(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 108165522 B
(45)授权公告日 2020.12.01

(21)申请号 201711453247.9

(22)申请日 2017.12.28

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108165522 A

(43)申请公布日 2018.06.15

(73)专利权人 中国农业科学院饲料研究所
地址 100081 北京市海淀区中关村南大街12号中国农业科学院饲料研究所

(72)发明人 张海军 马友彪 王晶 武书庚 齐广海

(74)专利代理机构 北京君智知识产权代理事务所(普通合伙) 11305
代理人 郑明

(51)Int.Cl.
C12N 5/073(2010.01)

(56)对比文件
CN 102603778 A,2012.07.25
WO 2015022613 A1,2015.02.19
CN 102603778 A,2012.07.25
CN 102718685 A,2012.10.10
高天等.胚蛋注射L-精氨酸对肉仔鸡早期肠道发育机制的研究.《中国畜牧医学会动物营养学分会第十二次动物营养学术研讨会论文集》.2016,第265页.
朱影恬.N-氨基甲酰-L-谷氨酸的合成及其生物活性的研究.《中国优秀硕士学位论文全文数据库农业科技辑》.2011,第2011卷(第04期),第D050-30.

审查员 王晶晶

权利要求书1页 说明书6页

(54)发明名称

一种提高肉雏鸡质量和促进早期生长的胚期补剂及其应用

(57)摘要

本发明涉及一种促进肉鸡早期生长的胚期给养补剂及其应用。通过在孵化后期使用1mL疫苗注射器经由羊膜腔给养0.1mL N-氨基甲酰-L-谷氨酸(0.25～6.0mg/枚),达到提高出壳雏鸡质量和促进肉鸡早期生长发育的效果,显著降低出壳肉鸡禁食禁水48h导致的体重损失,并且21日龄体重增加40～80g/只,饲料效率也显著改善。本发明提出的100μL注射剂量和不封口技术,不影响孵化率,简便高效,单人操作每小时可注射800～1000枚,适合小型孵化场使用,经济效益可观。

CN 108165522 B

1.一种提高肉雏鸡质量和促进早期生长发育的方法,其特征在于将N-氨基甲酰-L-谷氨酸溶解于无菌生理盐水注射液/或PBS/或细胞培养液中,其终浓度为2.5～60mg/mL,经微孔滤膜除菌后,以0.1mL的剂量注入17～18.5胚龄的鸡胚羊膜腔中;作为非治疗目的,以提高肉雏鸡质量和促进早期生长发育。

一种提高肉雏鸡质量和促进早期生长的胚期补剂及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种促进肉鸡生长的胚蛋给养补剂及其应用，属于畜牧养殖业中家禽早期营养技术领域。

背景技术

[0002] 随着肉鸡育种技术和饲料营养技术的快速进步，现代肉鸡生长速度不断加快，生产周期进一步缩短。肉仔鸡出壳后饲喂40天即可达到2.5kg以上的出栏体重。与上市日龄不断缩短相对应，肉鸡的孵化器仍然维持21天不变，因此孵化期占生命周期的比例相对增加，已接近整个生命周期的35％或以上。肉禽孵化阶段就占生命周期的三分之一，若能在孵化阶段采取营养调控措施促进肉禽早期发育，必将对其出生后乃至终生的生产性能具有促进作用。卵内给养技术就是这样一种调控肉鸡早期生长的新型技术。卵内给养，又称胚蛋给养或超早营养，是一种通过注射将营养液补充到孵化期禽类胚胎中的新方法，以达到促进消化道生长发育、改善雏鸡出壳及随后生长的效果。胚蛋的气室、卵白、卵黄囊和羊膜腔等均可作为卵内给养的部位。胚蛋给养对肉鸡出雏后骨骼、肌肉、免疫系统等均有促进作用。随着胚蛋注射技术的进步，家禽营养调控研究被提前到胚胎期。

