

Evaluation of maize distillers dried grains with solubles in the feeding of White Leghorn L-33 laying hens

Evaluación de granos secos de destilería con solubles de maíz en la alimentación de gallinas ponedoras White Leghorn L-33

Bárbara Rodríguez, Ysnagmy Vázquez, M. Valdivié and Magalys Herrera
Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas, La Habana, Cuba
 Email: brodriguez@ica.co.cu

For determining the effect of maize dried distillers grains with solubles on egg production and yolk color, a total of 270 White Leghorn L-33 laying hens was used. Animals were randomly distributed in three feeding treatments: inclusion of 0 (control diet), 10 and 20 % of distillers dried grains with 10 replications and 9 fowls per replication during 20 laying weeks (24 to 44 weeks). The inclusion of distillers dried grains in the diet did not affect egg production, egg weight and mass conversion. However, there was an increase in feed conversion with 10 % ($P < 0.05$). Yolk color was more intense with the inclusion of distillers dried grains and 20 % was superior to 10 %. Results suggest the possibility of adding up to 20 % in the laying hen diets without negative effect on egg production. Further studies are necessary related to the internal and external egg quality, as well as on the economic benefits of this by-product on substituting raw matters of higher costs (soybean and calcium phosphate).

Key words: *non-conventional feeds, agro-industrial by-products, laying hens, DDGS*

Maize dried distillers grains (DDGS) with solubles are the by-product of alcohol distilleries. For more than a decade are used in the United States as an alternative economic source, contributing protein, energy and available phosphorus (Noll *et al.* 2007, Bregendahl 2008). Bioethanol production is annually increased and countries such as Brazil and Argentina also make incursions into this area, though the availability of this by-product in the industry of animal feedstuffs will quantitatively expand (Martínez *et al.* 2010).

In Cuba, the importation of this by-product has as objective the supplementation of dairy cattle feeding. In addition, for learning the true possibilities of its introduction in monogastric feeding, diverse studies are presently developed.

In laying hens maize DDGS have been incorporated between 10 and 15 % in the diet, without affecting the productive performance (Lumpkins *et al.* 2005, Masa'deh *et al.* 2011, Sun *et al.* 2012). Nevertheless, in Cuba there are no studies allowing the establishment of the levels that must be used under the conditions of the country. Therefore, the objective of this study was to determine the effect of the inclusion of maize DDGS in the feeding of laying hens.

Para determinar el efecto de los granos secos de destilería con solubles de maíz en la producción de huevos y el color de la yema, se utilizaron un total de 270 gallinas ponedoras White Leghorn L-33, distribuidas aleatoriamente en tres tratamientos: inclusión de 0 (dieta control), 10 y 20 % de granos secos de destilería, con 10 repeticiones y 9 aves por repetición, alimentadas durante 20 semanas de postura (24 a 44 semanas). La inclusión de los granos secos de destilería en la dieta no afectó la producción de huevos, el peso del huevo y la conversión masal. Sin embargo, hubo incremento en la conversión alimentaria con 10 % ($P < 0.05$). El color de la yema se incrementó con la inclusión de los granos secos de destilería, y 20 % fue superior al 10 %. Los resultados sugieren que es posible incluir hasta 20 % de estos en la dieta de gallinas ponedoras, sin efecto negativo en la producción de huevos. Es necesario profundizar en aspectos relacionados con la calidad interna y externa del huevo, así como en los beneficios económicos de este subproducto, al sustituir materias primas que presentan costos superiores (soya y fosfato de calcio).

Palabras clave: *alimentos no convencionales, subproductos agroindustriales, gallinas ponedoras, DDGS*

Los granos secos de destilerías (DDGS) con solubles de maíz son el subproducto de las destilerías de alcohol. Durante más de una década se utilizan en los Estados Unidos como una fuente de alimento alternativa económica, al aportar proteína, energía y fósforo disponible (Noll *et al.* 2007, Bregendahl 2008). La producción de bioetanol se incrementa anualmente, y países como Brasil y Argentina también incursionan en este rubro, por lo que la disponibilidad de este subproducto en la industria de alimento animal se incrementará cuantitativamente (Martínez *et al.* 2010).

