

Effect of dry fermented rumen liquor on productive indicators of replacement White Leghorn laying hens

Efecto del líquido ruminal fermentado seco en indicadores productivos de aves reemplazo de ponedoras White Leghorn

Bárbara Rodríguez, Lourdes Savón, A. Elías[†] and Magaly Herrera

Instituto de Ciencia Animal, Apartado postal 24, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

Email: brodriguez@ica.co.cu

Bárbara Rodríguez: <https://orcid.org/0000-0003-0740-9346>

Lourdes Savón: <https://orcid.org/0000-0001-9880-0310>

Magaly Herrera: <https://orcid.org/0000-0002-2641-1815>

A total of 840 animals, from 1 to 126 days of age, randomly distributed into four experimental treatments, were used for evaluating the effect of including 0, 1, 2 and 3 % of dry fermented ruminal liquor in the diet on productive performance. Viability of hens was higher than 96 %, which shows that these treatments had no negative effects on health. Feed intake was not affected by the product. However, at 84 d, feed conversion ($P=0.0003$) and liveweight ($P=0.0008$) improved with respect to the group in which it was not included. From day 1 to 126, only differences were found between the 2% treatment and the untreated group for feed conversion (4.51 vs. 4.76, $P=0.0245$) and liveweight (1419 vs. 1349, $P=0.0360$). Mean liveweight of the batch, in each stage, had a coefficient of variation lower than 8, which corresponds to a uniformity superior to 90%, which indicates that it was good. No effect of treatment on ovary and oviduct development was found. Dry fermented ruminal liquor improved liveweight and feed conversion of replacement layers with high viability and uniformity. Results suggest the use of this product up to 3% in the diet of this poultry category.

Keywords: *poultry, rumen content, fermentation, additive*

Biological additives are frequently used in production systems with positive effects on animal feed and health (Wang *et al.* 2020). Rumen content is one of the pollutants with the greatest environmental effect, since it produces a large organic load in the effluents of slaughterhouses. However, it is a valuable nutrient source for animal feed, as it represents the undigested part of ruminant feed, as well as a large microbial load and rumen fermentation products (Sugiarto *et al.* 2014). It is suggested that it contains microorganisms such as *Lactobacilli spp.*, *Saccharomyces spp.*, actinomycetes and fermentable fungi (among others) that live in symbiosis in it. Therefore, it can be considered as a mixed culture of efficient microorganisms, which together with its nutritional characteristics and its great availability, enables different reuse alternatives (Cherdthong *et al.* 2015 and Castro *et al.* 2018).

One of the inconveniences that rumen content may present is its preservation or conservation, due to its great humidity. Fermentation is one of the technologies

Se utilizaron 840 aves, desde 1 hasta 126 días de edad, distribuidas aleatoriamente en cuatro tratamientos experimentales, para evaluar el efecto en el comportamiento productivo, al incluir en la dieta 0, 1, 2 y 3 % del líquido ruminal fermentado seco. La viabilidad de las aves fue superior a 96 %, lo que evidencia que dichos tratamientos no tuvieron efectos negativos en la salud. El producto no influyó en el consumo de alimento. Sin embargo, a los 84 d mejoró la conversión alimentaria ($P=0.0003$) y el peso vivo ($P=0.0008$) con respecto al grupo en el que no se incluyó. Desde el día 1 hasta el 126, solo se hallaron diferencias entre el tratamiento con 2 % y el grupo sin tratar para la conversión alimentaria (4.51 vs 4.76, $P=0.0245$) y el peso vivo (1419 vs 1349, $P=0.0360$). El peso vivo promedio del lote en cada etapa tuvo un coeficiente de variación inferior a 8, que se corresponde con una uniformidad superior al 90 %, lo que indica que fue buena. No se halló efecto del tratamiento en el desarrollo del ovario y el oviducto. El líquido ruminal fermentado seco mejoró el peso vivo y la conversión alimentaria del reemplazo de ponedoras con alta viabilidad y uniformidad. Los resultados permiten sugerir la utilización de este producto hasta 3% en la dieta de esta categoría avícola.

Palabras clave: *aves, contenido de rumen, fermentación, aditivo*

Los aditivos biológicos se utilizan frecuentemente en los sistemas de producción con efectos positivos en la alimentación y salud animal (Wang *et al.* 2020). El contenido del rumen es uno de los contaminantes con mayor efecto ambiental, ya que produce gran carga orgánica en los efluentes de los mataderos. Sin embargo, es una valiosa fuente de nutrientes para la alimentación animal, al representar la parte no digerida del alimento de poligástricos, además de gran carga microbiana y de productos de la fermentación del rumen (Sugiarto *et al.* 2014). Se plantea que tiene microorganismos como *Lactobacilos spp.*, *Saccharomyces spp.*, actinomicetos y hongos fermentables (entre otros) que viven en simbiosis en él, por lo que se puede considerar un cultivo mixto de microorganismos eficientes, que unido a sus características nutricionales y a su gran disponibilidad, posibilita diferentes alternativas de reutilización (Cherdthong *et al.* 2015 y Castro *et al.* 2018).

Uno de los inconvenientes que puede presentar el contenido del rumen es su preservación o conservación, por la gran cantidad de humedad que posee. Entre las

used to preserve and improve feed quality. According to Zhu *et al.* (2020), fermentation is a dynamic process that modifies the chemical composition and physical properties of foods. In poultry, fermented foods or products have demonstrated the potential to improve morphological and intestinal digestive function, as well as to modulate the intestinal microbial ecosystem (Hu *et al.* 2016 and Li *et al.* 2020).

Egg production has the function of preparing the bird for a long productive life. Therefore, it is necessary to develop its metabolic capacity, so that it creates sufficient reserves to sustain high egg production (Rodríguez 2021). García *et al.* (2016) pointed out that, during the replacement stage, an adequate development of the digestive tract and the immune system must be achieved, as well as good health. To achieve the aforementioned objectives, biological additives are frequently used with positive effects on productive, physiological and health indicators. Therefore, in this study, the effect of including dry fermented ruminal liquor (DFRL) in the diet on productive indicators of replacement laying hens was determined.

