

## 고온 환경조건의 육용종계에서 비타민 섭취에 의한 난각질 저하 방지 효과

지 규 만 · 정 만 기

고려대학교 생명공학원

### 1. 서 론

양계산업에서 고온 환경으로 인한 stress가 닭의 생산성에 미치는 영향은 매우 중요한 관심사 중의 하나이다. 환경온도가 섭씨 27도 이상으로 높아지면 산란율이 저하되며 24도 이상에서는 난중이 저하된다. 이렇게 고온 stress에서는 난각질의 저하는 물론이고 폐사율의 증가를 포함한 전반적인 생산성의 저하가 초래되어 양계업에 막대한 피해를 줄 수 있다(Thaxton과 Pardue, 1984; Pardue 등, 1985; Muruni와 Harrison, 1991).

육용 종계에서도 고온 스트레스의 피해는 단지 폐사율에 국한 되지 않고 산란율, 수정율, 난각 품질 및 알부민 품질 등이 저하되며, 이런 반응들은 생존을 위한 대사작용의 소산이라 볼 수 있다 (Thaxton과 Pardue, 1984). 일단 고온 스트레스에 노출되면 carry-over 효과에 의해 산란계가 정상 온도하에서 원래의 산란율 수준으로 회복되는데 거의 한달이나 소요된다(Payne, 1966).

양계에서 고온 stress의 방지를 위한 많은 방법 가운데 사료에 첨가한 비타민 C의 효과가 보고되고 있다. 여러 연구에 의하면 비타민 C의 공급은 환경 스트레스에 노출된 육계의 성장율과 생산성을 개선하였으며, 산란계에서 산란율, 난각 품질, 난각 두께를 개선하고, 수정율과 정자 생산을 도와주며 스트레스에 대한 저항성과 질병 예방 등에 효과를 보이고 있다 (McDonald 등, 1981; Pardue와 Thaxton, 1986). Njoku (1986)는 열대의 고온 스트레스 환경에서 육계의 증체와 사료 효율의 개선을 위해서는 200 ppm의 비타민 C의 공급이 필요하다고 하였고, Pardue 등(1985)도 고온 스트레스에 노출된 육계에서 비타민 C의 첨가가 폐사율을 현저히 감소시켰음을 보였다. 고온에 노출된 산란계에서 비타민 C의 급여는 생존율, 산란율, 난각 강도 및 내부 품질을 개선하였으며 (El-boushy와 Van Albada, 1970; Cheng 등, 1990; Peebles와 Brake, 1985), 환우 후의 난각 품질도 개선하였다(Berry와

Brake, 1991).

그러나 비타민 C가 가금의 고온 stress에 대한 피해를 완화시켜 주는 효과를 입증하지 못한 연구도 많이 보고되고 있다. Nockels (1984)는 비타민 C 공급이 고온에서 산란율, 난각 두께, 난중과 폐사율에 영향을 주지 못하였으며 단지 계란 내부 품질 만이 개선을 관찰하였다. Pardue 등(1985)도 고온 stress에서 비타민 C 첨가에 의한 산란 성적의 개선효과를 보지 못하였다.

닭을 포함한 가금류는 비타민 C의 체내 합성이 가능하며 스트레스가 없는 환경에서 건강한 닭은 하루에 필요한 비타민 C를 충분히 생합성할 수 있으나 스트레스나 질병상태에서는 내생 비타민 C의 공급이 충분치 않을 수 있다(Brake, 1988). 칠면조에서 저온 스트레스, 디비킹, 백신 접종 등에 의하여 혈중 비타민 C의 농도가 유의하게 저하하였다 (Pardue와 Williams, 1990). 환경 스트레스는 닭의 방어 기전과 면역 반응을 저해하며, 감염 상태에서도 같이 glucocorticoids, epinephrine 등의 호르몬 분비를 증가시킨다 (Nockels, 1991). 그런데 비타민 C는 육계가 고온 스트레스에 놓였을 때 혈중 corticosteroids수준을 낮추며, 이는 비타민 C가 부신에서 스트레스와 관련된 반응을 제한하고 스테로이드 호르몬의 전구물질의 고갈을 지연시켜 glucocorticoid 합성을 조절하는데(Pardue와 Williams (1990), 이렇게 비타민 C 섭취는 스트레스 완화 작용의 하나로 혈중 glucocorticoids 농도를 감소시킨다 (Degkwitz, 1987).

비타민 C는 뼈 발육뿐만 아니라 산란계에서 난각의 calcification에 도움을 주었고 (Orban 등, 1993), 환우한 산란계에서도 산란율과 난각 품질을 개선하였다(Zapata와 Gernat, 1995). 이 비타민은 비타민 D<sub>3</sub>가 활성형인 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>로 전환하는데 조효소로 이용되어 콩팥에서 hydroxylation의 활성화에 의해 1,25(OH)<sub>2</sub> 비타민 D<sub>3</sub> 수준을 증가시켰다(Weiser 등, 1990, 1988). Brake (1988)은 고온 환경에서 난각 품질의 저하는 칼슘과 인의 섭취량 감소에 기인할 뿐 아니라 칼슘

대사조절과 난각 석회화에 필수적인 calcitriol의 생성에 관여하는 비타민 C의 고갈에 의해서도 발생함을 관찰 하였다.

비타민 E는 비타민 C와 더불어 체내에서 중요한 항산화 물질로서 서로 의존적 관계가 있다. 비타민 C는 세포외액에서 작용하는 가장 중요한 항산화제인데 비해 (Stocker와 Frei, 1991) 비타민 E는 intra-membrane의 항산화 특성에 의해 자유 라디칼의 공격으로부터 세포막을 방어하여 환경적 스트레스의 효과를 경감시킨다(Smith, 1999). 비타민 C는 glutathione 및 NADPH와 더불어 산화된 비타민 E의 재생을 위해 필요해지는데 이런 관점에서 비타민 E의 충분한 공급을 통

해 비타민 C의 절약 효과를 기대할 수 있다 (Jacob, 1995; Groff와 Gropper, 2000). 지방산 산화과정에서 비타민 E는 자유 라디칼 형태로 산화되는 데 비타민 C가 전자를 자유 라디칼 형태의 비타민 E에 공여하므로써 비타민 E를 환원형으로 재생시킨다.

