

推荐性行业标准

《鸡冷冻精液生产技术规范》

(公开征求意见稿) 编制说明

XXXX

2025年1月

推荐性行业标准《鸡冷冻精液生产技术规范》

（公开征求意见稿）编制说明

（一）工作简况，包括任务来源、制定背景、起草过程等

1. 任务来源

《鸡冷冻精液生产技术规范》是由全国畜牧业标准化技术委员会归口，根据《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），由XXXX承担制定《鸡冷冻精液生产技术规范》行业标准工作，首席专家为XXX研究员，项目编号是农质标函〔2024〕71号-NYB-24276。标准按GB/T 1.1—2020《标准化工作导则，第1部分：标准的结构和编写规则》进行编制。

2. 制定背景

精液超低温冷冻保存技术是长期保存雄性动物繁殖能力的重要手段，使得精液的使用不受时间、地域的限制，在种质资源长期保存、异地输精等方面具有广阔的应用前景。我国地方家禽遗传资源丰富，收录于《国家畜禽遗传资源品种名录（2021年版）》的鸡品种中包括地方品种115个、培育品种5个、引进品种8个，近年来，又不断有地方鸡资源得到鉴定。利用精液冷冻保存技术可以收集和保存遗传材料，避免遗传多样性流失。响应《国务院办公厅关于加强农业种质资源保护与利用的意见》，要加强畜禽品种资源的收集和基因库建设，开展冷冻精液的收集显得尤为重要。

目前，国内已经建立了相对稳定的鸡精液冷冻保存技术，冻精受精率平均60%，最高可达88%。由于缺乏鸡精液冷冻保存技术标准，限制了该技术的推广普及。本标准的制定，对于提高提升鸡冷冻精液的收集、入库、保存和应用具有重要意义。

3. 起草过程

在该标准起草过程中，已主要进行了以下几方面的工作：

3.1 起草阶段

（1）组成起草工作组

该标准由XXXX牵头，XXXX、XXXX、XXXX、XXXX、XXXX、XXXX等6个单位参与。具体起草单位及人员的组成和分工等如表1所示。

表1 具体起草单位及人员的组成和分工

单位	人员	分工
XXXX	XXX、XXX、XXX、XXX、XXX	调研、标准起草、修改与定稿
XXXX	XXX、XXX、XXX	技术对比分析、协调调研、标准修改
XXXX	XXX	技术对比分析、协调调研、标准修改
XXXX	XXX	技术验证、协调调研，标准修改
XXXX	XXX	技术验证、协调调研，标准修改
XXXX	XXX	技术验证、协调调研，标准修改
XXXX	XXX	技术验证、协调调研，标准修改

(2) 收集和分析相关参考文献

在编制过程中，针对前期研究成果开展了检测方法的优化和验证工作。起草小组查阅了国内外相关标准和文献资料，参考了其他行业部门制定的类似的标准方法。目前，尚无直接相关的国际标准。联合国粮食及农业组织（FAO）2023年出版的《Innovations in cryoconservation of animal genetic resources - Practical Guide》中介绍了鸡、鹅、鸭和珍珠鸡等精液的冷冻方法。本标准在制定过程中参考和对比了FAO的方法，本标准推荐的精液冷冻保存技术方案在北京油鸡等多个品种中验证，稳定性和可靠性更高。

主要收集到与本标准相关的技术标准资料见表2。

表2 国内相关现行标准及与本标准的关系

序号	标准编号	标准名称	与本标准关系
1	GB/T 1.1-2020	标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写规则	为本标准的结构和编写提供依据。
2	GB 4143-2022	牛冷冻精液	为标准冷冻精液的命名、技术要求、抽样、试验方法、判定规则和标记及包装的制定提供依据。

