

ICS 点击此处添加 ICS 号

CCS 点击此处添加 CCS 号

T/CHBAS

团 体 标 准

T/CHBAS XXXX—2026

山羊精液冷冻保存技术规范

Technical Specifications for Cryopreservation of Goat Semen

（征求意见稿）

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

河北省标准化协会 发 布

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由河北农业大学提出并归口。

本文件起草单位：河北农业大学、承德市农林科学院、承德鱼儿山承垦农业发展有限公司、遵化市农业农村局、丰宁满族自治县动物疫病预防控制中心、围场满族蒙古族自治县动物疫病预防控制中心、保定市农业农村局。

本文件主要起草人：李俊杰、陶晨雨、郭建军、宋连杰、刘计双、卢文成、夏威、赵炜、张洪军、周曙光、张文涛、李梦奇、齐雅天、于洋、张光明、刘佳宝。

山羊精液冷冻保存技术规范

1 范围

本文件规定了山羊冷冻精液生产的基本要求、稀释液配制、采精、精液处理、精液冷冻、冻精活力检查、冻精包装、标签、储存及记录。

本文件适用于规模化羊场和种羊场山羊冷冻精液的生产。

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，仅该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 20557-2006 山羊冷冻精液

GB/T 30396-2013 牛冷冻精液包装、标签、储存和运输

GB/T 5458 液氮生物容器

NY/T 3186-2018 羊冷冻精液生产操作规程

3 术语和定义

GB 20557、NY/T 3186界定的术语和定义适用于本文件。

4 基本要求

4.1 采精种公羊

应具有种用价值，体质健康，无遗传病，不允许有已发布的动物防疫法中所明确的两类疫病中的任何一种疾病。

4.2 台羊

选择性情温顺、肢蹄强健的健康母羊或假台羊，或选用发情期的母羊做台羊。

4.3 采精环境

采精场所应保持安静，地面清洁、防滑，温度适宜，光线良好，有护栏等安全保护设施。

4.4 精液处理室环境

按照NY/T 3186中4.1规定执行

4.5 仪器设备

按照NY/T 3186中4.2规定执行

4.6 稀释液配制

商品稀释液按照产品说明书配置。自配的稀释液配方及配制方法，详见附录A。

5 采精

5.1 采精前准备

5.1.1 公羊

清洁体表卫生，修剪过长的阴毛。包皮确需冲洗的，冲洗干净30 min后进行采精操作。

5.1.2 台羊

清洁体表、外阴、臀部卫生，并固定于采精架内。

5.1.3 采精器具

将采精器具集精管、假阴道、漏斗、水浴锅、干燥箱有规则地摆放在操作台上。

5.1.4 采精器润滑剂

将凡士林与液体石蜡1:1，用水浴煮沸消毒10 min 后置于 62℃~65℃水浴锅内待用。

5.1.5 假阴道

安装好的假阴道需结合紧密且不漏水气，适量注入温水。内胎温度应在38℃~43℃，具有一定压力，外口呈三角形并具备一定的润滑度；集精杯温度维持在33℃~35℃。假阴道的消毒和润滑剂的使用按照NY/T 3186规定执行。

5.2 采精

5.2.1 排出副性腺液

公羊靠近台羊时，不令其立即爬跨，使其充分排泄副性腺液后进行2次~3次空爬，等待3 min~5 min后采精，空爬时避免阴茎触及台羊。

5.2.2 性欲不强公羊处理

性欲不强的公羊采取观摩、引诱、被爬跨和更换台羊、地点等措施引导采精。

5.2.3 采精操作

采精员手持假阴道站在公羊侧后方，当公羊爬跨台羊阴茎伸出时，迅速向前一手托着公羊包皮，另一只手将假阴道将阴茎引入假阴道口内，公羊向前一冲完成射精。

5.2.4 移出假阴道

射精完成后，假阴道紧随公羊阴茎移动，当阴茎缩回后移出假阴道。

5.2.5 取下集精管

立即将假阴道口斜向上方，打开活塞放气，取下集精管，迅速送至精液处理室。安装好的假阴道不得重复使用。

5.2.6 采精次数确定

成年公羊一般3d~4d采精1次，每次可连续采精2次（间隔30 min以上），可根据年龄、季节、身体状况、个体差异酌情调整。

6 精液处理

6.1 精液处理前准备

所有接触精液的器皿均应放置在32℃~37℃恒温箱中，稀释液放在32℃~35℃恒温水浴环境中备用。盛装稀释精液的器皿做好明显标记。

6.2 精液标记

精液送进处理室后立即做好标记，同冷冻稀释液一起放置到 32℃~35℃恒温水浴环境中。

6.3 精液检查

6.3.1 外观检查

观察精液的色泽、气味及是否有脓性分泌物或血液等异物。正常情况下，精液为乳白色或淡黄色，无异物，略有腥味。

6.3.2 采精量

直接读取集精管上刻度(精确到0.1 mL)，记录采精量。

6.3.3 精子密度

用血细胞计数板计数或精液密度测定仪测定每毫升精液中所含的精子数。

6.3.4 精子活力

预先将载玻片和盖玻片放在37℃环境预热3 min，取5 μL~10 μL精液于载玻片上，盖上盖玻片后置于带有37℃恒温装置的显微镜下评定活力。活力计算见GB 20557-2006中A.3规定。

