

国家强制性标准《种猪常温精液》（GB 23238-2009）修订 编制说明（征求意见稿）

一、工作简介

1.标准的修订背景与任务来源

《种猪常温精液》（GB 23238-2009）自 2009 年 5 月实施至今已十余年，为促进我国种猪常温精液生产经营行为的标准化、规范化发挥了积极的推动作用，为种猪常温精液产品质量抽检、生猪良种补贴项目实施以及生猪人工授精技术的推广普及提供了有力的技术支撑，我国猪的人工授精覆盖率大幅提高，很大程度上节省了公猪饲养量和减少了疾病传播风险。随着技术和产业发展，该标准的技术要求、检测方法与行业的发展和计划存在不协调的现象，如《全国生猪遗传改良计划（2009-2020）》、《全国生猪生产发展规划（2016-2020）》等，特别是前向运动精子数、输精方式和检测方法有待改进，其修订意义主要表现在以下三个方面：

1) 标准的技术要求严重滞后，亟待改进。部分大型公猪站已经大胆尝试了深部输精、低密度前向运动精子数等新技术在生产中的应用，效果显著，对原标准技术要求的适用性提出了挑战。标准的修订对进一步减少公猪饲养量，提高良种覆盖率具有重要意义，初步测算，我国约有 50 万头种公猪，如修改标准将减少我国种公猪饲养量约 10 万头和 30%的稀释剂使用量，新标准的推广应用每年将节约粮食约 10 万吨（种公猪头均年消耗饲料量为 1 吨），并相应减少了场地、环保和人工水电的开支，预计直接节约 10 亿元，如果因提升种猪质量影响商品猪出栏天数按减少 1 天增效来计算，全国年生猪产量约 7 亿头，则可创社会增效价值约 70 亿元；

2) 检测方法相对滞后，亟待改进。由于科技的发展，精子质量分析仪（CASA 系统）已经为多数中大型公猪站所接受，具有快速、准确、重复性好的特点，特别是活力的检测，原标准方法采用的是人工目测读取精子活力的数值，检验员需要经过多年训练才具备这个能力，而在实际生产中标准使用人员变动频繁，判定标准各异，人为误差较大，进而严重影响前向运动精子数的准确性，对标准的先进性和科学性提出了挑战，亟待改进。原标准对精子畸形率采用的是姬姆萨染色法，特别是需要使用中性福尔马林固定，该试剂属于管制试剂，对人体健康和环境有害，而且该检测方法操作时间长，影响检测效率。研究表明精子畸形率严重影响产仔数和受胎率，其方法亟待改进，特别是快速检测方法需要补充更新。

3) 编制格式与文字表述不严谨, 亟待修订。例如, 原标准的技术要求中包括了对种公猪及其原精液的质量要求, 不符合 GB/T 20001.10-2014 对产品质量要求证实性原则的规定, 其抽样方法也与种猪常温精液的生产实际不符, 此类及其文字描述不严谨的地方多处出现, 且与现行的标准及其法律法规也存在不符的问题, 亟需调整修订。

该标准是我国生猪行业最重要的、影响力最广泛的国家强制性标准, 其修订意义重大, 时间紧迫。为此, 2017 年全国畜牧总站联合华中农业大学等单位申请了国家标准《种猪常温精液 GB 23238-2009》的修订任务, 并同时开展了有关预研工作。2018 年 12 月, 国家标准委员会以国标委发[2018]82 号文件批复立项, 项目编号 20183388-Q-326。

2.起草人员、单位及分工

2.1 起草小组成员

标准修订任务下达后成立了以杨红杰为首席专家的标准修订小组, 主要成员包括: 刘望宏、邱小田、倪德斌、张守全、刘小红、孙志华、张振。

2.2 起草单位与分工

序号	单位名称	分工
1	全国畜牧总站	负责组织和编写标准文本, 协调参数验证单位和征求意见, 组织预审会及专家论证等
2	华中农业大学、农业农村部种猪质量监督检验测试中心(武汉)	负责标准技术资料的收集, 技术参数的修订和验证, 征求意见的收集整理, 标准文本及编制说明的起草
3	中山大学	负责标准的修改和编写讨论, 组织或参与部分单位征求意见
4	华南农业大学	负责标准的修改和编写讨论, 组织或参与部分单位征求意见

3.主要工作(起草)过程

3.1 预研阶段

2017 年 12 月~2018 年 1 月, 农业农村部种猪质量监督检验测试中心(武汉)(以下简称“武汉种猪质检中心”)受全国畜牧总站立项委托, 针对我国常规输精、深部输精的剂量和前向运动精子数制定了详细的试验方案, 分别在广西扬翔股份有限公司、上海祥欣畜禽有限公司和湖北金林原种畜牧有限公司开展了相关生产试验。试验结果表明, 常温输精剂量应该保持不变, 而前向运动精子数可以下调而不影响产仔数。随后武汉种猪质检中心、南京牛冻精质检中心等实验室开展了精液密度、精子活力关系的研究, 确定了种猪常温精液的精液密度范围。

2018 年 3 月~2018 年 5 月, 在前期试验的基础上, 为进一步了解不同精液密度对精液的保存时间、活力的影响, 同时使用了法国 IMV 与德国 minitube 两台设备进行精子

活力检测。

2018年6月~2018年12月，全国畜牧总站组织了人工授精调研工作。在调研和收集各场生产试验数据后进行了分析，确定了“剂量”和“前向运动精子数”的技术要求，认为常规输精的剂量为80mL，最低要求18亿的前向运动精子数是可行的，深部输精条件下60mL和12亿的前向运动精子数是可行的，地方猪种作为受体，其输精量和前向运动精子数保持不变。

3.2 起草阶段

2019年1月~3月，自2018年12月项目立项以后，在全国畜牧总站的组织下，起草单位积极开展了前期准备工作。在查询有关国内外技术资料的基础上，根据当前的技术发展和市场情况，形成标准修订方案和设置任务分工，重点确定标准修订技术内容，比如输精量，深部输精，检测精子活力和前向运动精子数的方法问题（包括参数的变化所开展的工作，针对指标开展的批次试验，会议论证等），以及畸形率的染色方法等。

2019年4月，在北京全国畜牧总站5楼会议室启动标准编写工作，会议重点讨论编写方案内容、重要技术内容和修订原则，进一步明确了修订格式要求、内容和注意事项。

2019年5月，针对剂量检测方法，武汉种猪质检中心开展了量筒测量精液剂量和电子台秤称量精液质量的比对试验。试验结果表明，使用量筒在操作过程中对精子损伤较大，不利于其他项目的检测，精液产品的包装中还有一定残留，使检测结果偏小，且量筒测量是人工读数，也存在一定误差。采用电子台秤称取精液的质量，测量结果误差小且十分稳定。因此，使用称量的方法代替量筒检测的方法检测精液产品剂量是科学可行的。对精子活力检测方法开展比对试验，试验结果表明，参与比对的多名人员人工目测结果误差很大，而精子质量分析仪可快速获得稳定的检测结果，且每个平行样多个视野的读数重复性好，经与质检中心检验员目测活力数值的比对，差异不显著；通过设置统一的仪器参数，仪器之间的精子活力检测结果差异不显著。

2019年6月，开展“精子畸形率”姬姆萨染色法的染色时间梯度试验，比较染色效果，结果显示染色15-30min精子形态的观察效果最佳，并可长期保存；开展用姬姆萨、考马斯亮蓝、伊红、伊红苯胺黑与精液混合等4种方法直接抹片进行染色效果比对试验，结果表明，伊红苯胺黑直接抹片染色后，呈现双色，可识别活死精子，精子尾部直，精子形态的观察效果最佳，因此，伊红苯胺黑快速染色法可用于精子畸形率的检测。

2019年7月，原标准中除了规定取样剂量外，对如何取样、预热时间等均未作出明确的规定，实际操作中千差万别。为此，起草单位制定试验方案，对样品摇匀时间、取

样液面高度、预热时间等开展了系列改进试验。试验结果表明，样品摇匀时间应为“2 min ~ 3 min”，取样深度应为“伸入液面下 1.5 cm ~ 2.0 cm 处”，样品点样后的预热时间应为“1 min ~ 3 min”，并在此基础上统一制定了仪器比对的取样方法，减少了人为误差对检测结果的影响。

2019 年 8 月，武汉种猪质检中心参加了由全国畜牧标委会组织的标准制修订培训班，学习文本格式和表述，再次规范和修改了标准内容，并提交给其他起草单位进行修改。

2019 年 7 月~10 月，武汉种猪质检中心收集有关验证单位的资料进行统计分析，确定输精的精液剂量和前向运动精子总数，并修改标准草案，制定并优化了仪器法比对的试验方案。

2019 年 11 月，起草小组组织了由国内外 5 家公司组成的仪器比对人员和设备，在武汉中心实验室开展了精子活力和前向运动精子数的仪器法比对和人员比对，其中前向运动精子数仪器法检测快速，准确、高效，仪器重复性好，分析数据，讨论增加了“前向运动精子数”精子质量分析仪检测法。

2020 年 1 月~6 月，起草小组进一步修改并完善“精子畸形率”中“考马斯亮蓝染色”试验，试验证明考马斯亮蓝染色剂背景颜色较深，不利于畸形率的检测。

2020 年 6 月，全国畜牧总站召开“种猪常温精液检测方法研讨会”视频会议，汇报标准修订进展并听取相关专家修改意见，整理了各专家意见并做了相应处理。

2020 年 7 月，起草单位及时按照专家意见补充开展了“精子畸形率”中“迪夫快速染色”实验，实验结果证明其染色方法比较复杂，有两次风干时间，周期相对较长，而且在猪常温精液的条件下背景色较浅，精子着色效果不佳，不利于精子畸形率的观察。

2020 年 8 月，全国畜牧总站组织起草单位在武汉种猪质检中心召开了征求意见稿的定稿工作会议，对标准文本内容逐项修改，并按照全国畜牧总站质量标准与认证处专家的指导意见对强制性国家标准的编制说明进行了修订。

二、编制原则，强制性国家标准主要技术要求的依据（验证报告、统计数据等）及理由：

1. 修订原则：

1.1 规范性原则

以 2020 年 1 月 6 日颁布的《强制性国家标准管理办法》为要求开展标准的编制工作。起草单位严格按照 GB/T 1.1-2020 给出的规则，以及 GB/T 20001.10-2014、GB/T 20001.4 -2015、GB/T20001.1 -2001 的规定，对标准的结构、要素和文字描述进行修订。