3	GB 20557-2006	山羊冷冻精液	为标准冷冻精液的命名、新鲜精液与冷冻精液技术要求、抽样、试验方法、判定规则和标志、包装、运输、贮存制定提供依据。
4	GB/T 30396-2013	牛冷冻精液包装、标签、贮存和运输	为标准冷冻精液的包装、运输、贮存的制定提供依据。
5	GB/T 31582-2015	牛性控冷冻精液	为标准冷冻精液技术要求、抽样、试验方法、判定规则和标识、包装的制定提供依据。
6	GB/T 31581-2015	牛性控冷冻精液生产操作规程	为标准冷冻精液生产的器械清洗和消毒、稀释液配制、采精、精液处理、精子分离、冷冻、解冻、检验、包装、贮存及运输的制定提供依据。
7	NY/T 3796-2020	马和驴冷冻精液	为标准细管冷冻精液的术语和定义、技术要求、取样、试验方法、检验规则、标志、标签和随行文件、包装、运输和储存的制定提供依据。
8	NY/T 3444-2019	牦牛冷冻精液生产操作规程	为标准冷冻精液生产程序，规定了牦牛冷冻精液生产的器具清洗和消毒、精液采集、精液处理、精液冷冻的制定提供依据。
9	NY/T 3186-2018	羊冷冻精液生产操作规程	为标准冷冻精液生产的基本要求、采精技术、精液处理、精液冷冻、质量检验、包装、储存和记录的制定提供依据。
10	NY/T 1234-2018	牛冷冻精液生产操作规程	为标准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、储存及记录的制定提供依据。
11	NY/T 3458-2019	种鸡人工授精技术规程	为标准种公鸡挑选与训练、精液品质评定、器具与人员要求、采精、输精、精液稀释方法的制定提供依据。
12	NY/T 4047-2021	家禽精液品质检测方法	为标准精液外观、精液量、精子活力、精子存活率、精子密度、精子畸形率和精液pH值等作为精液品质检测的主要技术内容的制定提供依据。

13	DB43/T 2412-2022	鸡冷冻精液制作技术规程	为标准精液冷冻的器具清洗与消毒，精液采集、稀释与质量检测，细管精液制作，细管冷冻解冻及活力检测，细管冷冻精液的保存的制定提供依据。
14	DB43/T 2708-2023	鸭冷冻精液制作技术规程	为标准精液制作的准备工作，精液采集与稀释，质量检测，细管冷冻精液制作，细管冷冻精液品质检测，存储和运输，数据记录的制定提供依据。
15	DB41/T 2371-2022	猪冷冻精液生产技术规范	为标准精液采集、稀释液配制、品质检查、精液冷冻、解冻品质检测、冻精包装、储存及运输等内容的制定提供依据。

主要收集到与本标准相关的经典文献和专著如下所列。

- 1) 全国畜牧总站编写，猪冷冻精液生产及使用技术手册，中国农业科学技术出版社，2020.
- 2) 陈继兰主编，鸡雄性生殖能力的评价与调控，中国农业科学技术出版社，2023.
- 3) 侯云鹏，朱光斌，傅祥伟主编，动物配子与胚胎冷冻保存原理及应用，北京:科学出版社，2016.
- 4) 牛冷冻精液生产质量管理手册，北京:中国农业出版社，2006.
- 5) Sun Y, Li L, Zong Y, Mehaisen G M, Chen J. Poultry genetic heritage cryopreservation and reconstruction: advancement and future challenges. J. Anim. Sci. Biotechnol. 2022, 13(1):115.
- 6) Zong Y, Sun Y, Li Y, Mehaisen G M, Yuan J, Ma H, Ni A, Wang Y, Hamad S K, Elomda A M, Abbas A O, Chen J. Effect of glycerol concentration, glycerol removal method, and straw type on the quality and fertility of frozen chicken semen. Poult. Sci. 2022, 101(6): 101840.
- 7) Mehaisen, G. M. K.; Elomda, A. M.; Hamad, S. K.; Ghaly, M. M.; Sun, Y.; Li, Y.; Zong, Y.; Chen, J.; Partyka, A.; Nazmi, A.; Abbas, A.O.; Stino, F. K. R. Effect of dimethylacetamide concentration on motility, quality, antioxidant biomarkers, anti-freeze gene expression, and fertilizing ability of frozen/thawed rooster sperm. Animals 2022, 12: 2739.