En Cuba, la importación de este subproducto tiene como objetivo suplementar la alimentación del ganado de leche. Además, con vistas a conocer las posibilidades reales de su introducción en la alimentación de monogástricos, se desarrollan actualmente en el país diversos estudios. En gallinas ponedoras, los DDGS de maíz se han incorporado entre 10 y 15 % en la dieta, sin afectar el comportamiento productivo (Lumpkins *et al.* 2005, Masa'deh *et al.* 2011, Sun *et al.* 2012). Sin embargo, en Cuba no existen estudios que permitan definir los niveles de uso en las condiciones del país. Por ello, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la inclusión de los DDGS de maíz en la alimentación de gallinas ponedoras.

Materials and Methods

The investigation was developed at the experimental poultry unit of the Institute of Animal Science between December and May, 2014, with 75 % of average relative humidity, 18.6 °C of average minimum temperature and an average maximum temperature of 28.3 °C.

A total of 270 White Leghorn L-33 layers of 24 weeks of age were used during 20 laying weeks for evaluating the inclusion of maize DDGS in the diet and its effect of the productive performance. Fowls were distributed at a rate of three hens per cage. Each experimental unit was formed by 9 hens (three consecutive cages of 40 cm x 40 cm) according to a completely random design. Three experimental treatments were established consisting of the inclusion in the diet of 0, 10 and 20 % of maize DDGS with ten replications each.

DDGS selected had a gold coloring and a pleasant fermentation smell, according to the recommendations of De Blas *et al.* (2003). The bromatological composition of this by-product was determined according to AOAC (2016) and contained 93.6 % DM, 27.45 % CP and 9.25 % CP. The available phosphorus contribution (0.55 %), calcium (0.14 %), digestible methionine + cystine (1.01 %), digestible lysine (0.8 %) and ME (2800 Kcal/kg DM) employed for the formulation of the diets were taken from the recommendations of Dale (2004).

Feeding was controlled at a rate of 110 g of feed per bird per day, fractioned in two frequencies, 50 % in the morning and 50 % in the afternoon. Diets were isoprotein and isocaloric (table 1) so as to cover the nutritional requirements in stage I of White Leghorn laying hens. Water was supplied ad libitum in nipple waterers at a rate of two per cage. Illumination was of 16 h light.

For analyzing the productive performance, mortality and egg production were controlled daily and egg weight weekly. From these data, feed conversion per egg dozen, mass conversion and laying intensity were calculated.

Egg yolk color was visually determined by Roche's fan scale. For that, 15 eggs per treatment were selected weekly.

The theoretical supposition of the analysis of variance and homogeneity of the variance were analyzed by Levene's (1960) test. The analysis of normality of errors was developed according to Shapiro and Wilk (1965) for the variables viability and laying intensity which did not fulfill with the suppositions. Hence, the transformation $\arcsin\sqrt{x}$ was applied. In view that its fulfillment was not improved, the non-parametric variance of Kruskal-Wallis was employed and Conover's (1999) test was applied for $P < 0.05$.

It was proceeded similarly with the variables feed conversion mass conversion and yolk color, which fulfilled the suppositions of homogeneity and normality, therefore an analysis of variance according to a completely randomized design was carried out.

Materiales y Métodos

La investigación se desarrolló en la unidad experimental avícola del Instituto de Ciencia Animal, entre diciembre y mayo de 2014, con humedad relativa promedio de 75 %, temperatura mínima promedio de 18.6 °C y temperatura máxima promedio de 28.3 °C.

