

# 육계 전기 사료에 엽산과 콜린의 첨가 수준이 육계의 생산성에 미치는 영향

류경선 · 최호성 · 박강희 · 신원집  
전북대학교 축산학과

## Effects of Dietary Supplemental Folic Acid and Choline on the Performance of Starting Broiler Chicks

K.S. Ryu, H.S. Choi, G.H. Park, and W.J. Shin

Department of Animal Science, Chonbuk National University  
Chonju, Korea 561-756

### ABSTRACT

Five experiments were conducted to evaluate the effect of dietary supplemental folic acid(FA) in starting broiler chicks. In the first two experiments, basal diets based on corn and soybean meal contained 0.6 mg/kg FA but no supplemental methionine or choline. At 18 d of age, chicks showed curvilinear responses to folic acid supplementation with maximum growth and feed efficiencies at 1.45 mg/kg FA diet. The liver FA response was also curvilinear but reached a plateau at 1.70 mg/kg FA diet.

The basal diet for 3 additional experiments contained soybean meal that had been washed with methanol to remove most of the choline. The diet contained only 0.6 mg/kg folic acid and 754 mg/kg choline. Chicks exhibited a larger growth response to folic acid at low choline levels as evidenced by a significant FA × choline interaction. FA supplementation increased but then decreased valgus leg deformity. Choline supplementation also decreased the incidences of valgus and varus leg deformities and decreased bone ash and increased the incidence of tibial dyschondroplasia. It is concluded that chicks fed diets based on practical ingredients require from 1.45 to 1.70 mg/kg FA diet and also 1.60 mg/kg FA when choline is offered near the NRC recommended level of 1,300 mg/kg.

(Key words: folic acid, choline, methionine, broiler, tibial dyschondroplasia)

### 서론

육계 전기의 엽산 요구량은 다음과 같은 이유로 체계화되어 있다고 할 수 없다. 즉 1) 원료 사료에서 전

체 엽산함량 분석 방법의 미확립, 2) 엽산 함량이 제일 높은 대두박을 기초로 한 배합사료 급여시 엽산의 첨가가 육계의 성장에 미치는 영향에 대한 구체적인 연구가 실현되지 못하였고, 3) 사료 내 다른 영양소들이 엽산과 상호 작용하여 육계의 엽산 요구량에 미치는

영향을 구명하지 못하였기 때문이다.

Cropper와 Scott(1967)는 병아리에서 엽산의 우수한 공급원인 효모박을 원료로 한 사료를 급여시 엽산의 요구량은 현저히 낮았다고 하였으며, Young 등(1955)은 사료내 엽산의 함량은 육계에 choline의 요구량에 영향을 미치는 인자로 규명하였다. 즉 사료내 choline이 결핍시에 엽산의 요구량은 0.46 mg/kg에서 0.96 mg/kg 으로 증가되었다. 또한 사료내 methionine과 choline 수준은 엽산의 요구량을 제한할 수 있는 인자로 구명하였으며 (Saxena 등, 1954), Pesti 등(1991)은 육계 전기 사료에 methionine과 choline을 첨가하였을 시에 엽산의 첨가 효과는 없었으며 methionine과 choline을 첨가하지 않은 구에서는 엽산의 첨가 효과가 있었다고 보고하였다.

한편 엽산은 육계 사료내 지방과 단백질 수준이 증가됨에 따라서 요구량이 증가되었다. March와 Biely(1956)는 사료내 단백질 수준을 20%에서 26%로 하였을 때에 엽산의 요구량은 0.33 mg/kg에서 1.43 mg/kg으로 증가하였다고 하였다. Wong 등(1977)은 육계에서 사료내 glycine의 수준이 낮았을 때 엽산의 요구량은 1.69 mg/kg이었으나 사료가 glycine의 함량이 높았을 때 엽산의 요구량은 0.34에서 0.49 mg/kg이었다고 하였다.