Materials and Methods

The study was developed in the poultry experimental unit of the Institute of Animal Science, located in San José de las Lajas municipality, Mayabeque province. Mean environmental temperature was 27.4 °C and relative humidity was 78 %.

Animals and diets. A total of 840 replacement White Leghorn L-33 laying hens were used, with mean initial liveweight of 36 ± 1.0 g/bird, from 1 to 126 d of age, which were randomly distributed into four treatments, with seven repetitions each and 30 animals/cage. Hens received food *ad libitum* in linear feeders and water at will through nipple drinkers, at a rate of three per cage. Beak trimming, lighting regimen and vaccination scheme were carried out according to regulations established in the Technological Manual, according to Godínez *et al.* (2013).

Diets were produced weekly and were formulated as isoproteic and isoenergetic, according to the recommendations cited in the Technological Manual (Godínez *et al.* 2013) for this poultry category. The experimental treatments were formed from the inclusion of 0 (control), 1, 2 and 3 % of DFRL in the diets, according to the growth phases: start (1 to 42 d of age) (table 1), growth (43-84 d of age) (table 2), development (85 to 112 d of age) (table 3) and pre-laying (113-126 d of age) (table 4).

A single batch of the product was produced in the Food Production Laboratory of the Institute of Animal Science, as described by Savón *et al.* (2020). For diet formulation, the bromatological composition of the DFRL was considered: 88.90 % of dry matter (DM), 9.25 % of crude protein (CP), 0.49 % of crude fiber

tecnologías que se emplean para conservar y mejorar la calidad de los alimentos se halla la fermentación. Según Zhu *et al.* (2020), la fermentación es un proceso dinámico que modifica la composición química y las propiedades físicas de los alimentos. En aves se ha demostrado que los alimentos o productos fermentados tienen el potencial de mejorar la función digestiva intestinal y morfológica, así como de modular el ecosistema microbiano intestinal (Hu *et al.* 2016 y Li *et al.* 2020).

La producción de huevos está en función de preparar al ave para una vida productiva larga, por lo que se hace necesario desarrollar su capacidad metabólica, de modo que cree reservas suficientes para sostener elevadas producciones de huevos (Rodríguez 2021). García *et al.* (2016) señalaron que durante la etapa de reemplazo se debe lograr un adecuado desarrollo del tracto digestivo y del sistema inmune; además de un buen estado sanitario. Para alcanzar los objetivos antes mencionados, se utilizan frecuentemente aditivos biológicos con efectos positivos en los indicadores productivos, fisiológicos y de salud. Por tanto, en este estudio, se determinó el efecto en indicadores productivos de reemplazo de ponedoras, al incluir en la dieta el líquido ruminal fermentado seco (LRFS).

Materiales y Métodos

El trabajo se desarrolló en la unidad experimental avícola del Instituto de Ciencia Animal, ubicado en el municipio San José de las Lajas, provincia Mayabeque. La temperatura media ambiental fue de 27.4 °C y la humedad relativa de 78 %.

Animales y dietas. Se utilizaron 840 aves de reemplazo de gallinas ponedoras White Leghorn L-33, con peso vivo inicial promedio de 36 ± 1.0 g/ave, desde 1 hasta 126 d de edad, que se distribuyeron aleatoriamente en cuatro tratamientos, con siete repeticiones cada uno y 30 animales/jaula. Las aves recibieron el alimento *ad libitum* en comederos lineales y el agua a voluntad mediante bebederos tetina, a razón de tres por jaula. El corte de pico, el régimen de iluminación y el esquema de vacunación, se realizó por lo que se establece en el Manual Tecnológico, según Godínez *et al.* (2013).

Las dietas se elaboraron semanalmente y se formularon isoproteicas e isoenergéticas, según las recomendaciones citadas en el Manual Tecnológico (Godínez *et al.* 2013) para esta categoría avícola. Los tratamientos experimentales se conformaron a partir de la inclusión de 0 (control), 1, 2 y 3 % del LRFS en las dietas, según las fases de crecimiento: inicio (1 a 42 d de edad) (tabla 1), crecimiento (43-84 d de edad) (tabla 2), desarrollo (85 a 112 d de edad) (tabla 3) y prepostura (113-126 d de edad) (tabla 4).

Se elaboró un único lote del producto, en el Laboratorio de Producción de Alimentos del Instituto de Ciencia Animal, según lo descrito por Savón *et al.* (2020). Para la formulación de las dietas, se consideró la composición bromatológica del LRFS: 88.90 % de materia seca (MS), 9.25 % de proteína bruta (PB), 0.49 % de fibra bruta (FB), 0.35 % de fósforo total (Pt) y 0.48 % de calcio (Ca).

Table 1. Composition and contribution of diets for start stage of replacement laying hens (1- 42 d of age)

| Ingredients | DFRL inclusion levels, % | | | |
|-----------------------------|-------------------------------------|-------|-------|-------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 |
| Corn meal | 54.75 | 53.26 | 51.55 | 49.87 |
| Soybean meal, 44 % CP | 38.41 | 38.45 | 38.54 | 38.63 |
| DFRL | 0 | 1.00 | 2.00 | 3.00 |
| Plant oil | 1.40 | 1.87 | 2.50 | 3.12 |
| Monocalcium phosphate | 1.71 | 1.71 | 1.71 | 1.68 |
| Calcium carbonate | 1.74 | 1.72 | 1.71 | 1.70 |
| Salt | 0.38 | 0.38 | 0.38 | 0.38 |
| DL- methionine | 0.23 | 0.23 | 0.23 | 0.23 |
| L- lysine | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| Choline chlorite | 0.13 | 0.13 | 0.13 | 0.13 |
| Mineral and vitamin premix* | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| | Calculated nutrient contribution, % | | | |
| CP | 21.00 | 21.00 | 21.00 | 21.00 |
| ME, MJ/kg | 12.17 | 12.13 | 12.13 | 12.13 |
| CF | 3.00 | 2.98 | 2.97 | 2.95 |
| Calcium | 1.05 | 1.05 | 1.05 | 1.05 |
| Phosphorus | 0.48 | 0.48 | 0.48 | 0.48 |
| L-lysine | 1.20 | 1.20 | 1.20 | 1.20 |
| DL-methionine | 0.80 | 0.79 | 0.80 | 0.80 |

