

# 地方品种、引进品种猪细管冻精生产及保存技术规程

## 1 范 围

本文件确立了猪细管冷冻精液生产与保存的技术程序构成，规定了采精前准备、采精、原精质量要求、精液冷冻制作流程、精液解冻、质量初检、保存等技术环节要求，描述了相关方法。

本文件适用于猪细管冷冻精液（以下简称“冻精”）生产、初检及保存。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅注日期对应的版本适用于本文件；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 23238 种猪常温精液

GB/T 25172 猪常温精液生产与保存技术规范

NY/T 2077 种公猪站建设技术规范

NY/T 1167 畜禽场环境质量及卫生控制规范

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本件。

### 3.1 原精 raw Semen

采集后未经稀释的精液，由精子和精清两部分组成的雄性生殖器外分泌物，其中，精子悬浮在液状精清中。 [来源: GB / T 25172 - 2020,3.1]

### 3.2 精子活力 sperm motility

精液中前向运动精子活动的程度。

注：当精液温度在 37 °C 左右时，以精液中前向运动精子数占总精子数的百分比表示。

-

[来源: GB 23238 - 2021, 3.4]

### 3.3 精子畸形率 abnormal sperm percentage

畸形精子占总精子数的百分比。 [来源: GB / T 25172 - 2020,3.5]

### 3.4 精子密度 semen concentration

每毫升精液中所含的精子数。 [来源: GB 23238 - 2021,3.3]

### 3.5 冻精 Frozen Semen

经特殊方法处理的精液，通过超低温冷冻后在液氮中（ - 196 °C）长期保存。 [来源: GB 4143 - 2008,3.5]

### 3.6 细管冷冻精液 Frozen sperm in fine tubes

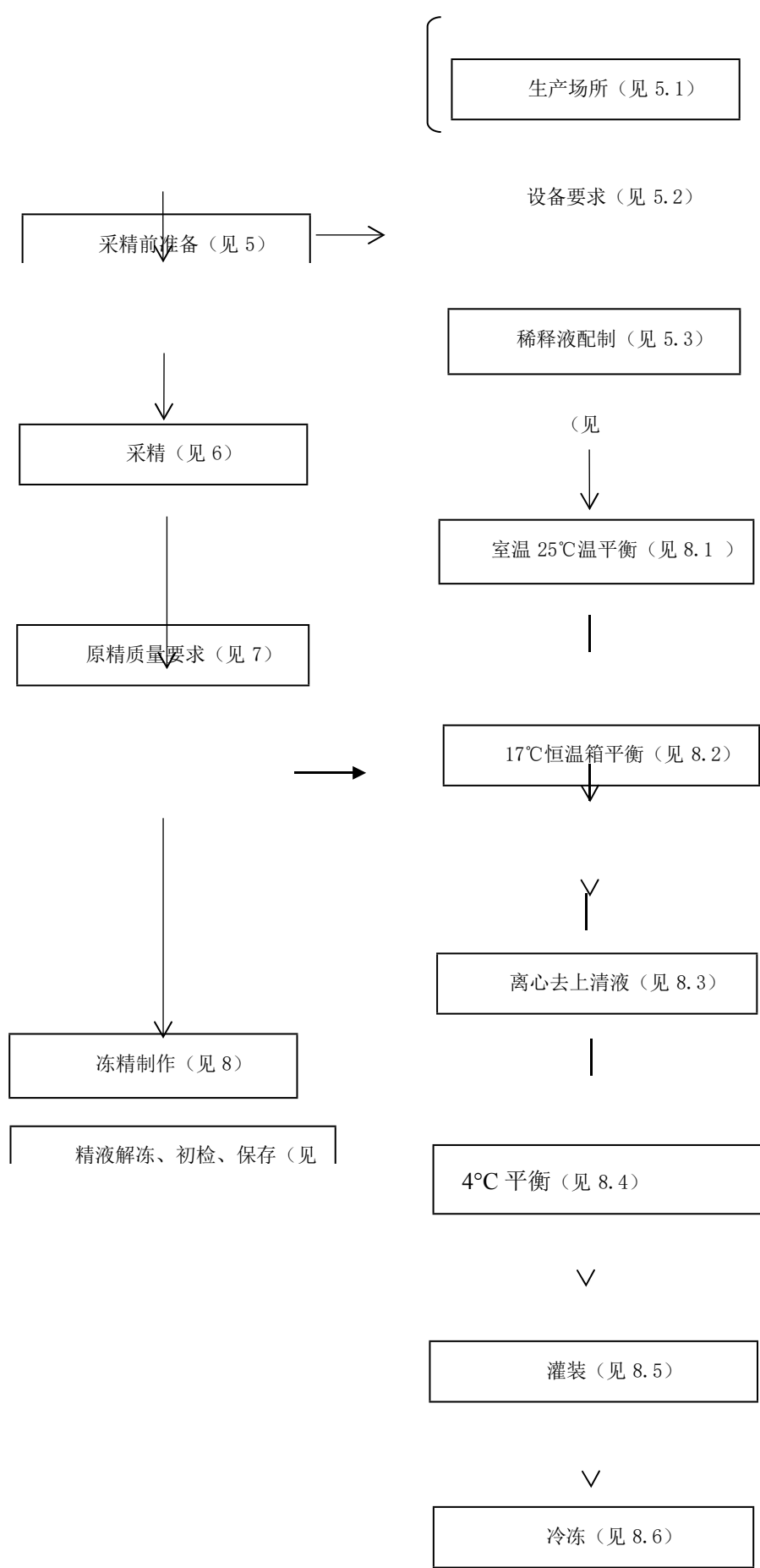
原精经过特殊处理液灌注到细管型中，再通过超低温冷冻程序处理制成的冻精，简称“细管冻精”，冻精可以在液氮中（-196°C）长期保存。