6.4 精液评价

外观正常、密度不小于 6×10^8 个/mL、活力不小于65%、畸形率不大于15%的精液用于生产冻精，进行后续处理。

6.5 稀释、平衡

按照NY/T 3186-2018规定执行。

6.6 标识

冷冻精液细管上应有明确的标识，所印字迹应清晰易认，信息齐全。具体标识方法见附录B。

7 精液冷冻

按照NY/T 3186-2018规定执行。

8 质量检验

8.1 检验项目

按照NY/T 3186-2018中8.1规定执行。

8.2 精液解冻

用镊子将细管迅速从液氮罐中取出，迅速浸入到37℃的温水中晃动8s~10s，当细管内冻精溶解后取出，擦干水滴。

8.3 冻后精子活力

8.3.1 剪去细管的封口端，用专用推针把精液挤入一小试管内。

8.3.2 精子活力的检测方法按照6.3.4规定执行。

8.3.3 精子活力不小于35%。

8.4 精子畸形率

8.4.1 制作抹片

取20 μL稀释解冻精液滴于洁净载玻片一端，用另一载玻片以与水平面30°角平稳推进，使精液均匀涂抹。

8.4.2 固定

滴加30 μL 95%酒精固定5 min，然后冲洗晾干。

8.4.3 染色

取40 μL伊红染液染色10 min，用蒸馏水冲洗至肉眼基本看不到颜色。

8.4.4 镜检

待染色片自然风干后，在显微镜下检测精子畸形率，每次随机选5个视野，每个视野精子数200个以上。

8.5 精子质膜完整率

8.5.1 低渗液处理

将冻融后精液用低渗液稀释10倍，置于37℃孵育30 min。

8.5.2 制片

孵育结束后，取10 μL样品制片。

8.5.3 镜检

于显微镜下观察5个视野，每个视野精子数不低于200个，统计尾部弯曲精子比率。

9 冻精包装、储存和运输

9.1 包装

按照NY/T 3186-2018规定执行。

9.2 储存

精液贮存按照GB/T 30396-2013规定执行。

9.3 运输

冻精运输按照GB 20557-2006执行。

10 记录

精液生产做好相应记录，记录内容，详见附录C。

附 录 A
(资料性)
冷冻精液稀释液的配方与配制

A.1 稀释液配制要求

所有化学试剂为化学纯以上；鸡蛋应新鲜，来源于健康鸡群；水为蒸馏水或双蒸水。

A.2 山羊冷冻精液稀释液配方与配制

山羊冷冻精液稀释液配方与配制见表A.1。

表A.1 山羊冷冻精液稀释液配方与配制

配方	配方成分	配置方法
配方一	Tris 4.36 g、葡萄糖 0.65 g、蔗糖 1.60 g、果糖 0.75 g、柠檬酸 1.97 g、谷氨酸 0.04 g、卵黄 18 mL、甘油 6 mL，青霉素 10 万 U、链霉素 10 万 U、灭菌蒸馏水	先取 50 mL 灭菌蒸馏水溶解 Tris、葡萄糖、蔗糖、柠檬酸、谷氨酸，与卵黄、甘油混合，加灭菌蒸馏水定容至 100 mL，最后加入青霉素、链霉素。封口，搅拌 30 min 后待用
配方二	丝胶蛋白 6 g、葡萄糖 3.1 g、柠檬酸钠 1.4 g、甘油 14 mL、卵黄 20 mL、林可霉素 80 μL、灭菌蒸馏水	先取 50 mL 灭菌蒸馏水溶解丝胶蛋白、葡萄糖和柠檬酸钠，与卵黄、甘油混合，加灭菌蒸馏水定容至 100 mL，最后加入林可霉素。封口，搅拌 30 min 后待用

附 录 B
(规范性)
细管冷冻精液标记方法

细管冷冻精液标记由四部分组成，排列顺序如下：第一部分生产单位；第二部分品种代号；第三部分公羊号；第四部分生产日期，按年、月、日次序排列，年、月、日各占两位数字，年度的后两位数组成年两位数，月、日不够两位的，月、日前分别加“0”补充为两位数。部分之间空6个字节以上，生产单位代码用汉语拼音大写首字母表示，公羊品种代码为该品种汉字的汉语拼音大写字母。标记清晰易认。

标记实例：

		CDWJSYZCC	CDWJSY	11003	241001	
棉塞封口端		第一部	第二部	第三部	第四部	封口端

CDWJSYZCC为承德无角山羊种畜场代码，CDWJSY 为承德无角山羊公羊的品种代码，11003为该公羊号，241001为2024年10月1日的生产日期代码。

附 录 C
(规范性)
精液生产记录表

表C.1 精液生产记录表

时间	耳号	射精量 mL		总采 精量 mL	采精 人	精液 颜色	原精 活力%	原精密 度 g/m L	检查 人	稀释 倍数	稀释后 活力%	平衡 前温 度℃	平衡 后活 力%	平衡 时	预 冷 时	冷冻 后活 力%	冷冻 数	指形 管	袋号	操作员
		一次	二次																	