[0003] N-氨基甲酰-L-谷氨酸(NCG)是L-谷氨酸上的氨基被氨基甲酰化后的产物，能够激活动物体内氨甲酰磷酸合成酶-1和二氢吡咯-5-羧酸合成酶，促进内源精氨酸的生成。精氨酸是一种重要的功能性氨基酸。精氨酸除了参与合成蛋白质外，还具有改善免疫系统健康和抵御疾病的作用，并且在治疗心血管疾病方面意义重大。精氨酸能够通过产生一氧化氮增加血流量，减少心脏和血管疾病症状。精氨酸能够加速创口愈合，刺激生长激素的分泌，因此在维护健康和促进生长方面作用显著。NCG可通过调节内源性精氨酸的合成改善仔猪和生长猪的生长性能，以及母猪和公猪的繁殖性能。家禽体内缺乏氨甲酰磷酸酶等精氨酸合成途径的关键酶，并且线粒体中N-乙酰谷氨酸不足，是内源精氨酸不足的限制因素。卵内给养精氨酸可促进肉仔鸡、鹌鹑等禽类胚胎的发育，并且对出壳后雏禽的发育具有正面的调控作用。饲料中添加NCG对家禽生产性能的调控研究还很匮乏，未见显著的积极作用报道。鸡胚孵化后期羊膜腔给养可以避免机体肠道消化过程营养物质的分解和损失，能够获得较日粮添加更好的效果。对在肠道易被消化酶分解或微生物代谢的功能物质，早期羊膜腔给养为理想的途径，可以直接进入血液循环，及早发挥调节雏鸡代谢和生长发育的作用。

发明内容

[0004] 本申请公开了一种促进肉鸡早期生长的胚期给养补剂及其应用，该胚期给养补剂能够提高出壳肉鸡对禁食禁水应激的抵抗能力，降低体重损失，促进雏鸡早期生长发育，并可改善饲料效率，具有较好的经济效益。

[0005] 为了实现上述目的，本发明提供了的肉仔鸡胚胎给药补剂及其应用，其特征在于在孵化的后期使用1mL疫苗注射器经由羊膜腔给养N-氨基甲酰-L-谷氨酸(0.25～6.0mg/枚)，给养剂量为100μL，给养后蛋壳钻孔处不封口，直接落盘转移至出雏器。

[0006] 本发明技术方案：

[0007] 1.一种提高肉雏鸡质量和促进早期生长发育的胚期给养补剂，其特征在于将N-氨基甲酰-L-谷氨酸溶解于无菌生理盐水注射液/或PBS/或细胞培养液中，其终浓度为2.5～60.0mg/mL，经微孔滤膜除菌后，以0.1mL的剂量注入17～18.5胚龄的鸡胚羊膜腔中。

[0008] 2.本发明所述的一种提高肉雏鸡质量和促进早期生长发育的胚期给养补剂的应用，其特征在于该给养补剂作为非治疗目的将N-氨基甲酰-L-谷氨酸溶液应用于鸡胚内注射，以提高肉雏鸡质量和促进早期生长发育。

[0009] 本发明具体实施方式

[0010] 1.一种促进肉鸡早期生长的胚期给养补剂制备

[0011] 将N-氨基甲酰-L-谷氨酸溶解于无菌生理盐水注射液/或PBS/或细胞培养液中，其终浓度为2.5～60.0mg/mL，经微孔滤膜除菌后即可。

[0012] 2.促进肉鸡早期生长的胚期给养补剂的应用

[0013] 将以上制备的胚期给养补剂以0.1mL的剂量注入17～18.5胚龄的鸡胚羊膜腔中，具体方法如下：注射前用75％酒精浸润脱脂棉在注射点擦拭消毒，接着用带橡皮塞的粗针头刺破蛋壳钻一小圆孔，然后将1mL注射器针头完全插入胚蛋中，经羊膜腔注射0.1mL本发明的胚期给养补剂，注射后针孔不封口。

