

Efecto de *Saccharomyces cerevisiae* sobre bacterias del estiércol de búfalo *in vitro*.

Effect of *Saccharomyces cerevisiae* on buffalo manure bacteria *in vitro*.

Ana Carolina Álvarez; Luis Oviedo y Enrique Pardo

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de Córdoba

Resumen

El objetivo de esta investigación fue seleccionar microorganismos indígenas a partir de heces de búfalos, capaces de potenciar el crecimiento de *S. cerevisiae* y viceversa. Con el fin de obtener el probiótico, se tomaron muestras de estiércol de búfalos sanos aislando 19 microorganismos en medios de contenido ruminal clarificado (CRC) al 40% y medios con Carboximetilcelulosa al 2% (CMC) como única fuente de carbono. Se obtuvieron 19 aislados de los cuales el coco 4b Gram positivo en cultivo mixto con la levadura incrementa su población de 10^7 a 10^9 ; a su vez la cepa de levadura pasa de 10^7 a 10^8 ufc/ml mostrando una retroalimentación positiva que estimula el crecimiento de la población de ambos microorganismos; seguido por el bacilo 5 Gram negativo. Ambos, presentaron diferencias estadísticas con los 17 aislados restantes. La degradación de pasto Angleton (*Dichatium aristatum*) por los microorganismos aislados también fue mayor en cocultivo que cuando se evaluaron los microorganismos solos; demostrando así que la levadura *S. cerevisiae* estimula positivamente el metabolismo celulolítico de los microorganismos aislados de heces bubalinas. El bacilo 5 en cocultivo con la levadura en medio contenido ruminal suplementado con pasto Angleton mostro degradación de celulosa expresado en azúcares reductores con valores de 0,12 g/l y el bacilo 5, en iguales condiciones produjo 0,097 g/l; lo que demuestra que hay sinergismo de la levadura a favor del microorganismo celulítico incrementando su actividad enzimática.

Palabras clave: Sinergismo, probióticos, búfalo, levaduras, celulíticos.

Abstract

The objective of this research was to select indigenous microorganisms from buffalo feces, capable of enhancing the growth of *S. cerevisiae* and vice versa. With a view to obtaining a probiotic, manure samples were collected from healthy buffaloes by isolating 19 microorganisms in 40% clarified ruminal media (CRC) media and 2% Carboxymethylcellulose (CMC) media as the sole carbon source. There were obtained 19 isolates of which the coconut 4b Gram positive, in culture mixed with the yeast increases its population from 10^7 to 10^9 ; in turn the yeast strain goes from 10^7 to 10^8 cfu / ml, showing a positive feedback that stimulates the growth of the population of both microorganisms; followed by the bacillus Gram negative 5. Both presented statistical differences with the remaining 17 isolates. The degradation of Angleton grass (*Dichatium aristatum*) by the isolated microorganisms was also higher in coculture than when the microorganisms were evaluated alone. Demonstrating that yeast *S. cerevisiae* positively stimulates the cellulolytic metabolism of microorganisms isolated from bubaline feces. Bacillus 5, in the co-culture with yeast in ruminal medium supplemented with Angleton grass. This showed degradation of cellulose expressed in reducing sugars with values of 0.12 g / l and bacillus 5, under the same conditions produced 0.097 g / l, this shows that there is synergism of the yeast in favor of the cellulite microorganism, increasing its enzymatic activity.

Key words: Synergism, probiotics, buffalo, yeast, cellulolytic.

Introducción

El uso de probióticos es una alternativa biotecnológica viable para aumentar los rendimientos en la producción de búfalos en el país, teniendo en cuenta que, en los rumiantes, los probióticos han demostrado mejorar el rendimiento en los parámetros productivos (Carne y/o leche). Los efectos más consistentes han sido el aumento en la ingesta de materia seca, la producción de leche y ganancia en peso, lo que ha incrementado el uso de microorganismos vivos como suministro en la dieta de rumiantes. Además, existen interacciones entre microorganismos que son esenciales para mantener el ecosistema del rumen, y muchos estudios se han enfocado en determinar los mecanismos de competencia, sinergismo o simbiosis que estos presentan en beneficio del hospedero.

