. Moulds and the technology of manufacture of Modena (Vignola) coppa. *Ing. Aliment. Conserve Anim.*, 10: 25-26.

ROSLAN, H.A.; NGO, C.S. & MUID, S. 2010. Genetic diversity of *Penicillium* species isolated from various sources in Sarawak, Malaysia. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 7 (2) & 8 (1): 13-23.

SAMSON, R.A.; SEIFERT, K.A.; KUIJPERS, A.F.A.; HOUBRAKEN, J.A.M.P. & FRISVAD, J.C. 2004. Phylogenetic analysis of *Penicillium* subgenus *Penicillium* using partial β -tubulin sequences. *Studies in Mycology*, 49: 175-200.

SAMSON, R.A.; YILMAZ, N.; HOUBRAKEN, J.; SPIERENBURG, H.; SEIFERT, K.A.; PETERSON, S.W.; VARGA, J. & FRISVAD, J.C. 2011. Phylogeny and nomenclature of the genus *Talaromyces* and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *Biverticillium*. *Studies in Mycology*, 70: 159-183.

SAMSON, R.A.; HOEKSTRA, F.S.; FRISVAD, J.C. & FILTENBORG, O. 2002. Introduction to food and airborne fungi, 6 ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures.

SAMSON, R.A. & GAMS, W. 1984. The taxonomic situation in the hyphomycete genera *Penicillium*, *Aspergillus* and *Fusarium*. *Anton. Leeuw. Int. J. G.*, 50: 815-824.

SAMSON, R.A., STOLK, A.C. & HADLOK, R. 1976. Revision of the subsection Fasciculata of *Penicillium* and some allied species. *Studies in Mycology*, 11: 1-47.

SCOTT, P.M. 2004. Other mycotoxins. In: Magan, N; Olsen, M (Eds.) *Mycotoxins in food*. Woodhead Publishing Ltd and CRC Press, Boca Ratón, Págs 406-440.

SCUSSEL, V.M. 1998. Patulina. En *Micotoxinas em alimentos*. Rolim de Moura, N (ed), Editorial Insular, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. Págs 47-48.

SEIFERT, K.A.; SAMSON, R.A.; DEWAARD, J.; HOUBRAKEN, J.; LEVESQUE, C.A.; MONCALVO, J.M.; LOUIS-SEIZE, G. & PDN, H. 2007. Prospects for fungus identification using CO1 DNA barcodes. *Proceedings of the National Academy of Science*, 104: 3901-3906.

SELGAS, M.D.; ROS, J. & GARCÍA, M.L. 2003. Effect of selected yeast strains on the sensory properties of dry fermented sausages. *Eur. Food Res. Technol.*, 217: 475-480.

SERRA, R.; PETERSON, S.; CTCOR & VENANCIO, A. 2008. Multilocus sequence identification of *Penicillium* species in cork bark during plank preparation for the manufacture of stoppers. *Research in Microbiology*, 159: 178-186

SESMA, B. & RAMÍREZ, C. 1976. Estudio de la flora microbiana durante la maduración de los embutidos. Caracterización de levaduras aisladas del salchichón de Pamplona. *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.*, 16: 539-545.

SINGH, B.J. & DINCHO, D. 1994. Molds as protective cultures for raw dry sausages. *Journal of Food Protection*, 57: 928-930.

SKOUBOE, P.; FRISVAD, J.C.; TAYLOR, J.W. LAURITSEN, D.; BOYSEN, M. & ROSSEN, L. 1999. Phylogenetic analysis of nucleotide sequences from the ITS region of terverticillate *Penicillium* species. *Mycological Research*, 103: 873-881.

SKROBEK, A.; BOSS, D.; DÉFAGO, G.; BUTT, T.M. & MAURHOFER, M. 2006. Evaluation of different biological test systems to assess the toxicity of metabolites from fungal biocontrol agents. *Toxicology Letters*, 161: 43-53.

SOLIGNAT, G. 2002. Séchage-maturation. En: *Technologies des produits de charcuterie et des salaisons*. Editions Tec & Doc, París, France. Págs 279-315.

SOMMER, N.F. ; BUCHANAN, J.R. & FORTLAGE, R.J. 1974. Production of patulin by *Penicillium expansum*. *Applied Microbiology*, 28: 589-593.

SONJAK, S.; LICEN, M.; FRISVAD, J.C. & GUNDE-CIMERMAN, N. 2011. Salting of dry-cured meat-A potential cause of contamination with the ochratoxin A-producing species *Penicillium nordicum*. *Food Microbiol.*, 28: 1111-1116.

SORENSEN, L.M.; JACOBSEN, T.; NIELSEN, P.V.; FRISVAD, J.C. & KOCH, A.G. 2008. Mycobiota in the processing areas of two different meat products. *Int. Journal of Food Microbiol.*, 124: 58-64.

SOSA, M.J.; CÓRDOBA, J.J.; DÍAZ, C.; RODRÍGUEZ, M.; BERMÚDEZ, E.; ASENCIO, M.A. & NÚÑEZ, F. 2002. Production of cyclopiazonic acid by *Penicillium commune* isolated from dry-cured ham on a meat extract-based substrate. *Journal of Food Protection*, 65:988-992.

STENGLEIN, S.A. & BALATTI, P.A. 2006. Genetic diversity of *Phaeoisariopsis griseola* in Argentina as revealed by pathogenic and molecular markers. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 68:158-167.

SWEENEY, M. & DOBSON, A. 1998. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *Int. Journal of Food Microbiol.*, 43: 142-158.

SZEBIOTKO, K. 1981. Micotoxins in cereal grain. Part 1. Ochratoxin, citrinin, sterigmatocystin, penicillic acid and toxigenic fungi in cereal grain. *Die Nahrung*. 25:415-421.

TABUC, C.; BAILLY, J.D.; BAILLY, S.; QUERIN, A. & GUERRE, P. 2004. Toxigenic potential of fungal mycoflora isolated from dry cured meat products: preliminary study. *Revue Méd. Vét.*, 156, 5, 287-291.

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A. & KUMAR, S. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular biology and evolution*, 30 (12): 2725-2729.

TAYLOR, J.W.; PITT, J.I. & HOCKING, A.D. 1990. Ribosomal DNA restriction studies of *Talaromyces* species with *Paecilomyces* and *Penicillium* anamorphs. En: *Modern concepts in Penicillium and Aspergillus classification*. Ed: Samson, R.A; PITT, J.I. Plenum Press, Londres, págs: 357-370.

TIWARI, K.L.; JADHAV, S.K. & KUMAR, A. 2011. Morphological and molecular study of different *Penicillium* species. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 7 (2): 203-210.

TORELLI, E.; FIRRAO, G.; LOCCI, R. & GOBBI, E. 2006. Ochratoxin A producing strains of *Penicillium* spp. isolated from grapes used for the production of “passito” wines. *Int. Journal of Food Microbiol.*, 106: 307-312.

TUTHILL, D.E. 2004. Genetic variation and recombination in *Penicillium miczynskii* and *Eupenicillium* species. *Mycological Progress*, 3 (1): 3-12.

VAINIO, E.J., KORHONEN, K. & HANTULA, J. 1998. Genetic variation in *Phlebiopsis gigantea* as detected with random amplified microsatellites (RAMS) markers. *Mycological Research*, 102: 187-192.

VAN EGMOND, & DECKER, W.H. 1997. Worldwide regulations for mycotoxins in 1995. A compendium. *FAO Food and Nutrition Paper 64*, FAO, Rome, Italy.

VEGA, E.E.; POSADA, F.; PETERSON, S.W.; GIANFAGNA, T.J. & CHAVES, F. 2006. *Penicillium* species endophytic in coffee plants and ochratoxin A production. *Mycologia*, 98: 31-42.

VERO, S.; VÁZQUEZ, A.; CERDEIRAS, M.P. & SOUBES, M. 1999. A rapid TLC-scanning method for the determination of Patulin in apple products. *Journal of Planar Chromatography*, 12: 172-174.

VISAGIE, C.M.; HOUBRAKEN, J.; FRISVAD, J.C.; HONG, S-B.; KLAASSEN, C.H.W.; PERRONE, G.; SEIFERT, K.A.; VARGA, J.; YAGUCHI, T. & SAMSON, R.A. 2014. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in Mycology*, 78: 343-371.

WANG, L.; & ZHUANG, W-Y. 2007. Phylogenetic analyses of penicillia based on partial calmodulin gene sequences. *BioSystems*, 88: 113-126.

WHITE, T. J., BRUNS, T., LEE, S. J. W. T., & TAYLOR, J. W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En: Innis, M.A., editor, Gelfand, D.H., editor, Sninsky, J.J., editor, White, T.J., editor. *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, Londres, 315-322.

WILEY, E.O. 1981. *Phylogenetics: the theory and practice of phylogenetic systematics*. John Wiley. Nueva York.

WILSON, D.M. & NUOVO, G.J. 1973. Patulin production in apples decayed by *Penicillium expansum*. *Applied Microbiology*, 26: 124-125.

YILMAZ, N.; HOUBRAKEN, J.; HOEKSTRA, E.S.; FRISVAD, J.C.; VISAGIE, C.M. & SAMSON, R.A. 2012. Delimitation and characterisation of *Talaromyces purpurogenus* and related species. *Persoonia*, 29: 39-54.

ZIETKIEWICZ, E.; RAFALSKI, A & LABUDA, D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeats (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20: 176-183.

[\]http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/index_en.htm](http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/index_en.htm)

10. ANEXOS

10.1- Abreviaciones

ACP: Ácido ciclopiazónico

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AFLP: Amplified Fragment Length Polymorphism (Polimorfismo para la Longitud de los Fragmentos Amplificados)

ARN: Ácido ribonucleico

ARNasa: Ribonucleasa, enzima que cataliza la hidrólisis del ARN

a_w : actividad hídrica

BLAST: Basic Local Alignment Search Tool (Herramienta de búsqueda básica de alineamientos)

CI: Consistency index (Índice de consistencia)

CIT: Citrinina

cm: Centímetros

COX1: Cytochrome oxidase subunit 1 (Subunidad 1 de la citocromo oxidasa)

CTAB: Cetyltrimethylammonium Bromide (Bromuro de Cetil-Trimetil Amonio)

CYA: Czapek Yeast Extract Agar (Agar Czapek Extracto de Levadura)

dATP: Trifosfato de desoxiadenosina

dCTP: Trifosfato de desoxicitidina

dGTP: Trifosfato de desoxiguanosina

dTTP: Trifosfato de desoxitimidina

EDTA: Ethylene-Diamine-Tetraacetic Acid (Ácido Etilen-Diamino Tetraacético)

Eh: Potencial redox

***et al.*:** Del latín “*et alia*” que significa “*y otros*”

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación

G25N: 25% Glycerol Nitrate Agar (Agar Nitrato 25% Glicerol)

HPLC: High performance liquid chromatography (Cromatografía Líquida de Alta Resolución)

IGS: Intergenic Spacer Region (Espaciador Intergénico del ADN ribosomal)

ITS: Internal Transcribed Spacers (Espaciador Intergénico Transcrito del ADN ribosomal)

kb: Kilobase

LB: Luria Broth (Caldo Luria)

M: Molar

MBTH: Metil Benzotiazolinona Hidrazona

MCTX: Micotoxinas

MEA: Malt Extract Agar (Agar Extracto de Malta)

MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (Análisis Molecular de Genética Evolutiva)

min: Minutos

mM: Minimolar

m/s: Metros por segundo

ISSR: Inter simple sequence repeats (Secuencias repetidas intersimple)

NA: Nutrient Agar (Agar Nutriente)

nm: Nanómetros

OA: Ocratoxina A

OMS Organización Mundial de la Salud

PAT: Patulina

pb: Pares de bases

PCR: Polymerase Chain Reaction (Reacción en Cadena de la Polimerasa)

rADN: ADN ribosomal

RAMS: Random Amplified Microsatellites (Microsatélites amplificados al azar)

RAPD: Random Amplified Polymorphism DNA (Polimorfismo de ADN amplificado al azar)

RASFF: Sistema de Alerta Rápida para Alimentos y Piensos

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism (Polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción)

RI: Retention index (Índice de retención)

rpm: Revoluciones por minuto

s: Segundos

SDS: Sodium dodecyl sulfate (Dodecilsulfato de sodio)

Taq: Polimerasa termoestable aislada de *Thermus acuaticus*

TBE: Tris-Borato-EDTA (solución amortiguadora)

TL: Tree Length (Longitud del árbol)

TLC: Thin Layer Chromatography (Cromatografía en capa fina)

Tris-HCl: Tris hydroxymethyl-aminomethane hydrochloride (Hidrocioruro de tris hidroximetil-aminometano)

U: unidades

UPGMA: Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (Método no ponderado de grupos apareados con medias aritméticas)

UV: Radiaciones ultravioleta

µg: Microgramos

µl: Microlitros

µM: Micromolar

V: voltios

x: veces la concentración

YES: Yeast Extract Sucrose Agar (Agar Extracto de Levadura Sacarosa)

10.2- Materiales

Para la realización de la parte experimental de este trabajo se emplearon productos químicos puros para análisis de las marcas comerciales SIGMA, TRILOGY, DIFCO y MERCK.

Los medios de cultivo utilizados para la siembra de las distintas especies de hongos filamentosos fueron preparados con productos de las firmas DIFCO, OXOID y BIOPACK.

Las pesadas rutinarias se realizaron en una balanza electrónica marca Ohaus modelo Portable plus (0.1 g). Las pesadas que requerían más precisión se realizaron con una balanza electrónica analítica marca Scientech, modelo SA 210 (0.0001 g).

La preparación de los medios de cultivo y de las soluciones se llevó a cabo utilizando un agitador térmico magnético marca Cole-Parmer, modelo 4803-02. También se utilizó un microondas marca PANAFOX, modelo KOR 63 DB.

Los medios de cultivo, soluciones y todo el material de laboratorio fueron esterilizados en un autoclave marca Selecta, modelo Presoclave 75, durante 20 minutos a 121° C.

Cámara de flujo laminar marca Forma Scientific.

Estufa marca Koxka, modelo EC-1200 con temperatura regulable para cultivo de cepas.

Se utilizó una heladera marca JAMES y también una cámara de refrigeración para conservación de materiales.

El incubador orbital utilizado fue marca New Brunswick Scientific, Edison, NT-USA, modelo 25 KC.

En algunas metodologías, a los efectos de lograr una buena homogeneización se utilizó un vórtex marca Scientific Industries, Inc, modelo G-560E.

Para la preparación de los filtrados de las distintas cepas fúngicas se utilizó una microcentrífuga marca Heinle, modelo 7230 MR. También se utilizaron filtros de acetato de celulosa 0.22 μm marca Sartorius.

La observación de las preparaciones microscópicas de las distintas cepas fúngicas para su caracterización se realizaron en un microscopio marca Nikon, modelo Labophot-2.

La observación de las larvas de *A.salina* se realizó con una lupa marca Nikon, modelo SMZ-U, zoom 1:10.

Los registros fotográficos de algunos resultados como las distintas cromatografías en capa fina, así como las actividades enzimáticas ensayadas fueron tomados con una cámara digital marca SONY, modelo Cyber-shot DSC-P32.

Las micropipetas de 1-10 μl , 10-100 μl y 100 -1000 μl utilizadas fueron de la marca Microlit, modelos VVCS-10, VVCS-100 y VVCS-1000, respectivamente.

El recuento de conidios, cuando fue necesario se realizó en una cámara de recuento de Neubauer.

La cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) resistente a penicilina y la cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) sensible a penicilina fueron donadas por el laboratorio de Bacteriología del Servicio Nacional de Sangre del Ministerio de Salud Pública.

Los discos de penicilina utilizados como control positivo fueron marca Oxoid.

Las cromatoplasmas utilizadas para la determinación de PAT tenían un indicador fluorescente UV₂₅₄ fueron Macherey-Nagel, Duren, Alemania. Por su parte, las cromatoplasmas utilizadas para la determinación de ACP, CIT y OA fueron MERCK 5735.

Las amplificaciones se realizaron con un termociclador marca Labnet, modelo Multigene-Optimax.

Los marcadores de peso molecular utilizados fueron: Gene Ruler™ 100 bp DNA Ladder y Gene Ruler™ 1 kb DNA Ladder Plus, ambos marca Fermentas, Alemania.

La observación de los geles se realizó con un transiluminador de luz ultra violeta marca Vilber Lourmat, modelo TFX-20C.

10.3- Composición de los medios de cultivo y soluciones tampón

CYA: Agar Czapek Extracto de Levadura

NaNO ₃	0,3%
K ₂ HPO ₄	0,1%
KCl	0,05%
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,05%
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,001%
Extracto de levadura	0,5%
Sacarosa	3%
Agar	1,5%
Agua destilada	

G25N: Agar Nitrato 25% Glicerol

Concentrado Czapek	0,75%
K ₂ HPO ₄	0,075%
Extracto de levadura	0,37%
Glicerol	25%
Agar	1,5%
Agua destilada	

Concentrado Czapek

NaNO ₃	30%
KCl	5%
MgSO ₄ .7H ₂ O	5%
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,1%
ZnSO ₄ .7 H ₂ O	0,1%
CuSO ₄ .5 H ₂ O	0,05%
Agua destilada	

LB: Caldo Luria

Triptona	1%
Extracto de levadura	0,5%
NaCl	1%
Agar	1,5%
Agua destilada	

MEA: Agar Extracto de Malta

Extracto de malta	2%
Agar	1,5%
Agua destilada	

MEA: Agar Extracto de Malta para identificación por método de Pitt

Extracto de malta	2%
Peptona	0,1%
Agar	2%
Agua destilada	

YES: Agar extracto de levadura sacarosa

Extracto de levadura	2%
Sacarosa	15%
Agar	2%
Agua destilada	

TBE: Tris-Borato-EDTA

Tris	10,8 g
Ácido bórico	5,5 g
Na ₂ EDTA 0,5M, pH: 8	4 ml
Agua destilada	csp 1000 ml

10.4- Datos y análisis estadístico

10.4.1- Número de propágulos/cm² correspondientes a hongos filamentosos y levaduras obtenidos a partir de los distintos tipos de productos cárnicos fermentados secos.

Número de propágulos (10⁴)/cm² (filamentosos) en cada unidad correspondientes al producto salami

Salami			
	Empresa A	Empresa B	Empresa C
Unidad 1	134	740	920
Unidad 2	119	1950	1040
Unidad 3	83	1280	1320
Unidad 4	84	1050	820
Unidad 5	120	1080	870

Número de propágulos (10⁴)/cm² (levaduras) en cada unidad correspondientes al producto salami

Salami			
	Empresa A	Empresa B	Empresa C
Unidad 1	1320	5800	4000
Unidad 2	1160	1130	4300
Unidad 3	1070	1970	5700
Unidad 4	1750	1850	5200
Unidad 5	1900	5250	3800

Número de propágulos (10⁴)/cm² (filamentosos) en cada unidad correspondientes al producto longaniza

Longaniza			
	Empresa A	Empresa B	Empresa C
Unidad 1	190	260	100
Unidad 2	150	205	82
Unidad 3	170	230	90
Unidad 4	90	132	155
Unidad 5	150	90	150

Número de propágulos (10^4)/cm² (levaduras) en cada unidad correspondientes al producto longaniza

Longaniza			
	Empresa A	Empresa B	Empresa C
Unidad 1	950	6300	1020
Unidad 2	890	1700	1080
Unidad 3	1680	5800	900
Unidad 4	870	6300	1160
Unidad 5	2710	5900	1040

Número de propágulos (10^4)/cm² (filamentosos) en cada unidad correspondientes al producto chacarero

Chacarero			
	Empresa A	Empresa B	Empresa C
Unidad 1	195	65	0
Unidad 2	70	43	3
Unidad 3	170	44	3
Unidad 4	150	72	1
Unidad 5	95	44	4

Número de propágulos (10^4)/cm² (levaduras) en cada unidad correspondientes al producto chacarero

Chacarero			
	Empresa A	Empresa B	Empresa C
Unidad 1	1010	3200	1600
Unidad 2	1160	4750	3070
Unidad 3	1930	1450	4530
Unidad 4	770	3000	3070
Unidad 5	830	2600	2530

Comparación entre el número de propágulos correspondientes a hongos filamentosos y levaduras obtenidos a partir de los distintos productos cárnicos fermentados secos.

One Way Analysis of Variance

Test for equal means					
	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
Between groups:	1,29E+16	5	2,58E+15	15,3	1,14E-10
Within groups:	1,42E+16	84	1,69E+14		
Total:	2,71E+16	89			
omega2:	0,4427				
Levene´s test for homogeneity of variance, from means	p (same):	1,76E-16			
Levene´s test, from medians	p (same):	4,63E-05			

Welch F test in the case of unequal variances: F=26,08, df=36,2, p=4,529E-11

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

Kruskal-Wallis test for equal medians	
H (chi2):	64,32
Hc (tie corrected):	64,33
p (same):	1,55E-12

There is a significant difference between sample medians

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Mann-Whitney Test)

	Filam. salam	Levad. salam	Filam. long.	Levad. long.	Filam. chac.	Levad. chac.
Filam. salam		6,80E-05	2,64E-02	7,44E-03	8,09E-05	6,17E-04
Levad. salam	6,80E-05		3,38E-06	1,71E-01	3,38E-06	3,29E-01
Filam. long.	2,64E-02	3,38E-06		3,38E-06	1,86E-03	3,34E-06
Levad. long.	7,44E-03	1,71E-01	3,38E-06		3,38E-06	6,48E-01
Filam. chac.	8,09E-05	3,38E-06	1,86E-03	3,38E-06		3,34E-06
Levad. chac.	6,17E-04	3,29E-01	3,34E-06	6,48E-01	3,34E-06	

Comparación entre el número de propágulos correspondientes a hongos filamentosos y levaduras obtenidos a partir de los distintos productos cárnicos fermentados secos por empresa.

One Way Analysis of Variance

Test for equal means					
	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
Between groups:	2,19E+16	17	1,29E+15	17,91	2,25E-19
Within groups:	5,18E+15	72	7,19E+13		
Total:	2,71E+16	89			
omega2:	0,7616				
Levene's test for homogeneity of variance, from means	p (same):	4,04E-10			
Levene's test, from medians	p (same):	0,03241			

Welch F test in the case of unequal variances: F=64, df=25,4, p=1,338E-16

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

Kruskal-Wallis test for equal medians	
H (chi2):	80,95
Hc (tie corrected):	80,97
p (same):	2,58E-10

There is a significant difference between sample medians

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Mann-Whitney Test)

	Fil. sal. A	Fil. sal. B	Fil. sal. C	Lev. sal. A	Lev. sal. B	Lev. sal. C
Fil. sal. A		1,19E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,19E-02
Fil. sal. B	1,19E-02		4,03E-01	4,63E-01	9,47E-02	1,22E-02
Fil. sal. C	1,19E-02	4,03E-01		4,65E-02	2,16E-02	1,22E-02
Lev. sal. A	1,19E-02	4,63E-01	4,65E-02		2,10E-01	1,22E-02
Lev. sal. B	1,19E-02	9,47E-02	2,16E-02	2,10E-01		4,03E-01
Lev. sal. C	1,19E-02	1,22E-02	1,22E-02	1,22E-02	4,03E-01	
Fil. long. A	5,86E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,19E-02
Fil. long. B	5,93E-02	1,22E-02	1,22E-02	1,22E-02	1,22E-02	1,22E-02
Fil. long. C	7,53E-01	1,22E-02	1,22E-02	1,22E-02	1,22E-02	1,22E-02
Lev. long. A	1,19E-02	1,00E+00	4,63E-01	4,03E-01	9,47E-02	1,22E-02
Lev. long. B	1,19E-02	2,16E-02	1,22E-02	3,67E-02	9,47E-02	1,73E-01
Lev. long. C	1,19E-02	4,63E-01	4,63E-01	4,65E-02	2,16E-02	1,22E-02
Fil. chac. A	4,02E-01	1,22E-02	1,22E-02	1,22E-02	1,22E-02	1,22E-02
Fil. chac. B	1,17E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,19E-02
Fil. chac. C	1,17E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,19E-02
Lev. chac. A	1,19E-02	6,76E-01	9,17E-01	2,49E-01	9,47E-02	1,22E-02
Lev. chac. B	1,19E-02	2,16E-02	1,22E-02	3,67E-02	1,00E+00	6,01E-02
Lev. chac. C	1,17E-02	2,12E-02	1,19E-02	3,62E-02	1,00E+00	5,93E-02

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Mann-Whitney Test)

	Fil. long. A	Fil. long. B	Fil. long. C	Lev. long. A	Lev. long. B	Lev. long. C
Fil. sal. A	5,86E-02	5,93E-02	7,53E-01	1,19E-02	1,19E-02	1,19E-02
Fil. sal. B	1,19E-02	1,22E-02	1,22E-02	1,00E+00	2,16E-02	4,63E-01
Fil. sal. C	1,19E-02	1,22E-02	1,22E-02	4,63E-01	1,22E-02	4,63E-01
Lev. sal. A	1,19E-02	1,22E-02	1,22E-02	4,03E-01	3,67E-02	4,65E-02
Lev. sal. B	1,19E-02	1,22E-02	1,22E-02	9,47E-02	9,47E-02	2,16E-02
Lev. sal. C	1,19E-02	1,22E-02	1,22E-02	1,22E-02	1,73E-01	1,22E-02
Fil. long. A		4,02E-01	4,02E-01	1,19E-02	1,19E-02	1,19E-02
Fil. long. B	4,02E-01		1,73E-01	1,22E-02	1,22E-02	1,22E-02
Fil. long. C	4,02E-01	1,73E-01		1,22E-02	1,22E-02	1,22E-02
Lev. long. A	1,19E-02	1,22E-02	1,22E-02		3,67E-02	8,35E-01
Lev. long. B	1,19E-02	1,22E-02	1,22E-02	3,67E-02		1,22E-02
Lev. long. C	1,19E-02	1,22E-02	1,22E-02	8,35E-01	1,22E-02	
Fil. chac. A	1,00E+00	2,96E-01	4,03E-01	1,22E-02	1,22E-02	1,22E-02
Fil. chac. B	1,17E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,19E-02
Fil. chac. C	1,17E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,19E-02
Lev. chac. A	1,19E-02	1,22E-02	1,22E-02	6,76E-01	2,16E-02	8,34E-01
Lev. chac. B	1,19E-02	1,22E-02	1,22E-02	6,01E-02	9,47E-02	1,22E-02
Lev. chac. C	1,17E-02	1,19E-02	1,19E-02	5,93E-02	9,37E-02	1,19E-02

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Mann-Whitney Test)

	Fil. chac. A	Fil. chac. B	Fil. chac. C	Lev. chac. A	Lev. chac. B	Lev. chac. C
Fil. sal. A	4,02E-01	1,17E-02	1,17E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,17E-02
Fil. sal. B	1,22E-02	1,19E-02	1,19E-02	6,76E-01	2,16E-02	2,12E-02
Fil. sal. C	1,22E-02	1,19E-02	1,19E-02	9,17E-01	1,22E-02	1,19E-02
Lev. sal. A	1,22E-02	1,19E-02	1,19E-02	2,49E-01	3,67E-02	3,62E-02
Lev. sal. B	1,22E-02	1,19E-02	1,19E-02	9,47E-02	1,00E+00	1,00E+00
Lev. sal. C	1,22E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,22E-02	6,01E-02	5,93E-02
Fil. long. A	1,00E+00	1,17E-02	1,17E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,17E-02
Fil. long. B	2,96E-01	1,19E-02	1,19E-02	1,22E-02	1,22E-02	1,19E-02
Fil. long. C	4,03E-01	1,19E-02	1,19E-02	1,22E-02	1,22E-02	1,19E-02
Lev. long. A	1,22E-02	1,19E-02	1,19E-02	6,76E-01	6,01E-02	5,93E-02
Lev. long. B	1,22E-02	1,19E-02	1,19E-02	2,16E-02	9,47E-02	9,37E-02
Lev. long. C	1,22E-02	1,19E-02	1,19E-02	8,34E-01	1,22E-02	1,19E-02
Fil. chac. A		2,12E-02	1,19E-02	1,22E-02	1,22E-02	1,19E-02
Fil. chac. B	2,12E-02		1,17E-02	1,19E-02	1,19E-02	1,17E-02
Fil. chac. C	1,19E-02	1,17E-02		1,19E-02	1,19E-02	1,17E-02
Lev. chac. A	1,22E-02	1,19E-02	1,19E-02		2,16E-02	2,12E-02
Lev. chac. B	1,22E-02	1,19E-02	1,19E-02	2,16E-02		8,33E-01
Lev. chac. C	1,19E-02	1,17E-02	1,17E-02	2,12E-02	8,33E-01	

10.4.2- Evaluación de la capacidad toxicogénica de las cepas fúngicas aisladas a partir de los productos salamín frente a *A.salina* (% sobrevivencia)

S1 1a	<i>P. vanluykii</i>	NT		S1 1b	<i>P. vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,0	100,0	90,0		94,7	89,4	83,3		
	91,6	100,0	89,3		94,7	100,0	87,0		
	92,6	89,5	91,7		92,9	100,0	91,3		
	95,5	90,0	90,3		95,5	90,0	93,1		
	94,4	93,3	89,7		95,0	82,1	90,6		
	94,7	73,3	91,3		91,7	94,1	91,7		
	P	94,0	91,0		90,4	P	94,1	92,6	89,5
	DS	1,4	9,0		0,8	DS	1,3	6,3	3,3
S2 1a	<i>P. vanluykii</i>	NT		S2 1b	<i>P. vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	94,1	92,9	92,6		95,2	100,0	94,7		
	95,5	95,8	94,1		93,8	95,6	90,9		
	100,0	95,2	94,7		95,2	95,2	92,0		
	92,9	92,3	91,3		93,3	92,3	88,9		
	93,8	100,0	90,9		94,4	92,6	88,9		
	100,0	93,8	89,7		100,0	94,4	88,0		
	P	96,1	95,0		92,2	P	95,3	95,0	90,6
	DS	2,9	2,5		1,8	DS	2,2	2,5	2,3
S3 1a	<i>P. vanluykii</i>	NT		S3 1b	<i>P. vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	100,0	91,4	100,0		84,2	94,1	90,9		
	100,0	95,2	94,1		100,0	96,3	88,2		
	85,7	87,9	95,0		90,0	85,3	91,3		
	94,4	87,5	87,0		73,7	95,0	85,7		
	90,5	100,0	92,3		95,2	88,2	88,5		
	96,0	93,5	75,9		100,0	90,0	94,4		
	P	94,4	92,6		90,7	P	90,5	91,5	89,8
	DS	5,1	4,3		7,7	DS	9,4	3,9	2,8
S4 1a	<i>P. vanluykii</i>	NT		S4 1b	<i>P. vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,2	95,2	91,3		100,0	95,5	89,5		
	95,5	96,4	88,9		94,1	92,0	90,0		
	100,0	100,0	90,5		100,0	94,7	88,9		
	94,7	95,2	88,2		89,5	95,8	92,0		
	93,8	91,7	94,7		95,2	92,6	92,9		
	100,0	100,0	90,5		95,0	100,0	88,0		
	P	96,5	96,4		90,7	P	95,6	95,1	90,2
	DS	2,5	2,9		2,1	DS	3,6	2,6	1,7
S5 1a	<i>P. vanluykii</i>	NT		S5 1b	<i>P. vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	100,0	95,6	96,0		89,5	96,0	88,0		
	95,5	92,0	85,7		90,0	100,0	90,0		
	95,5	100,0	90,9		100,0	95,8	100,0		
	89,5	95,8	88,9		95,6	90,9	85,2		
	100,0	92,3	89,7		100,0	91,7	88,2		
	94,1	95,0	90,9		94,7	95,2	88,9		
	P	95,8	95,1		90,3	P	95,0	94,9	90,1
	DS	3,6	2,7		3,1	DS	4,2	3,0	4,7

P=promedio

DS= desvío estándar

NT: no tóxica

S1 2a	<i>P. vanluykii</i>	NT		S1 2b	<i>P. vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	100,0	100,0	95,8		94,4	94,1	92,0		
	95,6	95,2	95,0		100,0	100,0	90,4		
	96,3	93,3	84,2		96,0	93,5	91,3		
	95,4	96,5	91,3		100,0	100,0	96,0		
	100,0	96,4	90,9		95,2	96,1	95,2		
	96,5	96,1	86,9		93,1	96,7	86,4		
	P	97,3	96,3		90,7	P	96,5	96,7	91,9
	DS	1,9	2,0		4,1	DS	2,7	2,5	3,2
S2 2a	<i>P. vanluykii</i>	NT		S2 2b	<i>P. vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,0	100,0	94,7		96,7	94,7	100,0		
	100,0	94,7	91,3		100,0	100,0	90,4		
	92,3	93,5	90,9		92,0	92,5	92,5		
	95,2	100,0	89,3		96,4	100,0	90,9		
	100,0	96,0	95,2		100,0	95,4	87,0		
	96,0	93,9	92,5		96,6	95,2	92,3		
	P	96,4	96,4		92,3	P	97,0	96,3	92,2
	DS	2,8	2,7		2,1	DS	2,7	2,8	3,9
S3 2a	<i>P. vanluykii</i>	NT		S3 2b	<i>P. vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	100,0	97,3	88,0		94,7	95,0	90,0		
	90,4	96,3	81,5		90,9	94,4	86,2		
	95,5	100,0	90,4		100,0	93,1	88,2		
	100,0	90,0	90,4		93,5	100,0	95,2		
	94,7	100,0	94,7		100,0	95,6	95,0		
	95,2	91,6	95,6		100,0	96,0	87,5		
	P	96,0	95,9		90,1	P	96,5	95,7	90,4
	DS	3,3	3,9		4,7	DS	3,7	2,1	3,5
S4 2a	<i>P. vanluykii</i>	NT		S4 2b	<i>P. vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,2	100,0	89,4		100,0	100,0	94,7		
	95,2	95,8	88,9		100,0	90,4	88,8		
	93,8	96,0	89,4		95,4	95,2	96,0		
	93,3	93,1	90,9		93,9	100,0	89,4		
	100,0	95,4	92,0		100,0	94,7	90,4		
	100,0	100,0	96,0		93,8	95,6	88,2		
	P	96,3	96,7		91,1	P	97,2	96,0	91,3
	DS	2,7	2,5		2,4	DS	2,9	3,3	3,0
S5 2a	<i>P. vanluykii</i>	NT		S5 2b	<i>P. vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,2	100,0	95,4		100,0	100,0	92,0		
	100,0	90,4	88,4		95,4	95,6	88,0		
	95,6	95,6	93,1		90,9	95,0	95,2		
	93,5	96,4	91,6		93,3	100,0	90,9		
	100,0	100,0	88,2		96,4	96,5	85,7		
	94,7	96,1	90,0		100,0	90,4	94,4		
	P	96,5	96,4		91,1	P	96,0	96,3	91,0
	DS	2,6	3,2		2,6	DS	3,3	3,3	3,3