[0014] 下面通过具体实施例对本发明作进一步详述。实施例中的实验方法和实验实例中所用的材料试剂，如无特殊说明，均为常规方法及常规材料和试剂。

[0015] 实施例1

[0016] ——出壳后禁食禁水无饲养

[0017] 650枚Ross 708鸡商品代受精蛋(蛋重56g～64g，平均重60g)随机分配到4个处理组：无注射对照组、盐水对照组、1mg NCG/枚注射组和2mg NCG/枚注射组。孵化条件为：温度(37.8±0.1)℃，相对湿度60％，每1h翻蛋一次(角度270°)。孵化室温度为(25.0±1.0)℃，相对温度60％～65％。孵化第10天照蛋，去除无精蛋和死胚蛋。孵化第17天时进行二次照蛋，去除死胚。然后调整至每个处理组117枚鸡胚，分为3个重复(孵化器中每托为1重复)，每重复39枚胚胎。随后除无注射对照组之外，其他3组分别通过羊膜腔注射0.1mL生理盐水、或者含有1、2mg NCG的生理盐水。注射前用75％酒精浸润脱脂棉在注射点擦拭消毒，然后用带橡皮塞的粗针头刺破蛋壳钻一小圆孔，然后将1mL注射器针头完全插入胚蛋中，经羊膜腔注射0.1mL给养物。羊膜腔给养结束后，胚蛋直接放入出雏筐，然后置入出雏器中，温度为36.7℃，相对湿度65％。

[0018] 孵化至19.5胚龄时，从每个处理组中在入孵前已标号并记录蛋重的21枚胚蛋中选取15枚胚胎，单个称重，拨壳，分离胚胎称重，并通过生殖腺确定性别。然后分离卵黄囊，称重。计算胚胎比例和卵黄囊比例。

[0019] 孵化至21天(504h)，取出所有雏鸡和未出壳的胚蛋，对雏鸡进行性别鉴定，记录公、母鸡数量和体重，并将未出壳的死胚、活胚和不同啄壳状态鸡胚数量进行统计。在出雏当天采样和性别鉴定之后，所有雏鸡按性别分开仍然放置于出雏筐中的原位，保持温度33℃，相对湿度26.5％。在黑暗的出雏器中禁食禁水48h后，取出所有雏鸡，按照性别和重复为单位进行称重。然后每个重复选取2只公雏和2只母雏单个称重，折颈处死，分离卵黄囊称重，并计算卵黄囊占体重之比。

[0020] 表1 19.5胚龄胚胎发育情况

[0021]

项目	无注射对照	盐水对照	1mg	2 mg
入孵蛋重 （g/枚）	59.8±1.2	60.0±0.6	59.1±1.3	59.8±1.9
蛋重（g/枚）	53.4±0.8	53.4±0.6	52.3±1.2	53.4±2.2
胚胎重（g/枚）	44.3±0.7	44.4±0.4	43.5±1.3	44.1±1.6
胚胎重 (无卵黄）（g/枚）	35.4±0.6	36.0±0.6	34.6±0.7	34.8±0.7
卵黄囊重（g/枚）	8.71±0.17	8.43±0.18	8.86±0.22	9.26±0.75
胚胎重/入孵蛋重（%）	74.1±0.5	74.1±0.4	73.6±0.4	73.7±0.5
卵黄囊重/入孵蛋重（%）	14.6±0.4	14.1±0.8	15.0±0.6	15.5±0.7
胚胎重/蛋重（%）	83.0±0.6	83.3±0.2	83.2±0.48	82.6±0.34
卵黄囊/胚胎（%）	19.6±0.3	19.0±0.4	20.3±0.3	20.9±0.4

[0022]

[0023] 表1所示为19.5胚龄胚胎发育情况。由表可知，19.5胚龄的蛋重，胚胎重、卵黄囊重均无显著差异，胚胎和卵黄囊比例也无差异(P>0.05)。NCG组卵黄囊重和比例在数值上略高于空白对照和盐水对照组。

