

고온 스트레스기에 비태인의 사료첨가가 산란계의 생산성 및 계란의 품질에 미치는 영향

류명선 · 조기행¹ · 신원집 · 류경선^{2†}

전북대학교 동물자원과학과 · ¹CTC BIO

²전북대학교 바이오식품 소재 개발 및 산업화 연구센터

Influence of Dietary Supplemental Betaine on Performance and Egg Quality of Laying Hens during the Heat Stress

M. S. Ryu, K. H. Cho¹, W. J. Shin and K. S. Ryu^{2†}

Dept. of Animal Resources and Biotech., ²Research Center for Industrial Development of Biofood Materials, Chonbuk National University, Chonju 561-756, South Korea, ¹CTCBIO Inc., Seoul 138-858, South Korea

ABSTRACT : Betaine functions as an osmoregulators in the cells and its inclusion in diet can spare the choline and carcass fat reduction in chicken. Thus, two hundred eighty eight laying hens were fed with 0, 500, 1,000, 2,000 ppm of betaine from seventy eight to eighty six weeks of age during the environmentally high temperature stress. Corn and soybean basal diets contained 2,800 kcal/kg ME and 16% CP. Egg production, feed intake, and feed conversion were examined for eight weeks. Egg quality characters, serum cholesterol, liver betaine, and lower ileal osmolality were measured at the end of experiment. Egg production rates of hens fed with 500 or 2,000 ppm of betaine were 75.06 and 75.02%, respectively and tended to increase compared to the control. The feed conversion(FCR) of these treatments was significantly($P<0.05$) improved compared to that of control although it did not significantly differ in the egg production rates between 500 and 2,000 ppm of betain groups. Eggshell breaking strength of hens fed betaine was significantly($P<0.05$) higher than those of control. However, betaine supplements did not influence to improving the albumen height and Haugh unit. Liver betaine in hens fed with betaine was linearly increased upto 2,000 ppm. The birds fed with 2,000 ppm betaine showed significantly($P<0.05$) higher in the liver betaine than the control birds. Total cholesterol and triglyceride tended to be increased by dietary betaine supplement. The lower ileal osmolality in betaine supplement group tended to be slightly decreased. As a result, dietary betaine supplement tended to improve the egg production and eggshell quality in laying hens during heat stress.

(Key words : betaine, osmolality, egg production, heat stress, eggshell quality)

서 론

비태인(betaine)은 콜린으로부터 생성되며 자연계에 널리 존재하는 아미노산 유도체로서 주로 불안정 메틸 공여체(labile methyl donor)와 삼투압 조절 인자로서 연구되어져 왔다(Kidd et al., 1997). 비태인은 homocysteine이 메티오닌으로 전변되는데 필요한 메틸기(methyl group)를 제공함으로써 메티오닌의 일부를 대체할 수 있다(Pesti et al., 1981). 비태인은

아지닌(arginine), 라이신, 타우린 등과 함께 세포내 삼투압의 조절에도 관여한다(Bagnasco et al., 1986). Na^+ 과 K^+ , Cl^- 등의 무기태 삼투압 조절인자는 세포에 다량 존재할 경우 효소와 단백질, 핵산의 작용을 저해하거나 파괴하는 결과를 가져오지만(Burg, 1994), 비태인은 유기태의 삼투압 조절인자로서 효소 기능이나 세포대사에 저해작용이 없으므로 고장액에서도 삼투압 조절에 적합하다(Yancy et al., 1982). 이러한 작용과 관련된 보고로 Petronini et al.(1992)은 고장액에서

이 논문은 과학기술부 · 한국과학재단 지정, 전라북도 지원 지역협력연구센터인 전북대학교 바이오식품 소재 개발 및 산업화 연구센터의 연구비 지원에 의해 연구되었음.

† To whom correspondence should be addressed : seon@moak.chonbuk.ac.kr

배양이 억제되었던 병아리 배자 섬유모세포(chicken embryo fibroblast)의 단백질 합성이 비태인의 첨가로 회복되었다고 하였으며, Ferket(1995)은 설사증상을 보이는 칠면조에 비태인의 급여는 지사작용이 있다고 하였다. 또한 최근에 Kettunen et al.(2001)은 육계의 십이지장 조직을 고장액에 배양하였을 때 비태인의 첨가로 세포내 물의 손실이 감소되므로 비태인이 소화관내 삼투압을 조절하는 기능이 있다고 하였다.