- 8) Nizam, M. Y.; Selcuk, M. Evaluation of rooster semen frozen with shilajit containing extender. EDUVET International Veterinary Sciences Congress 2021: 25-27.
- 9) Woelders, H. Cryopreservation of avian semen. *Methods in Molecular Biology* 2021, 2180:379-399.
- 10) Yáñez-Ortiz, I.; Catalán, J.; Rodríguez-Gil, J. E.; Miró, J.; Yeste, M. Advances in sperm cryopreservation in farm animals: Cattle, horse, pig and sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 2021: 106904.
- 11) Svoradova, A.; Kuzelova, L.; Vasicek, J.; Balazi, A.; Chrenek, P. Perspective: Rooster spermatozoa cryopreservation and quality assessment. *Cryo. Lett.* 2021, 42: 59-66.
- 12) Wiebke, M.; Hensel, B.; Nitsche-Melkus, E.; Jung, M.; Schulze, M. Cooled storage of semen from livestock animals (part I): boar, bull, and stallion. *Anim. Reprod. Sci.* 2021:106822.
- 13) Bustani, G. S.; Baiee, F. H. Semen extenders: An evaluative overview of preservative mechanisms of semen and semen extenders. *Vet. World.* 2021, 14:1220-1233.
- 14) Han, X. F.; Niu, Z. Y.; Liu, F. Z.; Yang, C. S. Effects of diluents, cryoprotectants, equilibration time and thawing temperature on cryopreservation of duck semen. *Inter. J. Poult. Sci.* 2005, 4: 17.
- 15) 宗云鹤, 李云雷, 徐松山, 倪爱心, 袁经纬, 麻慧, 武艳平, 江琳琳, 王攀林, 石雷, 陈超, 谢金防, 孙研研, 陈继兰. 鸡精子抗冻性种间差异及其与精浆生化指标和候选基因表达的相关性, *中国家禽*, 2020, 42(12): 6-13.
- 16) 阳小胡, 孙鏖, 贾杏林, 朱立军, 蒋桂韬, 燕海峰. 甘油浓度与冷冻速率对鸡细管冻精质量的影响. *家畜生态学报*, 2018, 39(5):46-51.
- 17) 张晓华, 曹江丽, 高帅, 姚亚铃, 郭英, 燕海峰. 以DMA为保护剂的鸡精液抗冻性分析. *中国家禽*, 2019, 41(21):58-61.
- 18) 喻宗岗, 蒋隽, 燕海峰, 谢农村. 畜禽精液冷冻损伤保护研究进展. *中国*

畜牧杂志, 2019, 55(2):33-38.

(3) 标准工作组讨论稿的起草

2024年3月-6月，标准起草工作组在总结前期试验研究成果和文献的基础上，共同研究起草编制了标准工作组讨论稿和标准工作组讨论稿编制说明。

(4) 召开标准起草研讨会

2024年8月19日，起草工作组召开“《鸡冷冻精液生产技术规范》研讨会”，全国畜牧总站朱芳贤研究员，湖南省畜牧兽医研究所燕海峰研究员等制表参与单位的相关专家参加了本次研讨，对标准起草思路、主要内容和难点问题进行讨论。

(5) 标准征求意见稿的起草

2024年9月，根据GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写规则》的规定，本着严格遵循科学依据，并且实用、准确的原则，标准起草工作组共同研究起草编制了标准的征求意见稿和征求意见稿编制说明。