注：猪精灌装适用细管规格为“0.25mL”、“0.5mL”、“1mL”。

## 4 猪冷冻精液生产及保存技术的构成

猪细管冷冻精液生产及保存程序包括 6 个阶段，其中精液冷冻制作分为 6 个步骤。程序流程图如图 1 所示。







生产记录表（见 10）

图 1 猪细管冷冻精液生产及保存程序流程图

## 5 猪细管冷冻精液生产及保存的基本要求

### 5.1 采精前准备

#### 5.1.1 生产场所

5.1.1.1 生产场所主要包括采精室、精液生产室和精液质量检测室。

5.1.1.2 基础设施能够保证生产的需要，其中采精室、精液生产室和精液质量检测室使用面积及设施条件应符合 NY/T 2077-2011 中 7.3、7.4 和 7.5 的规定。

5.1.1.3 环境条件应符合 NY/T 1167 的规定,不允许有影响种猪健康和冻精质量的不良因素。

### 5.2 仪器设备要求

#### 5.2.1 器械及器皿消毒

器械及器皿清洗方式方法，通常为手工清洗或使用超声波清洗机。器具的消毒灭菌，应按照国家不同材质分别采用对应的方式方法，玻璃器皿类清洗洁净后,采用电热恒温干燥箱高温灭菌消毒；对于一些不耐高温材质的，如橡胶、塑料制品，采用 75 % 酒精擦拭消毒或紫外线灯照射、臭氧消毒。

#### 5.2.1 精液生产所需仪器设备

设备的性能、精度、量程应能够满足冷冻精液生产与检验测试的需要,仪器设备清单见附录 A 。

为确保设备能够正常的运转和测试结果的准确性，应保证以下各要求：

- a) 应严格按照仪器设备使用技术规程规范操作；
- b) 在用仪器设备需要给予正常的维护，保证完好率达到 100 %；
- c) 涉及到量值器具与设备（天平、温度计、恒温箱等）应定期进行检定和校准；
- d) 在用仪器设备的管理应建有档案和台账。

e) 精液生产室的设备:控温设备、恒温水浴箱（锅）、显微镜恒温载物台、精子密度测定仪、电子天平、恒温箱、低温平衡柜均应提前开机预热（冷）待用，凡是接触精液的器皿应按使用要求，分别放置于不同环境温度中预热或冷藏待用。





### 5.3 稀释液配制要求

5.2.1 所用的试剂应选择分析纯；稀释用水为新鲜双重蒸馏水；提供新鲜卵黄的鸡蛋应是来源于无疫病鸡场；添加使用的抗生素应在有效期内。

5.2.2 稀释液配制过程中应按照配方要求、准确称量、先后顺序、规范操作。配制完成后应及时在稀释液容器上明显标记稀释液的名称、配制日期、保质时间等。

5.2.3 通常稀释液的配方、配制方法及保存要求（见附录 B 表）

5.2.4 商品稀释剂：使用时，按产品使用说明书操作。

## 6 采 精

6.1 采精公猪来源应符合 NY/T 2077-2011 中 8.3.1 的要求。

6.2 采精操作，按照 GB/T25172 中 5.1.2 的操作步骤。

根据公猪射精特点，应舍去最初和最后部分精液，采集完成后立即送入精液生产室。

## 7 原精质量

原精精液品质检验，按 GB/T 25172 中 5.2.3.1 ~ 5.2.3.4 规定方法，结果应符合表 1 中规定。

表 1 原精精液质量要求

检测项目	质量要求		检测方法
	引入品种、培育品种	地方品种（推广利用）	
外观	呈乳白色，无异常分泌物		目测
采精量（mL）	≥ 100mL	≥ 80 mL	GB/T 25172 中 5.2.3.1
精子活力（%）	≥ 90%	≥ 80 %	GB/T 25172 中 5.2.3.2
精子密度 / 10 <sup>8</sup> 个/mL	≥ 2 × 10 <sup>8</sup> /mL	≥ 1 × 10 <sup>8</sup> / mL	GB/T 25172 中 5.2.3.3