El búfalo, es un bóvido de gran corpulencia y fuerza; las hembras tienen un peso promedio de 800 kilos y los machos pesan en promedio 1200 kilos; pueden llegar a medir entre 2,4 metros y 3 metros de longitud. Gran parte del cuerpo está desprovisto de pelo y tiene un aspecto brillante y lustroso, aunque algunas zonas están cubiertas por pelo corto, rígido y escaso (Almaguer, 2007). El búfalo de agua (*Bubalus bubalis*) es una especie bovina con gran potencial para la producción de carne, leche y trabajo en Colombia (Fundora *et al.*, 2017).

El rumen es un ecosistema muy complejo que contiene diferentes especies microbianas. El desempeño en rumiantes depende de las actividades de sus microorganismos para utilizar eficientemente los nutrientes de la dieta. El ecosistema microbiano o redes tróficas del rumen están integradas por bacterias (más de 200 especies, con una concentración media de 10^{10} bacterias /mL), protozoos (más de 20 especies, con cifras de 10^6 a 10^7 protozoos/ mL) y hongos (cuya densidad alcanza las 10^4 zoosporas/ mL) (Stewart *et al.*, 1997; Williams y Coleman, 2012; Hanafy *et al.*, 2017; Mackie *et al.*, 2002; Nagpal *et al.*, 2009).

El objetivo de esta investigación fue aislar y seleccionar microorganismos indígenas a partir de heces de búfalos que potenciaran la actividad de *S. cerevisiae*, con el objetivo de obtener un consorcio con características probióticas que a futuro pueda ser suministrado en la dieta de los búfalos para mejorar la fermentación ruminal.

Materiales y Métodos

Sitio de estudio.

El muestreo se realizó en la finca Venecia, en el corregimiento de Martinica, localizada 15 Km. al sur oriente de Montería (Córdoba) a $8^{\circ} 42' 13''$ Latitud Norte y $75^{\circ} 59' 30''$ Longitud Oeste, con una altura de 16 msnm; se tomaron 10 búfalos de la raza *Murrah*, de 6 meses de edad y por estimulación se obtuvieron muestras frescas de estiércol que se conservaron en anaerobiosis recubriéndolas con una capa de aceite mineral estéril, y transportadas de inmediato al laboratorio de biotecnología GRUBIODEQ.

Aislamiento.

Las muestras fueron diluidas (10^{-1} - 10^{-6}) y sembradas en agar contenido ruminal al 40% (ACR), incubadas en anaerobiosis por 48-72 horas a 40 ± 2 °C; posteriormente se hizo tinción de GRAM y se sub-cultivaron

las colonias hasta obtención de cultivos puros; simultáneamente, fueron caracterizados en su morfología macroscópica y microscópica. Luego fueron sembrados en caldo contenido ruminal 40% y caldo nutritivo, conservando en nevera para los análisis posteriores.

Evaluación capacidad amilolítica y celulolítica de los microorganismos del estiércol de búfalo.

Los aislados bacterianos obtenidos fueron sembrados en medios sólidos cuya única fuente de carbono fue Carboximetilcelulosa (CMC 1% p/v) y almidón al 1% e incubados por 48-72 horas para verificar que microorganismos poseían actividad amilolítica y celulolítica por el desarrollo de las colonias en los medios de cultivo selectivos.

Evaluación del crecimiento de los microorganismos aislados, en co-cultivo con la levadura *S. cerevisiae*.