3.2 定向征求意见

(1) 征求意见情况

发放范围：如表所示的21个单位，其中畜牧相关行政和技术推广应用单位4家，大学和科研机构17家。总共发函数为24份，具体如表3所示。

发放的材料：征求意见稿、征求意见稿编制说明和意见反馈表。

发放的方式：微信和电子邮件

发放的时间：2024年10月

表3 定向征求意见单位信息

类型	征求意见单位名称	征求意见人员
大学和科研机构	南京农业大学	金穗华
	中国农业科学院北京畜牧兽医研究所	王栋
	重庆市畜牧科学院	潘红梅
	上海市农业科学院	戴建军
	上海市农业科学院	张德福
	江苏省家禽科学研究所	刘一帆
	江苏省家禽科学研究所	高玉时
	中国水产科学研究院长江水产研究所	叶欢

类型	征求意见单位名称	征求意见人员
	贵州省畜牧兽医研究所	周文章
	安徽省农业科学院畜牧兽医研究所	詹凯
	湖北省农业科学院	梅书琪
	湖北省农业事业发展中心	易俊东
	扬州大学	陈国宏
	华南农业大学	张哲
	华南农业大学	聂庆华
	中国农业大学	李俊英
	湖南农业大学	贺长青
	四川农业大学	尹华东
	华中农业大学	龚炎长
	河南农业大学	李转见
行政与推广应用部门	全国畜牧总站	刘丑生
	三穗县农业农村局	姚碧琼
	山东省畜牧总站	曲绪仙
	北京奶牛中心	张晓霞

（2）意见反馈与处理情况。

发函的24份中，累计收回来自21个单位的累计24份回函，其中有意见24个，没有意见的0个。共提出96条意见，其中采纳51条，部分采纳14条和不采纳31条。标准起草小组对所提出的建议进行了慎重的考虑和分析并鉴别采纳，对标准征求意见稿进行修改，2024年12月形成标准预审稿。

3.3 预审阶段

2025年1月8日，中国农业科学院北京畜牧兽医研究所组织专家对本单位起草的农业行业标准《鸡冷冻精液生产技术规范》（预审稿）进行了认真审查。专家组由高玉时、李慧芳、王彦平、潘红梅、戴建军、詹凯、张育润、刘华贵、李婷婷组成。在听取起草专家汇报的基础上，专家组审查了标准文本及编制说明，提出如下修改意见：

1. 增加“平衡”术语定义。2. 在“准备工作”中增加器具与耗材的清洗和消毒、仪器检定与校准等相关内容。3. 合并调整第5、6、7章相关内容。4. 稀释精液和解冻精液的质量要求以表格形式呈现。5. “冻精的贮存与运输”内容应按照GB/T30396的要求执行。6. 进一步修改与完善编制说明。7. 按GB/T1.1-2020、GB/T20001.5-2017的要求进一步规范标准文本。意见汇总表见附件1。专家组一致同意审查通过。

3.4 形成标准公开征求意见稿

标准起草小组对所预审会相关专家提出的建议对标准文本和编制说明进行了相应的修改，2025年1月形成标准公开征求意见稿，报全国畜牧业标准化技术委员会秘书处。

(二) 标准编制原则和主要内容及其确定依据

1. 编制原则

本标准的制订坚持先进性、科学性、广泛性和可操作性为基本原则，在参考FAO相关推荐标准情况下，立足于我国国情，增强可操作性，提高标准适用面。此外，尽力保持与现行的有关标准相衔接、协调一致。在编制过程中，严格按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则第1部分：标准的结构和编写规则》的要求进行编写，坚持高标准，严要求，博采众家之长，无论在收集资料、查询文献过程中，还是资料分析中，以科学严谨的态度对待标准指定过程中的每一个环节，突出科学性与适用性，尊重国内同行专家的意见，努力提高标准的编制质量。