육계에서 엽산의 요구량에 영향을 미치는 인자는 여러 가지라고 할 수 있는데 일반적으로 옥수수과 대두박, 어분을 주원료로 하는 사료를 급여시에 육계의 성장을 극대화할 수 있을 것이나, 가금사료 원료의 엽산 분석 방법의 차이로 인하여 가금에서 엽산의 요구량은 관행적으로 이용되어온 NRC (1984)와는 다를 것으로 사료된다.

그러므로 본 시험에서는 methionine과 choline을 첨가하지 않은 관행적인 사료를 급여시 육계 전기에서 엽산의 요구량을 구명하고자 두차례의 시험을 실행하였으며, 엽산과 choline이 상호 작용하여 육계의 성장에 어떠한 영향을 미칠 수 있는가를 구명하기 위하여 hexane으로 대두박에서 choline을 추출하여 choline이 결핍된 사료를 이용하여 세번의 시험을 시행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 1, 2

실험 1과 2는 동일한 실험으로서 기초 사료는 옥수수와 대두박으로 하여 NRC(1984)의 육계 전기 영양소 요구량을 충족시켰다(Table 1). 사료내 엽산은 대조구에 0.25 mg/kg씩 증가시켜 0.7, 0.95, 1.20, 1.45, 1.70, 1.95, 2.20 mg/kg인 7개 처리구로 배치하였다.

### 2. 실험 3, 4, 5

실험 1과 2를 확인하기 위하여 실시하였는데 기초

**Table 1.** Basal diet compositions of Experiment 1 and 2

Ingredients	%
Corn	49.04
Wheat middlings	15.00
Fish meal	14.22
Soybean meal	12.00
Poultry fat	5.42
Corn gluten meal	3.00
Limestone	0.62
Salt	0.40
Vitamin premix <sup>1</sup>	0.25
Mineral premix <sup>2</sup>	0.05
Composition estimated from basal diet:	
ME (kcal/kg)	3200
Crude protein (g/kg)	230
Methionine+cysteine (g/kg)	8.74
Choline (g/kg)	1.22
Folic acid (mg/kg)	0.70

<sup>1</sup> Vitamin premix provides in milligram per kilogram of diet: vitamin A (as all-trans-retinyl acetate), 5500 IU; vitamin E, 11 IU; menadione(as menadione sodium bisulfite), 1.1; vitamin D<sub>3</sub>, 1100 ICU; riboflavin, 4.4; vitamin B<sub>12</sub>, 10 µg; vitamin B<sub>6</sub>, 3.0; thiamin (as thiamin mononitrate), 2.2; biotin, 0.3; ethoxyquin, 125.

<sup>2</sup> Mineral premix provides in milligram per kilogram of diet: Mn, 120; Zn, 100; Fe, 60; Cu, 10; I, 2.10; Se, 0.1; Ca, 150 (minimum), 180(maximum).

**Table 2.** Basal diet compositions of Experiment 3, 4 and 5

Ingredients	%
Corn	57.89
Soybean meal	27.53
Corn gluten meal	7.11
Poultry fat	3.89
Dicalcium phosphate	1.79
Limestone	1.14
Salt	0.40
L-lysine HCl	0.15
Mineral premix <sup>1</sup>	0.05
Vitamin premix <sup>2</sup>	0.05
Composition estimated from basal diet :	
ME (kcal /kg)	3200
Crude protein (g /kg)	230
Methionine + cysteine (g /kg)	8.16
Choline (g /kg)	0.754
Folic acid (mg /kg)	0.60

<sup>1</sup> Mineral premix provides in milligram per kilogram of diet: Mn, 60; Zn, 50; Fe, 30; Cu, 5; I, 1.5; Se (as sodium selenite), 0.1

<sup>2</sup> Vitamin premix provides per kilogram of diet: vitamin A, 5500 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 1100 ICU; vitamin E, 11 IU; riboflavin, 4.4mg; vitamin B<sub>12</sub>, 12mg (as calcium pantothenate); nicotinic acid, 44mg; menadione, 1.1mg (as menadione sodium bisulfite); biotin, (as menadione sodium bisulfite); biotin, 0.11mg; thiamin(as thiamin mononitrate), 2.2mg; ethoxyquin, 125mg.

