

FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO DE *Saccharum* spp. COMO SUPLEMENTO PARA RUMIANTES

SOLID STATE FERMENTATION OF *Saccharum* spp. AS SUPPLEMENT FOR RUMINANTS

Ley de Coss, A.¹, Aguirre-Medina, J. F.^{1*}, Arce-Espino C.¹, Aranda-Arguello, R.², Gayón-Amaro, S.³, Pérez-Quiroz, H.⁴, Aguilar-Fuentes, J.⁵, Fierro-Martínez, M.⁵, Ferrero, P. V.⁶

¹Grupo de Investigación de la Facultad de Ciencias Agrícolas Campus IV, Universidad Autónoma de Chiapas (UNACH), Carretera Costera y Estación Huehuetán S/N. Huehuetán, Chiapas, México.

²Estudiante de la Maestría en Ciencias de Producción Agropecuaria Tropical, UNACH. ³Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México. El Cerrillo, Piedras Blancas S/N, Toluca, Estado de México. ⁴Facultad de Ciencias Químicas, UNACH, Carretera Puerto Madero km 1.5 Tapachula, Chiapas, México. ⁵Centro Mesoamericano de Estudios en Salud Pública y Desastres, UNACH. ⁶Universidad del Noroeste de Buenos Aires (UNNOBA) y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) de Argentina.

*Autor de correspondencia: juanf56@prodigy.net.mx

RESUMEN

La biotecnología permite transformar moléculas complejas (celulosa y hemicelulosa) o sin valor nutritivo (urea) a moléculas con valor nutricional para rumiantes, mediante el uso de técnicas de Fermentación en Estado Sólido (FES), con el fin de aumentar, con respecto a su valor sin procesar el contenido de FDN digestible, PC y PV con apoyo de enzimas, microorganismos (levaduras y bacterias) nativos e inoculado artificialmente durante la fermentación. Se relacionaron variables, tales como el precio de la caña (*Saccharum* spp.) para la industria en el Soconusco, Chiapas, México, además de la venta de toretes para engorda y leche bronca; reducción del ható ganadero (por cambio de uso de suelo), escases de pasturas, aumento en precio de granos, invasión de malezas resistentes, compactación de suelo, plagas en animales, y manejo nutrimental con dietas de baja calidad, con el fin de identificar una estrategia que permita aprovechar la caña de azúcar y mejorarla nutrimentalmente para rumiantes. Se observó una mejora en la cantidad de PC sintetizada a partir de urea adicionada a microsilos, sugiriendo que la FES es un proceso útil para la producción de enzimas y metabolitos, además de mejorar la calidad en la alimentación animal con bajo costo energético, dando un valor agregado en la producción de caña y atenuar bajo costo energético, dando un valor agregado en la producción de caña y atenuar la limitación de alimento en el estiaje.

Palabras clave: Ganadería tropical, Chiapas, fermentos, enzimas.

ABSTRACT

Biotechnology allows transforming complex molecules (cellulose and hemicellulose) or without nutritional value (urea) into molecules with nutritional value for ruminants, through the use of Solid State Fermentation (SSF) techniques, with the aim of increasing, with regards to their value without processing, the content of digestible NDF, RP and PV with help from enzymes, native microorganisms (yeasts and bacteria) and artificially inoculated during fermentation. Variables are related, such as the price of sugar cane (*Saccharum* spp.) for the industry in Soconusco, Chiapas, México, in addition to the sale of young bulls for fattening and raw milk; reduction of the livestock herd (due to change in land use), scarcity of pastures, grain price increase, invasion of resistant weeds, soil compacting, pests in animals, and nutritional management with low-quality diets, with the aim of identifying a strategy that allows using sugar cane and improving it in nutritional terms for ruminants. An improvement in the quality of RP synthesized from urea added to micro silos, suggesting that SSF is a useful process for the production of enzymes and metabolites, in addition to improving the quality of the animal diet with low energetic cost, giving an added value in cane production and alleviating the limitation of foods in the dry season.