비타민 C의 감소는 비타민 E의 유지를 가능케 하며 (Niki 등, 1982), *in vivo* 평가에서 비타민 C가 비타민 E수준을 유지하는 데 도움이 되기도 하였다. 비타민 E는 혈장의 주요 항산화제로서 비타민 C와 E를 같이 급여한 동물에서 혈장과 폐포의 비타민 E수준은 비타민 C없이 비타민 E만을 단일로

Table 1. Composition and calculated nutrient content of the basal diet

Ingredients	Percentage
Corn	53.99
Wheat	10.00
Soybean meal	23.24
Rice bran	2.00
Animal fat	0.70
Tricalcium phosphate	1.16
Limestone	8.04
NaCl	0.30
Vitamin premix <sup>1</sup>	0.12
Mineral premix <sup>2</sup>	0.12
Choline chloride (25%)	0.20
DL-methionine (99%)	0.03
Vermicide <sup>3</sup>	0.04
Phytase <sup>4</sup>	0.06
Calculated nutrients	
ME, kcal/kg <sup>5</sup>	2760.00
Crude protein, %	16.00
Calcium, %	3.25
Available phosphorus, %	0.43
Lysine, %	0.82
Total S-containing amino acids, %	0.58

<sup>1</sup> Vitamin premix provided per kilogram of diet : vitamin A acetate, 15,600 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 120 ICU; dl-alpha-tocopherol acetate, 50 IU; menadione sodium bisulfite, 3.6 mg; vitamin B<sub>2</sub>, 6 mg; vitamin B<sub>12</sub>, 0.024 mg; niacin, 48 mg; d-calcium panthothenate, 12 mg; folic acid, 1.8 mg; d-biotin 0.25 mg; ethoxyquin, 0.5 mg.

<sup>2</sup> Mineral premix provided per kilogram of diet: iron, 96 mg; manganese, 36 mg; zinc, 24 mg; copper, 12 mg; cobalt, 0.42 mg; iodine 0.72 mg; selenium, 0.12 mg.

<sup>3</sup> LarvadexTM, (Novatis, Basel, Switzerland): as cyclomazine 3 mg/kg diet.

<sup>4</sup> NatuphosTM, 5000G/IU (BASF, Ludwigshafen, Germany).

<sup>5</sup> ME = metabolizable energy.

급여한 동물에서의 비타민 E 수준보다 유의하게 높았다 (Bendich 등, 1984).

일반적으로 건강한 닭은 체내에 자유 라디칼을 제거할 수 있는 항산화 능력을 지니고 있으나, 환경 스트레스 하에 놓이게 되면 그 능력이 저하된다고 한다.

비타민 E는 항산화 비타민으로서 일반적으로 세포 또는 비세포성 면역을 증진한다고 알려져 있다. 고온 스트레스 하의 산란계에 비타민 E의 추가 공급은 일관성있게 생산성을 향상시켰다. 그리고 dose-response 실험을 통하여 비타민 E 250 mg/kg이 산란계에 있어 만성적인 고온 스트레스의 해로운 효과를 경감시키는 최적의 수준이라고 보고하였다(Bollengier-Lee 등, 1999). 이 연구자들은 고온 스트레스에 노출된 닭에서 세포막 투과성이 저하되어 칼슘의 세포내 인입이 제한되는데, 여기에 비타민 E의 첨가하여 산란성적을 개선하였다고 보고하였다. 연구자들은 시험계의 산란율은 떨어졌으며 비타민 C는 그 자신이 항산화제로서 산화될 때 비타민 E의 자유 라디칼과 반응하여 재생된 환원형의 비타민 E가 된다

본 연구는 사료 중 비타민 C (200 mg/kg)가 고온 스트레스 아래의 육용 종계에서 난각 품질 및 경골 강도에 미치는 영향과 비타민 E (250 mg/kg)와의 상호작용에 의해 고온 스트레스에 의한 난각 품질의 저하를 방지하는 효과를 확인하기 위하여 실시하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 공시동물, 사료 및 사양관리

강제 환우에서 회복된 83주령의 Ross 육용종계 160수를 83주령시에 사용하였고 모두 개별 케이지에 수용하였다. 모두 4개의 시험구는 각각 4반복, 그리고 반복당 10수씩을 공시하였다.

시판되는 육용 종계사료 (Basal diet)를 구입하여 각각 비타민 C (200 mg/kg) 또는 비타민 E (250 mg/kg) 그리고 비타민 C와E를 추가로 첨가하여 공시사료로 사용하였다. 시험사료의 모든 영양소는 NRC (1994)의 권장 수준 이상이었고 배합비와 영양소는 Table 1에서와 같다.

사료는 종계회사에서 권장하는 관리방법에 따라 제한급이를 실시하였다. 물은 자유롭게 섭취하도록 하였으며 점등과 소등은 각각 하루 16:8시간 주기로 하였다. 계사 온도는 처음 10일간의 적응기간 동안에는 25 °C로 그리고 3주의 시험기간 동안에는 지속적으로 32 °C를 유지하였다. 계란은 매일 수집되어 난각 품질 측정에 사용되었다. 사료 섭취량, 산

란율, 난중, 폐사율은 매주 측정하였으며 Haugh unit 역시 주간 별로 3주간 동안 측정하였다.

### 나. 난각 품질 측정

수집된 계란의 난각 및 내부 품질을 측정하기 위하여 비중, Hough unit, shell weight per unit surface area (SWUSA), shell percent, 난각 두께 및 압축 파괴강도 등을 측정하였다.

### 다. 경골 측정

시험계는 방혈 후 경추 분리로 사망시킨 다음 Orban (1993)의 방법에 따라 경골을 추출하여 강도측정, 길이 및 중량 측정에 사용하였다. 경골은 강도측정 전에 해동시킨 다음 Instron Automated materials Tester Model 4465 (Instron Corp., Canton, MA 02021, 미국)를 이용하여 압축강도를 측정하였다.

### 라. 혈청 비타민 C, E 및 Corticosterone

혈청 비타민 C는 Harapanhali 등(1993)의 방법을 따랐다. 혈청 시료는 5 mM EDTA가 포함된 5 mM metaphosphoric acid로 단백질을 제거한 후 C18컬럼을 사용하여 HPLC에서 분리, 정량하였다. 비타민 E는 Bottie 등(1997)의 방법을 수정하여 분석하였다. 혈청 corticosterone의 분석은 Fowler 등 (1983)의 방법을 따랐다.

### 마. 백혈구의 H/L Ratio

시험기간 주간 별로 오전 11시에서 오후 1시 사이에 시험구 당 임의로 6마리에서 혈액을 채취하였다. 백혈구 세포수의 계수는 blood smear법으로 결정하였다. H/L ratio는 heterophils 수를 lymphocytes수로 나누어 표시한다.