사료는 옥수수과 hexane 용매로 choline을 추출한 대두박으로 하였다(Table 2). 실험 3에서 0, 0.5, 1.0 mg /kg의 엽산과 0, 500 mg /kg의 choline을 첨가하였으며 실험 4에서는 실험 3과 동일한 수준의 엽산과 0 및 1,000 mg /kg의 choline을 첨가하였고, 실험 5에서는 0 및 1.0 mg /kg의 엽산과 0 및 1,000 mg /kg의 choline을 첨가하여 three way design으로서 사료내 choline과 엽산 함량이 18일령에 미치는 효과를 고찰하였다.

### 3. 조사항목

증체량, 사료효율, 간과 혈액의 엽산 함량, valgus, varus, 경골각약증, 골회분, 간지방 함량을 조사하였다.

### 4. 통계분석

실험 1과 2에서 각각 one way ANOVA로서 분산 분석을 하였으며, 실험 4, 5, 6에서 모든 데이터를 함께 병합하여 SAS<sup>®</sup> software (SAS Institute, 1987)를 이용하여 three way ANOVA로서 분산분석을 실시하였다.

전 시험구에서 실험 기간은 1일령 육계를 공시하여 18일 동안 실시하였으며 9일령과 18일령에 증체량, 사료섭취량, 사료효율을 측정하였다. 시험 종료 시에 혈액은 심장으로부터 채취하였으며 경골 각약증은 좌측 경골로서 측정하였다. 사료내 엽산과 choline 함량은 De Souza와 Eitenmiller(1990) 그리고 BASF (1987) 방법으로서 각각 분석하였으며 경골 각약증은 Edwards와 Veltman(1983)의 방법으로 측정하였고, 골 회분은 AOAC(1955)의 방법으로, valgus와 varus는 Julian(1984)의 방법으로, 간 지방은 Folch 등 (1957)의 방법으로서 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 실험 1과 2

관행적으로 이용될 수 있는 육계 사료에 엽산을 첨가한 18 일령 육계의 사양 시험 결과는 Table 3에서 볼 수 있다. 증체와 사료효율은 사료내 엽산의 첨가에 curvilinear 반응을 보이는데, 1.45 mg /kg의 수준에서는 감소되었다. 간의 전체 엽산 함량 또한 curvilinear 반응을 보였으며, 1.95 mg에서 그 함량은 극대화되었다. 혈액의 전체 엽산함량은 사료내 엽산의 첨가수준에 따라서 직선적으로 증가하였지만 처리간에 통계적인 유의차는 없었다.

실험 1과 2의 결과에서 살펴보면 18일령 육계의 엽산 요구량은 NRC(1984) 요구량의 거의 3배에 이른다 (Table 3). 이러한 결과는 Rennie 등(1993)이 사료내 1.7 mg /kg 수준의 엽산을 급여시 육계의 능력이 극대화되었다는 보고와 일치한다. 현재에는 개선된 엽산분석 방법에 의하여 사료내 엽산함량은 이전에 보고

**Table 3.** Dietary supplemental folic acid (FA) on the body weight gain (g), gain /feed (g /g), liver and blood folic acid of broiler chickens