NT: no tóxica

S1 3a	<i>P. vanluykii</i>	NT		S1 3b	<i>P. vanluykii</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	95,0	100,0	95,0		96,6	95,0	96,0
	95,4	95,8	90,0		100,0	95,8	89,5
	93,1	93,3	89,4		96,6	95,0	96,0
	95,4	96,3	91,3		100,0	95,8	89,5
	100,0	93,1	87,5		95,7	92,8	89,4
	96,5	96,1	90,5		95,4	96,3	91,3
	P	95,9	95,8		90,6	P	95,6
DS	2,1	2,3	2,3	DS	2,0	2,2	2,9
S2 3a	<i>P. vanluykii</i>	NT		S2 3b	<i>P. vanluykii</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	95,6	96,0	89,4		95,4	100,0	88,9
	100,0	95,8	91,3		100,0	95,8	92,6
	93,1	92,8	91,6		96,6	92,0	86,3
	95,6	96,5	95,0		95,6	96,4	90,0
	96,5	96,0	91,7		96,5	100,0	91,3
	95,0	100,0	86,9		95,2	96,2	87,5
	P	96,0	96,2		91,0	P	96,5
DS	2,1	2,1	2,5	DS	1,6	2,7	2,1
S3 3a	<i>P. vanluykii</i>	NT		S3 3b	<i>P. vanluykii</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	95,2	100,0	90,0		95,0	100,0	91,3
	93,1	94,7	89,5		95,2	90,4	90,4
	100,0	90,3	86,3		100,0	100,0	88,0
	95,2	100,0	95,0		92,9	90,0	95,0
	95,8	96,0	91,3		91,6	93,8	90,0
	100,0	93,9	91,6		100,0	95,8	86,9
	P	96,6	95,8		90,6	P	95,8
DS	2,6	3,4	2,6	DS	3,2	4,0	2,6
S4 3a	<i>P. vanluykii</i>	NT		S4 3b	<i>P. vanluykii</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	100,0	95,0	95,4		95,4	91,7	89,2
	100,0	95,8	88,5		94,7	100,0	88,0
	95,4	96,2	93,1		100,0	96,3	93,1
	93,9	100,0	91,7		93,3	95,2	94,7
	100,0	95,4	82,4		100,0	93,1	90,0
	93,8	91,7	90,0		100,0	100,0	91,7
	P	97,2	95,7		90,2	P	97,2
DS	2,9	2,4	4,1	DS	2,8	3,2	2,3
S5 3a	<i>P. vanluykii</i>	NT		S5 3b	<i>P. vanluykii</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	100,0	100,0	96,0		90,9	95,6	92,0
	95,4	90,9	87,5		95,4	100,0	87,5
	90,9	95,6	95,0		100,0	90,9	95,4
	93,3	96,4	90,9		93,3	96,4	91,3
	96,4	100,0	89,4		100,0	96,0	84,2
	100,0	96,2	85,7		96,4	95,0	90,4
	P	96,0	96,5		90,8	P	96,0
DS	3,3	3,1	3,7	DS	3,3	2,7	3,5

NT: no tóxica

S1 4a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S1 4b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		94,1	100,0			94,7	96,4	91,7	92,0		
		95,2	93,5			88,8	100,0	96,8	83,3		
		100,0	91,7			87,5	96,6	92,0	94,7		
		100,0	97,1			89,5	94,4	97,1	95,0		
		93,8	100,0			90,5	96,2	96,3	91,3		
		100,0	94,7			95,0	95,2	100,0	88,0		
		P	97,2			96,2	91,0	P	96,5	95,6	90,7
		DS	2,8			3,2	2,9	DS	1,8	2,9	4,1
S2 4a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S2 4b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		95,0	95,8			88,2	94,4	100,0	96,0		
		100,0	96,6			91,7	95,6	95,2	95,0		
		94,7	100,0			90,5	96,3	93,3	89,5		
		100,0	94,3			85,0	95,4	96,5	91,3		
		96,7	95,7			90,9	100,0	93,1	86,4		
		93,1	92,0			95,6	93,1	96,2	82,6		
		P	96,6			95,7	90,3	P	95,8	95,7	90,1
		DS	2,6			2,4	3,2	DS	2,1	2,3	4,7
S3 4a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S3 4b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		95,0	100,0			90,9	100,0	94,7	91,2		
		100,0	93,5			100,0	96,2	100,0	86,6		
		95,8	95,8			92,8	93,8	95,2	100,0		
		100,0	97,1			86,4	100,0	94,7	92,6		
		96,5	92,6			91,3	94,4	94,1	87,5		
		90,0	100,0			84,6	95,2	100,0	85,0		
		P	96,2			96,5	91,0	P	96,6	96,5	90,5
		DS	3,4			2,9	4,9	DS	2,5	2,5	5,0
S4 4a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S4 4b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		91,3	94,4			88,2	100,0	94,1	88,2		
		96,4	100,0			86,9	95,0	96,3	96,3		
		100,0	95,0			96,2	95,5	95,0	90,5		
		100,0	94,7			92,0	100,0	100,0	90,0		
		94,7	100,0			90,9	94,4	100,0	94,7		
		95,2	91,7			86,4	95,2	100,0	86,9		
		P	96,3			96,0	90,1	P	96,7	97,6	91,1
		DS	3,1			3,1	3,4	DS	2,4	2,5	3,4
S5 4a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S5 4b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		100,0	100,0			86,4	95,0	93,9	88,2		
		90,5	95,2			88,8	100,0	96,3	100,0		
		90,9	93,3			90,5	95,5	90,5	90,5		
		100,0	96,5			92,3	95,5	100,0	85,0		
		100,0	96,4			94,7	89,5	100,0	89,5		
		95,2	96,2			88,2	100,0	95,8	91,3		
		P	96,1			96,3	90,1	P	95,9	96,1	90,7
		DS	4,2			2,0	2,8	DS	3,6	3,3	4,6

NT: no tóxica

S6 1a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S6 1b	<i>P. nalgiovense</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	100,0	96,8	94,7		96,4	95,8	85,2		
	95,2	93,5	88,9		100,0	96,8	100,0		
	100,0	96,0	83,3		96,7	100,0	89,5		
	92,9	97,1	84,2		94,4	94,3	82,6		
	93,8	100,0	90,5		96,2	92,6	88,5		
	100,0	95,2	100,0		95,2	95,2	92,0		
	P	97,0	96,5		90,3	P	96,5	95,8	89,6
	DS	3,1	2,0		5,8	DS	1,7	2,3	5,5
S7 1a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S7 1b	<i>P. nalgiovense</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,0	91,7	88,2		94,4	100,0	96,0		
	100,0	93,5	96,3		95,7	93,9	95,0		
	94,7	100,0	85,7		96,4	96,0	89,5		
	100,0	97,1	85,7		95,5	93,5	91,3		
	96,8	95,7	90,9		100,0	95,7	86,4		
	93,1	100,0	95,7		93,1	92,0	82,6		
	P	96,6	96,3		90,4	P	95,8	95,2	90,1
	DS	2,6	3,1		4,3	DS	2,1	2,5	4,7
S8 1a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S8 1b	<i>P. nalgiovense</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	100,0	100,0	88,9		91,7	100,0	95,7		
	95,8	90,0	81,5		100,0	90,9	85,2		
	100,0	93,5	90,5		93,8	100,0	90,5		
	90,5	100,0	90,5		100,0	96,0	94,1		
	93,3	96,6	94,7		94,4	94,1	94,7		
	96,4	96,3	95,7		100,0	95,8	81,0		
	P	96,0	96,1		90,3	P	96,6	96,1	90,2
	DS	3,4	3,5		4,6	DS	3,5	3,2	5,4
S9 1a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S9 1b	<i>P. nalgiovense</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	100,0	94,4	95,5		96,6	100,0	86,4		
	90,5	95,2	89,5		96,4	95,0	90,0		
	95,5	100,0	90,9		100,0	95,7	89,5		
	100,0	96,6	87,0		95,7	93,5	91,3		
	94,7	93,1	87,5		94,7	96,2	95,5		
	95,2	96,2	92,0		95,5	95,7	88,0		
	P	96,0	95,9		90,4	P	96,5	96,0	90,1
	DS	3,3	2,1		2,9	DS	1,7	2,0	2,9
S10 1a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S10 1b	<i>P. nalgiovense</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,2	92,0	94,7		95,2	100,0	88,9		
	100,0	95,7	92,3		100,0	95,7	92,6		
	95,2	95,7	85,7		95,2	95,7	86,4		
	96,7	96,8	90,5		97,0	93,3	95,0		
	100,0	96,2	95,2		94,4	96,2	91,3		
	94,4	100,0	87,0		100,0	95,8	90,0		
	P	96,9	96,0		90,9	P	97,0	96,1	90,7
	DS	2,3	2,3		3,6	DS	2,3	2,0	2,7

NT: no tóxica

S6 3a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S6 3b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		94,1	92,8			88,8	96,4	96,0	84,6		
		95,5	95,8			90,9	100,0	94,7	93,5		
		100,0	95,2			92,0	96,6	100,0	81,8		
		92,8	92,3			88,8	94,4	96,0	88,5		
		93,8	100,0			90,0	96,2	95,7	95,5		
		100,0	93,8			91,3	100,0	94,7	100,0		
		P	96,0			95,0	90,3	P	97,3	96,2	90,7
		DS	2,9			2,6	1,2	DS	2,1	1,8	6,3
S7 3a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S7 3b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		100,0	100,0			89,4	95,0	100,0	94,7		
		90,5	94,4			88,8	100,0	96,6	90,9		
		94,7	93,1			88,0	95,8	100,0	89,2		
		100,0	96,0			100,0	100,0	94,3	86,3		
		96,7	95,6			90,4	96,5	92,5	91,3		
		96,6	96,0			88,2	90,0	95,0	88,4		
		P	96,4			95,9	90,8	P	96,2	96,4	90,1
		DS	3,3			2,1	4,2	DS	3,4	2,8	2,6
S8 3a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S8 3b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		94,4	100,0			95,4	96,0	100,0	90,9		
		100,0	100,0			80,0	94,7	92,6	90,9		
		100,0	95,8			93,0	100,0	95,6	92,3		
		93,8	96,2			100,0	90,4	93,1	93,3		
		100,0	89,4			88,2	96,5	93,8	90,3		
		94,7	95,0			88,8	100,0	100,0	85,2		
		P	97,2			96,1	90,9	P	96,3	95,8	90,5
		DS	2,9			3,6	6,3	DS	3,3	3,1	2,6
S9 3a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S9 3b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		100,0	94,7			91,1	94,4	95,0	95,7		
		96,4	93,8			96,7	95,4	100,0	87,5		
		93,8	100,0			85,7	100,0	91,3	85,7		
		100,0	100,0			96,3	100,0	100,0	93,1		
		94,4	94,1			89,4	96,3	93,3	93,1		
		95,2	96,0			87,5	96,0	95,6	88,4		
		P	96,6			96,4	91,1	P	97,0	95,9	90,6
		DS	2,5			2,6	4,1	DS	2,2	3,2	3,6
S10 3a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S10 3b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		95,2	100,0			90,3	100,0	100,0	93,8		
		100,0	95,2			95,6	90,4	95,7	86,3		
		93,7	95,7			92,0	95,2	96,0	92,3		
		96,7	92,9			83,3	100,0	95,5	93,3		
		94,4	95,0			88,0	94,7	92,3	88,0		
		100,0	96,2			95,5	100,0	96,3	90,0		
		P	96,7			95,8	90,8	P	96,7	96,0	90,6
		DS	2,5			2,1	4,3	DS	3,6	2,2	2,8

NT: no tóxica

S11 1a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S11 1b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		95,0	95,8			88,2	94,1	92,9	92,6		
		100,0	96,6			91,7	95,5	95,8	94,1		
		94,7	100,0			90,5	100,0	95,2	94,7		
		100,0	94,3			85,0	92,9	92,3	91,3		
		96,7	95,7			90,9	93,8	100,0	90,9		
		93,1	92,0			95,6	100,0	93,8	89,7		
		P	96,6			95,7	90,3	P	96,1	95,0	92,2
		DS	2,6			2,4	3,2	DS	2,9	2,5	1,8
S12 1a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S12 1b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		95,2	100,0			94,7	92,9	95,8	96,3		
		93,8	95,6			90,9	94,7	96,8	95,8		
		95,2	95,2			92,0	100,0	92,0	89,5		
		93,3	92,3			88,9	96,6	100,0	87,0		
		94,4	92,6			88,9	100,0	95,7	84,0		
		100,0	94,4			88,0	96,4	100,0	88,0		
		P	95,3			95,0	90,6	P	96,8	96,7	90,1
		DS	2,2			2,5	2,3	DS	2,6	2,8	4,5
S13 1a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S13 1b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		96,0	100,0			90,9	100,0	94,7	91,1		
		94,7	92,6			90,9	96,4	93,8	96,7		
		100,0	95,6			92,3	93,8	100,0	85,7		
		90,4	93,1			93,3	100,0	100,0	96,3		
		96,5	93,8			90,3	94,4	94,1	89,4		
		100,0	100,0			85,2	95,2	96,0	87,5		
		P	96,3			95,8	90,5	P	96,6	96,4	91,1
		DS	3,3			3,1	2,6	DS	2,5	2,6	4,1
S14 1a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S14 1b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		95,4	91,7			89,2	100,0	100,0	96,0		
		94,7	100,0			88,0	95,4	90,9	87,5		
		100,0	96,3			93,1	90,9	95,6	95,0		
		93,3	95,2			94,7	93,3	96,4	90,9		
		100,0	93,1			90,0	96,4	100,0	89,4		
		100,0	100,0			91,7	100,0	96,2	85,7		
		P	97,2			96,0	91,1	P	96,0	96,5	90,8
		DS	2,8			3,2	2,3	DS	3,3	3,1	3,7
S15 1a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S15 1b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		90,5	90,0			90,9	100,0	100,0	90,5		
		100,0	96,2			92,0	96,4	90,0	89,3		
		95,0	90,5			85,7	95,2	95,5	95,8		
		95,2	100,0			90,5	100,0	93,8	85,7		
		100,0	95,8			91,7	95,2	100,0	91,3		
		95,2	100,0			89,5	94,7	95,8	90,5		
		P	96,0			95,4	90,0	P	96,9	95,8	90,5
		DS	3,3			4,0	2,1	DS	2,2	3,5	3,0

NT: no tóxica

S11 2a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S11 2b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		100,0	94,1			92,3	94,4	95,5	94,7		
		90,0	100,0			90,4	95,7	100,0	91,3		
		100,0	100,0			92,6	100,0	95,7	90,9		
		94,7	90,6			96,0	91,6	95,8	92,9		
		96,7	96,7			81,0	96,3	92,9	85,7		
		96,2	96,0			86,9	96,0	96,8	85,2		
		P	96,3			96,2	89,9	P	95,7	96,1	90,1
		DS	3,4			3,3	4,8	DS	2,5	2,1	3,5
S12 2a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S12 2b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		94,7	100,0			90,9	100,0	95,4	96,3		
		100,0	86,9			90,9	100,0	100,0	95,5		
		92,6	96,4			88,0	90,9	100,0	88,0		
		100,0	95,2			92,8	100,0	91,3	90,9		
		95,5	100,0			85,7	89,4	92,9	83,3		
		95,2	94,4			92,6	95,2	96,7	86,4		
		P	96,3			95,5	90,2	P	95,9	96,0	90,1
		DS	2,8			4,4	2,5	DS	4,4	3,3	4,7
S13 2a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S13 2b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		94,7	94,1			87,0	100,0	92,0	95,5		
		100,0	96,2			88,9	95,2	100,0	88,8		
		100,0	90,4			90,3	93,8	91,7	90,4		
		95,2	100,0			96,3	95,0	100,0	94,1		
		93,3	94,7			86,2	94,4	94,1	78,9		
		92,9	95,6			92,6	100,0	95,7	100,0		
		P	96,0			95,2	90,2	P	96,4	95,6	91,3
		DS	2,9			2,8	3,4	DS	2,6	3,4	6,6
S14 2a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S14 2b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		100,0	100,0			86,4	96,5	100,0	95,5		
		90,4	95,2			88,8	96,4	95,0	90,0		
		95,5	93,3			90,0	100,0	95,2	93,3		
		100,0	96,5			90,4	95,6	93,5	85,2		
		94,7	93,1			100,0	100,0	96,2	76,5		
		95,2	96,2			88,2	95,5	95,6	100,0		
		P	96,0			95,7	90,6	P	97,3	95,9	90,1
		DS	3,3			2,3	4,4	DS	1,9	2,0	7,6
S15 2a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S15 2b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		95,2	92,0			90,9	95,2	96,0	86,3		
		100,0	95,6			90,0	100,0	91,3	90,0		
		95,2	91,3			96,7	95,2	95,7	100,0		
		93,3	96,7			88,4	96,9	100,0	92,3		
		94,4	100,0			88,2	94,4	96,2	88,2		
		100,0	95,0			88,8	100,0	100,0	83,3		
		P	96,4			95,1	90,5	P	97,0	96,5	90,0
		DS	2,7			2,9	2,9	DS	2,3	3,0	5,3

NT: no tóxica

S11 4a	<i>P. nalgiovense</i>	DT		S11 4b	<i>P. nalgiovense</i>	DT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		91,7	86,9			73,7	94,4	85,7	78,3		
		89,4	85,2			63,6	91,3	86,9	71,4		
		100,0	95,6			65,4	100,0	91,3	71,4		
		90,4	86,2			63,3	92,0	90,0	68,9		
		96,5	93,8			67,8	96,3	90,3	65,5		
		100,0	100,0			66,6	96,0	95,6	69,3		
		P	94,7			91,3	66,7	P	95,0	90,0	70,8
		DS	4,4			5,5	3,5	DS	2,9	3,2	3,9
S12 4a	<i>P. nalgiovense</i>	DT		S12 4b	<i>P. nalgiovense</i>	DT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		94,4	100,0			78,9	95,2	95,0	80,9		
		100,0	95,0			80,0	93,1	100,0	67,8		
		92,8	92,8			76,9	100,0	89,3	77,7		
		91,3	87,5			77,7	95,2	91,7	78,9		
		94,7	79,2			82,4	91,6	87,0	85,7		
		85,7	86,7			82,1	85,2	80,0	88,0		
		P	93,2			90,2	79,7	P	93,4	90,5	79,8
		DS	4,3			6,7	2,1	DS	4,5	6,3	6,5
S13 4a	<i>P. nalgiovense</i>	DT		S13 4b	<i>P. nalgiovense</i>	DT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		78,9	86,4			80,9	94,7	88,0	82,6		
		91,7	88,0			75,9	95,2	90,9	70,0		
		92,8	91,3			71,4	88,5	87,5	73,3		
		90,4	94,1			62,5	95,6	92,0	70,0		
		93,3	87,5			88,9	94,4	94,1	79,2		
		94,4	91,7			68,2	90,0	91,6	80,0		
		P	90,3			89,8	74,6	P	93,1	90,7	75,9
		DS	5,2			2,7	8,6	DS	2,8	2,3	5,0
S14 4a	<i>P. nalgiovense</i>	DT		S14 4b	<i>P. nalgiovense</i>	DT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		86,9	100,0			71,9	100,0	90,9	70,8		
		82,4	82,4			64,5	82,4	88,9	73,3		
		93,8	90,5			71,9	95,2	80,9	74,2		
		95,0	94,1			77,7	100,0	94,7	68,9		
		94,4	94,1			68,0	95,4	95,2	73,1		
		100,0	84,0			69,6	95,2	100,0	70,8		
		P	92,1			90,9	70,6	P	94,7	91,8	71,9
		DS	5,8			6,1	4,1	DS	5,9	6,0	1,8
S15 4a	<i>P. nalgiovense</i>	DT		S15 4b	<i>P. nalgiovense</i>	DT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		95,2	91,3			69,6	94,4	100,0	68,0		
		100,0	95,0			77,7	95,6	90,4	67,6		
		95,6	86,9			61,3	92,8	95,2	70,4		
		93,5	96,7			62,9	95,4	100,0	68,9		
		100,0	96,2			72,4	100,0	94,7	74,2		
		94,7	95,8			66,6	96,5	95,6	64,0		
		P	96,5			93,7	68,4	P	95,8	96,0	68,9
		DS	2,6			3,5	5,6	DS	2,2	3,3	3,1

DT: débilmente tóxica

S11 5a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S11 5b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		95,2	92,9			87,0	100,0	88,2	88,9		
		100,0	96,3			96,2	100,0	100,0	96,3		
		95,7	90,5			89,5	95,5	96,8	81,8		
		93,5	95,0			86,4	93,8	100,0	95,0		
		100,0	100,0			92,0	100,0	96,0	87,0		
		94,7	95,7			91,7	93,8	93,9	95,8		
		P	96,5			95,0	90,4	P	97,2	95,8	90,8
		DS	2,5			2,9	3,3	DS	2,9	4,0	5,4
S12 5a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S12 5b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		95,0	91,7			88,2	94,4	100,0	96,0		
		100,0	93,5			96,3	95,7	93,9	95,0		
		94,7	100,0			85,7	96,4	96,0	89,5		
		100,0	97,1			85,7	95,5	93,5	91,3		
		96,8	95,7			90,9	100,0	95,7	86,4		
		93,1	100,0			95,7	93,1	92,0	82,6		
		P	96,6			96,3	90,4	P	95,8	95,2	90,1
		DS	2,6			3,1	4,3	DS	2,1	2,5	4,7
S13 5a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S13 5b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		94,4	95,0			95,7	95,2	100,0	90,3		
		95,4	100,0			87,5	100,0	95,2	95,6		
		100,0	91,3			85,7	93,7	95,7	92,0		
		100,0	100,0			93,1	96,7	92,9	83,3		
		96,3	93,3			93,1	94,4	95,0	88,0		
		96,0	95,6			88,4	100,0	96,2	95,5		
		P	97,0			95,9	90,6	P	96,7	95,8	90,8
		DS	2,2			3,2	3,6	DS	2,5	2,1	4,3
S14 5a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S14 5b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		95,0	94,1			95,5	96,7	95,0	86,4		
		95,5	95,8			89,5	100,0	95,7	90,0		
		96,4	92,6			90,9	95,2	96,0	89,5		
		100,0	96,3			91,3	95,5	96,3	91,3		
		94,7	93,1			87,5	95,7	96,0	95,5		
		96,6	100,0			92,0	95,8	96,4	96,0		
		P	96,4			95,3	91,1	P	96,5	95,9	91,4
		DS	1,8			2,5	2,4	DS	1,6	0,5	3,4
S15 5a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		S15 5b	<i>P. nalgiovense</i>	NT					
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
		95,0	100,0			94,7	100,0	90,0	88,2		
		95,2	94,4			88,9	95,2	95,5	95,2		
		94,7	93,1			88,0	94,7	96,6	92,6		
		100,0	96,0			89,5	100,0	95,8	88,9		
		96,8	91,7			90,5	96,8	96,7	86,4		
		93,1	92,0			88,2	93,1	100,0	93,3		
		P	95,8			94,5	90,0	P	96,6	95,8	90,8
		DS	2,2			2,8	2,3	DS	2,6	3,0	3,1

NT: no tóxica

S11 3a	<i>P. crustosum</i>	NT		S11 3b	<i>P. crustosum</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	94,7	96,7	100,0		100,0	91,6	91,3		
	100,0	93,5	86,4		94,7	96,6	87,5		
	95,8	92,0	90,0		100,0	100,0	93,3		
	100,0	97,1	90,9		96,7	94,3	82,6		
	96,5	96,3	86,9		96,4	100,0	95,5		
	90,0	100,0	88,5		93,3	95,2	92,0		
	P	96,2	95,9		90,4	P	96,9	96,3	90,4
	DS	3,4	2,6		4,6	DS	2,5	3,0	4,2
S12 3a	<i>P. crustosum</i>	NT		S12 3b	<i>P. crustosum</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	92,9	95,8	96,3		96,0	95,5	88,5		
	94,7	96,8	95,8		97,2	90,6	91,3		
	100,0	92,0	89,5		96,5	100,0	92,0		
	96,6	100,0	87,0		100,0	93,5	85,0		
	100,0	95,7	84,0		100,0	100,0	100,0		
	96,4	100,0	88,0		93,3	96,0	87,5		
	P	96,8	96,7		90,1	P	97,2	95,9	90,7
	DS	2,6	2,8		4,5	DS	2,3	3,4	4,8
S13 3a	<i>P. crustosum</i>	NT		S13 3b	<i>P. crustosum</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	100,0	95,5	92,9		93,8	95,2	89,3		
	100,0	95,5	92,9		100,0	92,0	95,5		
	100,0	95,0	92,6		96,4	90,9	93,8		
	92,8	95,2	83,3		90,4	100,0	89,7		
	91,3	100,0	90,9		100,0	95,8	90,5		
	94,7	87,5	90,0		94,4	100,0	85,0		
	P	96,5	94,8		90,4	P	95,8	95,7	90,6
	DS	3,7	3,7		3,4	DS	3,4	3,5	3,4
S14 3a	<i>P. crustosum</i>	NT		S14 3b	<i>P. crustosum</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	96,0	100,0	91,7		90,5	90,9	87,5		
	95,7	91,7	91,3		100,0	96,2	80,0		
	92,9	100,0	93,3		100,0	95,7	96,3		
	95,0	94,4	85,7		90,0	90,0	96,0		
	100,0	91,7	95,5		100,0	100,0	94,7		
	94,4	100,0	85,0		96,4	100,0	86,4		
	P	95,7	96,3		90,4	P	96,2	95,5	90,2
	DS	2,2	3,8		3,8	DS	4,4	3,9	6,0
S15 3a	<i>P. crustosum</i>	NT		S15 3b	<i>P. crustosum</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	90,9	94,4	91,2		100,0	94,4	85,7		
	96,4	100,0	91,3		95,6	100,0	91,3		
	94,7	95,0	85,7		100,0	100,0	91,3		
	100,0	94,1	84,0		95,0	94,1	100,0		
	100,0	92,6	95,7		100,0	100,0	85,7		
	95,2	100,0	95,5		95,2	95,0	92,3		
	P	96,2	96,0		90,6	P	97,6	97,3	91,1
	DS	3,2	2,9		4,4	DS	2,4	2,8	4,8

NT: no tóxica

S12 8a	<i>P. paneum</i>	DT		S12 8b	<i>P. paneum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	94,4	100,0	81,1		95,0	94,4	70,3		
	100,0	95,0	80,0		91,7	100,0	70,9		
	92,9	92,9	57,7		92,6	89,4	68,2		
	91,3	87,5	77,7		95,5	90,0	61,3		
	94,7	79,2	82,4		94,4	100,0	80,0		
	85,7	86,6	82,1		94,7	73,3	73,9		
	P	93,2	90,2		76,8	P	94,0	91,2	70,8
	DS	4,3	6,7		8,7	DS	1,4	9,0	5,6
S12 8a'	<i>P. paneum</i>	DT		S12 8b'	<i>P. paneum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	78,9	90,5	80,9		100,0	90,9	85,0		
	91,7	88,0	75,9		91,6	88,0	86,9		
	92,9	91,3	71,4		92,6	91,3	71,4		
	90,5	94,1	62,5		90,5	94,4	65,4		
	93,3	87,5	82,4		95,0	91,7	85,2		
	94,4	91,7	68,2		94,4	91,1	73,9		
	P	90,3	90,5		73,6	P	94,0	91,2	78,0
	DS	5,2	2,2		7,0	DS	3,1	1,9	8,2
S12 8a''	<i>P. paneum</i>	DT		S12 8b''	<i>P. paneum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	94,7	95,5	84,2		94,1	90,0	80,9		
	94,1	100,0	77,1		95,4	95,5	69,2		
	96,4	86,9	70,8		100,0	92,6	80,0		
	91,3	87,5	80,9		95,2	95,8	85,3		
	95,8	92,9	78,9		93,8	93,3	92,6		
	95,0	86,7	85,2		100,0	89,4	84,0		
	P	94,6	91,6		79,5	P	96,4	92,8	82,0
	DS	1,6	5,0		4,8	DS	2,6	2,4	7,0
S12 8a'''	<i>P. paneum</i>	DT		S12 8b'''	<i>P. paneum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	90,9	87,5	73,7		94,4	94,7	78,3		
	89,5	85,2	71,4		91,3	100,0	71,4		
	100,0	92,0	73,1		100,0	70,4	70,4		
	90,5	89,7	67,7		92,0	96,4	69,0		
	96,5	93,8	67,9		96,3	93,5	78,6		
	96,3	100,0	66,6		95,8	95,6	69,2		
	P	94,0	91,4		70,1	P	95,0	91,8	72,8
	DS	3,9	4,8		2,8	DS	2,9	9,8	4,1
S12 8a''''	<i>P. paneum</i>	DT		S12 8b''''	<i>P. paneum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	100,0	83,3	73,3		94,7	90,9	63,3		
	95,2	88,9	74,2		100,0	95,0	66,7		
	95,5	100,0	75,0		95,6	86,9	76,9		
	95,2	94,7	73,1		95,2	96,7	72,4		
	88,9	95,2	70,8		100,0	96,2	73,9		
	100,0	90,9	73,3		100,0	95,6	81,5		
	P	95,8	92,2		73,3	P	97,6	93,6	72,5
	DS	3,7	5,3		1,3	DS	2,4	3,5	6,1

DT: débilmente tóxica

S15 7	<i>P. coprophilum</i>	DT			Control	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10				
		95,2	95,0	81,0		95,0	100,0	89,5
		93,1	100,0	71,4		100,0	90,3	90,9
		85,2	89,3	86,1		95,8	92,0	96,4
		95,2	91,7	78,9		100,0	97,1	86,4
		91,7	90,3	85,7		96,6	96,3	91,3
		100,0	88,0	84,0		93,3	100,0	92,3
P		93,4	92,4	81,2	P	96,8	96,0	91,1
DS		4,5	4,1	5,0	DS	2,5	3,7	3,0

DT: débilmente tóxica

Comparación entre las diluciones 1:10 de los filtrados de cada una de las cepas fúngicas respecto del control aisladas a partir de los productos salamín

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Failed (P < 0,050)

Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

Group	N	Missing	Median	25%	75%
asin cont 1/10	6	0	1,268	1,240	1,290
asin S1 2a	6	0	1,268	1,200	1,345
asin S1 2b	6	0	1,278	1,256	1,350
asin S2 2a	6	0	1,282	1,264	1,338
asin S2 2b	6	0	1,277	1,256	1,293
asin S3 2a	6	0	1,256	1,217	1,338
asin S3 2b	6	0	1,235	1,209	1,345
asin S4 2a	6	0	1,252	1,239	1,284
asin S4 2b	6	0	1,247	1,230	1,338
asin S5 2a	6	0	1,263	1,223	1,305
asin S5 2b	6	0	1,274	1,217	1,332
asin S1 3a	6	0	1,253	1,239	1,271
asin S1 3b	6	0	1,256	1,240	1,369
asin S2 3a	6	0	1,274	1,239	1,278
asin S2 3b	6	0	1,240	1,209	1,271
asin S3 3a	6	0	1,260	1,240	1,277
asin S3 3b	6	0	1,252	1,217	1,271
asin S4 3a	6	0	1,264	1,225	1,305
asin S4 3b	6	0	1,264	1,236	1,305
asin S5 3a	6	0	1,252	1,209	1,345
asin S5 3b	6	0	1,264	1,209	1,284
asin S6 1a	6	0	1,244	1,162	1,339
asin S6 1b	6	0	1,232	1,176	1,284
asin S7 1a	6	0	1,243	1,183	1,361
asin S7 1b	6	0	1,256	1,193	1,345
asin S8 1a	6	0	1,257	1,231	1,339
asin S8 1b	6	0	1,291	1,176	1,339
asin S9 1a	6	0	1,252	1,209	1,284
asin S9 1b	6	0	1,245	1,217	1,271
asin S10 1a	6	0	1,273	1,201	1,339
asin S10 1b	6	0	1,260	1,231	1,295
asin S11 2a	6	0	1,273	1,200	1,295
asin S11 2b	6	0	1,268	1,183	1,301
asin S12 2a	6	0	1,264	1,217	1,295
asin S12 2b	6	0	1,241	1,193	1,357
asin S13 2a	6	0	1,243	1,201	1,295
asin S13 2b	6	0	1,291	1,230	1,357
asin S14 2a	6	0	1,239	1,220	1,256
asin S14 2b	6	0	1,279	1,176	1,357
asin S15 2a	6	0	1,239	1,223	1,264
asin S15 2b	6	0	1,235	1,192	1,290
asin S6 3a	6	0	1,257	1,230	1,271
asin S6 3b	6	0	1,269	1,168	1,357
asin S7 3a	6	0	1,234	1,220	1,256

asin S7 3b	6	0	1,250	1,223	1,271
asin S8 3a	6	0	1,266	1,220	1,355
asin S8 3b	6	0	1,264	1,254	1,290
asin S9 3a	6	0	1,254	1,209	1,377
asin S9 3b	6	0	1,264	1,209	1,305
asin S10 3a	6	0	1,269	1,217	1,356
asin S10 3b	6	0	1,269	1,217	1,310
asin S11 3a	6	0	1,237	1,200	1,265
asin S11 3b	6	0	1,278	1,209	1,310
asin S12 3a	6	0	1,229	1,201	1,365
asin S12 3b	6	0	1,248	1,209	1,284
asin S13 3a	6	0	1,280	1,249	1,300
asin S13 3b	6	0	1,250	1,238	1,318
asin S14 3a	6	0	1,275	1,183	1,310
asin S14 3b	6	0	1,274	1,193	1,369
asin S15 3a	6	0	1,270	1,183	1,356
asin S15 3b	6	0	1,271	1,183	1,290
asin S1 1a	6	0	1,252	1,245	1,271
asin S1 1b	6	0	1,266	1,201	1,278
asin S2 1a	6	0	1,283	1,265	1,326
asin S2 1b	6	0	1,248	1,231	1,284
asin S3 1a	6	0	1,308	1,201	1,345
asin S3 1b	6	0	1,244	1,221	1,271
asin S4 1a	6	0	1,257	1,231	1,271
asin S4 1b	6	0	1,245	1,231	1,284
asin S5 1a	6	0	1,254	1,231	1,265
asin S5 1b	6	0	1,226	1,217	1,249
asin S1 4a	6	0	1,249	1,230	1,338
asin S1 4b	6	0	1,278	1,217	1,339
asin S2 4a	6	0	1,261	1,220	1,278
asin S2 4b	6	0	1,256	1,193	1,345
asin S3 4a	6	0	1,268	1,193	1,299
asin S3 4b	6	0	1,240	1,196	1,295
asin S4 4a	6	0	1,242	1,200	1,284
asin S4 4b	6	0	1,253	1,220	1,338
asin S5 4a	6	0	1,244	1,220	1,290
asin S5 4b	6	0	1,249	1,220	1,271
asin S11 1a	6	0	1,261	1,220	1,278
asin S11 1b	6	0	1,283	1,265	1,326
asin S12 1a	6	0	1,248	1,231	1,284
asin S12 1b	6	0	1,229	1,201	1,365
asin S13 1a	6	0	1,264	1,254	1,290
asin S13 1b	6	0	1,254	1,209	1,377
asin S14 1a	6	0	1,264	1,236	1,305
asin S14 1b	6	0	1,252	1,209	1,345
asin S15 1a	6	0	1,261	1,240	1,278
asin S15 1b	6	0	1,257	1,237	1,271
asin S11 5a	6	0	1,259	1,201	1,284
asin S11 5b	6	0	1,288	1,201	1,365
asin S12 5a	6	0	1,243	1,183	1,361
asin S12 5b	6	0	1,256	1,193	1,345
asin S13 5a	6	0	1,264	1,209	1,305
asin S13 5b	6	0	1,269	1,217	1,356
asin S14 5a	6	0	1,268	1,240	1,284
asin S14 5b	6	0	1,260	1,240	1,356
asin S15 5a	6	0	1,236	1,221	1,257
asin S15 5b	6	0	1,263	1,221	1,310
asen S11 4a	6	0	0,948	0,923	0,967
asen S11 4b	6	0	0,995	0,979	1,007
asen S12 4a	6	0	1,100	1,079	1,134

asen S12 4b	6	0	1,106	1,079	1,183
asen S13 4a	6	0	1,032	0,972	1,118
asen S13 4b	6	0	1,063	0,991	1,107
asen S14 4a	6	0	0,999	0,970	1,012
asen S14 4 b	6	0	1,013	1,000	1,028
asen S15 4a	6	0	0,971	0,916	1,018
asen S15 4b	6	0	0,974	0,965	0,996
asen S15 7	6	0	1,139	1,094	1,183
asen S12 8a	6	0	1,114	1,079	1,134
asen S12 8b	6	0	0,998	0,972	1,035
asen S12 8a´	6	0	1,032	0,972	1,118
asen S12 8b´	6	0	1,104	1,007	1,176
asen S12 8a¨	6	0	1,106	1,072	1,162
asen S12 8b¨	6	0	1,139	1,107	1,177
asen S12 8a¨¨	6	0	0,987	0,966	1,026
asen S12 8b¨¨	6	0	1,001	0,982	1,086
asen S12 8a¨¨¨	6	0	1,028	1,026	1,038
asen S12 8b¨¨¨	6	0	1,026	0,956	1,069

H = 305,030 with 121 degrees of freedom. (P = <0,001)

The differences in the median values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0,001)

To isolate the group or groups that differ from the others use a multiple comparison procedure.