DFRL: Dry fermented rumen liquor. *Vitamin supplement: vit. A 12,000 IU; vit. D₃ 2,500 IU; vit. E 40 mg; vit. K 2.1 mg; thiamine 2.5 mg, riboflavin 6.0 mg, pyridoxine 5.0 mg, vit. B₁₂ 0.020 mg, nicotinic acid 35 mg, pantothenic acid 12 mg, folic acid 1 mg, biotin 0.25 mg. Mineral supplement: selenium 0.2 mg, iron 60 mg, copper 8 mg, zinc 70 mg, manganese 80 mg, iodine 0.80 mg, cobalt 0.5 mg

Table 2. Composition and contribution of diets for growth stage of replacement laying hens (43-84 d of age)

| Ingredients | DFRL inclusion levels, % | | | |
|-----------------------------|-------------------------------------|-------|-------|-------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 |
| Corn meal | 53.42 | 51.50 | 50.34 | 48.90 |
| Soybean meal, 44 % CP | 29.50 | 29.72 | 29.75 | 29.78 |
| Wheat bran | 10.00 | 10.00 | 10.00 | 10.00 |
| DFRL | 0 | 1.00 | 2.00 | 3.00 |
| Plant oil | 2.00 | 2.70 | 2.90 | 3.35 |
| Monocalcium phosphate | 1.50 | 1.50 | 1.43 | 1.43 |
| Calcium carbonate | 1.72 | 1.72 | 1.71 | 1.70 |
| Salt | 0.35 | 0.38 | 0.38 | 0.38 |
| DL- methionine | 0.18 | 0.23 | 0.23 | 0.23 |
| L- lysine | 0.20 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| Choline chlorite | 0.13 | 0.13 | 0.13 | 0.13 |
| Mineral and vitamin premix* | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| | Calculated nutrient contribution, % | | | |
| CP | 18.50 | 18.50 | 18.50 | 18.50 |
| ME, MJ/kg | 11.92 | 11.92 | 11.92 | 11.92 |
| CF | 3.48 | 3.48 | 3.48 | 3.45 |
| Calcium | 1.05 | 1.05 | 1.05 | 1.00 |
| Phosphorus | 0.48 | 0.48 | 0.48 | 0.45 |
| L-lysine | 1.20 | 1.20 | 1.20 | 1.20 |
| DL-methionine | 0.80 | 0.79 | 0.80 | 0.80 |

DFRL: Dry fermented rumen liquor. *Vitamin supplement: vit. A 8,500 IU; vit. D₃ 2,000 IU; vit. E 10 mg; vit. K 2.1 mg; thiamine 1.5 mg, riboflavin 4.0 mg, pyridoxine 3.0 mg, vit. B₁₂ 0.010 mg, nicotinic acid 30 mg, pantothenic acid 10 mg, folic acid 0.6 mg, biotin 0.10 mg. Mineral supplement: selenium 0.2 mg, iron 60 mg, copper 8 mg, zinc 70 mg, manganese 80 mg, iodine 0.80 mg, cobalt 0.5 mg

Table 3. Composition and contribution of diets for development stage of replacement laying hens (85-112 d of age)

| Ingredients | DFRL inclusion levels, % | | | |
|-------------------------------------|--------------------------|-------|-------|-------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 |
| Corn meal | 57.86 | 58.00 | 56.98 | 56.26 |
| Soybean meal, 44 % CP | 17.00 | 17.37 | 17.10 | 17.27 |
| Wheat bran | 18.50 | 17.00 | 17.00 | 16.30 |
| DFRL | 0 | 1.00 | 2.00 | 3.00 |
| Plant oil | 1.50 | 1.50 | 1.85 | 2,10 |
| Monocalcium phosphate | 1.45 | 1.45 | 1.45 | 1.45 |
| Calcium carbonate | 1.92 | 1.92 | 1.85 | 1.85 |
| Salt | 0.35 | 0.35 | 0.35 | 0.35 |
| DL- methionine | 0.17 | 0.17 | 0.17 | 0.17 |
| L- lysine | 0.12 | 0.11 | 0.12 | 0.12 |
| Choline chlorite | 0.13 | 0.13 | 0.13 | 0.13 |
| Mineral and vitamin premix* | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| Calculated nutrient contribution, % | | | | |
| CP | 14.56 | 14.59 | 14.50 | 14.50 |
| ME, MJ/kg | 11.51 | 11.51 | 11.51 | 11.51 |
| CF | 3.75 | 3.63 | 3.60 | 3.53 |
| Calcium | 1.05 | 1.05 | 1.05 | 1.05 |
| Phosphorus | 0.45 | 0.45 | 0.45 | 0.45 |
| L-lysine | 0.67 | 0.67 | 0.67 | 0.67 |
| DL-methionine | 0.57 | 0.57 | 0.57 | 0.57 |

DFRL: Dry fermented rumen liquor. *Vitamin supplement: vit. A 8,500 IU; vit. D₃ 2,000 IU; vit. E 10 mg; vit. K 2.1 mg; thiamine 1.5 mg, riboflavin 4.0 mg, pyridoxine 3.0 mg, vit. B₁₂ 0.010 mg, nicotinic acid 30 mg, pantothenic acid 10 mg, folic acid 0.6 mg, biotin 0.10 mg. Mineral supplement: selenium 0.2 mg, iron 60 mg, copper 8 mg, zinc 70 mg, manganese 80 mg, iodine 0.80 mg, cobalt 0.5 mg

