

团 体 标 准

T/CAAA xxx-2024

驴鲜精稀释与冷藏保存技术规程

Code of practice for donkey semen dilution and refrigerate
storage techniques

(征求意见稿)

xxxx-xx-xx 发布

xxxx-xx-xx 实施

中国畜牧业协会 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”

本文件由中国畜牧业协会提出并归口。

本文件起草单位：东阿阿胶股份有限公司、中国农业大学、西北农林科技大学、山东东阿黑毛驴牧业科技有限公司、华润生物医药有限公司。

本文件主要起草人：李敏、嵇传良、于杰、程杰、王延涛、李楠、周祥山、郝向慧、刘海兵、曲洪磊、董博颖、冯玉龙、刘冰、陈永广、杨莉、姜桂苗、周广运、岳明明。

驴鲜精稀释与冷藏保存技术规程

1 范围

本文件确立了驴鲜精稀释与保存的程序，规定了驴采精、鲜精稀释、鲜精保存，描述了档案管理证实方法。。

本文件适用于驴鲜精的稀释与保存。

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 24877 德州驴

NT/T 3796 马驴冷冻精液

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件

3.1

冷藏温度 refrigerated temperature

0℃~5℃的保存温度。

3.2

台驴 teaser jenny

用于公驴采精的发情母驴或假台驴。

4 技术流程

驴鲜精稀释与保存技术流程包括采精、精液稀释、鲜精保存。驴精液稀释与保存技术流程见图 1

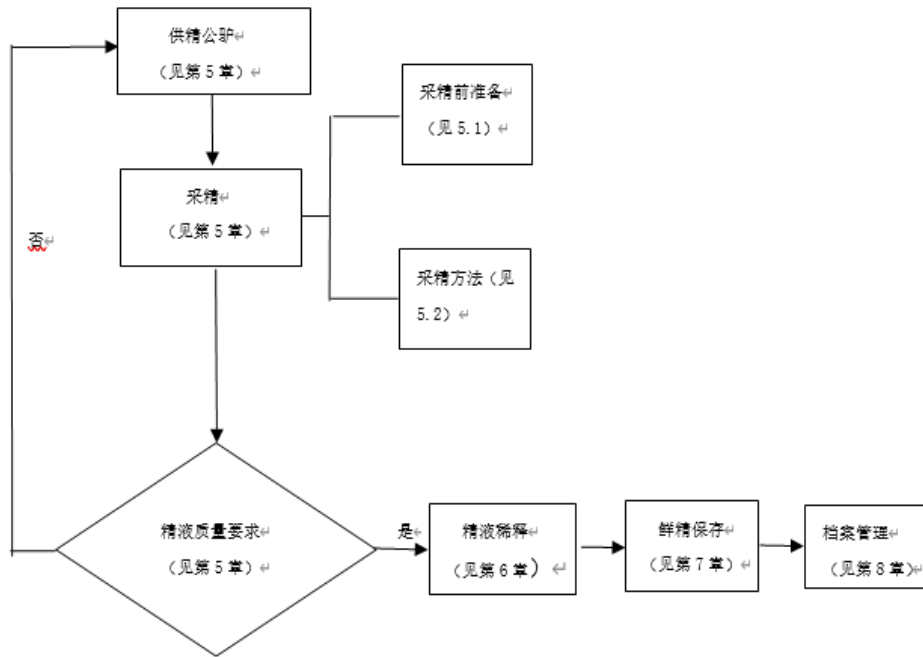


图 1 驴精液稀释与冷藏保存技术流程

5 采精前准备

5.1 环境

采精场地应洁净、宽敞、安静、通风良好，地面应平整、防滑，无阳光直射、无辐射，并设有安全防护栏。

5.2 采精公驴

应符合 GB/T 24877 一级的要求。

5.3 器具

5.3.1 器具在使用前做好清洗、烘干和消毒或使用一次性消毒制品。

5.3.2 量筒、漏斗、无菌纱布、集精杯、离心管预先加热到 37℃。

5.3.3 水浴锅预热至 37℃，恒温箱预热至 22℃，显微镜恒温板预热至 37℃~38℃。

6 采精

6.1 频率

每周可采精 3~5 次。

6.2 方法

将公驴牵到台驴处，阻止其爬跨，使阴茎充分勃起后，用 35℃~38℃温水清洗阴茎、龟头并用纸巾擦干。采精员一手持假阴道，站在公驴右前侧，待公驴爬跨台驴时，另一只手迅速将阴茎引入假阴道中，公驴阴茎抽动并贴紧台驴臀部，尾根有节奏摆动即开始射精。完成射精后，公驴随即而下，采精员手紧握假阴道，随公驴阴茎而下，待公驴前肢落地时，缓慢将假阴道脱出并立即抬起假阴道外口端，打开气卡放气，使精液流入集精杯。取下集精杯并迅速转移至精液处理室。