2. 主要内容及其确定依据

下面结合标准文本中对应章节具体内容阐述。

2.1 术语和定义

术语和定义为本文件第三章内容，本章对冷冻精液、平衡、细管、贮精管、精子密度、精子活力等在文件中频繁出现、属于文件范围所限定的领域内的专业术语进行了定义。具体标准内容、理由及依据如下：

标准内容：

3.1

冷冻精液 frozen semen

冻精

经特定方法处理后，在液氮（-196℃）中可长期保存受精能力的精液。

理由及依据：

冻精即冷冻精液的简称，GB 4143-2022《牛冷冻精液》中对冷冻精液进行了定义，其中第3章定义了冷冻精液指经特殊方法处理的精液超低温冷冻后在液氮中（-196℃）长期保存。本标准参照GB 4143-2022定义。

3.2

平衡 equilibrium

稀释后的精液放置在特定环境条件下静置一段时间，使得精子内外液体在温度、水分、冷冻保护剂、电解质、渗透压和酸碱度等方面达到一种稳定状态的过程。

理由及依据：

平衡是精液冷冻保存技术中常见的术语，NY/T 1234-2018《牛冷冻精液生产技术规程》、GB 20557-2006《山羊冷冻精液》、GB/T 31581-2015《牛性控冷冻精液生产技术规程》、NY/T 3444-2019《牦牛冷冻精液生产技术规程》等相关标准中频繁出现。根据精液冷冻保存的目的，在精液保存过程中，需要创造一个适宜的内部和外部环境平衡状态，以维持精液中精子的活力、受精能力等重要生理特性，这包括精子细胞内外物质浓度的平衡、酸碱度（pH）的平衡、气体交换的平衡等诸多方面。

3.3

细管 straw

由聚乙烯复合材料制成，容积为 0.25 mL 或 0.50 mL，分装精液用于冻精生产的塑料管。

[来源：NY/T 1234-2018，3.5，有修改]

理由及依据：

NY/T 1234-2018《牛冷冻精液生产操作规程》对细管进行了定义，其中第3章定义了细管指用于分装精液的聚乙烯复合材料的塑料管。本标准参照NY/T 1234-2018定义。

3.4

贮精管 goblet

一端封闭另一端开口的用于贮存细管冻精的柱形器材。

[来源：GB/T 30396-2013，3.5，有修改]

理由及依据：

GB/T 30396-2013《牛冷冻精液包装、标签、贮存和运输》对贮精管进行了定义，其中第3章定义了贮精管指用于一端封闭另一端开口的柱形贮存细管冷冻精液的容器。要求管体厚薄均匀一致，在常温至超低温环境下不变形、不破裂。本标准参照GB/T 30396-2013定义。

3.5

精子密度 sperm concentration

单位体积精液中的精子数。

注：单位为 10^8 个/mL。

[来源：GB/T 25172-2020，3.4，有修改]

理由及依据：

GB/T 25172-2020《猪常温精液生产与保存技术规范》对精子密度进行了定义，其中第3章定义了精子密度指单位体积精液中的精子数。本标准参照GB/T 25172-2020定义。

3.6

精子活力 sperm motility

在 37℃ 环境下前向运动精子数占总精子数的百分率。

[来源：GB 4143-2022，3.1，有修改]

理由及依据：

GB 4143-2022《牛冷冻精液》对精子活力进行了定义，其中第3章定义了精子活力指在37℃环境下前进运动精子占总精子数的百分率。本标准参照GB 4143-2022定义。

