

中华人民共和国农业行业标准

《鹿冷冻精液生产技术规程》  
(征求意见稿)

编制说明

《鹿冷冻精液生产技术规程》农业行业标准起草小组

2025年6月

## 一、工作简介

### （一）任务来源

2024年，农业农村部农产品质量安全监管局（《关于下达2024年农业国家和行业标准制修订项目计划的通知》（农质标函〔2024〕71号）），制定并下发了《鹿冷冻精液生产技术规程》行业标准的制定计划，项目计划号：NYB-24272。主要起草单位：XXX等。归口单位：全国畜牧业标准化技术委员会。首席专家：XXX。

### （二）制定背景

我国养鹿业历史悠久，鹿资源丰富，是世界主要养鹿国之一，目前人工饲养了梅花鹿、马鹿、驯鹿等5个亚种、9属、15种，150多万头，年产鹿茸超过500吨以上，约占世界贸易量的60%。鹿特色产业助力乡村振兴，符合《国务院关于促进乡村产业振兴的指导意见》（国发〔2019〕12号）的战略目标。随着鹿产业的发展，特别是2020年5月29日公布的《国家畜禽遗传资源目录》将梅花鹿、马鹿和驯鹿列为特种家畜，归为畜牧业部门管理，为加快鹿繁育速度给予了政策上的支持。

近几十年来，畜牧业生产已陆续走上了“向良种要产品”的发展道路，但是鹿的繁育技术发展缓慢，繁育体系不够完善，优良种群数量少，严重制约了鹿业的健康有序发展。为充分提高种鹿的繁殖效率，加速优良基因扩繁速度，提高鹿产品数量和质量，养殖户多通过人工输精改良种群，在提高优秀种公鹿的利用率、受胎率和繁殖效率，实现异地配种，扩大配种范围，保证养鹿业健康发展方面具有重要的意义。

冷冻精液的质量优劣关系到人工授精受胎率的高低，由于在精液采集、冷冻过程中操作不规范、无菌意识差，造成梅花鹿冷冻精液质量参差不齐、流通市场混乱，引起受胎率下降、流产、空怀等问题，导致梅花鹿养殖的经济效益受到严重的影响。鹿冷冻精液（产品）作为种畜禽遗传材料，其质量安全属于重点监管的产品，为提高优秀种公鹿遗传资源使用效率，规范鹿冷冻精液产品管理，推动鹿冷冻精液产品质量提升，特制定本标准。

### （三）起草单位及起草人员

标准制定立项时，明确了起草单位和起草人。本行业的科研单位、教学院校、推广部门、生产企业产学研三结合，通过技术上的合作、互补，形成一定的优势，不仅有利于标准制定的完成，而且能够共同推动标准的实施和推广。

#### 1. 起草单位

任务下达后，成立了标准制定小组，对项目全过程进行了分工，明确各自任务和职

责，以确保项目的顺利实施。起草单位及分工见表1。

表1 起草单位及分工

起草单位	分工
XXX	资料的收集与整理，技术参数的修订与验证，标准修订征求意见稿的发送、回收和整理，标准文本编制说明的编写，组织标准编写工作讨论、标准预审、标准申报等工作。
XXX	组织和协调标准修订及相关的试验验证
XXX	标准编写和修订的讨论、组织和参与部分试验验证
XXX	标准编写和修订的讨论、组织和参与部分试验验证
XXX	标准的编写和修订的讨论，相关的试验验证工作

## 2. 起草人员

各起草单位确定了起草人员,起草小组成员见表2。

表2 起草小组成员一览表

姓名	性别	工作单位	职务/职称	项目分工
XXX	男	XXX	副高	标准起草
XXX	男	XXX	正高	标准起草
XXX	男	XXX	副高	标准起草
XXX	男	XXX	正高	标准起草
XXX	男	XXX	副高	调研、验证
XXX	男	XXX	正高	调研、验证
XXX	男	XXX	中级	调研、验证
XXX	男	XXX	中级	调研、验证
XXX	男	XXX	场长/副高	试验验证
XXX	男	XXX	中级	试验验证
XXX	男	XXX	中级	试验验证
XXX	男	XXX	场长/中级	试验验证

## (四) 主要工作过程

### 1. 前期工作

XXX 在申请标准立项时，已着手进行了有关鹿冷冻精液操作规程方面的调研及国家和地方相关法律法规、规定、国家标准、行业标准、国际标准和国外先进标准查新工作。在大量收集、整理和分析国内外在该研究领域的有关技术资料，并按制定标准的要求进行分类整理的基础上，制订人员结合“梅花鹿优质高效繁育技术应用与推广”和“梅花鹿高效快繁关键技术示范与推广”成果及自动电刺激采精器专利相关数据，将最新研究结果及数据写入标准，为科学制定标准奠定了良好基础。

## 2. 起草阶段

2024 年 6 月~2024 年 10 月

起草人员认真查阅了标准制定的有关文件，通过参加标准宣贯培训，对标准的格式、内容、术语表达方式等进行了深入学习，严格遵循 GB/T1.1《标准化工作导则》所规定的标准编写要求和格式起草了《鹿冷冻精液生产技术规程》。起草小组成员对标准的草案进行了部分试验验证，进行了多次讨论修改，形成了征求意见稿。

### (三) 征求意见阶段

2024 年 11 月~2025 年 3 月

征求过程遵循民主性、代表性的原则，广泛向黑龙江八一农垦大学，陕西省动物研究所，辽宁省鹿业协会等 27 家来自黑龙江、吉林、辽宁、河北、山东、福建、内蒙古、安徽、浙江、新疆等省的生产、推广、科研、教学的单位有针对性地对标准定向征求意见。征求意见的单位见表 3，不同领域单位类型情况见表 4。

表 3 征求意见单位名单

序号	单位名称	是否回函
1	铜仁学院农林工程与规划学院	是
2	黑龙江八一农垦大学动物科技学院	是
3	吉林农业科技学院	是
4	青岛农业大学动物科技学院	是
5	河北科技师范学院动物科技学院	是
6	龙岩学院生命科学学院	是
7	沈阳农业大学动物科学与医学院	是
8	陕西省动物研究所	是
9	辽宁省鹿业协会	是
10	西丰县鹿业协会	是
11	农业部长白山野生生物资源重点野外科学观测试验站	是
12	大连海关技术中心	是

