



中华人民共和国国家标准

GB/T 25172—2010

猪常温精液生产与保存技术规范

Technical specification for production and preservation of fresh boar semen

2010-09-26 发布

2011-01-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准的附录 B、附录 D 为规范性附录，附录 A、附录 C 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国畜牧业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：青岛市畜牧兽医研究所、华南农业大学、北京养猪育种中心、胶南市家畜改良站。

本标准主要起草人：戈新、张守全、王建华、马振强、刘长宏、程明、孟庆利。

猪常温精液生产与保存技术规范

1 范围

本标准规定了猪常温精液生产与保存技术规范的精液采集、检查、稀释、分装、保存和运输。
本标准适用于猪的常温精液生产与保存。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB 4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定
NY/T 65 猪饲养标准

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

原精液 raw semen

采集后未经稀释的精液。

3.2

常温精液 fresh semen

经稀释后在 16 ℃~18 ℃下短期保存，仍具有受精能力的精液。

3.3

精子活力 sperm motility

在 37 ℃下呈直线前进运动的精子占总精子数的百分率。

3.4

精子密度 sperm concentration

单位体积精液中的精子数，单位为 10⁸ 个每毫升。

3.5

精子畸形率 abnormal sperm percentage

畸形精子占总精子数的百分率。

4 精液采集

4.1 公猪

应具有种用性能，符合国家有关规定。饲养应符合 NY/T 65 的要求。

4.2 采精室

应设置采精区和安全区。采精区设置假台猪，地面防滑，并保持清洁、安静。

4.3 采精前准备

4.3.1 采精员应着洁净工作衣、帽，穿长胶鞋。

4.3.2 集精杯(内置无毒塑料袋并覆盖四层纱布或一层精液过滤纸)、载玻片、盖玻片、精液处理器皿和稀释液应预热至 37 ℃。

4.3.3 显微镜载物台恒温板应预热至 37 ℃。精子密度仪使用前应预热。

4.4 采精步骤

4.4.1 剪去包皮部长毛,清洁体表,擦干水渍。

4.4.2 挤净包皮积液,先用 0.1%高锰酸钾溶液清洗腹部和包皮,再用温水清洗后擦干。

4.4.3 手握法采精时,应一只手戴双层无毒塑料手套,按摩公猪包皮部,待公猪爬跨假台猪并伸出阴茎,脱去外层手套,握紧龟头,使其不能旋转,顺势将阴茎的“S”状弯曲延直。另一只手持集精杯,弃去最初射出的少量精液(约 5 mL),收集精液至射精完毕。

4.5 采精频率

成年公猪每周采精两次至三次,青年公猪每周一次至两次。

5 精液检查

5.1 精液处理室

应设精液检查、稀释和分装区,温度宜控制在 22 ℃~25 ℃,不应太阳光直射或紫外灯照射。配置仪器和用品参见附录 A。

5.2 原精液品质

原精液品质应符合表 1 的规定。

表 1 原精液品质

项 目	指 标
外观	呈乳白色,均匀一致
气味	略带腥味,无异味
采精量/mL	≥100
精子活力/%	≥70
精子密度/(10 ⁸ 个/mL)	≥1
精子畸形率/%	≤18
细菌菌落数/(CFU/mL)	≤1×10 ³