비태인의 삼투압 조절 기능은 여름철의 고온 스트레스와도 관련될 수 있다. Zhou et al.(1998)은 육계는 고온스트레스로 인하여 사료섭취량이 감소하며, 물 섭취량이 증가하면서 혈액의 점도와 삼투압이 현저하게 감소되었다고 하였다. 산란계에서도 여름철의 고온스트레스는 사료섭취량을 감소시키며 체열 발산을 위한 panting 현상이 발생되어 산란율의 감소와 난품질의 저하를 가져온다.

따라서 본 연구는 고온스트레스를 받는 하절기에 산란계 사료에 비태인의 수준별 급여가 산란율, 사료요구율, 계란의 품질, 간의 비태인 함량 및 콜레스테롤, 장내 소화물의 삼투압에 미치는 영향을 구명하고자 8주간 사양실험을 실시하였다.

재료 및 방법

1. 실험설계 및 사양관리

78주령의 로만 갈색계를 이용하여 사료내 비태인을 0, 500, 1,000, 2,000ppm수준으로 첨가하였다. 처리구당 4반복으로 반복당 18수씩 전체 288수를 공시하여 흑서기인 2001년 7월23일부터 8주간 실행하였다. 본 실험에 이용된 비태인은 (주) CTC Bio의 제품으로서 급여수준은 육계사료에 비태인 2,000ppm수준에서 장내 삼투압 조절작용에 관여할 수 있다는 Kettunen et al.(2001)과 육계 사료에 비태인 수준을 200, 400, 600ppm수준으로 급여시에 사료에 의존적으로 간에서 비태인 함량이 높아졌다는 Saarinen et al.(2001)의 첨가수준을 참고하였다. 본 실험에 사용한 기초사료는 옥수수과 대두박을 기초로 CP 16%, ME 2,800kcal/kg 수준으로 배합하였다(Table 1). 실험사료는 가루형태로 급여하였으며 물과 사료는 자유채식토록 하였다. 계란은 매일 수집하였으며 총 점등 시간은 일일 18시간이 되도록 하였다.

2. 조사항목

Table 1. Experimental diet composition

Ingredient	(%)
Corn	67.55
Soybean meal	18.28
Corn gluten meal	3.15
Canola meal	0.50
Limestone	8.23
TCP	1.56
Salt	0.34
L-Lysine	0.06
DL-methionine	0.03
Vitamin premix ¹	0.2
Mineral premix ²	0.1
Total	100.00
Chemical composition	
ME(kcal/kg)	2,800
CP(%)	16.00
Methionine(%)	0.32
Lysine(%)	0.75
Ca(%)	3.70
P(%)	0.40

¹Provided per kilogram of diet: vit. A, 5,500IU; vit. D₃, 1,100IU; vit. E, 11IU; vit. B₁₂ 0.0066mg; riboflavin, 4.4mg; niacin, 44mg; pantothenic acid, 11mg (Ca-pantothenate, 11.96mg); choline, 190.96mg (choline chloride 220mg); menadione, 1.1mg(menadione sodium bisulfite complex, 3.33mg); folic acid, 0.55mg; pyridoxine, 2.2mg(pyridoxine hydrochloride, 2.67mg); biotin, 0.11mg; thiamin, 2.2mg(thiamine mononitrate, 2.40mg); ethoxyquin, 125mg.

²Provided in mg per kilogram of diet; MnSO₄, 120; ZnSO₄, 100; FeSO₄, 60; CuSO₄, 10; Ca(IO₃)₂, 0.46; CaCO₃, min: 150 max: 180.

1) 산란율, 난중, 사료섭취량, 사료요구율

산란율은 사양실험중 반복별로 총산란수를 사육수수로 나누어 백분율로 표시하였으며, 난중은 채집한 계란을 매일 전자저울로 측정하였다. 사료섭취량은 4주 단위로 반복별로 측정하였다.