Se utilizaron un total de 270 gallinas ponedoras White Leghorn L-33, con 24 semanas de edad, durante 20 semanas de puesta, para evaluar la inclusión de los DDGS de maíz en la dieta y su efecto en el comportamiento productivo. Las aves se distribuyeron a razón de tres gallinas por jaula. Cada unidad experimental estuvo conformada por 9 gallinas (tres jaulas consecutivas de 40 cm x 40 cm) según diseño completamente al azar. Se establecieron tres tratamientos experimentales, que consistieron en la inclusión en la dieta de 0, 10 y 20 % de DDGS de maíz, con diez repeticiones cada uno.

Los DDGS seleccionados tenían una coloración oro y olor agradable a fermentación, según lo recomendado por De Blas *et al.* (2003). La composición bromatológica de este subproducto se determinó según AOAC (2016), y contenía 93.6 % de MS, 27.45 % de PB y 9.25 % de FB. El aporte de fósforo disponible (0.55 %), calcio (0.14 %), metionina+cistina digestibles (1.01 %), lisina digestible (0.8 %) y EM (2800 Kcal/kg de MS) empleados para la formulación de las dietas se tomaron de las recomendaciones de Dale (2004).

La alimentación se controló a razón de 110 gramos de alimento por ave por día, fraccionada en dos frecuencias, 50 % en mañana y 50 % en la tarde. Las dietas se formularon isoproteicas e isocalóricas (tabla 1), de modo que cubrieran los requerimientos nutricionales en la fase I de gallinas ponedoras White Leghorn. El agua se ofreció a voluntad en bebederos tipo tetina, a razón de dos por jaula. La iluminación fue de 16 h luz.

Para analizar el comportamiento productivo, se controló diariamente la mortalidad y la producción de huevos, así como el peso del huevo semanal. A partir de estos datos, se calculó la conversión alimentaria por decena de huevos, la conversión masal y la intensidad de puesta. El color de la yema del huevo se determinó visualmente mediante la escala del abanico de Roche, para lo que se seleccionaron semanalmente 15 huevos por tratamiento.

Se analizaron los supuestos teóricos del análisis de varianza y homogeneidad de varianza por la dócima de Levene (1960). El análisis de la normalidad errores se desarrolló según Shapiro y Wilk (1965) para las variables viabilidad e intensidad de puesta que incumplieron con los supuestos, por lo que se aplicó la transformación $\arcsin\sqrt{x}$. Al no mejorar su cumplimiento, se empleó análisis de varianza no paramétrico Kruskal-Wallis y se aplicó la dócima de Conover (1999), para $P < 0.05$.

De igual forma, se procedió con las variables conversión alimentaria, conversión masal y color

Table 1. Composition and calculated analysis of the experimental diets with increasing levels of maize DDGS

Ingredients	DDGS inclusion, %		
	0	10	20
Maize meal	57.44	53.00	48.50
Soybean meal	28.85	23.36	17.85
DDGS	0.00	10.00	20.00
Vegetable oil	1.20	1.22	1.30
Monocalcium phosphate	1.56	1.34	1.17
Calcium carbonate	9.10	9.20	9.25
Common salt	0.32	0.32	0.32
DL-methionine	0.25	0.22	0.20
L-lysine	0.17	0.23	0.30
Choline chloride	0.11	0.11	0.11
Vit. + mineral premix	1.00	1.00	1.00
Contribution of calculated nutrients, %			
CP	17.00	17.00	17.00
ME, Mj/kg DM	11.50	11.50	11.50
Calcium	3.80	3.80	3.80
Available phosphorus	0.43	0.43	0.43
Meth. + cyst.	0.73	0.73	0.73
Lysine	0.91	0.91	0.91
CF	2.53	3.06	3.59

Duncan's (1955) test was applied for $P < 0.05$.

In the same way was proceeded with the variables feed conversion, mass conversion and egg yolk which fulfilled with the suppositions of homogeneity and normality. Thus, an analysis of variance according to a completely randomized design was realized. Duncan's (1955) test was applied for $P < 0.05$.