### 바. 통계분석

시험구에서 얻어진 결과에 대한 통계처리는 Statistical Analysis System (SAS Institute, 1996) 의 일반선형모델을 이용하여 one-way ANOVA에 의하여 처리하였다. ANOVA분석에서 유의하였을 때는 그 비교를 위하여 Tukey's test를 사용하였다. 평균 사이의 유의성은  $P < 0.05$ 를 기준으로 평가하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 가. Haugh Unit

Heat stress 조건 중에서 기간이 경과 할수록 모든 시험구

Table 2. Effects of dietary vitamins C and E on internal egg quality under heat stress at room temperature 32°C in broiler breeder hens<sup>1</sup>

Treatment	Egg weight, g			Haugh unit			Egg white height <sup>2</sup> , mm		
	wk 0	wk 1	wk 2	wk 0	wk 1	wk 2	wk 0	wk 1	wk 2
Basal Diet	63.69	64.56	62.42	68.50	61.33	61.15	5.00	4.71	4.40
B.D.+ vitamin C <sup>3</sup>	60.75	63.97	64.41	69.48	63.69	65.32	5.08	4.55	4.85
B.D.+ vitamin E <sup>4</sup>	62.39	63.69	57.81	70.73	66.64	63.06	5.25	5.04	4.61
B.D.+ C + E <sup>5</sup>	64.49	65.92	64.50	70.46	65.25	65.77	5.46	4.48	4.90

<sup>1</sup> Data are mean values of thirty samples measured by egg quality tester (Model EMT 4500, Japan).

No differences exist among treatment.

<sup>2</sup> Thick egg white height, mm.

<sup>3</sup> Basal diet + vitamin C supplemented, 200 mg/kg diet.

<sup>4</sup> Basal diet + vitamin E supplemented, 250 mg/kg diet.

<sup>5</sup> Basal diet + vitamin C (200 mg/kg diet), vitamin E (250 mg/kg diet) supplemented.

에서 Haugh unit가 감소하는 경향을 나타내었다. Haugh units는 대조구에서 가장 낮았고 비타민 C/E 첨가구에서 가장 높았으나 통계적으로 유의하지 않았다(Table 2). 한편 Daniel과 Belnave (1981)은 높은 상대습도 (60~80%)와 35 °C이상의 고온은 Haugh unit score에 영향을 미치지 않았다고 하였다. 이를 고려하면 비타민 C/E의 첨가는 heat stress 하에서 Haugh unit score를 개선시킬 수 있음을 시사한 것으로 보인다.

#### 나. 산란성적

난중과 사료섭취량은 전체 시험구에서 차이가 없었다. 이는 제한급이로 인하여 충분하게 사료섭취를 할 수 없었기 때문에 섭취량은 차이가 없었다. 반면에 산란율은 heat stress에 노출 기간이 경과할수록 산란율의 저하하는 경향을 나타내었으나 통계적으로 유의하지는 않았다. 폐사율은 대조구가 가장 높았고, 비타민 C/E 첨가구에서 가장 낮았으나 유의한 차이는 나타나지 않았다(Table 3). 폐사는 고온 스트레스 직후 1주일 사이에 모두 발생하였으나 그 후로부터 시험 종료시까지는 폐사가 없었던 점을 미루어 보아 고온 스트레스에 급속히 노출되었을 때는 생리적으로 극복하기가 어려웠을 것으로 보이나 고온에 장기간 노출되면 서서히 적응하는 것이 아닌가 보인다.

여러 연구들에서 비타민 C의 공급이 산란율 향상과 난각질 개선에 영향을 준 것으로 보고되었다. 특히 White Leghorn에서 산란율과 난각질은 일차 산란주기에서 이차 보다 개선되었다 (North와 bell, 1990). Zapata와 Gernat (1995)에 따르면

강제환우계의 산란율이 비타민 C의 첨가를 각각 250과 500 ppm로 하였을 때 65, 66%로 대조구의 61.8%보다 유의하게 증가하였고 이는 Sykes (1978)의 결과와도 비슷하였다. 한편, 본 시험에서 비타민 C는 난중의 개선에는 영향을 미치지 않았는데 이는 Pardue와 Thaxton(1986), 그리고 Orban 등 (1993)의 결과와도 일치하였다.

#### 다. 난각 품질

Tables 4는 heat stress가 모든 난각 품질 요소들을 저해하는 것을 보여주었다. 그러나, 전 시험 기간 중 비타민 C와 E의 첨가구들은 대조구에 비하여 난각 품질 저하를 경감하는 경향을 나타내었다.

대조구의 난각 파괴강도는 시험 3주간 동안 3.19 kg에서 2.59 kg으로 급감한 반면 비타민 C/E 첨가구에서는 오히려 3.05 kg에서 3.15 kg으로 증가하였다(P<0.05). 난각막과 난각의 구조적 강도와는 잘 알려져 있지 않았다. Britton (1977)은 난중에 대비하여 적은 난각막을 가진 계란은 난각 변형이 크게 되었다. 따라서 큰 난각 변형은 얇은 난각, 난각을 그리고 난각 중량과 깊은 관계가 있었다. 그러나 다른 연구들에서는 난각막의 두께와 난각 파괴강도와는 관계가 없었으며 (Simons, 1971), 난각막의 두께와 난각의 두께 사이에서도 아무런 관계가 없었다(Tyler, 1961). 난각 두께에서도 대조구는 0.352 mm에서 0.326 mm로 감소하였으나 비타민 C/E 첨가구에서는 0.343 mm에서 0.351 mm로 증가하였다(P<0.05). 3주간의 heat stress 환경에서 대조구의 난각두께는

Table 3. Effects of dietary vitamin C and E on laying performance of broiler breeding hens under heat stress at room temperature 32°C during a 3-week-period<sup>1</sup>

Treatments	Egg weight	Egg production	Feed intake	Mortality
	g	%	g/bird/day	%
<u>Week 1</u>				
Basal Diet	62.6±1.9	41.3± 6.0	129.2± 5.0	20.0±14.4
B.D. + vitamin C <sup>3</sup>	62.8±1.4	51.3±16.8	131.9± 8.3	15.0±12.9
B.D. + vitamin E <sup>4</sup>	63.5±1.9	45.4± 8.8	131.2±16.6	12.5± 9.6
B.D. + C + E <sup>5</sup>	64.9±2.0	52.1± 3.7	127.5±11.0	10.0± 8.2
<u>Week 2</u>				
Basal Diet	62.7±1.7	20.3±10.0	128.4± 8.7	0.0
B.D. + vitamin C <sup>3</sup>	62.6±2.2	24.4±14.0	136.3±23.9	0.0
B.D. + vitamin E <sup>4</sup>	62.5±0.8	25.3± 9.6	137.7±11.9	0.0
B.D. + C + E <sup>5</sup>	64.5±3.6	34.9± 7.3	137.7± 3.6	0.0
<u>Week 3</u>				
Basal Diet	60.3±1.8	11.7± 9.7	126.7±10.3	0.0
B.D. + vitamin C <sup>3</sup>	62.6±3.8	17.1±12.5	126.2±10.6	0.0
B.D. + vitamin E <sup>4</sup>	61.1±2.9	17.7±12.3	134.0±23.7	0.0
B.D. + C + E <sup>5</sup>	66.2±5.7	28.3± 5.4	125.8± 8.2	0.0

<sup>1</sup> Values are mean values ± standard deviation of all eggs laid and feed intake of hens everyday.