Utilizando caldo contenido ruminal clarificado al 40 % v/v y pH ajustado a 6,3, esterilizado a 121°C durante 20 minutos en autoclave (Lara y Oviedo, 2008), se prepararon los inóculos de cada uno de los microorganismos aislados estimando su población en ufc/ml por el método de dilución y siembra en placa (Madigan *et al.*, 2003). Posteriormente cada microorganismo se inoculo en cultivo mixto con la levadura, ambos en magnitud de 10^7 ufc/ml e incubaron a $40\pm 2^\circ\text{C}$ en anaerobiosis 24 horas; se evaluaron las poblaciones de la levadura y cada aislado en estudio haciendo diluciones seriadas y siembra en placa. (Madigan *et al.*, 2003).

Determinación de la degradación de fibra in-vitro.

Para esta prueba se seleccionaron los dos microorganismos que en crecimiento respondieron mejor al co-cultivo con la levadura nativa. Al caldo contenido ruminal clarificado al 40% (v/v) se le adiciono pasto Angleton (*Dichantium aristatum*) (0,05% p/v) ajustando el pH a 6,3; se esterilizo a 121°C por 20 minutos (Lara y Oviedo, 2008). Se evaluaron 5 tratamientos distribuidos de la siguiente manera: Tratamiento 1 (4b); Tratamiento 2 (coco 4b + levadura), Tratamiento 3 (bacilo 5), Tratamiento 4 (5 + levadura) y Tratamiento 5 (Levadura); los inóculos estaban en magnitud de 10^7 ufc/ml y los cultivos mixtos se hicieron en proporción 1:1. Todos los tratamientos se hicieron por triplicado y se distribuyeron de forma aleatoria. La determinación de la degradación de la celulosa se realizó por el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS); se realizó la lectura a 540 nm en espectrofotómetro génesis 20 (Durán y Muñoz, 2003; Bello *et al.*, 2006).

Análisis Estadístico.

Para la evaluación del co-cultivo se empleó un diseño completamente al azar (DCA) donde la variable respuesta fue la población final de microorganismos en ufc/ml, y tres repeticiones por tratamiento; los datos fueron tabulados en el software **MINITAB 16** para hacer ANOVA y la formación de grupos por el test de Tukey. Para la degradación de fibra se utilizó un DCA con 5 tratamientos y tres repeticiones. Los datos fueron tabulados en el software **MINITAB 16**, para hacer ANOVA y la formación de grupos por el test de Tukey.

Resultados y discusión

Aislamiento.

Se obtuvieron 19 aislados de las muestras de estiércol de búfalo que se describen en el Tabla 1. En total se aislaron 5 cocos Gram positivos, 2 cocos Gram negativos, 3 bacilos Gram positivos y 9 bacilos Gram negativos; predominando así bacterias Gram negativas. Stewart *et al.*, (1997) reportan que la población de bacterias que aparece en el intestino grueso de los rumiantes es semejante a la del rumen. En ambos lugares predominan las especies anaerobias. En el intestino grueso los anaerobios obligados superan a los aerobios en 100 veces como mínimo. Las bacterias predominantes que se aíslan del ciego incluyen varios géneros encontrados en el rumen. También son predominantes los bacilos Gram negativos, como *Bacteroides*, *Butyrivibrio* y *Fusobacterium*. Asimismo, se encuentran cocos Gram positivos como *Streptococcus bovis* y *S. faecalis* y algunas especies de *Selenomonas*.

Estos microorganismos pueden estar involucrados en procesos de simbiosis entre ellos y con el huésped evitando la invasión por patógenos del tracto gastrointestinal del búfalo, la síntesis de factores de crecimiento como vitaminas y estimulación del sistema inmune. O'Hara y Shanahan, (2006) consideran que la microbiota intestinal es un órgano más, perfectamente integrado en la fisiología del individuo.

Según Mendes y De Lima (2011), las especies de bacterias celulolíticas *Ruminococcus flavifasciens* y *R. albus* predominan en el rumen bovino, mientras que *Fibrobacter succinogenes* e *R. flavifasciens* prevalecen en el rumen de los búfalos. *F. succinogenes* presenta mayor actividad celulolítica que *Ruminococcus*. Se verificó la presencia de *R. albus* en el rumen de búfalos.