1.2 科学性、适用性和可操作性原则

在标准修订过程中，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，“行业调研与验证试验”为基础，根据标准的可操作性，删除了原精液和种公猪的要求，重点梳理修订种猪常温精液的质量要求。在强化“常温精液”产品质量的基础上，检测方法由主观评定提升到“客观评判”的仪器检测方法，力争使本标准给出的产品质量限定值及其检测方法具有科学性、适用性和可操作性。

1.3 行业通用性原则

标准的制修订必须满足生猪产业的“通用性原则”。标准适用于常温精液生产经营、依法监管和行业发展的需要，符合生猪产业“通用性原则”，不仅利于猪人工授精技术的推广应用，还能引导行业不断提升种猪性能水平，提高种猪常温精液产品的质量。

2. 主要技术内容修订依据及理由

2.1 新增了“种猪”、“精液密度”、“批次”、“保质期”和“混合精液”的定义

理由：

为便于要求公猪质量的可靠性，在3术语和定义中，增加了“种猪”的定义，为了规范种猪常温精液的检测过程，确保种猪常温精液质量符合技术要求，增加了“精液密度”“批次”、“保质期”和“混合精液”的定义。

增加依据：

批次：根据《食品质量安全市场准入审查通则（2010版）》对食品批次的定义：比较正规、严格的生产批次的确定：同一次投料、同一条生产线、同一班次生产的同种产品。本标准引用并结合种猪常温精液生产的特点修改为“同一生产线、同一时间稀释分装生产的一批常温精液产品。”

保质期：根据《食品保质期通用指南》对食品保质期的定义：食品在既定的温度、湿度、光照等贮存环境参数下保持品质的期限。本标准引用并结合常温精液修改为“自产品生产之时起，在满足种猪常温精液产品规定的保存和运输条件下，其产品符合质量要求的最长时期。”

种猪(种公猪)：根据《种猪术语》对种公猪定义：用于配种繁殖后代的公猪。本标准引用并结合种用的要求修改为“体型外貌和性能质量符合本品种标准要求且具有种用价值的公猪”。

混合精液：根据刘志平等（2003）对猪的混合精液进行了描述，其定义为“混合精液是由不同雄性个体的精子组成的精液”。本标准结合当前生产混合精液的生产方式将

其定义为“同一品种两头及以上种猪的常温精液混合产品”。

2.2 删除了 2009 版标准中关于种猪及其原精液质量要求

原标准内容：

4.1 原精液

4.1.1 来源

来源于具有种用价值，体型外貌和生产性能符合种用要求，三代系谱资料齐全，体质健康的种猪。

4.1.2 外观

乳白色，无浓性分泌物，无皮毛等异物。

4.1.3 采精量

≥100 mL。

4.1.4 精液密度

≥1 亿/mL。

4.1.5 精子活力

≥70 %。

4.1.6 精子畸形率

≤20%。

理由：

本标准是针对种猪常温精液产品标准，实际工作中，除生产单位以外，其他应用单位均无法对种公猪和原精液的质量要求进行检测，因此予以删除。

修订（删除）依据：

依据 GBT 20001.10-2014 产品标准编写要求中的 4.2.6 规定，产品类型的标准应该满足产品证实性原则而进行编写，显然本标准采用过程中，除生产型企业外多数应用单位对种公猪和原精液的技术要求进行检测是无法满足的。

2.3 修订了剂量与每剂量中前向运动精子数的质量要求

原标准内容：

4.2.2 剂量

地方品种 40 mL ~ 50 mL，其他 80 mL ~ 100 mL。

4.2.4 每剂量中直线前进运动精子数

地方品种 ≥ 10 亿，其他 ≥ 25 亿。

修订后标准内容：

本标准修订的剂量及每剂量中前向运动精子数的技术要求如下表 1。并将“每剂量中直线前进运动精子数”的术语名称做了修改，定义为“前向运动精子数”（见 3.4）。

表 1 种猪常温精液质量要求

项目	受体为引入品种、培育品种		受体为地方品种
	常规输精	深部输精	
剂量, mL	≥ 80.0	60.0	40.0
前向运动精子数, 10 ⁸ 个/剂	≥ 18.0	12.0	10.0

理由:

根据当前国内外养猪技术的发展要求,原标准对种猪常温精液的质量要求已经不能满足当前生产的需要,故而需对不同的受体、人工受精方式与输精剂量进行细化。

修订依据:

养猪发达国家确定常温精液产品剂量的唯一原则,就是保持产品剂量与一次性输精量的一致,以避免外界温度变化给常温精液产品带来的不利影响。世界各国进行母猪常规输精时每次输入发情母猪体内的输精量和总精子数各异,见表2。

表2 世界各国每次输入发情母猪的总精子和输精量

国家	稀释液种类	输精量(mL)	总精子数(亿/剂)
巴西	KIEV、BTS	80-100	25-35
加拿大	BLI、BTS、Modena	70	25-30
丹麦	KIEV	85	20
法国	BTS	100	30
荷兰	BTS	80-100	30-40
挪威	BTS	100	20
西班牙	MR-A	100	23-60
瑞典	KIEV	100	30
英国	BTS、Reading、SCK-7、ZORPVA	75	10-30
德国	BTS、KIEV	80-100	25
美国	KIEV、BTS、Modena	80-100	30-35
芬兰	KIEV、MR-A	100	20-50

由表2可知,不同国家母猪常规输精时的输精量和总精子数存在较大差异,输精量小的70 mL,大的100 mL,总精子数多的50亿,少的仅10亿。若按精子活力60%计算,加拿大的输精量为70 mL、总精子数25亿/剂~30亿/剂、前向运动精子数为15亿~18亿,丹麦为85 mL、总精子数20亿/剂、前向运动精子数为12亿,英国为75 mL、总精子数10亿/剂~30亿/剂、前向运动精子数为6亿~18亿,美国80 mL~100 mL、总精子数30亿/剂~35亿/剂、前向运动精子数18亿~21亿。

针对输精受体的问题,现行标准中的产品剂量、每剂量中直线前进运动精子数都分为地方品种和其他2种。按标准规定,如果用其他品种公猪的精液产品来改良地方品种或杂交生产,就应按“其他80 mL~100 mL”的剂量进行输精;如果用地方品种公猪的精液产品来生产土杂猪,就应“地方品种40 mL~50 mL”的剂量进行输精,但实际情况是,如果按“其他80 mL~100 mL”给地方品种母猪输精,就可能出现精液倒流的现象;如按“地方品种40 mL~50 mL”的剂量给其他品种母猪输精,则可能导致情期受胎率和窝产仔数降低的现象。因此,输精剂量应该对受体进行明确的规定。随着深部输精技术的不断推行,亟待对其技术要求作出规定。

为此,全国畜牧总站在调研标准执行情况、种猪常温精液质量抽检项目执行情况的

基础上，于 2017 年至 2018 年组织开展了种猪常温精液常规输精的试验验证工作，不同浓度梯度对受胎率、产仔数影响验证试验设计见表 3，生产试验结果见表 4、表 5、表 6。

表 3 不同剂量和总精子数输精试验设计（活力要求大于 60%）

试验组号	试验因素				试验要求	
	剂量	总精子数 (亿/剂)	前向运动 精子数 (亿/剂)	密度 (亿/mL)	精液生产要求	输精
1	80	40	24	0.50	中效稀释剂，80mL 装，至少 20 头种公猪。	常规，适时，随机，复配一次。
2	80	33	20	0.41	中效稀释剂，80mL 装，至少 20 头种公猪。	常规，适时，随机，复配一次。
3	80	30	18	0.38	中效稀释剂，80mL 装，至少 20 头种公猪。	常规，适时，随机，复配一次。
4	80	24	15	0.30	中效稀释剂，80mL 装，至少 20 头种公猪。	常规，适时，随机，复配一次。
5	80	20	12	0.25	中效稀释剂，80mL 装，至少 20 头种公猪。	常规，适时，随机，复配一次。
6	60	30	20	0.50	中效稀释剂，80mL 装，至少 20 头种公猪。	常规，适时，随机，复配一次。
7	60	20	12	0.30	中效稀释剂，80mL 装，至少 20 头种公猪。	常规，适时，随机，复配一次。
8	40	20	10	0.50	中效稀释剂，80mL 装，至少 20 头种公猪。	常规，适时，随机，复配一次。

注：1) 总精子数=前向运动精子数÷精子活力（60%）；

2) 原标准中，地方品种前向运动精子数最小值为 10 亿/剂，换算为总精子数为 16.7 亿/剂；其他品种前向运动精子数最小值为 25 亿/剂，换算为总精子数为 41.7 亿/剂。

表 4 上海祥欣畜禽有限公司常规输精试验结果

试验组号		1	4	5	2	6	3
试验设计	母猪品种	大白	大白	大白	大白	大白	大白
	胎次	3.47±1.58	3.49±1.65	3.88±1.76	3.52±1.93	3.66±1.78	3.45±1.23
	配种数量（头）	20	20	20	20	20	20
	剂量（mL）	80	80	80	60	60	40
	前向运动精子数 （亿/剂）	40	30	20	30	20	20
	精液密度（亿/mL）	0.5	0.38	0.25	0.5	0.33	0.5
试验结果	受胎率（%）	95%	80%	75%	95%	90%	80%
	分娩率（%）	95%	80%	75%	95%	90%	80%
	产总仔数（头/窝）	9.94±2.84 ^b	10.25±3.70 ^{ab}	11.29±1.83 ^a	11.06±1.78 ^a	9.76±2.94 ^b	11.07±1.73 ^a
	产活仔数（头/窝）	9.05±3.46 ^b	9.19±2.88 ^b	10.36±1.63 ^a	10.67±1.89 ^a	9.44±2.03 ^{ab}	10.60±1.50 ^a

注：1.常规输精，配种 2 次。

2.同一项同行肩标字母不同表示差异显著（P<0.05），含有相同字母表示差异不显著（P>0.05），下同。

表 5 湖北金林原种畜牧有限公司常规输精试验结果

试验组号		1	2	3	4	5	6
试验设计	母猪品种	长大	长大	长大	长大	长大	长大
	胎次	3.22±1.83	3.35±1.35	3.88±1.28	3.60±1.72	3.65±1.56	3.65±1.68
	配种数量（头）	40	40	40	40	40	40
	剂量（mL）	80	80	80	60	60	40