5.3 检测方法

5.3.1 外观、气味

目测、鼻嗅。

5.3.2 采精量

采用称量法计算采精量(1 g 相当于 1 mL)。

5.3.3 精子活力

取中层精液 15 μL~25 μL,在 200 倍~400 倍显微镜下检查。每份精液取样两次,每个样观察三个视野,计算平均值。

5.3.4 精子密度

采用精子密度仪或可见光分光光度计法测定。应定期用血细胞计数板法校正。

5.3.5 精子畸形率

采用伊红或姬姆萨染色法检查时,在 400 倍~600 倍显微镜下观察左、中、右三个视野中不少于 200 个精子。也可采用相差显微镜直接观察。每两个月抽检一次。

5.3.6 细菌菌落数

按 GB 4789.2 规定执行。每两个月抽检一次。

5.4 记录

填写公猪精液品质检测登记表,登记表见附录 B。

6 精液稀释

6.1 稀释液配制

6.1.1 所用试剂均为分析纯,用双重蒸馏水溶解。配方参见附录 C。

6.1.2 商品稀释剂按说明书使用。不得使用过期或吸潮变色的稀释剂。

6.1.3 自配稀释液配制后应及时加入抗生素,稀释液的 pH 为 6.4~7.2。

6.1.4 使用前 1 h 配制,配制后应及时贴上标签,标明品名、配制日期和时间、经手人。

6.1.5 剩余稀释液应密封后置于冰箱中冷藏,时间不超过 24 h。

6.2 稀释步骤

6.2.1 精液采集后应尽快稀释,放置时间不宜超过 15 min。

6.2.2 采用等温稀释。精液与稀释液温差不得超过 1 °C,根据精液温度调节稀释液温度,不得反向操作。

6.2.3 将稀释液沿杯壁缓慢加入到精液中,轻轻摇动或沿一个方向搅拌,混合均匀。高倍稀释时,先低倍稀释(1:1)~(1:2),30 s 后再加入余下的稀释液。

6.2.4 精液稀释后应静置 5 min 再作精子活力检查,活力不低于 70% 进行分装。

6.2.5 稀释后精液每头份剂量 80 mL~100 mL,精子活力 70% 以上,含总精子数 30×10^8 个~ 35×10^8 个。

6.2.6 稀释液总量以体积 V 计,数值以毫升(mL)表示,按式(1)计算:

$$V = \frac{V_1 \times c}{s} \times V_2 - V_1 \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

V_1 ——采精量,单位为毫升(mL);

c ——精子密度,单位为 10^8 个每毫升(10^8 个/mL);

s ——每头份含总精子数,单位为 10^8 个;

V_2 ——每头份剂量,单位为毫升(mL)。

7 精液分装

7.1 精液分装采用袋装、瓶装或管装。

7.2 装精液用的袋、瓶或管应选用对精子无毒害作用且灭菌的一次性塑料制品。

7.3 以每 80 mL~100 mL 为单位,将精液分装至精液袋、瓶或管中,排出空气后密封。

7.4 精液包装应标明产品名称、生产单位、生产日期、批号、品种、耳号和保质期。

8 精液保存

8.1 精液应置于 22 °C~25 °C 下 1 h~2 h 后,平放入 17 °C 恒温箱内避光保存;也可用 12 层~15 层纱布(或干毛巾)包严直接放入 17 °C 恒温箱内。

8.2 保存的精液每隔 4 h~8 h 摇动一次并记录,摇动时应轻缓均匀。

8.3 稀释液保存的精液应尽快用完,超过保质期的精液不应使用。

8.4 每批精液应留样备查。同批号的精液在保质期内应抽样检查并记录,公猪常温精液保存登记表见附录 D。精液产品质量见表 2。

表 2 精液产品质量

项 目	指 标
精子活力/%	≥ 70
总精子数/ 10^8 个	30~35
精子畸形率/%	≤ 18
剂量/mL	80~100

9 精液运输

- 9.1 精液应置于 16 °C~18 °C 的专用运输箱内避光运输。
- 9.2 运输过程中避免强烈震动和碰撞。

附 录 A
(资料性附录)