Keywords: Tropical livestock production, Chiapas, ferments, enzymes.

da et al., 2003). Estudios recientes han demostrado que los procesos de fermentación en estado sólido (FES) mejoran el perfil proteico, relación entre proteína cruda (PC) y proteína verdadera (PV). Peláez et al. (2008; 2011) reportaron valores de PC superiores al testigo tras someter a la caña a dos procesos fermentativos consecutivos en presencia de un hongo lignolítico. La FES con bajo contenido de humedad (menor a 12%) y bajo un estado no aséptico y natural (Robinson et al., 2002); ha sido útil para producir diferentes productos (enzimas), combustibles y alimentos para animales (GumbinaSaid, 1996; en Robinson et al., 2002). En las regiones subtropical y tropical húmeda, la escasez de alimentos (forrajes) en las épocas de sequía y de inundaciones hacen necesario hacer la conservación de alimento que garantice el aporte energético y proteico para los animales y con ello mantener la producción (Monroy et al., 2006; Aranda et al., 2012). Por ello, el objetivo de este trabajo de investigación fue estudiar el efecto de la FES bajo dos condiciones ambientales, inoculadas con una cepa de Bacteria ácido lactica (BAL) y la adición de NNP sobre la calidad de la caña de azúcar.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material vegetal (*Saccharum* spp.) se obtuvo en el ejido Plan de Ayala, Huehuetán, Chiapas, México, ubicado a (15° 01' 18.09" N y 92°22' 10.22" O) a una altitud de 127 m.

Las pruebas *in vitro* de FES se llevaron a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Animal de la Facultad de Ciencias Agrícolas, mientras que la determinación de PC fue procesada en el Laboratorio

INTRODUCCIÓN

En México, el sector pecuario demanda aproximadamente 20 millones de toneladas de granos forrajeros; de éstos, el 50% corresponden a maíz amarillo (*Zea mays* L.) y el 40% a sorgo (*Sorghum* sp.); los cuales son importados hasta en 60% del volumen requerido. El incremento en el precio de los granos repercute en la industria ganadera debido a la utilización de éstos en la alimentación de los animales, siendo los sistemas de producción intensivo y semi-intensivo los más afectados. En el 2006, el precio internacional del maíz era de 87.6 USD t, para enero del 2008 a 194.32 USD, registrando un incremento cercano al 122%, y el Banco Mundial, estima que los precios se mantendrán al alza. La naturaleza química de la caña de azúcar (*Saccharum* spp.) se caracteriza por el contenido de carbohidratos solubles (Sacarosa) y estructurales (celulosa, hemicelulosa y lignina y nitrógeno ligado); componentes principales de la fibra detergente neutro (FDN). Es importante considerar el bajo porcentaje de materia seca (MS) de la caña en comparación con los cereales, aunque existe una superioridad en el rendimiento de la caña y por ello, hace que el contenido elevado de agua no sea una limitante para ser incluido en la alimentación animal. El silo de caña posee deficiencias nutricionales, corregibles mediante la adición de nitrógeno no proteico (urea), subproductos agroindustriales, aditivos microbianos o mezclas minerales (Monroy et al., 2006; Aranda et al., 2012), por lo que, se ha investigado el efecto de los procesos fermentativos en mejoramiento del contenido proteico, debido a que se ha reportado que la fermentación bajo condiciones aerobias mejora el valor nutritivo de los productos agrícolas representando nuevas opciones para la alimentación animal (Aran-

de Bromatología en la Facultad de Ciencias Químicas ambas del Campus IV de la Universidad Autónoma de Chiapas, Chiapas, México.

Procesado de material vegetal y tratamientos

La caña de azúcar integral (tallos, hojas y cogollos) de 300 d de desarrollo (por el mayor contenido de azúcares) se procesó en fresco en un molino tipo Willey (Eléctrico ED-5, Tomas-Willey Mill, EUA) con criba de 2.54 cm, se obtuvo una partícula de 0.5 cm de largo por 0.1 cm de ancho en promedio. Para el ensilaje se utilizó el modelo de micro silos de plástico negro a los que se incorporó 5 kg de caña de azúcar integral molida (CAIM) más 2% de urea, con o sin inocular la bacteria ácido láctica (BAL; *Pediococcus acidilactici*, Lindner) con flujo de oxígeno (O₂) o bióxido de carbono (CO₂), la placa tuvo un espesor de 20 cm sin compactación.