13	吉林省鹿产业公共服务平台管理中心	是
14	长春市天怡养殖场	是
15	吉林市昌邑区张宏梅花鹿养殖场	是
16	河北华夏新农科技股份有限公司	否
17	西丰县科羽鹿业养殖专业合作社	是
18	吉林省长双鹿业特产开发集团有限公司	是
19	新疆生产建设兵团三十四团农业发展服务中心	否
20	长春市双阳梅花鹿繁育中心	是
21	吉林省优质梅花鹿良种繁育场有限公司	是
22	青恋鹿鸣（浙江）生态科技有限公司	是
23	吉林省皓迪岳农业科技有限公司	是
24	靖宇县梅花鹿良繁中心鹿场	是
25	赤峰学院	是
26	内蒙古农业大学	否
27	东北农业大学	否

表 4 不同领域单位类型情况

序号	单位类型	单位数量	回函数量
1	教学机构	10	8
2	科研机构	2	2
3	技术推广机构	5	4
4	生产企业	10	9

收到 23 个单位 23 名专家的回函。回函中有建议或意见的有 23 个，共有意见或建议 67 条，经过研究和甄别，采纳 51 条，未采纳 15 条，部分采纳 1 条。根据专家的意见对标准进行了修改和完善，形成了《鹿冷冻精液生产技术规程》(预审稿)及相关材料，报全国畜牧业标准化技术委员会，申请预审。

#### （四）标准预审

2025 年 5 月 29 日

由项目第一完成单位 XXX 组织召开了农业行业标准《鹿冷冻精液生产技术规程》(预审稿)预审会，对《鹿冷冻精液生产技术规程》(预审稿)进行了认真审查。专家组由张嘉保、李光玉、李和平、田来明、魏佩玲、车利锋、贾赟和桂宝玉 8 位专家组成。

专家组听取了标准起草组的标准编制汇报，对标准预审稿进行了逐字逐句的评审和讨论，针对本标准提出了具体修改意见。项目组根据实际情况和专家组意见，全部采纳修改意见，在此过程中无重大分歧意见（预审会议审查意见汇总处理表附后）。项目组

按照审查委员会提出的修改意见，对标准进一步进行了修改和完善，并形成《鹿冷冻精液生产技术规程》公开征求意见稿，提交全国畜牧业标准化技术委员会秘书处。

## 二、标准编制原则、主要内容及其确定依据

### （一）标准编制原则

本标准制订以“一致性、适用性、采标配套和先进性”为基本原则，以保障鹿冷冻精液质量安全为目标，编制原则如下：

#### 1. 一致性原则

按照“制修订的标准应与国家现行的法律法规保持相对的高度协调性”的原则，本标准在制定过程中严格遵循《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》（GB/T 1.1-2020）和《标准编写规则 第6部分：规程标准》（GB/T 20001.6-2017）的要求。对标准结构、要素、试验方法和文字进行规范性编写。同时本标准与国家现行的法律法规保持了高度的一致。

#### 2. 适用性原则

按照“制修订的标准应适用于行业的发展和生产实际，为标准具有广泛的参考性和实用性奠定基础”的基本原则，在标准制定过程中，以行业发展计划、法律法规为依据、行业发展需求和科技发展为导向、行业调研与试验为基础、规范和指导鹿冷冻精液生产技术推广为目的，充分征求相关各方的意见建议，使标准内容力求完整准确，易于理解，并具有科学性、先进性和可行性。标准制定力求内容通俗易懂，便于生产操作，具有可操作性。

#### 3. 采标（引用）原则

在本标准制订过程中，参考了牛羊冷冻精液生产相关行业标准，并与这些标准保持高度协调一致。

#### 4. 配套性原则

标准的制定满足了鹿产业的配套性原则，并与现行的畜牧方面的标准、公告等形成了良好的协调配套。标准的制定立足我国鹿产业发展的需要、鹿精液冷冻技术的研究和应用现状，结合现有相关国家和行业标准及权威文献报道，不仅有利于冷冻精液生产技术的推广应用，还能引导鹿产业不断提升种鹿生产性能水平，提高种鹿的质量。

#### 5. 先进性原则

在本标准制订过程中，按照“先进、适用和可操作”的原则，参考试验研究数据和公开发表的学术研究报告中数据，结合规模化养殖企业的调研结果、相关文献报道、现行相关标准、相关部门及专家意见建议等，达到科学性与实用性的有机统一。

## （二）主要内容及其确定依据

### 1. 术语和定义

#### 标准内容

##### 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。

#### 确定依据

本术语和定义参考了：《经济动物繁殖学》（刘国世，中国农业大学出版社，2009）P38 电刺激采精法，《动物繁殖学》（王锋，中国农业大学出版社，2012）P158 电刺激法，《鹿生产与疾病学》（马丽娟，吉林科学技术出版社，1998）P163-164 电刺激采精法，结合生产实际定义了本术语。

### 2. 基本要求

#### 标准内容

##### 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 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。

#### 确定依据

器具的清洗和消毒参照《牛冷冻精液生产技术规程》（NY/T 1234-2018）中相关内容。经项目组实测成年鹿体温正常在 38℃ 左右，鹿的发情期在 9 月~12 月，此季节采集的精液温度正常保持在 32℃~35℃，因此器具和稀释液应保持与精液同等温度，防止精液温度突然变化造成死亡。

### 3. 稀释液

#### 标准内容

##### 6 稀释液配制

##### 6.3 稀释液配方与配制

鹿冷冻精液稀释液的推荐配方及配制方法见附件 C。

## 附录C 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

#### 确定依据

精液品质影响鹿的受胎率和仔鹿质量，精液的处理尤为重要。在养鹿生产中，为充分利用优秀公鹿的遗传作用，需要将其精液保存下来并最大限度地延长精子的存活时间和受精能力。鹿精液保存一般采用冷冻保存，冷冻保存是将新鲜精液经过含有抗冻保护剂的稀释液处理后，经冷冻处理后，投入液氮（-196℃）的超低温保存，该方法理论上可以使精液无限期保存。

项目组进行了鹿冷冻精液稀释液的筛选试验，准确称量各种药品(成分及用量见表6)，用超纯水将药品充分溶解后，用磁力搅拌器搅拌均匀，定容至 100mL，pH7.3~7.4，0.22 μm 滤膜过滤除菌，密封，4℃保存备用。

表 6 不同甘油浓度稀释液配方

成分	4%GLY	6%GLY	8%GLY
三羟甲基氨基甲烷(g)	2.5	2.7	2.9
葡萄糖(g)	1	1	1
柠檬酸(g)	1.43	1.53	1.63
卵黄(mL)	20	20	20
甘油(mL)	4	6	8
青霉素钠(万 IU)	10	10	10
硫酸链霉素(万 IU)	10	10	10