	总精子数 (亿/剂)	40	30	20	30	20	20
	前向运动精子数 (亿/剂)	24	18	12	18	12	12
	精液密度 (亿/mL)	0.50	0.38	0.25	0.50	0.33	0.50
试验结果	受胎率 (%)	90.0	92.5	92.5	90.0	87.5	90.0
	总产仔数 (头/窝)	12.56 ±1.27 ^a	12.08 ±1.32 ^{ab}	11.19 ±2.04 ^c	11.31±2.15 ^{bc}	10.69 ±1.53 ^{cd}	10.33±1.88 ^d
	产活仔数 (头/窝)	12.14±1.27 ^a	11.78 ±1.18 ^a	10.81±1.85 ^{bc}	11.00±2.00 ^b	10.57±1.48 ^{bc}	10.06±1.94 ^c

表 6 广西扬翔股份有限公司常规输精试验结果

试验组号		1	2	3	4
试验设计	母猪品种	长大	长大	长大	长大
	配种数量 (头)	409	1228	804	284
	胎次	3.41±1.96	3.35±2.18	3.08±2.03	3.24±1.78
	剂量 (mL)	80	80	80	80
	前向运动精子数 (亿/剂)	30	20	15	12
试验结果	受胎数量 (头)	377	1133	745	261
	受胎率 (%)	92.2	92.3	92.7	91.9
	分娩数量 (头)	363	1083	719	251
	分娩率 (%)	88.8	88.2	89.4	83.4
	产活仔数 (头/窝)	12.19±3.24	12.12±3.29	12.02±3.31	12.26±3.53

表 7 海口农工贸 (罗牛山) 股份有限公司常规输精试验结果

试验组号		1	2	3
试验设计	母猪品种	杜洛克	长白	大白
	配种数量 (头)	409	1228	804
	胎次	2.47±1.27	3.39±2.30	3.48±2.29
	剂量 (mL)	80	80	80
	前向运动精子数(亿/剂)	24	24	24
试验结果	总产仔数 (头/窝)	8.50±2.90	13.28±4.37	14.51±4.48
	产活仔数 (头/窝)	6.00±3.02	11.27±4.64	12.02±4.51

生产试验与调研数据结果表明:

1) 常规输精条件下输精剂量对产仔数存在影响

a) 上海祥欣畜禽有限公司试验结果表明 (表 4): 在精子活力 (大于 60%) 合格的情况下, 剂量与直线前进运动精子数对情期受胎率有显著影响。采用剂量 60mL、总精子数 30 亿/剂、前向运动精子数 20 亿/剂 (密度为 0.5 亿/mL) 产品输精, 情期受胎率约为 95%; 采用剂量 80mL、总精子数 40 亿/剂、前向运动精子数 25 亿/剂 (密度 0.5 亿/mL) 的产品输精, 情期受胎率约为 95%; 采用剂量 40mL、总精子数 12 亿/剂、前向运动精子数 7 亿/剂 (密度 0.3 亿/mL) 的产品输精, 情期受胎率约为 80%, 显著下降。数据表明, 常规输精在 80mL 的输精量, 每剂 20 亿前向运动精子数情况下产仔数最高, 低剂

量容易导致受胎率下降。

b) 湖北金林原种畜牧有限公司试验结果表明（表 5）：80mL 的输精量、前向运动精子数 24 亿/剂的总产仔数、产活仔数最佳，受胎率不受影响，且前向运动精子数 24 亿/剂与 18 亿/剂的总产仔数、产活仔数差异不显著（ $p>0.05$ ），而与 12 亿/剂相比差异显著（ $p<0.05$ ），60 mL 与 40 mL 的输精量无论精液密度高低，其产仔数都有显著下降的趋势，且与输精量 80 mL 相比总产仔数、产活仔数差异显著（ $p<0.05$ ）。

c) 广西扬翔股份有限公司试验结果表明（表 6）：80mL 的情况下，12~30 亿的前向运动精子数量组间分娩率和产活仔数差异不显著，进一步说明在精液量有保障的情况下前向运动精子数的下降风险较低。

d) 海口农工贸（罗牛山）股份有限公司的数据显示（表 7）：在常规输精剂量为 80mL，采用每剂量中前向运动精子数在 12 亿的情况下，杜长大三个纯种的产仔数均不受影响。

综上所述，常规输精的输精量 80mL、前向运动精子数 15 亿以上是满足生产需求的。常规输精的输精量十分重要，可能与子宫的容积大小有关，这与瘦肉型猪长期朝着大体型的选育而导致子宫和产道容量变大的方向是一致的，其充满量对卵子的授精具有影响。

2) 深部输精条件下输精剂量对产仔数存在影响

广西扬翔股份有限公司数据显示（表 8）：在深部输精剂量 60mL，采用每剂量中前向运动精子数在 12 亿的情况下，其产仔数和产活仔数也不受影响。其结果与欧洲养猪发达国家的深部输精量一致，其中德国的前向运动精子数为 12 亿，西班牙深部输精有效精子数为 15 亿以上。Gonzalez 等（2015）、姚德彪等（2011）也证明采用 60mL 的剂量深部输精满足产仔数要求。杨玲等（2016）采用 80mL、前向运动精子数 30 亿/剂和 40mL、15 亿/剂的剂量进行深部输精，结果表明，采用 80mL 的输精量进行深部输精的受胎率、分娩率、产仔数均高于 40mL 输精量的试验组，说明深部输精 40mL 存在产仔数下降的风险，结合以上试验结果，基本确定深部输精量为 60mL 是合适的。

表 8 广西扬翔股份有限公司深部输精试验结果

试验组号		1	2
试验设计	母猪品种	长白	大白
	配种数量（头）	86	213
	胎次	2.88±2.13	6.01±2.17
	剂量（mL）	60	60
	前向运动精子数（亿/剂）	12	12

试验结果	总产仔数（头/窝）	14.67±2.74	15.23±3.16
------	-----------	------------	------------

3) 中国地方猪母猪作为受体技术要求不变

经检索，未识别到地方猪输精量的文献，部分文献对地方猪数据量过大，故保留原标准中对地方猪的技术要求，因其为明确地方猪母猪作为受体的描述，本次修订进行了说明，进一步明确为地方猪母猪作为受体时输精量为 40mL，前向运动精子数为 10 亿。

表 9 我国不同地方品种常规输精试验结果

试验组号		1	2	3	4
试验设计	母猪品种	二花脸	嘉兴黑猪	梅山猪	荣昌猪
	配种数量（头）	15	14	21	115
	胎次	5.60±2.44	6.14±1.75	5.67±1.80	4.68±2.76
	剂量（mL）	-	-	80	60
	前向运动精子数（亿/剂）	-	-	40	30
试验结果	总产仔数（头/窝）	14.60±1.35	14.64±2.34	15.00±1.73	10.55±2.43
	产活仔数（头/窝）	13.80±1.15	13.64±2.31	13.86±1.90	9.32±2.35

综上所述，本标准对产品剂量和前向运动精子数的技术要求修改为以上表 1 的规定与国际接轨，且符合国内实际生产情况，具有科学性和可行性。

2.4 修改了抽样方法

原标准内容：

篇幅较大，略。详见 2009 版的 5.1 和 5.2。

修改后标准内容：

5 抽样

5.1 抽样方法

5.1.1 出厂检验

以每批次生产量随机抽取，每个批次的取样量不少于 10%，样品份数取整数。

5.1.2 型式检验

以每批次生产量随机抽取，每个批次的取样量不少于 15%，样品份数取整数。

5.2 抽样时间

产品分装后 2 h 至保质期截止前 24 h。

理由：

原标准对抽样方法的规定过于繁琐，与种猪常温精液的批次化生产实际不符，不利于抽样操作，新修订的抽样方法条理清晰，代表性和可操作性强。

修订依据:

原标准采用 GB/T 2828.1 计数抽样检验程序 第 1 部分:按接收质量限 (AQL) 检索的逐批检验抽样计划、GB/T 2828.1 计数抽样检验程序 第 2 部分:按接收质量 (LQ) 检索的孤立批检验抽样方案和 GB/T 2828.11 计数抽样检验程序 第 11 部分:小总体声称质量水平的评定程序,而在原标准 5.1.1 生产方抽样提及的是按照 GB/T 2828.2 采用极限质量 (LQ) =8, 孤立批模式 A 抽样, 见 2009 版的附录 A。5.1.2 监督抽样提及的是按照 GB/T 2828.11, 监督总体为生产单位的种猪常温精液产品, 采用监督质量水平 (D0) =10, 选用第二检验等级进行抽样, 抽样程序见 2009 版的附录 B。经查, GB/T 2828.2 计数抽样检验程序 第 2 部分:按极限质量 (LQ) 检索的孤立批检验抽样方案的 1 范围中, a) 模式 A 规定“当生产方和使用方都把批作为孤立批检验时应使用本程序。也就是说, 批的唯一性在于仅按其类型生产一个批”。 GB/T 2828.11 计数抽样检验程序 第 11 部分:小总体声称质量水平的评定程序的 1 范围中规定“本部分规定了为评定某一总体 (批或过程) 的质量水平是否不符合某一声称质量水平的计数抽样方案和评定程序。适用于能从核查总体中抽取由一些单位产品组成的随机样本, 以不合格品数为质量指标的小总体计数一次抽样检验, 可用于各种形式的质量核查, 不可用于批的验收抽样”。据此, 本标准在修订过程中, 拟删除 2009 版标准的 2、5.1、附录 A.1 和附录 B, 将原标准中本部分的内容按照农业农村部近十年在抽样方法上的规定, 结合我国种猪常温精液批次化生产方式, 修改了抽样量、抽样时间、抽样方法。

2.5 修改了检验规则

原标准内容:

篇幅较大, 略。详见 2009 版的 6.2、7。

修改后的标准内容:

7 检验规则

7.1 检验类别

7.1.1 出厂检验

出厂检验项目为产品剂量、精子活力和前向运动精子数。

7.1.2 型式检验

型式检验项目为第 4 章规定的全部检验项目。产品正常生产时, 至少每半年进行一次型式检验, 但有下列情况之一时, 应进行型式检验:

生产工艺及设备有重大变更时;

所用生产原料有重大变化时；
种猪发生疾病或统一注射疫苗时；
停产 3 个月以上恢复生产时；
出厂检测结果与上次型式检测结果有较大差异时；
监督管理部门提出要求时。