2) 난각강도, 두께, 호우유닛, 난황색

난품질은 사양실험 종료시에 처리구당 40개의 계란을 수거하여 실온에 3일간 방치한 후 측정하였다. 난각강도는 난각강도계(FHK Co, Japan)를 이용하였으며 난각두께는 내부

¹) FHK Co, Japan.

²) QCM+, TSS, England.

난각막을 제거한 후 micrometer¹⁾로 측정하였다. 호우유닛과 난황색은 계란품질측정기²⁾를 이용하여 측정하였다.

3) 혈중 콜레스테롤, 간의 비테인 함량, 삼투압

혈액은 실험종료시에 경정맥에서 채혈하여 혈청을 분리하였다. Triacylglycerol과 총 콜레스테롤의 측정은 효소 비색법(Allain et al., 1974)을 이용한 중성지방측정용 시액(Clean-tech TG-S, 아산제약)과 총콜레스테롤 측정용 시액(AM 202-K, 아산제약)을 각각 이용하였다. 측정법은 혈청 중의 triacylglycerol과 콜레스테롤을 각 시액의 효소와 반응하여 발색시킨 후 UV spectrophotometer³⁾로 각각 550nm와 500nm에서 흡광도를 측정하였다.

실험 종료후 처리구당 5수씩을 희생시켜 간을 채취하였다. 간에서의 비테인 함량은 Saarinen et al.(2001)의 방법을 이용하여 HPLC(Sykam S1100, Germany)로 측정하였다. 간 시료 1g을 2ml의 0.1M sodium acetate buffer(pH 6)에 넣어 균질화한 후 1.5ml의 40% trichloroacetic acid를 넣어 단백질을 침전시켰다. 5000g에서 10분간 원심분리한 후 상층액에 동량의 diethyl ether를 가하여 trichloroacetic acid를 제거하고 pH를 3으로 조정하였다. 시료에 증류수 5ml를 가하여 희석한후 0.2 μ m PVDF filter에 여과하여 HPLC에 주입하였다. Column은 Sugar-pak(6.5 \times 300mm)을 이용하였으며 column oven의 온도는 80 $^{\circ}$ C를 유지하였다. Mobile phase는 0.004M Ca(NO₃)₂ · 4H₂O를 사용하였으며 유속은 0.6ml/min으로 하여 RI detector(Waters 410, Milford, USA)로 검출하였다. 표준물질은 betaine monohydrate⁴⁾를 이용하였다.

혈액과 회장내용물의 삼투압 측정은 van der Klis et al.(1993)이 기술한 방법을 이용하였다. 시료는 실험 종료 후에 개체별로 채취하였으며 산란에 따른 오차를 줄이기 위해 개체별 산란시간을 조사하였다. 산란 2시간 후에 경정맥에서 혈액을 채취하고 경골탈퇴법으로 희생시킨 후 복강을 절개하여 회장 말단부위의 내용물을 채취하였다. 혈액은 혈청을 분리하여 분석시까지 -70 $^{\circ}$ C에 보관하였으며 회장 내용물은 4 $^{\circ}$ C에서 6,000 \times g로 15분간 원심분리하여 얻은 상층액을 -70 $^{\circ}$ C에 보관하였다. 삼투압의 측정은 freezing point osmometer⁵⁾를 이용하였다.

3. 통계분석

본 실험을 통하여 수집된 자료는 SAS package(1996)의

GLM procedure로 분산분석을 실시하였으며 처리구간의 통계적인 차이는 Duncan's new multiple range test(Steel and Torrie, 1980)를 이용하였다.

결과 및 고찰

1. 산란율, 사료섭취량, 사료요구율

비테인의 수준별 급여가 산란계의 생산성에 미치는 영향은 Table 2에 나타냈다. 산란율은 비테인 500과 2,000ppm 급여구에서 높은 경향을 보였으나 처리구간에 통계적인 차이는 없었다. 난중도 2,000ppm 급여구에서 높은 경향을 보였으나 통계적 차이는 없었다. 사료섭취량은 비테인 처리구에서 감소하는 경향을 나타냈으나 처리구간에 통계적인 차이는 없었다. 그러나 사료요구율은 비테인 처리구에서 개선되는 경향을 나타냈으며 500과 2,000ppm 처리구에서 대조구에 비하여 현저하게 개선되었다($P < 0.05$).

