

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/TXXXXX—XXXX

鹿冷冻精液生产技术规程

Technical code of practice for deer frozen semen production

征求意见稿

2025-XX-XX 发布

2025-XX-XX 实施

中华人民共和国农业农村部 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。

本文件由中华人民共和国农业农村部畜牧兽医局提出。

本文件由全国畜牧业标准化技术委员会(SAC/TC 274)归口。

本文件起草单位：XXX等。

本文件主要起草人：XXX等。

鹿冷冻精液生产技术规程

1 范围

本文件确立了鹿冷冻精液生产的操作流程，规定了鹿冷冻精液生产的基本要求、稀释液配置、精液采集、鲜精品质检查、精液处理、精液冷冻、冻精检查与保存，描述了证实方法。

本文件适用于鹿精液采集及冷冻生产。

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/T 5458 液氮生物容器

GB/T 6935 中国梅花鹿种鹿

GB/T 6936 东北马鹿种鹿

NY/T 1181 输精细管

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

电刺激采精 Electrical stimulation ejaculations

利用电刺激采精仪获得公鹿精液的方法。

4 技术流程

见图1。

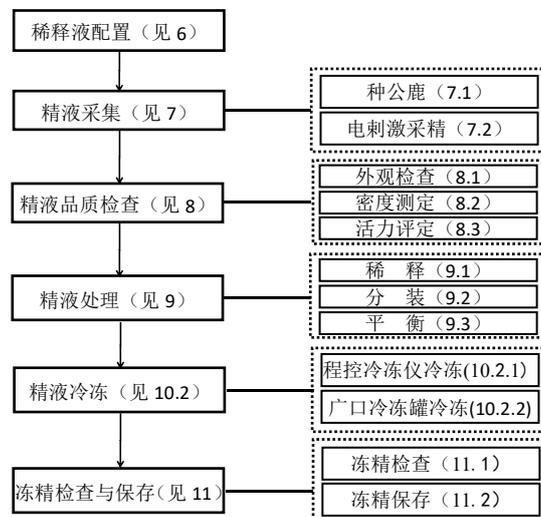


图1 鹿冷冻精液生产技术流程图

5 基本要求

5.1 仪器设备

5.1.1 配置应满足鹿冷冻精液生产的要求。

5.1.2 计量器械（如温度计、天平、量筒、移液器）、电刺激采精仪、精子密度测定仪、恒温箱、4℃冷藏箱、水浴锅、显微镜、恒温载物台、液氮罐等应按照规定时间进行检定或校准。

5.1.3 由操作人员按照相关使用说明书进行操作。

5.2 器具

5.2.1 应保持使用前后的清洁卫生，不同材质器具的清洗和消毒见附录 A。

5.2.2 采精前凡是接触精液的器具均应放在 32℃~37℃恒温箱中，稀释液放在 32℃~35℃恒温水浴锅中备用。

5.2.3 冷冻精液细管应符合 NY/T 1181 规定的要求，应做好标记见附录 B。

5.3 采精场所

应设在距公鹿圈较近处，宽敞、安静，地面清洁卫生。

6 稀释液配制

6.1 要求

所有化学试剂为分析纯以上；稀释液溶剂为超纯水。

6.2 卵黄的取用

鸡蛋应来源于无疫病的鸡场，且所用鸡蛋须新鲜、完整、干净，取卵黄前先用 75%酒精棉球对蛋壳表面进行消毒，待酒精挥发尽后用蛋清分离器取出完整的卵黄，也可在鸡蛋腰中线处敲开一裂纹，将鸡蛋一分两半，利用二个蛋壳交替倾倒，除去蛋清，留下卵黄，再放到滤纸上吸干剩余的卵黄，然后用灭菌的注射器穿过卵黄膜抽取卵黄。