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparison	Diff of Ranks	q	P<0,05
asin S11 1b vs asen cont 1/10	327,000	0,631	Yes
asin S2 1a vs asen cont 1/10	327,000	0,631	Yes
asin S2 2a vs asen cont 1/10	282,500	0,545	Yes
asin S1 2b vs asen cont 1/10	175,500	0,339	Yes
asin S2 2b vs asen cont 1/10	138,000	0,266	Yes
asin S1 3b vs asen cont 1/10	132,500	0,256	Yes
asin S3 1a vs asen cont 1/10	20,000	0,0386	Yes
asin S14 5b vs asen cont 1/10	5,000	0,00965	Yes
asin S13 2b vs asen cont 1/10	1,500	0,00290	Yes
asen cont 1/10 vs asen S11 4a	2665,000	5,145	Yes
asen cont 1/10 vs asen S15 4b	2601,000	5,022	Yes
asen cont 1/10 vs asen S15 4a	2594,500	5,009	Yes
asen cont 1/10 vs asen S12 8a¨	2560,500	4,943	Yes
asen cont 1/10 vs asen S11 4b	2529,500	4,884	Yes
asen cont 1/10 vs asen S14 4a	2529,000	4,883	Yes
asen cont 1/10 vs asen S12 8b	2512,500	4,851	Yes
asen cont 1/10 vs asen S14 4 b	2481,500	4,791	Yes
asen cont 1/10 vs asen S12 8b¨	2462,500	4,754	Yes
asen cont 1/10 vs asen S12 8b¨¨	2450,000	4,730	Yes
asen cont 1/10 vs asen S12 8a¨	2416,500	4,665	Yes
asen cont 1/10 vs asen S12 8a´	2411,500	4,656	Yes
asen cont 1/10 vs asen S13 4b	2336,500	4,511	Yes
asen cont 1/10 vs asen S12 8a	2261,000	4,365	Yes
asen cont 1/10 vs asen S13 4a	2202,000	4,251	Yes
asen cont 1/10 vs asen S12 4a	2201,500	4,250	Yes
asen cont 1/10 vs asen S12 8a¨¨	2168,500	4,187	Yes
asen cont 1/10 vs asen S12 8b´	2130,000	4,112	Yes
asen cont 1/10 vs asen S12 4b	2060,000	3,977	Yes
asen cont 1/10 vs asen S15 7	2024,000	3,908	Yes
asen cont 1/10 vs asen S12 8b¨¨	1684,000	3,251	Yes

asen cont 1/10 vs asin S5 1b	656,000	1,267	Yes
asen cont 1/10 vs asin S6 1b	592,000	1,143	Yes
asen cont 1/10 vs asin S2 3b	585,500	1,130	Yes
asen cont 1/10 vs asin S15 2b	530,500	1,024	Yes
asen cont 1/10 vs asin S15 5a	522,500	1,009	Yes
asen cont 1/10 vs asin S11 3a	499,000	0,963	Yes
asen cont 1/10 vs asin S14 2a	483,500	0,933	Yes
asen cont 1/10 vs asin S7 3a	468,500	0,905	Yes
asen cont 1/10 vs asin S3 1b	451,500	0,872	Yes
asen cont 1/10 vs asin S6 1a	428,500	0,827	Yes
asen cont 1/10 vs asin S9 1b	423,500	0,818	Yes
asen cont 1/10 vs asin S12 1b	422,500	0,816	Yes
asen cont 1/10 vs asin S12 3a	422,500	0,816	Yes
asen cont 1/10 vs asin S7 3b	421,000	0,813	Yes
asen cont 1/10 vs asin S3 4b	417,500	0,806	Yes
asen cont 1/10 vs asin S3 2b	415,500	0,802	Yes
asen cont 1/10 vs asin S5 4a	414,500	0,800	Yes
asen cont 1/10 vs asin S3 3b	397,000	0,766	Yes
asen cont 1/10 vs asin S1 1b	385,500	0,744	Yes
asen cont 1/10 vs asin S4 4a	385,500	0,744	Yes
asen cont 1/10 vs asin S13 2a	382,500	0,738	Yes
asen cont 1/10 vs asin S12 2b	372,000	0,718	Yes
asen cont 1/10 vs asin S15 2a	368,000	0,710	Yes
asen cont 1/10 vs asin S5 4b	365,000	0,705	Yes
asen cont 1/10 vs asin S4 1b	355,000	0,685	Yes
asen cont 1/10 vs asin S11 2b	346,000	0,668	Yes
asen cont 1/10 vs asin S12 3b	334,000	0,645	Yes
asen cont 1/10 vs asin S5 3b	326,500	0,630	Yes
asen cont 1/10 vs asin S6 3a	322,500	0,623	Yes
asen cont 1/10 vs asin S3 2a	322,500	0,623	Yes
asen cont 1/10 vs asin S12 2a	318,500	0,615	Yes
asen cont 1/10 vs asin S15 1a	308,500	0,596	Yes
asen cont 1/10 vs asin S9 1a	308,000	0,595	Yes
asen cont 1/10 vs asin S5 1a	301,500	0,582	Yes
asen cont 1/10 vs asin S11 1a	298,500	0,576	Yes
asen cont 1/10 vs asin S2 4a	298,500	0,576	Yes
asen cont 1/10 vs asin S12 5a	296,500	0,572	Yes
asen cont 1/10 vs asin S7 1a	296,500	0,572	Yes
asen cont 1/10 vs asin S2 4b	280,000	0,541	Yes
asen cont 1/10 vs asin S1 3a	279,500	0,540	Yes
asen cont 1/10 vs asin S7 1b	277,000	0,535	Yes
asen cont 1/10 vs asin S12 5b	277,000	0,535	Yes
asen cont 1/10 vs asin S2 1b	271,000	0,523	Yes
asen cont 1/10 vs asin S12 1a	271,000	0,523	Yes
asen cont 1/10 vs asin S1 1a	269,500	0,520	Yes
asen cont 1/10 vs asin S5 3a	268,000	0,517	Yes
asen cont 1/10 vs asin S14 1b	268,000	0,517	Yes
asen cont 1/10 vs asin S11 2a	253,500	0,489	Yes
asen cont 1/10 vs asin S13 3b	252,000	0,487	Yes
asen cont 1/10 vs asin S6 3b	250,000	0,483	Yes
asen cont 1/10 vs asin S11 5a	247,500	0,478	Yes
asen cont 1/10 vs asin S13 5a	247,000	0,477	Yes
asen cont 1/10 vs asin S9 3b	247,000	0,477	Yes
asen cont 1/10 vs asin S15 1b	245,500	0,474	Yes
asen cont 1/10 vs asin S14 3b	228,000	0,440	Yes
asen cont 1/10 vs asin S4 3a	224,500	0,433	Yes
asen cont 1/10 vs asin S8 1a	223,000	0,431	Yes
asen cont 1/10 vs asin S3 3a	219,000	0,423	Yes
asen cont 1/10 vs asin S4 1a	216,000	0,417	Yes
asen cont 1/10 vs asin S8 1b	212,500	0,410	Yes

asen cont 1/10 vs asin S3 4a	210,500	0,406	Yes
asen cont 1/10 vs asin S10 3b	210,000	0,405	Yes
asen cont 1/10 vs asin S14 3a	205,500	0,397	Yes
asen cont 1/10 vs asin S1 4a	201,000	0,388	Yes
asen cont 1/10 vs asin S13 1a	195,500	0,377	Yes
asen cont 1/10 vs asin S8 3b	195,500	0,377	Yes
asen cont 1/10 vs asin S14 2b	194,500	0,376	Yes
asen cont 1/10 vs asin S10 1b	181,500	0,350	Yes
asen cont 1/10 vs asin S15 5b	180,000	0,348	Yes
asen cont 1/10 vs asin S1 2a	167,000	0,322	Yes
asen cont 1/10 vs asin S15 3b	165,500	0,320	Yes
asen cont 1/10 vs asin S4 4b	165,500	0,320	Yes
asen cont 1/10 vs asin S15 3a	161,500	0,312	Yes
asen cont 1/10 vs asin S8 3a	158,000	0,305	Yes
asen cont 1/10 vs asin S11 3b	158,000	0,305	Yes
asen cont 1/10 vs asin S4 2b	154,500	0,298	Yes
asen cont 1/10 vs asin S13 1b	146,500	0,283	Yes
asen cont 1/10 vs asin S9 3a	146,500	0,283	Yes
asen cont 1/10 vs asin S13 5b	140,000	0,270	Yes
asen cont 1/10 vs asin 10 1a	140,000	0,270	Yes
asen cont 1/10 vs asin S10 3a	140,000	0,270	Yes
asen cont 1/10 vs asin S5 2b	134,000	0,259	Yes
asen cont 1/10 vs asin S13 3a	114,000	0,220	Yes
asen cont 1/10 vs asin 11 5b	110,500	0,213	Yes
asen cont 1/10 vs asin S1 4b	107,000	0,207	Yes
asen cont 1/10 vs asin S14 1a	99,000	0,191	Yes
asen cont 1/10 vs asin S4 3b	99,000	0,191	Yes
asen cont 1/10 vs asin S4 2a	85,500	0,165	Yes
asen cont 1/10 vs asin S5 2a	84,500	0,163	Yes
asen cont 1/10 vs asin S2 3a	75,000	0,145	Yes
asen cont 1/10 vs asin S14 5a	32,500	0,0627	Yes

Note: The multiple comparisons on ranks do not include an adjustment for ties.

Comparación entre las diluciones 1:50 de los filtrados de cada una de las cepas fúngicas respecto del control aisladas a partir de los productos salamín

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Failed (P < 0,050)

Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

Group	N	Missing	Median	25%	75%
asen cont 1/50	6	0	1,389	1,284	1,571
asin S1 2a	6	0	1,376	1,350	1,383
asin S1 2b	6	0	1,380	1,326	1,571
asin S2 2a	6	0	1,354	1,322	1,571
asin S2 2b	6	0	1,352	1,338	1,571
asin S3 2a	6	0	1,391	1,277	1,571
asin S3 2b	6	0	1,352	1,332	1,369
asin S4 2a	6	0	1,367	1,355	1,571
asin S4 2b	6	0	1,355	1,338	1,571
asin S5 2a	6	0	1,376	1,359	1,571
asin S5 2b	6	0	1,371	1,345	1,571
asin S1 3a	6	0	1,368	1,309	1,377
asin S1 3b	6	0	1,355	1,345	1,364
asin S2 3a	6	0	1,369	1,364	1,383
asin S2 3b	6	0	1,377	1,364	1,571
asin S3 3a	6	0	1,354	1,321	1,571
asin S3 3b	6	0	1,342	1,256	1,571
asin S4 3a	6	0	1,342	1,256	1,571
asin S4 3b	6	0	1,364	1,305	1,571
asin S5 3a	6	0	1,377	1,359	1,571
asin S5 3b	6	0	1,364	1,345	1,380
asin S6 1a	6	0	1,380	1,351	1,401
asin S6 1b	6	0	1,358	1,329	1,390
asin S7 1a	6	0	1,381	1,314	1,571
asin S7 1b	6	0	1,341	1,314	1,369
asin S8 1a	6	0	1,381	1,314	1,571
asin S8 1b	6	0	1,367	1,326	1,571
asin S9 1a	6	0	1,362	1,333	1,384
asin S9 1b	6	0	1,361	1,345	1,373
asin S10 1a	6	0	1,367	1,361	1,390
asin S10 1b	6	0	1,363	1,361	1,373
asin S11 2a	6	0	1,379	1,325	1,571
asin S11 2b	6	0	1,363	1,357	1,390
asin S12 2a	6	0	1,365	1,332	1,571
asin S12 2b	6	0	1,371	1,301	1,571
asin S13 2a	6	0	1,349	1,326	1,373
asin S13 2b	6	0	1,343	1,284	1,571
asin S14 2a	6	0	1,362	1,309	1,383
asin S14 2b	6	0	1,355	1,345	1,375
asin S15 2a	6	0	1,352	1,284	1,387
asin S15 2b	6	0	1,372	1,361	1,571
asin S6 3a	6	0	1,335	1,299	1,364
asin S6 3b	6	0	1,365	1,338	1,369
asin S7 3a	6	0	1,364	1,332	1,369

asin S7 3b	6	0	1,365	1,329	1,571
asin S8 3a	6	0	1,369	1,345	1,571
asin S8 3b	6	0	1,339	1,305	1,571
asin S9 3a	6	0	1,354	1,325	1,571
asin S9 3b	6	0	1,352	1,309	1,571
asin S10 3a	6	0	1,356	1,345	1,375
asin S10 3b	6	0	1,365	1,357	1,377
asin S11 3a	6	0	1,383	1,314	1,400
asin S11 3b	6	0	1,367	1,330	1,571
asin S12 3a	6	0	1,378	1,361	1,571
asin S12 3b	6	0	1,363	1,313	1,571
asin S13 3a	6	0	1,354	1,345	1,357
asin S13 3b	6	0	1,358	1,284	1,571
asin S14 3a	6	0	1,452	1,278	1,571
asin S14 3b	6	0	1,367	1,264	1,571
asin S15 3a	6	0	1,339	1,326	1,571
asin S15 3b	6	0	1,458	1,332	1,571
asin S1 1a	6	0	1,279	1,241	1,571
asin S1 1b	6	0	1,287	1,239	1,571
asin S2 1a	6	0	1,335	1,301	1,364
asin S2 1b	6	0	1,341	1,295	1,359
asin S3 1a	6	0	1,294	1,215	1,351
asin S3 1b	6	0	1,287	1,221	1,345
asin S4 1a	6	0	1,366	1,351	1,571
asin S4 1b	6	0	1,348	1,295	1,364
asin S5 1a	6	0	1,352	1,290	1,364
asin S5 1b	6	0	1,357	1,278	1,369
asin S1 4a	6	0	1,369	1,313	1,571
asin S1 4b	6	0	1,384	1,284	1,398
asin S2 4a	6	0	1,363	1,330	1,384
asin S2 4b	6	0	1,362	1,309	1,383
asin S3 4a	6	0	1,382	1,313	1,571
asin S3 4b	6	0	1,345	1,339	1,571
asin S4 4a	6	0	1,342	1,332	1,571
asin S4 4b	6	0	1,474	1,345	1,571
asin S5 4a	6	0	1,378	1,350	1,383
asin S5 4b	6	0	1,371	1,322	1,571
asin S11 1a	6	0	1,363	1,330	1,384
asin S11 1b	6	0	1,335	1,301	1,364
asin S12 1a	6	0	1,341	1,295	1,359
asin S12 1b	6	0	1,378	1,361	1,571
asin S13 1a	6	0	1,339	1,305	1,571
asin S13 1b	6	0	1,354	1,325	1,571
asin S14 1a	6	0	1,364	1,305	1,571
asin S14 1b	6	0	1,377	1,359	1,571
asin S15 1a	6	0	1,369	1,257	1,571
asin S15 1b	6	0	1,361	1,318	1,571
asin S11 5a	6	0	1,353	1,300	1,377
asin S11 5b	6	0	1,380	1,322	1,571
asin S12 5a	6	0	1,381	1,314	1,571
asin S12 5b	6	0	1,341	1,314	1,369
asin S13 5a	6	0	1,352	1,309	1,571
asin S13 5b	6	0	1,356	1,345	1,375
asin S14 5a	6	0	1,346	1,305	1,377
asin S14 5b	6	0	1,369	1,361	1,377
asin S15 5a	6	0	1,319	1,284	1,369
asin S15 5b	6	0	1,375	1,356	1,387
asen S12 8a	99	85	1,283	1,200	1,359
asen S12 8b	6	0	1,290	1,239	1,571
asen S12 8a	6	0	1,264	1,217	1,279

asen S12 8b´	6	0	1,270	1,264	1,279
asen S12 8a´´	6	0	1,255	1,200	1,357
asen S12 8b´´´	6	0	1,302	1,249	1,357
asen S12 8a´´´´	6	0	1,264	1,209	1,319
asen S12 8b´´´´	6	0	1,349	1,314	1,381
asen S12 8a´´´´´	6	0	1,301	1,231	1,350
asen S12 8b´´´´´	6	0	1,352	1,264	1,375
asen S11 4a	98	76	1,329	1,200	1,364
asen S11 4b	6	0	1,252	1,200	1,271
asen S12 4a	6	0	1,254	1,197	1,345
asen S12 4b	6	0	1,258	1,202	1,345
asen S13 4a	6	0	1,244	1,209	1,279
asen S13 4b	6	0	1,271	1,217	1,284
asen S14 4a	6	0	1,291	1,159	1,325
asen S14 4 b	6	0	1,301	1,231	1,350
asen S15 4a	6	0	1,355	1,271	1,375
asen S15 4b	6	0	1,355	1,338	1,571
asen S15 7	6	0	1,266	1,237	1,345

H = 138,617 with 121 degrees of freedom. (P = 0,130)

The differences in the median values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0,130)

Comparación entre las diluciones 1:100 de los filtrados de cada una de las cepas fúngicas respecto del control aisladas a partir de los productos salamín

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Failed (P < 0,050)

Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

Group	N	Missing	Median	25%	75%
asen cont 1/100	6	0	1,375	1,345	1,571
asin S1 2a	6	0	1,380	1,359	1,571
asin S1 2b	6	0	1,360	1,332	1,571
asin S2 2a	6	0	1,360	1,345	1,571
asin S2 2b	6	0	1,387	1,380	1,571
asin S3 2a	6	0	1,353	1,339	1,571
asin S3 2b	6	0	1,455	1,313	1,571
asin S4 2a	6	0	1,350	1,319	1,571
asin S4 2b	6	0	1,463	1,321	1,571
asin S5 2a	6	0	1,355	1,338	1,571
asin S5 2b	6	0	1,367	1,309	1,571
asin S1 3a	6	0	1,355	1,345	1,383
asin S1 3b	6	0	1,385	1,361	1,571
asin S2 3a	6	0	1,359	1,345	1,383
asin S2 3b	6	0	1,371	1,355	1,384
asin S3 3a	6	0	1,358	1,350	1,571
asin S3 3b	6	0	1,348	1,301	1,571
asin S4 3a	6	0	1,463	1,321	1,571
asin S4 3b	6	0	1,463	1,338	1,571
asin S5 3a	6	0	1,367	1,309	1,571
asin S5 3b	6	0	1,367	1,309	1,571
asin S6 1a	6	0	1,461	1,318	1,571
asin S6 1b	6	0	1,377	1,351	1,387
asin S7 1a	6	0	1,368	1,339	1,571
asin S7 1b	6	0	1,358	1,333	1,381
asin S8 1a	6	0	1,373	1,310	1,571
asin S8 1b	6	0	1,452	1,318	1,571
asin S9 1a	6	0	1,353	1,339	1,571
asin S9 1b	6	0	1,371	1,356	1,384
asin S10 1a	6	0	1,369	1,351	1,571
asin S10 1b	6	0	1,373	1,351	1,571
asin S11 2a	6	0	1,461	1,318	1,571
asin S11 2b	6	0	1,377	1,351	1,387
asin S12 2a	6	0	1,368	1,339	1,571
asin S12 2b	6	0	1,358	1,333	1,381
asin S13 2a	6	0	1,373	1,310	1,571
asin S13 2b	6	0	1,452	1,318	1,571
asin S14 2a	6	0	1,353	1,339	1,571
asin S14 2b	6	0	1,371	1,356	1,384
asin S15 2a	6	0	1,369	1,351	1,571
asin S15 2b	6	0	1,373	1,351	1,571
asin S6 3a	6	0	1,341	1,319	1,571
asin S6 3b	6	0	1,383	1,375	1,571
asin S7 3a	6	0	1,386	1,338	1,571

asin S7 3b	6	0	1,373	1,345	1,571
asin S8 3a	6	0	1,455	1,333	1,571
asin S8 3b	6	0	1,376	1,339	1,571
asin S9 3a	6	0	1,365	1,332	1,571
asin S9 3b	6	0	1,373	1,355	1,571
asin S10 3a	6	0	1,369	1,333	1,571
asin S 10 3b	6	0	1,460	1,338	1,571
asin S11 3a	6	0	1,373	1,338	1,571
asin S11 3b	6	0	1,384	1,338	1,571
asin S12 3a	6	0	1,383	1,338	1,571
asin S12 3b	6	0	1,393	1,369	1,571
asin S13 3a	6	0	1,455	1,299	1,571
asin S13 3b	6	0	1,356	1,319	1,571
asin S14 3a	6	0	1,354	1,332	1,369
asin S14 3b	6	0	1,475	1,257	1,571
asin S15 3a	6	0	1,365	1,338	1,571
asin S15 3b	6	0	1,465	1,350	1,571
asin S1 1a	6	0	1,335	1,295	1,345
asin S1 1b	6	0	1,338	1,301	1,345
asin S2 1a	6	0	1,341	1,319	1,571
asin S2 1b	6	0	1,342	1,318	1,351
asin S3 1a	6	0	1,351	1,257	1,571
asin S3 1b	6	0	1,300	1,162	1,571
asin S4 1a	6	0	1,353	1,339	1,571
asin S4 1b	6	0	1,348	1,325	1,571
asin S5 1a	6	0	1,357	1,325	1,571
asin S5 1b	6	0	1,349	1,249	1,571
asin S1 4a	6	0	1,460	1,325	1,571
asin S1 4b	6	0	1,377	1,350	1,385
asin S2 4a	6	0	1,367	1,338	1,571
asin S2 4b	6	0	1,357	1,332	1,377
asin S3 4a	6	0	1,373	1,345	1,571
asin S3 4b	6	0	1,362	1,332	1,571
asin S4 4a	6	0	1,365	1,338	1,571
asin S4 4b	6	0	1,353	1,345	1,571
asin S5 4a	6	0	1,460	1,264	1,571
asin S5 4b	6	0	1,356	1,345	1,571
asin S11 1a	6	0	1,367	1,338	1,571
asin S11 1b	6	0	1,341	1,319	1,571
asin S12 1a	6	0	1,342	1,318	1,351
asin S12 1b	6	0	1,383	1,338	1,571
asin S13 1a	6	0	1,376	1,339	1,571
asin S13 1b	6	0	1,365	1,332	1,571
asin S14 1a	6	0	1,463	1,338	1,571
asin S14 1b	6	0	1,367	1,309	1,571
asin S15 1a	6	0	1,351	1,345	1,571
asin S15 1b	6	0	1,366	1,351	1,571
asin S11 5a	6	0	1,356	1,339	1,571
asin S11 5b	6	0	1,463	1,318	1,571
asin S12 5a	6	0	1,368	1,339	1,571
asin S12 5b	6	0	1,358	1,333	1,381
asin S13 5a	6	0	1,373	1,355	1,571
asin S13 5b	6	0	1,369	1,333	1,571
asin S14 5a	6	0	1,368	1,345	1,384
asin S14 5b	6	0	1,363	1,356	1,387
asin S15 5a	6	0	1,348	1,339	1,390
asin S15 5b	6	0	1,371	1,339	1,571
asen S11 4a	97	85	1,357	1,289	1,477
asen S11 4b	6	0	1,351	1,284	1,377
asen S12 4a	6	0	1,316	1,271	1,338

asen S12 4b	6	0	1,327	1,277	1,350
asen S13 4a	6	0	1,289	1,256	1,309
asen S13 4b	6	0	1,335	1,249	1,350
asen S14 4a	6	0	1,326	1,200	1,345
asen S14 4b	6	0	1,352	1,350	1,571
asen S15 4a	6	0	1,355	1,338	1,571
asen S15 4b	6	0	1,357	1,332	1,383
asen S15 7	6	0	1,328	1,278	1,351
asen S12 8a	6	0	1,316	1,271	1,338
asen S12 8b	6	0	1,335	1,295	1,345
asen S12 8a´	6	0	1,290	1,257	1,309
asen S12 8b´	6	0	1,314	1,277	1,345
asen S12 8a``	6	0	1,342	1,325	1,364
asen S12 8b``	6	0	1,352	1,325	1,571
asen S12 8a'''	6	0	1,321	1,257	1,383
asen S12 8b'''	6	0	1,348	1,284	1,377
asen S12 8a''''	6	0	1,353	1,350	1,571
asen S12 8b''''	6	0	1,465	1,350	1,571

H = 93,817 with 121 degrees of freedom. (P = 0,968)

The differences in the median values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0,968)

10.4.3- Evaluación de la capacidad toxicogénica de las cepas fúngicas aisladas a partir de los productos longaniza frente a *A.salina* (% sobrevivencia)

L1 1a	<i>P. vanluykii</i>	DT		L1 1b	<i>P. vanluykii</i>	DT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	95,2	95,0	81,0		78,9	86,4	82,6
	93,1	100,0	75,9		91,7	88,0	76,2
	100,0	89,3	71,4		104,0	91,3	75,0
	95,2	91,7	85,7		90,5	94,1	75,9
	91,7	87,1	92,6		93,3	87,5	70,8
	85,2	80,0	72,7		94,4	91,7	76,9
	P	93,4	90,5		79,9	P	92,1
DS	4,5	6,3	7,5	DS	7,4	2,7	3,5
L2 1a	<i>P. vanluykii</i>	DT		L2 1b	<i>P. vanluykii</i>	DT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	94,7	88,0	82,9		87,0	94,7	77,8
	95,2	90,9	80,0		82,4	82,4	69,6
	88,5	87,5	70,8		93,8	90,5	68,0
	95,7	92,0	77,8		95,0	94,1	74,2
	94,4	94,1	76,2		94,4	94,1	66,7
	90,0	91,7	82,1		100,0	88,0	71,0
	P	93,1	90,7		78,3	P	92,1
DS	2,8	2,3	4,1	DS	5,8	4,4	3,8
L3 1a	<i>P. vanluykii</i>	DT		L3 1b	<i>P. vanluykii</i>	DT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	94,4	85,7	73,3		94,4	95,7	72,7
	100,0	87,0	74,2		94,4	87,5	65,2
	92,9	91,3	70,8		92,6	95,7	68,0
	87,0	90,0	73,1		91,3	82,8	54,2
	94,7	90,3	70,8		92,0	93,3	69,2
	92,9	95,7	69,0		91,7	92,6	58,3
	P	93,6	90,0		71,9	P	92,7
DS	3,8	3,2	1,8	DS	1,3	4,7	6,4
L4 1a	<i>P. vanluykii</i>	DT		L4 1b	<i>P. vanluykii</i>	DT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	78,9	95,0	73,7		87,0	94,7	69,6
	91,7	100,0	63,6		82,4	82,4	80,8
	92,9	89,3	65,4		93,8	90,5	61,3
	90,5	91,7	58,6		95,0	94,1	60,7
	93,3	87,1	61,3		94,4	94,1	72,4
	94,4	80,0	66,7		100,0	92,0	66,7
	P	90,3	90,5		64,9	P	92,1
DS	5,2	6,3	4,7	DS	5,8	4,3	6,9
L5 1a	<i>P. vanluykii</i>	DT		L5 1b	<i>P. vanluykii</i>	DT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	90,5	100,0	81,0		95,2	95,5	78,4
	100,0	81,3	59,3		100,0	88,9	78,9
	87,5	90,5	75,0		95,7	90,5	50,0
	90,9	77,1	77,1		93,5	94,7	80,0
	100,0	92,6	92,6		100,0	95,2	82,4
	88,0	100,0	84,0		94,7	91,7	82,1
	P	92,8	90,2		78,2	P	96,5
DS	5,2	8,6	10,2	DS	2,5	2,5	11,4

DT: débilmente tóxica

L1 3a	<i>P. vanluykii</i>	NT		L1 3b	<i>P. vanluykii</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	100,0	100,0	94,7		100,0	100,0	90,5
	100,0	90,5	88,9		96,4	90,0	89,3
	95,5	95,2	100,0		95,2	95,5	95,8
	93,9	100,0	89,5		100,0	93,8	85,7
	100,0	94,7	90,5		95,2	100,0	91,3
	93,8	95,7	88,2		94,7	95,8	90,5
	P	97,2	96,0		91,9	P	96,9
DS	2,9	3,3	4,2	DS	2,2	3,5	3,0
L2 3a	<i>P. vanluykii</i>	NT		L2 3b	<i>P. vanluykii</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	96,7	100,0	92,0		91,3	100,0	90,9
	100,0	95,8	95,0		96,2	94,1	86,7
	93,1	92,9	89,5		93,8	95,2	85,7
	95,5	96,3	87,0		100,0	89,5	96,3
	96,0	96,9	93,1		96,3	100,0	91,7
	95,0	96,0	87,0		100,0	96,0	90,9
	P	96,0	96,3		90,6	P	96,3
DS	2,1	2,1	3,0	DS	3,1	3,6	3,5
L3 3a	<i>P. vanluykii</i>	NT		L3 3b	<i>P. vanluykii</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	100,0	94,4	86,4		94,4	100,0	95,5
	96,4	100,0	91,3		100,0	100,0	90,0
	95,0	90,9	87,5		100,0	95,8	93,3
	95,2	94,7	96,0		93,8	92,3	85,2
	94,7	96,3	88,6		94,4	89,5	88,2
	100,0	100,0	90,6		94,1	100,0	88,9
	P	96,9	96,1		90,1	P	96,1
DS	2,3	3,2	3,2	DS	2,7	4,2	3,4
L4 3a	<i>P. vanluykii</i>	NT		L4 3b	<i>P. vanluykii</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	95,0	95,7	85,0		95,2	100,0	92,0
	100,0	95,8	92,3		100,0	95,7	88,0
	94,4	92,6	94,7		95,7	95,0	95,2
	93,1	93,1	86,4		93,5	100,0	86,4
	100,0	95,5	92,0		100,0	93,1	85,7
	95,2	100,0	91,7		100,0	95,2	100,0
	P	96,3	95,4		90,3	P	97,4
DS	2,7	2,4	3,5	DS	2,7	2,6	5,1
L5 3a	<i>P. vanluykii</i>	NT		L5 3b	<i>P. vanluykii</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	95,2	94,4	85,7		90,9	95,7	92,0
	100,0	100,0	91,7		95,5	95,0	87,5
	93,8	90,5	86,7		100,0	90,9	95,5
	90,9	95,8	90,5		93,3	96,4	91,3
	100,0	96,3	94,7		100,0	96,0	84,2
	96,0	95,5	90,9		96,4	100,0	90,5
	P	96,0	95,4		90,0	P	96,0
DS	3,3	2,8	3,0	DS	3,3	2,7	3,5

