

Effect of Vitafert on the digestive use of nitrogen in roosters that consume *Moringa oleifera* forage meal. Technical note

Efecto del Vitafert en la utilización digestiva del nitrógeno en gallos que consumen harina de forraje de *Moringa oleifera*. Nota técnica

Daymara Bustamante, Lourdes Savón, A. Elías, Y. Caro, F. Sierra and Mabel Almeida

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

Email: dbustamante@ica.co.cu

A total of 16 colostomized roosters (hybrid H5) were used, housed in metabolic cages, to evaluate the effect of dry Vitafert on the digestive use of nitrogen (N) of moringa forage meal. The treatments were: I) control diet, II) 10 % of moringa forage meal, III) 2 % of dry Vitafert and IV) mixture of 10% of moringa forage meal with 2 % of dry Vitafert. A completely randomized design with four repetitions / treatment was used. The dry Vitafert was prepared from the mixture of liquid Vitafert with corn-meal (1:1). The chemical composition and nitrogen use was determined. The N intake (g/d) and fecal digestibility of N (%) in the animals, which consumed the mixture of moringa forage meal with dry Vitafert, was higher ($P < 0.001$) compared to those who intake moringa forage meal. Fecal excretion of N (g/d) did not differ between treatments. It is concluded that the inclusion of dry Vitafert could stimulate the digestive use of N in roosters fed moringa forage meal.

Key words: *Vitafert, moringa, roosters, fecal digestibility of nitrogen*

Introduction

The use of fibrous foods in poultry feeding is very common in tropical countries, although it extends to temperate climates. The main alterations that this practice cause in the animal digestive physiology are related to the transit speed of the digesta, fermentation, water adsorption capacity and the endogenous excretion rate. For these reasons, the inclusion of fiber in pigs and poultry diets can reduce nitrogen digestibility and, therefore, increase their total excretion.

The manipulation of the diet is an option to reduce the environmental effect of animal dejections. The use of fermented products is a tool that has gained great development in livestock production in intensive breeding systems. The use of efficient microorganisms in obtaining food gives it probiotic properties (Savvidou 2009). Among these, Vitafert is a compound of efficiency microorganisms biologically active containing lactobacillus, yeast, organic acids, besides of having low pH (Gutiérrez 2012). This microbial additive has been used to prevent intestinal infections, increase growth rate, feed efficiency and retention of energy and nitrogen in monogastric species (Gutiérrez 2005).

In birds, in order to estimate the nitrogen digestibility

Se utilizaron 16 gallos colostomizados (híbrido H5), alojados en jaulas metabólicas, para evaluar el efecto del Vitafert seco en la utilización digestiva del nitrógeno (N) de la harina de forraje de moringa. Los tratamientos fueron: I) dieta control, II) 10 % de harina de forraje de moringa, III) 2 % de Vitafert seco y IV) mezcla de 10 % de la harina de forraje de moringa con 2 % de Vitafert seco. Se empleó diseño completamente aleatorizado con cuatro repeticiones/tratamiento. El Vitafert seco se elaboró a partir de la mezcla del Vitafert líquido con harina de maíz (1:1). Se determinó la composición química y la utilización del nitrógeno. El consumo de N (g/d) y la digestibilidad fecal del N (%) en los animales que consumieron la mezcla de la harina de forraje de moringa con el Vitafert seco fue mayor ($P < 0.001$) en comparación con los que consumieron harina de forraje de moringa. La excreción fecal del N (g/d) no difirió entre tratamientos. Se concluye que la inclusión del Vitafert seco pudiera estimular el aprovechamiento digestivo del N en gallos alimentados con harina de forraje de moringa.

Palabras clave: *Vitafert, moringa, gallos, digestibilidad fecal del nitrógeno*

Introducción

La utilización de alimentos fibrosos en la alimentación avícola es muy común en los países tropicales, aunque se extiende a climas templados. Las principales alteraciones que provoca esta práctica en la fisiología digestiva del animal se relacionan con la velocidad de tránsito de la digesta, la fermentación, la capacidad de adsorción de agua y la tasa de excreción endógena. Por estas razones, la inclusión de fibra en dietas para aves y cerdos puede reducir la digestibilidad del nitrógeno y, por lo tanto, aumentar su excreción total.