For data processing the INFOSTAT computer system version 1.0 (Balzarini *et al.* 2012) was employed and for the analysis of variance the StatSoft (2001) statistical program was used.

Results and Discussion

Fowl viability was not affected with the inclusion of DDGS in the diet (table 2). In this sense, in the literature there is no report that this by-product provokes mortality (Ghazalah *et al.* 2011, Shim *et al.* 2011).

de la yema, que cumplieron con los supuestos de homogeneidad y normalidad, por lo que se realizó un análisis de varianza según diseño completamente aleatorizado. Se aplicó la dócima de Duncan (1955) para $P < 0.05$.

Para el procesamiento matemático de los datos, se empleó el sistema de cómputo INFOSTAT versión 1.0 (Balzarini *et al.* 2012) y para el análisis de varianza se empleó el programa estadístico StatSoft (2001).

Resultados y Discusión

La viabilidad de las aves no se afectó con la inclusión de los DDGS en la dieta (tabla 2). En este sentido, en la literatura no se informa que este subproducto provoque mortalidad (Ghazalah *et al.* 2011, Shim *et al.* 2011).

Con la inclusión de DDGS en la dieta, se alcanzó una intensidad de puesta (tabla 2) similar al grupo control.

Table 2. Effect of the maize DDGS included in the diets on the viability and intensity of White Leghorn L-33 hen laying

Indicators	DDGS inclusion, %			SE (\pm)
	0	10	20	
Viability, %	17.00 (98.87) SD= 4.67	14.00 (96.63) SD=5.41	15.50 (97.75) SD=4.72	P=0.5465
Laying intensity, %	20.60 (71.66) SD=4.67	11.55 (66.28) SD=4.10	14.35 (68.40) SD=4.85	P=0.0626

() True values in parentheses

With the inclusion of DDGS in the diet, a laying intensity (table 2) similar to that of the control group was attained. In the same way, Masa'deh *et al.* (2011) found that on increasing the DDGS from 0 to 25 % in the diet for White Leghorn laying hens, egg production was not affected. However, Deniz *et al.* (2013) noticed a reduction in egg production of hens fed 20 % maize DDGS which was attributed to the high concentration of fibrous components and for that reason hens were not capable of covering their energetic needs and amino acid requirements.

In egg weight and consequently in mass conversion (table 3) there were no negative effects. There results are similar to previous studies (Shalash *et al.* 2010, Wu-Haan *et al.* 2010). Sun *et al.* (2012) on evaluating high levels of DDGS (17, 35 and 50 %) indicating that when amino acids (lysine and methionine) are sufficient in the diet, egg weight is not affected. However, if the diet is not balanced, regarding nutrient contents, with high DDGS inclusion the production and egg mass can decrease.

In this study it was not possible the determination of the availability and digestibility of amino acids. For diet formulation the suggestions of Dale's (2004) tables were employed and this could have influenced on the results found. Consequently, further studies are necessary on some aspects of the nutritional quality of DDGS as the amino acid digestibility so as a more efficient use of this by-product could be made by the laying hen, since there was a trend towards increasing feed conversion.

Feed conversion worsened with 10 % regarding the control. This performance has no biological explanation, since the recommended levels for layers are between 10 and 15 % DDGS in the diet (Martinez *et al.* 2004, Swiatkiewicz and Koreleski 2006, Jiang *et al.* 2013). In other studies, Loar *et al.* (2010), Masa'deh *et al.* (2011 and Shim *et al.* (2011) demonstrated that DDGS can be added in poultry diets at higher inclusion levels, even of 20 %, provided precise nutrient profiles are used, specific of the DDGS source and that diets are formulated based on digestible amino acids.

Yolk color presented increment ($P < 0.0001$) with the inclusion of DDGS in the diet, and it was reached with 20 % a value higher than 6.95 in Roche's fan scale. In that respect, Shalash *et al.* (2010), Sun *et al.* (2012) reported a significant increment in the egg yolk color. However, Lumpkins *et al.* (2005) did not refer it on including 15 % and Roberts *et al.* (2007) did not observe effect with the addition of 10 % DDGS.