6.3 稀释液的配方及配制

鹿冷冻精液稀释液的推荐配方及配制方法见附件 C。

7 精液采集

7.1 种公鹿

应符合 GB/T 6935 和 GB/T 6936 特级或一级的要求。

7.2 电刺激采精

7.2.1 公鹿处置

将采精公鹿保定，使鹿体呈侧卧姿势。排除宿粪，用剪毛剪剪短尿道口附近的长毛，用灭菌注射用水清洁尿道口部位并擦干，导出阴茎并用纱布将龟头下端阴茎缠绕住（不要过紧），使龟头露出，然后用灭菌纱布擦干阴茎及龟头。

7.2.3 采精方法

将电极棒均匀涂抹润滑剂，缓慢插入直肠 20 cm~ 30 cm处，使电极部位与直肠腹面接触；开启采精仪开关，由低向高调节电压，并在每档通、断交替刺激 5 次~ 10 次，每次通电 5 s~8 s，间断 3 s~5 s，当电压升至射精档位时，在该档继续交替刺激直至射精完毕，也可再升一档电压刺激，使其充分射精。用集精杯分段接取精液。

7.3 采精频率

成年公鹿采精间隔不少于一周。

8 鲜精品质检查

8.1 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（灰）白色或淡黄色，略有腥味。

8.2 密度测定

使用细胞计数法或精子密度测定仪进行测定。

8.3 活力评定

取精液 5 μ L~10 μ L 于载玻片上，加盖盖玻片后在 37 $^{\circ}$ C 恒温装置的相差显微镜上评定活力。

8.4 精液评价

外观正常、密度大于等于 1×10^9 个/mL、活力大于等于 70%、畸形率小于等于 15% 的精液方可进行后续处理。

9 精液处理

9.1 稀释

9.1.1 稀释液量

根据精液的密度、活力、采精量等确定应加稀释液量，稀释后精液密度应 $\geq 5.5 \times 10^7$ 个/mL。

9.1.2 稀释方法

将预加热的稀释液沿管壁缓慢加入精液中，并缓缓转动试管，以便混合均匀。

9.2 分装

放置 10 min 后，用 0.25 mL 细管灌封仪进行分装。每支细管含有效精子数不少于 1×10^7 个。

9.3 平衡

分装后的精液细管，用毛巾包裹 2 层~3 层后放入 4 ℃冷藏柜中平衡 4h。

10 精液冷冻

10.1 上架

平衡后的细管精液上架码放时应注意细管摆放的方向，把棉塞封口端靠近操作者，封口端远离操作者，入冷冻仪时亦应如此放置。两只鹿冷冻精液细管要隔开一些距离，以免混淆。

10.2 冷冻方法

10.2.1 程控冷冻仪冷冻

冷冻仪与低温平衡柜应尽量靠近，设置好最佳冷冻程序，严格按照冷冻仪的操作程序执行。

10.2.2 广口冷冻罐冷冻

使冷冻架与液氮面保持 2 cm~2.5 cm 的高度，冷冻温度控制在 -80 ℃~-120 ℃，8 min 后将冷冻架浸入液氮中。

11 冻精检查与保存

11.1 冻精检查

每批冻精抽样，在 37 ℃温水中解冻 20 s 后取出，擦干细管外水珠，剪去细管的超声波封口端，用专用推针把精液推入一小试管中，对精液进行活力检查，活力 \geq 30%的冻精作为初检合格品进行保存。

11.2 冻精保存

在液氮中将细管冻精分类装入冻精储存管中，使其棉塞端朝下，将冻精储存管放入包装袋中，贮存于符合 GB/T 5458 规定要求的液氮罐中，包装袋标签要求标记如下内容：生产单位、品种、种鹿号、采精日期、数量及解冻后精子活力。

12 证实方法

精液采集及冷冻生产应做好记录，记录内容见附录 D。

附 录 A

(规范性附录)

器具清洗消毒

A.1 玻璃器皿

玻璃器皿使用后或新购置的玻璃器皿，都要用自来水先浸泡。洗涤时，先在加有洗涤剂的温热溶液中进行刷拭，然后用蒸馏水冲洗，直至器皿光亮、无水滴附着为止。洗净的玻璃器皿用锡箔纸包好送入消毒灭菌设备（如电热干燥箱、消毒柜、红外线灭菌柜等）内，按操作说明书进行干燥，消毒，灭菌后待用。