La manipulación de la dieta constituye una opción para reducir el efecto ambiental de las deyecciones de los animales. El uso de productos fermentados es una herramienta que ha cobrado gran auge en la producción animal en sistemas de crianza intensivos. El empleo de microorganismos eficientes en la obtención de alimentos le confiere propiedades probióticas (Savvidou 2009). Entre estos, el Vitafert es un compuesto de microorganismos eficientes biológicamente activos que contiene lactobacillus, levaduras, ácidos orgánicos, además de tener pH bajo (Gutiérrez 2012). Este aditivo microbiano se ha utilizado para prevenir las infecciones intestinales, aumentar la tasa de crecimiento, eficiencia alimentaria y retención de energía y nitrógeno en las

is necessary to differentiate between fecal and urine, due to a mixture of feces and urine is excreted. Therefore, it has had to resort to surgical methods, such as colostomy and / or ureters externalization.

It is important to highlight that there is no previous studies related to fecal digestibility of moringa forage in birds. The objective of this study was to evaluate the effect of dry Vitafert on the digestive use of nitrogen in colostomized roosters that intake moringa forage meal.

A total of 16 colostomized adult roosters (hybrid H5) were used, of 52 days of age and initial average liveweight of 1.89 kg, housed in individual metabolic cages. Each bird was a repetition.

The surgical technique used to make the colostomy was that described by Okumura (1976), modified by Dihigo *et al.* (1994). To evaluate the effect of the addition of dry Vitafert on a diet that included a fiber source in its composition, four treatments were used: I) control based on maize and soybean, II) 10% of moringa forage meal, III) 2% of dry Vitafert and IV) mixture of 10% moringa forage meal with 2% of dry Vitafert. The experimental diets were formulated according to NRC (1994) requirements. The percentage composition and bromatological analysis of diets are showed in table 1.

The dry Vitafert was obtained according to the methodology described by Gutiérrez (2005). Its chemical composition (dry basis) was: 92.18% (n = 6) of DM, 1.74% (n = 6) of N and 5.38 of pH of the dry Vitafert.

The moringa variety used was the Supergenius, with cutting age of 60 d (second cut). The moringa whole forage meal was prepared according to Savon *et al.* (2004). Its chemical composition (dry basis) was: 89.62% (n = 6) of DM and 1.67% (n = 6) of N.

Six samples of each food were randomly taken and analyzed in duplicate.

The animals were adapted to the cages and to the intake of diets for seven days. The food supply was reduced to 50% and was offered twice daily in two equal portions (8:30 am and 1:30 pm). During the period, the animals received water *ad libitum*, which was offered in automatic drinkers.

The feces collection started in the third week after the operation. They were collected during three days individually in nylon bags, quantitatively. Every day 10% of each sample / animal was taken. At the end of period a pool for each animal was formed, which was kept frozen at -20 °C until their analysis. The feces were dried in an oven at 60 °C for 72 h. To calculate daily intake the rejection was controlled.

In the food and excreta the DM and N was determined, according to the methodology described by AOAC (2012). With the obtained data the N intake (g / d) and fecal excretion of N (g/d) was determined. The fecal

especies monogástricas (Gutiérrez 2005).

En las aves, para estimar la digestibilidad del nitrógeno es necesario diferenciar entre el fecal y urinario, debido a que se excreta una mezcla de heces y orina. Por ello, se ha tenido que recurrir a métodos quirúrgicos, como la colostomía y/o exteriorización de los uréteres.

Es importante destacar que no existen antecedentes de estudios referidos a la digestibilidad fecal del forraje de moringa en aves. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del Vitafert seco en la utilización digestiva del nitrógeno en gallos colostomizados que consumen harina de forraje de moringa.

Se utilizaron 16 gallos adultos colostomizados (híbrido H5), de 52 días de edad y peso vivo inicial promedio 1.89 kg, alojados en jaulas metabólicas individuales. Cada ave constituyó una repetición.