<sup>2</sup> Egg production: hen-day egg production.

<sup>3</sup> Basal Diet + vitamin C (200 mg/kg diet).

<sup>4</sup> Basal Diet + vitamin E (250 mg/ kg diet).

<sup>5</sup> Basal Diet + vitamin C (200 mg/kg) + vitamin E (250 mg/kg).

7.1% 감소하였지만, 비타민 C첨가구는 0.6% 감소, 비타민 E 첨가구는 2.6% 감소되었다. 반면에 비타민 C/E 첨가구는 오히려 0.9% 증가하였다. 이를 감안하면 비타민 C가 난각 두께의 개선에 유익한 것으로 보인다.

비타민 C의 첨가는 그렇지 않은 시험계들 보다 계란 비중을 증가시킨 것으로 나타내었다. 대조구의 비중은 시험기간 중 1.066에서 1.062로 감소한 반면, 비타민 C/E 첨가구에서는 1.063에서 1.068로 증가되어 통계적으로 유의하였다( $P<0.05$ ). 여기에서도 비타민 C 첨가구에서 비중은 다소 증가되었지만 비타민 E첨가구에서는 거의 변화가 없었다. 이 결과를 볼 때 비타민 C의 첨가가 비중의 증가에 영향을 미친 것으로 볼 수 있겠다. 계란 비중의 증가는 비타민 C의 증가로 난각에 보다 많은 칼슘의 침착으로 난각의 두께가 증가한 것과 관련이 있어 보인다. 한편, Zapata와 Gernat (1995)는 비타민 C가 사료에 첨가되었을 때 난각의 두께의 개선을 확인하지 못하였으나 Thornton (1962), El-Boushy 등(1968)은 사료에 비타민 C를 첨가하였을 때 난각 두께가 증가하였다고 보고

하였다. 이때 비타민 C의 첨가 수준이 250에서 500 ppm일 때 난각 중량을 증가시켰다 ( $P<0.01$ ). 이는 칼슘의 이용성 증가가 난각의 발달에 영향을 미친 것으로 인식된다 (Zapata와 Gernat, 1995).

대조구의 SWUSA는 heat stress전의 74.3에서 시험기간 중 68.6으로 감소하였으나 비타민 C/E 첨가구에서는 71.6에서 72.6으로 증가하였고 이는 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다 ( $P<0.05$ ). 비타민 C 첨가구는 SWUSA가 70.7에서 70.3으로 비슷하였으나 비타민 E 첨가구에서는 72.1에서 70.7로 감소한 것으로 보아 비타민 C가 비타민 E에 비하여 SWUSA의 개선 효과가 큰 것으로 나타났다. 특히 비타민 C/E첨가구에서는 SWUSA가 증가한 것을 보면 비타민 C와 E의 상승 작용에 의하여 개선 효과가 각각 사용하였을 때 보다 크게 나타난 것으로 풀이된다.

Berry와 Brake (1991)은 흰우 후에 난각 품질이 개선되었다고 보고하였고, 시험계의 주령이 많아질수록 난각 품질이 저하되는 바, 이는 계란의 크기가 커지고 장내 칼슘 흡수가

Table 4. Effects of dietary vitamins C and E on egg weight, specific gravity, breaking strength, shell percent, SWUSA, thickness under heat stress at room temperature 32°C for 3 weeks<sup>1</sup>

Treatments	Egg weight g	Specific gravity	Breaking strength kg	Shell percent %	SWUSA <sup>2</sup> mg/cm <sup>2</sup>	Thickness mm
<u>Week 0</u>						
Basal Diet	63.5±4.7	1.066±0.005	3.19±0.53	8.69±0.71	74.3± 4.7	0.352±0.015
B.D.+ vit.C <sup>2</sup>	64.8±4.6	1.062±0.008	3.02±0.48	8.25±0.93	70.7± 8.1	0.335±0.034
B.D.+ vit.E <sup>3</sup>	63.7±4.7	1.066±0.005	2.98±0.33	8.46±0.75	72.1± 6.9	0.343±0.035
B.D.+ C+ E <sup>4</sup>	65.3±3.8	1.063±0.011	3.05±0.64	8.32±1.23	71.6±11.1	0.343±0.047
<u>Week 1 to 3</u>						
Basal Diet	62.2±4.9 <sup>a</sup>	1.062±0.010 <sup>a</sup>	2.62±0.64 <sup>a</sup>	8.10±0.95	68.6±7.7 <sup>a</sup>	0.327±0.034 <sup>a</sup>
B.D.+ vit.C <sup>2</sup>	63.6±4.2 <sup>b</sup>	1.065±0.009 <sup>ab</sup>	2.86±0.43 <sup>ab</sup>	8.37±0.60	70.3±5.2 <sup>ab</sup>	0.333±0.028 <sup>ab</sup>
B.D.+ vit.E <sup>3</sup>	62.6±4.9 <sup>ab</sup>	1.065±0.011 <sup>ab</sup>	2.81±0.49 <sup>ab</sup>	8.34±1.03	70.7±8.9 <sup>ab</sup>	0.334±0.040 <sup>ab</sup>
B.D.+ C+ E <sup>4</sup>	65.5±3.9 <sup>b</sup>	1.068±0.009 <sup>b</sup>	3.07±0.49 <sup>b</sup>	8.45±0.83	72.6±7.1 <sup>b</sup>	0.346±0.033 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Means in a column with no common superscripts are significantly different (P<0.05).

<sup>1</sup> Values are means ± standard deviation of thirty samples.

<sup>2</sup> SWUSA: shell weight per unit surface area

<sup>3</sup> Basal diet + vitamin C (200 mg/kg).