精液处理室配置仪器和用品

表 A.1 精液处理室配置仪器和用品

名 称	规格(技术参数)	用 途
电子秤	3 000 g/1 g,6 000 g/2 g	称量精液、稀释液
显微镜	40 X~1 600 X	观测精子数、活力和畸形率
显微镜恒温板	室温至 50 ℃(可调),工作面温差:≤0.5 ℃	载玻片、盖玻片恒温预热
精子密度仪	50 mill/mL~1 400 mill/mL	测定精子密度(任选)
可见光分光光度计	波长范围 350 nm~820 nm,带宽<±5 nm	测定精子密度(任选)
pH 计	测量范围 0.0~14.0,精度±0.1	测定精液、稀释液的 pH
精液保存箱	17 ℃±1 ℃	保存精液
干燥箱	室温+5 ℃~250 ℃,波动度<±2 ℃	预热器皿和消毒用品
培养箱	室温+5 ℃~60 ℃	细菌培养
电子天平	200 g/0.01 g	称量化学试剂(选用)
恒温水浴锅	双孔或四孔	等温精液与稀释液
恒温磁力搅拌器	0 ℃~99 ℃,容量<500 mL	稀释液搅拌、加热
双重蒸馏水器	2 000 mL~2 500 mL	制作双重蒸馏水
血球计数板	25×16	测定精子密度
计数器	0~999	精子计数
微量移液器	100 μL~200 μL	精液取样或稀释
微量移液器	100 μL~1 000 μL	精液取样或稀释
量筒	1 000 mL±5 mL	量取液体
三角瓶	1 000 mL	配制稀释液
放水瓶	5 L	盛放双重蒸馏水
烧杯	1 000 mL,2 000 mL	精液稀释
热封口机		袋装精液封口
分装架		分装精液
分装管		分装精液
培养皿		细菌培养
载玻片		精子活力的测定
盖玻片		精子活力的测定

表 A.1 (续)

名 称	规格(技术参数)	用 途
擦镜纸		擦拭显微镜镜头
移液枪吸嘴	200 μL	精液取样或稀释
稀释粉		配制精液稀释液
精液袋、瓶或管		分装及保存精液
温度计	0 $^{\circ}\text{C}$ ~60 $^{\circ}\text{C}$	测量精液、稀释液等温度
玻璃棒		稀释液配制或精液稀释
标签纸		精液、稀释液标签

附录 B
(规范性附录)
公猪精液品质检测登记表

表 B.1 公猪精液品质检测登记表

采精日期	采精时间	品种	耳号	采精员	外观	气味	采精量/ mL	精子活 力/ %	精子密 度/ (10 ⁸ 个/ mL)	精子畸 形率/ %	细菌菌 落数/ (CFU/mL)	稀释液		稀释后 精子活 力/ %	头份数	质检员	备注		
												品名	总量/ mL						

附录 C

(资料性附录)

常见几种公猪精液稀释液配方

表 C.1 常见几种公猪精液稀释液配方

单位为克每升

成 分	配方一	配方二	配方三	配方四
保存时间/d	3	3	5	5
D-葡萄糖	37.15	60.00	11.50	11.50
柠檬酸三钠	6.00	3.70	11.65	11.65
EDTA 钠盐	1.25	3.70	2.35	2.35
碳酸氢钠	1.25	1.20	1.75	1.75
氯化钾	0.75	—	—	0.75
青霉素钠	0.60	0.50	0.60	—
硫酸链霉素	1.00	0.50	1.00	0.50
聚乙烯醇(PVP, Type II)	—	—	1.00	1.00
三羧甲基氨基甲烷(Tris)	—	—	5.50	5.50
柠檬酸	—	—	4.10	4.10
半胱氨酸	—	—	0.07	0.07
海藻糖	—	—	—	1.00
林肯霉素	—	—	—	1.00

附录 D
(规范性附录)

公猪常温精液保存登记表

表 D.1 公猪常温精液保存登记表

产品名称	生产单位	生产日期	批号	品种	耳号	头份数	每头份			保质期/ d	保存第 1 天		保存第 2 天		保存第...天		出厂前 精子活力/ %	质检员	备注		
							总精 子数/ 10 ⁸ 个	精子 畸形率/ %	剂量/ mL		精子 活力/ %	摇动 时间	精子 活力/ %	摇动 时间	精子 活力/ %	摇动 时间					