La técnica quirúrgica que se empleó para realizar la colostomía fue la descrita por Okumura (1976), modificada por Dihigo *et al.* (1994). Para evaluar el efecto de la adición del Vitafert seco en una dieta que incluyera una fuente fibrosa en su composición, se emplearon cuatro tratamientos: I) control a base de maíz y soya, II) 10 % de harina de forraje de moringa, III) 2 % de Vitafert seco y IV) mezcla del 10 % de harina de forraje de moringa con 2 % de Vitafert seco. Las dietas experimentales se formularon según los requerimientos del NRC (1994). La tabla 1 muestra la composición porcentual y el análisis bromatológico de las dietas.

El Vitafert seco se obtuvo según la metodología descrita por Gutiérrez (2005). Su composición química (base seca) fue: 92.18 % (n=6) de MS, 1.74 % (n=6) de N y 5.38 de pH del Vitafert seco.

La variedad de moringa que se utilizó fue la Supergenius, con edad de corte de 60 d (segundo corte). La harina de forraje integral de moringa se elaboró según Savón *et al.* (2004). Su composición química (base seca) fue: 89.62 % (n=6) de MS y 1.67 % (n=6) de N.

Se tomaron seis muestras de cada alimento al azar y se analizaron por duplicado.

Los animales se adaptaron a las jaulas y al consumo de las dietas durante siete días. El suministro de alimento se redujo a 50 % y se ofertó dos veces al día en dos raciones iguales (8:30 a.m. y 1:30 p.m.). Durante el período, los animales dispusieron de agua *ad libitum*, que se ofertó en bebederos automáticos.

La recolección de las heces comenzó en la tercera semana posterior a la operación. Se recolectaron durante tres días de forma individual en bolsas de nailon, cuantitativamente. Se tomó cada día 10 % de cada muestra/animal. Al final de período se conformó un pool por cada animal, que se conservó en congelación a -20 °C hasta el momento de su análisis. Las heces se secaron en estufa de 60 °C durante 72 h. Se controló el rechazo para calcular el consumo diario.

En el alimento y las excretas se determinó MS y N, según la metodología descrita por la AOAC (2012). Con los datos obtenidos se determinó el consumo de

Table 1. Experimental diet corresponding to the ending period (% in dry basis)

Ingredients	Treatments			
	Control	Moringa forage meal 10 %	Dry Vitafert 2 %	Moringa forage meal + dry Vitafert
Maize meal	60.31	52.88	58.56	51.13
Soybean meal	28.57	26.00	28.32	25.75
Moringa forage meal	-	10.00	-	10.00
Dry fermented product	-	-	2.00	2.00
Soybean oil	7.00	7.00	7.00	7.00
Dicalcium phosphate	1.39	1.39	1.39	1.39
Calcium carbonate	1.60	1.60	1.60	1.60
Common salt	0.33	0.33	0.33	0.33
Premixture ¹	0.80	0.80	0.80	0.80
Calculated composition				
N x 6.25 (%)	17.99	17.99	18.00	18.00
ME (MJ/kg)	13.81	13.31	13.82	13.32

¹Vitamin supplement: vit. A 10 000 UI; vit. D3 2 000 UI; vit. E 10 mg; vit. K, 2 mg; thiamine 1 mg; riboflavin 5 mg; pyridoxine 2 mg; vit. B12 15.4 µg; nicotinic acid 125 mg; calcium pantothenate 10 mg; folic acid 0.25 mg; biotin 0.02 mg.

Mineral supplement: selenium 0.1 mg; iron 40 mg; copper 12 mg; zinc 120 mg; magnesium 100 mg; iodine 2.5 mg; cobalt 0.75 mg

digestibility of N (%) was determined by direct method, according to Crampton and Harris (1969) methodology. The N digestibility was calculated according to the following equation:

$$\text{Digestibility, \%} = \frac{\text{N}_{\text{diet}} - \text{N}_{\text{feces}}}{\text{N}_{\text{diet}}} * 100$$

A completely randomized design with four treatments and four replications was used. For data analysis INFOSTAT computerized statistical package (Balzarini *et al.* 2012), version of Windows XP was used. In necessary cases, the mean values were compared by means of the Duncan (1955) test.

The effect of dry Vitafert on the digestive use of N in colostomized roosters that consume moringa forage meal is show in table 2.