7.2 判定规则

7.2.1 样品判定规则

7.2.1.1 所检项目全部符合本标准规定时，则判定该抽检样品合格。

7.2.1.2 检验结果中有任何项目不符合本标准规定时，则判定该抽检样品不合格。若该抽检样品在其保质期内可进行复检，复检结果全部符合本标准规定时，则判定该抽检样品合格，复检结果有任何项目不符合本标准规定时，则判定该抽检样品不合格；若该抽检样品已不在其保质期内，则不得复检。

7.2.1.3 各项目检测结果的极限数值判定按 GB/T 8170 中修约值比较法执行。

7.2.2 批次判定规则

每个批次中所有抽检样品合格，则判定该批次合格；其中有任一抽检样品不合格，则判定该批次不合格。

理由：

本标准在修订过程中，根据新修订的标准技术要求中对常温精液的质量要求，重新对其检验与判定规则进行细化，确保与新标准要求的一致性。

修订依据：

依据《中华人民共和国标准化法》对检验规则进行修订。

2.6 增加了标签和随行文件的内容

内容是：

8 标签和随行文件

8.1 标签

标签应符合如下要求：

- a) 标签应易于识别，不易脱落或损坏；
- b) 标签应使用规范的汉字对产品信息进行说明；
- c) 标签应标识但不限于如下信息：产品通用名、来源的品种名称、种公猪个体编号、生产企业名称及联系方式、生产时间、适用受体、授精方式、保存条件、保质期，以及

第4章规定的产品质量参数最低保证值。非生产企业经营常温精液产品时，其标签信息还应包括经营企业的名称和联系方式等。若是混合精液则应注明。使用电子标签（如二维码标签）的标签信息至少应包括本条款规定的信息，还可包括生产企业商标或徽标，以及可追溯的其他信息。

8.2 随行文件

生产企业的随行文件至少应包括种畜禽生产经营许可证、动物防疫合格证复印件，以及种公猪系谱档案等原件或复印件。经营常温精液产品的非生产企业的随行文件至少应包括种畜禽生产经营许可证，以及种公猪系谱档案等原件或复印件。

理由：

原标准对标签的规定较为单一，随着电子信息技术的发展，二维码等电子标签逐步普及，因此，需要对标签的规定进行修订。原标准没有随性文件的相关规定，需要新标准增加随性文件的相关内容。

修订依据：

参照 GB 10648-2013 和 GB/T 30396-2013 结合本标准的要求进行对标签和随性文件进行了细化，确保标准内容的一致性。

2.7 修改了包装、贮存、运输和保质期的内容

原标准内容：

篇幅较大，略。详见 2009 版 8.2、8.3 和 8.4。

修改后的内容：

9 包装、贮存、运输和保质期

9.1 包装

内包装应为对精子无毒副作用的一次性塑料制品，可选用袋装、瓶装或管装。内包装的容量应大于第4章表1中规定的对应产品的最低剂量的110%。

9.2 贮存

种猪常温精液应置于恒温箱中保存，恒温箱内温度应控制在 16℃~18℃。保质期内每间隔 8 h~12 h 应摇匀一次。

9.3 运输

种猪常温精液应置于 16℃~18℃避光密封的容器中运输。运输过程避免强烈震动和碰撞。

9.4 保质期

生产企业应给出常温精液产品的保质期。保质期应不少于 72h。

理由：

原标准对包装的容量要求没有严格的规定，不便于生产上的操作，修订后的内容更加符合标准中对包装的定义与要求，且便于生产原材料的选用。

产品的运输应存放在密封装置中，新标准根据新的要求对其进行了细化。

将原标准的保质期 72 小时的指标修订为产品标识的保质期的最低保证值，某一具体产品可以高于此标准。标准检测时可依据产品标识的保质期进行检测与判断，有利于差异化市场产品的活跃和标准的应用范围。

修订依据：

按照 GB/T 20001.10 中附录 B《保包装、运输贮存要求的编写规则》对产品的包装、贮存、运输条件和保质期进行修订，运输要求应满足 GB/T 25172 中关于精液运输的规定。

2.8 增加了不合格产品的处置内容

新增内容：

10 不合格产品的处置

不应出售和使用检验不合格的产品。不合格产品应按有关规定进行无害化处理。

理由：

原标准中对不合格产品的处置没有规定，导致对不合格产品的处置缺乏参考依据，因此，新标准中加入对不合格产品的处置，生产、销售和使用者可参考该内容对不合格的产品进行有效的处置。

增加依据：

依据《产品质量法》对于不合格产品的处置进行修订，且常温精液存在生物安全的风险，因此需要进行无害化处理。

2.9 检测方法的修订

本标准的检测方法为规范性附录 A。在检测方法上四个技术要求的指标均作了修订。其修订内容与依据按照附录编号分述如下：

A.1 修改了剂量的检测方法

原标准内容：

A.2 剂量检查

A.2.1 主要器材 量筒。

A.2.2 检查方法

取两个剂量全部倒入量筒内，准确检测其精液量。

修订内容:

用天平称量精液质量，根据精液密度（ 1.0038 ± 0.0025 g/mL）约等于水的密度，将精液质量数值直接等同于体积数值。

理由:

原标准采用的量筒检测精液量，误差较大，操作不便，修订标准采用电子台秤称取精液的质量，测量结果误差小且十分稳定。因此，使用称量的方法代替量筒检测的方法检测精液产品剂量是科学可行的。

修订依据:

试验分别检测精液质量、体积和密度，以及纯水密度，结果见表 10。精液密度与水的密度相接近（差值 <0.01 g/mL），故可以用水的密度代替精液的密度，即精液质量数值等同于体积的数值。而天平测量的质量数值与量筒测量的体积数值差值大于 0.5，说明大于其质量误差。且在操作过程中，用量筒测量体积对精子损伤较大。从生产的角度看，本标准执行后，只要生产的产品剂量 ≥ 80 mL 即可满足标准要求，低于 79.7mL 则有不合格的风险。

表 10 精液质量、体积及密度检测结果

测量指标	测量工具	样品数	平均值	差值
精液质量 (g)	天平 (感量 0.0001g)	36	83.7764 ± 1.8429	$(0.5964 \pm 0.0894) > 0.5$
精液体积(mL)	量筒 (In 100ml)	36	83.18 ± 1.8959	
精液密度 (g/mL)	密度仪	36	1.0038 ± 0.0025	$(0.0036 \pm 0.0024) < 0.01$
纯水密度 (g/mL)	密度仪	36	1.0002 ± 0.0001	

A.2 修改了精子活力的检测方法

原标准内容:

A.3 精子活力检查

A.3.1 主要仪器和器材

显微镜、恒温水浴锅、试管、载玻片、盖玻片、恒温装置、滴管等。

A.3.2 检查方法

取两个剂量的常温精液轻轻摇动均匀，分别用滴管取精液约 25 μL 置于载玻片上并加盖玻片，在 37 ~~℃~~ 条件下，用显微镜（200 倍~400 倍）观察精子活力。每样片观察 3 个视野，并观察不同液层内的精子运动状态，进行全面评定。

修订内容：

由人工观察评价精子活力（精子为运动状态）的检测方法改进为精子质量分析仪读取的方法。（见 A.2）

理由：

原标准方法采用的是在显微镜条件下人工目测观察评价精子活力的方法，无法统一判定标准，各应用单位或个人均为经验值，活力分值通常以 5 分为一档，人员之间差别很大。而精子质量分析仪经过多年的发展进步，在质量与价格上均得到多数人工授精站点的认可。在仪器比对试验中，5 台国内外的 CASA 系统对参数进行了统一地设置。结果表明，仪器可自动完成多个视野的快速读数，数据稳定，重复性好；与起草单位具备多年检测经验的检验员进行比对，仪器法无显著差异，5 台设备之间亦无显著差异。应用 CASA 系统进行猪常温精液精子活力的检测具备科学性和准确性。

修订依据：

本试验将 5 台国内外精子质量分析仪（以下简称 CASA 系统）设置为统一参数：VCL（曲线运动速度） $\geq 5 \mu\text{m/s}$ 、VSL（直线运动速度） $\geq 5 \mu\text{m/s}$ ，STR=VSL（直线运动速度）/VAP（平均运动速度） $\geq 25\%$ ，分别比较了 CASA 系统间、CASA 系统与工作人员、CASA 系统与质检中心检验员检测活力的结果，结论如下：

1) 人员比对目测精子活力的结果不可靠

采用 ZB 分数统计，结果显示，五位操作 CASA 系统的工程师观看 CASA 系统上的活力视频，并目测活力，2 人满意（包括理想）（ $|ZB| < 3$ ），3 人不满意（ $|ZB| > 3$ ），见图 1。

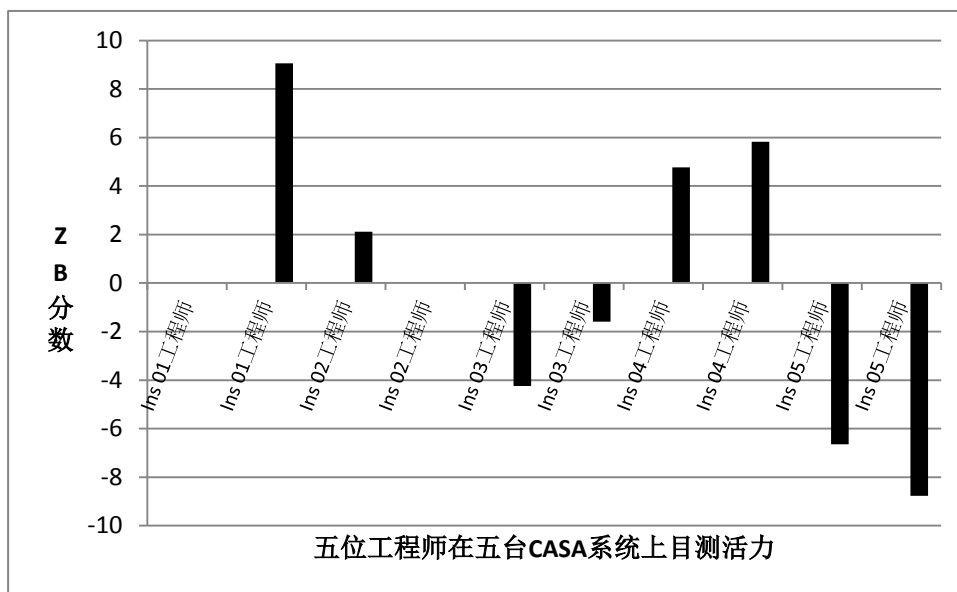


图 1 操作 CASA 系统的工程师目测活力数值的 ZB 分数

2) CASA 系统对精子活力的检测结果可靠

5 台 CASA 系统对精子活力检测结果采用单因素方差分析差异不显著($P>0.05$)，见表 11。不同 CASA 系统、采用不同品牌的专用定容玻片 ($20\mu\text{m}\pm 2\mu\text{m}$) 对精子活力检测结果无影响，见表 12。采用 ZB 分数方法比对，结果显示，4 台仪器满意 (包括理想) ($|ZB| < 3$)，1 台仪器不满意，见图 2 ($|ZB| > 3$)，即 CASA 系统检测精子活力结果稳定可靠。