注:表中各物质含量为每 100mL 稀释液中的量

通过精液采集、稀释、平衡、冷冻、解冻后分析，结果如下表 7、表 8 和图 2。

表 7 不同浓度甘油对精子冻后各生理指标的影响

项目	4%GLY	6%GLY	8%GLY
精子活率	51.00±2.64 <sup>Bb</sup>	62.00±2.64 <sup>Aa</sup>	48.66±4.16 <sup>Bb</sup>
直线运动	36.00±3.00 <sup>Bb</sup>	44.00±3.00 <sup>Aa</sup>	36.80±2.77 <sup>ABb</sup>
质膜完整率	29.33±1.03 <sup>Bb</sup>	40.00±1.30 <sup>Aa</sup>	25.33±0.51 <sup>Bc</sup>
顶体完整率	39.66±2.88 <sup>Bb</sup>	59.50±3.79 <sup>Aa</sup>	34.66±2.08 <sup>Bb</sup>

注:同行无字母或数据肩标相同表示差异不显著(P>0.05), 不同小写字母表示差异显著(P<0.05), 不同大写字母表示差异极显著(P<0.01), 下表同。

表 8 不同浓度甘油对冻后精子运动参数的影响

项目	4%GLY	6%GLY	8%GLY
VSL(μm/s)	56.93±1.94	56.10±1.01	55.96±2.40
VCL(μm/s)	104.06±6.26 <sup>bc</sup>	116.86±3.52 <sup>ab</sup>	99.93±1.87 <sup>c</sup>
ALH(μm)	4.50±0.17	5.03±0.05	4.66±0.15
LIN(%)	55.33±1.52 <sup>Aa</sup>	49.66±1.52 <sup>Bb</sup>	55.33±1.15 <sup>Aa</sup>

注: VSL: 直线运动速度; VCL: 曲线运动速度; ALH: 头部侧摆振幅; LIN: 线性系数=VSL/VCL×100

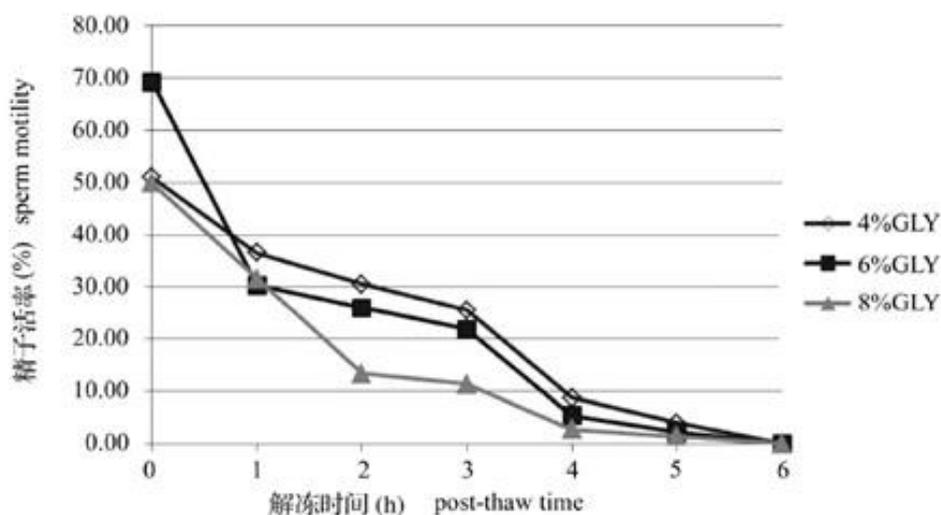


图 2 不同浓度甘油组冻后精子存活时间与活力变化趋势

结果表明, 6%甘油组更适于鹿精液冷冻保存, 其精子冻后活率、直线运动百分比、质膜完整率、顶体完整率、曲线运动速度均优于其他组。

#### 4. 采精

##### 标准内容

##### 7.1 种公鹿

应符合 GB/T 6935 和 GB/T 6936 特级或一级的要求。

##### 确定依据

《中国梅花鹿种鹿》(GB/T 6935)是关于梅花鹿的种鹿标准,《东北马鹿种鹿》(GB/T 6936)是关于东北马鹿的种鹿标准,目前只有这两个关于种鹿的标准,这两个标准中对种公鹿进行了分级,这个分级包括产茸性能和体重,这两个标准也是现行有效的,因此采精种公鹿应符合 GB/T 6935 和 GB/T 6936 的规定。

## 标准内容

### 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。

### 6.3 采精频率

成年公鹿采精间隔不少于一周。

## 确定依据

本标准的采精技术主要强调了电刺激采精,也可用假阴道采精,但假阴道采精仅适用于驯化程度比较高的鹿,在繁殖季节鹿野性普遍比较强,带有攻击性,尤其优良种公鹿野性更强,不适合假阴道方法采精。电刺激采精在鹿的采精方面是切实可行的,也是目前鹿采精的主要方法,其他方法仅是在探讨阶段,没有可操作性。电刺激采精技术成熟,可操作性强,易于推广。本标准电刺激采精方法及频率参考了:自动电刺激采精器专利(赵伟刚, z1201220327384.8),梅花鹿的电刺激采精及精液品质鉴定(佟敬宾, 2008),塔里木马鹿电刺激采精技术的研究(王潇等, 2010),梅花鹿半麻醉站立式电刺激采精(郭春林等, 1994),东北马鹿电刺激采精两种方法比较(李武等, 1990),天山马鹿清原品系人工授精技术及推广应用效果的研究(赵裕方等, 1998),马鹿人工授精技术的应用(赵世臻, 2001),《经济动物繁殖学》(刘国世, 中国农业大学出版社, 2009, P38),《动物繁殖学》(王锋, 中国农业大学出版社, 2012, P158-159),根据参考文献和征求意见确定了本标准电刺激采精方法和指标。

关于采精频率，由于鹿野性强，采精须进行麻醉，麻醉对鹿刺激性大，很难像牛每周3次，羊每天1-2次（《动物繁殖学》（王锋，中国农业大学出版社，2012）P159，结合生产实际定为隔一周采一次。

## 5. 精液处理

### 标准内容

#### 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 L~10 L于载玻片上，加盖盖玻片后在37℃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 $1 \times 10^9$ 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。