The tropical forage trees are characterized by their high protein content. However, it is proposed that, approximately, 31% of this N is joined to NDF, which is not available to the animal (Bindelle *et al.* 2008). The N intake (g / d) in the animals which intake the

N (g/d) y excreción fecal de N (g/d). La digestibilidad fecal del N (%) se determinó por método directo, según la metodología de Crampton y Harris (1969). La digestibilidad del N se calculó según la siguiente ecuación:

$$\text{Digestibilidad, \%} = \frac{\text{N}_{\text{dieta}} - \text{N}_{\text{heces}}}{\text{N}_{\text{dieta}}} * 100$$

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones. Para el análisis de los datos se empleó el paquete estadístico computarizado INFOSTAT (Balzarini *et al.* 2012), versión sobre Windows XP. En los casos necesarios, los valores medios se compararon mediante la dócima de Duncan (1955).

La tabla 2 muestra el efecto del Vitafert seco en la utilización digestiva del N en gallos colostomizados que consumieron harina de forraje de moringa.

Los forrajes arbóreos tropicales se caracterizan por su alto contenido proteico. Sin embargo, se plantea que, aproximadamente, 31% de este N se encuentra unido a la FND, por lo que no está disponible para el animal (Bindelle *et al.* 2008). El consumo de N (g/d) en los

Table 2. Effect of dry Vitafert on the digestive use of N in colostomized roosters that consume moringa forage meal

Indicators	Treatments				SE±/Sig
	Control	Moringa forage meal 10%	Dry Vitafert 2%	Moringa forage meal + dry Vitafert	
N intake (g/d)	2.36 ^b	1.54 ^a	2.32 ^b	2.23 ^b	0.12 P < 0.0001
Fecal excretion of N (g/d)	0.40	0.41	0.45	0.43	0.06 P = 0.0576
Fecal digestibility of N (%)	88.63 ^b	68.55 ^a	85.59 ^b	75.96 ^b	0.49 P < 0.0001

^{a,b} Values with different letters in the same row differ at P < 0.05 (Duncan 1955)

mixture of moringa forage meal and dry Vitafert differ ($P < 0.0001$) than those who intake moringa forage meal. The lower intake of dry matter and nitrogen in roosters who received moringa forage meal could be given by the quality of the fiber source, determined by its chemical composition. This last influences on the physicochemical properties that, in turn, determine the physiological effects on the digestive tract of animals. Almeida (2015) reported higher values in the N intake of colostomized roosters who intake moringa forage meal due to there was content of 50.37% of NDF and lignin values of 8.10%. The solubility was 26.64% and the volume and water retention capacity of 3.62 and 6.59 g / g respectively, whereas the meal used in this study showed values of NDF and lignin of 57.74%, 13.66% respectively, with solubility of 20.81%, volume of 12.43% and water retention capacity 12.43g/g.

The positive effect of dry Vitafert on the N intake in roosters that intake the fibrous material could be because the animals ingested amounts of beneficial microorganisms, which could stimulate the competition for nutrients and niches for colonization. The composition of the intestinal ecosystem can be modified by the type of substrate that goes to the caecum. This means that the fermentation can lead to significant changes in food digestibility (Jørgensen *et al.* 2010).

Safalaoh (2006) provided a preparation of efficiency microorganisms (consisting of a defined mixture of lactobacillus and yeasts) and found increased in the efficiency of nitrogen use in broilers.

In the N (g/d) excretion there were not differences between treatments, although there was in the N intake, with lower values for moringa meal. It is important to clarify that the data could be controversial, because Nuengjamnong and Luangtongkum (2014) showed that the use of efficient microorganisms in diets for broilers favored the reduction in the N excretion. The authors considered that the obtained results could also be given by the sample size which was used.

The fermented diets can stimulate indirectly the protein digestion by reducing the gastric pH, essential aspect to increase the pepsin activity. These acidic conditions reduce the gastric emptying rate, so that the time for gastric digestion increase, which favors that in the small intestine degrade and absorb more protein (Canibe *et al.* 2013).