[0024] 表2胚蛋给养NCG对孵化率的影响

[0025]

项目	无注射对照	盐水对照	1mg	2 mg
孵化率（%）	95.1±2.4	92.8±2.0	95.7±2.6	95.6±2.3
整体孵化率（%）	95.0	92.9	95.6	95.5
死鸡	0	0	0	0
死胚	1.63±1.63	5.32±0.13	1.60±1.60	0.80±0.80
活胚（啄壳）	1.63±0.81	0.93±0.93	1.70±0.80	1.90±1.90
死胚（啄壳）	1.63±1.63	0.93±0.93	1.10±0.97	1.60±1.60

[0026] 表2所示为胚蛋给养NCG对孵化率影响的结果。由表可知，各处理组孵化率均在92％以上，无显著差异。NCG给养组胚胎孵化率略高于对照组，2mg NCG给养组孵化后期的死胚数低于空白对照和盐水对照组，但均达不到统计学之显著水平(P>0.05)。

[0027] 表3胚蛋给养NCG对出壳雏鸡体重和卵黄囊重的影响

[0028]

项目	无注射对照	盐水对照	1mg NCG	2 mg NCG
平均重（g/只）	42.3±0.84	42.9±0.49	43.31±0.65	42.61±0.53
公雏重（g/只）	42.3±0.62	42.1±0.72	43.25±0.68	43.11±0.59
母雏重（g/只）	42.1±1.09	43.6±0.35	43.33±0.59	42.29±0.48
体重/入孵蛋重（%）	70.4±1.31	70.7±1.65	71.8±1.72	70.8±1.43
卵黄囊重 (g/只）	4.52±1.08	4.07±0.41	5.03±0.57	4.32±0.98
卵黄囊/体重 （%）	10.37±2.20	9.45±0.77	11.27±2.85	10.29±2.36

[0029] 表3所示为21胚龄出雏肉仔鸡体重和卵黄囊数据。由表可知，胚蛋给养NCG对肉仔鸡出壳重和卵黄囊重均无显著影响。胚蛋给养1mg NCG组肉仔鸡的体重/入孵蛋重最高，并

且该组的卵黄囊重和卵黄囊比例也最高。

[0030] 表4肉仔鸡出壳后禁食禁水48h后(2日龄)的体重和卵黄囊重量

[0031]

项目	无注射对照	盐水对照	1mg NCG	2 mg NCG
平均重（g/只）	36.2±0.61	36.7±0.54	37.7±0.49	36.9±0.57
公雏重 （g/只）	36.5±0.47	36.0±0.73	37.6±0.55	37.2±0.61
母雏重（g/只）	35.9±0.79	37.3±0.43	38.0±0.43	36.8±0.55
体重/入孵蛋重（%）	60.3 ± 0.69^{b}	60.5 ± 1.06^{b}	63.8 ± 0.87^{a}	61.7 ± 0.93^{ab}
体重/17 天蛋重（%）	66.7 ± 0.62^{b}	67.2 ± 1.29^{b}	70.6 ± 0.95^{a}	68.9 ± 1.02^{ab}
体重损失 (g/只）	6.09 ± 0.23^{a}	6.25 ± 0.10^{a}	5.58 ± 0.16^{b}	5.69 ± 0.13^{b}
体重损失/入孵蛋重（%）	10.2 ± 0.32^{a}	10.3 ± 0.11^{a}	9.44 ± 0.25^{b}	9.52 ± 0.16^{b}
体重损失/出壳重（%）	14.4 ± 0.25^{a}	14.6 ± 0.33^{a}	12.88 ± 0.21^{b}	13.36 ± 0.18^{ab}
卵黄重 (g/只）	1.07±0.14	0.96±0.09	0.99±0.08	1.11±0.12
卵黄重/体重（%）	2.93±0.37	2.61±0.67	2.62±0.56	3.01±0.48