### 确定依据

在鹿的人工授精工作正确地评定精液品质是选择良种公鹿充分发挥其配种潜力及提高受胎率的重要步骤。自从20世纪30年代家畜人工授精在畜牧生产中发挥效能以来，已经发明了不少有效的评定精液质量的方法，但至今还没有一种单独的评定方法能够准确无误地预示某一精液样本的受精能力，只有采用综合的评定方法进行全面分析以确定其受精能力，目前确定的指标主要有采精量、精子密度、精子活力等。因此采精以后首先要对采精量、精子密度、精子活力等进行检查，这些指标达到要求以后，才能对精液做进一步处理，使其达到输精要求。《经济动物繁殖学》（刘国世，中国农业大学出版社，2009）P39鹿精液为乳白色或乳黄色，采精量梅花鹿1-2mL、马鹿2-5mL，精子活率0.6-0.8，密度10亿个/mL。本文件参考GB 20557、NY/T 3186、相关参考文献及部分采精结果见表9，表10，表11对鹿精液外观、精子活力、精子密度进行了规定，金穗华在《家畜精液检测技术要点与质量控制》一文中指出，目前主要是利用目测法进行精液检测（金穗华等.2014）。精液外观检测内容应符合本标准文件中7.1的要求。

表 9 东北梅花鹿电刺激采精结果

总采精次数 (次)	平均射精量 (mL)	精子平均活力	精液状况	精子密度 (亿/mL)
21	2.08±1.23	0.72±0.78	乳白、个别微黄	19.94±2.86
14	1.57±0.01	0.73±0.18	乳白、个别微黄	10.26±4.42
12	1.54±0.97	0.72±0.12	乳白、微腥	10.24±6.88

数据来源于课题组 (2011、2017、2019)。

王柏林等统计了辽宁省西丰县 4 年梅花鹿梅花鹿种公鹿采精结果见表 12。

表 10 1998 年~2001 梅花鹿采精结果统计

年度 (y)	采精次数 (次)	平均采精量 (mL)	精子活力	精子密度 (亿/mL)
1998	13	2.33	0.78	抽测 34 次精子密度 平均为 13.94 亿 / mL。
1999	27	2.04	0.74	
2000	28	2.14	0.79	
2001	56	2.04	0.79	

表 11 塔里木马鹿电刺激采精结果

公鹿号	采精量 (mL)	精液状况	精子活力	精子密度 (亿/mL)
75 号	1.4	无污染、乳白色	0.65	13.20
65 号	2.0	无污染、乳白色	0.50	11.00
35 号	2.2	污染、大量副性腺	0.40	13.66
16 号	1.6	无污染、乳白色	0.70	14.20
85 号	1.8	无污染、乳白色	0.70	16.52
3 号	1.7	无污染、乳白色	0.68	13.20
12 号	2.0	无污染、乳白色	0.54	13.56
23 号	--	--	--	--
15 号	2.1	污染、大量副性腺	0.42	14.66
14 号	1.0	无污染、乳白色	0.72	16.20
17 号	1.5	污染、大量副性腺	0.42	11.56
30 号	1.7	污染、大量副性腺	0.42	12.36
56 号	1.7	无污染、乳白色	0.70	17.00
27 号	2.0	无污染、乳白色	0.70	14.40
73 号	1.0	尿液污染	0.54	11.56
64 号	--	--	--	--
19 号	--	--	--	--
35 号	1.0	污染、大量副性腺	0.52	15.20
25 号	--	--	--	--

数据来源于王潇中国鹿业进展 (2010)。

表 12 天山马鹿电刺激采精结果

公鹿号	总采精次数 (次)	平均射精量 (mL)	精子平均活力	精子密度 (亿/mL)
39	12	2.56±1.23	0.85±0.12	11.25±1.95
79	8	3.50±1.30	0.86±0.09	15.65±1.85
83	12	3.50±1.21	0.81±0.10	8.25±1.73
25	8	3.00±1.05	0.80±0.09	9.45±1.86
53	12	4.50±2.20	0.85±0.08	11.05±2.11
11	25	2.71±1.61	0.82±0.09	14.18±2.43
33	45	2.64±1.07	0.87±0.05	12.90±3.08
23	80	2.41±1.23	0.85±0.07	12.51±2.96

数据来源于高庆华中国鹿业进展 (2010)。

根据试验结果和文献资料,本标准确定鹿的采精量 1-4mL; 精液色泽: 乳(灰)白色或淡黄色, 略有腥味; 活力:  $\geq 0.7$ ; 精子密度:  $\geq 10$  亿/mL。

### 标准内容

#### 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。每支细管含有有效精子数不少于  $1 \times 10^7$  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 °C 冷藏柜中平衡 4h。

### 确定依据

精液稀释、分装与平衡参考了《动物繁殖学》(王锋, 中国农业大学出版社, 2012, P174-175) 精液稀释、分装和平衡部分; 《鹿生产与疾病学》(马丽娟等, 1998) P165-166 精液的稀释与平衡部分以及高庆华《中国鹿业发展》(2010, 319~323) 马鹿细管冻精

的制备和应用，并根据专家提出的修改意见进行了微调。

稀释后精液密度是根据《鹿生产与疾病学》（马丽娟等，1998）P165-166 精液的稀释与平衡部分和《经济动物繁殖学》（刘国世，中国农业大学出版社，2009）P40 中描述每支细管含有效精子数 1000 万个，GB4143-2022 中 0.25mL 细管可装精液剂量 0.19mL，计算出每毫升精液含有效精子数应为  $1000 \text{ 万}/0.19=5263 \text{ 万}$ ，考虑到细管灌装的容差，因此将稀释后精液密度定为  $\geq 5.5 \times 10^7$  个/mL。

精液稀释后不要立即进行分装，应待精液与精子混合均匀后再进行分装。

精子冷冻前平衡可以使精子逐步调节细胞内离子浓度，使其适应稀释液渗透压，起到对精子预冷的作用。鹿科动物精液冷冻平衡时间一般为 2 h（soler, et al., 2005），也有的为 4 h（Nalley, et al., 2011）。但是目前没有关于鹿科动物不同平衡时间对精子冻后质量的研究。本项目组试验设计 2h、3h、4h 三个平衡时间，旨在研究不同平衡时间对梅花鹿精子冻后质量的影响，结果如下。

### 1.不同平衡时间对精子解冻后生理指标的影响

表 13 不同平衡时间对精子解冻后生理指标的影响

项目	平衡 2h	平衡 3h	平衡 4h
精子活率(%)	49.75±4.30 <sup>Bb</sup>	54.33±4.16 <sup>Bb</sup>	68.00±3.55 <sup>Aa</sup>
直线运动(%)	20.00±2.64 <sup>b</sup>	33.00±4.00 <sup>a</sup>	38.33±3.05 <sup>a</sup>
质膜完整率(%)	30.00±1.93 <sup>a</sup>	33.80±1.78 <sup>b</sup>	35.66±2.12 <sup>ab</sup>
顶体完整率(%)	33.16±4.79 <sup>Aa</sup>	30.66±1.03 <sup>Bc</sup>	38.83±2.04 <sup>Ab</sup>