Conteo de carga bacteriana

La concentración bacteriana fue estimada usando el método del número más probable (NMP, Figura 5) según la técnica descrita por Harrigan y McCance (1979), con tres repeticiones por tubo de cultivo (13×100 mm, PIREX®, México) con 4.5 mL de medio de cultivo para bacterias totales (BT) con: 0.06 g de D-(+)-glucosa+0.06 g D-celobiosa+0.06 g de almidón, 30 mL de FR clarificado, 5.0 mL de solución mineral I (6 g K₂HPO₄ en 1000 mL de H₂O), 5.0 mL de solución mineral II [6 g KH₂PO₄+6 g (NH₄)₂SO₄+12 g NaCl+2.45 g MgSO₄+1.6 g CaCl₂·H₂O en 1000 mL de H₂O], 2.0 mL de solución al 8% de Na₂CO₃, 2 mL de solución sulfido-cisteína (2.5 g L-cisteína en 15 mL de 2N NaOH+2.5 g Na₂S·9H₂O aforado en 100 mL de H₂O), 0.2 g de tripticasa peptona y 0.1 mL de solución al 0.1 % de resazurina. Mientras que para las bacterias celulíticas (BC) se utilizó el mismo medio con 0.5 g de celulosa cristalina, como única fuente de energía, según la técnica reportada por Ley de Coss *et al.* (2013). La concentración de BAL se determinó en medio de cultivo MRS de acuerdo con De Man *et al.* (1960). El pH se ajustó a 6.4±0.02 con HCl 0.1 N y se midió con un potenciómetro (Orion A250, Orion Research, Inc. USA). Los medios fueron esterilizados durante 15 min a 121 °C y 15 psi, y se depositaron 4.5 mL de medio en tubos de cultivo; los medios estériles se inocularon con 0.5 mL de un extracto obtenido de la mezcla de 5 g de ensilado de los tratamientos (en cada periodo de fermentación)+5 mL de agua estéril. Después de agre-



Figura 1. Localización de la parcela donde se obtuvo la caña de azúcar integral (*Saccharum* spp.).

gar el inoculo, los tubos se mantuvieron 24 h a 38 °C para BT y BAL y 10 días para BC, los medios positivos fueron aquellos que presentaron turbidez.

Análisis de proteína cruda

Se tomaron 10 g de muestras que fueron secadas a 60 °C, para determinar el contenido de PC, posteriormente las muestras fueron procesadas por digestión según el método micro-Kjeldahl, multiplicando el nitrógeno total de la muestra por el factor de conversión 6.25 según Lynch y Barbano (1999).

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2×2 (2 niveles para indicar fermentación en presencia de O₂ o de CO₂, respectivamente, y 2 niveles para adición o no de *P. acidilactici*) con tres repeticiones por tratamiento. Los datos del conteo bacteriano fueron analizados mediante la prueba de Kruskal-Wallis con datos de rangos independientes (Wilcoxon), la PC y el pH fueron analizadas mediante un procedimiento multifactorial con el procedimiento GLM utilizando el paquete estadístico de SAS, bajo el método de comparación múltiple de Tukey (P≤0.05) (SAS, 2009).

Cuadro 1. Identificación de los tratamientos evaluados.

Tratamientos	Descripción
1A	CAIM con <i>P. acidilactici</i> y condiciones aerobias (flujo de O ₂)
1B	CAIM con <i>P. acidilactici</i> y condiciones anaerobias (flujo de CO ₂)
2A	CAIM sin <i>P. acidilactici</i> y condiciones aerobias (flujo de O ₂)
2B	CAIM sin <i>P. acidilactici</i> y condiciones anaerobias (flujo de CO ₂)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de proteína cruda y pH

Al inicio hubo reducción en el pH en los tratamientos bajo flujo CO₂, este efecto fue independientemente de la presencia de *P. acidilactici* en el medio; mientras que con flujo O₂ los valores de pH fueron superiores, lo que indica un efecto sobre la FES de la caña, los metabolitos producidos y en la estabilidad del pH. Por ello, en los tratamientos 1A y 2A las condiciones permitieron mantener un pH por arriba del neutro, sin daño al producto, tanto en la calidad nutritiva (PC), ni organoléptica. En el contenido de PC hubo mejoras en todos los tratamientos (Cuadro 2), pero fue superior desde las 24 h en el tratamiento 2B; únicamente, a las 48 h, los tratamientos con *P. acidilactici*, con y sin O₂ fueron similares con el 2B; posteriormente se redujo el contenido de PC, posiblemente por un catabolismo de la proteína por acción de enzima bacterianas presentes en el medio, aunque el

nivel de PC de estos tratamientos (1A y 1B) son aceptables para la alimentación de rumiantes.