Table 4. Composition and contribution of diets for pre-laying stage (113-126 d of age)

| Ingredients | DFRL inclusion levels, % | | | |
|-------------------------------------|--------------------------|-------|-------|-------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 |
| Corn meal | 61.86 | 60.90 | 56.98 | 56.26 |
| Soybean meal, 44 % CP | 25.90 | 26.25 | 17.10 | 17.27 |
| Wheat bran | 5.00 | 4.00 | 5.00 | 5.00 |
| DFRL | 0.0 | 1.00 | 2.00 | 3.00 |
| Plant oil | 0.0 | 0.50 | | |
| Monocalcium phosphate | 1.54 | 1.54 | 1.45 | 1.45 |
| Calcium carbonate | 4.35 | 4.33 | 1.85 | 1.85 |
| Salt | 0.25 | 0.25 | 0.35 | 0.35 |
| DL- methionine | 0.10 | 0.10 | 0.17 | 0.17 |
| Choline chlorite | 0.13 | 0.13 | 0.13 | 0.13 |
| Mineral and vitamin premix* | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| Calculated nutrient contribution, % | | | | |
| CP | 16.96 | 17.05 | 16.81 | 16.88 |
| ME, MJ/kg | 11.63 | 11.64 | 11.63 | 11.63 |
| CF | 2.87 | 2.80 | 2.75 | 2.65 |
| Calcium | 2.00 | 2.00 | 2.00 | 2.00 |
| Phosphorus | 0.45 | 0.44 | 0.44 | 0.44 |
| L-lysine | 0.86 | 0.86 | 0.84 | 0.85 |
| DL-methionine | 0.61 | 0.61 | 0.60 | 0.60 |

DFRL: Dry fermented rumen liquor. *Vitamin supplement: vit. A 8,500 IU; vit. D₃ 2,000 IU; vit. E 10 mg; vit. K 2.1 mg; thiamine 1.5 mg, riboflavin 4.0 mg, pyridoxine 3.0 mg, vit. B₁₂ 0.010 mg, nicotinic acid 30 mg, pantothenic acid 10 mg, folic acid 0.6 mg, biotin 0.10 mg. Mineral supplement: selenium 0.2 mg, iron 60 mg, copper 8 mg, zinc 70 mg, manganese 80 mg, iodine 0.80 mg, cobalt 0.5 mg

(FB), 0.35% of total phosphorus (tP) and 0.48% of calcium (Ca).

Productive indicators. Productive performance was determined according to growth stages (42, 84 and 126 d of age): feed intake by the offer and rejection method, liveweight on a technical scale (SARTORIUS, Germany), with ± 0.10 g precision and feed conversion (kg/kg liveweight gain). Deaths were daily controlled, which allowed to find the viability in each stage. For uniformity, the individual liveweight of 21 birds/treatment was used for each rearing stage. At the end, 10 hens per treatment were sacrificed to evaluate ovary and oviduct development. Oviduct length and weight data, as well as ovary weight, were taken, which allowed calculating these indicators relative to liveweight.

Statistical methods. The theoretical assumptions of the analysis of variance and normality of errors were verified based on Shapiro and Wilk (1965) test and by homogeneity of variance, according to Levene (1960) test for the viability variable. As the theoretical assumptions of ANOVA were not met, the arcsine $\sqrt{\%}$ transformation was used. However, the latter did not improve compliance with these assumptions, so a non-parametric Kruskal Wallis analysis of variance was performed. Conover (1999) test was applied for the comparison of mean ranges.

For the productive indicators feed intake, liveweight, feed conversion, oviduct relative length, relative weights of oviduct and ovary, analysis of variance was performed, according to a completely randomized design. Mean values were compared using Duncan (1955) test in the necessary cases. For batch uniformity, descriptive statistics (mean, standard deviation, coefficient of variation, and confidence intervals) was applied. For data analysis, the statistical package Infostat (Di Rienzo *et al.* 2012) was used.

Results and Discussion

Table 5 shows that viability of replacement layers was greater than 96%, demonstrating that DFRL had no negative effects on poultry health. The product did not influence on feed intake. However, at 84 d of age, feed conversion improved ($P=0.0003$) compared to the group in which it was not included. Meanwhile, in general rearing (1-126 d of age), no differences were found for this indicator among the groups with DFRL. The group with 2 % differed ($P=0.0245$) from those that did not receive the product (4.51 vs. 4.76, respectively).

Results correspond to those of Savón *et al.* (2020), who found greater elongation of villi of the mucus of the small intestine and hyperplasia of cecal tonsils in broilers that consumed DFRL, which could indicate better absorption of nutrients and possible immunostimulatory effect. Similarly, DFRL, due to its richness in Lactobacillus, yeasts, organic acids with short carbonated chains and

Indicadores productivos. El comportamiento productivo se determinó en función de las etapas de crecimiento (42, 84 y 126 d de edad): consumo de alimento por el método de oferta y rechazo, peso vivo en una balanza técnica (SARTORIUS, Alemania), con precisión ± 0.10 g y conversión alimentaria (kg/kg de ganancia de peso vivo). Se controlaron diariamente las muertes, lo que permitió hallar la viabilidad en cada etapa. Para la uniformidad, se utilizó el peso vivo individual de 21 aves/tratamiento para cada etapa de crianza. Al finalizar, se sacrificaron 10 aves por tratamiento para evaluar el desarrollo del ovario y oviducto. Se tomaron los datos longitud y peso del oviducto, así como el peso del ovario, lo que permitió calcular estos indicadores relativos al peso vivo.