가금에서 비테인의 급여는 메틸기의 공여에 의해 메티오닌을 부분적으로 대체할 수 있다(Virtanen and Rosi, 1995; Remus and Virtanen, 1996). Stekol et al.(1953)은 닭에서 비테인 급여는 homocysteine이 메티오닌으로 변화되는 비율이 콜린의 급여에 비하여 약 3배 높았다고 하였다. Virtanen and Rosi(1995)는 비테인의 급여로 체중과 사료요구율이 개선되었다고 하였으며 본 연구에서도 비테인의 급여구에서 사료요구율이 개선되는 경향을 보였으며 500 혹은 2,000ppm 급

Table 2. Influence of dietary supplemental betaine on productivity of laying hens

Treatments (ppm)	Egg production (%)	Egg weight (g)	Feed intake (g/hen/day)	Feed conversion
0	72.62	64.02	107.2	2.374 ^a
500	75.06	63.40	103.8	2.203 ^b
1,000	71.77	62.68	100.2	2.252 ^{ab}
2,000	75.02	65.11	102.8	2.125 ^b
SEM	0.66	0.38	1.00	0.034

^{ab}Means with the different superscripts within a column differ significantly($P < 0.05$).

³⁾ Ultrospec 2000, Pharmacia Biotech, England.

⁴⁾ Fluka, Buchs, Switzerland.

⁵⁾ Precision System Inc., USA.

Table 3. Influence of dietary supplemental betaine on egg quality of laying hens

Treatments(ppm)	Eggshell breaking strength (kg/cm ²)	Eggshell thickness (μ m)	Albumen height (mm)	Haugh unit	Yolk color score
0	2.775 ^b	375.4	4.99	66.28	7.43 ^b
500	3.239 ^a	388.3	5.18	66.31	8.08 ^a
1,000	3.164 ^a	390.4	4.68	63.92	7.69 ^{ab}
2,000	3.117 ^{ab}	384.1	4.93	64.46	7.85 ^{ab}
SEM	0.0641	3.00	0.13	1.13	0.08

^{a,b}Means with the different superscripts within a column differ significantly(P<0.05). n = 40.

여구에서는 대조구에 비하여 현저한 개선을 보였다(P<0.05). 이러한 결과는 실험기간의 고온스트레스에 의해 사료섭취량이 감소되어 부족한 메티오닌을 비태인이 부분적으로 대체하였기 때문일 것으로 사료된다. 그러나 본 실험에서 비태인의 급여로 처리구간에 생산성의 차이가 적었던 요인은 급여되는 사료에 메틸기의 공여체가 비태인 이외에도 다량 존재하기 때문으로 사료된다(Pesti et al., 1980).

2. 난각강도, 두께, 난백고, 호우유닛, 난황색

비태인의 급여가 계란품질에 미치는 영향은 Table 3에 나타냈다. 난각강도는 대조구에 비하여 비태인 급여구에서 증가하는 경향을 나타냈으며 500과 1,000 ppm 급여구에서 현저하게 개선되었다(P<0.05). 난각두께도 이와 비슷하게 비태인 처리구에서 증가하는 경향을 나타냈으나 통계적인 차이는 없었다. 난백고와 호우유닛도 처리구간에 차이가 없었지만 난황색은 비태인 처리구에서 증가하는 경향을 보였으며 500ppm 처리구에서 대조구에 비하여 현저하게 증가하였다(P<0.05).