Estos resultados implican que la existencia de bacterias y levaduras nativas en la caña permite la síntesis de proteína microbiana a partir de urea. Lo que permitió que el contenido de PC en el ensilado de caña, superara al de la caña sola (4%). Inocular con *P. acidilactici* no mejoro el contenido de PC en los tratamientos en comparación con los no inoculados, aunque a las 48 h hubo mayor contenido de PC en todos los tratamientos (condiciones con O₂ y CO₂) pero esta cantidad se redujo, con excepción tratamiento 2B, al finalizar el periodo de incubación (72 h) efecto posiblemente causado por la acción de enzimas (ureasas microbianas) con la formación de amoniaco y liberado al medio ambiente.

Respecto a los niveles de proteína, diversos trabajos de investigación concluyen que es indispensable buscar una síntesis microbiana que permita valores máximos de PV superiores a 49.5% (PV:PC), y que de alguna manera inocular microorganismos como levaduras y bacterias contribuyeron a lograr esos valores (Valdivie et al., 1997; Cárdenas et al., 2008). Monroy et al. (2006) reportaron valores de entre 13.72 a 15.18% de PC y de 8.89 a 11.61% de PV cuando a la caña de azúcar se le adiciono melaza y pulida de arroz (*Oryza sativa* L.); y valores de 14.57 % de PC y 9.56 % de PV a 70 días de conservación; obteniendo los mayores valores promedio a 20 días de conservación con 15.34 y 10.94% de PC y PV respectivamente, y que son valores similares a los encontrados en este trabajo, únicamente que los valores de PC fueron similares a los tratamientos bajo anaerobiosis. Lo que ugiere que a mayores días de conservación y/o fermentación, mayor pérdida de PV en forma de amoniaco y mayor concentración de ácido láctico. Se reporta que valores

más bajo de pH ayudan a mayor retención de PC, y mayor fermentación de los azucares permite la formación de mayor cantidad de PV (Ramos, 2006).

Los valores de pH arriba del neutro en este trabajo permanecieron así durante todo el tiempo de fermentados en presencia de O₂ (1A y 2A), no así donde hubo flujo de CO₂ cuyos valores fueron ácidos, lo cual asegura un proceso de ensilado de buena calidad. Aranda et al. (2012) atribuyen dicho fenómeno a un proceso de volatilización del nitrógeno no proteico (NNP) durante el proceso de fermentación, lo que se correlaciona directamente con la menor cantidad de proteína detectada en estos tratamientos. Estos mismos autores evaluaron distintos parámetros bromatológicos de FES de caña de azúcar adicionado con urea, sulfato de amonio, Vita-fert® y zeolita mexicana, reportando mayor cantidad de proteína desde las 24 h que en aquellos tratamientos que no fueron fermentados, con una reducción en el contenido de PC en las horas siguientes (Aranda et al., 2012), al igual que en el tratamiento 1A y 2A de este trabajo.

Cuadro 1. Valores de pH y concentración de proteína cruda en los tratamientos.

Tratamientos	Tiempo de fermentación (h)		
	24	48	72
	pH		
1A	7.32ab	8.60a	8.46a
1B	6.70b	6.10b	5.48c
2A	8.51a	8.58a	6.75b
2B	4.91c	4.20c	4.17d
EE±	0.56	0.58	0.25
	Proteína Cruda (%)		
1A	13.15b	24.16a	13.10b
1B	14.43b	19.11b	15.75b
2A	22.82a	14.45b	14.23b
2B	21.51a	26.31a	22.75a
EE±	1.69	2.25	1.58

a, b, c, d Medias con distinta letra en una columna son diferentes ($p \leq 0.05$); E.E.M: error estándar de la media. 1A: Caña de azúcar + *P. acidilactici* + O₂; 1B: Caña de azúcar + *P. acidilactici* + CO₂; 2A: Caña de azúcar sin *P. acidilactici* + O₂; 2B: Caña de azúcar sin *P. acidilactici* + CO₂.

