



中华人民共和国国家标准

GB/T 25172—2020
代替 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

2020-11-19 发布

2021-06-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 GB/T 25172—2010《猪常温精液生产与保存技术规范》，与 GB/T 25172—2010 相比主要变化如下：

- 增加了“GB 23238”和“GB/T 6682”(见第 2 章)；
- 增加了“宜用设备采精法,按使用说明书操作”(见 5.1.2.3)；
- 将精子畸形率由“ $\leq 18\%$ ”修改为“ $\leq 20\%$ ”(见 5.2.2,2010 年版的 5.2)；
- 删除了“细菌菌落数”(见 5.2,2010 年版的 5.2)；
- 精子活力证实方法增加了“使用自动分析仪器应按其检测方法操作”(见 5.2.3.2)；
- 将稀释液 pH 值“6.4~7.2”修改为“6.8~7.2”(见 4.5.4,2010 年版的 6.1.3)；
- 将稀释后精液“每头份剂量”“总精子数”修改为“剂量、每剂量中直线前进运动精子数应符合 GB 23238 的规定。”(见 5.4.1,2010 年版的 6.2.5)；
- 将“精液产品质量(见表 2)”修改为“常温精液产品质量和标志应符合 GB 23238 的规定。”(见 5.6.4,2010 年版的 8.4)。

本标准由中华人民共和国农业农村部提出。

本标准由全国畜牧业标准化技术委员会(SAC/TC 274)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、黄岛区家畜改良站。

本标准主要起草人:戈新、张守全、王建华、周海深、张宝珣、李培培、刘玉华、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的基本要求和技術要求,描述了对应的试验方法,给出了保存和运输的内容。

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

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB 23238 种猪常温精液

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

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℃下保存,仍具有受精能力的精液。

注:改写 GB 23238—2009,定义 3.2。

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。

3.5

精子畸形率 abnormal sperm percentage

畸形精子占总精子数的百分率。

4 基本要求

4.1 种公猪

应健康且达到种用要求。成年公猪宜每周采精二次至三次,青年公猪宜每周一次至二次。

4.2 采精员

应经过专业培训,工作时应着洁净工作衣、帽,穿长胶鞋,戴无毒塑料手套。

4.3 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、安静和避光。

4.4 精液处理室

应设置精液检查、稀释和分装区,温度宜控制在 $22\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$,避免太阳光直射或紫外灯照射。配备仪器和用品参见附录 A。

4.5 稀释液

4.5.1 配制用水应符合 GB/T 6682 中二级水或三级水的要求。

4.5.2 商品稀释剂按说明书使用。不得使用过期或变质稀释剂。

4.5.3 自配稀释液所用试剂应为分析纯,稀释液配方参见附录 B。

4.5.4 稀释液 pH 值应为 $6.8\sim 7.2$ 。

4.5.5 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。

4.5.6 稀释液应密封后置于冰箱中 $0\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷藏,保存时间不应超过 24 h。

5 技术要求

5.1 精液采集

5.1.1 采精前准备

5.1.1.1 集精杯或保温杯(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、精液处理器皿应预热至 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

5.1.1.2 显微镜载物台恒温板应预热至 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。精子密度仪使用前应预热。

5.1.2 采精

5.1.2.1 应剪去公猪包皮部长毛,清洁体表,擦干水渍。

5.1.2.2 应挤净包皮积液,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。

5.1.2.3 宜用设备采精法,按使用说明操作。手握法采精时,应一只手戴双层无毒聚乙烯手套,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。另一只手持集精杯或保温杯,弃去最初射出的少量精液,收集精液至射精完毕。

5.1.2.4 采精完毕后,应标记公猪耳号,送至精液处理室。

5.2 精液检验

5.2.1 检验项目

外观、气味、采精量、精子活力、精子密度和精子畸形率。

5.2.2 原精液质量

应符合表 1 的规定,其中任何一项不符合要求的则废弃。

表 1 原精液质量

编号	项 目	指 标	证实方法
1	外观	呈乳白色,均匀一致	目测
2	气味	略带腥味,无异味	鼻嗅
3	采精量/mL	≥ 100	见 5.2.3.1
4	精子活力/%	≥ 70	见 5.2.3.2
5	精子密度/(10^8 个/mL)	≥ 1	见 5.2.3.3
6	精子畸形率/%	≤ 20	见 5.2.3.4