Sauvant and Tran (2004) reported that the xanthophyll content in DDGS (34 mg/kg) is up to three times higher than that of maize (10.62 mg/kg). The xanthophylls are pigments susceptible to light and heat, thus the different effect on egg yolk coloring are related to the xanthophyll content present in DDGS which could vary in function

De igual forma, Masa'deh *et al.* (2011) encontraron que, al incrementar los DDGS desde 0 hasta 25 % en la dieta para gallinas ponedoras White Leghorn, la producción de huevos no se afecta. Sin embargo, Deniz *et al.* (2013) encontraron reducción en la producción de huevos de gallinas alimentadas con 20 % de DDGS de maíz, lo que atribuyeron a la alta concentración de componentes fibrosos, por lo que las gallinas no eran capaces de satisfacer sus necesidades energéticas y requerimientos de aminoácidos.

En el peso del huevo y por ende, en la conversión masal (tabla 3) no se encontraron efectos negativos, resultados que son similares a estudios anteriores (Shalash *et al.* 2010, Wu-Haan *et al.* 2010). Sun *et al.* (2012), al evaluar altos niveles de DDGS (17, 35 y 50 %) indicando que cuando los aminoácidos (lisina y metionina) son suficientes en la dieta, el peso del huevo no se afecta. Sin embargo, si la dieta no es balanceada, en lo que respecta al contenido de nutrientes, con inclusión alta de DDGS puede decrecer la producción y la masa de huevos.

En este trabajo no se pudo determinar la disponibilidad y digestibilidad de los aminoácidos. Para la formulación de las dietas se emplearon las sugerencias de las tablas de Dale (2004), lo que pudo influir en los resultados encontrados. Por ello, es necesario profundizar en algunos aspectos de la calidad nutricional de los DDGS, como es la digestibilidad de los aminoácidos, de modo que pueda haber un uso más eficiente de este subproducto por parte de la gallina ponedora, ya que hubo una tendencia a incrementar la conversión alimentaria.

La conversión alimentaria empeoró con 10 % con respecto al control. Este comportamiento no tiene una explicación biológica, ya que los niveles recomendados para las gallinas ponedoras están en entre 10 y 15% de DDGS en la dieta (Martinez *et al.* 2004, Świątkiewicz y Koreleski 2006, Jiang *et al.* 2013). En otros estudios, Loar *et al.* (2010), Masa'deh *et al.* (2011 y Shim *et al.* (2011) demostraron que se pueden añadir los DDGS en dietas avícolas a niveles de inclusión más altos, incluso de 20 %, siempre que se utilicen perfiles de nutrientes precisos, específicos de la fuente de DDGS, y que las dietas se formulen sobre la base de aminoácidos digestibles.

El color de la yema presentó incremento ($P < 0.0001$), con la inclusión de los DDGS en la dieta, y se alcanzó con 20 % un valor superior a 6.95 en la escala del abanico de Roche. Al respecto, Shalash *et al.* (2010), Sun *et al.* (2012) informaron incremento significativo en el color de la yema de huevo. Sin embargo, Lumpkins *et al.* (2005) no lo refirieron, al incluir 15 % y Roberts *et al.* (2007) no observaron efecto con la adición de 10 % de DDGS.