6.3 精液品质检查

6.3.1 外观和精液量

用 4~6 层的无菌纱布或专用滤纸过滤精液至量筒或量杯中，测量体积并进行外观检测，精液呈乳（灰）白色或淡黄色，无异物，淡腥味。

6.3.2 精子密度

6.3.2.1 方法

用血细胞计数法测定或用显微镜目测评定，也可用精子密度仪测定，单位为个/毫升，结果保留 1 位小数。

6.3.2.1 要求

$\geq 1.0 \times 10^8$ 个/毫升。

6.3.3 精子活力

6.3.3.1 方法

用精子分析仪直接测定或用显微镜目测评定。

6.3.3.2 要求

$\geq 70\%$ 。

7 精液稀释

7.1 稀释液配制

稀释液推荐配方及配制方法见附录 A

配制好的稀释液置于 4℃冰箱中备用，存放时间不宜超过 7 d。

7.2 稀释液用量

稀释液用量按公式（1）计算，结果保留 2 位小数。

$$N = \frac{V \times M \times D_1 \times 80\%}{D_2} + 2V \dots\dots\dots (1)$$

式中：

N—代表稀释液用量，单位为 mL；

V—代表射精量，单位为 mL；

D₁—代表原精密度，单位亿/毫升；

D₂—代表稀释密度，单位为亿/毫升；

M—代表精子活力，单位为%；

80%—离心回收率。

7.3 方法

7.3.1 离心去精清

将离心用稀释液 37℃水浴 1 h，在无菌洁净的环境中把过滤的原精液移入离心管中，将离心用稀释液与原精液进行 1~2 倍稀释，用手轻轻缓慢摇匀使精液与稀释液充分混合后放入 22℃恒温箱平衡 10 min，然后用 1850 rpm/min，离心 15 min，去掉上清液，保留离心管底部的精子沉淀物。

7.3.2 稀释

将稀释液在 22℃恒温箱中恒温 1 h 或恢复至室温，再缓慢加入去除上清的离心管中轻轻摇匀，稀

释精子至每毫升有效精子数约 6.7×10^7 个。

7.4 精液分装与保存

在 $20^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$ 条件下，按照输精剂量对稀释后的精液进行分装，稀释后的精液用 8~10 层纱布包裹，置于 4°C 恒温箱中存放，每间隔 8 h 将精液轻摇，抽样检查精子活力。

7.5 质量要求

7.5.1 精子活力

$\geq 70\%$,

7.5.2 有效精子数

$\geq 6.7 \times 10^7$ 个/毫升。

7.5.3 畸形率

$\leq 20\%$ 。

7.5.4 菌落数

应符合 NT/T 3796 的要求。

7.5.5 输精时精子活力

不应低于 45% 。

8 档案管理

记录供精公驴号、精液活力、畸形率、鲜精保存时间等。具体内容见附录 B，附录 C。记录应完整、准确、真实。

附录 A
(资料性)

稀释液推荐配方及配制方法

A. 1 稀释液推荐配方及配制方法见表A.1

表A.1 驴稀释液推荐配方及配制方法

配方成分 (浓度)	用量/100 mL	配置方法
蒸馏水	100 mL	先取 50 mL 无菌蒸馏水在容量瓶中充分溶解葡萄糖、乳糖、棉子糖、柠檬酸三钠、一水柠檬酸钾, HEPES、脱脂奶粉, 然后用压力蒸汽灭菌器 115°C 灭菌 3~5 min, 待冷却后再用灭菌蒸馏水加至 100 mL, 最后加入青霉素、链霉素搅拌 30 min, 调节 PH 至 6.8 后封口备用。
葡萄糖	3 g	
乳糖	0.15 g	
棉子糖	0.15 g	
柠檬酸钠三钠	0.03 g	
柠檬酸钾, 一水	0.041 g	
HEPES	0.467 g	
脱脂奶粉	3 g	
青霉素	10 万 IU	
链霉素	10 万 IU	
备注	所用试剂分析纯及以上	

附录 B
(资料性)
驴鲜精保存期记录表

B. 1 驴鲜精保存期记录表见表B. 1

表B. 1 驴鲜精保存期记录表

项目	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h	60 h	72 h
精子活力							
畸形率							

注：畸形率为畸形精子占精子总数的百分比。

附录C
(资料性)
稀释鲜精标记卡

C. 1 稀释鲜精标记卡见表C. 1

表C. 1 驴稀释鲜精标记卡

项目				
供精单位				
生产日期				
品种				
公驴号				
预配头份				
每头剂量/ mL				
有效精子数/个				
畸形率/%				
保存第一天	活力/%			
	摇动时间/秒			
保存第二天	活力/%			
	摇动时间/秒			
保存第三天	活力/%			
	摇动时间/秒			
备注				