## 8 冻精制作

### 8.1 室温 25 °C 温平衡

质检验合格的原精液，缓缓加入等量等温（ 37 °C ）预先配种好的预稀释液（原精液与预稀释液 1 : 1 ）摇匀，标记后置于室温（ 25 °C 左右）约 1h。

-

## 8.2 17℃恒温箱平衡

8.2.1 室温平衡结束转入 17℃ 恒温箱，降至 17℃ 恒温 2h ~ 3h（最长不超过 24h），期间注意适当摇动精液，防止精子假死。

8.2.2 17℃ 平衡结束，取样液稀（按照常温精液稀释比例）检测精子活力，精子活力满足第 7 步骤中表 1 的要求，则进行下一步，否则作废处理。

## 8.3 精液离心及去上清液

### 8.3.1 冷冻稀释液添加量的计算方法（一）

8.3.1.1 称量精子净重单位（g），换算精子体积）（mL），计算按 1 g 相当于 1mL 行进换算。按公式 1:

$$V_1 = W_1 - W_0$$

a) 离心前应准确称量离心管净重，单位为克（g），做好标记；

b) 将 17℃ 恒温 2h - 3h 结束的常温精液，分装入离心管，在 17℃ 环境条件下用 900 g 离心 8 - 9 min，舍去上清液；

c) 离心后及时称量离心管加精子重量，单位为克（g）；

d) 精子体积的计算，按式（1）：

式中：

$V_1$ —— 总精子体积，单位为毫升（ml）；

$W_1$ —— 离心瓶加精子重，单位为克（g）；

$W_0$ —— 离心瓶重，单位为克（g）；

e) 依据测定的采精量、精子密度、精子活力，计算有效精子总数，按公式 2:

$$S = V_1 \times \rho \times m$$

式中：

$\rho$ ——精子密度，每毫升精液（原精液）中精子的个数，用精子密度仪测。

$S$ —— 总的有效精子数，单位为亿个（ $10^8$ 个）

$V_1$ —— 每头猪总的采精量，单位为毫升（ml）；

$m$ —— 精子活力，单位为百分比（%）

### 8.3.1.2 冷冻保护剂 I 液、冷冻保护剂 II 液添加量的计算

f) 添加冷冻保护剂 I 液的量:预设外来品种每毫升精子密度  $2 \times 10^8$  个 / ml, 用 “ $\rho_1$ ” 表示; 用精子总数 S 除以预设目标密度, 得到最终需要稀释到的总精液体积数 (mL), 再减去净的精子体积数  $V_1$

(mL), 结果就是需要加入冷冻保护剂 I 液的体积, 按公式 3:

$$V_{(I)} = \frac{S}{\rho_1} - V_1$$

式中:  $S$  —— 总的有效精子数, 单位为亿个 ( $10^8$  个)

$V_{(I)}$  —— 冷冻保护剂 I 液添加的量, 单位为 (ml)

$\rho_1$  —— 目标精子密度, 生产者结合实际预设, 保证引进品种及培育品种的目标精子密度为  $2 \times 10^8$  个/ml, 地方品种的目标精子密度为  $1 \times 10^8$  个/ml

$V_1$  —— 净精子的总体积, 单位为 (ml);

注意: 1.若精清分离不彻底, 可能会出现  $V_1 > V_{(I)}$ , 使  $V_{(I)}$  出现负值, 影响精液后续的降温, 此时应该调低冻精目标密度的设置, 如调整预设目标密度为  $1 \times 10^8$  个/mL, 重新计算保护剂添加量, 使得  $\frac{V_{(I)}}{V_1} \geq 1$ 。

$V$

e) 添加冷冻保护剂 II 液的量(用“ $V_{(II)}$ ”表示)等于冷冻保护剂 I 液的量加上精子体积的, 按公式 4

:

$$V_{(II)} = V_{(I)} + V_1 = S / \rho$$

式中:

$V_{(II)}$  —— 冷冻保护剂 II 液添加的量, 单位为 (ml)

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：

<https://d.book118.com/497041161201006165>