Sauvant y Tran (2004) informaron que el contenido de xantófilas en los DDGS (34 mg/kg) es hasta tres veces superior al del maíz (10.62 mg/kg). Las xantófilas son pigmentos susceptibles a la luz y el calor, por lo que los diferentes efectos en la coloración de la yema del huevo se relacionan con el contenido de xantófilas presente en

Table 3. Effect on egg weight, yolk color, feed and mass conversion of White Leghorn L 33 laying hens fed maize DDGS

Indicadores	Inclusión de DDGS, %			EE (\pm)
	0	10	20	
Peso del huevo, g	58.62	57.63	58.62	0.47 P<0.2500
Conversión alimenticia, kg/ decena de huevos	1.54 ^a	1.66 ^b	1.62 ^{ab}	0.03 P=0.0428
Conversión masal, kg kg ⁻¹ de huevo	2.37	2.41	2.37	0.02 P<0.2623
Color de la yema	5.17 ^a	6.01 ^b	6.95 ^c	0.11 P<0.0001

^{abc}Different letters in the same line differ at P < 0.05 and P < 0.0001

of the drying technology and the technological treatment applied to the diets (Cortes-Cuevas *et al.* 2015).

The cost of the diets decreased with the inclusion of DDGS (424.59, 407.75 and 395.61 USD t⁻¹). With 10 % there was a 4 % reduction (16.84 USD t⁻¹) and with 20 % a 6.82 % (28.98 USD t⁻¹). This equals, in turn, to the contribution of 16 and 32 % of the protein, 10 and 20 % of the energy and 12.8 and 25.55 of the available phosphorus in the diet, by substituting soybean meal, the maize meal and the monocalcium phosphate the three most expensive elements in layer feeding.

The inclusion of DDGS up to 20 % in the diet of laying hens constitutes an interesting alternative from the economic point of view, since it attains the decrease of the cost of the diets, without affecting the productive performance of the fowls. In addition, regarding the commercialization, by showing a more intense yolk color, there is a better acceptance of eggs from layers fed this by-product.

Acknowledgements

Thanks are given to the technician Yoslaydy Arbelo for the assembly and control of this investigation and to the workers Raquel Díaz and Mirella Pérez for their careful fowl attention.

los DDGS, que puede variar en función de la tecnología de secado y del tratamiento tecnológico aplicado a las dietas (Cortes-Cuevas *et al.* 2015).

El costo de las dietas disminuyó con la inclusión de los DDGS (424.59, 407.75 y 395.61 USD t⁻¹). Con 10 % hubo reducción del 4 % (16.84 USD t⁻¹) y con 20 %, en 6.82 % (28.98 USD t⁻¹). Esto equivale, a su vez, al aporte de 16 y 32 % de la proteína, 10 y 20 % de la energía y 12.8 y 25.55 % del fósforo disponible en la dieta, al sustituir la harina de soya, la harina de maíz y el fosfato monocálcico, los tres elementos más costosos en la alimentación de gallinas ponedoras.

La inclusión de los DDGS hasta 20 % en la dieta de gallinas ponedoras constituye una alternativa interesante desde el punto de vista económico, pues se logra disminuir el costo de las dietas, sin afectar el comportamiento productivo de las aves. Además, en lo que respecta a la comercialización, al presentar la yema una coloración más intensa, es mejor la aceptación de los huevos procedentes de gallinas alimentadas con este subproducto.

Agradecimientos

Se agradece a la técnica Yoslaydy Arbelo por el montaje y control de la investigación realizada, y a las obreras Raquel Díaz y Mirella Pérez por la atención esmerada a las aves.