Evaluación capacidad amilolítica y celulolítica de los microorganismos del estiércol de búfalo.

Los microorganismos codificados como 5, 2 y 15 en el Tabla 1 solo crecieron en el medio enriquecido con Carboximetilcelulosa; el microorganismo etiquetado como 14 solo creció en medio almidón; los microorganismos restantes se desarrollaron de manera óptima en ambas fuentes de carbono. Con respecto al crecimiento en CMC estos resultados son comparables a los mostrados por Ramírez y Cocha (2003) donde aislaron Actinomicetos termófilos degradadores de celulosa en muestras de compost, estiércol, suelos y heno usando CMC al 1% p/v como única fuente de carbono.

Evaluación del crecimiento de los microorganismos aislados, en co-cultivo con la levadura *S. cerevisiae*.

Los resultados muestran que el microorganismo que más se favoreció con el consorcio en términos de crecimiento poblacional fue el coco (+) 4b seguido por el bacilo (-) 5; además, el efecto fue recíproco ya que la cepa de levadura también mostró su mejor crecimiento cuando creció en co-cultivo con estos microorganismos encontrando sinergismo; el cultivo mixto del coco 4b y la levadura mostró el mayor efecto sinérgico donde el aislado indígena incrementó su población en dos magnitudes alcanzando concentración de 2×10^9 ufc/ml y *S. cerevisiae* 1×10^8 ufc/ml incrementando su población en una magnitud, ver Tabla 2. Otros microorganismos que se vieron favorecidos, aunque en menor proporción fueron el 7b y el 14 que también incrementaron su población una magnitud por encima de la inicial, pero no estimularon el crecimiento en la levadura.

El análisis de varianza con un α 0.05 demostró que hay interacción positiva de por lo menos un microorganismo en co-cultivo con la levadura. Y la prueba de comparación de medias de Tukey mostró diferentes grupos.

En trabajos realizados por Burgos (2010), evaluando el efecto en la población microbiana del cocultivo de tres aislados de heces de pollos con propiedades probióticas: *Sacharomyces sp*, *Bacillus sp*, *Lactobacillus sp*, encontró que cultivados en proporción 1:3:3 favorece el crecimiento del *Lactobacillus* incrementando su población en dos magnitudes.

Determinación de la degradación de fibra *in-vitro*.

El Tabla 3 muestra los resultados promedio de la degradación de fibra en azúcares reductores. El análisis de varianza con un α 0.05 mostró que al menos 1 de los tratamientos es significativamente diferente a los demás. La prueba de Tukey mostró que hay diferencias entre las medias de los tratamientos (T4) y (T1 y T5) con Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%. Así, el mejor tratamiento fue T4.

Otros investigadores encontraron resultados similares; (Mas, 1984) evaluó el sinergismo en la capacidad celulolítica *in vitro* de microorganismos aislados de la paja encontrando que los cultivos mixtos alcanzaban, generalmente, una actividad celulolítica mayor que los cultivos solos. También, Amlan (2012) reportó que aditivos de levaduras pueden ejercer efectos positivos sobre la digestibilidad de los componentes, especialmente de fibra, probablemente mediante la estimulación de las poblaciones microbianas celulolíticas en el rumen. En este caso particular *S. cerevisiae* pudo estimular la actividad de los microorganismos 4b y 5 que a su vez liberaron más azúcares reductores por su actividad celulolítica.

Mateo *et al.*, (2002), observaron que un cultivo mixto de dos bacterias producía mayor degradación de aserrín que los cultivos axénicos (*Bacteroides stercorys* + *Cocobacilo*). Teniendo en cuenta que el cocobacilo por sí solo no degrada aserrín, lo que sugiere que el cocobacilo es una bacteria secundaria pero necesaria para potencializar la actividad del microorganismo celulolítico; datos similares reportaron Miranda *et al.*, (1999) en donde un cultivo mixto de bacterias ruminales aplicado a rastrojo de maíz presento mejores efectos que los microorganismos por separados; esto debido a la complejidad del sustrato. Este mismo efecto puede ser el que ejerce la levadura sobre los dos aislados bacterianos indígenas del estiércol de búfalo sabiendo que, su alto contenido en vitaminas, enzimas y otros importantes co-factores también las hacen atractivas como una ayuda digestiva con efectos positivos en animales rumiantes y monogástricos (Pinloche *et al.*, 2013).