본 실험에서 비태인 500과 1,000ppm 처리구에서 난각강도의 현저한 증가를 보였으며(P<0.05) 난각두께도 난각강도와 동일하게 증대되는 경향을 나타냈다. Case et al.(1981)은 급여하는 사료의 삼투압이 높을수록 소장에서 물과 탄수화물, Na의 흡수가 증가하였다고 하였다. Arad and Skadhauge (1986)은 사료에 NaCl의 농도를 높여 급여하였을 때 혈중 항이노 호르몬인 arginine vasotocin의 농도가 증가하였다고 하였으며 Chaturvedi et al.(1997)도 닭에게 고염의 식염수를 급여하였을 때 혈중 arginine vasotocin 농도가 현저히 증가하였다고 하였다. 이러한 arginine vasotocin의 증가는 Ca의 흡수와 관련될 수 있는데 Bouby et al.(1984)은 쥐에 항이노호르몬을 주사하였을 때 뇨를 통한 Ca의 배설이 현저히 감소하였다고 하였다. 따라서 본 실험에서 난각질 개선 효과는 비태인의 첨가에 의한 삼투압이 증대된 사료를 급여함으로써

이를 섭취한 산란계의 소화관내 Ca 흡수가 증대되었거나 또는 항이노 호르몬의 증가에 의한 Ca의 재흡수에 기인한 것으로 사료된다. 그러나 비태인 급여가 난각질 형성에 미치는 영향에 대한 관련연구는 추후에 세부적으로 필요하다.

Kirunda et al.(2001)은 고온 스트레스기에 닭의 난황색도는 낮아졌으나 비타민 E의 급여로 난황색이 개선되었다고 하였다. 이는 고온 스트레스에 의한 각종 저해작용이 특정 영양소의 공급에 의해 극복될 수 있음을 시사한다. Sheikh-Hamad et al.(1994)은 고양이의 신장세포를 고온에 배양했을 때 heat shock protein의 합성이 증가하지만 비태인의 첨가(250mM)에 의해 정상수준으로 감소하였다고 하였다. 이러한 결과에서 비태인은 고온스트레스에 의한 저해작용을 조절할 수 있음을 시사한다. 본 실험에서도 500ppm의 비태인 급여로 난황색이 현저하게 개선되었는데 이러한 결과는 비태인의 섭취로 고온기에 발생하는 스트레스에 의한 저해작용이 극복되었기 때문으로 사료된다.

3. 혈중 콜레스테롤, 간의 비태인 함량, 소화물의 삼투압

혈중 콜레스테롤과 간의 비태인 함량을 분석한 결과는 Table 4에 나타냈다. Triacylglycerol과 총 콜레스테롤은 비태인 처리구에서 높아지는 경향을 보였으나 대조구와 통계적인 차이는 없었다. 간에서 비태인 함량은 비태인 급여구에서 높아지는 경향을 나타냈으며 대조구에 비하여 2,000ppm 급여구에서 현저하게 증가하였다(P<0.05).

Sugiyama et al.(1986)과 Matthews et al.(2001)은 각각 쥐와 돼지에 비태인의 급여로 혈액의 총 콜레스테롤 함량이 증가하였다고 하였지만 본 실험에서는 처리구간에 유의적인 차이가 없었다. 간에서 비태인 함량은 2,000ppm의 비태인 급여구에서 현저하게 증가되었다(P<0.05). 이러한 결과는 Kidd et al.(1997)이 간에서 betaine- homocysteine methyltransferase에 의해 비태인과 homocysteine이 메티오닌으로 합성될 수

Table 4. Influence of dietary supplemental betaine on serum cholesterol and liver betaine of laying hens

Treatments (ppm)	Serum		Liver betaine μg/g
	Triacylglycerol (mg/dL)	Total cholesterol	
0	1603.12	125.03	818.20 ^b
500	1625.63	124.57	912.06 ^b
1,000	1630.54	138.14	1,027.94 ^{ab}
2,000	1667.48	142.52	1,428.85 ^a
SEM	61.08	4.24	83.88

^{a,b}Means with the different superscripts within a column differ significantly(P<0.05). n=20.

있으며, 간에서의 비태인의 증가는 메티오닌의 합성을 증대할 수 있다는 Stekol et al.(1953)의 보고와 일치하였다.