2.2 准备工作

准备工作为本文件的第四章节内容，本章规范了主要设备、器具与耗材、精液稀释液和冷冻保护液、公鸡挑选与采精训练、操作环境的基本要求。具体内容、理由及依据如下：

标准内容：

4.1 主要设备、器具与耗材

4.1.1 按照附录A准备主要仪器、器具与耗材。

4.1.2 鸡精液接触的所有用具的使用遵循等温原则，进行预热或者预冷。

4.1.3 计量器具（如温度计、电子天平、量筒、移液器）、金属浴/水浴装置、显微镜恒温载物台等应按照规定时间进行检定或校准。

4.1.4 器具与耗材的清洗和消毒操作应按照NY/T 1234和NY/T 3458的规定执行。

理由及依据：

NY/T 1234-2018《牛冷冻精液生产技术规程》对仪器设备进行了要求，其中第4章要求了“4.1.1 仪器设备的配置应满足牛冷冻精液生产的要求。4.1.2 仪器设备运行正常，定期进行维护保养。4.1.3 计量器械（如温度计、天平、量筒、移液器）、恒温箱、水浴箱、显微镜恒温载物台的压力容器等应按照规定时间进行检定或校准。”

此外，鸡精子对温度变化极其敏感，因此要求与鸡精液接触的所有用品、用具应遵循等温原则，提前进行预热或者预冷。NY/T 3458-2019《种鸡人工授精技术规程》对采精器械准备进行了规范。6.1 将消毒过的采精用品放到收纳箱中待用，采精前将保温杯的水温调至35℃~36℃，集精管使用前先预温，然后用纱布包裹好待用。NY/T 1234-2018《牛冷冻精液生产技术规程》对采精进行了规范，6.5 采精时，采精器内温度控制在38℃~40℃之间，根据季节和不同的牛，温度可做适当调整，最高不得超过43℃。DB43/T 2412-2022《鸡冷冻精液制作技术

规程》对器具与耗材进行了规范，其中第4章要求了“细管、细管搓板、细管承载泡沫框等细管精液制作具使用前置于2℃~5℃保温箱中，温度平衡后待用”。

DB41/T 2371-2022《猪冷冻精液生产技术规范》对仪器设备进行了要求，其中第4章要求了“4.6.1 仪器设备的配置应满足猪冷冻精液生产的要求（生产仪器设备见附录A）。4.6.2 仪器设备运行正常，定期进行维护保养。4.6.3 计量仪器（电子天平、恒温箱等）、超纯水仪、恒温热台、高压锅等应定期校准或维护保养。4.6.4 用品、器具等应按要求进行清洗和消毒。清洗和消毒应符合 NY/T 1234-2018 附录 A 中的规定。”

NY/T 1234-2018《牛冷冻精液生产规程》对冷冻精液生产器具清洗和消毒进行了规范。A.1首次使用的玻璃器皿用自来水冲洗后放入5%稀盐酸中浸泡12 h,取出后立即用自来水冲洗；再用手工或超声波清洗器在加有洗涤剂的温热水中进行刷拭；然后,用自来水冲洗干净；最后，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封口后送入消毒灭菌设备（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.5细管、冷冻架使用前使用紫外线消毒30 min。

综上，本标准参照 NY/T 1234-2018《牛冷冻精液生产规程》、DB41/T 2371-2022《猪冷冻精液生产技术规范》、NY/T 3458-2019《种鸡人工授精技术规程》并结合实际操作所需要，对鸡冻精生产的主要仪器、器具与耗材进行了规范。为保证标准文本整体结构，仪器、器具与耗材的具体信息放入附录A。

标准内容：

4.2 精液稀释液和冷冻保护液

4.2.1 按照附录B配制、保存稀释液和冷冻保护液。

4.2.2 使用时遵循等温原则，进行预热或者预冷。

理由及依据：

GB 4143-2022《牛冷冻精液》对稀释液配制进行了规范，通则即为“试剂中除非另有规定，仅使用分析纯试剂。试验用水为新制备的去离子水或蒸馏水”。NY/T 1234-2018《牛冷冻精液生产规程》对稀释液配制进行了要求，其中第5章要求了“所有化学试剂为化学纯以上；稀释液溶剂为双重蒸馏水或超纯水”。