Galindo *et al.*, (2010) reportaron que en cultivo sumergido de líquido ruminal de búfalos y pasto estrella como sustrato, *S. cerevisiae* incrementó en 1.75 veces la población de bacterias celulolíticas y LEVICA 25 multiplicó por 2.25 la población de viables totales. El número de protozoos fue 12.55; 16.30 y 17.55 x 10⁻⁵ células mL⁻¹ para los tratamientos A (control), B (Inoculado con *S. cerevisiae*) y C (Inoculado con Levica 25), respectivamente.

También, Lara y Acosta (2013), reportaron que bacterias aisladas del abdomen de termitas en ensayos *in vitro* presentaron actividad celulolítica en la degradación del pasto *pennietum sp*.

Conclusión

Las heces de búfalo poseen microorganismos eficientes que al ser evaluados muestran características prometedoras como aditivos microbianos para mejorar la nutrición y fermentación ruminal en búfalos y otros rumiantes.

El efecto positivo de los microorganismos aislados con capacidad de producir celulasas, que favorecen la degradación microbiana de pasto angleton (*Dichanthium aristatum*), abre la posibilidad del uso de estos microorganismos como aditivo en búfalos que se alimentan de pasturas en los hatos de las diferentes regiones del país.

La relación simbiótica mostrada por la levadura nativa y los aislados de heces de búfalo, sugiere que es posible usar este consorcio como un aditivo prebiótico orientado al aumento de la población celulolítica del rumen para mejorar los parámetros productivos en las explotaciones bufalinas.

Agradecimientos

La presente investigación fue financiada con recursos propios. Los autores desean expresar especial agradecimiento a todas las personas de la finca Venecia, corregimiento de Martinica, sur oriente de Montería.

Referencias bibliográficas

- Almaguer Y. (2007). El búfalo, una opción de la ganadería. *Rev Elec Vet*, 3:1-23
- Amlan K. (2012). The use of live yeast products as microbial feed additives in ruminant nutrition. *Asian J Anim Vet Adv*, 7:366-375. doi:10.3923/ajava.2012.366.375
- Arrieta S., Alexander, Corredor, Wendy, Romero V., Juan M. (2015). Valoración y cuantificación de metales pesados en carne de cerdo, pescado, pollo y res comercializados en Pamplona Norte de Santander. *Revista @limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria*. ISSN 1692-7125. Volumen 13, N° 2, p.p 163 – 171.
- Bello D, Carrera E, Díaz Y. (2006). Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico. *ICIDCA*, 40(2):45-50.
- Burgos A. (2010). Evaluación del potencial probiótico de cepas nativas de aves *Gallus gallus*, para aditivos microbianos en la alimentación avícola. Tesis de Maestría. Montería, Colombia: Universidad de Córdoba. 81p.
- Durán P, Muñoz A. (2003). Manual de laboratorio de biotecnología alimentaria UPIBI-IPN. México. 122 p.
- Fundora O, Fernández D, Sarduy L, González M. (2017). Productive performance and carcass yield of grazing water buffaloes (*Bubalus bubalis*) and bovine cattle in the growing-fattening stage. *Cub J Agric Sci*, 50(4):579-585.
- Galindo J, Marrero Y, González N, Sosa A, Miranda A. (2010). Efecto de preparados con levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y LEVICA-25 viables en los metanógenos y metanogénesis ruminal *in vitro*. *Rev Cub Cien Agríc*, 44(3):273-279.