表 11 5 台 CASA 检测活力的单因素方差分析

仪器编号	均值	字母	自由度	均方	T 值	LSD
Ins03	55.250	A	64	52.75729	1.99773	4.8368
Ins01	48.994	A				
Ins02	46.155	A				
Ins04	45.150	A				
Ins05	44.336	A				

备注：同一字母表示同一水平上无显著性差异。

表 12 5 台 CASA 系统与玻片双因素对活力影响的方差分析

因素	N	个数	自由度	均方	F 值	P 值
a	36	1 2	1	5173.309668	98.06	0.059
b	36	1 2 3 4 5	4	1270.053168	24.07	0.075
a*b			4	235.360224	4.46	0.066

注：a 因素表示两种专用定容玻片，b 因素表示 5 台 CASA 系统。

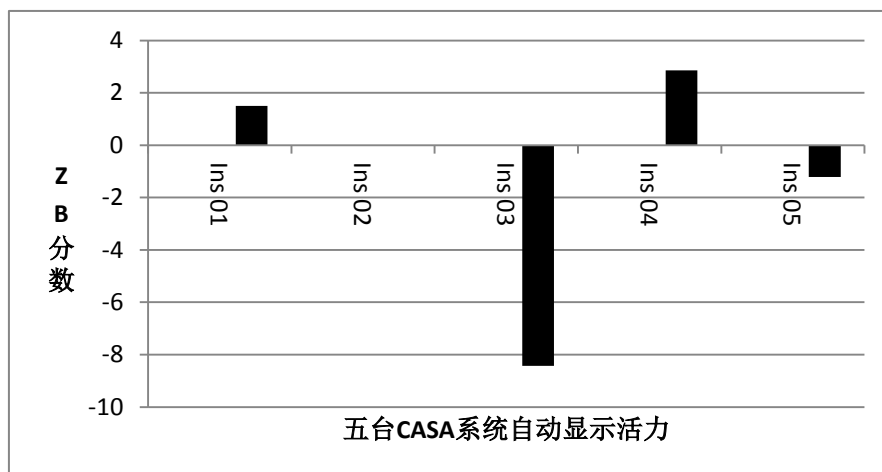


图2 CASA 系统自动出示活力数值比对的 ZB 分数

3) CASA 系统准确性高

CASA 系统自动显示精子活力数值与检验员目测活力的数值无显著差异($P>0.05$), 检验员在不同 CASA 系统上目测的活力无互作效应 ($P>0.05$), 见表 13。说明 CASA 系统检测精子活力结果可靠。

表 13 仪器与检验员检测活力的双因素方差分析

因素	N	个数	自由度	均方	F 值	P 值
a	36	1 2	1	2142.104548	76.12	0.064
b	36	1 2 3 4 5	4	1270.053168	24.07	0.075
a*b			4	143.320110	3.12	0.073

注: a 因素表示检验员, b 因素表示 5 台 CASA 系统。

A.3 增加了“前向运动精子数”精子质量分析仪检测法

增加内容: 见 A.3.2

理由:

精子质量分析仪检测法快速、准确、重复性好, 检测效率提高 6 倍以上。

增加依据:

试验分别比较了不同 CASA 系统、CASA 系统与血球计数板之间精液密度的检测结果, 结论如下:

1) 不同 CASA 系统检测精液密度结果无显著差异

采用不同 CASA 系统对 6 份精液的密度分别进行检测(使用同一品牌专用定容玻片), 结果显示, 5 台 CASA 系统自动显示的精液密度数值无显著差异 ($P>0.05$), 见表 14。

采用 ZB 及 Z 分数两种方法进行统计, 结果显示, 5 台 CASA 系统检测精液密度, 3 台仪器以上满意(包括理想) ($|ZB| < 3$, $|Z| < 3$), 1 台仪器不满意, ($|ZB| > 3$, $|Z| > 3$), 见图 3。

表 14 CASA 系统检测精液密度的方差分析统计

仪器编号	均值	字母	自由度	均方	T 值	最小二乘法
4	25.050	A	64	39.11127	1.99773	4.1645
3	24.808	A				
2	24.656	A				
1	23.400	A				
5	24.560	A				

备注：1.密度单位：百万/mL；同一字母表示同一水平上无显著差异。

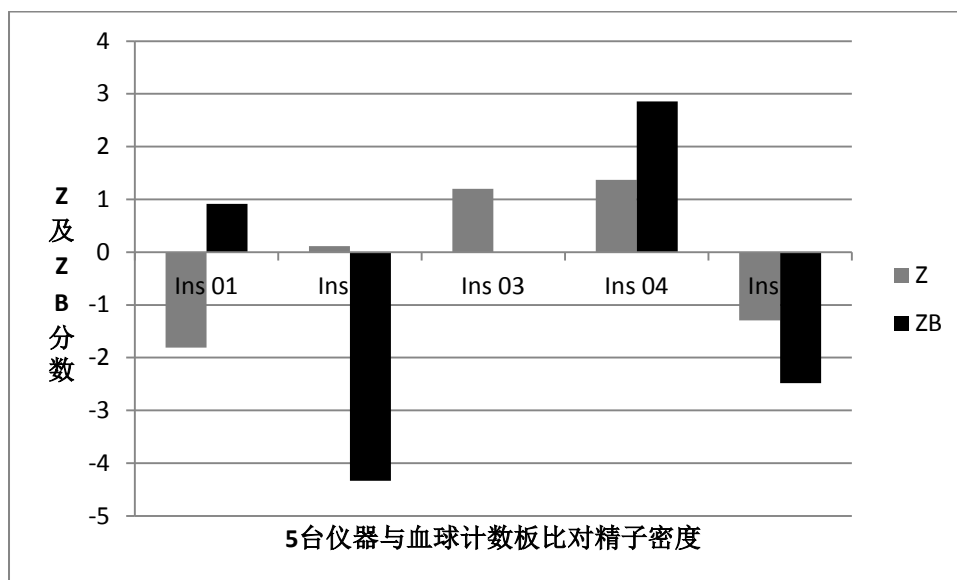


图 3 CASA 系统同人工采用血球计数板检测密度的 Z 和 ZB 比分数

2) 不同专用定容玻片对精液密度检测结果无影响

采用两种专用定容玻片对 6 份精液的密度检测结果进行比较,结果显示,5 台 CASA 系统对精液密度检测结果无显著差异 ($P>0.05$), 且专用定容玻片与 CASA 系统之间无互作效应 ($P>0.05$), 见表 15。

表 15 CASA 系统采用两种专用定容玻片检测密度的双因素方差分析统计

因素	个数	自由度	均方	F 值	P 值
a	36	1	1609.14645	41.14	0.0656
b	36	4	22.71944	0.58	0.6297
a*b	—	4	246.204598	6.29	0.0811

注：a 因素表示两种定容玻片，b 因素表示 5 台 CASA 系统。

3) CASA 系统与血球计数板在精液密度的检测结果上无显著差异

不同 CASA 系统与血球计数板进行比对,分别检测 6 份精液密度,结果显示,CASA 系统与血球计数板之间无显著差异 ($P>0.05$), 见表 16。结果表明,采用血球计数板检测精液密度是准确可靠的,且能与 CASA 系统的检测结果保持高度一致。

表 16 CASA 系统检测和血球计数板检测密度的双因素方差分析统计

因素	N	自由度	均方	F 值	P 值
----	---	-----	----	-----	-----

a	36	1	132.35442	32.22	0.05332
b	36	4	21.13662	0.67	0.5102
a*b	—	4	44.21152	5.48	0.074

注：a 因素表示血球计数板，b 因素表示 5 台 CASA 系统。

4) CASA 系统与血球计数板检测精液密度效率的比较

检测一份样品的精液密度，CASA 系统平均耗时约 3 min，使用血球计数板平均耗时约 20 min，使用 CASA 系统检测精液密度平均检测效率比血球计数板的方法提高了 6 倍以上，见表 17。

表 17 血球计数板与 CASA 系统检测精液密度效率比较

名称	检测时间/样	稀释倍数	是否要求专业人员操作
血球计数板	20	20	是，严格培训
CASA 系统	3	0	否，简单培训

5) 专用定容玻片的腔室高度和毒性测试结果

lj 专用定容玻片高度及毒性测试报告显示，专用定容玻片的平均高度为 $19.44\mu\text{m}\pm 0.54\mu\text{m}$ ，95%的置信区间为 $(18.39, 20.49)\mu\text{m}$ 。毒性测试结果显示，专用定容玻片对种猪精子的活率、前向运动精子数及精子的平均运动速度均无影响，见表 18。

表 18 专用定容玻片腔室高度检测报告

产品名称	样品数个	腔室平均高度 μm	最大高度 μm	最小高度 μm	舱室对精子活力的毒性测试 (8min)		
					活力%	前向运动精子活力%	平均运动速度 $\mu\text{m/s}$
四舱室玻片	100	19.44 ± 0.54	18.67	21.42	74-76	72-74	83-90

备注：数据由上海卡苏生物科技有限公司提供。

A.4 精子畸形率

原标准内容：

篇幅较大，略。详见 2009 版附录 A.5。

修改后的标准内容：

修改了“精子畸形率”姬姆萨染色法的染色时间（见 A.4.1.4 b）），见 2009 版的 A.5.3 c）），删除了中性福尔马林的固定步骤（见 2009 版的 A.5.3 b））；增加了“伊红苯胺黑快速染色法”（见 A.4.2）。

理由：

1) 染色时间由 90min 缩短至 15min~30min，染色效果不变；2) 中性福尔马林的作用是可以较长时间保存精子抹片，但该试剂为有毒有害试剂，属于管制试剂，故删去，不影响精子畸形率的检测；3) 伊红苯胺黑快速染色法能快速检测精子畸形率，有效地