Métodos estadísticos. Se verificaron los supuestos teóricos del análisis de varianza y normalidad de errores a partir de la dócima de Shapiro y Wilk (1965) y por homogeneidad de varianza, según la dócima de Levene (1960) para la variable viabilidad. Al no cumplir con los supuestos teóricos del ANOVA, se utilizó la transformación arcoseno $\sqrt{\%}$. Sin embargo, esta última no mejoró el cumplimiento de dichos supuestos, por lo que se realizó análisis de varianza no paramétrico Kruskal Wallis. Se aplicó la dócima de Conover (1999) para la comparación de los rangos medios.

Para los indicadores productivos consumo de alimento, peso vivo, conversión alimentaria, longitud relativa del oviducto, pesos relativos del oviducto y el ovario, se realizó análisis de varianza, según diseño completamente aleatorizado. Los valores medios se compararon mediante la dócima de Duncan (1955) en los casos necesarios. Para la uniformidad del lote, se aplicó estadística descriptiva (media, desviación estándar, coeficiente de variación e intervalos de confianza). Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.* 2012).

Resultados y Discusión

En la tabla 5 se muestra que la viabilidad del reemplazo de ponedoras fue superior a 96 %, lo que demuestra que el LRFS no tuvo efectos negativos en la salud de las aves. El producto no influyó en el consumo de alimento. Sin embargo, a los 84 d de edad mejoró ($P=0.0003$) la conversión alimentaria con respecto al grupo en el que no se incluyó. En tanto, en la crianza general (1-126 d de edad) no se hallaron diferencias para este indicador entre los grupos con LRFS. El de 2 % difirió ($P=0.0245$) del que no recibió el producto (4.51 vs 4.76, respectivamente).

Los resultados se corresponden con los de Savón *et al.* (2020), quienes hallaron mayor elongación de las vellosidades de la mucosa del intestino delgado y una hiperplasia de los tonsiles cecales en pollos de engorde que consumieron LRFS, lo que pudiera indicar mejor absorción de nutrientes y posible efecto inmunoestimulante. De igual forma, el LRFS, por su riqueza en Lactobacillus, levaduras,

Table 5. Productive response of replacement laying hens with the inclusion of DFRL in diets

| Productive indicators | DFRL inclusion levels, % | | | | SE (\pm) | P |
|------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------|--------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | | |
| General viability, % | 9.64 (96.66) SD=2.72 | 17.79 (99.51) SD=1.26 | 16.86 (98.56) SD=3.78 | 13.71 (98.09) SD=2.62 | | 0.1220 |
| Feed intake, kg/hen | | | | | | |
| 1-42 d of age | 1.02 | 1.01 | 1.01 | 1.02 | 0.004 | 0.0512 |
| 43-84 d of age | 2.22 | 2.21 | 2.22 | 2.20 | 0.01 | 0.0753 |
| 85-126 d of age | 3.01 | 3.02 | 3.01 | 3.03 | 0.01 | 0.0858 |
| 1-126 d of age | 6.25 | 6.24 | 6.22 | 6.24 | 0.01 | 0.3724 |
| Feed conversion, kg/kg | | | | | | |
| 1-42 d of age | 2.42 | 2.48 | 2.42 | 2.45 | 0.04 | 0.5168 |
| 43-84 d of age | 1.98 ^a | 1.88 ^b | 1.88 ^b | 1.86 ^b | 0.02 | 0.0003 |
| 85-126 d of age | 2.29 | 2.24 | 2.18 | 2.23 | 0.03 | 0.0511 |
| 1-126 d of age | 4.76 ^a | 4.63 ^{ab} | 4.51 ^b | 4.60 ^{ab} | 0.05 | 0.0245 |
| Liveweight, g/hen | | | | | | |
| 42 d of age | 458 | 445 | 450 | 452 | 5.63 | 0.4534 |
| 84 d of age | 1162 ^a | 1215 ^b | 1215 ^b | 1219 ^b | 9.69 | 0.0008 |
| 126 d of age | 1349 ^a | 1385 ^{ab} | 1419 ^b | 1395 ^{ab} | 15.85 | 0.0360 |

^{a,b} Different letters in the same line differ at $P < 0.05$

DFRL: dry fermented ruminal liquor

SD: standard deviation () means from original data

low pH, could stabilize the flora of the gastrointestinal tract and increase digestibility of dry matter and cell wall (Castro *et al.* 2018).

Several studies point out the beneficial effect of fermentation and lactic acid bacteria on indicators of productive performance. Authors such as Chiang *et al.* (2010), Missotten *et al.* (2013) and Sugiharto and Ranjitkar (2019) suggested that fermented products can increase the length of the small intestine to maintain the normal microbial ecosystem and improve intestinal morphology. This makes it possible to increase digestion and absorption, which translates into a better productive performance. Wu *et al.* (2019) found, with the use of *Lactobacillus*, an increase of these microorganisms in the intestine, a higher serum concentration of immunoglobulins, as well as a decrease of *Escherichia coli* and pH in the ileum and cecum, which favors poultry health.

Liveweight of hens, at 84 d of age, was similar in the treatments with DFRL and superior to control group ($P=0.0008$). However, at 126 d of age, this indicator remained similar among experimental treatments, and only 2 % was higher ($P=0.0360$) than the group without the product (1419 vs. 1349 g/bird, respectively). The previous is related to the best feed conversion achieved in the treatments with the product, and allowed the good body development of the animals. This is important, since the growth stage is the one with the greatest weight gain during rearing. In this period, the birds develop 90% of their bone structure (Grandía *et al.* 2016), which will allow having a bird that has body reserves for laying.

At 126 d of age, regardless of the treatment, animals reached a liveweight higher than that established for this

ácidos orgánicos de cadenas carbonadas cortas y pH bajo, pudiera estabilizar la flora del tracto gastrointestinal e incrementar la digestibilidad de la materia seca y de la pared celular (Castro *et al.* 2018).