<sup>4</sup> Basal diet + vitamin E (250 mg/kg).

<sup>5</sup> Basal diet + vitamin C (200 mg/kg) + vitamin E (250 mg/kg).

떨어지는 것으로 일부는 설명될 수 있다고 하였다.

고온 스트레스가 제거된 후에도 지속적으로 산란율의 저하는 나타나는 데 이것을 산란율에 있어서 고온 스트레스의 “carry-over” 효과라 불리운다. Payne (1966)은 고온 스트레스를 받은 시험계가 정상 온도로 돌아갔을 때, 원래의 산란율 수준으로 회복되는 데는 약 28일이 소요되는 것으로 조사하였다. 본 실험에서는 고온 스트레스 종료 후 시험을 끝내버렸기 때문에 정상 온도로 복귀되었을 때의 산란율 변화 등은 조사할 수가 없었다.

Payne (1966)은 18~28 °C에서 난중의 변화가 없었으며 온도가 32 °C를 초과하였을 때 난중이 크게 감소하였다 하였다. 이것은 영양소의 변화로 해결할 수 없었으며 고온 스트레스에 의하여 결과가 귀찮았다고 하였다. 본 시험에서도 대조구에서는 난중이 63.5 g에서 59.8 g으로 비타민 E 첨가구는 63.7 g에서 61.0 g으로 감소하였으나, 비타민 C/E 첨가구에서는 65.3 g에서 65.5 g으로 거의 변동이 없었다. 이를 보아 비타민 C와 E는 고온 스트레스 하에서 난중의 개선에도 영향을 미치는 것으로 사료된다. Rosenberg와 Tanaka (1951)은 적온과 고온에서 난중의 차이는 발견할 수 없었지만, Muiruri와 Harrison (1991)은 적온과 고온-스트레스 하에

서 난중의 커다란 차이를 확인하였다. 특히 난각 두께와 계란 비중은 고온 스트레스에 의하여 크게 감소하였다(Odom 등, 1985).

Bollengier-Lee 등 (1998)은 고온 스트레스 하에서의 비타민 E 첨가는 대사의 차이를 가져온다고 하였다. 즉, 세포막 투과성의 저하는 칼슘의 세포내 인입을 제한하여 세포대사를 저해한다. 연구자들은 고온 스트레스에 노출되었을 때 시험계의 산란율은 떨어졌으며 비타민 E의 첨가로 산란성적을 개선하였다고 보고하였다.

한편, 비타민 C는 그 자신이 항산화제로서 산화될 때 비타민 E의 자유 라디칼과 반응하여 재생된 환원형의 비타민 E가 된다 (Niki 등, 1982). 따라서 비타민 C의 감소는 비타민 E의 유지를 가능케 한다. Bendich 등 (1984)은 비 조직실험의 *in vivo* 평가에서 비타민 C가 비타민 E 수준을 유지하는 데 도움이 된다고 하였다.

비타민 E는 혈장의 주요 항산화제로서 비타민 C와 E를 같이 급여한 동물에서 혈장과 폐포의 비타민 E 수준은 비타민 C없이 비타민 E만을 단일로 급여한 동물에서의 비타민 E 수준보다 유의하게 높았다. 이 같은 내용으로 볼 때, 비타민 E가 난각 품질에 미치는 비타민 C의 역할에 상승적인 효과를

Table 5. Effects of dietary vitamin C and E on tibia bone measurements under heat stress at room temperature 32°C over three weeks<sup>1</sup>

Treatment	Body Weight	Tibia		
		Weight	Length	Breaking strength
	- g -	- g -	- cm -	- kg -
Basal Diet	3762±343	22.81±0.77	12.2±0.4	29.91±2.12 <sup>a</sup>
B.D. + vitamin C <sup>2</sup>	3890±254	23.44±0.87	12.2±0.2	37.16±2.91 <sup>b</sup>
B.D. + vitamin E <sup>3</sup>	3889±391	22.52±1.03	12.2±0.2	29.22±7.86 <sup>a</sup>
B.D. + C + E <sup>4</sup>	4049±451	23.59±0.67	12.3±0.1	33.52±4.75 <sup>ab</sup>

<sup>a,b</sup> Means in a column with no common superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup> Values are mean values ± standard deviation of eight samples.

<sup>2</sup> Basal diet + vitamin C (200 mg/kg diet).

<sup>3</sup> Basal diet + vitamin E (250 mg/kg diet).

<sup>4</sup> Basal diet + vitamin C (200 mg/kg diet) + vitamin E (250 mg/kg diet).

항산화제로서 그리고 면역기능 증진제로서 도움을 주는 것 같다.

#### 라. 경골 강도

경골 파괴강도는 비타민 C 첨가구에서 가장 높은 37.16 kg, 대조구와 비타민 E 첨가구에서 각각 29.91 kg, 29.22 kg으로서 통계적으로 유의하게 낮았으며 ( $P < 0.05$ ), 비타민 C/E첨가구에서는 33.52 kg의 강도를 나타내었다. 모든 시험구들 사이에 경골의 중량과 길이에서는 유의한 차이는 없었으나 경골 중량에서 비타민 C 첨가구와 비타민 C/E 첨가구에서 대조구와 비타민 E 첨가구보다 높은 경향을 나타내었다 (Table 5). 이 결과들로부터 비타민 C는 뼈의 발달에 긍정적인 영향을 미쳐 경골의 중량과 강도를 개선시킨 것으로 보인다. 이것은 Wisser등 (1988)이 비타민 D<sub>3</sub>와 더불어 비타민 C의 수준을 증가시켰을 때 뼈의 중량, 구성 물질, 골회분을 개선하였다는 보고와 비슷하였다. 계속하여 Weiser와 Schlachter (1987)는 비타민 D<sub>3</sub>와 더불어 비타민 C를 사료에 강화시켜 주었을 때, 경골의 파괴강도가 유의한 차이로 개선되었다고 하였다. Weiser등 (1988)은 비타민 C가 비타민 D<sub>3</sub>의 renal hydroxylation를 자극하여 혈장의 1,25(OH)<sub>2</sub> 비타민 D<sub>3</sub>의 수준을 증가시켰다고 보고하였다. 이 결과로 보아 비타민 C가 비타민 D<sub>3</sub>와 같은 방법으로 칼슘의 흡수를 증진하였거나 비타민 D<sub>3</sub>와의 상승작용을 나타낸 것으로 설명하였다. 다른 보고들은 비타민 C가 뼈의 재구성, 재흡수, 축적 과정 중 bone salt의 이동에 영향을 주어 뼈에서 분비된 칼슘 이온이 혈장 중에서 증가하였음을 보여주었다 (Thornton, 1970).