Folic acid (mg /kg)	Weight gain			Gain /feed			Total folic acid	
	Exp 1	Exp 2	$\bar{x}$	Exp 1	Exp 2	$\bar{x}$	Liver	Blood
	g			g /g			$\mu\text{g} /100\text{g}$	
0.70	510	569	540	0.728	0.704	0.716	441	3.65
0.95	531	568	550	0.746	0.714	0.730	569	4.22
1.20	532	579	555	0.738	0.726	0.732	748	4.98
1.45	546	606	576	0.729	0.744	0.737	877	5.12
1.70	532	591	562	0.730	0.739	0.735	952	5.15
1.95	520	560	540	0.727	0.711	0.719	964	5.56
2.20	511	563	537	0.717	0.710	0.714	952	5.55
Pooled SE	6	10	12	0.011	0.016	0.010	40	0.89
Regression df								
Folic acid 1	0.566	0.775	0.605	0.217	0.770	0.612	<.001	0.065
FA×FA 1	<.001	0.035	0.001	0.412	0.060	0.044	<.001	0.536
Parameters			Parameter estimates					
Intercept	512.3	562.2	537.3	0.734	0.701	0.717	414.7	3.715
Folic acid	74.1	75.9	75.0	0.015	0.088	0.051	908.0	2.531
FA × FA	-51.3	-52.6	-51.9	-0.018	-0.056	-0.037	-375.5	0.894
			Probabilities					
Intercept	<.001	<.001	<.001	<.001	<.001	<.001	<.001	<.001
Folic acid	<.001	0.049	0.022	0.656	0.059	0.070	<.001	0.265
FA × FA	<.001	0.035	0.014	0.412	0.060	0.044	<.001	0.536

된 엽산의 함량과는 현저한 차이가 있으므로 관행적인 사료내 엽산의 첨가 수준은 부적합한 것으로 생각된다. 옥수수과 대두박의 엽산함량은 NRC(1984) 성분 분석표에 비하여 현저하게 낮으므로(Ryu 등, 1994), 이들을 기초 사료로 한 배합 사료를 급여시 사료내 엽산의 수준은 관행적으로 이용되는 수준보다 현저하게 높아져야 한다.

## 2. 실험 3, 4, 5

옥수수와 methanol을 이용하여 choline의 함량을 감소시킨 대두박을 위주로 한 기초사료를 이용할 때에 18일령 육계의 체중은 엽산과 choline의 첨가량이 증가됨에 따라 개선되었다. 1.0 mg의 엽산 첨가는 대조

구에 비하여 choline을 첨가하지 않았을 때 마리당 36 g의 증체를 가져왔으며, 500 mg의 choline을 첨가시에는 마리당 23 g이, 1,000 mg을 첨가시에 11 g이 증체되었지만 이러한 수치의 차이는 실험구의 규모적인 측면에서 고찰한다면 중요한 의미를 부여할 수 없다. 그러나 사료내 엽산과 choline의 첨가 수준사이에 상호작용( $P < 0.015$ )이 있어서 choline 무첨가 처리구들에서 엽산의 첨가가 증체에 미치는 효과는 사료내 choline의 수준이 높을 시에 엽산의 첨가 효과보다 높았다(Table 4). 사료내 엽산의 첨가로 사료효율은 개선되는 경향을 보였지만 처리간에 통계적인 유의차는 없었으며 choline의 첨가는 대조구에 비하여 현저하게 개선되었다( $p < 0.05$ ). 사료내 엽산과 choline의 첨가

**Table 4.** Effects of dietary supplemental folic acid and choline on the body weight gain (BWG; g) and gain/feed(g/g) of broiler chicks (Exp. 3, 4, 5)

Choline	Exp. No.	Folic acid (mg/kg)							
		0	0.5	1.0	$\bar{x}$	0	0.5	1.0	$\bar{x}$
		..... BWG(g) .....				.....Gain/feed (g/g) .....			
0	3	324	345	355		0.692	0.698	0.711	
	4	308	327	334		0.670	0.688	0.690	
	5	324	—	375	337	0.690	—	0.706	0.693
500	3	476	504	496		0.730	0.750	0.731	
	5	433	—	459	473	0.707	—	0.718	0.727
1000	4	454	446	462		0.713	0.729	0.717	
	5	477	—	491	466	0.751	—	0.753	0.733
$\bar{x}$		399	406	425		0.708	0.716	0.718	
ANOVA	df	..... Probability .....				..... Probability .....			
Folic acid(FA)	2	0.001				0.099			
Choline(CHO)	2	<.001				<.001			
FA × CHO	4	0.015				0.125			
Experiment	2	0.004				<.001			
EXP × FA									
EXP × CHO									
EXP × FA × CHO	7	0.210				0.537			
Regression	df	..... Probability .....				..... Probability .....			
Folic acid	1	0.001				0.073			
FA × FA	1	0.433				0.533			
Choline	1	<.001				<.001			
CHO × CHO	1	<.001				0.016			
FA × CHO	1	0.173				0.258			