Diversos trabajos señalan el efecto beneficioso de la fermentación y las bacterias lácticas en los indicadores de comportamiento productivo. Autores como Chiang *et al.* (2010), Missotten *et al.* (2013) y Sugiharto y Ranjitkar (2019) plantearon que los productos fermentados pueden incrementar la longitud del intestino delgado para mantener el ecosistema microbiano normal y mejorar la morfología intestinal. Esto posibilita el incremento de la digestión y la absorción que se traduce en un mejor comportamiento productivo. Wu *et al.* (2019) hallaron con la utilización de *Lactobacillus* incremento de estos microorganismos en el intestino, mayor concentración sérica de inmunoglobulinas, así como disminución de *Escherichia coli* y del pH en ileón y ciego, lo que favorece la salud de las aves.

El peso vivo de las aves, a los 84 d de edad fue similar en los tratamientos con el LRFS y superior al grupo control ($P=0.0008$). Sin embargo, a los 126 d de edad, este indicador se mantuvo similar entre los tratamientos experimentales, y solo 2 % fue mayor ($P=0.0360$) que el grupo sin el producto (1419 vs 1349 g/ave, respectivamente). Lo anterior se relaciona con la mejor conversión alimentaria alcanzada en los tratamientos con el producto, y permitió el buen desarrollo corporal de las aves. Esto es importante, ya que la etapa de crecimiento es la de mayor ganancia de peso durante la crianza. En este período, las aves desarrollan 90 % de su estructura ósea (Grandía *et al.* 2016), lo que permitirá contar con un ave que tenga reservas corporales para la puesta.

A los 126 d de edad, independientemente del tratamiento, las aves alcanzaron un peso vivo superior al que se establece

line (1,300 g/bird). This aspect should be considered for future studies, since some authors refer that overweight hens can determine lower yields in layers than those that arrive with the appropriate weight. This, in turn, means lower egg shell thickness, inferior persistence in production and greater death risk due to prolapse of the oviduct (Callejo 2011 and Martínez *et al.* 2013). Although García *et al.* (2016), when studying the effect of body weight on bioproductive indicators in White Leghorn L33 hens, found differences between production, weight and size of eggs for the group with higher body weight, higher internal egg quality (white and yolk height) was confirmed.

Batch uniformity in poultry rearing describes the variability in a population, and the more homogeneous it is, then it is expressed into better production (Itzá *et al.* 2011). Table 6 demonstrates that all liveweights, regardless of treatment and age, were found between the minimum and superior limits, determined with a variation coefficient lower than 8. According to Anón. (2020), a poultry batch having a coefficient of variation lower than 6, as it happens in the present research, corresponds to a uniformity superior to 90 %, which indicates that it was good. This will allow maintaining egg production in accordance with the potential of this genetic line (Gous 2018).

para esta línea (1300 g/ave). Este aspecto se debiera tener en cuenta en trabajos futuros, ya que algunos autores refieren que aves con sobrepeso pueden determinar menores rendimientos en ponedoras, que aquellas que llegan con el peso adecuado. Lo que a su vez se traduce en menor grosor de la cáscara del huevo, menor persistencia en la producción y mayor riesgo de muerte por prolapso del oviducto (Callejo 2011 y Martínez *et al.* 2013). Aunque García *et al.* (2016), al estudiar el efecto del peso corporal en los indicadores bioprodutivos en gallinas White Leghorn L33, encontraron diferencias entre producción, peso y tamaño de los huevos para el grupo de mayor peso corporal, se comprobó mayor calidad interna del huevo (altura de clara y yema).

La uniformidad del lote en la crianza avícola describe la variabilidad en una población, y mientras más homogénea es, después se traduce en una mejor producción (Itzá *et al.* 2011). En la tabla 6, se puede observar que todos los pesos vivos, independientemente del tratamiento y de la edad, se encontraron entre los límites mínimos y superiores, determinados con coeficiente de variación inferior a 8. Según Anón (2020), un lote de aves que tenga un coeficiente de variación inferior a 6, como sucede en el presente trabajo, se corresponde con una uniformidad superior a 90 %, lo que indica que fue buena. Esto permitirá mantener una producción de huevos de acuerdo con las potencialidades de esta línea genética (Gous 2018).

Table 6. Effect of the inclusion of DFRL on uniformity of liveweight of replacement layers, depending on the weeks of age

| DFRL inclusion levels, % | Uniformity | n | Mean liveweight | SD | CV, % | IL, 5 % | SL, 95 % |
|--------------------------|--------------|----|-----------------|-------|-------|---------|----------|
| 0 | 42 d of age | 21 | 477 | 16.04 | 3.37 | 469 | 484 |
| | 84 d of age | 21 | 1.179 | 64.21 | 5.45 | 1.150 | 1.208 |
| | 126 d of age | 21 | 1.389 | 88.58 | 6.38 | 1.348 | 1.429 |
| 1 | 42 d of age | 21 | 464 | 21.69 | 4.68 | 454 | 473 |
| | 84 d of age | 21 | 1.220 | 38.06 | 3.12 | 1.203 | 1.237 |
| | 126 d of age | 21 | 1.465 | 38.06 | 2.60 | 1.448 | 1.482 |
| 2 | 42 d of age | 21 | 458 | 17.47 | 3.82 | 450 | 466 |
| | 84 d of age | 21 | 1.219 | 49.84 | 4.09 | 1.197 | 1.242 |
| | 126 d of age | 21 | 1.464 | 49.84 | 3.40 | 1.442 | 1.487 |
| 3 | 42 d of age | 21 | 468 | 16.30 | 3.49 | 460 | 475 |
| | 84 d of age | 21 | 1.227 | 58.56 | 4.77 | 1.200 | 1.253 |
| | 126 d of age | 21 | 1.472 | 58.56 | 3.98 | 1.445 | 1.498 |

SD: standard deviation, CV: coefficient of variation, IL: inferior limit, SL: superior limit. DFRL: dry fermented ruminal liquor

Ovary and oviduct development of hens is closely related to their body development, so it is necessary to optimize the achievement of their development for future production.