반면에 다른 연구자들은 비타민C를 병아리와 칠면조에 급여하였을 때, 골회분과 뼈의 비중을 감소시켰다고 보고하였다 (Thornton, 1970; Dorr와 Balloun, 1976). 비타민 C가 닭의 골격이상에 유용한 효과를 나타내는 지에 관해서는 아직 연구가 계속되고 있다. Leach와 Burdett (1985)은 사료 중 비타민 C가 tibial dyschondroplasia (TD)의 개선에 효과가 없었다고 발표하였으나, Edwards (1989)는 육계에서 TD의 발생을 감소시켰다고 보고하였다.

경골 파괴강도는 골회분 중량과 탈지 건물량과 고도의 상관 관계가 있다고 Zhang과 Coon (1997)은 보고하였으나, 본 실험에서는 측정되지 않았기 때문에 서로간의 상관 관계는 구하지 않았으며, 향후 이 부분에 관한 추가적인 실험이 필요하리라 본다.

#### 마. 혈중 비타민 C와 E 및 corticosterone 수준

혈중 비타민 C의 농도는 비타민 C 첨가구에서 12.73 g/ml, 비타민 C/E 첨가구에서 12.24 g/ml로 대조구와 비타민 E 첨가구의 7.87, 7.26 μg/ml에 비하여 유의하게 높았다 ( $P < 0.05$ ) (Table 6). Amakye-Anim 등 (2000)은 닭에서 혈중 비타민 C 농도가 3~6 g/ml수준이었으나 비타민 C를 31일간 급여했을 때, 혈중 비타민 C 농도는 10~14 g/mg으로 증가되었다고 보고하였다. 이 연구 결과는 본 실험의 그것과도 비슷한 경향을 보였다.

비타민 E와 비타민 C/E 첨가구에서 혈중 비타민 E의 농도는 각각 8.20, 8.35 μg/ml로 대조구와 비타민 C 첨가구에 비하여 유의하게 높았다 ( $P < 0.05$ ). Bollengier-Lee 등 (1998)은

Table 6. Serum concentration of vitamin C, vitamin E, and corticosterone in broiler breeding hens under heat stress at room temperature 32°C<sup>1</sup>

Component	Basal diet	BD+Vit.C <sup>2</sup>	BD+Vit.E <sup>3</sup>	BD+C+E <sup>4</sup>
Vitamin C, mg/ml	7.87±1.82 <sup>a</sup>	12.73±1.80 <sup>b</sup>	7.26±0.92 <sup>a</sup>	12.24±1.22 <sup>b</sup>
Vitamin E, mg/ml	2.80±0.14 <sup>b</sup>	1.63±0.26 <sup>a</sup>	8.20±0.21 <sup>c</sup>	8.35±0.13 <sup>c</sup>
Corticosterone, ng/ml	5.97±1.42 <sup>a</sup>	3.23±0.70 <sup>b</sup>	2.54±0.23 <sup>b</sup>	2.78±0.61 <sup>b</sup>

<sup>a-c</sup> Means in a row with no common superscripts are significantly different (P<0.05).

<sup>1</sup> Values are mean values ± standard deviation of three samples.

<sup>2</sup> Basal diet + vitamin C (200 mg/kg diet).

<sup>3</sup> Basal diet + vitamin E (250 mg/kg diet).

<sup>4</sup> Basal diet + vitamin C (200 mg/kg) + vitamin E (250 mg/kg).

Table 7. Effects of dietary vitamins C and E on H/L ratio under heat stress at room temperature 32°C<sup>1</sup>

Treatments	Week 1	Week 2	Week 3
Basal Diet	2.3±0.6	2.5±1.2	1.9±0.4
B.D.+C <sup>2</sup>	1.7±0.4	2.6±0.2	1.5±0.3
B.D.+E <sup>3</sup>	1.6±0.3	2.5±0.4	1.9±0.9
B.D.+C+E <sup>4</sup>	1.5±0.5	1.5±0.4	1.6±0.2

<sup>1</sup> Data are mean values ± standard deviation (n=5). No differences exist among groups.

H/L ratios were 0.6 and 1.9 before and after the experiment, respectively, on 5th average.

<sup>2</sup> Basal diet + vitamin C (200 mg/kg diet).

<sup>3</sup> Basal diet + vitamin E (250 mg/kg diet).

<sup>4</sup> Basal diet + vitamin C (200 mg/kg diet) + vitamin E (250 mg/kg diet).

사료에의 고농도 비타민 E첨가 (200~250 mg/kg)은 고온 스트레스 하의 산란계에 있어 칼슘, vitellogenin, triglyceride의 혈중 농도를 증가시켰다고 보고하였으며, 따라서 보충된 사료 비타민 E는 혈중의 계란 생성 전구물질 공급을 유지해 주어서 산란계의 고온 스트레스를 경감한다고 결론을 내렸다. 이 연구자들은 다른 시험에서 스트레스 전에 간과 혈중의 비타민E의 수준은 섭취된 비타민 E와 비례적이었으며 고온 스트레스 기간 중 비타민 E의 농도는 감소되었다고 하였다. 그리고 그들은 사료중 250 mg/kg 비타민 E의 공급은 스트레스 전, 중, 후에 산란계에서 만성적 고온 스트레스를 경감하는 데 최적이라고 결론을 내렸다.

혈중 corticosterone의 농도는 대조구에서 5.97 ng/ml로서 나머지 시험구들에 비하여 통계적으로 유의하게 높았고 (P<0.05) 비타민 E첨가구에서 2.54 ng/ml으로 가장 낮았다. Amakye-Anim 등(2000)은 31일령의 닭에서 혈중 corticosterone의 농도가 10~18 ng/ml이었으나 비타민 C를 급여한

같은 일령의 닭에서는 범위가 7~13 ng/ml으로 감소하였다. 본 실험에서의 혈중 corticosterone의 농도는 Amakye-Anim 등의 결과보다 낮은 수준이었지만 스트레스 전, 후에 그 농도가 감소하는 것은 일치하였다.