References

- AOAC 2016. Official methods of analysis of AOAC International. 20th ed., Rockville, MD: AOAC International, ISBN: 978-0-935584-87-5, Available: <<http://www.directtextbook.com/isbn/9780935584875>>, [Consulted: September 22, 2016].
- Balzarini, M. G., Casanoves, F., Di Rienzo, J. A., González, L. & Robledo, C. W. 2012. InfoStat. version 2012, [Windows], Universidad Nacional de Córdoba, Argentina: Grupo InfoStat, Available: <<http://www.infostat.com.ar/>>.
- Bregendahl, K. 2008. "Use of Distillers co-product in Diets Fed to poultry". In: Babcock, B. A., Hayes, D. J. & Lawrence, J. D., Using distillers grains in the U.S. and international livestock and poultry industries, Ames, IA: Midwest Agribusiness Trade Research and Information Center, Iowa State University, p. 99, ISBN: 978-0-9624121-7-2, Available: <http://lib.dr.iastate.edu/card_books/1/>, [Consulted: November 21, 2016].
- Conover, W. J. 1999. Practical Nonparametric Statistics. 3rd ed., New York: Wiley, 584 p., ISBN: 978-0-471-16068-7.
- Cortes-Cuevas, A., Ramírez-Estrada, S., Arce-Menocal, J., Avila-González, E. & López-Coello, C. 2015. "Effect of Feeding Low-Oil Ddgs to Laying Hens and Broiler Chickens on Performance and Egg Yolk and Skin Pigmentation". Revista Brasileira de Ciência Avícola, 17(2): 247–254, ISSN: 1806-9061, DOI: 10.1590/1516-635x1702247-254.
- Dale, N. 2004. Feedstuffs ingredient analysis table. 2004th ed., Athens, Ga: Feedstuffs.
- De Blas, J. C., Mateos, G. G. & Rebollar, P. G. 2003. Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la formulación de piensos compuestos. 2nd ed., Madrid, España: Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, 423 p.