- Hanafy RA, Elshahed MS, Ligginstoffer AS, Griffith GW, Youssef NH. (2017). *Pecoramyces ruminantium*, gen. nov., sp. nov., an anaerobic gut fungus from the feces of cattle and sheep. *Mycol*, 109(2):231-243. doi: 10.1080/00275514.2017.1317190.
- Lara C, Acosta P. (2013). Bacterias celulolíticas aisladas del intestino de termitas (*Nasutitermes nigriceps*) con características probióticas y potencial en la degradación del pasto. *Rev. Colomb. Biotecnol*, 15(1):8-16,
- Lara C, Oviedo L. (2008). Bacterias diazótroficas con potencial biofertilizante para una agricultura limpia y productiva. Editorial Universidad de Córdoba, Montería, Colombia. pp 136
- Madigan M, Martinko J, Parker J. (2003). Brock biología de los microorganismos. 10ª ed. Ed. Pearson-Prentice-Hall, Madrid, España. pp 1096
- Mackie R, McSweeney C, Klieve AV. (2002). Microbial ecology of the ovine rumen. In *Sheep nutrition*. Ed. Freer M, Dove H. pp. 71–94. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Mas M. (1984). Sinergismo en la capacidad celulolítica in vitro de microorganismos aislados de la paja. *Microbiol Esp*, 37(3):69-62.
- Mateo J, Cobos M, Trinidad A, Cetina V, Vargas J. (2002). Aislamiento de bacterias ruminales degradadoras del aserrín. *Agrociencia*, 36(5):523-530.
- Mendes AJ, De Lima F. (2011). Aspectos nutricionales del búfalo. *Rev Tec Marc*, 24:105-120.
- Miranda R, Cobos P, Mendoza M, González M, García B. (1999). Degradación *in vitro* de rastrojo de maíz con cultivos mixtos de bacterias ruminales. *J Agrociencia*, 33(2):133-139
- Nagpal R, Puniya A, Singh K. (2009). *In-vitro* fibrolytic activities of the anaerobic fungus, *Caecomyces* sp., immobilized in alginate beads. *J. Animal Feed Sci*, 18:758–768. doi:10.22358/jafs/66451/2009
- O'Hara AM, Shanahan F. 2006. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep*, 7:668-693. doi:10.1038/sj.embor.7400731
- Pinloche E, McEwan N, Marden J, Bayourthe C, Auclair E. (2013). The Effects of a Probiotic Yeast on the Bacterial Diversity and Population Structure in the Rumen of Cattle. *PLOS ONE*, 8(7):e67824. doi.org/10.1371/journal.pone.0067824
- Ramírez P, Cocha J. (2003). Degradación enzimática de celulosa por actinomicetos termófilos: aislamiento, caracterización y determinación de la actividad celulolítica. *Rev Per Biol*, 10(1):67-77.
- Ríos, P. Cindy, Maldonado M. Lida. Y., Caballero P., Luz A., (2016). Bebida fermentada a base de arroz con adición de probióticos. Norte de Santander. Revista @limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria. ISSN: 1692-7125. Volumen 14 N°1. Pp.58 -73.
- Stewart CS, Flint HJ, Bryant MP. (1997). The rumen bacteria. In: *The Rumen Microbial Ecosystem*. Ed. Hobson PN, Stewart CS. pp. 10-72. Blackie Academic and Professional Publishers, London, UK.

Villamizar, R Parra, M. L. M. (2015). Uso de Nanopartículas de plata en el control de microorganismos patógenos presentes en alimentos. Revista @limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria. ISSN 1692-7125. Volumen 13 N° 1. Pp: 54 – 59.

Williams AG, Coleman GS. (2012). The rumen protozoa. Springer-Verlag New York Inc.