Table 7 shows values related to ovary and oviduct of replacement layers, with the inclusion of DFRL in the diet. No treatment effect was found on these reproductive tract variables. Although a higher numerical trend was observed, with 3 % of the product in the relative length of the oviduct, and also in the relative weight of the ovary, compared to the group that did not consume the product.

El desarrollo del ovario y el oviducto de las aves tiene gran relación con el desarrollo corporal de las aves, por lo que se hace necesario optimizar el logro de su desarrollo para la futura producción.

En la tabla 7 se muestran los valores relativos del ovario y el oviducto de reemplazo de ponedoras con la inclusión de LRFS en la dieta. No se halló efecto del tratamiento en estas variables del aparato reproductor. Aunque se pudo observar una tendencia numérica superior, con 3 % del producto en la longitud relativa del oviducto, y también en el peso relativo del ovario, respecto al grupo que no

Table 7. Relative values of ovary and oviduct of replacement layers, with the inclusion of DFRL in the diet

| Variables | DFRL inclusion levels, % | | | | SE± | P |
|-----------------------------------|--------------------------|------|------|------|------|--------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | | |
| Oviduct relative length, cm/kg LW | 6.90 | 6.07 | 6.25 | 8.14 | 0.63 | 0.1087 |
| Ovary relative weight, g/kg LW | 0.36 | 0.44 | 0.38 | 0.42 | 0.02 | 0.0889 |
| Oviduct relative weight, g/kg LW | 0.29 | 0.25 | 0.29 | 0.30 | 0.02 | 0.4624 |

DFRL: dry fermented ruminal liquor

This indicates the need to deepen into these aspects and also consider a larger sample size.

Conclusions

Dry fermented ruminal liquor improved liveweight and feed conversion of replacement layers, with high viability and uniformity. Results allow to suggest the use of up to 3 % of this product in the diet of this poultry category.

Acknowledgements

Thanks to technicians who carried out the assembly and control of this research, as well as workers of the poultry unit and technicians and assistants of the laboratory. Gratitude is also expressed to the workers of the Institute of Animal Science, especially to colleagues of the Biostatistics department of the institute for the statistical analysis of results.

Conflict of interest

The authors declare that there are no conflicts of interests among them

Author's contribution

Bárbara Rodríguez: Conceptualization, Investigation, Data curation, Writing – original draft

Lourdes L. Savón: Conceptualization, Writing – original draft

Arabel Elíasf: Conceptualization

Magaly Herrera: Formal analysis, Writing – original draft

consumió el producto. Lo anterior indica la necesidad de profundizar en estos aspectos y considerar además, un tamaño de muestra superior.

Conclusiones

El líquido ruminal fermentado seco mejoró el peso vivo y la conversión alimentaria del reemplazo de ponedoras, con alta viabilidad y uniformidad. Los resultados permiten sugerir la utilización de este producto en la dieta de esta categoría avícola hasta 3 %.

Agradecimientos

Se agradece a los técnicos que realizaron el montaje y control de esta investigación, así como a los obreros de la unidad avícola y a los técnicos y auxiliares del laboratorio. Se expresa gratitud a los trabajadores del Instituto de Ciencia Animal, en especial a los compañeros del departamento de Bioestadística del Instituto por el análisis estadístico de los resultados.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses entre ellos

Contribución de los autores

Bárbara Rodríguez: Conceptualización, Investigación, Curación de datos, Redacción- borrador original

Lourdes L. Savón: Conceptualización, Redacción- borrador original

Arabel Elíasf: Conceptualización

Magaly Herrera: Análisis formal, Redacción- borrador original

References

- Anón. 2020. "Uniformidad de los broilers". Artículos técnicos. Selecciones avícolas. Available: <https://seleccionesavicolas.com/avicultura/2020/04>.
- Bramwell, K. 2003. "Breeder flock uniformity can make a difference" [on line]. Available: <http://poultryandeggnews.com/poultrytimes/focus/july2003/608568.html> [Consulted: Febrero 20, 2021].
- Callejo, A. 2011. "Alimentación y control de peso en las futuras ponedoras". OpenCourseWare Available: http://ocw.upm.es/produccion-animal/produccion-avicola/contenidos/TEMA_5/5-3-alimentacion-y-controlde-peso-en-las-futuras-ponedoras/view.
- Castro, J. I. B., Chirinos, D. M. P. & Sierra, W. N. R. 2018. "Uso de líquido ruminal en agua de bebida pollos broiler criados en condiciones de altura". Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 29(4): 1259-1267, ISSN: 1609-9117. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v29i4.12972>.
- Carrizo, J. & Lozano, J. M. 2007. "Alimentación de la pollita de inicio de puesta". XXIII curso de especialización FEDNA. p 93. Available: http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_aves/produccion_avicola/71-07CAP_V.pdf.
- Cherdthong, A., Wanapat, M., Saenkamsorn, A., Supamong, C., Anantasook, N. & Gunun, P. 2015. "Improving rumen ecology and microbial population by dried rumen digesta in beef cattle". Tropical Animal Health and Production, 47(5): 921-926, ISSN: 1573-7438. <http://dx.doi.org/10.1007/s11250-015-0809-4>.