- Deniz, G., Gencoglu, H., Gezen, S. S., Turkmen, I. I., Orman, A. & Kara, C. 2013. "Effects of feeding corn distiller's dried grains with solubles with and without enzyme cocktail supplementation to laying hens on performance, egg quality, selected manure parameters, and feed cost". *Livestock Science*, 152(2-3): 174-181, ISSN: 1871-1413, DOI: 10.1016/j.livsci.2012.12.013.
- Duncan, D. B. 1955. "Multiple Range and Multiple F Tests". *Biometrics*, 11(1): 1-42, ISSN: 0006-341X, DOI: 10.2307/3001478.
- Ghazalah, A. A., Abd-Elsame, M. O. & Moustafa, E. S. 2011. "Use of Distillers Dried Grains with Solubles (DDGS) as Replacement for Soybean Meal in Laying Hen Diets". *International Journal of Poultry Science*, 10(7): 505-513, ISSN: 1682-8356, DOI: 10.3923/ijps.2011.505.513.
- Jiang, W., Zhang, L. & Shan, A. 2013. "The effect of vitamin E on laying performance and egg quality in laying hens fed corn dried distillers grains with solubles". *Poultry Science*, 92(11): 2956-2964, ISSN: 0032-5791, 1525-3171, DOI: 10.3382/ps.2013-03228.
- Levene, H. 1960. "Robust tests for the equality of variance". In: Olkin, I., *Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling*, Stanford University Press, pp. 278-292, ISBN: 978-0-8047-0596-7, Available: <<https://books.google.com/cu/books?id=ZUSsAAAAIAAJ>>, [Consulted: June 3, 2016].
- Loar, R. E., Schilling, M. W., McDaniel, C. D., Coufal, C. D., Rogers, S. F., Karges, K. & Corzo, A. 2010. "Effect of dietary inclusion level of distillers dried grains with solubles on layer performance, egg characteristics, and consumer acceptability". *The Journal of Applied Poultry Research*, 19(1): 30-37, ISSN: 1056-6171, 1537-0437, DOI: 10.3382/japr.2009-00072.
- Lumpkins, B., Batal, A. & Dale, N. 2005. "Use of Distillers Dried Grains Plus Solubles in Laying Hen Diets". *The Journal of Applied Poultry Research*, 14(1): 25-31, ISSN: 1056-6171, 1537-0437, DOI: 10.1093/japr/14.1.25.
- Martinez, A. C., Parsons, C. M. & Noll, S. L. 2004. "Content and Relative Bioavailability of Phosphorus in Distillers Dried Grains with Solubles in Chicks". *Poultry Science*, 83(6): 971-976, ISSN: 0032-5791, 1525-3171, DOI: 10.1093/ps/83.6.971.
- Martínez, M., Castro, M., Savón, L., Lázara Ayala, Castañeda, S. & Achán, J. 2010. "Effect of distiller's dried grains with solubles (DDGS) on the excretion of nutrients in growing pigs". *Cuban Journal of Agricultural Science*, 44(4): 379-381, ISSN: 2079-3480.
- Masa'deh, M. K., Purdum, S. E. & Hanford, K. J. 2011. "Dried distillers grains with solubles in laying hen diets". *Poultry Science*, 90(9): 1960-1966, ISSN: 0032-5791, 1525-3171, DOI: 10.3382/ps.2010-01184.
- Noll, S. L., Brannon, J. & Parsons, C. 2007. "Nutritional value of corn distiller dried grains with solubles (DDGs): Influence of solubles addition". *Poultry Science*, 86(Suppl. 1): 68, ISSN: 1525-3171, 0032-5791.
- Roberts, S. A., Xin, H., Kerr, B. J., Russell, J. R. & Bregendahl, K. 2007. "Effects of Dietary Fiber and Reduced Crude Protein on Ammonia Emission from Laying-Hen Manure". *Poultry Science*, 86(8): 1625-1632, ISSN: 0032-5791, 1525-3171, DOI: 10.1093/ps/86.8.1625.
- Sauvant, D. & Tran, G. 2004. "Corn distillers". In: Ponter, A., Sauvant, D., Perez, J.-M. & Tran, G. (eds.), *Tables of composition and nutritional value of feed materials: Pigs, poultry, cattle, sheep, goats, rabbits, horses and fish*, The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, p. 118, ISBN: 978-90-76998-41-1, Available: <<http://www.wageningenacademic.com/doi/book/10.3920/978-90-8686-668-7>>, [Consulted: November 21, 2016].
- Shalash, S. M. M., El-Wafa, S. A., Hassan, R. A., Ramadan, N. A., Mohamed, M. S. & El-Gabry, H. E. 2010. "Evaluation of Distillers Dried Grains with Solubles as Feed Ingredient in Laying Hen Diets". *International Journal of Poultry Science*, 9(6): 537-545, ISSN: 1682-8356, DOI: 10.3923/ijps.2010.537.545.
- Shapiro, S. S. & Wilk, M. B. 1965. "An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples)". *Biometrika*, 52(3/4): 591-611, ISSN: 0006-3444, DOI: 10.2307/2333709.
- Shim, M. Y., Pesti, G. M., Bakalli, R. I., Tillman, P. B. & Payne, R. L. 2011. "Evaluation of corn distillers dried grains with solubles as an alternative ingredient for broilers". *Poultry Science*, 90(2): 369-376, ISSN: 0032-5791, 1525-3171, DOI: 10.3382/ps.2010-00727.
- StatSoft 2001. *STATISTICA (data analysis software system)*. version 6.0, [Windows], US: StatSoft, Inc., Available: <<http://www.statsoft.com>>.
- Sun, H., Lee, E. J., Samaraweera, H., Persia, M., Ragheb, H. S. & Ahn, D. U. 2012. "Effects of increasing concentrations of corn distillers dried grains with solubles on the egg production and internal quality of eggs". *Poultry Science*, 91(12): 3236-3246, ISSN: 0032-5791, 1525-3171, DOI: 10.3382/ps.2012-02398.
- Świątkiewicz, S. & Koreleski, J. 2006. "Effect of maize distillers dried grains with solubles and dietary enzyme supplementation on the performance of laying hens". *Journal of Animal and Feed Sciences*, 15: 253-260, ISSN: 1230-1388.
- Wu-Haan, W., Powers, W., Angel, R. & Applegate, T. J. 2010. "The use of distillers dried grains plus solubles as a feed ingredient on air emissions and performance from laying hens". *Poultry Science*, 89(7): 1355-1359, ISSN: 0032-5791, 1525-3171, DOI: 10.3382/ps.2009-00471.

Received: January, 4, 2016