는 증체에 대하여 정의 상관관계를 보였지만 choline의 첨가는 골회분과 경골 각약증에 대하여 부의 상관관계를 보였다(Table 5). 기초사료에 choline을 첨가시에 각약증인 valgus와 varus의 발생을 현저하게 감소시켰다. 사료내 엽산과 choline의 첨가는 간지방 함량에 영향을 미치지 못하였다(Table 6).

**결 론**

실험 1과 2에서 가금 원료 사료에서 새로운 엽산분석 방법(De Souza와 Eitenmiller, 1990; Ryu 등, 1994)을 이용시 사료내 엽산함량이 1.45와 1.70 mg/kg 사이에서 증체와 사료효율은 개선되었으며, 간과 혈액에서는 1.95 mg/kg의 엽산이 함유된 사료를 급여시에 극대화되었다. 실험 1과 2의 결과를 이용하여 육계에서 엽산이 choline과 methionine이 상호 작용하여 증체, 사료효율, 각약증인 valgus와 varus,

**Table 5.** Effects of dietary supplemental folic acid and choline on the bone ash (%) and tibial dyschondroplasia (TD; %) of broiler chicks (Exp. 3, 4, 5)

Choline	Exp. No.	Folic acid (mg/kg)							
		0	0.5	1.0	$\bar{x}$	0	0.5	1.0	$\bar{x}$
		..... Bone ash (%) .....				..... TD (%) .....			
0	3	40.2	40.6	40.5		9.4	9.4	3.1	
	4	36.8	36.1	37.0		9.4	0	3.1	
	5	38.3		38.3	38.6	3.6	—	12.5	6.3
500	3	39.8	38.6	39.7		28.1	40.6	6.3	
	5	37.6	—	37.1	38.6	18.8	—	21.9	23.1
1000	4	36.1	35.6	35.6		29.0	28.1	36.3	
	5	37.6	—	37.5	36.5	40.6	—	37.5	34.3
$\bar{x}$		38.1	37.9	38.0		19.8	19.5	17.2	
ANOVA	df	..... Probability .....				..... Probability .....			
Folic acid(FA)	2	0.674				0.713			
Choline(CHO)	2	<.001				<.001			
FA × CHO	4	0.031				0.023			
Experiment(EXP)	2	<.001				0.456			
EXP × FA	3	0.911				0.245			
EXP × CHO	2	0.407				0.872			
Regression	df	..... Probability .....				..... Probability .....			
Folic acid									
Linear	1	0.877				0.666			
Quadratic	1	0.722				0.494			
Choline									
Linear	1	<.001				0.011			
Quadratic	1	0.009				0.418			

골회분, 경골 각약증, 간과 혈액에서 엽산의 함량에 미치는 영향을 규명하고자 실험 3에서 5까지 시행하였다. 기초사료의 엽산의 함량은 0.6 mg/kg과 choline 함량은 754 mg/kg 으로서 비교적 낮은 수준이었으나 choline 결핍증인 간 지방이나 각약증 (McGinnis 등, 1944; Jukes 등, 1947)은 볼 수 없었다. 이러한 결과는 choline은 labile methyl donor (March와 Biely, 1955)로서가 아닌 항지방간 생성인자(anti-li-

potropic agent)로서 존재함을 나타낸다 (Duvigneaud, 1952). 기초 사료에 대하여 500 mg/kg의 choline을 첨가 시에 choline의 함량은 1,254 mg/kg 이었는데, 이는 NRC(1984) 요구량과 비슷한 수준으로서 경골 각약증을 제외한 모든 면에서 형질을 극대화할 수 있음을 보여주었다. Choline의 첨가는 기대했던 바와 다르게 경골 각약증을 증가시켰으며 골회분을 감소시켰다. 엽산의 첨가는 choline의 첨가에 비하여 그