5.2.3 证实方法

5.2.3.1 采精量

采用称量法计算采精量,1 g 相当于 1 mL。

5.2.3.2 精子活力

取中层精液 10 μ L~15 μ L,在 200 倍~400 倍显微镜下检查。每份精液取样二次,每个样观察三个视野,计算平均值。使用自动分析仪器应按其检测方法操作。

5.2.3.3 精子密度

采用精子密度仪测定。应定期用血细胞计数板法校正。

5.2.3.4 精子畸形率

采用伊红或姬姆萨染色法检查时,在 200 倍~400 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。每二个月抽检一次。

5.3 精液稀释

5.3.1 精液采集后应尽快稀释,放置时间不宜超过 15 min。

5.3.2 采用等温稀释。精液与稀释液温差不得超过 1 $^{\circ}$ C,根据精液温度调节稀释液温度,不得反向操作。

5.3.3 将稀释液沿杯壁缓慢加入精液中,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。

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

$$V = \frac{v_1 \times c}{s} \times v_2 - v_1 \dots\dots\dots (1)$$

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 ——每剂量中直线前进运动精子数,单位为 10^8 个;
- v_2 ——剂量,单位为毫升(mL)。

5.3.5 精液稀释后应静置 5 min,按 5.2.3.2 检测精子活力,活力不得低于 70%。

5.4 精液分装

5.4.1 剂量、每剂量中直线前进运动精子数应符合 GB 23238 的规定。

5.4.2 可采用袋装或瓶装,应使用对精子无毒害作用且灭菌的一次性塑料或硅胶制品。

5.4.3 分装完毕,应排出空气后密封。

5.5 记录

应及时将精液检验、精液稀释、精液分装的处理和结果填入精液质量检测登记表,登记表见附录 C。

5.6 精液保存和运输

5.6.1 精液应置于 22℃~25℃ 下 1 h~2 h 后,平放入 16℃~18℃ 恒温箱内避光保存;也可用 12 层~15 层纱布(或干毛巾)包严直接放入恒温箱内。

5.6.2 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。

5.6.3 每批精液应留样备查。同批号的精液在有效期内应抽样检查并记录,常温精液保存登记表见附录 D。

5.6.4 常温精液产品质量和标志应符合 GB 23238 的规定。

5.6.5 精液应置于 16℃~18℃ 的恒温箱内避光运输,运输过程中避免强烈震动和碰撞。



附 录 A
(资料性附录)

精液处理室配备仪器和用品

精液处理室配备仪器和用品见表 A.1。

表 A.1 精液处理室配备仪器和用品

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 ×~1 600 ×	观测精子数、活力和畸形率
显微镜恒温板	室温~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
pH 计	测量范围 0.0~14.0, 精度±0.1	测定精液、稀释液的 pH
恒温箱	16 ℃~18 ℃	保存精液
干燥箱	室温+5 ℃~250 ℃, 波动度<±2 ℃	预热器皿和消毒用品
冰箱	冷藏室 0 ℃~4 ℃	保存试剂和剩余稀释液
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
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
储水瓶	5 L	盛放配制用水
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
载玻片		精子活力的测定
盖玻片		精子活力的测定
擦镜纸		擦拭显微镜镜头
移液枪吸嘴	200 μL	精液取样或稀释
稀释剂		配制精液稀释液

表 A.1 (续)

名 称	规格(技术参数)	用 途
精液袋、瓶		分装及保存精液
温度计	0 ℃~60 ℃	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
(资料性附录)
常见常温精液稀释液配方

常见常温精液稀释液配方见表 B.1。

表 B.1 常见常温精液稀释液配方

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
注：单位为克每升。				



附录 C
(规范性附录)
精液质量检测登记表

精液质量检测登记表见表 C.1。

表 C.1 精液质量检测登记表

[illegible]

表 D.1 常温精液保存登记表

[illegible]