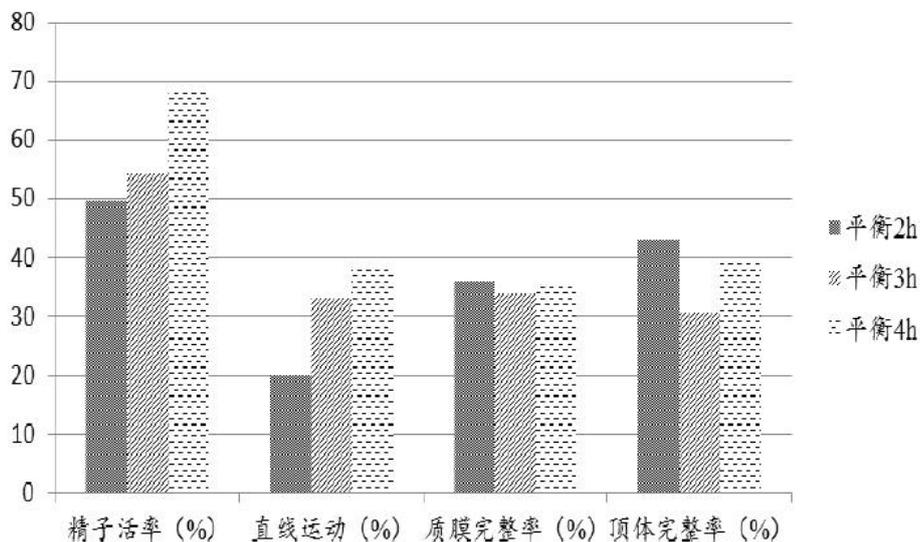


图 3 不同平衡时间精子解冻后生理指标的比较

2.不同平衡时间对精子解冻后运动参数的影响

表 14 不同平衡时间对精子解冻后运动参数的影响

项目	平衡 2h	平衡 3h	平衡 4h
VSL( $\mu\text{m/s}$ )	38.50 $\pm$ 3.09 <sup>Cc</sup>	58.42 $\pm$ 2.97 <sup>Bb</sup>	73.35 $\pm$ 3.97 <sup>Aa</sup>
VCL( $\mu\text{m/s}$ )	93.07 $\pm$ 7.74 <sup>Cc</sup>	117.72 $\pm$ 4.80 <sup>Bb</sup>	159.27 $\pm$ 3.31 <sup>Aa</sup>
ALH( $\mu\text{m}$ )	5.87 $\pm$ 0.40 <sup>Bb</sup>	5.55 $\pm$ 0.47 <sup>Bb</sup>	7.15 $\pm$ 0.10 <sup>Aa</sup>
LIN(%)	39.75 $\pm$ 3.50 <sup>Bb</sup>	48.00 $\pm$ 4.24 <sup>Aa</sup>	44.00 $\pm$ 1.82 <sup>AaBb</sup>

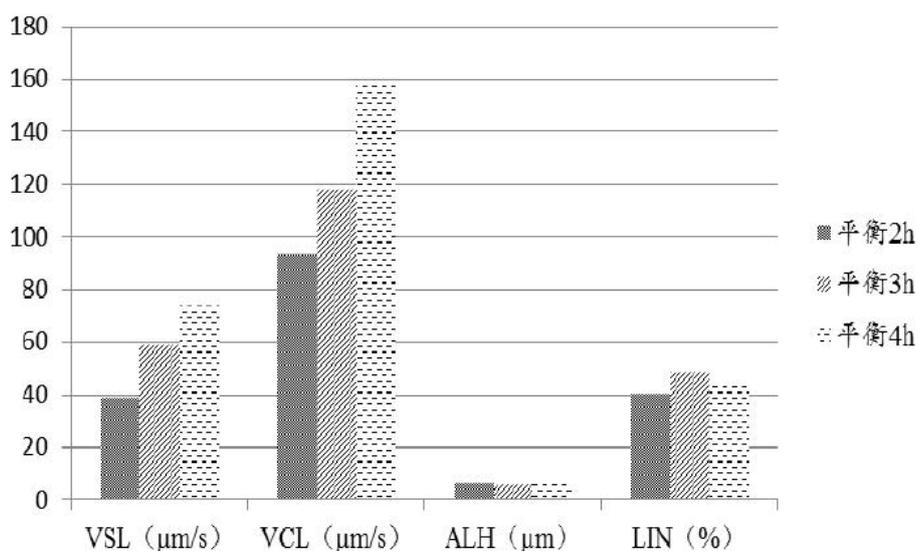


图 4 不同平衡时间精子解冻后运动参数的比较

3.不同平衡时间对精子解冻后存活时间的影响

表 15 不同平衡时间对精子解冻后存活时间与存活指数的影响

项目	平衡 2h	平衡 3h	平衡 4h
存活时间(h)	5.5	6.5	6.5
存活指数	157.23 $\pm$ 7.58 <sup>Bc</sup>	195.78 $\pm$ 1.54 <sup>Aa</sup>	181.88 $\pm$ 3.12 <sup>Ab</sup>