Betancourt and Romero (2002) stated that the amino acid metabolism and acid-base homeostasis are closely related, due to the protein degradation generates inorganic acids which dependent from the amino acid pattern. Specifically, in the degradation of the basic amino acids tends to cause metabolic acidosis. This metabolic state stimulates protein degradation by glucocorticoids and reduces nitrogen retention (May *et al.* 1986). These hypotheses must be taken into

animales que ingirieron la mezcla de la harina de forraje de moringa y el Vitafert seco difirió ($P < 0.0001$) de los que consumieron harina de forraje de moringa. El menor consumo de materia seca y nitrógeno en los gallos que recibieron harina de forraje de moringa pudo estar dado por la calidad de la fuente fibrosa, determinada por su composición química. Esta última influye en las propiedades fisicoquímicas que, a su vez, determinan los efectos fisiológicos en el tracto digestivo de los animales. Almeida (2015) informó valores superiores en el consumo de N de gallos colostomizados que consumieron harina de forraje de moringa, debido a que encontró contenido de 50.37 % de FND y valores de lignina de 8.10 %. La solubilidad fue de 26.64 % y el volumen y capacidad de retención de agua de 3.62 y 6.59 g/g respectivamente, mientras que la harina que se utilizó en este estudio mostró valores de FND y lignina de 57.74 %, 13.66 %, respectivamente con solubilidad de 20.81 %, volumen de 12.43 % y capacidad de retención de agua de 12.43g/g.

El efecto positivo del Vitafert seco en el consumo de N en gallos que consumieron el material fibroso se pudiera deber a que los animales ingirieron cantidades de microorganismos benéficos, lo que pudo estimular la competencia por los nutrientes y nichos para la colonización. La composición del ecosistema intestinal se puede modificar por el tipo de sustrato que llega al ciego. Esto significa que la fermentación condiciona importantes cambios en la digestibilidad de los alimentos (Jørgensen *et al.* 2010).

Safalaoh (2006) suministró un preparado de microorganismos eficientes (compuesto por una mezcla definida de lactobacilos y levaduras) y constató incremento en la eficiencia de utilización del nitrógeno en pollos de ceba.

En la excreción de N (g/d) no se observaron diferencias entre tratamientos, aunque sí la hubo en el consumo de N, con valores inferiores para la harina de moringa. Es importante aclarar que los datos pudieran resultar controversiales, ya que Nuengjamnong y Luangtongkum (2014) demostraron que el uso de microorganismos eficientes en dietas para pollos de ceba favoreció la reducción en la excreción del N. Los autores consideran que los resultados obtenidos también pudieran estar dados por el tamaño de muestra que se utilizó.

Las dietas fermentadas pueden estimular de forma indirecta la digestión proteica por la reducción del pH gástrico, aspecto imprescindible para aumentar la actividad de la pepsina. Estas condiciones de acidez reducen la tasa de vaciado gástrico, por lo que aumenta el tiempo para la digestión gástrica, lo que favorece que en el intestino delgado se degrade y absorba más proteína (Canibe *et al.* 2013).

Betancourt y Romero (2002) plantearon que el metabolismo de los aminoácidos y la homeostasis ácido-base se relacionan estrechamente, debido a que la degradación de la proteína genera ácidos inorgánicos que dependen del patrón de aminoácidos. Específicamente,

consideration for future studies.

The use of digestibility to evaluate the N use, although it is accepted as approved procedure, is incorrect. This is because in the metabolism of dietary and endogenous N influences the degradation of caecal microbial population. Therefore, the fecal digestibility of N tends to overestimate the availability of the protein content of diet (Sauer and Ozimek 1986). However, there are evidences that suggest microbial activity in the small intestine. This fact is supported by the refluxes that occur in the digestive system of birds (Bach and Jensen 1991).

The fecal apparent digestibility of N did not differ in roosters fed the control diet and dry Vitafert, so higher values were obtained. Whereas, with the inclusion of dry fermented product in the diet containing moringa forage meal, the digestibility increased with respect to diet does not contain this biological additive. It is concluded that the dry Vitafert favored the increase in the fecal apparent digestibility of nitrogen in colostomized roosters that consume moringa forage meal.