**Table 6.** Effects of dietary supplemental folic acid (FA) and choline (CHO) on the valgus(%), varus (%) and lipid(%) of broiler chicks (Exp. 3, 4, 5)

Choline	Exp. No.	Folic acid (mg /kg)											
		0	0.5	1.0	$\bar{x}$	0	0.5	1.0	$\bar{x}$	0	0.5	1.0	$\bar{x}$
		.....Valgus (%).....				.....Varus (%).....				.....Lipid (%).....			
0	3	43.8	46.9	50.0		40.6	28.1	18.8		3.74	4.06	4.22	
	4	46.9	50.0	28.1		25.0	25.0	37.6		4.34	4.51	4.60	
	5	28.1	—	31.3	40.6	34.4	—	31.3	30.1	4.57	—	5.46	4.44
500	3	43.8	31.3	28.2		3.1	3.1	15.6		4.44	4.20	4.89	
	5	12.5	—	18.8	26.9	3.1	—	3.1	5.6	5.27	—	3.86	4.53
1000	4	28.1	40.6	31.3		15.6	6.3	15.6		3.87	4.49	5.20	
	5	21.9	—	15.6	27.5	9.4	—	3.1	10.0	4.44	—	4.50	4.50
$\bar{x}$		32.1	42.2	29.0		18.8	15.6	17.9		4.38	4.32	4.68	
ANOVA	df	..... Probability .....											
Folic acid(FA)	2	0.034				0.735				0.263			
Choline(CHO)	2	0.006				<.001				0.933			
FA × CHO	4	0.936				0.769				0.230			
EXPERIMENT(EXP)	2	0.005				0.556				0.233			
EXP × FA	3	0.609				0.201				0.386			
EXP × CHO	2	0.942				0.365				0.122			
Regression	df	..... Probability .....											
Folic acid													
Linear	1	0.055				0.218				0.595			
Quadratic	1	0.027				0.240				0.391			
Choline													
Linear	1	0.031				<.001				0.771			
Quadratic	1	0.123				<.001				0.795			

효율이 저하되었을지라도 증체량이 대조구에 비하여 현저히 개선되었으며(P<0.01), 경골 각약증은 감소하였다. 이전에 보고된 연구들(March와 Biely, 1956; Creek와 Vasaitis, 1963; Wong 등, 1977)의 엽산 요구량에 관한 시험은 병아리들에게 정제사료 혹은 반정제사료(semi-purified diet)를 급여시에 이루어졌으므로 아마도 최소한의 요구량일 것이다. 현재

육계의 시장 출하 일령은 매년 0.75일 단축되어 왔다 (Leeson과 Summers, 1991). 그 결과 육계의 성장과 유지를 위한 영양소 요구량은 꾸준히 증가되어 왔으므로 methionine이 제 1 제한 아미노산인 육계에서 이들의 생성에 상호 작용하는 choline과 엽산의 요구량에 대한 지속적인 연구가 요구된다.

## 적 요

어린 육계에서 사료내 엽산의 첨가 효과를 구명하기 위하여 실험 1에서 5가지 시행하였다. 실험 1과 2는 반복 실험으로서 기초 사료는 옥수수과 대두박으로 하였으며 엽산은 0.6 mg/kg을 함유하였고 methionine과 choline은 첨가하지 않았다. 18일령에 사료내 엽산의 수준이 1.45 mg/kg 일 때 육계의 성장과 사료효율은 극대화 되었다. 간의 엽산 함량은 엽산의 첨가 수준에 따라서 curvilinear 반응을 보였으며 1.70 mg/kg 수준에서 극대화되었다.