혈액의 삼투압과 회장 소화물의 삼투압은 Fig. 1에 나타냈다. 혈액의 삼투압은 300mOsm/ℓ로 비태인의 섭취에 대한 영향이 없었으며, 동일한 양상을 보였다. 회장(ileum) 소화물의 삼투압은 대조구의 394mOsm/ℓ에서 403(500ppm), 367(1,000ppm), 355mOsm/ℓ(2,000ppm)로 비태인 급여에 의해 감소되는 경향을 나타냈지만 처리구간에 유의적인 차이는 없었다.

Zhou et al.(1998)은 육계에서 혈중 삼투압이 325mOsm/kg이며 물의 섭취에 의해 310mOsm/kg으로 감소하였다고 하였으며 Saito and Grossmann(1998)은 산란계의 경우 307mOsm/kg이라고 하였다. 회장 내용물의 삼투압은 van der Klis et al.(1993)이 육계에서 314~437mOsm/kg이라고 하였으며, Mongin et al.(1976)은 산란계에서 451mOsm/kg이라고 보고하였다. 본 실험의 혈중 삼투압은 이전의 연구자들의 보고에 비하여 낮은 경향을 보였는데 이러한 결과는 여름철 고온스트레스로 인해 물의 섭취가 증가하였기 때문으로 사료된다.

Zhou et al.(1998)은 육계를 이용한 실험에서 고온 스트레스로 인하여 혈중 삼투압이 저하되었지만 포도당을 급여시에 온도 차이에 따른 영향이 없었으며, 삼투압을 일정하게 유지하였다. 본 연구의 결과에서도 혈중 삼투압은 비태인의 급여로 처리구간에 차이가 없었지만 회장(ileum)에서는 비태인 수준에 따라서 감소되는 경향을 보였다. Mongin et al.(1976)은 산란계를 이용한 실험에서 소화가 일어나는 소낭부터 공장(jejunum) 상단까지는 삼투압이 계속적으로 증가하지만 이후 회장(ileum) 말단까지는 흡수가 일어나는 부위로 삼투압이 감소하였다고 하였다. 따라서 본 연구에서 회장

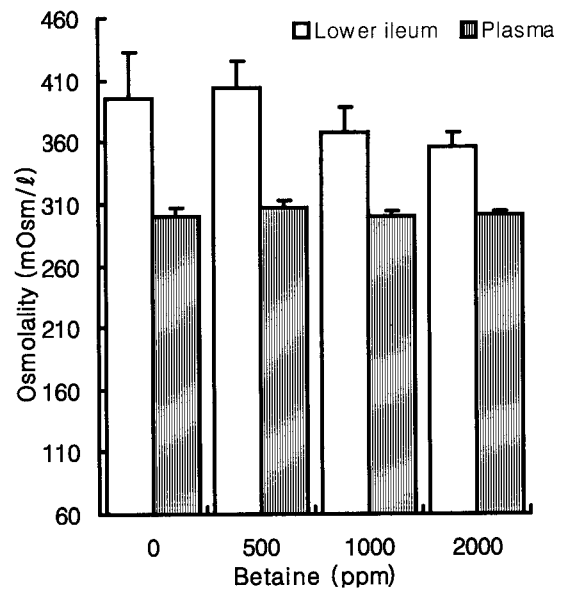


Fig. 1. Influence of dietary supplemental betaine on plasma and ileal digesta osmolality of laying hens(Mean±SE). n=5.

말단의 삼투압이 감소되는 경향을 나타낸 원인은 비태인의 섭취로 영양소 흡수가 높았기 때문일 것으로 사료된다. 그러나 체내에서 비태인의 정확한 기작의 구명을 위해서는 비태인의 첨가와 소화관내 삼투압에 대한 세부적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

적 요

비태인은 세포에서 삼투압 조절인자로 작용하며 콜린 대체와 체지방 감소 효과를 가진다. 따라서 고온 스트레스 기간에 비태인의 수준별 급여가 산란계의 생산성 및 관련되는 생리적인 인자에 미치는 영향을 구명하고자 8주간 사양실험을 시행하였다. 사료는 조단백질 16.00%, 대사에너지 2,800 kcal/kg 수준으로 급여하였다. 사료에 비태인의 급여수준은 0, 500, 1,000, 2,000ppm으로 하였으며, 처리구당 반복은 4반복, 반복당 수수는 18수씩 배치하였다. 산란율, 사료섭취량, 사료요구율은 4주 단위로 측정하였으며, 계란의 품질과 간의 비태인 함량, 혈중 콜레스테롤, 회장 내용물의 삼투압은 실험 종료시에 측정하였다.