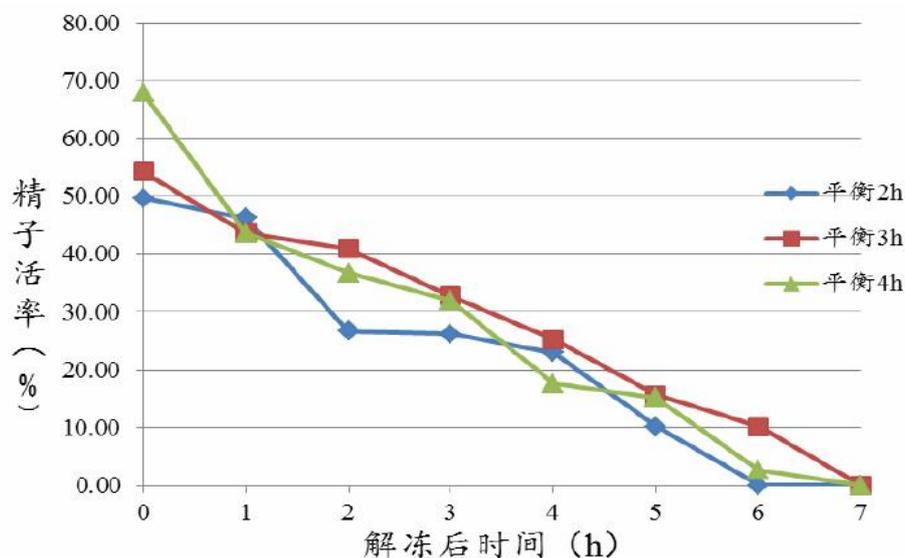


图5 不同平衡时间精子解冻后存活时间与存活指数的比较

目前关于鹿科动物精子冻前平衡时间的研究较少，常用的平衡时间为 2-5 h，2011 年以前，国外鹿科动物精液冻前平衡时间基本参照牛、羊，主要是 4℃平衡 2 h (Fernández-Santos, et al., 2007; Garcia-Macias, et al., 2006; Martí'nez-Pastor, et al., 2009; Soler & Estes, et al. 2005; Soler & Andre's, et al., 2003)，2011 年后有研究者采用 4 h 平衡，也取得较好效果 (Nalley 等, 2011)。本试验针对梅花鹿精液冻前平衡时间进行研究，得出平衡 4 h 组精子冻后活率、直线运动百分比、顶体完整率、VSL、VCL、存活时间和存活指数均显著高于平衡 2 h 组。平衡 2 h 组除顶体完整率显著高于平衡 4 h 组，其他指标数值均较低。影响精子受精能力的因素有很多，不仅需要完整的质膜和顶体，也需要较高的冻后活率与运动参数，综合分析随着平衡时间的增加，精子冻后各质量参数数值逐渐升高，综合考虑以 4℃平衡 4 h 精子冻后质量最好。

## 6. 精液冷冻

### 标准内容

#### 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。

### 确定依据

参考了《动物繁殖学》(王锋, 中国农业大学出版社, 2012) P172 冷冻保存原理和 P175 细管精液冷冻法部分。《鹿生产与疾病学》(马丽娟等, 1998) P166 细管冷冻法部分。在精液冷冻过程中，冰晶对精子危害大，而冰晶在温度-4℃~-60℃范围内缓慢降温条件下形成，因此为避免冰晶对精子造成伤害，应快速越过此段温度区间，同理解冻亦如此。因此细管距液氮面 2 cm~2.5 cm 的高度，冷冻温度在-80℃~-120℃，精液的温度在 5min 内快速下降至-60℃以下，冻后的复苏率才会有保证。

### 标准内容

#### 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≥30% 的冻精作为初检合格品进行保存。

### 确定依据

精子解冻过程中会重复冷冻过程中的一系列变化，比如冰晶的再形成，溶液离子浓

度的升高，细胞皱缩等。这些过程会加重对精子的物理及化学损伤，选择合适的解冻温度及速度可以适当降低冰晶再形成对精子造成的重复伤害。鹿科动物常用精液解冻方法为 37~38℃解冻 20 s—6 min (Esteso& Soler, et al., 2006; Esteso& Fernández-Santos, et al., 2009)，2003 年 Soler 等研究了 I(37℃, 20 s), II (60℃, 8 s)及 III (70℃, 5 s)三种解冻方法对赤鹿附睾精液冷冻保存效果的影响，并得出 37℃解冻 20 s 效果较好。

参照《经济动物繁殖学》(刘国世, 中国农业大学出版社, 2009) P40 冷冻精液的解冻及细管安装部分, “取冻精 1 支, 放入 (38±2)℃的水中, 8s 后取出。解冻后, 精液镜检, 活率大于 0.3, 每支含 1000 万个有效精子”。

项目组在此基础上设计 I 37℃, 20 s; II 40℃, 15 s; III 50℃, 10 s; IV 60℃, 8 s 四种方法, 结果如下。

### 1. 不同解冻方法对精子解冻后生理指标的影响

表 16 不同解冻方法对精子解冻后生理指标的影响

项目	37℃, 20 s	40℃, 15 s	50℃, 10 s	60℃, 8 s
精子活率(%)	50.33±3.78 <sup>AaBb</sup>	46.25±1.70 <sup>Bb</sup>	52.60±3.04 <sup>AaB</sup>	54.75±4.71 <sup>Aa</sup>
直线运动(%)	35.33±2.88 <sup>Aa</sup>	29.75±1.89 <sup>Bb</sup>	27.75±2.21 <sup>Bb</sup>	30.50±1.29 <sup>Bb</sup>
质膜完整率(%)	33.37±1.84 <sup>Aa</sup>	31.70±1.15 <sup>Aa</sup>	31.70±1.76 <sup>Aa</sup>	26.77±2.43 <sup>Bb</sup>
顶体完整率(%)	38.66±1.52 <sup>a</sup>	36.25±3.59 <sup>ab</sup>	36.66±2.51 <sup>ab</sup>	32.33±2.08 <sup>b</sup>

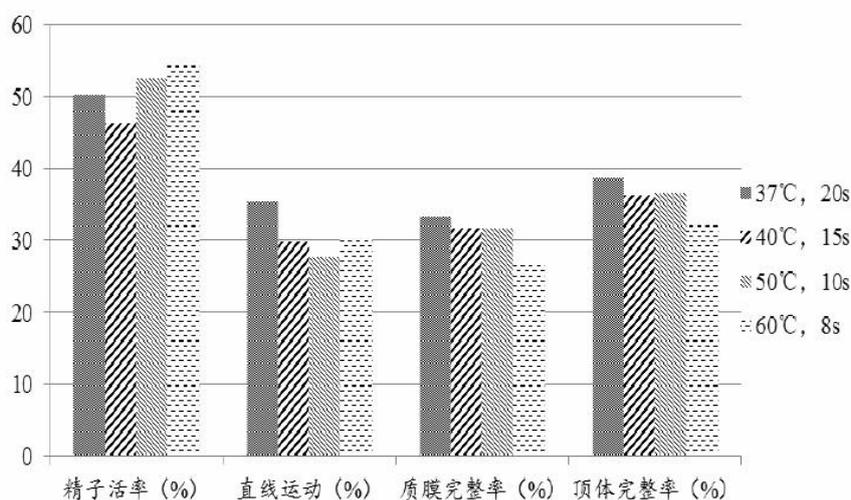


图 6 不同解冻方法精子解冻后生理指标的比较

### 2. 不同解冻方法对精子解冻后运动参数的影响

表 17 不同解冻方法对精子解冻后运动参数的影响

项目	37℃, 20 s	40℃, 15 s	50℃, 10 s	60℃, 8 s
VSL(μm/s)	80.33±7.92 <sup>a</sup>	72.02±7.32 <sup>ab</sup>	66.10±13.75 <sup>b</sup>	73.88±4.05 <sup>ab</sup>
VCL(μm/s)	151.60±9.55 <sup>a</sup>	131.80±9.70 <sup>b</sup>	132.33±11.23 <sup>b</sup>	146.36±6.46 <sup>ab</sup>