NT: no tóxica

L6 1a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		L6 1b	<i>P. nalgiovense</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	90,0	100,0	85,7		100,0	95,7	87,0
	100,0	100,0	91,7		95,5	95,0	87,5
	93,8	95,2	96,7		100,0	100,0	95,5
	97,1	95,8	85,7		93,3	96,4	92,3
	95,7	92,6	94,7		95,5	91,7	94,7
	100,0	95,5	86,4		96,4	100,0	90,5
	P	96,1	96,5		90,1	P	96,8
DS	3,5	2,7	4,5	DS	2,5	2,9	3,3
L7 1a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		L7 1b	<i>P. nalgiovense</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	100,0	95,2	94,7		96,7	95,7	92,0
	100,0	100,0	89,3		100,0	95,2	90,5
	95,5	90,5	92,0		96,6	92,9	84,2
	93,9	96,2	90,5		95,0	96,3	91,3
	100,0	100,0	90,5		95,7	96,2	91,7
	94,4	95,7	89,5		95,5	95,8	91,3
	P	97,3	96,3		91,1	P	96,6
DS	2,7	3,2	1,9	DS	1,6	1,2	2,7
L8 1a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		L8 1b	<i>P. nalgiovense</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	95,0	100,0	95,5		95,5	100,0	92,9
	100,0	95,8	88,5		94,7	95,8	92,0
	95,5	92,3	86,7		100,0	92,6	93,1
	96,8	92,6	91,7		93,3	95,2	89,5
	100,0	95,5	88,9		100,0	96,6	85,0
	93,8	100,0	95,0		100,0	95,7	91,7
	P	96,8	96,0		91,0	P	97,3
DS	2,4	3,1	3,3	DS	2,8	2,2	2,8
L9 1a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		L9 1b	<i>P. nalgiovense</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	95,5	100,0	92,0		90,9	95,7	92,0
	100,0	90,9	87,0		95,5	100,0	95,8
	90,9	95,7	95,0		100,0	90,9	90,9
	92,6	96,3	90,9		93,3	96,4	88,0
	96,4	94,7	89,5		100,0	96,0	84,2
	100,0	95,8	85,7		96,4	100,0	90,5
	P	95,9	95,6		90,0	P	96,0
DS	3,4	2,7	3,1	DS	3,3	3,1	3,6
L10 1a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		L10 1b	<i>P. nalgiovense</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	95,0	100,0	100,0		100,0	95,2	86,4
	95,5	91,7	89,5		96,6	100,0	85,0
	96,4	92,6	86,4		95,2	96,0	95,5
	95,5	96,3	87,0		94,7	92,9	91,3
	94,7	96,6	87,5		100,0	96,0	89,5
	100,0	96,2	92,0		95,8	96,4	96,3
	P	96,2	95,5		90,4	P	97,1
DS	1,8	2,8	4,7	DS	2,2	2,1	4,2

NT: no tóxica

L6 2a	<i>P. nalgiovense</i>	DT		L6 2b	<i>P. nalgiovense</i>	DT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	94,4	100,0	82,6		94,4	100,0	82,9
	91,3	87,0	76,2		100,0	95,0	80,0
	100,0	91,3	75,0		92,9	92,9	70,8
	92,0	90,0	75,9		91,3	87,5	77,8
	96,3	90,3	70,8		94,7	79,2	76,2
	96,0	95,7	76,9		85,7	86,7	82,1
	P	95,0	92,4		76,2	P	93,2
DS	2,9	4,3	3,5	DS	4,3	6,7	4,1
L7 2a	<i>P. nalgiovense</i>	DT		L7 2b	<i>P. nalgiovense</i>	DT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	95,2	95,0	81,0		84,2	86,4	77,8
	93,1	100,0	71,4		91,7	88,0	69,6
	100,0	92,9	86,1		92,9	91,3	68,0
	95,2	91,7	78,9		90,5	94,1	74,2
	91,7	87,1	85,7		93,3	91,7	66,7
	85,2	80,0	84,0		94,4	91,7	71,0
	P	93,4	91,1		81,2	P	91,2
DS	4,5	6,3	5,0	DS	3,4	2,6	3,8
L8 2a	<i>P. nalgiovense</i>	DT		L8 2b	<i>P. nalgiovense</i>	DT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	94,7	88,0	73,3		87,0	89,5	63,3
	95,2	90,9	74,2		82,4	82,4	63,0
	88,5	87,5	70,8		93,8	90,5	66,7
	95,7	92,0	73,1		95,0	100,0	72,4
	94,4	94,1	70,8		94,4	94,1	69,6
	90,0	91,7	69,0		100,0	88,0	77,8
	P	93,1	90,7		71,9	P	92,1
DS	2,8	2,3	1,8	DS	5,8	5,4	5,2
L9 2a	<i>P. nalgiovense</i>	DT		L9 2b	<i>P. nalgiovense</i>	DT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	95,2	100,0	72,7		100,0	95,5	85,0
	95,5	95,7	81,8		94,1	92,0	72,5
	100,0	94,4	53,8		100,0	94,7	62,5
	89,5	92,0	70,4		89,5	95,8	84,2
	93,8	92,6	57,7		95,2	92,6	78,9
	100,0	95,5	72,4		95,0	100,0	85,2
	P	95,7	95,0		68,1	P	95,6
DS	3,6	2,6	9,5	DS	3,6	2,6	8,3
L10 2a	<i>P. nalgiovense</i>	DT		L10 2b	<i>P. nalgiovense</i>	DT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	100,0	95,7	81,0		89,5	96,0	68,2
	95,5	92,0	59,3		90,0	100,0	81,0
	95,5	100,0	75,0		100,0	95,8	83,3
	89,5	95,8	77,1		95,7	90,9	71,4
	100,0	92,3	92,6		100,0	87,5	75,9
	94,1	95,0	84,0		94,7	95,2	88,5
	P	95,8	95,1		78,2	P	95,0
DS	3,6	2,7	10,2	DS	4,2	4,0	7,0

DT: débilmente tóxica

L11 1a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		L11 1b	<i>P. nalgiovense</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	100,0	93,5	94,7		90,5	94,4	94,7
	96,2	95,5	88,5		100,0	96,3	88,9
	95,5	95,2	93,5		90,9	90,5	90,5
	93,9	96,4	89,5		100,0	93,1	91,7
	100,0	100,0	90,9		94,7	100,0	85,7
	95,0	95,7	85,7		95,2	95,8	90,5
	P	96,8	96,1		90,5	P	95,2
DS	2,4	2,0	3,0	DS	3,8	2,9	2,7
L12 1a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		L12 1b	<i>P. nalgiovense</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	95,7	94,4	92,3		95,0	100,0	94,7
	90,0	95,5	92,6		95,2	94,4	88,9
	96,2	93,3	90,5		94,7	93,1	88,0
	90,0	90,6	92,0		100,0	96,0	89,5
	96,8	100,0	86,4		96,8	91,7	90,5
	100,0	96,0	87,0		93,1	92,0	88,2
	P	94,8	95,0		90,1	P	95,8
DS	3,6	2,8	2,5	DS	2,2	2,8	2,3
L13 1a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		L13 1b	<i>P. nalgiovense</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	92,9	93,5	100,0		96,0	95,5	88,5
	94,7	95,8	87,5		93,8	100,0	86,4
	100,0	96,0	84,2		96,6	93,9	92,0
	96,7	100,0	91,3		100,0	93,5	85,0
	95,7	91,3	92,0		95,7	95,7	92,6
	93,1	92,0	85,7		93,3	92,0	95,5
	P	95,5	94,8		90,1	P	95,9
DS	2,4	2,9	5,2	DS	2,2	2,5	3,7
L14 1a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		L14 1b	<i>P. nalgiovense</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	96,8	94,7	94,1		100,0	97,4	88,2
	100,0	100,0	90,5		90,5	96,3	81,5
	88,5	92,6	92,6		95,5	90,5	90,5
	96,4	100,0	84,8		100,0	95,0	90,5
	100,0	95,5	95,5		94,7	100,0	94,7
	96,7	95,2	88,5		95,2	91,7	95,7
	P	96,4	96,3		91,0	P	96,0
DS	3,9	2,8	3,6	DS	3,3	3,3	4,7
L15 1a	<i>P. nalgiovense</i>	NT		L15 1b	<i>P. nalgiovense</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	94,7	95,2	90,0		95,2	95,5	89,5
	100,0	94,4	86,2		93,1	95,8	88,9
	90,5	96,6	88,2		94,7	92,3	89,5
	96,8	96,0	95,5		95,2	96,6	86,4
	100,0	95,7	95,0		100,0	95,5	92,0
	95,0	100,0	91,7		100,0	95,7	96,0
	P	96,2	96,3		91,1	P	96,4
DS	3,3	1,8	3,4	DS	2,7	1,3	3,0

NT: no tóxica

L8 3a	<i>P. polonicum</i>	DT		L8 3b	<i>P. polonicum</i>	DT			
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
		94,1	90,4			78,9	94,4	86,9	85,7
		94,4	85,2			59,1	100,0	85,2	58,3
		100,0	91,3			66,6	92,3	95,7	68,0
		86,9	93,5			65,7	91,3	86,2	63,3
		100,0	87,8			66,6	94,7	93,8	68,0
		92,0	100,0			54,8	85,7	100,0	65,5
P	94,6	91,4	65,3	P	93,1	91,3	68,1		
DS	4,6	4,7	7,5	DS	4,3	5,5	8,5		
L8 3a´	<i>P. polonicum</i>	DT		L8 3b´	<i>P. polonicum</i>	DT			
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
		94,4	95,7			72,2	78,9	95,0	81,8
		94,4	87,5			65,2	91,7	100,0	70,0
		92,6	95,7			68,0	92,9	89,3	75,0
		91,3	82,8			54,2	90,4	91,7	76,9
		92,0	93,3			69,2	93,3	87,1	79,2
		91,6	92,6			58,3	94,4	80,0	80,0
P	92,7	91,3	64,5	P	90,3	90,5	77,2		
DS	1,3	4,7	6,3	DS	5,2	6,3	3,9		
L8 3a´´	<i>P. polonicum</i>	DT		L8 3b´´	<i>P. polonicum</i>	DT			
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
		86,9	94,7			69,6	90,5	100,0	71,4
		82,4	88,2			80,7	100,0	81,3	83,3
		93,8	90,5			61,3	87,5	90,5	56,7
		95,0	94,1			60,7	90,9	95,8	67,9
		94,4	94,1			72,4	100,0	85,2	65,5
		100,0	84,0			66,6	88,0	95,5	60,9
P	92,1	90,9	68,6	P	92,8	91,4	67,6		
DS	5,8	3,9	6,8	DS	5,2	6,5	8,5		
L8 3a´´´	<i>P. polonicum</i>	DT		L8 3b´´´	<i>P. polonicum</i>	DT			
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
		95,2	90,9			78,4	95,0	90,5	82,8
		100,0	88,9			78,9	90,9	90,0	50,0
		95,7	85,7			50,0	100,0	89,5	80,0
		93,5	94,7			80,0	94,7	95,7	84,6
		100,0	95,2			82,4	93,1	88,9	88,9
		94,7	100,0			82,1	94,7	92,0	80,0
P	96,5	92,6	75,3	P	94,7	91,1	77,7		
DS	2,5	4,7	11,4	DS	2,7	2,3	12,8		
L8 3a´´´´	<i>P. polonicum</i>	DT		L8 3b´´´´	<i>P. polonicum</i>	DT			
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
		95,0	90,9			88,2	100,0	91,3	80,0
		91,7	100,0			86,2	100,0	95,0	88,9
		92,6	94,7			90,0	95,5	87,0	89,5
		95,5	90,0			77,3	93,9	96,8	88,5
		94,4	100,0			95,0	100,0	96,2	95,2
		94,7	89,7			92,0	93,8	95,8	85,2
P	94,0	94,2	88,1	P	97,2	93,7	87,9		
DS	1,4	4,4	5,6	DS	2,9	3,5	4,6		

DT: débilmente tóxica

L8 4a	<i>P. polonicum</i>	DT		L8 4b	<i>P. polonicum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	78,9	86,4	80,9		86,9	100,0	71,9		
	91,7	88,0	75,9		82,4	82,4	64,5		
	92,8	91,3	71,4		93,8	90,5	71,9		
	90,4	94,1	62,5		95,0	94,1	77,7		
	93,3	87,5	88,9		94,4	94,1	68,0		
	94,4	91,7	68,2		100,0	84,0	69,6		
	P	90,3	89,8		74,6	P	92,1	90,9	70,6
	DS	5,2	2,7		8,6	DS	5,8	6,1	4,1
L8 4a'	<i>P. polonicum</i>	DT		L8 4b'	<i>P. polonicum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	100,0	90,9	70,8		96,7	90,5	92,0		
	82,4	88,9	73,3		100,0	95,8	76,2		
	95,2	80,9	74,2		93,1	92,9	89,5		
	100,0	94,7	68,9		95,5	96,3	87,0		
	95,4	95,2	73,1		95,7	92,6	79,2		
	95,2	100,0	70,8		95,0	95,8	78,3		
	P	94,7	91,8		71,9	P	96,0	94,0	83,7
	DS	5,9	6,0		1,8	DS	2,1	2,1	6,0
L8 4a''	<i>P. polonicum</i>	DT		L8 4b''	<i>P. polonicum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,2	91,3	69,6		94,4	100,0	68,0		
	100,0	95,0	77,7		95,6	90,4	67,6		
	95,6	86,9	61,3		92,8	95,2	70,4		
	93,5	96,7	62,9		95,4	100,0	68,9		
	100,0	96,2	72,4		100,0	94,7	80,6		
	94,7	95,8	66,6		96,5	95,6	64,0		
	P	96,5	93,7		68,4	P	95,8	96,0	69,9
	DS	2,6	3,5		5,6	DS	2,2	3,3	5,2
L8 4a'''	<i>P. polonicum</i>	DT		L8 4b'''	<i>P. polonicum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	94,4	95,0	73,9		96,2	100,0	88,0		
	95,4	100,0	87,5		95,5	96,7	78,3		
	100,0	91,3	71,4		96,4	95,8	86,4		
	100,0	100,0	86,2		94,4	97,1	87,0		
	96,3	93,3	93,1		100,0	96,2	80,8		
	96,0	95,6	88,4		95,2	90,5	88,0		
	P	97,0	95,9		83,4	P	96,3	96,0	84,7
	DS	2,2	3,2		7,9	DS	1,8	2,8	3,8
L8 4a''''	<i>P. polonicum</i>	DT		L8 4b''''	<i>P. polonicum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	100,0	100,0	96,0		94,7	88,0	82,6		
	95,4	90,9	87,5		95,2	90,9	70,0		
	90,9	95,6	80,0		88,5	87,5	73,3		
	93,3	96,4	81,8		95,6	92,0	70,0		
	96,4	100,0	84,2		94,4	94,1	79,2		
	100,0	96,2	71,4		90,0	91,6	80,0		
	P	96,0	96,5		83,5	P	93,1	90,7	75,9
	DS	3,3	3,1		7,5	DS	2,8	2,3	5,0

DT: débilmente tóxica

L9 6a	<i>P. polonicum</i>	DT		L9 6b	<i>P. polonicum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	94,4	88,2	80,9		100	100	72,7		
	89,4	100	75,9		90,4	100	81,8		
	100	90,6	71,4		90,9	89,4	80,7		
	90,4	100	85,7		100	90	70,3		
	96,5	96,1	92,6		89,4	93,3	57,7		
	100	96,7	72,7		95,2	73,3	72,4		
	P	95,1	95,3		79,9	P	94,3	91,0	72,6
	DS	4,2	4,5		7,5	DS	4,4	9,0	7,9
L9 6a´	<i>P. polonicum</i>	DT		L9 6b´	<i>P. polonicum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	94,4	95,4	85		94,1	90	80,9		
	94,1	100	72,5		95,5	95,5	74,1		
	96,4	78,3	62,5		100	92,6	75		
	91,3	87,5	84,2		92,8	95,8	77,2		
	86,2	92,9	78,9		93,8	93,3	92,6		
	95	86,7	85,2		100	89,4	84		
	P	92,9	90,1		78,1	P	96,0	92,8	80,6
	DS	3,4	7,0		8,3	DS	2,9	2,4	6,3
L9 6a´´	<i>P. polonicum</i>	DT		L9 6b´´	<i>P. polonicum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	100	90,9	68,2		88,4	88	80		
	86,9	88	80,9		94,4	90,9	75		
	92,9	86,9	83,3		95,6	88,5	73,3		
	95,2	94,1	71,4		90	91,7	75		
	88,9	95,8	75,9		94,7	94,1	79,2		
	94,4	91,7	88,4		95,6	92	82,6		
	P	93,1	91,2		78,0	P	93,1	90,9	77,5
	DS	4,3	3,1		6,9	DS	2,8	2,1	3,3
L9 6a´´´	<i>P. polonicum</i>	DT		L9 6b´´´	<i>P. polonicum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	86,9	89,4	77,7		100	83,3	73,3		
	82,4	82,4	69,6		95,2	88,9	74,2		
	93,8	90,4	68		95,5	85,7	70,8		
	95	94,1	74,2		95,2	94,7	73,1		
	94,4	94,1	66,7		88,2	95,2	70,8		
	100	92	71		100	90,9	68,9		
	P	92,1	90,4		71,2	P	95,7	89,8	71,9
	DS	5,8	4,0		3,7	DS	4,0	4,4	1,8
L9 6a´´´´	<i>P. polonicum</i>	DT		L9 6b´´´´	<i>P. polonicum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	94,7	90,9	63,3		96,5	100	68		
	100	95	62,9		92,9	90	72,4		
	95,6	86,9	66,6		100	95,2	67,6		
	95,2	96,7	72,4		95,6	100	70,9		
	100	96,2	69,6		94,7	94,4	64		
	100	95,6	77,7		95,4	95,4	70,3		
	P	97,6	93,6		68,8	P	95,9	95,8	68,9
	DS	2,4	3,5		5,2	DS	2,2	3,4	2,7

DT: débilmente tóxica

L11 4a	<i>P. polonicum</i>	DT		L11 4b	<i>P. polonicum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	94,1	90,5	78,9		94,4	87,0	85,7		
	94,4	85,2	68,2		93,8	85,2	62,5		
	100,0	91,3	75,0		92,9	95,7	76,0		
	87,0	93,5	64,7		91,3	86,2	70,0		
	100,0	87,9	66,7		94,7	93,8	68,0		
	92,0	100,0	74,2		85,7	100,0	67,9		
	P	94,6	91,4		71,3	P	92,1	91,3	71,7
	DS	4,5	4,7		5,1	DS	3,1	5,5	7,4
L12 4a	<i>P. polonicum</i>	DT		L12 4b	<i>P. polonicum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	94,7	95,7	72,7		78,9	95,0	81,8		
	94,4	87,5	7,4		91,7	100,0	70,0		
	92,6	95,7	68,0		92,9	89,3	75,0		
	91,3	82,8	70,8		90,5	91,7	68,8		
	92,0	93,3	75,0		94,1	87,1	79,2		
	91,7	92,6	79,2		94,4	84,0	80,0		
	P	92,8	91,2		62,2	P	90,4	91,2	75,8
	DS	1,3	4,7		24,7	DS	5,3	5,2	5,0
L13 4a	<i>P. polonicum</i>	DT		L13 4b	<i>P. polonicum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	87,0	89,5	73,9		90,5	100,0	71,4		
	82,4	82,4	80,8		100,0	81,3	79,2		
	93,8	90,5	71,0		87,5	90,5	73,3		
	95,0	94,1	67,9		90,9	95,8	75,0		
	94,4	94,1	72,4		100,0	88,9	65,5		
	100,0	92,0	74,1		88,0	95,5	78,3		
	P	92,1	90,4		73,3	P	92,8	92,0	73,8
	DS	5,8	4,0		3,9	DS	5,2	6,0	4,6
L14 4a	<i>P. polonicum</i>	DT		L14 4b	<i>P. polonicum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,2	91,3	69,6		100,0	94,7	68,0		
	100,0	95,0	77,8		95,7	90,5	72,4		
	95,7	87,0	61,3		92,9	95,2	67,6		
	93,3	96,8	63,0		95,5	100,0	71,0		
	100,0	96,2	72,4		95,0	94,7	64,0		
	94,7	95,8	66,7		96,6	95,7	70,4		
	P	96,5	93,7		68,4	P	95,9	95,1	68,9
	DS	2,6	3,5		5,6	DS	2,1	2,8	2,7
L15 4a	<i>P. polonicum</i>	DT		L15 4b	<i>P. polonicum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	100,0	87,5	73,3		96,6	100,0	68,0		
	95,2	88,9	74,2		96,4	90,0	73,5		
	95,5	85,7	70,8		100,0	95,2	70,4		
	95,2	94,7	73,1		95,7	100,0	75,0		
	88,2	95,2	70,8		94,7	94,4	74,2		
	100,0	90,9	69,0		95,5	95,5	72,0		
	P	95,7	90,5		71,9	P	96,5	95,9	72,2
	DS	3,9	3,5		1,8	DS	1,7	3,4	2,4

DT: débilmente tóxica

L11 6a	<i>P. polonicum</i>	DT		L11 6b	<i>P. polonicum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	94,4	100,0	83,8		95,0	94,4	70,3		
	100,0	95,0	80,0		91,7	100,0	70,9		
	92,9	92,9	57,7		92,6	89,4	68,2		
	91,3	91,7	77,7		95,5	90,0	61,3		
	94,7	79,2	82,4		94,4	100,0	80,0		
	85,7	86,6	82,1		94,7	73,3	77,3		
	P	93,2	90,9		77,3	P	94,0	91,2	71,3
	DS	4,3	6,6		9,0	DS	1,4	9,0	6,1
L12 6a	<i>P. polonicum</i>	DT		L12 6b	<i>P. polonicum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	78,9	90,5	80,9		100,0	90,9	85,0		
	91,7	88,0	75,9		91,6	88,0	86,9		
	92,9	91,3	71,4		92,6	91,3	71,4		
	90,5	94,1	62,5		90,5	94,4	65,4		
	93,3	87,5	82,4		95,0	91,7	85,2		
	94,4	91,7	68,2		94,4	91,1	73,9		
	P	90,3	90,5		73,6	P	94,0	91,2	78,0
	DS	5,2	2,2		7,0	DS	3,1	1,9	8,2
L13 6a	<i>P. polonicum</i>	DT		L13 6b	<i>P. polonicum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	94,7	95,5	84,2		94,1	90,0	80,9		
	94,1	100,0	77,1		95,4	95,5	69,2		
	96,4	86,9	70,8		100,0	92,6	80,0		
	91,3	87,5	80,9		95,2	95,8	85,3		
	95,8	92,9	78,9		93,8	93,3	92,6		
	95,0	86,7	85,2		100,0	89,4	84,0		
	P	94,6	91,6		79,5	P	96,4	92,8	82,0
	DS	1,6	5,0		4,8	DS	2,6	2,4	7,0
L14 6a	<i>P. polonicum</i>	DT		L14 6b	<i>P. polonicum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	90,9	87,5	73,7		94,4	94,7	78,3		
	89,5	85,2	71,4		91,3	100,0	71,4		
	100,0	92,0	73,1		100,0	70,4	70,4		
	90,5	89,7	67,7		92,0	96,4	69,0		
	96,5	93,8	67,9		96,3	93,5	78,6		
	96,3	100,0	66,6		95,8	95,6	69,2		
	P	94,0	91,4		70,1	P	95,0	91,8	72,8
	DS	3,9	4,8		2,8	DS	2,9	9,8	4,1
L15 6a	<i>P. polonicum</i>	DT		L15 6b	<i>P. polonicum</i>	DT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	100,0	83,3	73,3		94,7	90,9	66,7		
	95,2	88,9	74,2		100,0	95,0	66,7		
	95,5	100,0	75,0		95,6	86,9	76,9		
	95,2	94,7	73,1		95,2	96,7	72,4		
	88,9	95,2	70,8		100,0	96,2	73,9		
	100,0	90,9	73,3		100,0	95,6	81,5		
	P	95,8	92,2		73,3	P	97,6	93,6	73,0
	DS	3,7	5,3		1,3	DS	2,4	3,5	5,3

DT: débilmente tóxica

L10 7a	<i>P. polonicum</i>	DT		L10 7b	<i>P. polonicum</i>	DT	
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/10	Filt. 1/100
	95,0	94,1	86,4		90,5	90,9	87,5
	95,5	95,8	78,9		100,0	96,2	80,0
	96,4	92,6	72,7		100,0	95,7	74,1
	100,0	96,3	73,9		90,0	90,0	84,0
	94,7	93,1	83,3		100,0	100,0	73,7
	96,6	100,0	80,0		96,4	100,0	86,4
P	96,4	95,3	79,2	P	96,2	95,5	80,9
DS	1,8	2,5	4,8	DS	4,4	3,9	5,5

DT: débilmente tóxica

L1 2a	<i>P. glabrum</i>	NT		L1 2b	<i>P. glabrum</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	94,4	88,9	91,3		94,4	88,2	84,0
	95,7	100,0	85,2		91,7	100,0	90,9
	92,9	93,3	90,5		92,6	90,6	85,7
	95,5	93,1	86,4		95,5	100,0	90,5
	100,0	92,3	94,7		95,2	92,3	91,7
	96,6	96,2	95,7		93,1	96,8	100,0
P	95,8	94,0	90,6	P	93,7	94,7	90,5
DS	2,2	3,4	3,9	DS	1,4	4,6	5,1
L2 2a	<i>P. glabrum</i>	NT		L2 2b	<i>P. glabrum</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	95,0	90,0	90,9		96,8	94,7	89,5
	100,0	95,5	92,0		100,0	100,0	92,6
	92,3	90,3	85,7		88,5	92,6	89,5
	100,0	95,8	90,5		96,4	100,0	90,9
	90,9	100,0	91,7		100,0	95,5	92,0
	96,0	93,9	89,5		96,7	95,2	88,0
P	95,7	94,3	90,0	P	96,4	96,3	90,4
DS	3,5	3,4	2,1	DS	3,9	2,8	1,6
L3 2a	<i>P. glabrum</i>	NT		L3 2b	<i>P. glabrum</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	100,0	85,7	87,0		90,0	95,7	88,2
	90,5	96,3	100,0		90,5	100,0	85,2
	90,9	90,5	89,5		100,0	90,9	90,5
	95,8	90,0	86,4		95,2	96,4	90,5
	89,5	100,0	92,0		100,0	96,0	94,7
	95,2	91,3	87,5		95,0	100,0	91,3
P	93,7	92,3	90,4	P	95,1	96,5	90,1
DS	3,7	4,6	4,7	DS	4,0	3,1	2,9
L4 2a	<i>P. glabrum</i>	NT		L4 2b	<i>P. glabrum</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	94,4	92,0	95,7		95,2	88,9	86,4
	95,7	90,9	88,9		93,1	95,2	88,9
	92,9	100,0	90,5		100,0	93,3	90,0
	95,5	92,0	88,2		95,2	96,6	90,5
	100,0	94,1	94,7		91,7	93,1	94,7
	93,1	91,7	90,5		92,6	96,2	94,1
P	95,3	93,4	91,4	P	94,6	93,9	90,8
DS	2,4	3,1	2,8	DS	2,7	2,6	2,9
L5 2a	<i>P. glabrum</i>	NT		L5 2b	<i>P. glabrum</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	87,5	90,9	95,5		90,5	92,0	90,9
	90,5	95,0	90,0		100,0	95,7	90,0
	93,8	87,0	93,3		87,5	87,0	93,3
	95,0	93,5	85,2		90,9	90,3	88,5
	94,4	96,2	88,2		100,0	96,2	88,2
	100,0	95,7	88,9		88,0	95,0	88,9
P	93,5	93,0	90,2	P	92,8	92,7	90,0
DS	3,9	3,2	3,4	DS	5,2	3,3	1,8

NT: no tóxica

L11 2a	<i>P. salamii</i>	DT		L11 2b	<i>P. salamii</i>	DT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	95,7	91,3	73,9		95,7	95,2	76,2
	90,0	88,9	77,8		100,0	90,9	81,8
	96,2	91,3	80,8		95,2	93,1	76,9
	90,5	89,3	80,0		90,9	93,3	75,9
	96,6	100,0	75,0		96,3	91,3	70,8
	100,0	92,6	80,8		95,7	95,7	68,4
	P	94,8	92,2		78,0	P	95,6
DS	3,5	3,7	2,7	DS	2,6	1,8	4,3
L12 2a	<i>P. salamii</i>	DT		L12 2b	<i>P. salamii</i>	DT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	92,9	100,0	81,8		95,2	89,3	81,8
	100,0	95,0	80,0		93,1	90,0	71,4
	92,9	92,9	78,3		85,2	90,5	75,0
	91,3	87,5	72,2		95,2	100,0	78,9
	94,7	90,0	76,2		100,0	90,3	85,2
	91,7	89,3	82,1		95,8	88,0	84,0
	P	93,9	92,4		78,4	P	94,1
DS	2,9	4,2	3,4	DS	4,5	4,0	4,9
L13 2a	<i>P. salamii</i>	DT		L13 2b	<i>P. salamii</i>	DT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	94,1	90,0	80,0		95,5	87,5	68,4
	100,0	95,7	69,2		89,5	85,2	71,4
	95,2	92,6	78,3		100,0	92,0	80,8
	100,0	95,8	85,3		90,5	89,7	73,3
	93,8	93,8	88,9		96,6	93,8	67,9
	95,2	89,5	84,0		96,3	100,0	74,1
	P	96,4	92,9		80,9	P	94,7
DS	2,6	2,5	6,3	DS	3,6	4,8	4,3
L14 2a	<i>P. salamii</i>	DT		L14 2b	<i>P. salamii</i>	DT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	94,4	90,9	78,3		93,1	100,0	76,7
	91,3	87,0	81,0		95,2	88,9	82,8
	100,0	91,3	70,4		100,0	85,0	75,0
	92,0	89,7	72,4		95,2	94,7	73,1
	96,4	93,3	78,6		88,9	90,5	70,8
	95,8	95,7	69,2		100,0	90,9	83,3
	P	95,0	91,3		75,0	P	95,4
DS	2,9	2,7	4,5	DS	3,9	4,7	4,7
L15 2a	<i>P. salamii</i>	DT		L15 2b	<i>P. salamii</i>	DT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	94,7	89,5	75,0		94,1	92,9	73,9
	94,7	100,0	69,6		95,5	95,8	75,9
	92,9	100,0	78,3		100,0	95,2	72,0
	95,5	90,0	55,2		96,2	92,3	70,4
	95,0	82,1	61,5		94,7	100,0	68,0
	91,7	94,1	57,9		100,0	93,8	82,8
	P	94,1	92,6		66,2	P	96,7
DS	1,3	6,3	8,6	DS	2,4	2,6	4,7

DT: débilmente tóxica

L3 6	<i>P. vanluykii</i>	NT		L13 5	<i>P. vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,0	100,0	90,5		95,2	100,0	90,0		
	95,7	92,3	90,9		93,1	94,7	89,5		
	100,0	92,0	92,6		100,0	90,3	86,3		
	93,1	95,5	90,0		95,2	100,0	95,0		
	96,3	100,0	87,5		95,8	96,0	91,3		
	100,0	96,7	91,3		100,0	93,9	91,6		
	P	96,7	96,1		90,5	P	96,6	95,8	90,6
	DS	2,5	3,2		1,6	DS	2,6	3,4	2,6
C.				C.					
L8 5a	<i>cladosporioides</i>	NT		L8 5b	<i>cladosporioides</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,0	88,9	95,0		96,7	100,0	96,0		
	95,5	95,8	90,0		92,9	95,8	90,0		
	93,1	96,7	89,5		100,0	92,9	89,5		
	100,0	100,0	91,3		95,5	100,0	91,3		
	95,2	93,1	87,5		95,7	92,6	91,7		
	96,6	96,2	90,5		95,0	96,0	87,0		
	P	95,9	95,1		90,6	P	95,9	96,2	90,9
	DS	2,1	3,4		2,3	DS	2,1	3,0	2,7
Control	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10						
	94,4	100,0	95,5						
	100,0	100,0	88,9						
	100,0	95,2	93,3						
	93,8	92,3	88,0						
	94,4	94,4	88,2						
	94,1	95,2	88,9						
	P	96,1	96,2	90,5					
	DS	2,7	2,9	2,9					

NT: no tóxica

Comparación entre las diluciones 1:10 de los filtrados de cada una de las cepas fúngicas respecto del control aisladas a partir de los productos longaniza

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Failed (P < 0,050)

Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

Group	N	Missing	Median	25%	75%
asen Cont	6	0	1,231	1,221	1,310
asin L1 3a	6	0	1,249	1,231	1,339
asin L1 3b	6	0	1,257	1,237	1,271
asin L2 3a	6	0	1,262	1,201	1,305
asin L2 3b	6	0	1,265	1,197	1,278
asin L3 3a	6	0	1,243	1,209	1,271
asin L3 3b	6	0	1,240	1,221	1,310
asin L4 3a	6	0	1,281	1,193	1,290
asin L4 3b	6	0	1,251	1,193	1,351
asin L5 3a	6	0	1,261	1,197	1,278
asin L5 3b	6	0	1,264	1,209	1,284
asin L6 1a	6	0	1,235	1,183	1,339
asin L6 1b	6	0	1,273	1,209	1,339
asin L7 1a	6	0	1,257	1,240	1,284
asin L7 1b	6	0	1,271	1,257	1,278
asin L8 1a	6	0	1,281	1,240	1,300
asin L8 1b	6	0	1,252	1,201	1,284
asin L9 1a	6	0	1,261	1,217	1,284
asin L9 1b	6	0	1,225	1,201	1,284
asin L10 1a	6	0	1,256	1,193	1,356
asin L10 1b	6	0	1,256	1,193	1,356
asin L1 2a	6	0	1,264	1,193	1,339
asin L1 2b	6	0	1,261	1,183	1,278
asin L2 2a	6	0	1,261	1,240	1,278
asin L2 2b	6	0	1,252	1,240	1,284
asin L3 2a	6	0	1,225	1,201	1,284
asin L3 2b	6	0	1,257	1,221	1,271
asin L4 2a	6	0	1,257	1,231	1,339
asin L4 2b	6	0	1,253	1,231	1,326
asin L5 2a	6	0	1,240	1,221	1,310
asin L5 2b	6	0	1,240	1,224	1,265
asin L3 6	6	0	1,261	1,249	1,271
asin L11 1a	6	0	1,252	1,224	1,314
asin L11 1b	6	0	1,257	1,231	1,278
asin L12 1a	6	0	1,271	1,201	1,290
asin L12 1b	6	0	1,236	1,221	1,257
asin L13 1a	6	0	1,240	1,183	1,284
asin L13 1b	6	0	1,254	1,193	1,295
asin L14 1a	6	0	1,276	1,224	1,326
asin L14 1b	6	0	1,257	1,221	1,339
asin L15 1a	6	0	1,263	1,221	1,345
asin L15 1b	6	0	1,240	1,231	1,284
asin L8 5a	6	0	1,253	1,240	1,271
asin L8 5b	6	0	1,260	1,240	1,278

asin L13 5	6	0	1,260	1,240	1,277
asen L1 1a	6	0	1,088	1,021	1,183
asen L1 1b	6	0	1,059	1,047	1,070
asen L2 1a	6	0	1,094	1,061	1,135
asen L2 1b	6	0	0,994	0,970	1,038
asen L3 1a	6	0	1,013	1,000	1,028
asen L3 1b	6	0	0,955	0,869	0,983
asen L4 1a	6	0	0,933	0,899	0,955
asen L4 1b	6	0	0,971	0,899	1,018
asen L5 1a	6	0	1,096	1,047	1,159
asen L5 1b	6	0	1,101	1,087	1,135
asen L6 2a	6	0	1,059	1,047	1,070
asen L6 2b	6	0	1,094	1,061	1,135
asen L7 2a	6	0	1,139	1,094	1,183
asen L7 2b	6	0	0,994	0,970	1,038
asen L8 2a	6	0	1,013	1,000	1,028
asen L8 2b	6	0	0,971	0,920	1,018
asen L9 2a	6	0	1,007	0,863	1,021
asen L9 2b	6	0	1,128	1,019	1,173
asen L10 2a	6	0	1,096	1,047	1,159
asen L10 2b	6	0	1,088	1,007	1,150
asen L8 3a	6	0	0,950	0,877	0,955
asen L8 3b	6	0	0,956	0,920	0,970
asen L8 3a´	6	0	0,955	0,869	0,982
asen L8 3b´	6	0	1,083	1,047	1,107
asen L8 3a´´	6	0	0,971	0,899	1,018
asen L8 3b´´	6	0	0,956	0,895	1,007
asen L8 3a´´´	6	0	1,101	1,087	1,135
asen L8 3b´´´	6	0	1,125	1,107	1,168
asen L8 3a´´´´	6	0	1,235	1,190	1,284
asen L8 3b´´´´	6	0	1,228	1,176	1,240
asen L8 4a	6	0	1,032	0,972	1,118
asen L8 4b	6	0	0,999	0,970	1,012
asen L8 4a´	6	0	1,013	1,000	1,028
asen L8 4b´	6	0	1,149	1,086	1,240
asen L8 4a´´	6	0	0,971	0,916	1,018
asen L8 4b´´	6	0	0,974	0,965	0,996
asen L8 4a´´´	6	0	1,200	1,035	1,223
asen L8 4b´´´	6	0	1,197	1,117	1,217
asen L8 4a´´´´	6	0	1,146	1,107	1,209
asen L8 4b´´´´	6	0	1,063	0,991	1,107
asen L9 6a	97	57	0,991	0,918	1,027
asen L9 6b	6	0	1,019	0,994	1,116
asen L9 6a´	6	0	1,128	1,019	1,173
asen L9 6b´	6	0	1,096	1,047	1,159
asen L9 6a´´	6	0	1,088	1,007	1,150
asen L9 6b´´	6	0	1,072	1,047	1,107
asen L9 6a´´´	6	0	0,994	0,970	1,038
asen L9 6b´´´	6	0	1,013	1,000	1,028
asen L9 6a´´´´	6	0	0,971	0,920	1,018
asen L9 6b´´´´	6	0	0,982	0,965	1,001
asen L10 7a	6	0	1,101	1,035	1,150
asen L10 7b	6	0	1,133	1,037	1,193
asen L11 2a	6	0	1,094	1,047	1,117
asen L11 2b	6	0	1,059	1,000	1,070
asen L12 2a	6	0	1,096	1,061	1,130
asen L12 2b	6	0	1,112	1,047	1,159
asen L13 2a	6	0	1,133	1,086	1,177
asen L13 2b	6	0	1,018	0,974	1,037
asen L14 2a	6	0	1,052	0,995	1,090

asen L14 2b	6	0	1,057	1,025	1,143
asen L15 2a	6	0	0,944	0,865	1,047
asen L15 2b	6	0	1,024	0,995	1,057
asen L11 4a	6	0	1,005	0,955	1,047
asen L11 4b	6	0	0,980	0,968	1,059
asen L12 4a	6	0	1,011	0,970	1,047
asen L12 4b	6	0	1,072	0,991	1,107
asen L13 4a	6	0	1,026	1,002	1,037
asen L13 4b	6	0	1,038	1,007	1,086
asen L14 4a	6	0	0,971	0,917	1,018
asen L14 4b	6	0	0,982	0,966	1,002
asen L15 4a	6	0	1,013	1,000	1,028
asen L15 4b	6	0	1,022	0,995	1,038
asen L11 6a	6	0	1,121	1,079	1,138
asen L11 6b	6	0	0,998	0,972	1,074
asen L12 6a	6	0	1,032	0,972	1,118
asen L12 6b	6	0	1,104	1,007	1,176
asen L13 6a	6	0	1,106	1,072	1,162
asen L13 6b	6	0	1,139	1,107	1,177
asen L14 6a	6	0	0,987	0,966	1,026
asen L14 6b	6	0	1,001	0,982	1,086
asen L15 6a	6	0	1,028	1,026	1,038
asen L15 6b	6	0	1,026	0,956	1,069

H = 601,787 with 126 degrees of freedom. (P = <0,001)

The differences in the median values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0,001)

To isolate the group or groups that differ from the others use a multiple comparison procedure.

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparison	Diff of Ranks	Q	P<0,05
asin L4 2a vs asen Cont	26,667	0,199	Do Not Test
asin L6 1b vs asen Cont	26,500	0,198	Do Not Test
asin L8 1a vs asen Cont	23,750	0,178	Do Not Test
asin L7 1a vs asen Cont	23,667	0,177	Do Not Test
asin L1 3a vs asen Cont	23,250	0,174	Do Not Test
asin L14 1a vs asen Cont	19,833	0,148	Do Not Test
asin L15 1a vs asen Cont	19,333	0,145	Do Not Test
asin L8 5b vs asen Cont	19,333	0,145	Do Not Test
asin L3 6 vs asen Cont	12,833	0,0960	Do Not Test
asin L2 3a vs asen Cont	12,750	0,0953	Do Not Test
asin L2 2b vs asen Cont	10,583	0,0791	Do Not Test
asin L7 1b vs asen Cont	10,083	0,0754	Do Not Test
asin L4 2b vs asen Cont	10,083	0,0754	Do Not Test
asin L8 5a vs asen Cont	9,333	0,0698	Do Not Test
asin L4 3a vs asen Cont	9,333	0,0698	Do Not Test
asin L13 5 vs asen Cont	9,333	0,0698	Do Not Test
asin L1 2a vs asen Cont	7,417	0,0555	Do Not Test
asin L12 1a vs asen Cont	7,167	0,0536	Do Not Test
asin L1 3b vs asen Cont	5,833	0,0436	Do Not Test
asin L11 1a vs asen Cont	5,667	0,0424	Do Not Test
asin L4 3b vs asen Cont	5,500	0,0411	Do Not Test
asin L2 3b vs asen Cont	5,250	0,0393	Do Not Test
asin L10 1a vs asen Cont	5,167	0,0386	Do Not Test
asin L10 1b vs asen Cont	5,167	0,0386	Do Not Test

asin L9 1a vs asen Cont	1,833	0,0137	Do Not Test
asin L11 1b vs asen Cont	1,667	0,0125	Do Not Test
asin L2 2a vs asen Cont	1,667	0,0125	Do Not Test
asin L15 1b vs asen Cont	1,167	0,00872	Do Not Test
asin L5 3b vs asen Cont	1,083	0,00810	Do Not Test
asen Cont vs asen L4 1a	555,333	4,152	Yes
asen Cont vs asen L8 3a´	550,083	4,113	Yes
asen Cont vs asen L3 1b	545,500	4,079	Yes
asen Cont vs asen L8 3a	538,667	4,027	Yes
asen Cont vs asen L9 6b´´´´	506,250	3,785	No
asen Cont vs asen L14 4b	503,333	3,763	No
asen Cont vs asen L8 3b	500,667	3,743	Yes
asen Cont vs asen L8 4a´´	498,083	3,724	Yes
asen Cont vs asen L15 2a	496,667	3,713	Yes
asen Cont vs asen L8 3b´´	496,583	3,713	Yes
asen Cont vs asen L9 6a´´´´	495,750	3,707	Do Not Test
asen Cont vs asen L14 4a	495,583	3,705	Yes
asen Cont vs asen L8 2b	492,417	3,682	Yes
asen Cont vs asen L8 3a´´	490,500	3,667	Yes
asen Cont vs asen L4 1b	488,750	3,654	Yes
asen Cont vs asen L8 4b´´	485,417	3,629	Yes
asen Cont vs asen L14 6a	480,167	3,590	Yes
asen Cont vs asen L9 6a	467,904	4,613	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 4b	462,667	3,459	Yes
asen Cont vs asen L9 2a	460,083	3,440	Yes
asen Cont vs asen L2 1b	451,250	3,374	Yes
asen Cont vs asen L7 2b	451,250	3,374	Yes
asen Cont vs asen L9 6a´´´	448,833	3,356	Yes
asen Cont vs asen L11 4a	441,250	3,299	Yes
asen Cont vs asen L12 4a	440,667	3,295	Yes
asen Cont vs asen L11 4b	438,917	3,282	Yes
asen Cont vs asen L11 6b	437,500	3,271	Yes
asen Cont vs asen L9 6b´´´	433,333	3,240	Yes
asen Cont vs asen L8 4a´	433,333	3,240	Yes
asen Cont vs asen L8 2a	430,083	3,216	Yes
asen Cont vs asen L15 4a	430,083	3,216	Yes
asen Cont vs asen L3 1a	430,083	3,216	Yes
asen Cont vs asen L15 4b	421,500	3,151	Yes
asen Cont vs asen L14 6b	417,250	3,120	Yes
asen Cont vs asen L13 2b	414,917	3,102	Yes
asen Cont vs asen L15 6b	407,583	3,047	Yes
asen Cont vs asen L9 6b	398,000	2,976	Yes
asen Cont vs asen L13 4a	397,583	2,973	Yes
asen Cont vs asen L15 6a	390,083	2,917	Yes
asen Cont vs asen L15 2b	390,000	2,916	Yes
asen Cont vs asen L12 6a	386,750	2,892	Yes
asen Cont vs asen L13 4b	381,250	2,850	Yes
asen Cont vs asen L14 2a	364,750	2,727	Yes
asen Cont vs asen L8 4a	360,167	2,693	Do Not Test
asen Cont vs asen L11 2b	359,250	2,686	Yes
asen Cont vs asen L12 4b	346,667	2,592	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 4b´´´´	346,333	2,589	Do Not Test
asen Cont vs asen L1 1b	326,750	2,443	Do Not Test
asen Cont vs asen L6 2a	326,750	2,443	Do Not Test
asen Cont vs asen L14 2b	316,083	2,363	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 3b´	312,333	2,335	Do Not Test
asen Cont vs asen L5 1b	306,417	2,291	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 3a´´´	306,417	2,291	Do Not Test
asen Cont vs asen L2 6b	301,000	2,250	Do Not Test
asen Cont vs asen L9 6b´´	297,167	2,222	Yes

asen Cont vs asen L9 6a''	295,250	2,207	Yes
asen Cont vs asen L9 6a'	294,083	2,199	Do Not Test
asen Cont vs asen L11 6a	293,583	2,195	Do Not Test
asen Cont vs asen L9 2b	293,417	2,194	Do Not Test
asen Cont vs asen L10 2b	293,083	2,191	Do Not Test
asen Cont vs asen L11 2a	287,833	2,152	Do Not Test
asen Cont vs asen L2 1a	286,500	2,142	Do Not Test
asen Cont vs asen L6 2b	286,500	2,142	Do Not Test
asen Cont vs asen L12 2a	282,667	2,113	Do Not Test
asen Cont vs asen L13 6a	267,667	2,001	Do Not Test
asen Cont vs asen L10 7a	266,000	1,989	Do Not Test
asen Cont vs asen L12 2b	265,000	1,981	Do Not Test
asen Cont vs asen L5 1a	262,417	1,962	Do Not Test
asen Cont vs asen L10 2a	262,417	1,962	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 3b'''	256,083	1,915	Do Not Test
asen Cont vs asen L1 1a	239,250	1,789	Do Not Test
asen Cont vs asen L13 2a	235,667	1,762	Do Not Test
asen Cont vs asen L10 7b	227,750	1,703	Do Not Test
asen Cont vs asen L7 2a	227,750	1,703	Do Not Test
asen Cont vs asen L9 6b'	220,833	1,651	Do Not Test
asen Cont vs asen L13 6b	202,667	1,515	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 4a''''	167,417	1,252	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 4a'''	163,167	1,220	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 4b'	153,667	1,149	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 4b'''	147,833	1,105	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 3b''''	67,333	0,503	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 3a''''	51,500	0,385	Do Not Test
asen Cont vs asin L13 1a	19,250	0,144	Do Not Test
asen Cont vs asin L3 2a	15,917	0,119	Do Not Test
asen Cont vs asin L9 1b	15,917	0,119	Do Not Test
asen Cont vs asin L12 1b	15,667	0,117	Do Not Test
asen Cont vs asin L1 2b	9,750	0,0729	Do Not Test
asen Cont vs asin L6 1a	9,417	0,0704	Do Not Test
asen Cont vs asin L5 2b	8,083	0,0604	Do Not Test
asen Cont vs asin L3 2b	7,083	0,0530	Do Not Test
asen Cont vs asin L3 3a	6,500	0,0486	Do Not Test
asen Cont vs asin L3 3b	6,417	0,0480	Do Not Test
asen Cont vs asin L5 2a	6,417	0,0480	Do Not Test
asen Cont vs asin L13 1b	5,667	0,0424	Do Not Test
asen Cont vs asin L8 1b	4,833	0,0361	Do Not Test
asen Cont vs asin L5 3a	4,333	0,0324	Do Not Test
asen Cont vs asin L14 1b	1,917	0,0143	Do Not Test

Note: The multiple comparisons on ranks do not include an adjustment for ties.

A result of "Do Not Test" occurs for a comparison when no significant difference is found between the two rank sums that enclose that comparison. For example, if you had four rank sums sorted in order, and found no significant difference between rank sums 4 vs. 2, then you would not test 4 vs. 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1 and 3 vs. 1 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not testing the enclosed rank sums is a procedural rule, and a result of Do Not Test should be treated as if there is no significant difference between the rank sums, even though one may appear to exist.

Comparación entre las diluciones 1:50 de los filtrados de cada una de las cepas fúngicas respecto del control aisladas a partir de los productos longaniza

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Failed (P < 0,050)

Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

Group	N	Missing	Median	25%	75%
asen Cont	6	0	1,351	1,333	1,571
asin L1 3a	6	0	1,356	1,339	1,571
asin L1 3b	6	0	1,361	1,318	1,571
asin L2 3a	6	0	1,373	1,365	1,393
asin L2 3b	6	0	1,360	1,326	1,571
asin L3 3a	6	0	1,358	1,333	1,571
asin L3 3b	6	0	1,468	1,290	1,571
asin L4 3a	6	0	1,358	1,305	1,365
asin L4 3b	6	0	1,356	1,345	1,571
asin L5 3a	6	0	1,361	1,333	1,377
asin L5 3b	6	0	1,365	1,345	1,381
asin L6 1a	6	0	1,361	1,351	1,571
asin L6 1b	6	0	1,371	1,345	1,571
asin L7 1a	6	0	1,367	1,351	1,571
asin L7 1b	6	0	1,363	1,351	1,373
asin L8 1a	6	0	1,361	1,295	1,571
asin L8 1b	6	0	1,363	1,351	1,384
asin L9 1a	6	0	1,363	1,339	1,377
asin L9 1b	6	0	1,375	1,361	1,571
asin L10 1a	6	0	1,375	1,295	1,384
asin L10 1b	6	0	1,369	1,351	1,381
asin L1 2a	6	0	1,307	1,290	1,373
asin L1 2b	6	0	1,340	1,260	1,571
asin L2 2a	6	0	1,339	1,254	1,365
asin L2 2b	6	0	1,353	1,339	1,571
asin L3 2a	6	0	1,264	1,249	1,377
asin L3 2b	6	0	1,375	1,361	1,571
asin L4 2a	6	0	1,284	1,278	1,326
asin L4 2b	6	0	1,330	1,305	1,373
asin L5 2a	6	0	1,330	1,265	1,361
asin L5 2b	6	0	1,315	1,254	1,361
asin L3 6	6	0	1,372	1,290	1,571
asin L11 1a	6	0	1,358	1,351	1,381
asin L11 1b	6	0	1,349	1,305	1,377
asin L12 1a	6	0	1,344	1,310	1,369
asin L12 1b	6	0	1,319	1,284	1,369
asin L13 1a	6	0	1,340	1,284	1,369
asin L13 1b	6	0	1,339	1,314	1,361
asin L14 1a	6	0	1,353	1,339	1,571
asin L14 1b	6	0	1,361	1,278	1,408
asin L15 1a	6	0	1,365	1,351	1,384
asin L15 1b	6	0	1,358	1,356	1,365
asin L8 5a	6	0	1,369	1,305	1,387
asin L8 5b	6	0	1,367	1,300	1,571

asin L13 5	6	0	1,354	1,321	1,571
asen L1 1a	6	0	1,258	1,203	1,345
asen L1 1b	6	0	1,244	1,209	1,278
asen L2 1a	6	0	1,271	1,217	1,284
asen L2 1b	6	0	1,291	1,217	1,326
asen L3 1a	6	0	1,252	1,201	1,271
asen L3 1b	6	0	1,302	1,209	1,361
asen L4 1a	6	0	1,258	1,203	1,345
asen L4 1b	6	0	1,305	1,257	1,326
asen L5 1a	6	0	1,276	1,123	1,571
asen L5 1b	6	0	1,309	1,257	1,351
asen L6 2a	6	0	1,263	1,249	1,361
asen L6 2b	6	0	1,255	1,197	1,345
asen L7 2a	6	0	1,289	1,203	1,345
asen L7 2b	6	0	1,275	1,217	1,278
asen L8 2a	6	0	1,271	1,217	1,284
asen L8 2b	6	0	1,249	1,217	1,326
asen L9 2a	6	0	1,344	1,295	1,361
asen L9 2b	6	0	1,348	1,295	1,365
asen L10 2a	6	0	1,353	1,290	1,365
asen L10 2b	6	0	1,358	1,265	1,369
asen L8 3a	6	0	1,264	1,214	1,313
asen L8 3b	6	0	1,260	1,190	1,362
asen L8 3a´	6	0	1,302	1,209	1,362
asen L8 3b´	6	0	1,258	1,203	1,345
asen L8 3a´´	6	0	1,291	1,221	1,325
asen L8 3b´´	6	0	1,307	1,176	1,365
asen L8 3a´´´	6	0	1,302	1,231	1,351
asen L8 3b´´´	6	0	1,253	1,240	1,284
asen L8 3a´´´´	6	0	1,302	1,249	1,571
asen L8 3b´´´´	6	0	1,355	1,271	1,373
asen L8 4a	6	0	1,244	1,209	1,279
asen L8 4b	6	0	1,291	1,159	1,325
asen L8 4a´	6	0	1,301	1,231	1,350
asen L8 4b´	6	0	1,333	1,295	1,365
asen L8 4a´´	6	0	1,355	1,271	1,375
asen L8 4b´´	6	0	1,355	1,338	1,571
asen L8 4a´´´	6	0	1,352	1,309	1,571
asen L8 4b´´´	6	0	1,380	1,365	1,398
asen L8 4a´´´´	6	0	1,377	1,359	1,571
asen L8 4b´´´´	6	0	1,271	1,217	1,284
asen L9 6a	6	0	1,380	1,259	1,571
asen L9 6b	6	0	1,279	1,239	1,571
asen L9 6a´	6	0	1,255	1,197	1,355
asen L9 6b´	6	0	1,302	1,249	1,357
asen L9 6a´´	6	0	1,271	1,217	1,325
asen L9 6b´´	6	0	1,271	1,225	1,284
asen L9 6a´´´	6	0	1,270	1,239	1,325
asen L9 6b´´´	6	0	1,270	1,239	1,325
asen L9 6a´´´´	6	0	1,248	1,183	1,338
asen L9 6b´´´´	6	0	1,352	1,264	1,375
asen L10 7a	6	0	1,346	1,305	1,377
asen L10 7b	6	0	1,367	1,264	1,571
asen L11 2a	6	0	1,271	1,237	1,295
asen L11 2b	6	0	1,307	1,271	1,351
asen L12 2a	6	0	1,275	1,237	1,345
asen L12 2b	6	0	1,252	1,237	1,257
asen L13 2a	6	0	1,307	1,249	1,361
asen L13 2b	6	0	1,264	1,209	1,318
asen L14 2a	6	0	1,268	1,243	1,310

asen L14 2b	6	0	1,261	1,231	1,339
asen L15 2a	6	0	1,287	1,240	1,571
asen L15 2b	6	0	1,334	1,300	1,365
asen L11 4a	6	0	1,264	1,215	1,314
asen L11 4b	6	0	1,260	1,190	1,361
asen L12 4a	6	0	1,302	1,209	1,361
asen L12 4b	6	0	1,258	1,203	1,345
asen L13 4a	6	0	1,271	1,240	1,326
asen L13 4b	6	0	1,307	1,231	1,365
asen L14 4a	6	0	1,355	1,271	1,373
asen L14 4b	6	0	1,345	1,339	1,361
asen L15 4a	6	0	1,248	1,209	1,339
asen L15 4b	6	0	1,353	1,333	1,571
asen L11 6a	6	0	1,290	1,196	1,345
asen L11 6b	6	0	1,290	1,239	1,571
asen L12 6a	6	0	1,264	1,217	1,279
asen L12 6b	6	0	1,270	1,264	1,279
asen L13 6a	6	0	1,255	1,200	1,357
asen L13 6b	6	0	1,302	1,249	1,357
asen L14 6a	6	0	1,264	1,209	1,319
asen L14 6b	6	0	1,349	1,314	1,381
asen L15 6a	6	0	1,301	1,231	1,350
asen L15 6b	6	0	1,352	1,264	1,375

H = 205,777 with 126 degrees of freedom. (P = <0,001)

The differences in the median values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0,001)

To isolate the group or groups that differ from the others use a multiple comparison procedure.

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparison	Diff of Ranks	q	P<0,05
asin L2 3a vs asen Cont	390,000	0,718	No
asin L9 1b vs asen Cont	317,500	0,584	No
asin L3 2b vs asen Cont	317,500	0,584	No
asen L8 4a'''' vs asen Cont	303,000	0,558	No
asen L8 4b''' vs asen Cont	282,000	0,519	No
asin L15 1a vs asen Cont	271,500	0,500	No
asin L10 1b vs asen Cont	244,500	0,450	No
asin L6 1b vs asen Cont	211,000	0,388	No
asin L6 1a vs asen Cont	194,500	0,358	No
asin L8 1b vs asen Cont	154,000	0,283	No
asin L8 5b vs asen Cont	146,500	0,270	No
asin L7 1a vs asen Cont	139,000	0,256	No
asin L4 3b vs asen Cont	136,500	0,251	No
asin L11 1a vs asen Cont	123,000	0,226	No
asin L3 6 vs asen Cont	75,000	0,138	No
asin L3 3b vs asen Cont	67,500	0,124	No
asin L10 1a vs asen Cont	64,500	0,119	No
asin L14 1a vs asen Cont	53,000	0,0975	No
asin L2 2b vs asen Cont	53,000	0,0975	No
asin L5 3b vs asen Cont	52,000	0,0957	No
asin L7 1b vs asen Cont	46,000	0,0847	No
asin L3 3a vs asen Cont	23,000	0,0423	No
asin L8 1a vs asen Cont	22,500	0,0414	No
asin L9 1a vs asen Cont	1,000	0,00184	No

asen Cont vs asen L8 4a	1955,000	3,598	No
asen Cont vs asen L1 1b	1944,000	3,577	No
asen Cont vs asen L3 1a	1864,500	3,431	No
asen Cont vs asen L12 6a	1821,000	3,351	No
asen Cont vs asen L9 6a''''	1797,500	3,308	No
asen Cont vs asen 7 2b	1769,500	3,256	No
asen Cont vs asen L8 4b''''	1768,500	3,254	No
asen Cont vs asen L2 1a	1732,500	3,188	No
asen Cont vs asen L8 2a	1732,500	3,188	No
asen Cont vs asen L9 6b''	1722,000	3,169	No
asen Cont vs asen L15 4a	1710,000	3,147	No
asen Cont vs asen L9 6a''''	1697,500	3,124	No
asen Cont vs asen L9 6b''''	1697,500	3,124	No
asen Cont vs asen L8 3b''''	1661,500	3,058	No
asen Cont vs asen L13 4a	1654,000	3,044	No
asen Cont vs asen L2 6b	1630,500	3,000	No
asen Cont vs asen L2 2b	1624,000	2,989	No
asen Cont vs asen L2 1b	1551,000	2,854	No
asen Cont vs asen L8 3a''	1547,000	2,847	No
asen Cont vs asen L8 2b	1520,000	2,797	No
asen Cont vs asen L14 2a	1514,500	2,787	No
asen Cont vs asen L9 6a''	1505,500	2,770	No
asen Cont vs asen L8 3a	1465,500	2,697	No
asen Cont vs asen L1 1a	1447,500	2,664	No
asen Cont vs asen L4 1a	1447,500	2,664	No
asen Cont vs asen L13 2b	1446,500	2,662	No
asen Cont vs asen L11 4a	1442,500	2,655	No
asen Cont vs asen L6 2b	1442,500	2,655	No
asen Cont vs asen L14 6a	1437,500	2,645	No
asen Cont vs asen L8 3b'	1430,500	2,632	No
asen Cont vs asen L12 4b	1427,000	2,626	No
asen Cont vs asen L9 6a'	1398,000	2,573	No
asen Cont vs asen L14 2b	1379,000	2,538	No
asen Cont vs asen L4 1b	1368,500	2,518	No
asen Cont vs asen L8 4b	1346,500	2,478	No
asen Cont vs asen L13 6a	1324,000	2,436	No
asen Cont vs asen L11 2a	1321,500	2,432	No
asen Cont vs asen L11 4b	1314,000	2,418	No
asen Cont vs asen L8 3b	1297,500	2,388	No
asen Cont vs asen L11 6a	1262,000	2,322	No
asen Cont vs asen L7 2a	1246,000	2,293	No
asen Cont vs asen L12 4a	1236,500	2,275	No
asen Cont vs asen L3 1b	1236,500	2,275	No
asen Cont vs asen L12 2a	1221,000	2,247	No
asen Cont vs asen L62a	1198,500	2,206	No
asen Cont vs asen L8 3a'	1196,000	2,201	No
asen Cont vs asen L8 4a'	1144,500	2,106	No
asen Cont vs asen L5 1a	1130,500	2,080	No
asen Cont vs asen L15 6a	1129,000	2,078	No
asen Cont vs asen L5 1b	1122,000	2,065	No
asen Cont vs asin L3 2a	1114,000	2,050	No
asen Cont vs asen L8 3a''''	1082,500	1,992	No
asen Cont vs asen L9 6b'	1055,500	1,942	No
asen Cont vs asen L13 6b	1055,500	1,942	No
asen Cont vs asen L8 3b''	1048,500	1,929	No
asen Cont vs asen L9 6b	1008,000	1,855	No
asen Cont vs asen L13 2a	999,500	1,839	No
asen Cont vs asen L13 4b	983,000	1,809	No
asen Cont vs asin L5 2b	977,000	1,798	No
asen Cont vs asen L11 6b	952,500	1,753	No

asen Cont vs asen L15 2a	941,000	1,732	No
asen Cont vs asin L4 2a	922,500	1,698	No
asen Cont vs asen L11 2b	914,000	1,682	No
asen Cont vs asin L5 2a	846,500	1,558	No
asen Cont vs asen L8 3a''''	702,000	1,292	No
asen Cont vs asin L1 2a	649,500	1,195	No
asen Cont vs asin L2 2a	602,500	1,109	No
asen Cont vs asen L15 6b	596,500	1,098	No
asen Cont vs asen L9 6b''''	596,500	1,098	No
asen Cont vs asin L4 2b	554,000	1,019	No
asen Cont vs asen L8 4a''	531,000	0,977	No
asen Cont vs asen L14 4a	502,000	0,924	No
asen Cont vs asen L8 3b''''	502,000	0,924	No
asen Cont vs asen L8 4b'	493,000	0,907	No
asen Cont vs asin L2 1b	483,000	0,889	No
asen Cont vs asen L14 6b	432,000	0,795	No
asen Cont vs asen L10 2b	429,500	0,790	No
asen Cont vs asin L1 2b	395,000	0,727	No
asen Cont vs asen L9 2a	334,000	0,615	No
asen Cont vs asen L15 2b	328,500	0,605	No
asen Cont vs asen L14 4b	323,000	0,594	No
asen Cont vs asin L13 1b	321,000	0,591	No
asen Cont vs asin L13 1a	319,000	0,587	No
asen Cont vs asin L12 1a	316,000	0,582	No
asen Cont vs asen L9 2b	279,000	0,513	No
asen Cont vs asin L11 1b	241,500	0,444	No
asen Cont vs asen L10 2a	236,500	0,435	No
asen Cont vs asin L14 1b	204,000	0,375	No
asen Cont vs asen L10 7b	154,000	0,283	No
asen Cont vs asen L10 7a	128,500	0,236	No
asen Cont vs asen L15 4b	120,500	0,222	No
asen Cont vs asin L4 3a	117,500	0,216	No
asen Cont vs asen L8 4a''''	114,000	0,210	No
asen Cont vs asen L9 6a	105,000	0,193	No
asen Cont vs asin L3 5	99,000	0,182	No
asen Cont vs asin L8 5a	96,500	0,178	No
asen Cont vs asen L8 4b''	94,000	0,173	No
asen Cont vs asin L5 3a	88,000	0,162	No
asen Cont vs asin L1 3b	66,500	0,122	No
asen Cont vs asin L2 3b	55,500	0,102	No
asen Cont vs asin L15 1b	53,500	0,0985	No
asen Cont vs asin L1 3a	38,000	0,0699	No

Note: The multiple comparisons on ranks do not include an adjustment for ties.