산란율은 처리구간에 일관성이 없었지만 비태인 500과 2,000ppm 처리구에서 75.06과 75.02%로서 대조구의 72.62%보다 높은 경향을 나타냈다. 사료요구율은 각각 2.203, 2.125

로서 대조구의 2.374보다 현저하게 개선되었다($P < 0.05$). 난각강도는 비태인 처리구에서 대조구보다 현저하게 높거나 ($P < 0.05$) 개선되는 경향을 보였지만, 난백고와 호유닛은 대조구와 동일한 경향을 나타냈다. 간에서 비태인 함량은 사료 내 비태인의 수준에 비례하여 선형적으로 증가하였으며, 비태인 2,000ppm 처리구는 대조구보다 현저하게 높았다 ($P < 0.05$). 혈중 콜레스테롤과 triacylglycerol은 처리구간에 유의적인 차이는 없었으나 비태인 처리구에서 증가하는 경향을 나타냈다. 회장 내용물의 삼투압은 비태인 급여구에서 감소되는 경향을 나타냈다.

본 연구의 결과 고온 스트레스기에 비태인의 첨가·급여는 산란계의 생산능력을 개선하는 경향을 보였으며, 난각의 품질을 개선하는 것으로 사료된다.

(색인어 : 비태인, 삼투압, 산란율, 열스트레스, 난각질)

인용문헌

- Allain CC, Poon LS, Chan CSG, Richmond W, Fu PC 1974 Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clinic Chemistry* 20:470-475.
- Arad Z, Skadhauge E 1986 Body temperature and plasma arginine vasotocin in fowls adapted to high- and low-NaCl diets. *Br Poult Sci* 27:115-121.
- Bagnasco, S, Balaban R, Fales HM, Yang Y, Burg M 1986 Predominant osmotically active organic solutes in rat and rabbit renal medullas. *J Biological Chemistry* 261:5872-5877.
- Bouby N, Trinh-Trang-Tan NM, Bankir L 1984 Stimulation of tubular reabsorption of magnesium and calcium by anti-diuretic hormone in conscious rats. Study in Brattleboro rats with hereditary hypothalamic diabetes insipidus. *Pflugers Arch* 402:458-464.
- Burg MB 1994 Molecular basis for osmoregulation of organic osmolytes in renal medullary cells. *J Experimental Zoology* 268:171-175.
- Case GL, Lewis LD, Phillips RW, Cleek JL 1981 Effects of osmolality of liquid nutrient diets on meal passage and nutrient absorption in Yucatan miniature swine. *Am J Clin Nutr* 34:1868-78.
- Chaturvedi CM, Cornett LE, Koike TI 1997 Arginine vasotocin gene expression in hypothalamic neurons is up-regulated in chickens drinking hypertonic saline: An *in situ* hybridization study. *Peptides* 18(9):1383-1388.
- Ferket PR 1995 Flushing syndrome in commercial turkeys during the growout stage. In: *Proceedings, Smithkline Beecham Pacesetter Conference, National Turkey Federation Annual Meeting, 10 January, pp. 5-14.*
- Finkelstein JD, Martin JJ, Harris BJ, Kyle WE 1982 Regulation of hepatic betaine-homocysteine methyltransferase by dietary methionine. *Biochemical and Biophysical Research Communication* 108:344-348.
- Haussinger D 1996 The role of cellular hydration in the regulation of cell function. *Biochem J* 313:697-710.
- Kettunen H, Peuranen S, Tiihonen K 2001 Betaine aids in the osmoregulation of duodenal epithelium of broiler chicks, and affects the movement of water across the small intestinal epithelium *in vitro*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 129:595-603.
- Kidd MT, Ferket PR, Garlich JD 1997 Nutritional and Osmoregulatory functions of betaine. *World Poult Sci* 53:125-139.
- Kirunda DF, Scheideler SE, McKee SR 2001 The efficacy of vitamin E (DL-alpha-tocopheryl acetate) supplementation in hen diets to alleviate egg quality deterioration associated with high temperature exposure. *Poult Sci* 80(9):1378-83.
- Law RO, Burg MB 1991 The role of organic osmolytes in the regulation of mammalian cell volume In: *Advances in comparative and environmental physiology Vol 9:189-225.*
- Matthews JO, Southern LL, Higbie AD, Persica MA, Bidner TD 2001 Effects of betaine on growth, carcass characteristics, pork quality, and plasma metabolites of finishing pigs. *J Anim Sci* 79:722-728.
- Mongin P, Larbier M, Carbo Baptista N, Licois D, Coudert P 1976 A comparison of the osmotic pressures along the digestive tract of the domestic fowl and the rabbit. *Br Poult Sci* 17:379-382.
- Pesti GM, Harper AE, Sunde ML 1980 Choline/methionine nutrition of starting broiler chicks. Three models for estimating the choline requirement with economic considerations. *Poult Sci* 59:1073-81.
- Pesti GM, Benevenga NJ, Harper AE, Sunde ML 1981 Factors influencing the assessment of the availability of choline in feedsuffs. *Poult Sci* 60:188-196.
- Petronini PG, De Angelis EM, Borghetti P, Borghetti AF,