ALH( $\mu\text{m}$ )	6.33 $\pm$ 0.51	5.90 $\pm$ 0.14	6.06 $\pm$ 0.55	6.43 $\pm$ 0.40
LIN(%)	51.00 $\pm$ 4.00	51.25 $\pm$ 2.87	48.00 $\pm$ 7.81	48.16 $\pm$ 4.11

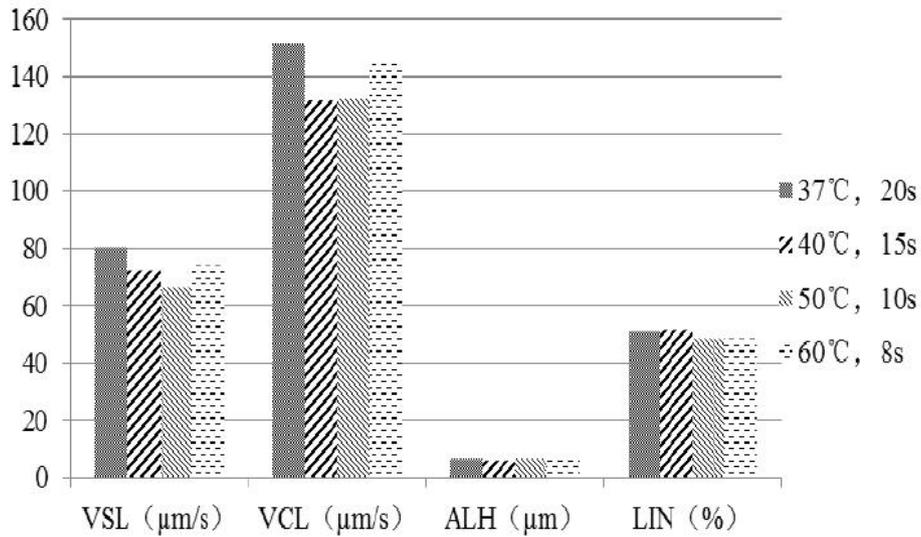


图 7 不同解冻方法精子解冻后运动参数的比较

### 3. 不同解冻方法对精子解冻后存活时间的影响

表 18 不同解冻方法对精子解后存活时间与存活指数的影响

项目	37°C, 20 s	40°C, 15 s	50°C, 10 s	60°C, 8 s
存活时间(h)	6.0	4.5	5.0	5.5
存活指数	159.80 $\pm$ 5.15 <sup>Aa</sup>	79.21 $\pm$ 4.20 <sup>Dd</sup>	90.58 $\pm$ 1.88 <sup>Cc</sup>	133.83 $\pm$ 3.48 <sup>Bb</sup>

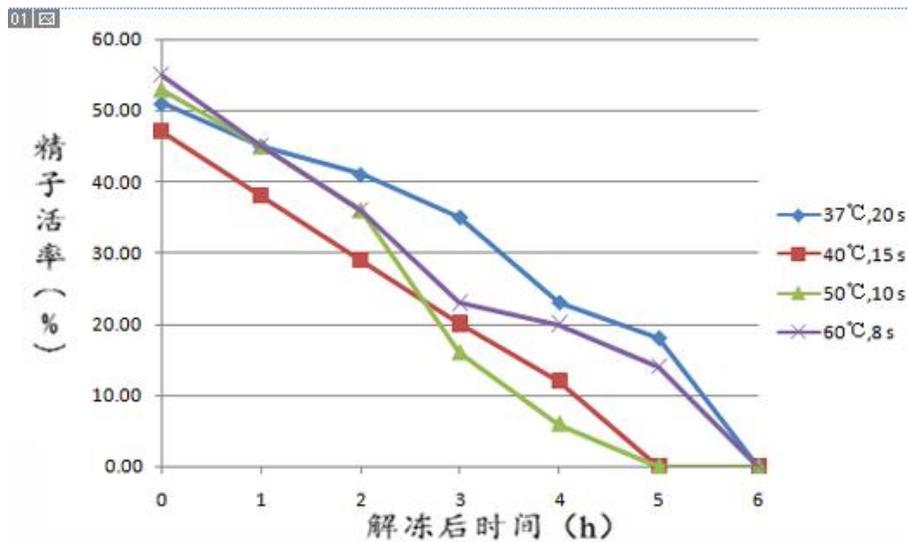


图 8 不同解冻方法精子解冻后存活时间与存活指数的比较

细管冻精常用水浴解冻,主要有低温冰水慢速解冻(0~5℃)、温水慢速解冻(30~40℃)、高温快速解冻(50~70℃)。生产实践中30~40℃解冻温度应用较广(王元兴等,1997)。目前鹿科动物精液解冻方法大部分为37-38℃解冻20s-6min(Esteso&Soler,etal.,2006;Esteso&Ferna'ndez-Santos,etal.,2009;Umapathy,etal.,2007;Zomborszky,etal.,2005)、65℃解冻6s(Marti'nez-Pastor&Anel,etal.,2006;Marti'nez-Pastor&Garcia-Macias,etal.,2005;Martinez-Pastor,Garcia-Macias&Alvarez,etal.,2006;Marti'nez-Pastor&Marti'nez等,2009;)。本试验设计四种解冻方法(I37℃,20s;II40℃,15s;III50℃,10s;IV60℃,8s),得出37℃和60℃解冻组对精子冻后活率、直线运动百分比、VSL、VCL的影响较好,但是60℃解冻组质膜完整率和顶体完整率不高,均低于40℃和50℃解冻组,这说明60℃快速解冻有利于提高精子冻后运动性能,但不能保证精子的膜完整性。本试验得出60℃解冻8s与37℃解冻20s组精子冻后存活指数较高。综合看来37℃下解冻20s效果最佳。

## 7. 附录 B

### 标准内容

#### 附录 B 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,年月日各占二位数字,年度的后两位数组成年度的二位数,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 B.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
阿山马鹿	AS
肃南马鹿	SN
塔河马鹿	TH
伊河马鹿	YH
新西兰赤鹿	XX
敖鲁古雅驯鹿	AY

### 确定依据

(1) 目前国内外养鹿业人工授精技术发展迅速，对冷冻精液需求日益增加，为满足当前生产、管理的需要，依据 GB/T20001.10 产品标准 6.9.2 要求，对精液细管的标记进行规范。