缩短检测时间，提高检测效率，对生产企业的标准应用具有优势。

修订依据：

实验选取并比较了姬姆萨染液、考马斯亮蓝、伊红、伊红-苯胺黑和迪夫等 5 种染液，分别设置染色比例、染色时间等梯度，比较最佳染色效果的染液。试验结果如下：

1) 修改姬姆萨染色法，缩短染色时长为 15min~30min 科学可行

起草小组选取同一份种猪常温精液经过姬姆萨不同染色时长的处理，以不染色时间为对照，结果显示染色 15min~30min 精子形态的观察效果最佳，并可长期保存。因此，将染色时间修改为 15min~30min 可行，并大幅提升检测效率。见图 4。

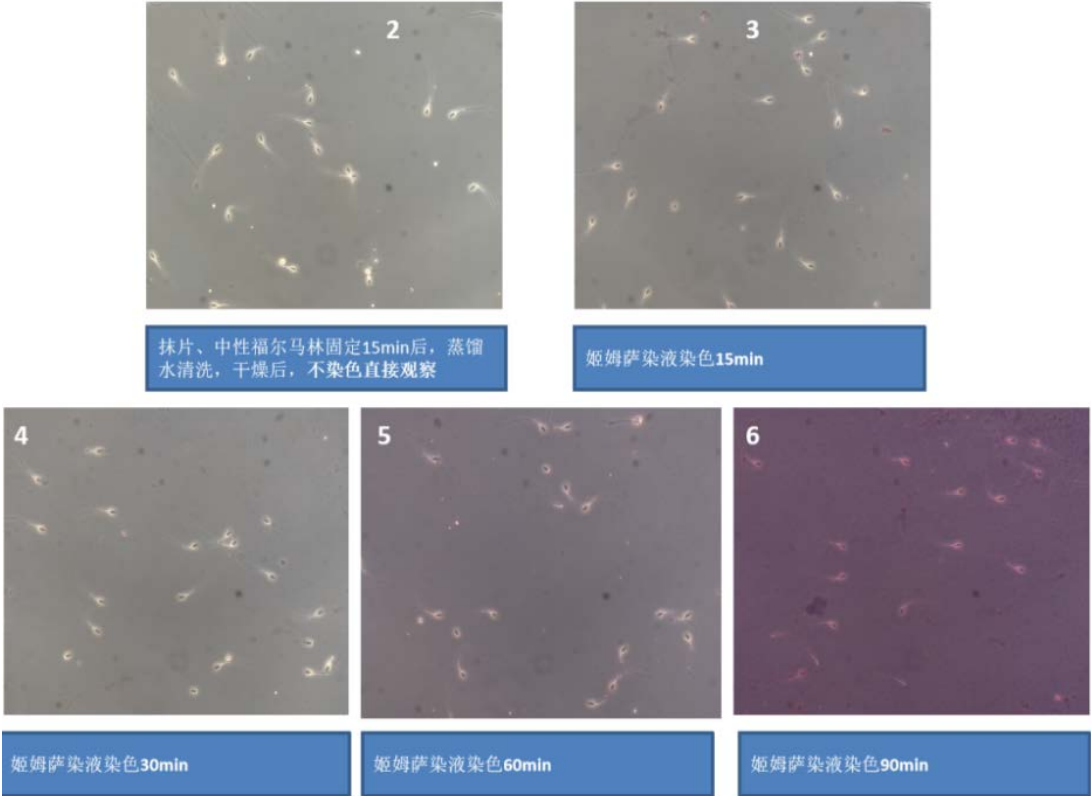


图 4 姬姆萨染液不同染色时长效果图

2) 增加了伊红苯胺黑快速染色法

起草小组选取同一份种猪常温精液经过姬姆萨染液（风干和直接染色）、考马斯亮蓝、伊红、伊红-苯胺黑和迪夫等 6 种方法进行染色效果比对，结果表明：姬姆萨、伊红、考马斯亮蓝直接抹片染色效果均不佳，精子形态模糊，考马斯亮蓝背景杂质偏多，此三种染色后观察精子畸形效果不佳。迪夫快速染色液着色不明显，与背景色差之间观察效果不佳。而伊红-苯胺黑染液直接抹片染色后，精子可呈现双色，可识别活死精子，精子尾部直，精子形态的观察效果最佳，姬姆萨常规染色法，经试验，其染色在缩短至 15min~30min 之后，可用于检测批量检测样品，效率高，效果好。因此，姬姆萨常规染

色方法建议保留，伊红苯胺黑快速染色法则作为快速法予以增加，其方法较其他方法更适用于种猪常温精液畸形率检测。其比对试验分别见图 5 至图 10。

比较检测时长，伊红-苯胺黑直接抹片染色也有一定的优势。本试验拆分检测各步骤，综合分析 5 种染色方法检测时长，结果表明，直接抹片染色可以省去精子的固定时长和晾干时长，节省了检测时间。因此，综合考虑染色效果和检测时长，增加伊红苯胺黑快速检测法，见表 19。



图 5 迪夫快速染色法染色效果图



图 6 伊红苯胺黑直接抹片染色效果图

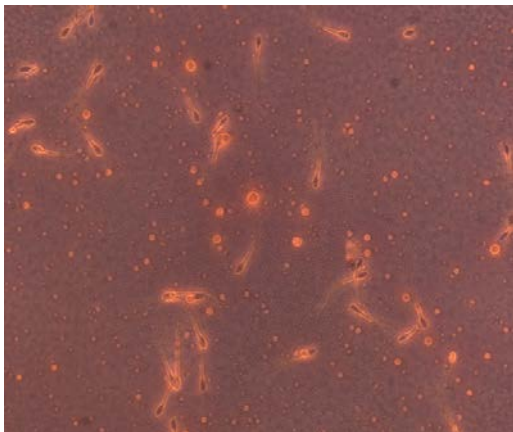


图 7 伊红直接抹片染色效果图

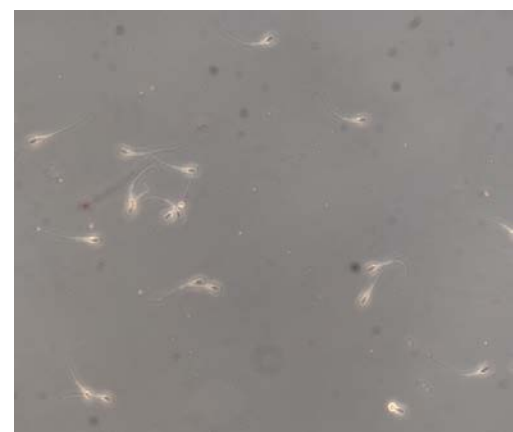


图 8 姬姆萨常规染色法染色效果图(风干)

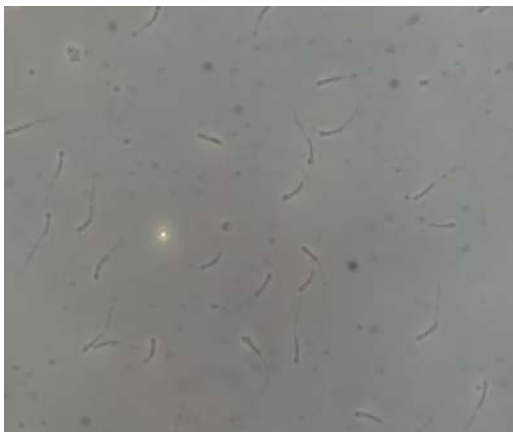


图 9 姬姆萨直接抹片染色效果图



图 10 考马斯亮蓝直接抹片染色效果图

表 19 6 种染色方法检测时长统计表

序号	染色法	取样抹片 时长 T1(min)	风干 时长 T2(min)	固定 时长 T3(min)	染色 时长 T4(min)	晾干 时长 T5(min)	显微镜观 察时 T6(min)	单样总时 长 T _{总1} (min)	批量总时 长 T _{总2} (min)	批量检测 单个样品 平均时长 \bar{T} (min)
1	姬姆萨直 接染色法	2	10	0	0.5	0	5	17.5	150	7.5
2	姬姆萨常 规染色法	2	10	0	15	10	5	42	175	8.75
3	考马斯亮 蓝染色法	2	10	0	0.5	0	5	17.5	150	7.5
4	伊红 染色法	2	10	0	0.5	0	5	17.5	150	7.5
5	伊红苯胺 黑染色法	2	10	0	1	0	5	18	160	8.0
6	迪夫快速 染色法	2	10	11	1	20	5	49	182	9.1

备注:

1.单样检测总时长为取样抹片、风干、固定、染色、晾干、显微镜观察时长之和，公式为

$$T_{总1} = T_1 + T_2 + T_3 + T_4 + T_5 + T_6$$

2.批量检测以 20 个样品为例。批量检测总时长计算公式如下:

$$T_{总2} = 20 \times T_1 + T_2 + T_3 + 20 \times T_4 + T_5 + 20 \times T_6$$

其中，姬姆萨染色直接染色法、考马斯亮蓝染色法、伊红染色法和伊红苯胺黑染色法等四种方法，检测最后一个样品时，第一个样品已经风干，可以进行显微镜观察，因此，风干时长被取样抹片时长覆盖，为零，这四种方法计算总时长时， $T_2=0\text{min}$ ；样品需要逐一进行染色，染色总时长为单样染色时长乘以染色数量。而姬姆萨常规染色法和迪夫快速染色法，得全部样品制备完成、风干后，进行下一步，以最后一个样品风干时间为准，那么 $T_2=10\text{min}$ ；样品可以集中染色，染色总时长与单样染色时长一致。

3.批量检测时单个样品平均检测时长计算公式如下： $\bar{T} = \frac{T_{总2}}{20}$

2.10 增加了对样品取样方法和点样后预热时间的规定

增加内容是:

增加了对样品取样方法和点样后预热时间的规定(见 A.2.2、A.3.1.3、A.3.2.2、A.4.1.4、A.4.2.3)，规定样品摇匀时间、取样深度、样品预热时间有利于精液品质检测结果更加客观公正。

理由:

原标准对精子活力、前向运动精子数和精子畸形率取样方法的规定仅对取样量等做了简单规定，对取样过程和方法为进行描述，导致操作性不强，人为误差大。为规范操作，减少人为误差，修订时对取样方法与取样后的检测预热时间等方面进行了详细的规定，便于操作。