[0032] 注:表中行均值肩标字母不同者表示差异显著(P<0.05)。

[0033] 表4所示为肉仔鸡出壳后在出雏器中禁食禁水48h的体重和卵黄囊重量情况。由表可知,肉仔鸡的平均体重、公雏重和母雏重在各处理间无显著差异(P>0.05)。体重占入孵蛋重或17天胚胎重的比例,NCG给养组高于空白对照或盐水对照,其中1mg NCG组显著高于空白对照或盐水对照组(P<0.05)。体重损失、体重损失占入孵蛋重比例,1mg和2mg NCG给养组显著低于空白对照或盐水对照组(P<0.05)。体重损失占出壳重的比例,1mg NCG给养组显著低于空白对照或盐水对照组(P<0.05)。肉仔鸡的卵黄囊重量和比例在各处理间差异不显著(P>0.05)。

[0034] 实施例2

[0035] ——孵化阶段和早期饲养试验

[0036] 1.孵化

[0037] 1800枚Ross 308商品代受精蛋随机分配到6个处理组,每个处理6个重复,每个重复50枚蛋。分别在7胚龄和17胚龄照蛋,挑出无精蛋和死胚。在17胚龄照蛋后(在注射前需要剔除死胚或无精蛋),将每个重复胚蛋数调整为45枚。然后除无注射对照组外,其他5组每枚胚蛋分别注射0.1mL生理盐水、或含1、2、4、6mg NCG的生理盐水。鸡胚给养后,所有胚蛋按照孵化器中排列顺序,放入出雏筐中,在温度为36.9℃,相对湿度65%的条件下出雏。

[0038] 孵化至21天(504h),取出所有雏鸡和未出壳的胚蛋,统计孵化率,对雏鸡进行性别鉴定,记录公、母鸡数和体重,并将未出壳的死胚、活胚和啄壳状态鸡胚数量进行统计。然后每个重复选取2只公雏和2只母雏,逐只称重后断颈致死,摘取卵黄囊称重。结果见表5和表6。

[0039] 表5胚蛋给养NCG对肉仔鸡孵化率的影响

[0040]

项目	无注射对照	盐水对照	1mgNCG	2 mgNCG	4mgNCG	6mgNCG
孵化率（%）	82.2±5.51	83.7±4.85	86.2±6.40	84.4±5.80	84.2±4.12	85.7±4.60
总体孵化率（%）	82.25	83.74	86.28	84.32	84.19	85.61
死鸡（%）	0.73±1.14	0.74±1.81	0.36±0.89	1.38±1.70	0.75±1.16	0.74±1.81
死胚（%）	11.28±6.95	10.86±9.96	8.71±9.43	9.75±9.69	12.86±10.16	11.04±9.86
活胚（%）	4.32±6.28	3.25±3.19	4.30±6.73	2.44±2.43	1.85±0.91	1.80±1.61
弱雏（%）	1.47±2.27	1.41±2.57	0.35±0.87	2.11±3.26	0.35±0.85	0.72±1.12

[0041] 表5所示为胚蛋给养1～6mg NCG对肉仔鸡孵化率的影响。由表可知，各组肉仔鸡孵化率在82％～87％之间，无显著差异(P>0.05)。孵化后期胚胎死亡率在8％～13％之间，1mg、2mg NCG给养组较低，在10％以下，其他各组均值在10％以上。出壳雏鸡弱雏数，1、4、6mg NCG给养组较低，在1％以下，其他各组略高，在1.41％～2.11％之间。

[0042] 表6胚蛋给养NCG肉仔鸡出雏情况

[0043]