Conteo bacteriano

Aunque al inicio de la fermentación hubo diferencia ($P < 0.05$) en la concentración de BAL entre tratamientos, este grupo de bacterias creció en todos los tratamientos hasta una cantidad similar en un periodo de 48 h, lo que indica que hay la presencia de grupos nativos de BAL en la caña de azúcar; sin embargo, al finalizar tiempo de fermentación (72 h) únicamente el tratamiento 1A fue el que tuvo la mayor cantidad ($P < 0.05$) con el resto de tratamientos, aunque sin diferencia ($P > 0.05$) entre ellos. Pero, además, en estos tratamientos se presentó la mayor reducción en el pH en comparación con el 1A, lo que implicaría que la cepa de *P. acidilactici* se adapta a medios con flujo de O_2 , pero no con flujo de CO_2 , pero también indican que existen cepas bacterianas nativas de BAL anaerobias facultativas que a las 48 h tuvieron una población similar al tratamiento inoculado con la cepa aislada en el laboratorio con concentraciones superiores a 10^8 células g^{-1} de MS.

Se ha recomendado que la circulación de oxígeno en la FES facilita mayor y mejor crecimiento de los microorganismos aerobios, permitiendo mayor producción de metabolitos (Robinson *et al.*, 2002), además la menor cantidad de agua en la FES permite un mejor manejo de los productos finales, lo que involucra mejor gasto de energía, lo cual permite el manejo en proceso para la fabricación de alimentos para los animales en cortos periodos de tiempo.

En la concentración de BC no hubo diferencia ($P > 0.05$) entre tratamientos a las 24 y 48 h; sin embargo, la concentración se fue reduciendo ($P < 0.05$) en los tratamientos donde hubo flujo de CO_2 con 10^7 bacterias g^{-1} de MS,

contra 10^8 bacterias g^{-1} de MS de los tratamientos con flujo de O_2 . Por el número de células registradas en los tratamientos, se infiere que independientemente del inoculo, las BC tienen buen crecimiento en el ensilado de caña de azúcar adicionada con NNP; aunque los tratamientos donde se reportó el pH más bajo las poblaciones fueron menores, lo cual es normal, en comparación donde el pH registró valores de 5.76.

Respecto a la concentración de BT a las 24 h, todos los tratamientos, excepto el 1A, donde a 48 h fue menor ($P < 0.05$) al resto; y a 72 h, la concentración menor la registró el tratamiento 1B (ambos inoculados con *P. acidilactici*). Sin embargo, la menor concentración estuvo en el orden de las 7.33×10^{11} células g^{-1} de MS, mientras que la mayor fue de 2.10×10^{12} células g^{-1} de MS lo que indica que las cepas nativas y las inoculadas, de la caña de azúcar, tienen excelente crecimiento bajo las condiciones de cultivo establecidas en este trabajo. La población de BT de alrededor de 10^{12} células g^{-1} de MS fue lo que posiblemente permitió el aumento en los niveles de PC resultante en todos los tratamientos

y, posiblemente, también de su pérdida en forma de amoníaco en algunos tratamientos.

Cuadro 2. Concentración de los diferentes tipos de bacterias en los tratamientos.

Tratamientos	Tiempo de fermentación (h)		
	24	48	72
Bacterias ácido lácticas ($\times 10^6$)			
1A	110a	150a	350a
1B	200a	110a	70b
2A	75b	150a	95b
2B	30b	600a	70b
EEM	84	160	33
Bacterias Celulolíticas ($\times 10^6$)			
1A	150000a	350a	140a
1B	350000a	700a	2b
2A	140000a	150a	280a
2B	390000a	200a	28b
EEM	120000	340	60
Bacterias totales ($\times 10^9$)			
1A	312a	74b	2100a
1B	937a	146a	733b
2A	579a	333a	1000a
2B	491a	237a	2100a
EEM	198	88	444

a, b, c Medias con distinta letra en una columna son diferentes ($p \leq 0.05$); E.E.M: error estándar de la media. 1A: Caña de azúcar + *P. acidilactici* + O_2 ; 1B: Caña de azúcar + *P. acidilactici* + CO_2 ; 2A: Caña de azúcar sin *P. acidilactici* + O_2 ; 2B: Caña de azúcar sin *P. acidilactici* + CO_2 .

CONCLUSIONES

El empleo de técnicas de conservación de forraje (ensilado) como la FES de la caña de azúcar es una alternativa para la alimentación de rumiantes en temporada de secas. Este proceso de fermentación mejoró el contenido de proteína cruda, siendo aun mayor cuando hubo flujo de CO_2 , aunque se sugiere realizar estudios de digestibilidad *in vitro* y degradabilidad del producto final para determinar la cantidad y la calidad de la proteína verdadera generada en dicho proceso, así como la degra-

dabilidad de la fibra cruda resultante. El pH ácido es un indicador muy importante en la evaluación de la calidad de los ensilados, no solo porque genera ambientes no propicios para el crecimiento de bacterias patógenas, sino porque se está estrechamente relacionado a un alto contenido de proteína debido a la formación de ácidos orgánicos a partir del nitrógeno no proteico (NNP). Los diferentes grupos bacterianos (BAL, BC y BT) presentaron un buen crecimiento en todas las condiciones de cultivo, lo que indica que no es necesario inocular cepas de BAL aisladas artificialmente para mejorar la calidad nutritiva y organoléptica del ensilado de caña de azúcar integral.