Comparación entre las diluciones 1:100 de los filtrados de cada una de las cepas fúngicas respecto del control aisladas a partir de los productos longaniza

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Failed (P < 0,050)

Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

Group	N	Missing	Median	25%	75%
asen Cont	6	0	1,333	1,326	1,571
asin L1 3a	6	0	1,463	1,322	1,571
asin L1 3b	6	0	1,366	1,351	1,571
asin L2 3a	6	0	1,363	1,345	1,387
asin L2 3b	6	0	1,375	1,318	1,571
asin L3 3a	6	0	1,366	1,345	1,571
asin L3 3b	6	0	1,333	1,326	1,571
asin L4 3a	6	0	1,348	1,333	1,571
asin L4 3b	6	0	1,466	1,351	1,571
asin L5 3a	6	0	1,360	1,318	1,571
asin L5 3b	6	0	1,368	1,310	1,571
asin L6 1a	6	0	1,381	1,318	1,571
asin L6 1b	6	0	1,368	1,356	1,571
asin L7 1a	6	0	1,463	1,333	1,571
asin L7 1b	6	0	1,372	1,356	1,387
asin L8 1a	6	0	1,373	1,345	1,571
asin L8 1b	6	0	1,463	1,339	1,571
asin L9 1a	6	0	1,368	1,295	1,571
asin L9 1b	6	0	1,368	1,310	1,571
asin L10 1a	6	0	1,356	1,345	1,381
asin L10 1b	6	0	1,375	1,351	1,571
asin L1 2a	6	0	1,358	1,333	1,384
asin L1 2b	6	0	1,319	1,295	1,351
asin L2 2a	6	0	1,357	1,290	1,571
asin L2 2b	6	0	1,389	1,381	1,571
asin L3 2a	6	0	1,308	1,257	1,365
asin L3 2b	6	0	1,348	1,257	1,571
asin L4 2a	6	0	1,344	1,305	1,361
asin L4 2b	6	0	1,328	1,295	1,351
asin L5 2a	6	0	1,325	1,257	1,345
asin L5 2b	6	0	1,261	1,217	1,571
asin L3 6	6	0	1,369	1,345	1,571
asin L11 1a	6	0	1,365	1,345	1,571
asin L11 1b	6	0	1,345	1,265	1,571
asin L12 1a	6	0	1,367	1,249	1,390
asin L12 1b	6	0	1,348	1,339	1,390
asin L13 1a	6	0	1,350	1,305	1,387
asin L13 1b	6	0	1,365	1,318	1,384
asin L14 1a	6	0	1,389	1,381	1,571
asin L14 1b	6	0	1,353	1,339	1,571
asin L15 1a	6	0	1,368	1,339	1,571
asin L15 1b	6	0	1,351	1,339	1,571
asin L8 5a	6	0	1,351	1,345	1,373
asin L8 5b	6	0	1,345	1,265	1,571

asin L13 5	6	0	1,358	1,350	1,571
asen L6 2a	6	0	1,351	1,284	1,377
asen L6 2b	6	0	1,317	1,271	1,339
asen L7 2a	6	0	1,328	1,278	1,351
asen L7 2b	6	0	1,289	1,257	1,310
asen L8 2a	6	0	1,336	1,249	1,351
asen L8 2b	6	0	1,325	1,201	1,345
asen L9 2a	6	0	1,353	1,318	1,571
asen L9 2b	6	0	1,348	1,326	1,571
asen L10 2a	6	0	1,356	1,326	1,571
asen L10 2b	6	0	1,350	1,249	1,571
asen L8 3a	6	0	1,329	1,284	1,571
asen L8 3b	6	0	1,311	1,271	1,338
asen L8 3a´	6	0	1,290	1,277	1,332
asen L8 3b´	6	0	1,290	1,256	1,309
asen L8 3a´´	6	0	1,326	1,200	1,345
asen L8 3b´´	6	0	1,261	1,217	1,571
asen L8 3a´´´	6	0	1,356	1,339	1,571
asen L8 3b´´´	6	0	1,339	1,305	1,345
asen L8 3a´´´´	6	0	1,336	1,295	1,345
asen L8 3b´´´´	6	0	1,463	1,322	1,571
asen L8 4a	6	0	1,289	1,256	1,309
asen L8 4b	6	0	1,326	1,200	1,345
asen L8 4a´	6	0	1,352	1,350	1,571
asen L8 4b´	6	0	1,358	1,345	1,387
asen L8 4a´´	6	0	1,355	1,338	1,571
asen L8 4b´´	6	0	1,357	1,332	1,383
asen L8 4a´´´	6	0	1,373	1,355	1,571
asen L8 4b´´´	6	0	1,365	1,351	1,381
asen L8 4a´´´´	6	0	1,367	1,309	1,571
asen L8 4b´´´´	6	0	1,335	1,249	1,350
asen L9 6a	6	0	1,357	1,256	1,571
asen L9 6b	6	0	1,307	1,256	1,571
asen L9 6a´	6	0	1,329	1,271	1,345
asen L9 6b´	6	0	1,341	1,319	1,571
asen L9 6a´´	6	0	1,316	1,231	1,350
asen L9 6b´´	6	0	1,335	1,249	1,359
asen L9 6a´´´	6	0	1,326	1,200	1,345
asen L9 6b´´´	6	0	1,353	1,350	1,571
asen L9 6a´´´´	6	0	1,465	1,350	1,571
asen L9 6b´´´´	6	0	1,357	1,338	1,383
asen L10 7a	6	0	1,368	1,345	1,384
asen L10 7b	6	0	1,475	1,257	1,571
asen L11 2a	6	0	1,367	1,257	1,384
asen L11 2b	6	0	1,361	1,351	1,377
asen L12 2a	6	0	1,300	1,278	1,339
asen L12 2b	6	0	1,351	1,305	1,365
asen L13 2a	6	0	1,351	1,326	1,571
asen L13 2b	6	0	1,367	1,257	1,384
asen L14 2a	6	0	1,349	1,284	1,381
asen L14 2b	6	0	1,351	1,305	1,571
asen L15 2a	6	0	1,339	1,300	1,345
asen L15 2b	6	0	1,365	1,339	1,571
asen L11 4a	6	0	1,329	1,284	1,571
asen L11 4b	6	0	1,309	1,271	1,333
asen L12 4a	6	0	1,290	1,278	1,333
asen L12 4b	6	0	1,289	1,257	1,326
asen L13 4a	6	0	1,325	1,201	1,345
asen L13 4b	6	0	1,261	1,217	1,571
asen L14 4a	6	0	1,356	1,339	1,571

asen L14 4a	6	0	1,356	1,339	1,571
asen L15 4a	6	0	1,353	1,351	1,571
asen L15 4b	6	0	1,371	1,356	1,384
asen L11 6a	6	0	1,316	1,271	1,338
asen L11 6b	6	0	1,335	1,295	1,345
asen L12 6a	6	0	1,290	1,257	1,309
asen L12 6b	6	0	1,314	1,277	1,345
asen L13 6a	6	0	1,342	1,325	1,364
asen L13 6b	6	0	1,352	1,325	1,571
asen L14 6a	6	0	1,321	1,257	1,383
asen L14 6b	6	0	1,348	1,284	1,377
asen L15 6a	6	0	1,353	1,350	1,571
asen L15 6b	6	0	1,465	1,350	1,571
asen L1 1a	6	0	1,328	1,278	1,351
asen L1 1b	6	1	1,278	1,216	1,315
asen L2 1a	6	0	1,336	1,249	1,351
asen L2 1b	6	0	1,325	1,201	1,345
asen L3 1a	6	0	1,317	1,300	1,339
asen L3 1b	6	0	1,290	1,278	1,333
asen L4 1a	6	0	1,289	1,257	1,310
asen L4 1b	6	0	1,325	1,201	1,345
asen L5 1a	6	0	1,261	1,217	1,571
asen L5 1b	6	0	1,356	1,339	1,571

H = 177,938 with 126 degrees of freedom. (P = 0,002)

The differences in the median values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = 0,002)

To isolate the group or groups that differ from the others use a multiple comparison procedure.

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparison	Diff of Ranks	Q	P<0,05
asen L9 6a'''' vs asen Cont	132,500	1,036	Do Not Test
asen L15 6b vs asen Cont	132,500	1,036	Do Not Test
asin L10 1b vs asen Cont	128,083	1,001	Do Not Test
asin L4 3b vs asen Cont	123,083	0,962	Do Not Test
asin L7 1b vs asen Cont	121,667	0,951	Do Not Test
asen L8 4a''' vs asen Cont	117,167	0,916	Do Not Test
asin L2 2b vs asen Cont	112,667	0,881	Do Not Test
asin L14 1a vs asen Cont	112,667	0,881	Do Not Test
asen L15 4b vs asen Cont	112,500	0,879	Do Not Test
asin L1 3b vs asen Cont	109,583	0,857	Do Not Test
asin L6 1b vs asen Cont	102,417	0,801	Do Not Test
asin L8 1b vs asen Cont	101,250	0,792	Do Not Test
asin L3 3a vs asen Cont	101,083	0,790	Do Not Test
asin L7 1a vs asen Cont	100,083	0,782	Do Not Test
asin L8 1a vs asen Cont	94,500	0,739	Do Not Test
asen L10 7a vs asen Cont	90,583	0,708	Do Not Test
asin L3 6 vs asen Cont	89,000	0,696	Do Not Test
asin L1 3a vs asen Cont	88,750	0,694	Do Not Test
asen L8 3b'''' vs asen Cont	88,750	0,694	Do Not Test
asin L11 1a vs asen Cont	88,750	0,694	Do Not Test
asen L8 4b''' vs asen Cont	86,000	0,672	Do Not Test
asen L15 2b vs asen Cont	85,083	0,665	Do Not Test
asin L10 1a vs asen Cont	73,250	0,573	Do Not Test
asin L13 5 vs asen Cont	69,333	0,542	Do Not Test

asen L5 1b vs asen Cont	67,167	0,525	Do Not Test
asen L8 3a''' vs asen Cont	67,167	0,525	Do Not Test
asen L14 4a vs asen Cont	65,833	0,515	Do Not Test
asen L14 4a vs asen Cont	65,833	0,515	Do Not Test
asin L2 3a vs asen Cont	63,000	0,493	Do Not Test
asen L8 4b' vs asen Cont	59,417	0,464	Do Not Test
asin L2 3b vs asen Cont	56,667	0,443	Do Not Test
asen L8 4a'' vs asen Cont	56,417	0,441	Do Not Test
asen L11 2b vs asen Cont	53,000	0,414	Do Not Test
asin L6 1a vs asen Cont	50,417	0,394	Do Not Test
asin L15 1b vs asen Cont	49,750	0,389	Do Not Test
asen L10 7b vs asen Cont	49,667	0,388	Do Not Test
asin L15 1a vs asen Cont	49,083	0,384	Do Not Test
asen L15 4a vs asen Cont	45,167	0,353	Do Not Test
asin L5 3b vs asen Cont	42,583	0,333	Do Not Test
asin L9 1b vs asen Cont	42,583	0,333	Do Not Test
asin L1 2a vs asen Cont	42,333	0,331	Do Not Test
asen L13 2a vs asen Cont	41,833	0,327	Do Not Test
asen L13 6b vs asen Cont	41,833	0,327	Do Not Test
asen L9 6b'''' vs asen Cont	40,417	0,316	Do Not Test
asen L15 6a vs asen Cont	40,417	0,316	Do Not Test
asen L9 6b''' vs asen Cont	38,833	0,304	Do Not Test
asin L8 5a vs asen Cont	38,417	0,300	Do Not Test
asin L14 1b vs asen Cont	38,083	0,298	Do Not Test
asen L8 4a'''' vs asen Cont	35,500	0,278	Do Not Test
asin L4 3a vs asen Cont	34,417	0,269	Do Not Test
asin L5 3a vs asen Cont	33,667	0,263	Do Not Test
asen L8 4b'' vs asen Cont	30,167	0,236	Do Not Test
asin L12 1b vs asen Cont	25,917	0,203	Do Not Test
asen L9 2b vs asen Cont	19,250	0,150	Do Not Test
asen L9 2a vs asen Cont	15,333	0,120	Do Not Test
asin L2 2a vs asen Cont	12,833	0,100	Do Not Test
asen L9 6b' vs asen Cont	9,833	0,0769	Do Not Test
asen L14 2b vs asen Cont	1,417	0,0111	Do Not Test
asin L3 3b vs asen Cont	0,000	0,000	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 4a	261,833	2,047	Do Not Test
asen Cont vs asen L1 1b	259,017	1,931	Yes
asen Cont vs asen L8 3b'	259,000	2,025	Do Not Test
asen Cont vs asen L12 6a	255,500	1,997	Do Not Test
asen Cont vs asen L4 1a	253,417	1,981	Do Not Test
asen Cont vs asen L7 2b	252,583	1,975	Do Not Test
asen Cont vs asen L12 4b	246,667	1,928	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 3a'	221,500	1,732	Do Not Test
asen Cont vs asen L3 1b	211,167	1,651	Do Not Test
asen Cont vs asen L11 4b	208,083	1,627	Do Not Test
asen Cont vs asen L12 4a	204,333	1,597	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 3b	146,583	1,146	Do Not Test
asen Cont vs asen L9 6a'	142,333	1,113	Do Not Test
asen Cont vs asen L11 6a	141,750	1,108	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 4b''''	140,417	1,098	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 3a''	140,000	1,094	Do Not Test
asen Cont vs asen L9 6a'''	140,000	1,094	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 4b	140,000	1,094	Do Not Test
asen Cont vs asen L9 6a''	138,750	1,085	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 2b	137,250	1,073	Do Not Test
asen Cont vs asen L2 1b	137,250	1,073	Do Not Test
asen Cont vs asen L13 4a	137,250	1,073	Do Not Test
asen Cont vs asen L4 1b	137,250	1,073	Do Not Test
asen Cont vs asin L5 2b	136,750	1,069	Do Not Test
asen Cont vs asen L5 1a	136,750	1,069	Do Not Test

asen Cont vs asen L13 4b	136,750	1,069	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 3b''	136,750	1,069	Do Not Test
asen Cont vs asen L12 2a	134,917	1,055	Do Not Test
asen Cont vs asen L6 2b	134,000	1,048	Do Not Test
asen Cont vs asen L2 1a	126,083	0,986	Do Not Test
asen Cont vs asin L1 2b	125,667	0,982	Do Not Test
asen Cont vs asen L9 6b''	125,667	0,982	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 2a	123,417	0,965	Do Not Test
asen Cont vs asin L5 2a	123,250	0,964	Do Not Test
asen Cont vs asen L2 6b	121,083	0,947	Do Not Test
asen Cont vs asen L11 6b	115,667	0,904	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 3a''''	110,333	0,863	Do Not Test
asen Cont vs asen L3 1a	108,917	0,851	Do Not Test
asen Cont vs asen L15 2a	100,917	0,789	Do Not Test
asen Cont vs asin L3 2a	94,583	0,739	Do Not Test
asen Cont vs asen L1 1a	94,167	0,736	Do Not Test
asen Cont vs asen L7 2a	94,167	0,736	Do Not Test
asen Cont vs asen L9 6b	77,250	0,604	Do Not Test
asen Cont vs asin L4 2b	69,917	0,547	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 3b''''	67,500	0,528	Do Not Test
asen Cont vs asen L14 6a	66,500	0,520	Do Not Test
asen Cont vs asen L8 3a	64,500	0,504	Do Not Test
asen Cont vs asen L11 4a	58,167	0,455	Do Not Test
asen Cont vs asen L13 6a	51,833	0,405	Do Not Test
asen Cont vs asen L2 2b	30,167	0,236	Do Not Test
asen Cont vs asen L14 6b	26,667	0,208	Do Not Test
asen Cont vs asin L3 2b	22,917	0,179	Do Not Test
asen Cont vs asin L8 5b	21,750	0,170	Do Not Test
asen Cont vs asin L11 1b	21,750	0,170	Do Not Test
asen Cont vs asen L62a	20,417	0,160	Do Not Test
asen Cont vs asen L9 6a	20,250	0,158	Do Not Test
asen Cont vs asin L4 2a	19,917	0,156	Do Not Test
asen Cont vs asen L10 2b	19,667	0,154	Do Not Test
asen Cont vs asen L14 2a	18,500	0,145	Do Not Test
asen Cont vs asen L13 2b	7,417	0,0580	Do Not Test
asen Cont vs asin L12 1a	1,250	0,00977	Do Not Test
asen Cont vs asen L11 2a	0,417	0,00326	Do Not Test

Note: The multiple comparisons on ranks do not include an adjustment for ties.

A result of "Do Not Test" occurs for a comparison when no significant difference is found between the two rank sums that enclose that comparison. For example, if you had four rank sums sorted in order, and found no significant difference between rank sums 4 vs. 2, then you would not test 4 vs. 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1 and 3 vs. 1 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not testing the enclosed rank sums is a procedural rule, and a result of Do Not Test should be treated as if there is no significant difference between the rank sums, even though one may appear to exist.

10.4.4- Evaluación de la capacidad toxicogénica de las cepas fúngicas aisladas a partir de los productos chacarero frente a *A.salina* (% sobrevivencia)

C1 1a	<i>P.vanluykii</i>	NT		C1 1b	<i>P.vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	94,7	96,2	88,0		94,4	100,0	92,0		
	90,5	96,3	88,9		95,7	95,2	95,0		
	100,0	89,7	90,5		96,3	93,3	89,5		
	95,2	100,0	91,3		95,5	96,6	91,3		
	100,0	95,8	94,7		100,0	93,1	95,5		
	95,0	95,2	90,9		96,6	96,2	85,7		
	P	95,9	95,5		90,7	P	96,4	95,7	91,5
	DS	3,3	3,0		2,1	DS	1,7	2,3	3,3
C2 1a	<i>P.vanluykii</i>	NT		C2 1b	<i>P.vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,2	94,1	90,0		100,0	100,0	91,3		
	96,4	100,0	95,2		90,5	95,2	88,9		
	100,0	93,5	86,4		93,8	95,8	90,5		
	95,2	100,0	95,0		95,0	95,8	88,2		
	91,7	96,0	91,3		94,4	94,1	94,7		
	100,0	93,9	91,7		100,0	91,7	90,5		
	P	96,4	96,3		91,6	P	95,6	95,4	90,7
	DS	2,9	2,7		3,0	DS	3,4	2,5	2,1
C3 1a	<i>P.vanluykii</i>	NT		C3 1b	<i>P.vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	90,5	94,4	85,7		90,9	95,7	92,0		
	100,0	100,0	91,7		95,5	95,0	87,5		
	93,3	90,5	90,0		100,0	90,9	95,5		
	95,5	91,7	90,5		93,3	96,4	91,3		
	96,8	100,0	94,7		100,0	96,0	84,2		
	100,0	95,5	90,9		96,4	100,0	90,5		
	P	96,0	95,3		90,6	P	96,0	95,7	90,2
	DS	3,4	3,7		2,7	DS	3,3	2,7	3,5
C4 1a	<i>P.vanluykii</i>	NT		C4 1b	<i>P.vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	100,0	90,5	94,7		96,7	90,5	92,0		
	100,0	100,0	88,9		100,0	95,8	90,5		
	95,5	95,2	92,0		93,1	92,9	89,5		
	93,9	100,0	89,5		95,5	96,3	91,3		
	100,0	94,7	90,5		95,7	100,0	91,7		
	93,8	95,7	88,2		95,0	95,8	87,0		
	P	97,2	96,0		90,6	P	96,0	95,2	90,3
	DS	2,9	3,3		2,2	DS	2,1	3,0	1,7
C5 1a	<i>P.vanluykii</i>	NT		C5 1b	<i>P.vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,7	96,0	89,5		95,0	90,5	93,1		
	100,0	95,8	91,3		95,5	95,0	89,3		
	96,3	96,4	91,7		100,0	100,0	85,0		
	95,7	96,6	95,0		94,7	100,0	88,5		
	96,6	92,0	91,3		96,4	95,5	94,4		
	95,2	100,0	87,0		94,7	92,0	92,9		
	P	96,6	96,1		91,0	P	96,1	95,5	90,5
	DS	1,6	2,3		2,4	DS	1,9	3,6	3,3

NT: no tóxica

C1 2a	<i>P.vanluykii</i>	NT		C1 2b	<i>P.vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	90,0	100,0	85,7		100,0	95,7	87,0		
	100,0	100,0	91,7		95,5	95,0	87,5		
	93,8	95,2	96,7		100,0	100,0	95,5		
	97,1	95,8	85,7		93,3	96,4	92,3		
	95,7	92,6	94,7		95,5	91,7	94,7		
	100,0	95,5	86,4		96,4	100,0	90,5		
	P	96,1	96,5		90,1	P	96,8	96,5	91,2
	DS	3,5	2,7		4,5	DS	2,5	2,9	3,3
C2 2a	<i>P.vanluykii</i>	NT		C2 2b	<i>P.vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	100,0	95,2	94,7		96,7	95,7	92,0		
	100,0	100,0	89,3		100,0	95,2	90,5		
	95,5	90,5	92,0		96,6	92,9	84,2		
	93,9	96,2	90,5		95,0	96,3	91,3		
	100,0	100,0	90,5		95,7	96,2	91,7		
	94,4	95,7	89,5		95,5	95,8	91,3		
	P	97,3	96,3		91,1	P	96,6	95,3	90,2
	DS	2,7	3,2		1,9	DS	1,6	1,2	2,7
C3 2a	<i>P.vanluykii</i>	NT		C3 2b	<i>P.vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,0	100,0	95,5		95,5	100,0	92,9		
	100,0	95,8	88,5		94,7	95,8	92,0		
	95,5	92,3	86,7		100,0	92,6	93,1		
	96,8	92,6	91,7		93,3	95,2	89,5		
	100,0	95,5	88,9		100,0	96,6	85,0		
	93,8	100,0	95,0		100,0	95,7	91,7		
	P	96,8	96,0		91,0	P	97,3	96,0	90,7
	DS	2,4	3,1		3,3	DS	2,8	2,2	2,8
C4 2a	<i>P.vanluykii</i>	NT		C4 2b	<i>P.vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,5	100,0	92,0		90,9	95,7	92,0		
	100,0	90,9	87,0		95,5	100,0	95,8		
	90,9	95,7	95,0		100,0	90,9	90,9		
	92,6	96,3	90,9		93,3	96,4	88,0		
	96,4	94,7	89,5		100,0	96,0	84,2		
	100,0	95,8	85,7		96,4	100,0	90,5		
	P	95,9	95,6		90,0	P	96,0	96,5	90,2
	DS	3,4	2,7		3,1	DS	3,3	3,1	3,6
C5 2a	<i>P.vanluykii</i>	NT		C5 2b	<i>P.vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,0	100,0	100,0		100,0	95,2	86,4		
	95,5	91,7	89,5		96,6	100,0	85,0		
	96,4	92,6	86,4		95,2	96,0	95,5		
	95,5	96,3	87,0		94,7	92,9	91,3		
	94,7	96,6	87,5		100,0	96,0	89,5		
	100,0	96,2	92,0		95,8	96,4	96,3		
	P	96,2	95,5		90,4	P	97,1	96,1	90,6
	DS	1,8	2,8		4,7	DS	2,2	2,1	4,2

NT: no tóxica

C1 4a	<i>P.vanluykii</i>	NT		C1 4b	<i>P.vanluykii</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	100,0	93,9	91,3		90,5	90,0	90,9
	95,2	96,3	81,5		100,0	96,2	92,0
	100,0	90,5	90,5		95,0	90,5	85,7
	95,2	100,0	95,2		95,2	100,0	90,5
	94,7	95,8	89,5		100,0	95,8	91,7
	95,2	100,0	95,7		95,2	100,0	89,5
	P	96,7	96,1		90,6	P	96,0
DS	2,3	3,3	4,7	DS	3,3	4,0	2,1
C2 4a	<i>P.vanluykii</i>	NT		C2 4b	<i>P.vanluykii</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	95,0	90,5	86,4		95,0	100,0	89,5
	100,0	96,2	88,0		100,0	95,8	92,6
	90,0	93,1	95,2		94,1	92,3	89,5
	100,0	100,0	90,5		93,3	93,1	90,9
	91,3	95,7	91,7		88,9	95,5	92,0
	95,2	94,7	89,5		100,0	95,8	88,0
	P	95,3	95,0		90,2	P	95,2
DS	3,8	2,9	2,8	DS	3,9	2,5	1,6
C3 4a	<i>P.vanluykii</i>	NT		C3 4b	<i>P.vanluykii</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	95,0	91,3	90,0		95,2	100,0	92,0
	100,0	95,8	92,3		100,0	95,7	88,0
	94,4	92,6	94,7		95,7	95,0	100,0
	93,1	96,6	90,9		93,5	100,0	86,4
	100,0	95,5	92,0		100,0	93,1	85,7
	90,5	100,0	83,3		94,7	90,5	88,9
	P	95,5	95,3		90,5	P	96,5
DS	3,5	2,8	3,5	DS	2,5	3,5	4,8
C4 4a	<i>P.vanluykii</i>	NT		C4 4b	<i>P.vanluykii</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	100,0	90,9	95,5		100,0	94,4	95,7
	100,0	100,0	88,5		95,2	95,2	88,9
	95,5	100,0	93,1		90,9	96,7	90,0
	93,8	93,1	87,5		95,5	96,6	90,5
	100,0	95,5	94,1		94,7	93,1	94,7
	93,8	95,8	85,0		100,0	100,0	81,8
	P	97,2	95,9		90,6	P	96,1
DS	2,9	3,3	3,8	DS	3,2	2,2	4,5
C5 4a	<i>P.vanluykii</i>	NT		C5 4b	<i>P.vanluykii</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	100,0	95,2	95,5		100,0	94,1	88,2
	92,9	100,0	85,0		90,5	100,0	85,2
	100,0	91,3	96,7		95,5	90,5	90,5
	95,7	100,0	85,2		100,0	90,0	90,0
	94,7	96,2	94,1		94,7	100,0	94,7
	95,5	95,7	88,9		95,2	95,7	91,3
	P	96,5	96,4		90,9	P	96,0
DS	2,7	3,0	4,8	DS	3,3	4,0	2,9

NT: no tóxica

C1 6a	<i>P.vanluykii</i>	NT		C1 6b	<i>P.vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,7	94,4	92,3		95,0	100,0	94,7		
	90,0	95,5	92,6		95,2	94,4	88,9		
	96,2	93,3	90,5		94,7	93,1	88,0		
	90,0	90,6	92,0		100,0	96,0	89,5		
	96,8	100,0	86,4		96,8	91,7	90,5		
	100,0	96,0	87,0		93,1	92,0	88,2		
	P	94,8	95,0		90,1	P	95,8	94,5	90,0
	DS	3,6	2,8		2,5	DS	2,2	2,8	2,3
C2 6a	<i>P.vanluykii</i>	NT		C2 6b	<i>P.vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,5	100,0	92,0		90,9	95,7	92,0		
	100,0	90,9	87,0		95,5	100,0	95,8		
	90,9	95,7	95,0		100,0	90,9	90,9		
	92,6	96,3	90,9		93,3	96,4	88,0		
	96,4	94,7	89,5		100,0	96,0	84,2		
	100,0	95,8	85,7		96,4	100,0	90,5		
	P	95,9	95,6		90,0	P	96,0	96,5	90,2
	DS	3,4	2,7		3,1	DS	3,3	3,1	3,6
C3 6a	<i>P.vanluykii</i>	NT		C3 6b	<i>P.vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	94,1	100,0	94,7		96,4	91,7	92,0		
	95,2	93,5	88,8		100,0	96,8	83,3		
	100,0	91,7	87,5		96,6	92,0	94,7		
	100,0	97,1	89,5		94,4	97,1	95,0		
	93,8	100,0	90,5		96,2	96,3	91,3		
	100,0	94,7	95,0		95,2	100,0	88,0		
	P	97,2	96,2		91,0	P	96,5	95,6	90,7
	DS	2,8	3,2		2,9	DS	1,8	2,9	4,1
C4 6a	<i>P.vanluykii</i>	NT		C4 6b	<i>P.vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	92,9	95,8	96,3		96,0	100,0	90,9		
	94,7	96,8	95,8		94,7	92,6	90,9		
	100,0	92,0	89,5		100,0	95,6	92,3		
	96,6	100,0	87,0		90,4	93,1	93,3		
	100,0	95,7	84,0		96,5	93,8	90,3		
	96,4	100,0	88,0		100,0	100,0	85,2		
	P	96,8	96,7		90,1	P	96,3	95,8	90,5
	DS	2,6	2,8		4,5	DS	3,3	3,1	2,6
C5 6a	<i>P.vanluykii</i>	NT		C5 6b	<i>P.vanluykii</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	94,4	95,0	95,7		96,8	94,7	94,1		
	95,4	100,0	87,5		100,0	100,0	90,5		
	100,0	91,3	85,7		88,5	92,6	92,6		
	100,0	100,0	93,1		96,4	100,0	84,8		
	96,3	93,3	93,1		100,0	95,5	95,5		
	96,0	95,6	88,4		96,7	95,2	88,5		
	P	97,0	95,9		90,6	P	96,4	96,3	91,0
	DS	2,2	3,2		3,6	DS	3,9	2,8	3,6

NT: no tóxica

C4 3a	<i>P.nalgiovense</i>	NT		C4 3b	<i>P.nalgiovense</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	94,1	96,4	89,5		96,2	100,0	92,0
	100,0	93,5	88,9		95,5	96,7	82,6
	95,2	100,0	88,5		96,4	95,8	86,4
	100,0	93,9	89,5		94,4	97,1	100,0
	94,7	100,0	85,7		100,0	96,2	92,3
	100,0	95,0	100,0		95,2	90,5	88,0
P	97,3	96,5	90,3	P	96,3	96,0	90,2
DS	2,7	2,6	4,5	DS	1,8	2,8	5,5
C4 3a'	<i>P.nalgiovense</i>	NT		C4 3b'	<i>P.nalgiovense</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	91,3	96,0	90,9		95,0	95,2	90,0
	100,0	100,0	90,0		95,5	95,2	87,5
	93,8	90,5	85,0		100,0	95,7	85,2
	96,2	100,0	92,6		92,0	100,0	100,0
	100,0	94,1	95,0		96,3	93,3	89,7
	95,0	94,7	87,5		95,7	95,5	88,5
P	96,0	95,9	90,2	P	95,7	95,8	90,1
DS	3,2	3,4	3,3	DS	2,3	2,0	4,7
C4 3a''	<i>P.nalgiovense</i>	NT		C4 3b''	<i>P.nalgiovense</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	95,2	100,0	93,3		100,0	100,0	93,8
	100,0	95,2	95,7		90,5	90,9	90,5
	95,5	100,0	84,0		95,0	96,0	88,5
	93,3	96,2	83,3		90,9	95,2	96,4
	94,1	95,0	91,3		94,7	96,0	88,0
	100,0	96,2	95,2		100,0	96,2	85,0
P	96,4	97,1	90,5	P	95,2	95,7	90,4
DS	2,7	2,1	5,0	DS	3,8	2,6	3,8
C4 3a'''	<i>P.nalgiovense</i>	NT		C4 3b'''	<i>P.nalgiovense</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	100,0	90,9	96,9		100,0	95,2	90,6
	95,7	95,7	83,3		96,4	100,0	95,5
	96,2	100,0	93,1		96,2	95,0	100,0
	90,0	94,4	89,3		90,0	94,7	87,5
	100,0	95,8	85,0		94,4	95,8	85,7
	94,4	100,0	95,2		100,0	100,0	83,3
P	96,0	96,1	90,5	P	96,2	96,8	90,4
DS	3,4	3,2	5,0	DS	3,4	2,3	5,7
C4 3a''''	<i>P.nalgiovense</i>	NT		C4 3b''''	<i>P.nalgiovense</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	100,0	94,4	89,7		100,0	100,0	96,2
	96,2	100,0	87,0		95,7	100,0	84,0
	100,0	95,7	96,0		100,0	95,5	85,7
	90,9	100,0	81,8		95,0	100,0	83,3
	95,8	96,3	87,0		95,7	95,2	90,9
	95,2	95,8	100,0		100,0	96,0	100,0
P	96,4	97,0	90,2	P	97,7	97,8	90,0
DS	3,1	2,2	6,1	DS	2,3	2,2	6,3

NT: no tóxica

C5 7a	<i>P.nalgiovense</i>	DT		C5 7b	<i>P.nalgiovense</i>	DT	
		Filt. 1/100	Filt. 1/50			Filt. 1/100	Filt. 1/50
	100,0	95,0	82,4		78,9	86,4	81,0
	91,7	100,0	78,1		91,7	88,0	75,9
	92,6	89,5	70,8		92,9	91,3	71,4
	95,5	90,0	82,1		90,5	94,1	82,1
	94,4	93,3	80,0		93,3	93,3	88,9
	94,7	73,3	77,3		94,4	91,7	81,8
P	94,8	90,2	78,5	P	90,3	90,8	80,2
DS	2,7	8,3	3,9	DS	5,2	2,8	5,4

DT : débilmente tóxica

C6 2a	<i>T. amestolkiae</i>	NT		C6 2b	<i>T. amestolkiae</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	95,2	100,0	91,3		95,0	94,1	92,0
	100,0	90,5	85,2		100,0	100,0	90,9
	95,0	96,7	100,0		90,0	90,6	85,7
	95,2	93,1	86,4		100,0	100,0	90,5
	100,0	100,0	89,5		95,7	92,3	91,7
	95,2	96,2	91,3		95,2	96,8	94,7
	P	96,8	96,1		90,6	P	96,0
DS	2,3	3,4	4,8	DS	3,4	3,6	2,7
C7 2a	<i>T. amestolkiae</i>	NT		C7 2b	<i>T. amestolkiae</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	95,0	95,0	90,9		95,0	94,7	89,5
	95,2	95,5	96,0		100,0	100,0	88,9
	94,1	93,5	85,7		94,4	92,6	89,5
	93,3	95,8	90,5		96,6	100,0	90,9
	100,0	100,0	91,7		94,4	95,5	92,0
	100,0	93,9	89,5		95,2	95,2	92,0
	P	96,3	95,6		90,7	P	95,9
DS	2,7	2,1	3,0	DS	1,9	2,8	1,2
C8 2a	<i>T. amestolkiae</i>	NT		C8 2b	<i>T. amestolkiae</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	95,2	92,9	87,0		100,0	88,2	88,9
	100,0	96,3	96,2		100,0	100,0	96,3
	95,7	90,5	89,5		95,5	96,8	81,8
	93,5	95,0	86,4		93,8	100,0	95,0
	100,0	100,0	92,0		100,0	96,0	87,0
	94,7	95,7	91,7		93,8	93,9	95,8
	P	96,5	95,0		90,4	P	97,2
DS	2,5	2,9	3,3	DS	2,9	4,0	5,4
C9 2a	<i>T. amestolkiae</i>	NT		C9 2b	<i>T. amestolkiae</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	100,0	100,0	95,5		95,5	100,0	88,0
	95,2	100,0	95,0		100,0	95,8	88,9
	95,5	95,2	93,3		93,1	92,0	90,5
	100,0	95,0	81,5		95,7	96,4	91,3
	94,7	96,0	88,2		96,6	92,0	89,5
	95,2	91,7	88,9		95,2	96,2	95,5
	P	96,8	96,3		90,4	P	96,0
DS	2,3	2,9	4,9	DS	2,1	2,8	2,4
C10 2a	<i>T. amestolkiae</i>	NT		C10 2b	<i>T. amestolkiae</i>	NT	
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10
	100,0	94,7	96,0		100,0	94,4	95,5
	100,0	95,5	90,0		90,5	96,3	85,0
	95,5	100,0	89,5		90,9	90,5	93,3
	93,9	96,2	91,3		100,0	100,0	88,9
	96,3	100,0	95,5		100,0	90,0	88,2
	95,0	95,7	82,6		95,2	100,0	88,9
	P	96,8	97,0		90,8	P	96,1
DS	2,4	2,2	4,4	DS	4,2	4,0	3,5

NT: no tóxica

C6 6a	<i>T. amestolkiae</i>	NT		C6 6b	<i>T. amestolkiae</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,0	94,1	95,5		96,7	95,0	86,4		
	95,5	95,8	89,5		100,0	95,7	90,0		
	96,4	92,6	90,9		95,2	96,0	89,5		
	100,0	96,3	91,3		95,5	96,3	91,3		
	94,7	93,1	87,5		95,7	96,0	95,5		
	96,6	100,0	92,0		95,8	96,4	96,0		
	P	96,4	95,3		91,1	P	96,5	95,9	91,4
	DS	1,8	2,5		2,4	DS	1,6	0,5	3,4
C7 6a	<i>T. amestolkiae</i>	NT		C7 6b	<i>T. amestolkiae</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	100,0	92,6	94,7		95,5	90,9	88,2		
	90,5	100,0	85,2		100,0	95,8	92,6		
	95,5	90,5	85,7		93,1	100,0	86,4		
	100,0	100,0	90,5		95,7	96,4	95,0		
	100,0	96,0	95,2		96,6	96,0	91,3		
	95,2	100,0	91,3		95,2	96,2	91,7		
	P	96,9	96,5		90,4	P	96,0	95,9	90,9
	DS	3,5	3,8		3,9	DS	2,1	2,6	2,8
C8 6a	<i>T. amestolkiae</i>	NT		C8 6b	<i>T. amestolkiae</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	100,0	94,7	94,7		100,0	94,4	84,2		
	100,0	95,5	88,5		95,0	96,3	88,9		
	95,5	95,2	93,5		90,9	90,5	90,5		
	93,9	96,2	89,5		100,0	100,0	95,8		
	96,3	100,0	95,2		94,4	95,0	94,7		
	95,0	95,7	85,7		95,2	100,0	90,5		
	P	96,8	96,2		91,2	P	95,9	96,0	90,8
	DS	2,4	1,7		3,5	DS	3,2	3,3	3,8
C9 6a	<i>T. amestolkiae</i>	NT		C9 6b	<i>T. amestolkiae</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,2	94,1	92,3		95,0	100,0	94,7		
	100,0	100,0	92,6		94,7	94,4	88,9		
	100,0	93,5	90,5		94,7	93,1	88,0		
	90,0	90,6	92,0		100,0	96,0	89,5		
	96,8	100,0	90,5		96,8	95,8	90,5		
	96,2	96,0	91,3		96,6	92,0	88,2		
	P	96,4	95,7		91,5	P	96,3	95,2	90,0
	DS	3,4	3,4		0,8	DS	1,9	2,6	2,3
C10 6a	<i>T. amestolkiae</i>	NT		C10 6b	<i>T. amestolkiae</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	96,3	96,8	96,3		96,0	100,0	92,3		
	94,7	91,7	87,5		93,8	93,8	81,8		
	100,0	100,0	84,2		96,6	95,8	88,0		
	96,7	94,3	87,0		100,0	93,5	100,0		
	95,7	91,3	96,0		95,7	95,7	88,9		
	93,1	100,0	90,5		93,3	92,0	90,9		
	P	96,1	95,7		90,2	P	95,9	95,1	90,3
	DS	2,1	3,6		4,6	DS	2,2	2,5	5,4