DB41/T 2371-2022《猪冷冻精液生产技术规范》对稀释液配制进行了规范，其中第5章要求了“配制稀释液用水应为新鲜无菌的蒸馏水、重蒸水或超纯水。稀释液所用化学试剂应为分析纯以上级别”。因此，本标准规范了鸡冷冻精液生产的稀释液用双蒸馏水或超纯净水定容。

GB/T 31581-2015《牛性控冷冻精液生产规程》对稀释液的灭菌方法进行了规范，“溶液在使用前进行高压蒸汽灭菌（120 kPa，15 min），对于不能高压灭菌的溶液使用 0.22 μm 过滤器进行过滤除菌”。因此，本标准规范了鸡冷冻精液生产的稀释液高压蒸汽灭菌（120 kPa，15 min）。

参考众多文献并基于试验而发明的溶液配方及配制方法。

大量研究表明，畜禽冷冻精液稀释液的组成及各组分的配比对冷冻精子质量会产生不同程度的影响。研究表明稀释液中的糖类对精子质膜有良好保护作用。谷氨酸钠对精子同样有保护作用，在葡萄糖-磷酸盐类鸡精液稀释液中，添加谷氨酸钠优于柠檬酸钠，柠檬酸钠又优于氯化钾。Na²⁺和Mg²⁺等无机盐均能改善公鸡精液保存效果。前期制标团队比较了不同稀释液的冷冻精液的效果，结果表明本文件中稀释液能够实现较好的鸡精子冷冻保存效果（表4）。

表4 不同稀释液对鸡精子冷冻保存效果

稀释液	LPC	L7.1	LC	BHSV	本标准稀释液
乙酸镁	0.7 g	0.8 g	0.8 g	0.7 g	0.8 g
乙酸钾	5.0 g	--	--	5.0 g	--
乙酸钠	--	--	5.1 g	--	--
谷氨酸钠	19.2 g	15.2 g	19.2 g	28.5 g	15.2 g
柠檬酸钾	--	1.28 g	1.28 g	--	1.30 g
还原型谷胱甘肽	0.5 g	0.5 g	0.5 g	--	--
果糖	8.0 g	6.0 g	6.0 g	--	--
葡萄糖	--	--		5.0 g	6.0 g
肌醇	--			2.5 g	--
BES	1.0 g	30.5 g		--	30.5 g
TES	--	--	5.0 g	--	--
PVP	3.0 g	3.0 g	3.0 g	--	--
超纯水	1 L	1 L	1 L	1 L	1 L
PH	7.1	7.1	7.1	6.8	7.0~7.4
渗透压	340 mosm	410 mosm	346 mosm	426 mosm	356 mosm
受精率	10.3%	3%	8.8%	10%	64.31%
活力	20%	10%	20%	25%	40.43%

甘油常用作为鸡细管冻精的冷冻保护剂,但是甘油对家禽而言具有生殖毒性,在解冻后授精前要通过离心法来降低甘油对精子受精能力的影响。前期团队研究了不同甘油浓度和甘油移除方法对鸡精液冷冻保存效果的影响。设计了6个甘油浓度(3%、5%、7%、9%、11%和13%)和6个移除甘油方法(稀释比1:1、1:2、1:4、1:8、1:16和1:20)的36个组合,CASA评估了解冻后精子运动参数和残留甘油浓度。结果表明:3%甘油浓度组显著低于其它组($P < 0.01$);甘油浓度和移除方法对精子运动参数无互作($P > 0.05$)。在相同甘油浓度下,稀释比越大,残留越低,但精子活力下降。综上,5%-7%与1:2组合精子活力和甘油残留浓度均无显著差异。因此本标准中的甘油终浓度为6%,在冻精应用中最终解冻后精液和去甘油稀释液比例为1:2(表5,图1)。