项目	无注射对照	盐水对照	1mg	2 mg	4mg	6mg
入孵蛋重	65.2±0.52	65.0±0.49	65.3±0.24	65.1±0.47	65.0±0.24	64.9±0.29
平均重（g/只）	47.4±1.09	46.9±0.93	47.2±0.82	45.9±0.84	47.0±0.71	46.7±0.71
公雏重 （g/只）	49.0±3.75	47.2±0.99	47.7±0.91	46.6±0.89	47.1±1.14	46.9±1.22
母雏重（g/只）	46.2±2.12	46.8±1.20	46.8±1.13	45.3±0.96	46.9±0.85	46.7±0.76
活鸡重（g/只）	46.8±2.38	46.9±3.69	45.9±3.39	46.6±3.98	46.8±4.58	45.9±3.97
卵黄囊（g/只）	6.77±1.24	6.49±1.58	6.65±1.41	7.50±2.16	6.24±1.51	6.52±1.98
囊比例（%）	14.41±2.33	13.84±2.62	14.38±2.45	15.90±3.26	13.18±2.19	14.00±3.09

[0044] 表6所示为胚蛋给养NCG肉仔鸡出雏数据。由表可知，各处理组入孵蛋重、出壳雏鸡重、公雏重、母雏重无显著差异。卵黄囊重量，2mg NCG给养组最高，并且该组卵黄囊比例也最高。可见NCG给养不影响肉仔鸡出雏重和卵黄囊比例。

[0045] 实施例3

[0046] ——早期饲养试验

[0047] 肉仔鸡出壳当天采样完毕后，从每个处理中选取80只公雏，每个处理8个重复，每个重复10只鸡。三层笼养，自然光照加人工补光，光照强度为30lx，1～7d每天光照24h，8d后每天光照时间为23L:1D。饲养期共21d。饲养管理按肉鸡常规程序进行，自由采食和饮水，饲喂肉仔鸡颗粒日粮。分别在出雏当天、7日龄和21日龄，对鸡只以重复为单位进行称重，在21日龄时结料，计算采食量、体增重和饲料效率。鸡只死亡时进行记录，计算阶段死亡率。

[0048] 表7肉仔鸡公雏出壳后0～21日龄生产性能

[0049]

项目	无注射对照	盐水对照	1mgNCG	2 mg NCG	4mg NCG	6mg NCG
7 d 体重（g/只）	215.4±14.8	208.9±12.5	227.2±13.1	225.1±13.5	221.5±5.7	227.4±7.5
21 d 体重（g/只）	879.2±49.4^{b}	848.7±38.2^{b}	922.9±44.5^{a}	921.2±28.4^{a}	920.6±25.0^{a}	932.9±39.1^{a}
日增重（g/只）	38.9±2.39^{b}	38.4±2.78^{b}	40.9±1.94^{a}	41.0±1.43^{a}	40.7±1.22^{a}	41.5±1.55^{a}
日采食量（g/只）	53.2±2.83^{b}	52.25±1.49^{b}	55.4±1.27^{a}	55.3±1.58^{ab}	55.3±1.29^{ab}	54.0±1.74^{ab}
料重比 （g/g）	1.371±0.029^{a}	1.361±0.038^{a}	1.357±0.049^{a}	1.348±0.016^{a}	1.358±0.035^{a}	1.305±0.063^{b}
死亡率（%）	2.78±4.30	4.17±6.97	1.39±3.40	2.78±4.30	4.17±6.97	1.39±3.40

[0050] 注:表中行均值肩标字母不同者表示差异显著(P<0.05)。

[0051] 表7所示为肉仔鸡公雏出壳后0～21日龄的生产性能结果。由表可知,肉仔鸡7日龄体重各处理之间无显著差异(P>0.05)。21日龄体重,NCG注射各组体重较空白对照或盐水对照组高约40～90g/只(P<0.05)。平均日增重方面,各NCG注射组均显著高于空白对照或盐水对照组(P<0.05)。平均日采食量,1mg NCG组显著高于两个对照组(P<0.05)。饲料效率方面,6mg NCG组饲料效率显著优于空白对照组、盐水对照或其他NCG注射组(P<0.05)。各处理的死亡率在1.39%到4.17%之间,无显著差异。