Acknowledgments

We thank to DMVZ. Alvaro Delgado and Ivette Orta for their collaboration in the birds surgery and the laboratory tests performance, respectively.

en la degradación de los aminoácidos básicos tiende a causar acidosis metabólica. Este estado metabólico estimula la degradación de la proteína mediante los glucocorticoides y reduce la retención de nitrógeno (May *et al.* 1986). Estas hipótesis se deben tener en consideración para trabajos futuros.

El uso de la digestibilidad para evaluar la utilización del N, aunque se acepta como procedimiento aprobado, es incorrecto. Esto se debe a que en el metabolismo del N dietético y endógeno influye la degradación de la población microbiana cecal. Por ello, la digestibilidad fecal del N tiende a sobreestimar la disponibilidad del contenido proteico de la dieta (Sauer y Ozimek 1986). Sin embargo, existen evidencias que sugieren actividad microbiana en el intestino delgado. Este hecho se sustenta por los reflujos que ocurren en el sistema digestivo de las aves (Bach y Jensen 1991).

La digestibilidad fecal aparente del N no difirió en los gallos que consumieron la dieta control y el Vitafert seco, por lo que se obtuvieron valores superiores. En tanto que, con la inclusión del producto fermentado seco en la dieta que contenía la harina de forraje de moringa, la digestibilidad aumentó con respecto a la dieta que no contenía este aditivo biológico. Se concluye que el Vitafert seco favoreció el incremento en la digestibilidad fecal aparente del nitrógeno en gallos colostomizados que consumieron harina de forraje de moringa.

Agradecimientos

Se agradece a DMVZ. Álvaro Delgado y a Ybett Orta por su valiosa colaboración en la operación de las aves y ejecución de los análisis de laboratorio, respectivamente.

References

- Almeida, M. 2015. Indicadores morfofisiológicos y de salud en pollos de ceba colostomizados que consumen harina de forraje de moringa. M.Sc. Thesis, Instituto de Ciencia Animal, Mayabeque, Cuba, 87 p.
- AOAC 2012. Official Methods of Analysis of AOAC International. 19th ed., Latimer, G. W. Gaithersburg, Md.: AOAC International, ISBN: 978-0-935584-83-7, Available: <http://www.amazon.com/Official-Methods-Analysis-OFFICIAL-ANALYSIS/dp/0935584838/ref=pd_sim_sbs_14_1?ie=UTF8&dpID=31iikC-xl2L&dpSrc=sims&preST=_AC_UL160_SR160%2C160_&refRID=101AB94246X0EM9N7XMW>, [Consulted: April 1, 2016].
- Bach, K. K. E. & Jensen, B. B. 1991. "Effect of source and level of dietary fibre on microbial fermentation in the large intestine of pigs". In: Verstegen, M. W. A., Huisman, J. & den Hartog, L. A. (eds.), V International Symposium on Digestive Physiology in Pigs, (ser. EAAP publication), Wageningen (Doorwerth), Netherlands: Pudoc, pp. 389–394, ISBN: 978-90-220-1040-2, OCLC: 832531280.
- Balzarini, M. G., Casanoves, F., Di Rienzo, J. A., González, L. & Robledo, C. W. 2012. InfoStat. version 5.1, [Windows], Universidad Nacional de Córdoba, Argentina: Grupo InfoStat, Available: <<http://www.infostat.com.ar/>>.
- Betancourt, L. & Romero, H. 2002. "Una revisión del metabolismo ácido-base y su relación con la nutrición en aves". Colombian Journal of Animal Science and Veterinary Medicine, 15(2): 198–206, ISSN: 2256-2958.
- Bindelle, J., Buldgen, A., Delacollette, M., Wavreille, J., Agneessens, R., Destain, J. P. & Leterme, P. 2008. "Influence of source and concentrations of dietary fiber on in vivo nitrogen excretion pathways in pigs as reflected by *in vitro* fermentation and nitrogen incorporation by fecal bacteria". Journal of Animal Science, 87(2): 583–593, ISSN: 0021-8812, 1525-3163, DOI: 10.2527/jas.2007-0717.
- Canibe, N., Jensen, B. B. & Pedersen, A. Ø. 2013. "Fermented Feeds for Pigs-Impact on Nutritional Quality and on Animal Gastrointestinal Health and Growth Performance". In: 34th Western Nutrition Conference, Saskatchewan, Canada: Western Nutrition Conference Planning Committee, pp. 101–115, Record Number: 20143091350, Available: <<http://www.cabdirect.org/abstracts/20143091350.html;jsessionid=46A0FB8DFB0E84A3122C0AC2AA26A13F>>, [Consulted: June 30, 2016].
- Crampton, E. W. & Harris, L. E. 1969. Applied Animal Nutrition. 2nd ed., San Francisco: W.H. Freeman, ASIN: B000JFF290, Available: <<https://www.amazon.com/Applied-Animal-Nutrition-Harris-Crampton/dp/B000JFF290>>, [Consulted: June 23, 2016].