(2) 尽管畜禽品种代码只是为了用惟一的简短的标记来代替对品种名称冗长的文字表述，而事实上，在我国优良种畜的推广、畜禽遗传资源保护、畜禽良种繁育体系的建设中是一项不可缺少的基础内容。

(3) 《国家畜禽遗传资源品种名录（2024 年版）》公布的 16 个品种鹿，其中包括梅花鹿、马鹿和驯鹿。按照公鹿品种代码应遵循惟一性的原则，同时结合实生产中编码情况，根据其代码编制要求将目前已明确确定的 16 个品种鹿给出了一对一的编码（见上表 B.1）。

## 三、试验验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效益、社会效益和生态效益

### 1. 试验验证的分析与报告

为验证标准的技术内容，本标准中提及的技术规范已在吉林、黑龙江、辽宁、内蒙、新疆、山东等地的长春市双阳区博文鹿业良种繁殖有限公司、哈尔滨阿城区玉泉林生养鹿场、长春市东大鹿业有限公司和新疆昌吉市盛华商贸有限责任公司等养鹿场中进行

了现场试验和应用，试验结果表明按照本标准技术内容进行鹿精液采集及冷冻，冷冻精液的各项技术指标均超过了指标要求，进一步验证本标准技术内容的合理性。

## 2.预期的经济效益、社会效益和生态效益

标准的发布与实施，将推进我国鹿冷冻精液生产的标准化操作，推动冷冻精液产品质量提升，提高鹿冷冻精液市场的规范化水平，保护鹿冷冻精液经营者与使用者的合法权益。

标准的发布与实施，对于我国鹿业生产、品种改良、鹿群质量和生产水平的提高有着重要影响。同时可扩大精液供应范围，充分发挥优良种公鹿繁殖效率，加速优良基因扩繁速度，采用冷冻精液每只种公鹿产生 300 只后代将增加效益 90 万元，全国按照 400 只优良种公鹿计算，年增加经济效益 3.6 亿元。

## 四、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况

经查，国际和国外均没有此类标准，无需开展相关试验验证对比工作。

## 五、以国际标准为基础的起草情况，以及是否合规引用或者采用国际国外标准，并说明未采用国际标准的原因

起草小组经标准查新，确定国外没有可采用的“鹿冷冻精液生产技术规程”相关标准，因此，本标准不涉及国际标准。

## 六、与有关法律、行政法规及相关标准的关系

本标准制定符合《中华人民共和国畜牧法》、《中华人民共和国防疫法》、《种畜禽管理条例》等有关法律和法规文件的相关规定。本标准相关内容的规定与现行的法律法规相辅相成，没有冲突。

## 七、重大分歧意见的处理经过和依据

在制定行业标准的过程中起草单位广泛征求了意见，并经过多次多层面反复磋商，未出现重大分歧。

## 八、涉及专利的有关说明

经查，未识别到与本标准技术内容有关的专利。

## 九、实施农业行业标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期的建议等措施建议

建议本标准作为推荐性农业行业标准发布。该标准被批准后，建议各相关部门密切配合，在财力、人力和技术等方面予以支持，在鹿的养殖中积极推广实施。具体措施有：

### （一）技术措施

本标准涉及到鹿的精液采集→稀释、平衡→分装→冷冻→质量检测→入库，要求熟练掌握鹿的生物学特性、繁殖生理特点，能够正确判断鹿的发情时期，对采精、精液分装、平衡、冷冻及保存等技术能够熟练操作。要求操作者不仅具有一定的理论知识，还需要具有一定的操作技能，才能更好地实施本标准，达到预期效果。

### （二）管理措施

本标准在实施过程，需要标准起草人、行业主管部门以及生产企业共同遵守标准的要求。管理部门组织力量对相关技术人员及养殖人员进行宣贯，使其尽快掌握标准的技术内容，并在有关部门的监督下实施。

### （三）实施方案

1. 本标准由中华人民共和国农业农村部发布，由全国畜牧业标准化技术委员会负责实施和宣贯，设立咨询电话或网站，举办宣贯培训班，由标准制定和管理人员主讲。
2. 制作视频或印发手册等宣传材料进行广泛宣传。
3. 通过应用示范项目带动标准的实施。
4. 在实施过程中要严格执行标准的技术内容，确保标准的有效性。

## 十、其他应予说明的事项

本文件无其他应予说明的事项。

《鹿冷冻精液生产技术规程》行业标准编制小组

2025年4月

# 预审会议审查意见汇总处理表

标准名称: 鹿冷冻精液生产技术规程 共 2 页

标准项目承担单位: XXX 等

2025 年 5 月 29 日填写

序号	标准章条编号	意见内容	提出单位	处理意见	备注
1	封面	英文改为” Technical code of practice for deer frozen semen production”	专家组	采纳	
2	前言	“本文件由……种业管理司提出”应改为“本文件由中华人民共和国农业农村部畜牧兽医局提出”	专家组	采纳	
3	3	3.2, 3.3, 3.4 三节删除	专家组	采纳	
4	4	“采精前准备”改为“基本要求”	专家组	采纳	
5	4.1.2	删除本节	专家组	采纳	
6	4.2.1	增加“不同材质器具的清洗和消毒见附录A。”	专家组	采纳	
7	5.1	“化学纯”改为“分析纯”，删除“使用来源……新鲜鸡蛋”，删除“双重蒸馏水”	专家组	采纳	
8	5	增加“蛋黄的取用”节	专家组	采纳	
9	5.2, 5.3	将配方和配制放在附录中，配制方法重写	专家组	采纳	
10	6.2.1 6.2.2	将两节合并，删除“将采精公鹿保定用麻醉药物麻醉，呈全麻状态，”改为“将采精公鹿保定，使鹿体呈侧卧姿势。”	专家组	采纳	
11	6.2.3	删除“注意更换集精杯，避免混进副性腺液或尿液。采精后的公鹿注射解药使其苏醒。”	专家组	采纳	

12	7	改为“鲜精品质检查”	专家组	采纳	
13	7.2	本节删除	专家组	采纳	
14	7	增加“精液评价”节	专家组	采纳	
15	7.5	“稀释、灌装、平衡”改为“精液处理”，另起一章	专家组	采纳	
16	8	增加“上架”节	专家组	采纳	
17	8.1.1	改为“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。”	专家组	采纳	
18	8.3	标记修改为“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。”	专家组	采纳	
19	附录	增加“器具清洗和消毒”和“稀释液配方与配制”2个附录	专家组	采纳	
20	全文	标准文本中须补充技术流程图和证实方法	专家组	采纳	