NT: no tóxica

C9 3	<i>T. amestolkiae</i>	NT		C9 4	<i>T. amestolkiae</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,5	100,0	95,2		95,0	95,5	89,5		
	100,0	88,5	88,9		95,2	95,8	92,6		
	90,9	100,0	90,0		94,7	92,3	89,5		
	100,0	95,0	90,5		93,3	100,0	90,9		
	89,5	95,8	86,4		100,0	95,5	92,0		
	100,0	91,7	91,3		100,0	91,7	88,0		
	P	96,0	95,2		90,4	P	96,4	95,1	90,4
	DS	4,4	4,2		2,7	DS	2,6	2,7	1,6
C13 4	<i>P. paneum</i>	DT		c14 5	<i>P. paneum</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,2	95,0	81,0		96,7	100,0	87,5		
	93,1	100,0	71,4		92,9	95,8	80,0		
	100,0	92,9	86,1		100,0	92,9	74,1		
	95,2	91,7	78,9		95,5	100,0	84,0		
	91,7	87,1	85,7		95,7	92,6	73,7		
	85,2	80,0	84,0		95,0	96,0	86,4		
	P	93,4	91,1		81,2	P	95,9	96,2	80,9
	DS	4,5	6,3		5,0	DS	2,1	3,0	5,5
C15 6	<i>P. glabrum</i>	NT		C8 5	<i>C. cladosporioides</i>	NT			
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10		
	95,8	95,5	89,5		95,4	91,7	89,2		
	95,2	95,8	92,3		94,7	100,0	88,0		
	95,0	96,2	90,0		100,0	96,3	93,1		
	92,9	100,0	90,9		93,3	95,2	94,7		
	100,0	90,5	91,7		100,0	93,1	90,0		
	95,7	95,5	87,0		100,0	100,0	87,5		
	P	95,8	95,6		90,2	P	97,2	96,0	90,4
	DS	2,1	2,8		1,7	DS	2,8	3,2	2,6
Control									
	Filt. 1/100	Filt. 1/50	Filt. 1/10						
	88,9	100,0	95,5						
	100,0	100,0	85,0						
	100,0	91,7	93,3						
	93,8	92,3	92,6						
	94,4	89,5	88,2						
	100,0	100,0	88,9						
	P	96,2	95,6	90,6					
	DS	4,2	4,5	3,5					

NT: no tóxica

DT: débilmente tóxica

Comparación entre las diluciones 1:10 de los filtrados de cada una de las cepas fúngicas respecto del control aisladas a partir de los productos chacarero

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Failed (P < 0,050)

Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

Group	N	Missing	Median	25%	75%
asen Cont	6	0	1,263	1,221	1,310
asin C6 2a	6	0	1,256	1,193	1,271
asin C6 2b	6	0	1,271	1,257	1,284
asin C7 2a	6	0	1,261	1,240	1,278
asin C7 2b	6	0	1,252	1,240	1,284
asin C8 2a	6	0	1,259	1,201	1,284
asin C8 2b	6	0	1,288	1,201	1,365
asin C9 2a	6	0	1,270	1,221	1,345
asin C9 2b	6	0	1,249	1,231	1,271
asin C10 2a	6	0	1,260	1,240	1,356
asin C10 2b	6	0	1,231	1,221	1,310
asin C1 4a	6	0	1,264	1,240	1,351
asin C1 4b	6	0	1,261	1,240	1,278
asin C2 4a	6	0	1,249	1,217	1,278
asin C2 4b	6	0	1,252	1,240	1,284
asin C3 4a	6	0	1,274	1,249	1,290
asin C3 4b	6	0	1,224	1,193	1,284
asin C4 4a	6	0	1,265	1,209	1,326
asin C4 4b	6	0	1,253	1,231	1,339
asin C5 4a	6	0	1,278	1,176	1,356
asin C5 4b	6	0	1,253	1,221	1,271
asin C1 1a	6	0	1,261	1,231	1,271
asin C1 1b	6	0	1,278	1,240	1,345
asin C2 1a	6	0	1,275	1,249	1,345
asin C2 1b	6	0	1,257	1,231	1,271
asin C3 1a	6	0	1,261	1,249	1,278
asin C3 1b	6	0	1,264	1,209	1,284
asin C4 1a	6	0	1,249	1,231	1,284
asin C4 1b	6	0	1,264	1,240	1,278
asin C5 1a	6	0	1,271	1,240	1,278
asin C5 1b	6	0	1,269	1,224	1,305
asin C1 6a	6	0	1,271	1,201	1,290
asin C1 6b	6	0	1,236	1,221	1,257
asin C2 6a	6	0	1,252	1,201	1,284
asin C2 6b	6	0	1,261	1,217	1,284
asin C3 6a	6	0	1,249	1,230	1,338
asin C3 6b	6	0	1,278	1,217	1,339
asin C4 6a	6	0	1,229	1,201	1,365
asin C4 6b	6	0	1,264	1,254	1,290
asin C5 6a	6	0	1,264	1,209	1,305
asin C5 6b	6	0	1,276	1,224	1,326
asin C9 4	6	0	1,252	1,240	1,284
asin C15 6	6	0	1,257	1,240	1,278
asin C6 6a	6	0	1,268	1,240	1,284

asin C6 6b	6	0	1,260	1,240	1,356
asin C7 6a	6	0	1,264	1,183	1,339
asin C7 6b	6	0	1,275	1,221	1,295
asin C8 6a	6	0	1,277	1,224	1,339
asin C8 6b	6	0	1,257	1,231	1,339
asin C9 6a	6	0	1,278	1,257	1,290
asin C9 6b	6	0	1,236	1,221	1,257
asin C10 6a	6	0	1,233	1,201	1,369
asin C10 6b	6	0	1,248	1,217	1,290
asin C1 2a	6	0	1,235	1,183	1,339
asin C1 2b	6	0	1,273	1,209	1,339
asin C2 2a	6	0	1,257	1,240	1,284
asin C2 2b	6	0	1,271	1,257	1,278
asin C3 2a	6	0	1,254	1,224	1,345
asin C3 2b	6	0	1,281	1,240	1,300
asin C4 2a	6	0	1,252	1,201	1,284
asin C4 2b	6	0	1,261	1,217	1,284
asin C5 2a	6	0	1,225	1,201	1,284
asin C5 2b	6	0	1,256	1,193	1,356
asin C9 3	6	0	1,253	1,231	1,271
asin C4 3a	6	0	1,236	1,224	1,240
asin C4 3b	6	0	1,251	1,193	1,290
asin C4 3a´	6	0	1,257	1,209	1,295
asin C4 3b´	6	0	1,234	1,209	1,249
asin C4 3a´´	6	0	1,291	1,159	1,351
asin C4 3b´´	6	0	1,241	1,217	1,318
asin C4 3a´´´	6	0	1,271	1,173	1,351
asin C4 3b´´´	6	0	1,235	1,183	1,356
asin C4 3a´´´´	6	0	1,222	1,201	1,369
asin C4 3b´´´´	6	0	1,224	1,159	1,373
asin C8 5	6	0	1,242	1,217	1,305
asin C14 5	6	0	1,133	1,037	1,193
asin C5 7a	6	0	1,096	1,074	1,135
asin C5 7b	6	0	1,125	1,057	1,135
asin C13 4	6	0	1,139	1,094	1,183

H = 67,167 with 78 degrees of freedom. (P = 0,804)

The differences in the median values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0,804)

Comparación entre las diluciones 1:50 de los filtrados de cada una de las cepas fúngicas respecto del control aisladas a partir de los productos chacarero

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Failed (P < 0,050)

Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

Group	N	Missing	Median	25%	75%
asen Cont	6	0	1,430	1,278	1,571
asin C1 4a	6	0	1,371	1,322	1,571
asin C1 4b	6	0	1,369	1,257	1,571
asin C2 4a	6	0	1,350	1,305	1,373
asin C2 4b	6	0	1,361	1,305	1,365
asin C3 4a	6	0	1,361	1,295	1,384
asin C3 4b	6	0	1,353	1,305	1,571
asin C4 4a	6	0	1,361	1,305	1,571
asin C4 4b	6	0	1,367	1,333	1,387
asin C5 4a	6	0	1,367	1,351	1,571
asin C5 4b	6	0	1,343	1,257	1,571
asin C1 1a	6	0	1,369	1,351	1,377
asin C1 1b	6	0	1,362	1,310	1,384
asin C2 1a	6	0	1,348	1,322	1,571
asin C2 1b	6	0	1,358	1,326	1,365
asin C3 1a	6	0	1,344	1,278	1,571
asin C3 1b	6	0	1,365	1,345	1,381
asin C4 1a	6	0	1,356	1,339	1,571
asin C4 1b	6	0	1,365	1,300	1,377
asin C5 1a	6	0	1,375	1,365	1,384
asin C5 1b	6	0	1,351	1,284	1,571
asin C1 6a	6	0	1,344	1,310	1,369
asin C1 6b	6	0	1,319	1,284	1,369
asin C2 6a	6	0	1,363	1,339	1,377
asin C2 6b	6	0	1,375	1,361	1,571
asin C3 6a	6	0	1,369	1,313	1,571
asin C3 6b	6	0	1,384	1,284	1,398
asin C4 6a	6	0	1,378	1,361	1,571
asin C4 6b	6	0	1,339	1,305	1,571
asin C5 6a	6	0	1,352	1,309	1,571
asin C5 6b	6	0	1,353	1,339	1,571
asin C9 4	6	0	1,356	1,290	1,365
asin C15 6	6	0	1,361	1,356	1,373
asin C6 6a	6	0	1,346	1,305	1,377
asin C6 6b	6	0	1,369	1,361	1,377
asin C7 6a	6	0	1,470	1,295	1,571
asin C7 6b	6	0	1,371	1,365	1,381
asin C8 6a	6	0	1,358	1,351	1,373
asin C8 6b	6	0	1,361	1,333	1,571
asin C9 6a	6	0	1,348	1,314	1,571
asin C9 6b	6	0	1,349	1,305	1,369
asin C10 6a	6	0	1,360	1,278	1,571
asin C10 6b	6	0	1,339	1,314	1,365
asin C1 2a	6	0	1,361	1,351	1,571

asin C1 2b	6	0	1,371	1,345	1,571
asin C2 2a	6	0	1,367	1,351	1,571
asin C2 2b	6	0	1,363	1,351	1,373
asin C3 2a	6	0	1,361	1,295	1,571
asin C3 2b	6	0	1,363	1,351	1,384
asin C4 2a	6	0	1,363	1,339	1,377
asin C4 2b	6	0	1,375	1,361	1,571
asin C5 2a	6	0	1,375	1,295	1,384
asin C5 2b	6	0	1,369	1,351	1,381
asin C9 3	6	0	1,355	1,278	1,571
asin C8 5	6	0	1,364	1,305	1,571
asin C14 5	6	0	1,367	1,300	1,571
asin C4 3a	6	0	1,363	1,322	1,571
asin C4 3b	6	0	1,380	1,365	1,398
asin C4 3a'	6	0	1,354	1,326	1,571
asin C4 3b'	6	0	1,353	1,351	1,361
asin C4 3a''	6	0	1,373	1,351	1,571
asin C4 3b''	6	0	1,369	1,351	1,373
asin C4 3a'''	6	0	1,363	1,333	1,571
asin C4 3b'''	6	0	1,358	1,345	1,571
asin C4 3a''''	6	0	1,371	1,361	1,571
asin C4 3b''''	6	0	1,470	1,356	1,571
asin C6 2a	6	0	1,380	1,305	1,571
asin C6 2b	6	0	1,358	1,290	1,571
asin C7 2a	6	0	1,351	1,322	1,365
asin C7 2b	6	0	1,353	1,339	1,571
asin C8 2a	6	0	1,353	1,300	1,377
asin C8 2b	6	0	1,380	1,322	1,571
asin C9 2a	6	0	1,360	1,345	1,571
asin C9 2b	6	0	1,369	1,284	1,381
asin C10 2a	6	0	1,367	1,356	1,571
asin C10 2b	6	0	1,355	1,257	1,571
asen C5 7a	6	0	1,279	1,240	1,345
asen C5 7b	6	0	1,275	1,217	1,310
asen C13 4	6	0	1,289	1,203	1,345

H = 37,517 with 78 degrees of freedom. (P = 1,000)

The differences in the median values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 1,000)

Comparación entre las diluciones 1:100 de los filtrados de cada una de las cepas fúngicas respecto del control aisladas a partir de los productos chacarero

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Failed (P < 0,050)

Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

Group	N	Missing	Median	25%	75%
asen Cont	6	0	1,452	1,318	1,571
asin C6 2a	6	0	1,351	1,351	1,571
asin C6 2b	6	0	1,356	1,345	1,571
asin C7 2a	6	0	1,348	1,326	1,571
asin C7 2b	6	0	1,348	1,333	1,384
asin C8 2a	6	0	1,356	1,339	1,571
asin C8 2b	6	0	1,463	1,318	1,571
asin C9 2a	6	0	1,353	1,351	1,571
asin C9 2b	6	0	1,358	1,351	1,384
asin C10 2a	6	0	1,367	1,345	1,571
asin C10 2b	6	0	1,461	1,265	1,571
asin C1 4a	6	0	1,351	1,351	1,571
asin C1 4b	6	0	1,351	1,345	1,571
asin C2 4a	6	0	1,348	1,271	1,571
asin C2 4b	6	0	1,336	1,310	1,571
asin C3 4a	6	0	1,339	1,305	1,571
asin C3 4b	6	0	1,356	1,339	1,571
asin C4 4a	6	0	1,463	1,318	1,571
asin C4 4b	6	0	1,353	1,339	1,571
asin C5 4a	6	0	1,358	1,339	1,571
asin C5 4b	6	0	1,353	1,339	1,571
asin C1 1a	6	0	1,348	1,339	1,571
asin C1 1b	6	0	1,369	1,356	1,384
asin C2 1a	6	0	1,366	1,351	1,571
asin C2 1b	6	0	1,339	1,318	1,571
asin C3 1a	6	0	1,373	1,310	1,571
asin C3 1b	6	0	1,368	1,310	1,571
asin C4 1a	6	0	1,463	1,322	1,571
asin C4 1b	6	0	1,358	1,345	1,387
asin C5 1a	6	0	1,369	1,361	1,384
asin C5 1b	6	0	1,351	1,339	1,381
asin C1 6a	6	0	1,367	1,249	1,390
asin C1 6b	6	0	1,348	1,339	1,390
asin C2 6a	6	0	1,368	1,295	1,571
asin C2 6b	6	0	1,368	1,310	1,571
asin C3 6a	6	0	1,460	1,325	1,571
asin C3 6b	6	0	1,377	1,350	1,385
asin C4 6a	6	0	1,383	1,338	1,571
asin C4 6b	6	0	1,376	1,339	1,571
asin C5 6a	6	0	1,373	1,355	1,571
asin C5 6b	6	0	1,389	1,381	1,571
asin C9 4	6	0	1,348	1,339	1,571
asin C15 6	6	0	1,356	1,345	1,365
asin C6 6a	6	0	1,368	1,345	1,384

asin C6 6b	6	0	1,363	1,356	1,387
asin C7 6a	6	0	1,463	1,351	1,571
asin C7 6b	6	0	1,358	1,351	1,384
asin C8 6a	6	0	1,367	1,345	1,571
asin C8 6b	6	0	1,348	1,333	1,571
asin C9 6a	6	0	1,382	1,351	1,571
asin C9 6b	6	0	1,365	1,339	1,390
asin C10 6a	6	0	1,369	1,339	1,387
asin C10 6b	6	0	1,365	1,318	1,384
asin C9 3	6	0	1,463	1,265	1,571
asin C8 5	6	0	1,463	1,338	1,571
asin C14 5	6	0	1,358	1,345	1,387
asin C4 3a	6	0	1,461	1,339	1,571
asin C4 3b	6	0	1,365	1,351	1,381
asin C4 3a'	6	0	1,359	1,318	1,571
asin C4 3b'	6	0	1,358	1,345	1,377
asin C4 3a''	6	0	1,353	1,326	1,571
asin C4 3b''	6	0	1,342	1,265	1,571
asin C4 3a'''	6	0	1,367	1,333	1,571
asin C4 3b'''	6	0	1,377	1,333	1,571
asin C4 3a''''	6	0	1,369	1,351	1,571
asin C4 3b''''	6	0	1,466	1,361	1,571
asin C1 2a	6	0	1,381	1,318	1,571
asin C1 2b	6	0	1,368	1,356	1,571
asin C2 2a	6	0	1,463	1,333	1,571
asin C2 2b	6	0	1,372	1,356	1,387
asin C3 2a	6	0	1,373	1,345	1,571
asin C3 2b	6	0	1,463	1,339	1,571
asin C4 2a	6	0	1,368	1,295	1,571
asin C4 2b	6	0	1,368	1,310	1,571
asin C5 2a	6	0	1,356	1,345	1,381
asin C5 2b	6	0	1,375	1,351	1,571
asen C5 7a	6	0	1,336	1,295	1,356
asen C5 7b	6	0	1,289	1,257	1,310
asen C13 4	6	0	1,328	1,278	1,351

H = 32,964 with 78 degrees of freedom. (P = 1,000)

The differences in the median values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 1,000)

10.4.5-Patrones de banda obtenidos con los cinco marcadores RAMS utilizados

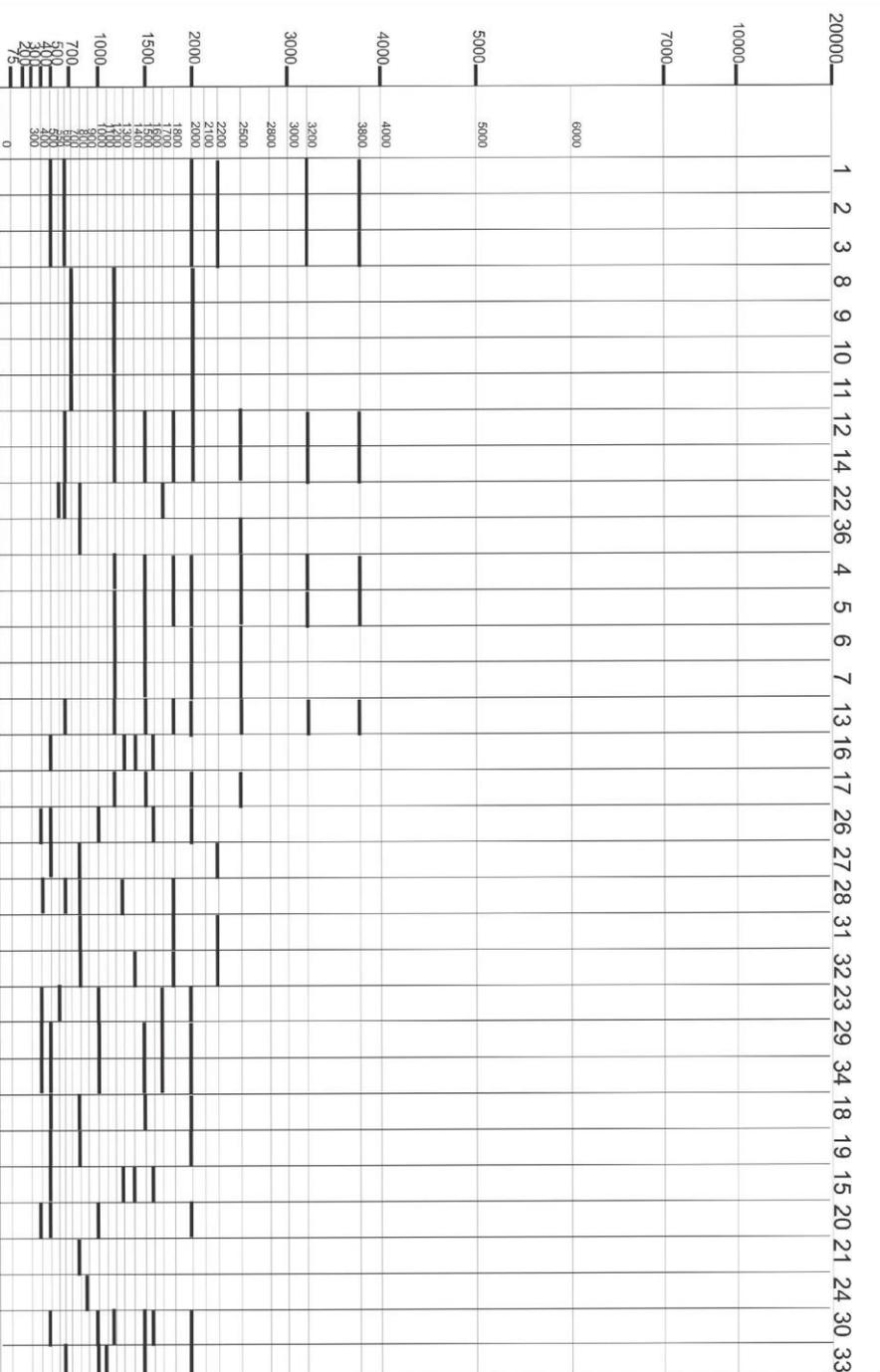


Fig. 11. Patrones de bandas obtenidos tras la amplificación del ADN genómico de los distintos aislamientos mediante el cebador CCA. En la representación gráfica, el carril de la izquierda corresponde al marcador de peso molecular. Cada columna representa un aislamiento cuyas referencias son las siguientes: *Penicillium vanlyukii* (Pv): S1 1a (1), L1 3a (2), C3 1a (3), S2 2a (8), S2 3a (9), C5 6a (10), S1 3a (11), C1 2b (12), C1 2a (14), L3 6 (22) y L2 1a (36); *Penicillium nalgiovense* (Pn): S12 1a (4), S1 2a (5), C3 3a (6), S1 4a (7), S7 3b (13), L1 1a (16), C1 3a (17), S11 5a (26), L6 2a (27), S6 1a (28), S11 4a (31) y C5 7b (32); *Penicillium polonicum* (Pp): L11 4a (23), L15 6b (29) y L8 3a (34); *Penicillium paneum* (Ppa): C13 4 (18) y S12 8a (19); *Penicillium glabrum* (Pg): C15 6 (21) y L1 2a (24); *Penicillium crustosum* (Pcr): S15 3a (15); *Penicillium coprophilum* (Pco): S15 7 (20); *Penicillium salami* (Ps): L1 2b (33) y *Talaromyces amestolkiae* (Ta): C6 2a (30).

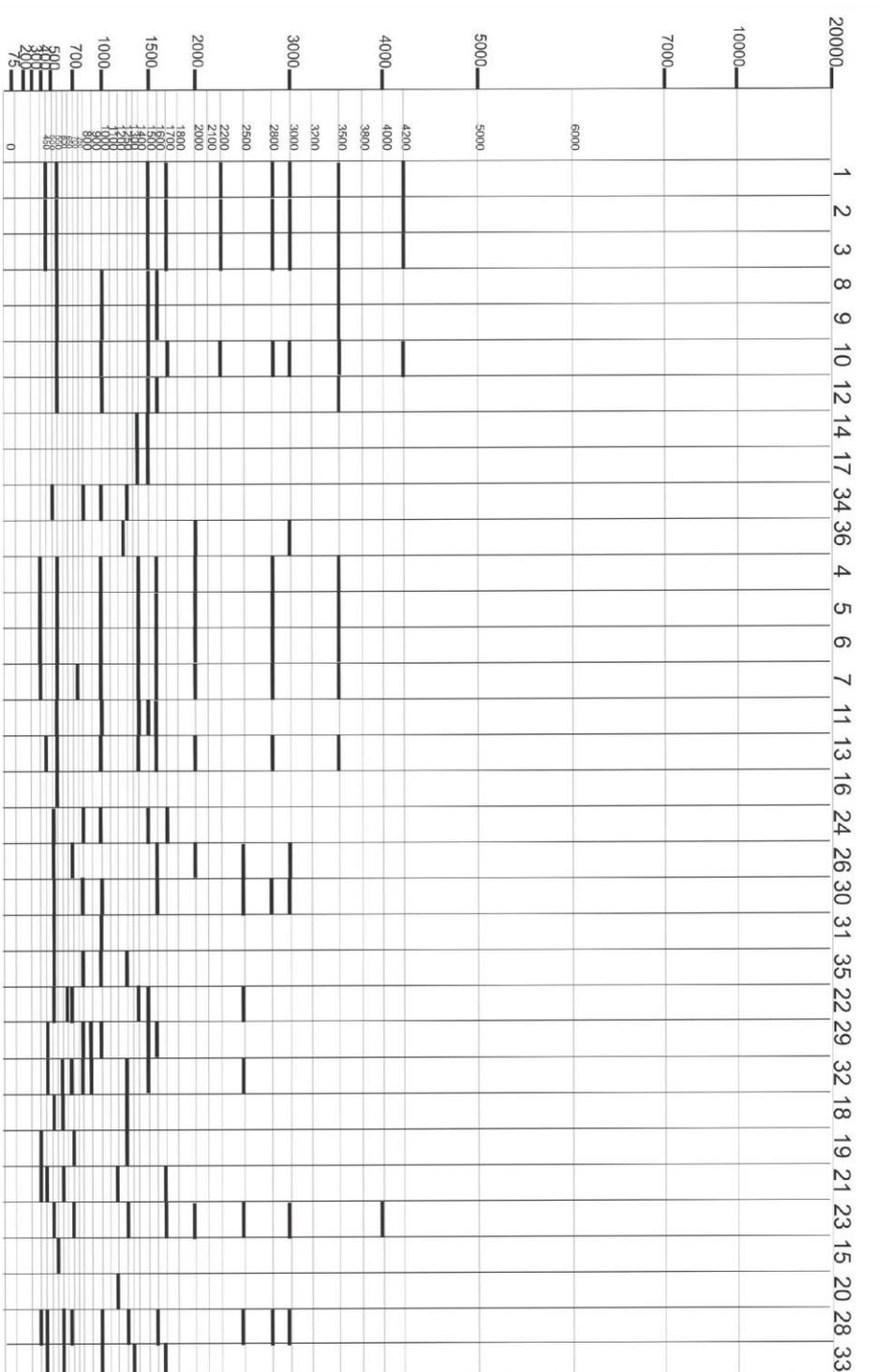


Fig. 12. Patrones de bandas obtenidos tras la amplificación del ADN genómico de los distintos aislamientos mediante el cebador CGA. En la representación gráfica, M corresponde al marcador de peso molecular. Cada columna representa un aislamiento cuyas referencias son las siguientes: *Penicillium vanlyukii* (Pv): S1 1a (1), L1 3a (2), C3 1a (3), S2 2a (8), S2 3a (9), C5 6a (10), S1 3a (12), C1 2a (14), C1 2b (17), L3 6 (34) y L2 1a (36); *Penicillium nidigiovense* (Pn): S12 1a (4), S11 2a (5), C3 3a (6), S1 4a (7), S6 1a (11), C1 3a (13), L11 1a (16), L6 2a (24), S11 5a (26), S11 4a (30), C5 7b (31) y S7 3b (35); *Penicillium polonicum* (Pp): L11 4a (22), L15 6b (29) y L8 3a (32); *Penicillium paneum* (Ppa): C13 4 (18) y S12 8a (19); *Penicillium glabrum* (Pg): C15 6 (21) y L1 2a (23); *Penicillium crustosum* (Pcr): S15 3a (15); *Penicillium coprophilum* (Pco): S15 7 (20); *Penicillium salamii* (Ps): L11 2b (33) y *Talaromyces amestolkiae* (Taj): C6 2a (28).

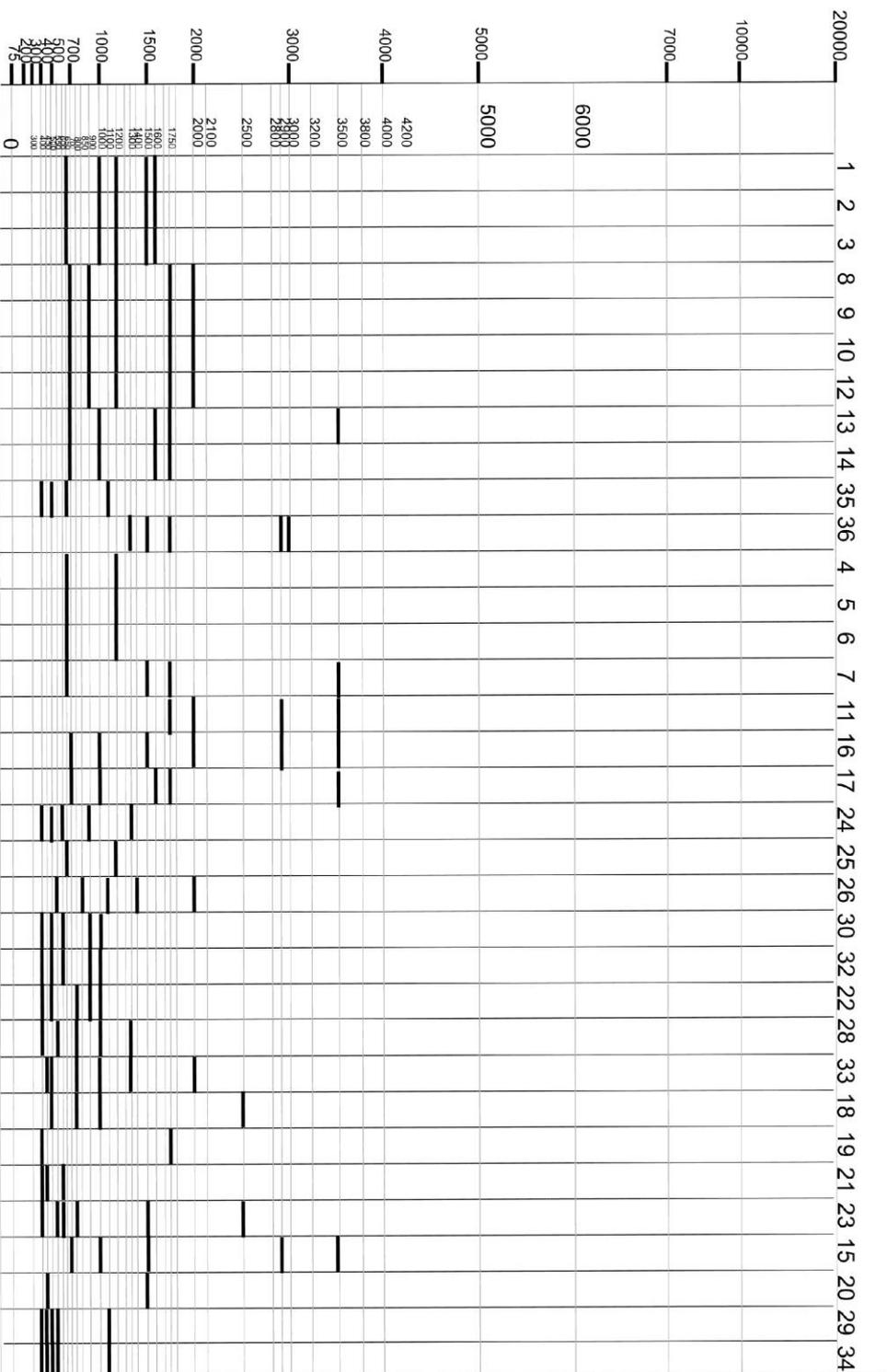


Fig. 13. Patrones de bandas obtenidos tras la amplificación del ADN genómico de los distintos aislamientos mediante el cebador (GACA)₄. En la representación gráfica, M corresponde al marcador de peso molecular. Cada columna representa un aislamiento cuyas referencias son las siguientes: *Penicillium vanliykiti* (Pv): S1 1a (1), L1 3a (2), C3 1a (3), S2 2a (8), S2 3a (9), C5 6a (10), S1 3a (12), C1 2b (13), C1 2a (14), L3 6 (35) y L2 1a (36); *Penicillium nalgiovense* (Pn): S12 1a (4), S11 2a (5), C3 3a (6), S2 4a (7), S6 1a (11), L11 1a (16), S7 3b (17), L6 2a (24), C1 3a (25), S11 5a (26), S11 4a (30) y C5 7b (32); *Penicillium polonicum* (Pp): L11 4a (22), L15 6b (28) y L8 3a (33); *Penicillium paneum* (Ppa): C13 4 (18) y S12 8a (19); *Penicillium glabrum* (Pg): C15 6 (21) y L1 2a (23); *Penicillium crustosum* (Pcr): S15 3a (15); *Penicillium coprophilum* (Pco): S15 7 (20); *Penicillium salamii* (Ps): L11 2b (34) y *Talaromyces amestolkiae* (Td): C6 2a (29).