- Chiang, G., Lu, W. Q., Piao, X. S., Hu, J. K., Gong, L. M. & Thacker, P. A. 2010. "Effects of feeding solid-state fermented rapeseed meal on performance, nutrient digestibility, intestinal ecology and intestinal morphology of broiler chickens". *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(2):263-271, ISSN: 1976-5517. <https://doi.org/10.5713/ajas.2010.90145>.
- Conover, W.J. 1999. "Practical Nonparametric Statistics". 3rd Ed. Ed. John Wiley & Sons, Inc. New York, NY, USA, p.584, ISBN: 978-0471160687.
- Di Rienzo, J. A., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M. & Robledo, C. W. 2012. "Software estadístico y biometría". Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Duncan, B. 1955. "Multiple range and multiple F test". *Biometrics*, 11(1): 1-42, ISSN: 1541-0420.
- García, D. M., Colas, M. C., López, W. S., Pérez, O. R., Sánchez, A. P., Lamazares, M. D. C. & Grandía, R. G. 2016. "The body weight and its effect on bioproductive indicators in White Leghorn L33 hens". *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics*. 63(3): 188-200. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v63n3.62714>.
- Godínez, O., Pérez, M., Colas, M., Sardá, R., Madrazo, G. & Hernández, M.L. 2013. "Manual Tecnológico de Crianza de Ponedoras y sus reemplazos". La Habana, Cuba, p. 10-24.
- Gous, R. M. 2018. "Nutritional and environmental effects on broiler uniformity". *World's Poultry Science Journal*, 74(1): 21-34, ISSN: 1743-4777. <https://doi.org/10.1017/S0043933917001039>.
- Grandía, R., Colas, M., Soroa, J., Entrena, Á., Figueroa, T., Bada, A., Jáuregui S., García I., Burón M. & Pérez, M. 2016. "El peso corporal y su efecto sobre otros caracteres morfométricos en pollitas White Leghorn L33". *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 27(2): 267-276, ISSN: 1682-3419. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v27i2.11659>.
- Hu, Y. N., Wang, Y. W., Li, A. K., Wang, Z. S., Zhang, X. L. T., Yun, T. L., Qiu, W. & Yin, Y. H. 2016. "Effects of fermented rapeseed meal on antioxidant functions, serum biochemical parameters and intestinal morphology in broilers". *Food and Agricultural Immunology*, 27: 182-193, ISSN 1465-3443. <https://doi.org/10.1080/09540105.2015.1079592>.
- Itzá, M. F., Ortiz, J. O., Vidales, H. J., Arredondo, H. A. O., Elisea, J. A. Q., Alarcón, C. A. R. & Orozco, U. M. 2011. "Características de crecimiento de pollitas de postura en relación al tipo de alojamiento". *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46(7): 768-771, ISSN: 1678-3921. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2011000700013>.
- Levene, H. 1960. "Robust tests for the equality of variance. Contributions to Probability and Statistics". Stanford University Press. pp.278-292.
- Li, L., Li, W., Liu, S. & Wang, H. 2020. "Probiotic fermented feed improved the production, health and nutrient utilisation of yellow-feathered broilers reared in high altitude in Tibet". *British Poultry Science*, 61:746-753, ISSN: 1466-1799. <https://doi.org/10.1080/00071668.2020.1801988>.
- Martínez, Y. A., López, Y. F., Martínez, O. Y., Olmo, C. G. & Rodríguez, R. B. 2013. "Influencia del peso vivo de gallinas ponedoras White Leghorn (L33) en la producción y calidad del huevo comercial". *Revista Granma Ciencia*. 17 (1): enero-abril. ISSN: 1027-975X.
- Missotten, J. A., Michiels, J., Dierick, N. L., Owyn, A., Akbarian, A. & De Smet, S. 2013. "Effect of fermented moist feed on performance, gut bacteria and gut histo-morphology in broilers". *British Poultry Science*, 54:627-634, ISSN: 1466-1799. <https://doi.org/10.1080/00071668.2013.811718>.
- Ríos, M. & Ramírez, L. 2012. "Aprovechamiento del contenido ruminal bovino para la ceba cunicola como estrategia para diezmar la contaminación generada por el matadero en San Alberto". *Prospectiva*, 10 (2):56-63, ISSN: 2216-1368.
- Rodríguez, V. Y. 2021. "Evaluación de los indicadores productivos en ponedoras comerciales con ciclos más largos de puesta en Cuba". *Avicultura.mx*. Available: <https://www.avicultura.mx/resultados-busqueda?busca=ponedoras&seccion=articulos>. [Consulted: Noviembre 20, 2021].
- Romero-Treviño, E. M., Marín-Rodríguez, P., de la Cruz-Bautista, F. & González-Muñoz, A. 2017. "Valor nutritivo del contenido ruminal de bovinos sacrificados en la época de invierno en dos años consecutivos". *Compendio Investigativo de academia Journal Celaya*. Guanajuato, México. El libro Online. ISBN: 978-1-939982-32-2.
- Savón, L., Sánchez, B., Elías, A., Ortega, H. J., Gutiérrez, M, Scull, I. & Herrera, M. 2020. "Effect of a dry fermented product on morphological, immunological, histological and health indicators of broilers". *Cuban Journal of Agricultural Science*, 54(1): 85-94, ISSN: 2079-3480.
- Shapiro, S. & Wilk, B. 1965. "An analyses of variant test for normality (complete simples)". *Biometrika*, 52(3-4): 591-611, ISSN: 1464-3510. <https://doi.org/10.2307/2333709>.
- Sugiarto, A., Rosyidi, D. & Hasanuddin, A. 2014. "Protein digestibility performance and carcass quality of broilers chickens fed diets supplemented with centrifuged rumen contents". *Livestock Research for Rural Development*, 26:2. Available: <http://lrrd.org/lrrd26/2/sugi26031.htm>.
- Wang, J., Ishfaq, M. Guo, Y. Chen, C. & Li, J. 2020. "Assessment of probiotic properties of *Lactobacillus salivarius* isolated from chickens as feed additives". *Frontiers in Veterinary Science*, 7:415. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00415>.
- Wu, X. Z., Wen, Z. G. & Hua, J. L. 2019. "Effects of dietary inclusion of *Lactobacillus* and inulin on growth performance, gut microbiota, nutrient utilization, and immune parameters in broilers". *Poultry Science*, 98(10): 4656-4663. ISSN: 0032-5791. <https://doi.org/10.3382/ps/pez166>.
- Zhu, F., Zhang, B., Li, J. & Zhu, L. 2020. "Effects of fermented feed on growth performance, immune response, and antioxidant capacity in laying hen chicks and the underlying molecular mechanism involving nuclear factor- κ B". *Poultry Science*, 99 (5): 2573-2580. ISSN: 0032-5791. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.044>.