- Wheeler KP 1992 Modulation by betaine of cellular responses to osmotic stress. *Biochem J* 15:69-73.
- Remus J, Virtanen E 1996 Use of liquid betaine in low-methionine diets for broilers. *Poult Sci* 75(Suppl 1):35 Abstr.
- Saarinen MT, Kettunen H, Pulliainen K, Peuranen S, Tiihonen K, Remus J 2001 A novel method to analyze betaine in chicken liver: effect of dietary betaine and choline supplementation on the hepatic betaine concentration in broiler chicks. *J Agric Food Chem* 49:2 559-63.
- Saito N, Grossmann R 1998 Effects of short-term dehydration on plasma osmolality, levels of arginine vasotocin and its hypothalamic gene expression in the laying hen. *Comparative Biochemistry Physiology Part A* 121: 235-239.
- SAS Institute 1996 SAS/STAT[®] Guide Version 6.12. SAS Institute Inc Cary NC.
- Saunderson CL, MacKinlay J 1990 Changes in body-weight, composition and hepatic enzyme activities in response to dietary methionine, betaine and choline levels in growing chicks. *Br J Nutr* 63:2 339-349.
- Sheikh-Hamad D, Garcia-Perez A, Ferraris JD, Peters EM, Burg MB 1994 Induction of gene expression by heat shock versus osmotic stress. *Am J Physiol* 267 (Renal Fluid Electrolyte Physiol 36):F28-34.
- Steel RGD, Torrie JH 1980 Principles and procedure of statistics. McGraw Hill New York.
- Stekol JA, Hsu PT, Weiss S, Smith P 1953 Labile methyl group and its synthesis de novo in relation to growth in chicks. *J Biol Chem* 203:763-773.
- Sugiyama K, Akai H, Muramatsu K 1986 Effects of methionine and related compounds on plasma cholesterol level in rats fed a high cholesterol diet. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 32:537-549.
- Van der Klis JD, van Voorst A, van Cruyningen C 1993 Effect of a soluble polysaccharide (carboxy methyl cellulose) on the physico-chemical conditions in the gastrointestinal tract of broilers. *Bri Poult Sci* 34:971-983.
- Virtanen EI, Rosi L 1995 Effects of betaine on methionine requirement of broilers under various environmental conditions. *Proc Aust Poult Sci Symp* 7:88-92.
- Yancey PH, Clark ME, Hand SC, Bowlus RD, Somero GN 1982 Living with water stress: evolution of osmolyte systems. *Science* 217:1214-1222.
- Zhou WT, Fujita M, Yamamoto S, Iwasaki K, Ikawa R, Oyama H, Horikawa H 1998 Effects of glucose in drinking water on the changes in whole blood viscosity and plasma osmolality of broiler chickens during high temperature exposure. *Poult Sci* 77:644-647.