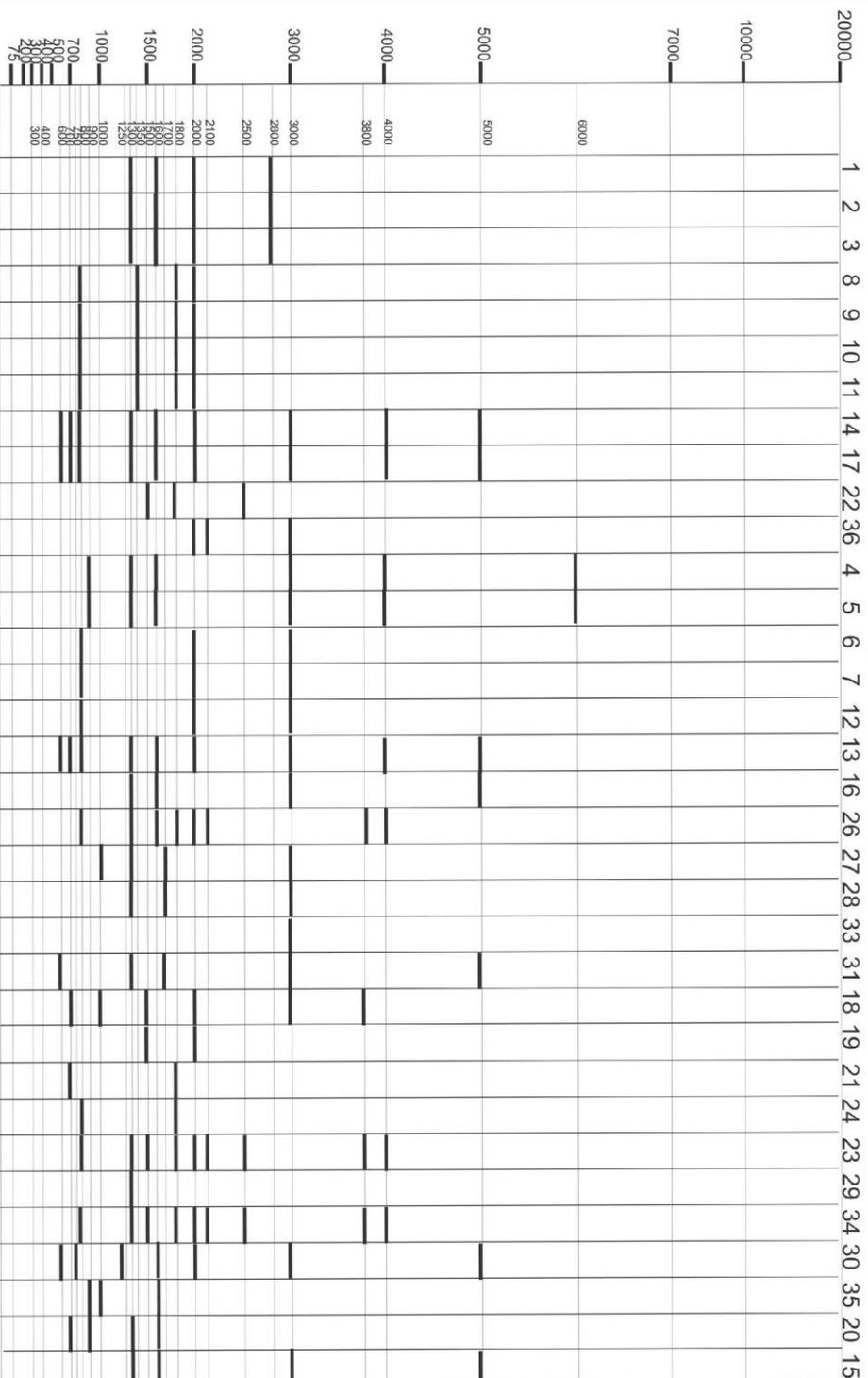


Fig. 14. Patrones de bandas obtenidos tras la amplificación del ADN genómico de los distintos aislamientos mediante el cebador GAG (CAA)₅. En la representación gráfica, M corresponde al marcador de peso molecular. Cada columna representa un aislamiento cuyas referencias son las siguientes: *Penicillium vanlyukii* (Pv): S1 1a (1), L1 3a (2), C3 1a (3), S2 2b (8), S2 3a (9), C5 6a (10), S1 3a (11), C1 2a (14), C1 2b (17), L3 6 (22) y L2 1a (36); *Penicillium nalgiovense* (Pn): S12 1a (4), S11 2a (5), C3 3a (6), S2 4a (7), C1 3a (12), S7 3b (13), L11 1a (16), S11 5a (26), L6 2a (27), S6 1a (28), S11 4a (31) y C5 7b (33); *Penicillium polonicum* (Pp): L11 4a (23), L15 6b (29) y L8 3a (34); *Penicillium paneum* (Ppa): C13 4 (18) y S12 8a (19); *Penicillium glabrum* (Pg): C15 6 (21) y L1 2a (24); *Penicillium crustosum* (Pcr): S15 3a (15); *Penicillium coprophilum* (Pco): S15 7 (20); *Penicillium salamii* (Ps): L11 2b (35) y *Talaromyces amestolkiae* (Ta): C6 2a (30).

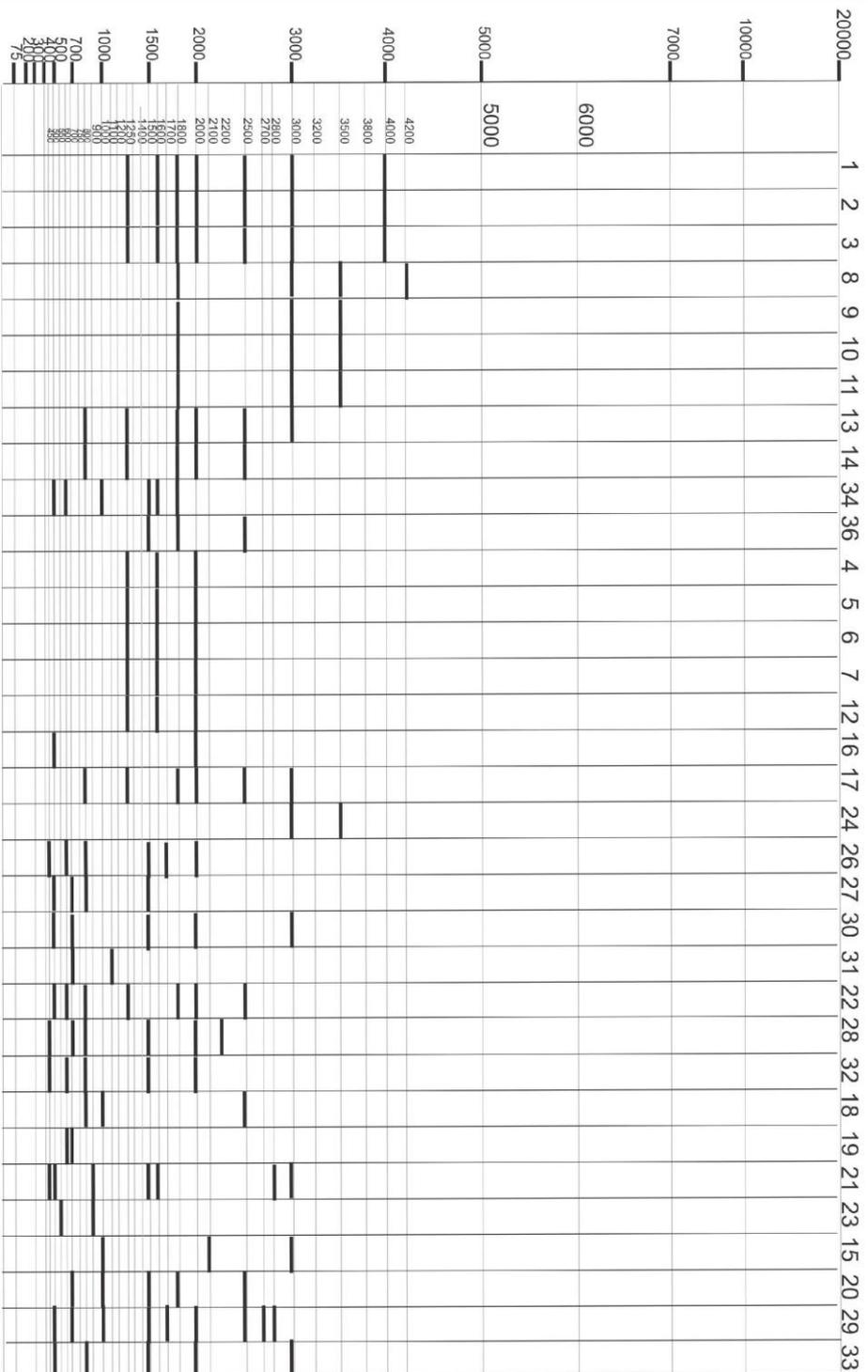


Fig. 15. Patrones de bandas obtenidos tras la amplificación del ADN genómico de los distintos aislamientos mediante el cebador (GTG)₅. En la representación gráfica, M corresponde al marcador de peso molecular. Cada columna representa un aislamiento cuyas referencias son las siguientes: *Penicillium vanliyktii* (Pv): S1 1a (1), L1 3a (2), C3 1a (3), S2 2a (8), S2 3a (9), C5 6a (10), S1 3a (11), C1 2b (13), C1 2a (14), L3 6 (34) y L2 1a (36); *Penicillium natigiovense* (Pn): S12 1a (4), S11 2a (5), C3 3a (6), S2 4a (7), C1 3a (12), L11 1a (16), S7 3b (17), L6 2a (24), S11 5a (26), S6 1a (27), S11 4a (30) y C5 7b (31); *Penicillium polonicum* (Pp): L11 4a (22), L15 6b (28) y L8 3a (32); *Penicillium paneum* (Ppa): C13 4 (18) y S12 8a (19); *Penicillium glabrum* (Pg): C15 6 (21) y L1 2a (23); *Penicillium crustosum* (Pcr): S15 3a (15); *Penicillium coprophilum* (Pco): S15 7 (20); *Penicillium salamii* (Ps): L11 2b (33) y *Talaromyces amestolkiae* (Td): C6 2a (29).

Tabla 25. Matriz de presencia-ausencia de las distintas bandas obtenidas con el marcador CGA

	A	1	2	3	8	9	10	12	14	17	34	36	4	5	6	7	11	13	16	24	26	30	31	35	22	29	32	18	19	21	23	15	20	28	33		
L																																					
4200		1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4000		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
3500		1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3000		1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	
2800		1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
2500		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
2200		1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2000		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
1700		1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0
1600		0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
1500		1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1400		0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1300		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1
1250		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
1200		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	
1000		0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
900		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
800		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
750		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
700		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0
650		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
600		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	
550		1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
500		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1
450		1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0

Aislamientos L= locus (pb)

A1, A2, A3, A8, A9, A10, A12, A14, A17, A34, A36: *P. vanluykii*
 A4, A5, A6, A7, A11, A13, A16, A24, A26, A30, A31, A35: *P. nalgiovense*
 A22, A29, A32: *P. polonicum*
 A18, A19: *P. paneum*

A15: *P. crustosum*
 A20: *P. coprophilum*
 A30: *T. amestolkiae*
 A33: *P. salamii*
 A21, A23: *P. glabrum*

Tabla 26. Matriz de presencia-ausencia de las distintas bandas obtenidas con el marcador (GACA)₄

	A	1	2	3	8	9	10	12	13	14	35	36	4	5	6	7	11	16	17	24	25	26	30	32	22	28	33	18	19	21	23	15	20	29	34		
L																																					
3500		0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
2900		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
2500		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	
2000		0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
1750		0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1600		1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1500		1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
1400		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1300		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1200		1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1100		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
1000		1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	
900		0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
850		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
800		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0
700		0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
650		1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
600		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
550		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1
500		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
450		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	
400		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	

A: aislamientos L = locus (pb)

A1, A2, A3, A8, A9, A10, A12, A13, A14, A35, A36: *P. vanluykii*
 A4, A5, A6, A7, A11, A16, A17, A24, A25, A26, A30, A32: *P. nalgiovense*
 A22, A28, A33: *P. polonicum*
 A18, A19: *P. paneum*
 A21, A23: *P. glabrum*
 A15: *P. crustosum*

A20: *P. coprophilum*
 A29: *T. amestolkiae*
 A34: *P. salamii*

Tabla 27. Matriz de presencia-ausencia de las distintas bandas obtenidas con el marcador GAG (CAA)₅

	A	1	2	3	8	9	10	11	14	17	22	36	4	5	6	7	12	13	16	26	27	28	31	33	23	29	34	18	19	21	24	15	20	30	35		
L																																					
6000		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
5000		0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	
4000		0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3800		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
3000		0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	
2800		1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2500		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
2100		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
2000		1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	
1800		0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0		
1700		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
1600		1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	
1500		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
1350		0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
1300		1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	
1250		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
1000		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
900		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	
800		0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
750		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
700		0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	
600		0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	

A= Aislamientos L= locus (pb)

A1, A2, A3, A8, A9, A10, A11, A14, A17, A22, A36: *P. vanluykii*
 A4, A5, A6, A7, A12, A13, A16, A26, A27, A28, A31, A33: *P. nalgiovense*
 A23, A29, A34: *P. polonicum*
 A18, A19: *P. paneum*
 A21, A24: *P. glabrum*
 A15: *P. crustosum*
 A20: *P. coprophilum*

A30: *T. amestolkiae*
 A35: *P. salamii*

Tabla 28. Matriz de presencia-ausencia de las distintas bandas obtenidas con el marcador (GTG)₅

	A	1	2	3	8	9	10	11	13	14	34	36	4	5	6	7	12	16	17	24	26	27	30	31	22	28	32	18	19	21	23	15	20	29	33		
L																																					
4200		0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4000		1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3500		0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3000		1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	
2800		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	
2700		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
2500		1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	
2200		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2000		1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	
1800		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
1700		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
1600		1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
1500		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1		
1250		1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
1100		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
1000		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	
900		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	
800		0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
700		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	
600		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
550		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
500		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	
450		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	

A= aislamientos L= locus (pb)

A1, A2, A3, A8, A9, A10, A11, A13, A14, A34, A36: *P. vanluykii*
 A4, A5, A6, A7, A12, A16, A17, A24, A26, A27, A30, A31: *P. nalgiovense*
 A22, A28, A32: *P. polonicum*
 A18, A19: *P. paneum*

A21, A23: *P. glabrum*
 A15: *P. crustosum*
 A20: *P. coprophilum*
 A29: *T. amestolkiae*

A33: *P. salamii*

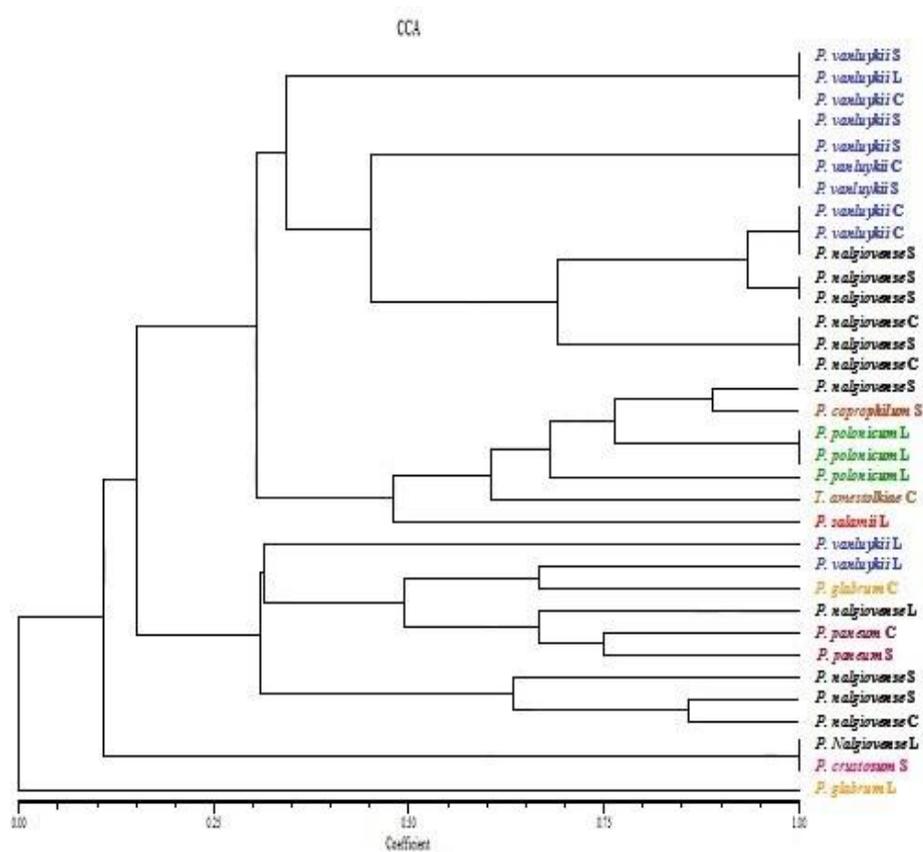


Fig. 16. Dendrograma generado por la amplificación de los 34 aislamientos pertenecientes al género *Penicillium* y *Talaromyces* con el cebador CCA. Las letras C, L y S que se encuentran al lado del nombre de los distintos aislamientos, corresponden a las iniciales de los productos cárnicos fermentados a partir de los cuales fueron aislados (chacarero, longaniza y salamin).

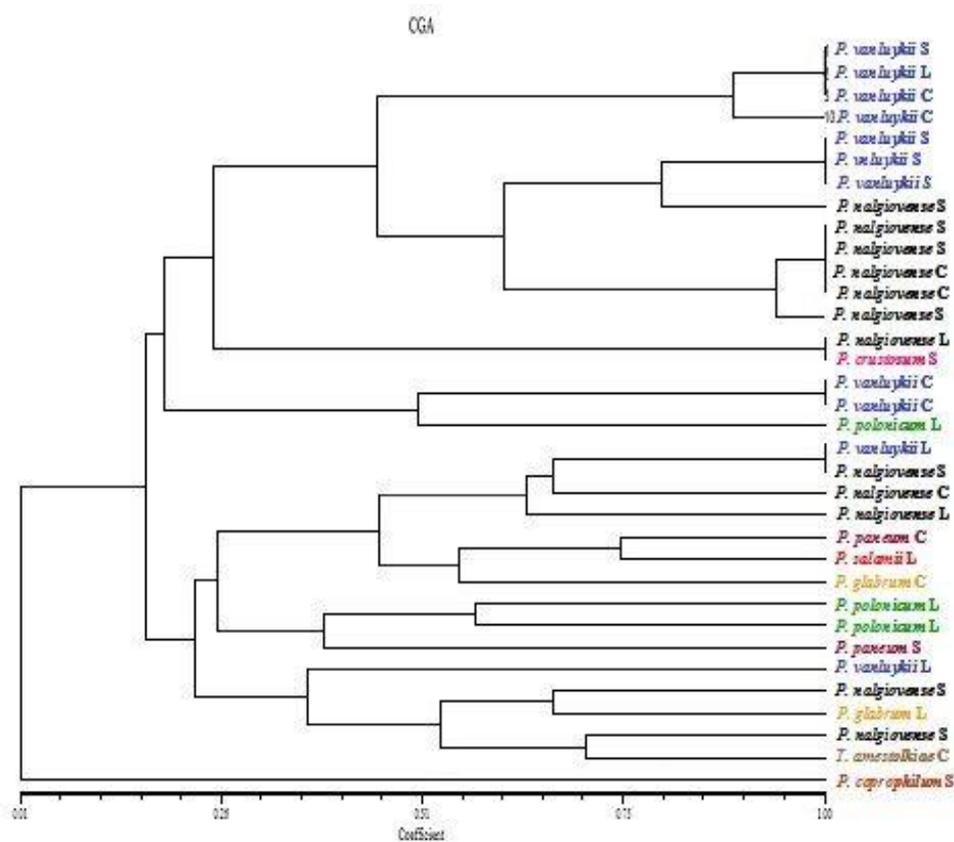


Fig. 17. Dendrograma generado por la amplificación de los 34 aislamientos pertenecientes al género *Penicillium* y *Talaromyces* con el cebador CGA. Las letras C, L y S que se encuentran al lado del nombre de los distintos aislamientos, corresponden a las iniciales de los productos cárnicos fermentados a partir de los cuales fueron aislados (chacarero, longaniza y salamin).

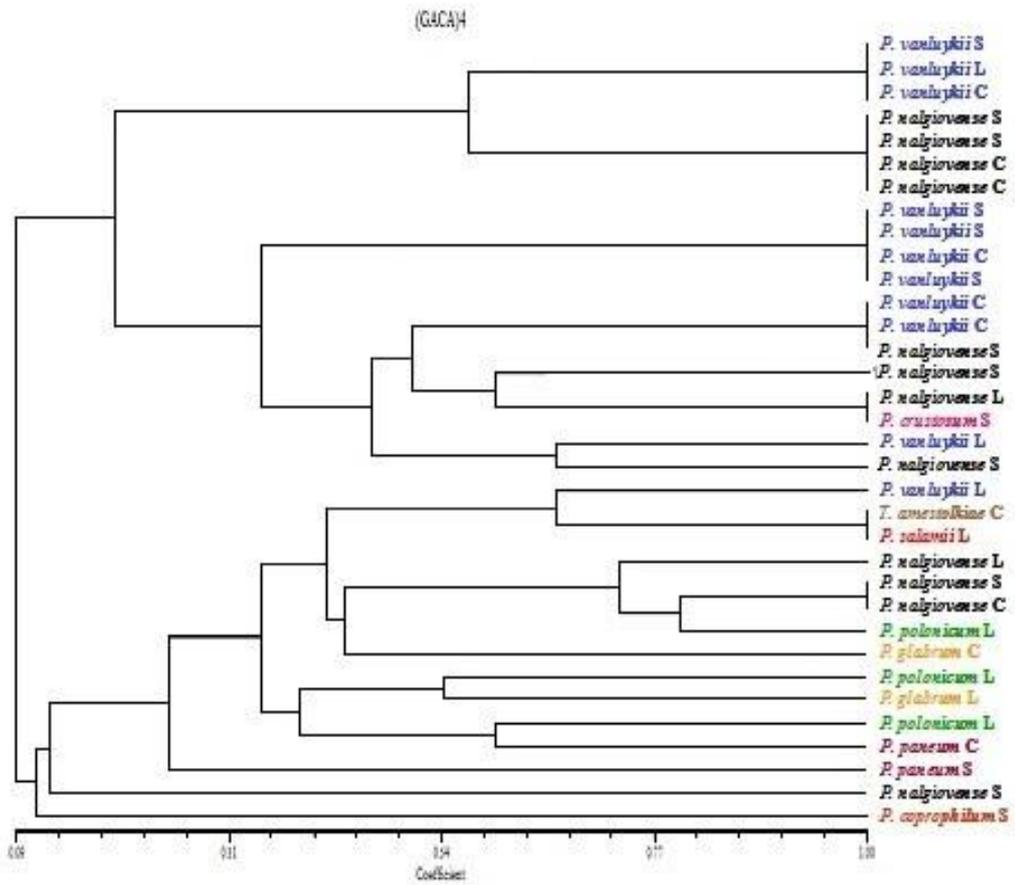


Fig. 18. Dendrograma generado por la amplificación de los 34 aislamientos pertenecientes al género *Penicillium* y *Talaromyces* con el cebador (GACA)₄. Las letras C, L y S que se encuentran al lado del nombre de los distintos aislamientos, corresponden a las iniciales de los productos cárnicos fermentados a partir de los cuales fueron aislados (chacarero, longaniza y salamin).

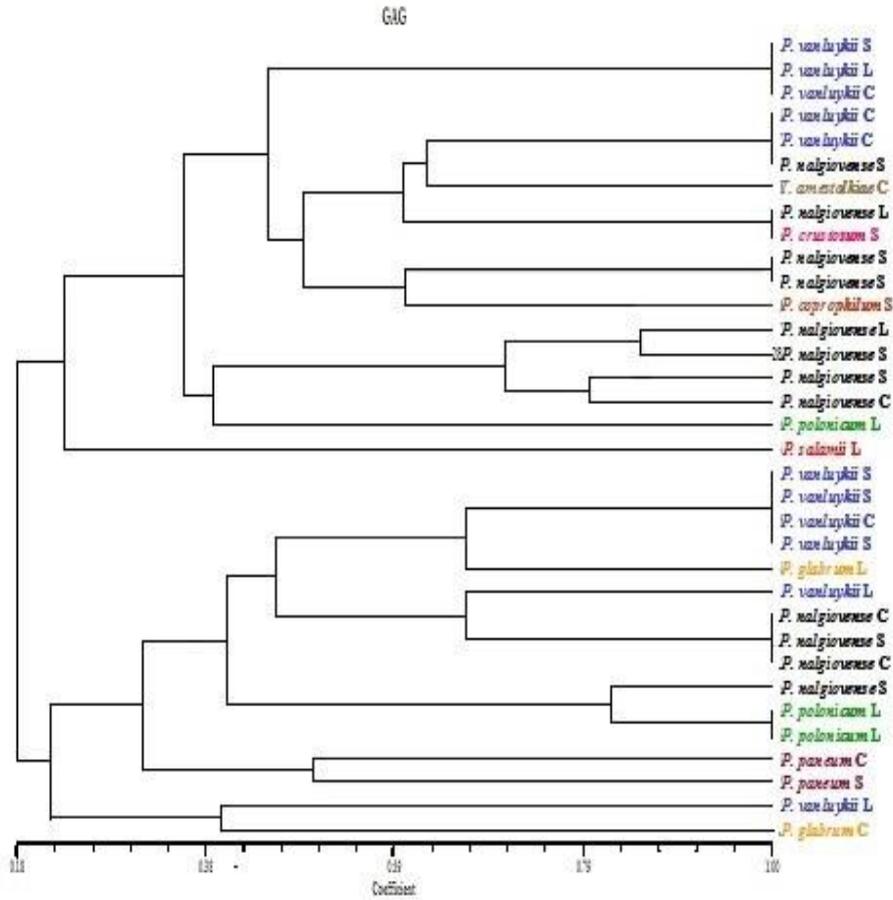


Fig. 19. Dendrograma generado por la amplificación de los 34 aislamientos pertenecientes al género *Penicillium* y *Talaromyces* con el cebador GAG (CAA)₅. Las letras C, L y S que se encuentran al lado del nombre de los distintos aislamientos, corresponden a las iniciales de los productos cárnicos fermentados a partir de los cuales fueron aislados (chacarero, longaniza y salamín).

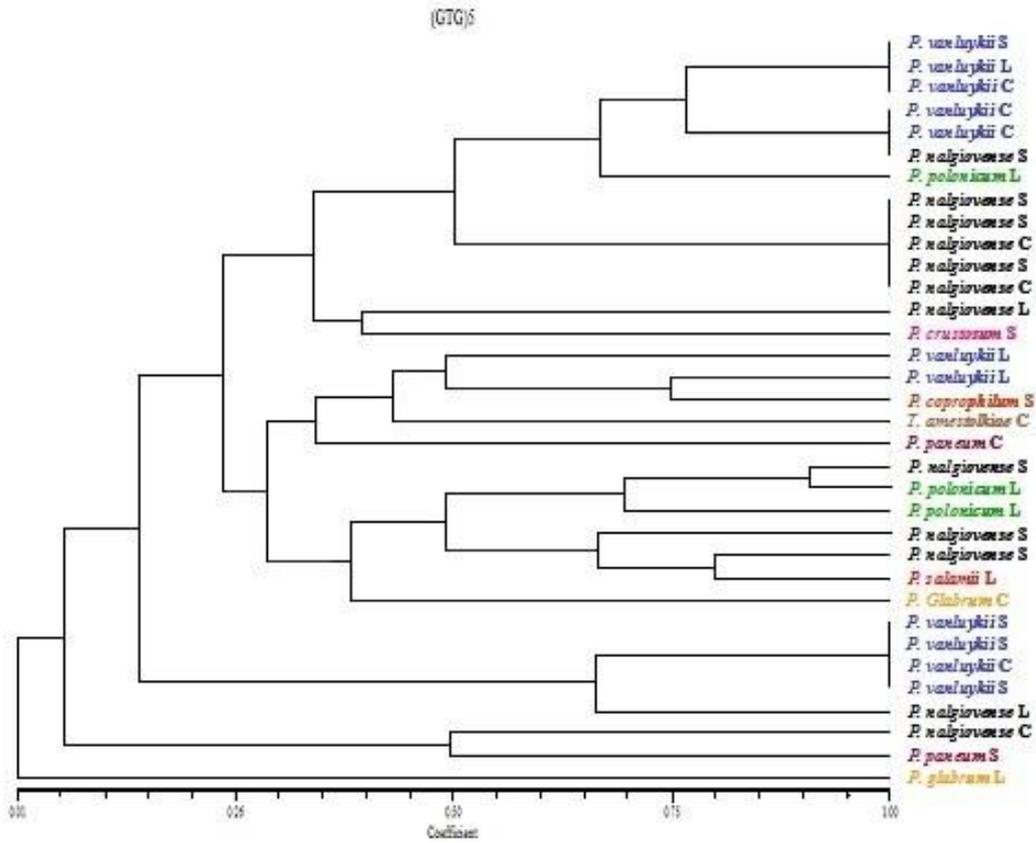


Fig. 20. Dendrograma generado por la amplificación de los 34 aislamientos pertenecientes al género *Penicillium* y *Talaromyces* con el cebador (GTG)₅. Las letras C, L y S que se encuentran al lado del nombre de los distintos aislamientos, corresponden a las iniciales de los productos cárnicos fermentados a partir de los cuales fueron aislados (chacarero, longaniza y salami).

10.4.6- Descripción de las especies fúngicas identificadas pertenecientes al género *Penicillium* y sus teleomorfos de acuerdo con Pitt (1979) correspondientes a los 23 morfotipos.

Penicillium coprophilum (Berk. & Curt.) Seifert & Samson

En MEA a 25°C, las colonias presentaron un diámetro de entre 26 y 33 mm, fasciculadas y de color gris amarronada.

En CYA a 25°C, las colonias presentaron un diámetro comprendido entre 28 y 36 mm, fasciculadas de color verde oscuro, reverso de color castaño.

Aparato conidiógeno terverticilado con estípites con pared lisa, métulas cilíndricas, fiálides cilíndricas y conidios elipsoidales con pared lisa.

Penicillium crustosum Thom

En MEA a 25°C, las colonias presentaron un diámetro comprendido entre 28 y 32 mm, micelio blanco, conidios de color verde y reverso amarillo.

En CYA a 25°C, las colonias presentaron un diámetro de 30 a 40 mm, con surcos, micelio blanco y conidios de color grisáceo, reverso de color castaño.

Microscópicamente, los aparatos conidiógenos presentaron tres niveles de ramificación (terverticilados), estípites con paredes rugosas, métulas cilíndricas, fiálides ampuliformes y conidios globosos a subglobosos con paredes lisas.

Penicillium glabrum (Wehmer) Westling

En MEA a 25°C, las colonias presentaron un diámetro de 34 a 40 mm de diámetro, velutinosas y de color verde, con reverso fuertemente coloreado de amarillo o castaño.

En CYA a 25°C, las colonias presentaron un diámetro de 40 a 50 mm de diámetro, de color gris verdosa y con surcos. El reverso de las mismas presentó un color amarillo intenso.

Con respecto al aparato conidiógeno presentó un único nivel de ramificación (monoverticilado), con estípites de paredes lisas a finamente rugosas, fiálides ampuliformes y conidios globosos o subglobosos con paredes lisas o finamente rugosas.

Penicillium nalqiovense Laxa

En MEA a 25°C, las colonias presentaron un diámetro de entre 12 y 19 mm de diámetro y no se observaron surcos. Micelio claro y conidios de color verde-azulado uniforme, aunque algunos aislamientos presentaron conidios blancos. El reverso presentó un color amarillo intenso. No se observó exudados.

En CYA a 25°C, las colonias presentaron un diámetro de 29 a 34 mm de diámetro, micelio de color blanco y con surcos. Abundante producción de conidios de color blanco. Reverso de la colonia de color blanco-grisáceo.

Desde el punto de vista microscópico, presentó un aparato conidiógeno terverticilado, habiéndose encontrado alguno cuarterverticilado. Presentó conidios globosos o subglobosos con pared lisa, fiálides ampuliformes y métulas cilíndricas.

Penicillium paneum Frisvad

En MEA a 25°C, las colonias presentaron un diámetro de entre 45 y 55 mm, de aspecto velutinosas, de color verde oscuro.

En CYA a 25°C, las colonias presentaron un diámetro de entre 43 y 54 mm, de aspecto velutinoso de color turquesa-grisáceo y reverso beige.

Aparato conidiógeno terverticilado con conidios globosos de pared lisa, fiálides ampuliformes, métulas cilíndricas y estípites con pared rugosa.

Penicillium polonicum K. Zaleski

En MEA a 25°C, las colonias presentaron un diámetro comprendido entre 30 y 35 mm, velutinosas y conidios de color verde. Reverso de color amarillo.

En CYA a 25°C, las colonias presentaron un diámetro de entre 29 y 34 mm, velutinosas, con conidios verdes y reverso de color amarillo intenso.

Microscópicamente, presentó aparato conidiógeno terverticilado, con estípites con pared lisa a finamente rugosa, métulas cilíndricas, fiálides ampuliformes y conidios globosos a subglobosos con pared lisa.

Penicillium salami Perrone, Frisvad, Samson & Houbraken

En MEA a 25°C, las colonias presentaron un diámetro comprendido entre 13 y 16 mm, micelio blanco, conidios de color verde, no se observaron exudados.

En CYA a 25°C, las colonias presentaron un diámetro comprendido entre 24 y 29 mm, micelio blanco, conidios de color verde grisáceo y no se observaron exudados.

Microscópicamente, el aparato conidiógeno presentó tres niveles de ramificación (terverticilados), estípites largo y ancho, métulas en verticilios, fiálides ampuliformes y conidios principalmente elipsoidales con paredes finamente rugosas.

Penicillium vanluykii Frisvad, Houbraken & Samson

En MEA a 25°C, las colonias presentaron un diámetro comprendido entre 24 y 31 mm, de color verde oscuro y reverso sin coloración

En CYA a 25°C, las colonias presentaron un diámetro comprendido entre 28 y 37 mm, micelio blanco y conidios de color verde oscuro y reverso castaño pálido

Desde el punto de vista microscópico presentó un aparato conidiógeno terverticilado, estípites con pared lisa, métulas cilíndricas, fiálides ampuliformes y conidios globosos o subglobosos con pared lisa.

Talaromyces amestolkiae Yilmaz, Houbraken, Frisvad & Samson

En MEA a 25°C, las colonias presentaron un diámetro comprendido entre 39 y 43 mm, micelio blanco, conidios de color verde grisáceo, no se observaron exudados y reverso de color castaño.

En CYA a 25°C, las colonias presentaron un diámetro comprendido entre 30 y 34 mm, micelio blanco, conidios de color grisáceo y no se observaron exudados.

Microscópicamente los conidióforos presentaron dos niveles de ramificación (biverticilados), estípites con paredes lisas, métulas cilíndricas, fiálides acerosas y conidios elipsoidales con paredes lisas.