#### 바. 혈중 H/L Ratio

H/L ratio는 비타민 C와 E의 첨가에 의하여 낮아지는 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지 않았다 (Table 7). 고온 스트레스는 대조구에서 heterophils를 33.7%에서 64.5%로 증가시켰으며 lymphocytes는 59.7%에서 29.5%로 감소시켰다. 그러나 비타민 C/E 첨가구에서는 heterophils와 lymphocytes가 각각 57.8%와 39.4%로 변화되었다. 따라서 고온 스트레스 일주일 후 대조구의 H/L ratio는 2.3이었던 것에 반해 비타민 C/E 첨가구에서는 1.5를 나타내었다. 비타민 C와 E의 첨가구들은 각각 1.7 그리고 1.6이었다. 고온 스트레스 3주 후 대조구의 H/L ratio는 1.9로 다소 감소한 반면 비타민 C/E 첨

기구에서는 1.6으로 변화가 없었다. 이 결과를 볼 때, 고온 스트레스가 진행됨에 따라 스트레스에 어느 정도 적응하는 것이 아닌가 한다.

산란계에서 스트레스에 의하여 H/L ratio가 증가하는 경향은 Gross와 Siegel (1983)등의 여러 연구 결과들과 일치하였다. Gross와 Siegel (1983)은 H/L ratio는 여러 종류의 스트레스에 노출된 가금에 있어 스트레스를 측정할 수 있는 믿을 만한 방법이라고 제안하였고 많은 연구자들이 이 방법을 따르고 있다.

Cell counts는 사용하는 방법에 따라 많은 변이가 있다고 한다. H/L hemocytometer 방법이 stained-slide법보다 변이가 작지만 lymphocytes를 thrombocytes에서 구별하는 것이 어렵기 때문에 결국 hemocytometer와 stained-slide 방법이 H/L ratios측정을 위한 만족스런 방법이라 하였다 (Gross와 Siegel, 1983). 본 실험에서는 stained-slide법을 사용하였다.

Gross와 Siegel (1983)에 따르면 혈중 corticosterone수준과 H/L ratios은 매우 밀접한 상관 관계가 있으며 스트레스가 증가하면 혈중 corticosterone 수준과 H/L ratios가 같이 상승한다고 하였다. 여러 가지의 스트레스에 노출된 시험계들의 스트레스 정도를 측정하기 위하여 혈중 corticosterone 농도와 H/L ratios 두 가지 모두 유용하다고 하였다 (Gross와 Siegel, 1983).

#### 4. 결 론

Heat stress를 받고 있는 육용종계에서 비타민 C와 비타민 E를 급여하면 스트레스에 대한 생리적 반응이 완화되면서 난각의 품질과 배의 칼슘 축적을 개선하는 효과를 보였다. 비타민 C와 비타민 E를 동시에 급여하면 단독 급여시 보다 난각 품질의 개선 효과가 더 높아졌다.

따라서 지속적인 고온 환경에 처한 육용 종계에서 비타민 C (200 mg/kg)와 비타민E (250 mg/kg)의 급여는 난각의 품질을 개선하며, 생산성 향상을 가져올 수 있는 유효한 방법이라고 판단된다.

#### 5. 적 요

Heat stress환경의 육용 종계에서 사료에 첨가한 비타민 C (200 mg/kg)와 비타민 E (250 mg/kg)가 난각 품질 및 경골 강도에 미치는 영향을 확인하고자 실험을 실시하였다.

강제 환우에서 회복된 83주령의 Ross품종 육용 종계 160수를 4처리 4반복 10수씩 개별 케이지에 수용한 뒤, 10일

간의 적응 기간을 둔 뒤, 3주간에 걸쳐 32 °C에서 지속적으로 온도를 유지하면서 사료 섭취량, 산란율, 폐사율, 난중, Haugh unit, 난각의 품질, 경골 파괴강도 그리고 혈액 중의 혈구 세포 등을 조사하였다.

Heat stress는 폐사율, 산란율, 난중, 그리고 Haugh unit를 감소시키는 경향이 있었으나 통계적으로 유의하지는 않았다. 난각의 SWUSA와 압축 파괴강도는 비타민 C/E 첨가구에서 2,3주차에 무첨가구보다 유의하게 높았으나 ( $P<0.05$ ), 비타민 C 또는 E 첨가구 사이에서는 유의차가 없었다. Heterophil과 lymphocyte의 숫자는 heat stress 동안에 각각 증가 또는 감소하였다. 처리구간에는 비타민 C/E 첨가구가 H/L ratio 수준이 가장 낮았으며, 무첨가구가 가장 높은 경향을 나타내었다. 경골의 파괴강도는 비타민 C 첨가구에서 가장 높았다( $P<0.05$ ). 혈액 중의 비타민 C 농도는 비타민 C첨가구와 비타민 C/E 첨가구에서 각각 12.73 g/ml과 8.23 g/ml으로 높았다 ( $P<0.05$ ). 비타민 E 첨가구와 비타민 C/E 첨가구에서 혈액 중 비타민E농도가 유의하게 높았다 ( $P<0.05$ ). Corticosterone 농도는 무첨가구에서 5.97 g/ml으로 통계적으로 유의하게 높았다( $P<0.05$ ).

#### 인용문헌

- Amakye-Anim J, Lin TL, Hester PY, Thiagarajan D, Watkins BA and Wu CC 2000 Ascorbic acid supplementation improved antibody response to infectious bursal disease vaccination in chickens. *Poult Sci* 79:680-688.
- Bendich A, PD Apolito, E Gabriel and LJ Machlin 1984 Interaction of dietary vitamin C and vitamin E on guinea pig immune responses to mitogens. *J Nutr* 114:1588-1593.
- Berry WD and J Brake 1991 Induced molt increases egg shell quality and Calbindin-D28K content of egg shell gland and duodenum of aging hens. *Poult Sci* 70:655-657.
- Bollengier-Lee S, MA Mitchell, DB Utomo, PE Williams and CC Whitehead 1998 Influence of high dietary vitamin E supplementation on egg production and plasma characteristics in hens subjected to heat stress. *Br Poult Sci* 39 (1):106-112.
- Bollengier-Lee S, PE Williams and CC Whitehead 1999 Optimal dietary concentration of vitamin E for alleviating the effects of heat stress on egg production in laying hens. *Br Poult Sci* 40(1):102-107.
- Bottje WG, GF Erf, TK Bersi, S Wang, D Barnes and KW