A.2 采精棒

采精棒使用后，用水冲去表面污物，然后在加有洗涤剂的温热溶液中用长毛刷刷洗，并用清水冲洗干净，然后用 75%酒精棉球擦拭消毒，再用蒸馏水逐个冲洗。将洗净消毒的采精棒放在架子上，覆盖两层清洁纱布，晾干备用。

A.3 载玻片

检查精液质量时所使用的载玻片，用后应立即浸泡于水中，清洗后用柔软的布擦拭干净备用。

A.4 纱布

清洗干净经高压灭菌后待用。

A.5 其他器具

金属镊子、止血钳、药匙、胶木和吸管胶头等用 75%酒精擦拭消毒，待酒精挥发尽后方能使用。细管、冻精储存管、包装袋、冷冻架使用前用紫外线消毒 30 min。

附 录 B
(规范性附录)

鹿冷冻精液细管标记方法

B.1 细管冷冻精液标记由十七位数四部分组成，排列顺序如下：

- a) 第一部分：公鹿冷冻精液生产单位拼音缩写四位数。
- b) 第二部分：品种代号二位数。
- c) 第三部分：冻精生产日期六位数。
- d) 第四部分：公鹿号五位数。

第三部分冻精生产日期六位数按年月日顺序排列，年月日各占二位数，年度的后两位数组成年的二位数，月日不够二位的，月日前分别加“0”补充为二位数。第四部分公鹿号取该鹿号码的后五位数。部分与部分之间空二个汉字（四个字节），第一、第二部分用汉语拼音大写字母表示。标记的字迹必须清晰易认。

标记示例：

棉塞封口端	JLLM	SY	240916	09101	超声波封口端
-------	------	----	--------	-------	--------

JLLM为吉林利民养鹿场拼音缩写字母，SY为双阳梅花鹿的品种代号，240916为2024年9月16日的生产日期代号，09101为该公鹿号码。

表 A.1 部分种公鹿品种代号

公鹿品种	品种代号
吉林梅花鹿	JL
双阳梅花鹿	SY
敖东梅花鹿	AD
四平梅花鹿	SP
东丰梅花鹿	DF
西丰梅花鹿	XF
东大梅花鹿	DD
兴凯湖梅花鹿	XK
东北马鹿	DB
清原马鹿	QY
塔河马鹿	TH
伊河马鹿	YH
阿山马鹿	AS
肃南马鹿	SN
新西兰赤鹿	XX
敖鲁古雅驯鹿	AL

附 录 C

(资料性附录)

稀释液的配方与配制

C.1 稀释液配方

表 C.1 鹿冷冻精液稀释液推荐配方

成 分	含 量
三羟甲基氨基甲烷(Tris)	2.7 g
柠檬酸	1.53 g
葡萄糖	1 g
卵黄	20 mL
甘油	6 mL
青霉素	10 万 IU
链霉素	10 万 IU
超纯水	定容至 100 mL

C.2 稀释液配制

准确称取 Tris 2.7 g、柠檬酸 1.53 g、葡萄糖 1 g 倒入 100 mL 的量筒内，加超纯水 50 mL，用玻棒搅拌，然后加入卵黄 20 mL、甘油 6 mL，加超纯水定容至 100 mL，搅拌后倒入三角烧瓶中，加入青霉素、链霉素各 10 万 IU，封口，用磁力搅拌器搅拌 30 min 后放入 4 ℃ 的冰箱中待用，但放置时间不得超过 24 h。

附 录 D

种公鹿精液采集及冷冻记录表

表B.1 种公鹿精液采集及冷冻记录表

采精日期	采精人	采精批次	品种	鹿号	鲜 精				稀释总量 (mL)	稀后活力	冻前活力	生产数量 (支)	冻后活力	备注
					色泽	活力	密度 (10 ⁸ /mL)	采精量 (mL)						