增加依据:

1) 取样时颠倒摇匀时间 1 min~3 min 最佳，特别是样品均匀性的影响最大，试验结果见表 20 至表 23；

2) 取样部位在精液液面以下深度约 1.5cm 左右最佳，精液容器倾斜约 45 度，其试验见表 24 至表 27；

3) 检测预热时间 1min~3min 最佳，特别是在 5min 以后，精子活率迅速下降，特别是前向运动精子数的比例大幅下降，其试验结果见表 28 和表 29。

表 20 摇匀时间对种猪常温精液活率的影响

活率 (%)	摇匀时间 (预热 1min)			
	1min	3min	5min	10min
1	93.8	91.8	92.6	91.0
2	98.8	95.8	96.6	92.4
3	95.2	93.2	94.0	94.2
4	97.6	92.6	93.4	93.1
5	96.3	94.3	95.1	91.2
6	95.2	93.2	95.0	90.4
7	97.4	95.1	95.9	92.6
8	92.8	90.8	91.6	94.2
9	93.3	91.9	92.7	92.0
10	96.7	94.9	95.7	90.1
平均值	95.7	93.4	94.3	92.1
相对偏差	2.0	1.6	1.7	1.5

表 21 摇匀时间对种猪常温精液密度的影响

密度 (百万/毫升)	摇匀时间 (预热 1min)			
	1min	3min	5min	10min
1	86.3	85.8	67.5	57.4
2	77.3	76.1	57.8	59.5
3	84.7	86.0	66.0	57.2
4	78.5	78	59.7	56.3
5	70.4	69.9	51.6	54.2
6	73.3	74.0	55.7	52.9
7	72.6	73.3	60.0	58.6
8	76.2	77.0	58.7	59.3
9	76.0	75.5	56.2	54.1
10	69.0	67.3	49.0	52.9
平均值	76.4	76.3	58.2	56.2
相对偏差	5.6	6.0	5.7	2.6

表 22 摇匀时间对种猪常温精液快速前进活力的影响

快速前进活力 (%)	摇匀时间 (预热 1min)			
	1min	3min	5min	10min
1	82.0	74.0	84.0	84.1
2	80.8	73.8	83.8	82.6
3	77.2	70.2	82.0	84.2
4	79.6	72.6	82.6	83.0
5	78.3	71.3	81.3	84.6
6	77.2	69.0	80.9	82.4
7	79.4	71.0	84.8	84.2
8	75.8	68.8	79.5	84.0
9	76.3	69.3	79.3	84.1
10	79.0	72.0	83.0	83.9
平均值	78.6	71.2	82.1	83.7
相对偏差	2.0	1.9	1.9	0.8

表 23 摇匀时间对种猪常温精液活率、密度及快速前进活力的影响

摇匀时间	1min	3min	5min
活率 (%)	95.7±2.0	93.4±1.6	94.3±1.7
密度 (百万/毫升)	76.4±5.6 ^a	76.3±6.0 ^a	58.2±5.7 ^b
快速前进活力 (%)	78.6±2.0 ^a	71.2±1.9 ^b	82.1±1.9 ^a

注：表中字母上标不相同代表差异显著 (P<0.05)

表 24 取样液面高度对种猪常温精液活率的影响

活率 (%)	取样液面高度 (预热 1min, 倾斜 45°, 10μL)			
	0.1cm	0.8cm	1.5cm	2.2cm
1	90.8	91.8	94.6	93.9
2	95.8	98.0	98.6	97.9
3	92.2	93.2	96.0	95.3
4	94.6	95.0	95.4	94.7
5	93.3	94.3	97.1	96.4
6	92.2	93.2	97.0	96.3
7	90.0	95.1	97.1	96.4
8	89.8	94.0	96.5	95.8
9	90.3	91.9	94.7	94.0
10	93.1	95.1	97.7	97.0
平均值	92.2	94.2	96.5	95.8
相对偏差	2.0	1.8	1.3	1.3

表 25 取样液面高度对种猪常温精液密度的影响

密度 (百万/毫升)	取样液面高度 (预热 1min, 倾斜 45°, 10 μ L)			
	0.1cm	0.8cm	1.5cm	2.2cm
1	56.5	68.0	88.5	80.4
2	46.8	58.9	79.5	71.1
3	54.0	67.0	86.9	71.5
4	48.1	60.3	80.7	76.3
5	40.6	51.7	72.6	70.0
6	44.7	57.9	75.5	72.3
7	48.0	62.3	74.8	68.3
8	47.7	59.0	78.4	72.0
9	45.2	57.3	78.2	71.7
10	38.0	50.3	71.2	70.0
平均值	47.0	59.3	78.6	72.4
相对偏差	5.5	5.7	5.6	3.5

表 26 取样液面高度对种猪常温精液快速前进活力的影响

快速前进活力 (%)	取样液面高度 (预热 1min, 倾斜 45°, 10 μ L)			
	0.1cm	0.8cm	1.5cm	2.2cm
1	77.3	84.1	87.9	56.9
2	77.1	83.9	87.7	56.7
3	73.5	80.3	84.1	53.1
4	75.9	84.5	88.3	57.3
5	74.6	81.4	85.2	54.2
6	73.5	80.3	84.1	53.1
7	75.7	78.2	82.0	51.0
8	72.1	80.6	84.4	53.4
9	72.6	79.4	83.2	52.2
10	75.3	83.2	87.0	56.0
平均值	74.8	81.6	85.4	54.4
相对偏差	1.8	2.2	2.2	2.2

表 27 取样液面高度对种猪常温精液活率、密度及快速前进活力的影响

取样液面深度	0.1cm	0.8cm	1.5cm	2.2cm
活率 (%)	92.2 \pm 2.0	94.2 \pm 1.8	96.5 \pm 1.3	95.8 \pm 1.3
密度 (百万/毫升)	47.0 \pm 5.5 ^c	59.3 \pm 5.7 ^b	78.6 \pm 5.6 ^a	72.4 \pm 3.5 ^a
快速前进活力 (%)	74.8 \pm 1.8 ^b	81.6 \pm 2.2 ^a	85.4 \pm 2.2 ^a	54.4 \pm 2.2 ^c

注：表中字母上标不相同代表差异显著 (P<0.05)。

表 28 取样量对种猪常温精液活率、密度及快速前进活力的影响

		取样体积 (摇匀 1min-3min, 倾斜 45°, 液面高度 1.5cm)						
		1 μ L	2 μ L	4 μ L	6 μ L	8 μ L	10 μ L	20 μ L
预热 1min	活率(%)	80.5	84.2	89.2	90.6	88.7	94.1	99.2
	密度(百万/毫升)	21.4	14.5	28.9	47.9	36.9	60.6	143.1
	快速前进活力(%)	67.3	62.3	82.5	74.7	76.4	79.4	91.9
预热 3min	活率(%)	85.9	84.2	89.6	87.6	85.2	94.4	99.2
	密度(百万/毫升)	22.3	15.2	27.6	32.3	27.8	40.7	146.9
	快速前进活力(%)	73.8	64.0	78.4	59.4	65.0	69.0	91.1
预热 5min	活率(%)	90.7	83.2	89.9	84.1	84.5	93.1	99.0
	密度(百万/毫升)	22.9	14.9	28.3	31.2	26.2	35.7	114.3
	快速前进活力(%)	74.8	46.9	70.7	56.9	54.4	47.3	85.1
预热 7min	活率(%)	86.9	81.3	93.4	81.7	80.1	92.2	98.5
	密度(百万/毫升)	20.6	13.1	30.0	27.4	23.9	34.2	94.8
	快速前进活力(%)	58.1	40.0	66.8	46.6	42.6	37.5	81.5
预热 9min	活率(%)	86.7	79.7	92.5	69.6	79.0	92.7	92.9
	密度(百万/毫升)	21.6	13.6	27.0	25.1	22.9	33.8	78.8
	快速前进活力(%)	45.8	33.7	62.0	28.5	36.2	34.6	60.9

表 29 预热时间对种猪常温精液活率、密度及快速前进活力的影响

预热时间	1min	3min	5min	7min	9min	10min
活率(%)	93.6 \pm 5.8 ^a	93.8 \pm 5.2 ^a	93.0 \pm 6.5 ^a	92.1 \pm 4.7 ^a	89.7 \pm 5.3 ^a	45.3 \pm 7.4 ^b

密度(百万/毫升)	64.1±3.8 ^a	52.0±4.7 ^b	45.3±4.6 ^b	46.4±3.4 ^b	42.2±5.3 ^b	40.7±6.6 ^{bc}
快速前进活力	82.6±5.5 ^a	74.0±7.3 ^a	60.3±6.8 ^b	51.4±5.7 ^b	45.0±6.4 ^c	18.5±7.1 ^d

2.11 精子活力要求保持不变

众所周知，精子活力与其稀释液的类型、保存条件和保存时间有关，只要产品在有效期内，任何时间段检测均应满足最低的活力要求，即精子活力 $\geq 60\%$ ，为了验证在一定密度条件下，保存 72h 后，不同品种的常温精液均能保证活力值，只有 DD 在 0.1 亿/mL 活力存在明显下降趋势，0.2~0.8 亿/mL 均处于合格状态，本标准修订的精液密度最低要求为 0.375 亿/mL 和 0.333 亿/mL，见图 11 不同品种不同密度 24h~72h 活力变化图，因此在 9.4 中规定“生产企业应给出常温精液产品的保质期。保质期应不少于 72h”。