실험 3에서 5가지 기초 사료는 옥수수과 대두박 위주로 하였으며 대두박은 methanol로 대부분의 choline을 추출하여 기초사료에서 엽산은 0.6 mg/kg이었으며 choline의 함량은 745 mg/kg 수준이었다. 사료내 choline의 수준이 낮을 때 choline의 수준이 높을 때에 비하여 엽산의 첨가 효과는 더욱 커졌으며, 엽산과 choline의 상호작용이 있었다. 사료에 엽산의 첨가량이 증가함에 따라서 각약증인 valgus는 2차 회귀를 보였다. 한편 사료에 choline의 첨가는 valgus와 varus를 감소시켰지만 골회분과 경골 각약증은 증가시켰다. 본 시험의 결과에서는 관행적인 사료를 급여시 어린 육계의 choline 요구량은 NRC (1984)에서 권장하는 1,300 mg/kg과 비슷하였으나 엽산의 요구량은 1.45에서 1.70 mg/kg으로 나타났다.

(색인 : 엽산, 콜린, 메치오닌, 육계, 각약증)

## 인용문헌

- Association of Official Agricultural Chemist 1955 Official methods of analysis, 8th ed. Washington DC.
- BASF Corp 1987 Enzymatic determination of choline in feedstuffs.
- Creek RD, Vasaitis V 1963 The effect of excess dietary protein on the need for folic acid by the chick. Poultry Sci 42:1136-1141.
- Cropper WJ, Scott ML 1967. Studies on folic acid nutrition in chicks and poults. Brit Poult Sci 8:65-73.
- De Souza S, Eitenmiller RR 1990 Effects of different enzyme treatments on extraction of total folate from various foods prior to microbiological assay and radioassay. J Micronutr Anal 7:37-57.
- DuVigneaud V 1952 A trail of research in sulfur chemistry and metabolism and related and related fields. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Edwards HM Jr, Veltmann JR 1983 The role of calcium and phosphorus in the tibial dyschondroplasia in young chicks. J Nutr 113:1568-1575.
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH 1957 A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. J Biol Chem 226:497-509.
- Jukes TH, Stockstad ELR, Belt M 1947 Deficiencies of certain vitamins as studied with turkey poults on a purified diet. I. Pteroylglutamic acid, riboflavin, niacin and inositol. J Nutr 33:1-12.
- Julian RJ 1984 Valgus, varus deformity of the intertarsal joint in broiler chickens. Can Vet J 25:254-258.
- Leeson S, Summers JD 1991 Commercial Poultry Nutrition. Chapter 4. Feeding programs for broilers and broiler breeders. Pages 149-151.
- March BE, Biely J 1955 Fat studies in poultry. 3. Folic acid and fat tolerance in the chick. Poultry Sci 34:39-44.
- March BE, Biely J 1956 Folic acid supplementation of high protein-high fat diets. Poultry Sci 35:550-551.
- McGinnis J, Norris LC, Heuser GF 1944 Influence of diet on chick growth promoting and antiperotic properties of betaine, methionine and choline. Proc Soc Exp Biol Med 56:197.



- National Research Council 1984. Nutrient requirements of poultry, 8th ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Pesti GM, Rowland GN, Ryu KS 1991 Folate deficiency in chicks fed diets containing practical ingredients. *Poultry Sci* 70:600-604.
- Rennie JS, Whitehead CC, Armstrong J 1993 Biochemical responses of broiler chicks to folate deficiency. *Brit J Nutr* 69:801-808.
- Ryu KS, Pesti GM, Eitenmiller RR 1994 A comparison of enzyme preparations to liberate folic acid for microbiological assays of feed ingredients. *J Sci Food Agri*. 64:389-392.
- SAS Institute 1987 SAS/STAT® Guide for Personal Computers. 6 ed. SAS Inst Inc, Cary, NC.
- Saxena HC, Bearse GE, McClary CF, Blaylock LG, Berg LR 1954 Deficiency of folic acid rations containing natural feedstuffs. *Poultry Sci* 33:815-820.
- Wong PC, Vohra P, Kratzer FH 1977 The folacin requirement of broiler chicks and quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Poultry Sci* 56: 1852-1860.
- Young RJ, Norris LC, Heuser GF 1955 The chick requirement for folic acid in the utilization of choline and its precursors betaine and methylaminoethanol. *J Nutr* 55:353-362.