Tabla 1. Características morfológicas de los microorganismos aislados de heces de búfalo

M.O	Colonia						Célula
	Tamaño	Elevación	Borde	Color	Consistencia	Forma	Gram
1	Pequeña	Pulviada	Entero	Amarillo	Seca	Cocos	(-)
2	Pequeña	Pulviada	Entero	Blanco	Cremosa	Cocos	(+)
3	Mediana	Aplanada	Irregular	Beis	Mucosa	Bacilos	(+) edp
4	Mediana	Aplanada	Irregular	Blanco	Mucosa	Bacilo	(-)
4b	Mediana	Umblicadas	Entero	Amarillo	Cremosa	Cocos	(+)
5	Mediana	Pulviada	Ondulado	Blanco	Cremosa	Bacilos	(-)
6	Mediana	Convexa	Irregular	Crema	Seca	Bacilos	(-)
7 ^a	Mediana	Convexa	Irregular	Blanca	Mucosa	Bacilos	(-)
7b	Pequeña	Umblicadas	Ondulado	Amarillo	Cremosa	Cocos	(-)
8	Mediana	Lev/Umbli	Ondulado	Blanco	Seca	Cocos	(+)
8b	Pequeña	Convexa	Entero	Translúcido	Mucoide	Bacilos	(+)
9	Mediana	Umblicadas	Irregular	Beis	Seca	Bacilos	(+) edp
10	Pequeña	Convexa	Ondulado	Amarillo	Seca	Cocos	(+)
11	Mediana	Pulviada	Entero	Blanca	Mucosa	Bacilos	(-)
12	Mediana	Pulviada	Entero	Blanca	Mucosa	Bacilos	(-)
13	Grande	Pulviada	Entero	Blanca	Mucosa	Bacilos	(-)
13b	Grande	Pulviada	Entero	Blanca	Mucosa	Bacilos	(-)
14	Mediana	Convexa	Entero	Beis	Seca	Bacilos	(-)
15	Mediana	Convexa	Ondulado	Amarilla	Cremosa	Cocos	(+)

Edp: *Endosporado*

Tabla 2. Datos promedio del crecimiento en co-cultivo de cada uno de los microorganismos aislados de heces de búfalo con *S. cerevisiae*.

Microorganismos	Población final promedio del co-cultivo de cada microorganismo y la levadura expresado en ufc/ml	
	Aislados de heces de búfalo	<i>S. cerevisiae</i>
1	7,33E+07 ^B	3,03E+07
2	8,37E+06 ^B	2,33E+07
3	3,37E+07 ^B	1,63E+07
4	4,70E+07 ^B	3,87E+07
4b	2,52E+09^A	1,40E+08
5	3,05E+08^B	1,22E+08
6	1,03E+07 ^B	1,03E+07
7	8,33E+07 ^B	2,33E+07
7b	1,20E+08 ^B	4,67E+07



8	1,53E+07 ^B	1,60E+07
8b	6,33E+07 ^B	3,33E+07
9	2,00E+07 ^B	2,33E+07
9b	3,67E+07 ^B	2,00E+07
10	2,03E+07 ^B	3,33E+07
11	5,67E+07 ^B	2,00E+07
12	6,00E+06 ^B	3,07E+07
13	1,03E+07 ^B	7,73E+06
14	1,14E+08 ^B	4,27E+07
15	3,03E+07 ^B	3,53E+07

*Letras diferentes indican diferencias significativas.

Tabla 3. Producción de azúcares reductores por degradación microbiana de pasto Angletón

Tratamientos	Azúcares reductores en g/L
T1(4b)	0,07 ^{BC}
T2 (4b+S. cerevisiae)	0,091 ^{AB}
T3 (5)	0,097 ^{AB}
T4 (5+ S. cerevisiae)	0,12 ^A
T5 (S. cerevisiae)	0,051 ^C

*Letras diferentes muestran diferencias significativas

*Para citar este artículo: **Álvarez A.C; Oviedo L., Pardo E. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* on buffalo manure bacteria in vitro.** Revista Bistua. 2019. 17(2): 31-40

+ Autor para el envío de correspondencia y la solicitud de las separatas : Pardo E. Facultad de Ciencias Básicas. Departamento de Biología. Unicordoba. email: epardop@unicordoba.edu.co

Recibido: Septiembre 08 de 2018

Aceptado: Enero 21 de 2019