- Dihigo, L. E., Marrero, A. I. & Savón, L. 1994. Digestibilidad *in vitro* utilizando el contenido fecal del cerdo en dietas para el pollo de engorde. Graduated Thesis, Universidad Agraria de La Habana 'Fructuoso Rodríguez Pérez', La Habana, Cuba, 55 p.
- Duncan, D. B. 1955. "Multiple Range and Multiple F Tests". *Biometrics*, 11(1): 1–42, ISSN: 0006-341X, DOI: 10.2307/3001478.
- Gutiérrez, B. R. 2005. Actividad probiótica de un producto biofermentado (VITAFER), en pollos de ceba. M.Sc. Thesis, Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba, 52 p.
- Gutiérrez, D. 2012. Efecto del aditivo biológico Vitafert en dietas de forrajes de baja calidad para la alimentación de cabras lecheras. Ph.D. Thesis, Instituto de Ciencia Animal, Mayabeque, Cuba, 124 p.
- Jørgensen, H., Sholly, D., Pedersen, A. Ø., Canibe, N. & Knudsen, K. E. B. 2010. "Fermentation of cereals — Influence on digestibility of nutrients in growing pigs". *Livestock Science*, 134(1-3): 56–58, ISSN: 18711413, DOI: 10.1016/j.livsci.2010.06.096.
- May, R. C., Kelly, R. A. & Mitch, W. E. 1986. "Metabolic acidosis stimulates protein degradation in rat muscle by a glucocorticoid-dependent mechanism.". *Journal of Clinical Investigation*, 77(2): 614–621, ISSN: 0021-9738, DOI: 10.1172/JCI112344.
- NRC (National Research Council), Subcommittee on Poultry Nutrition & Board on Agriculture 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th ed., Washington, D.C: National Academies Press, 176 p., ISBN: 978-0-309-04892-7, Available: <<https://www.amazon.com/Nutrient-Requirements-Poultry-Revised-Domestic/dp/0309048923>>, [Consulted: June 23, 2016].
- Nuengjamnong, C. & Luangtongkum, T. 2014. "Effects of Efficiency Microorganisms on Growth Performances, Ammonia Reduction, Hematological Changes and Shedding of *Salmonella enterica* and *Campylobacter spp.* in Broilers". *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 44(1): 15–22, ISSN: 0125-6491.
- Okumura, J. 1976. "Method of colostomy and cannulation of the chicken". *British Poultry Science*, 17(5): 547–551, ISSN: 0007-1668, DOI: 10.1080/00071667608416310, PMID: 963571.
- Safalaoh, A. C. L. 2006. "Body weight gain, dressing percentage, abdominal fat and serum cholesterol of broilers supplemented with a microbial preparation". *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 6(1): 1–10, ISSN: 1684-5374, DOI: 10.4314/ajfand.v6i1.19170.
- Sauer, W. C. & Ozimek, L. 1986. "Digestibility of amino acids in swine: Results and their practical applications. A review". *Livestock Production Science*, 15(4): 367–388, ISSN: 0301-6226, DOI: 10.1016/0301-6226(86)90076-X.
- Savón, L., Scull, I., Orta, M. & Torres, V. 2004. "Physicochemical characterization of the fibrous fraction of five tropical foliage meals for monogastric species". *Cuban Journal of Agricultural Science*, 38(3): 281–286, ISSN: 2079-3480.
- Savvidou, S. 2009. Selection of a chicken *Lactobacillus* strain with probiotic properties and its application in poultry production. Ph.D. Thesis, University of Plymouth, Plymouth, 226 p.

Received: June 9, 2015