- Beers 1997 Effect of dietary dl-a-tocopherol on tissue alpha- and gamma-tocopherol and pulmonary hypertension (Ascites) in broilers. *Poultry Sci* 76:1506-1512.
- Brake J 1988 Stress and modern poultry management. *Animal production highlights* 2/87. Hoffmann-La Roche Co Ltd 4002 Basle, Switzerland.
- Britton WM 1977 Shell membranes of eggs differing in shell quality from young and old hens. *Poult Sci* 57:639-647.
- Cheng TK, CN Coon and ML Hamre 1990 Effects of environmental stress on the ascorbic acid requirement of laying hens. *Poult Sci* 50:1375-1382.
- Daniel M, D Belnave 1981 Response of laying hens to gradual and abrupt increases in ambient temperature and humidity. *Aust J Exp Agric Anim Husb* 21:189-195.
- Dorr P and SL Balloun 1976 Effects of dietary vitamin A, ascorbic acid and their interaction on turkey bone mineralization. *Br Poult Sci* 17:581-599.
- Edwards HM Jr 1989 Effects of vitamin C, environmental temperature, chlortetracycline, and vitamin D<sub>3</sub> on the development of tibial dyscondroplasia in chickens. *Poult Sci* 68:1577-1534.
- El-Boushy AR and M van Albada 1970 The effects of vitamin C on egg shell quality under high environmental temperature. *Netherlands J Agri Soc* 18:62-71.
- El-Boushy AR, PCM Simmons and G Wiertz 1968 Structure and ultra-structure of the hen's egg shell as influenced by environmental temperature, humidity and vitamin C additions. *Poult Sci* 47:456-467.
- Fowler KC, GM Pesti and B Howarth 1983 Determination of plasma corticosterone of chicks by HPLC. *Poult Sci* 62:1075-1079.
- Gross WB and HS Siegel 1983 Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. *Avian Diseases* 27:972-979.
- Harapanhalli RS, RW Howell and DV Rao 1993 Testicular and plasma ascorbic acid levels in mice following dietary intake: a high performance liquid chromatographic analysis. *J Chrom* 614:233-243.
- Leach RM Jr and JH Burdette 1985 The influence of ascorbic acid on the occurrence of tibial dyschodroplasia in young broiler chickens. *Poult Sci* 64:1188-1191.
- McDonald P, RA Edwards and JFD Greenhalgh 1981 *Animal Nutrition* 3rd Ed P 83 Longman New York.
- Muruni HK and PC Harrison 1991 Effects of rooster performance of chickens in hot ambient environments. *Poult Sci* 70:2253-2258.
- Niki E, J suchiya, R Tanimura and Y Kamiya 1982 Regeneration of vitamin E from alpha-chromanoxyl radical by glutathione and vitamin C. *Chem Lett* 789-792.
- Njoku PC, 1986 Effects of dietary ascorbic acid supplementation on the performance of broiler chickens in a tropical environment. *Anim Feed Sci Technol* 16:17-24.
- Nockels CF 1991 Vitamin E requirement of stressed cattle. In: M. B. Coelho (Editor) *Vitamin E in animal nutrition and management*. A BASF reference manual. BASF Mt Olive NJ:193-203.
- Nockels CF 1984 Effects of ascorbic acid on chicken metabolism. In *Proc. Ascorbic acid in Domestic Animals*. (Wegger I et al eds) p.175-184. Danish Agriculture Society, Copenhagen.
- North MO and DD Bell 1990 Pages 433-452 in: *Commercial chicken production manual*. 4th ed. Chapman and Hall New York NY.
- Odom TW, PC Harrison and MJ Darre 1985 The effects of drinking carbonated water on the egg shell quality of single comb white leghorn exposed to high environmental temperature. *Poult Sci* 64:594-596.
- Orban JI, DA Roland Sr, K Cummins and RT Lovell 1993 Influences of large doses of ascorbic acid on performance, plasma calcium, bone characteristics, and egg shell quality in broilers and leghorn hens. *Poult Sci* 72:691-700.
- Pardue SL and JP Thaxton 1986 Ascorbic acid in poultry: A review. *World Poult Sci J* 42:107-123.
- Pardue SL, JP Thaxton and J Brake 1985 Role of ascorbic acid in chickens exposed to high environmental temperature. *J Appl Physiol* 58:1511-1516.
- Pardue SL and SH Williamson 1990 In *Proc 2nd Symp Ascorbic Acid in Domestic Animals*. Kartause Ittingen Switzerland.
- Payne CG 1966 Practical aspects of environmental temperature for laying hens. *World's Poultry Sci J* 22:126-139.
- Peebles ED and J Brake 1985 Relationship of egg shell porosity to stage of embryonic development in broiler breeders. *Poult Sci* 64:2388-2391.

- Rosenberg MM and T Tanaka 1951 Effects of temperature on egg weight in Hawaii. *Poult Sci* 51:745-747.
- SAS Institute 1990 SAS/STAT User's guide: Statistics. Release 6.04 Edition. SAS Institute Inc Cary NC.
- Simons PCM 1971 Ultrastructure of the hen egg shell and its physiological interpretation. Ph D thesis Landbou-whogeschool Wageningen.
- Smith A 1999 Vitamin E helps layers overcome stress. *Feed Mix* Vol 7(5):16-17.
- Stocker R and B Frei 1991 In *Oxidative stress* (H Sies ed), P213. Academic Press United Kingdom.
- Sykes AH 1978 Vitamin C for poultry; some recent research. Roche symposium pp:5-15 London.
- Thaxton JP and SLPardue 1984 Ascorbic acid and physiological stress. Proceedings of the workshop on ascorbic acid in domestic animals organized by the Scandinavian Association of Agricultural Scientists and the Royal Danish Agricultural Society September 1993 Copenhagen, Denmark.
- Thornton PA 1970 Influence of exogenous ascorbic acid on calcium and phosphorus metabolism in the chick. *J Nutr* 100:1479-1486.
- Thornton PA 1962 The effects of environmental temperature on body temperature and oxygen uptake by the chicken. *Poult Sci* 41:1053-1060.
- Tyler C 1961 Shell strength: its measurements and its relationship to other factors. *Br Poult Sci* 2:3-19.
- Weiser HM Schlachter and R. Fenster 1988 The importance of vitamin C for the metabolism of vitamin D<sub>3</sub> in poultry. Page 831 in *Proceedings of the 18th World Poultry Congress* Nagoya Japan.
- Weiser H and M Schlachter 1987 Combined use of vitamin D<sub>3</sub>, vitamin D<sub>3</sub> metabolites and vitamin C in bone metabolism, In *Generalized bone disease*, eds. Kuhlencordt F et al Springer Berlin/Heidelberg : 71-90.
- Zapata LF and AG Gernat 1995 The effects of ascorbic acid and two levels of calcium on egg shell quality of forced-molted white leghorn hens. *Poult Sci* 74:1049-1052.
- Zhang B and CN Coon 1997 The relationship of various tibia bone measurements in hens. *Poult Sci* 76:1698-1701.