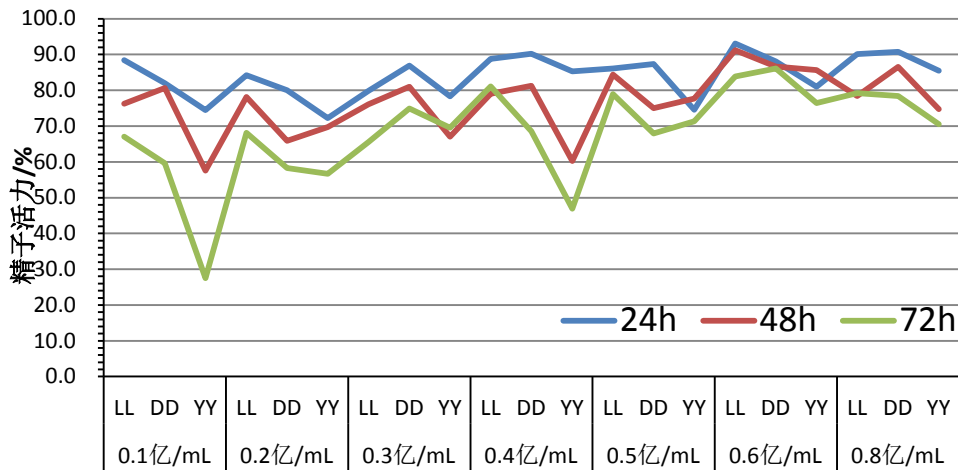


图 11 不同品种不同密度 24h~72h 活力变化图

三、与有关法律、行政法规和其他强制性标准的关系，配套推荐性标准制定情况

1.与有关法律、行政法规的关系

猪常温精液是生猪生产的遗传材料，国家相关的法律、法规有明确规定和要求，是属于国家及政府重点强制监管产品。相关法律法规与强制性标准的关系，具体有以下各方面：

《中华人民共和国畜牧法》第三章 23 条、24 条，《中华人民共和国动物防疫法》第一章 18 条、第三章 46 条及《中华人民共和国农业部 2015 年第三号令》中均有明确规定和要求：冷冻精液的生产经营必须申请取得政府颁发的《生产经营许可证》；及种用动物及其精液的健康与卫生条件符合相关条例的要求等。

本标准的修订均与我国现行的法律法规相适应，为《中华人民共和国畜牧法》在种畜禽（种猪）管理的标准依据上得到了及时的修订与补充，有效的解决了生产中的实际问题，提升了优秀种公猪的使用效率，能在很大程度上推动行业的进步和发展。

2.与其他强制性标准配套推荐性标准的关系

与 GB/T 25172-2010 猪常温精液生产与保存技术规范、NY/T 636-2002 猪人工授精技术规程互为补充，GB/T 25172-2010 标准的产品类别需要修订并满足本标准修订后的技术要求，NY/T 636-2002 标准的输精章节应予以修订，增加深部输精的方式。

四、与国际标准化组织、其他国家或地区相关法律法规和标准的比对分析

1. 与其他国家或地区法律法规比对

本标准的技术要求达到国际发达国家同期水平，满足市场和科技进步的需求。欧洲国家的常规输精量每次的剂量都在 80 mL ~100 mL，美国执行的产品为 80 mL/剂，而加拿大执行的是 70 mL/剂，英国执行的 75 mL/剂；而活力要求均在 60% 以上，部分欧洲国家要求在 70% 以上；在前向运动精子项目上，欧洲国家最低的是 14 亿/剂，而美国和加拿大在 20 亿/剂。本标准修订后均可满足瘦肉猪的输精质量要求。与欧美等发达国家关于种畜禽遗传物质的管理包括进出口要求无冲突。且因为常温精液保质期的问题，国际上并无常温精液的进出口贸易。

2. 与国际标准的比对

国际上没有同类型的标准，无法比对。

五、重大分歧意见的处理经过、处理意见及其依据

暂无重大分歧意见。

六、对强制性国家标准自发布日期至实施日期之间的过渡期（以下简称为过渡期）的建议及理由，包括实施强制性标准的所需的建议

1. 建议标准修订完成、报批发布后，建议组织标准宣贯培训班，特别是仪器法的推广应用，以有利于标准的贯彻与普及，提高企业的采标效率。

2. 开展实验室的能力验证比对，特别是仪器法的比对，以优化改进仪器设置和软件统一规范，以提高生产、使用和第三方检验检测机构对标准的应用水平，规范检验检测的行为。

3. 本标准的实施主要成本投入是精子质量分析仪的投入，各实验室应由普通显微镜更换为专业的精子质量分析仪（含软件和配套的专用耗材），以达到本标准规定的配置要求。建议本标准实施后原产品的允许过渡期为12个月，因各公猪站还存在缺乏满足标准所需的仪器设备，参数调整和试运行，生产工艺路线需要时间调整，部分检测方法发生了很大的改变，需要进一步宣传贯彻和培训。本标准发布后，建议农业农村部有关行业主管部门开展修订标准的宣贯、推广和培训。

七、与实施强制性国家标准有关的政策措施，实施监督管理部门以及对违反强制性国家标准行为进行处理的有关法律、行政法规、部门规章依据等

标准实施后，农业主管部门和全国畜牧总站均可依《畜牧法》和《标准化法》对从事种公猪精液生产经营的国内外企业开展监督和管理。我国《强制性国家标准管理办法》第五十二条规定“强制性国家标准对内资企业和外商投资企业平等适用。”《中华人民共和国标准化法》第十四条规定“强制性标准，必须执行。”

《标准化法实施条例》第三十三条规定：生产不符合强制性标准的产品的，应当责令其停止生产，并没收产品，监督销毁或作必要技术处理；处以该批产品货值金额百分之二十至百分之五十的罚款；对有关责任者处以五千元以下罚款。销售不符合强制性标准的商品的，应当责令其停止销售，并限期追回已售出的商品，监督销毁或作必要技术处理；没收违法所得；处以该批商品货值金额百分之十至百分之二十的罚款；对有关销售者处以五千元以下罚款。进口不符合强制性标准的产品的，应当封存并没收该产品，监督销毁或作必要技术处理；处以进口产品货值金额百分之二十至百分之五十的罚款；对有关责任者给予行政处分，并可处以五千元以下罚款。本条规定的责令停止生产、行政处分，由有关行政主管部门决定；其他行政处罚由标准化行政主管

部门和工商行政管理部门依据职权决定。第三十四条规定：生产、销售、进口不符合强制性标准的产品，造成严重后果，构成犯罪的，由司法机关依法追究直接责任人员的刑事责任。

行政主管部门依据《行政处罚法》第三十六条规定“行政机关发现有依法应当给予行政处罚的行为的，必须全面、客观、公正地调查，收集有关证据。”和第三十七条规定“行政机关在调查或者进行检查时，当事人或者有关人员应当如实回答询问，并协助调查或者检查，不得阻挠。”同时《治安管理处罚法》第五十条第二款规定“阻碍国家机关工作人员依法执行职务的处警告或者二百元以下罚款；情节严重的，处五日以上十日以下拘留，可以并处五百元以下罚款。”

从行业角度看，我国规定种畜禽的精液为基因库类的遗传资源，根据《畜禽遗传资源保种场保护区和基因库管理办法》第十九条规定，全国畜牧总站负责对国家级畜禽遗传资源保种场、保护区、基因库的保种工作进行检查。发现保种工作中存在重大问题的，应当责令限期整改，并及时向农业部提出处理建议。《畜禽新品种配套系审定和畜禽遗传资源鉴定办法》第八条规定申请畜禽新品种、配套系审定的，应当向省级人民政府畜牧行政主管部门提交“具有法定资质的畜禽质量检验机构最近两年内出具的检测结果”。《家畜遗传材料生产许可办法》第二十二条规定“农业部可以对取得家畜遗传材料《种畜禽生产经营许可证》的单位和个人实施监督检查和质量抽查，对不符合要求的，通报所在地省级人民政府畜牧兽医行政主管部门处理，必要时由农业部依法处理。”第二十三条规定“县级以上人民政府畜牧兽医行政主管部门依法对家畜遗传材料生产活动实施监督检查和质量抽查，对违反本办法从事家畜遗传材料生产活动的，依照《中华人民共和国畜牧法》的有关规定处罚。”农业农村部制定了《关于加强种畜禽生产经营管理的指导意见》，意见指出要“加大种畜禽执法检查力度，建立种畜禽执法互查互促机制。”

八、是否需要对外通报的建议及理由

建议：不需要对外通报。

理由：虽然国内外均有法律对动物遗传物质进出口进行管理，但因为种猪常温精液保质期短和运输条件的特殊要求（在 $17^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 的避光环境条件下，每 24h 需要轻轻摇动 2~3 次等），目前国际上暂未出现种猪常温精液的贸易，因此不需要对外进行通报。目前中华人民共和国海关总署官方网站（<http://www.customs.gov.cn/>）进出口统计无

种猪常温精液产品进出口的数据。

九、废止现行有关标准的建议

本标准修订完成后自发布实施之日起同时废止原标准。

十、涉及专利的有关说明

无。目前没有识别到与标准有关的专利。

十一、强制性国家标准所涉及的产品、过程及服务目录

本标准所涉及的产品类型为种猪常温精液。涉及到种猪常温精液产品的生产、销售、运输和人工授精等过程，配套的主要有运输箱、人工授精器材等。

十二、其他应当予以说明的事项。

无。

参考文献：

[1]Gonzalez-Pena D , Knox R V , Rodriguez-Zas S L . Contribution of semen trait selection , artificial insemination technique, and semen dose to the profitability of pig production systems: A simulation study[J]. Theriogenology, 2015:S0093691X15004859.

[2]刘志平,白玉妍,王吉助等. 混合精液输精对蓝狐产仔率的影响[J].黑龙江动物繁殖,2003,11(3):26-27.

[3]姚德彪等, 猪输精方法的研究—适度深部输精对提高产仔数和降低精液量的研究黑龙江动物繁殖, 2011, 19(4): 15-18.

[4]杨玲, 刘宁, 杨景晔, 等. 深部输精技术对大约克夏母猪繁殖性能的影响[J]. 山东畜牧兽医, 2016, 37(007):3-5.

[5]《食品质量安全市场准入审查通则(2010版)》.

[6]《T/CNFIA 001-2017 食品保质期通用指南》.

[7]中华人民共和国农业行业标准《种猪术语》(ICS 65.020.30 B43)(标准于 2019.5 进入意见征求阶段, 未发布.)

[8]Gary C. Althouse, Donald G. Levis, John Diehl, Semen Collection, Evaluation and Processing in the Boar[J]. U.S. Pork Center of Excellence, 2006.

[9]尤如华, 杨祖云. 输精剂量和输精次数对母猪情期受胎率和产仔数的影响[J]. 养猪 2014, (3):31-32.

[10]Ruocco V, Ruocco E. Tzanck smear, an old test for the new millennium: when and how. *Int J Dermatol*. 1999;38:830-4.

[11]黄宪希, 周利民. 疟原虫感染组织切片吉姆萨染色法的建立及优化[J]. *中国热带医学*, 2015,15(1): 91-93.

[12]吴慧英, 贾汝敏. 四种活体染色法评定家禽精子形态的研究[J]. *中国家禽*, 2010,32(23): 91-93.

[13]WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen(FIFTH EDITION).