AGRADECIMIENTOS

Al CONACyT por el financiamiento del proyecto intitulado "Estimación e impacto ambiental de la captura de carbono en plantaciones de palma de aceite (*Elaeis guineensis*, Jacq) en el estado de Chiapas" dentro de la convocatoria de Proyectos de Desarrollo Científico para Atender Problemas Nacionales (PDCPN2013-01). Al Laboratorio "G" de Bromatología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chiapas por su valiosa colaboración en la ejecución de los análisis bromatológicos.

LITERATURA CITADA

- Aranda E., Georgana L., Ramos J., Salgado S. 2012. Elaboración de un alimento basado en caña de azúcar a partir de la fermentación en estado sólido y con diferentes niveles de zeolitas. Online. Consultado el 12 de julio de 2014.
- Aranda E., Ramos J.A., Mendoza G. 2003. Caña de azúcar en la alimentación de bovinos Gobierno del Estado de Tabasco. Villahermosa. Tabasco, México. pp. 1-22.
- Cárdenas J.R., Aranda E.M., Hernández D., Lagunes L.C., Ramo J.A., Salgado S. 2008. Obtención de un alimento fermentado en estado sólido a partir del bagacillo de retorno, pulido de arroz inóculos. Su utilización en la alimentación animal. Rev. Cubana Cienc. Agríc. 42 (2): 173-176.
- De Man J.C., Rogosa M., Sharpe M.E. 1960. A medium for the cultivation of lactobacilli. J. Appl. Bacteriol. 23:130-135.
- Harrigan W.F., Mc Cance E.M. 1979. Métodos de laboratorio en microbiología de alimentos y productos lácteos. Ed. Academia. León, España. pp. 361-366.
- Ley de Coss A., Arce-Espino C., Cobos-Peralta M., Hernández-Sánchez D., Pinto-Ruiz R. 2013. Estudio comparativo entre la cepa de *Pediococcus acidilactici* aislada del rumen de borregos y un consorcio de bacteria ruminales. Agrociencia 47: 567-578.
- Lynch J., Barbano D. 1999. Kjeldhal Nitrogen Analysis as a Reference Method for Protein Determination in Dairy Products. Journal of AOAC International. 82 (6)
- Monroy J.M., Aranda E., Mendoza G., Ramos J.A., Herrera J., Cobos M., Izquierdo F. 2006. Elaboración y conservación de Saccharina a partir de caña de azúcar integral, con la adición de melaza y pulidura de arroz. Rev. Cubana Cienc. Agríc. 40(2):167-172.
- Peláez A.A., Meneses M., Miranda R., Megías R., Barcena G., Loera O. 2008. Ventajas de la fermentación sólida con *Pleurotus sapidus* en ensilajes de caña de azúcar. Archivos de zootecnia. 57 (217): 26.
- Peláez A., Meneses M., Miranda R., Ayala M. Crosby G., Loera C., Megías R. 2011. Enzimas Fibrolíticas producidas por fermentación en estado sólido para mejorar los ensilajes de caña de azúcar. Agrociencia, 45(1):001-012.
- Ramos J.A., Elías A., Herrera F. 2006. Procesos para la producción de un alimento energético - proteico para animales. Efecto de cuatro fuentes energéticas en la fermentación en estado sólido (FES) de la caña de azúcar. Rev. Cubana Cienc. Agríc. 40 (1): 51-58.
- Robinson T., Singh D., Nigam P. 2002. Fermentación en estado sólido: una tecnología microbiana promisoría para la producción de metabolitos secundarios. Vitae. 9 (2). 27-36.
- SAS. Institute Inc. 2009. Statistical Analysis System, SAS, User's Guide: SAS Inst., Cary, NC.
- Valdivie M., González L. M., Elías A. 1997. Nuevos tipos de Saccharinas para aves. Rev. Cubana Cienc. Agríc. 31:231.