表5 甘油浓度与甘油移除方法对冷冻-解冻精子动力学参数的影响

	组别	MOT (%)	VSL ($\mu\text{m/s}$)	VCL ($\mu\text{m/s}$)	VAP ($\mu\text{m/s}$)	ALH (μm)	WOB (%)	BCF (Hz)	LIN (%)	STR (%)
甘油浓度	3%	28.62±2.24 ^b	17.59±0.58	49.74±2.04	45.36±2.76	0.49±0.02	90.60±2.84	3.03±0.28	34.70±1.16	39.70±1.85
	5%	37.44±1.37 ^a	19.42±0.52	56.45±1.35	52.54±1.51	0.55±0.01	93.00±1.13	2.72±0.14	34.55±0.96	37.24±1.47
	7%	37.93±2.20 ^a	18.74±1.21	53.83±3.26	47.27±4.40	0.53±0.03	85.45±4.63	2.50±0.10	35.90±1.32	42.09±2.75
	9%	40.33±2.40 ^a	16.74±0.97	48.32±2.24	41.15±3.06	0.47±0.02	82.76±3.09	2.40±0.17	34.50±1.30	42.48±2.08
	11%	40.32±2.87 ^a	18.28±0.67	53.07±1.19	47.67±1.64	0.52±0.01	89.64±1.44	3.04±0.27	34.73±1.18	38.70±1.85
	13%	36.65±2.15 ^a	18.23±0.43	53.33±1.73	47.02±2.33	0.52±0.02	87.35±2.21	2.76±0.10	34.35±0.54	40.15±1.90
甘油移除方法	1:1	39.86±3.12	17.88±0.75	47.85±3.25	41.90±4.61	0.47±0.03	85.33±4.22	2.68±0.28	34.78±1.00	42.02±3.57
	1:2	38.84±1.68	18.06±1.04	52.91±2.71	47.40±3.56	0.52±0.03	87.43±3.61	2.54±0.12	33.77±0.75	39.73±1.85
	1:4	34.87±2.70	17.90±1.02	53.93±1.65	48.93±1.83	0.53±0.02	90.50±1.25	2.47±0.17	35.33±0.92	39.03±1.42
	1:8	40.09±2.30	17.91±0.67	52.61±2.11	47.21±2.75	0.51±0.02	88.79±2.39	2.67±0.13	33.64±1.29	39.01±1.64
	1:16	34.25±1.88	18.41±0.48	53.61±1.34	47.09±1.60	0.52±0.01	87.71±1.72	2.86±0.15	34.71±0.77	39.57±1.43
	1:20	33.38±2.11	18.09±0.86	51.23±2.06	44.77±3.18	0.50±0.02	85.57±3.78	2.94±0.25	36.23±1.35	42.64±2.76
P 值	甘油浓度	<0.01	0.27	0.12	0.15	0.11	0.25	0.14	0.99	0.73
	甘油移除方法	0.11	0.99	0.67	0.74	0.67	0.84	0.42	0.65	0.71
	甘油浓度×甘油移除方法	0.64	0.48	0.57	0.58	0.63	0.79	0.64	0.58	0.62

注：主效内同一列的不同字母表示显著差异 ($P < 0.05$)。缩写：MOT，活力(%)；VSL：直线速度 ($\mu\text{m/s}$)；VCL：曲线速度 ($\mu\text{m/s}$)；VAP：平均路径速度 ($\mu\text{m/s}$)；ALH：侧头位移振幅 (μm)；WOB，波动性(%)；BCF，拍交叉频率平均值(Hz)；LIN，直线性(%)；STR，前向性(%)。

Note: Different letters in the same column within the main effect indicate significant differences ($P < 0.05$). Abbreviations: MOT, motility (%); VSL, straight-line velocity ($\mu\text{m/s}$); VCL, curvilinear velocity ($\mu\text{m/s}$); VAP, average path velocity ($\mu\text{m/s}$); ALH, mean amplitude of the lateral head displacement (μm); WOB, wobble (%); BCF, mean of the beat cross frequency (Hz); LIN, linearity (%); STR, straightness (%).

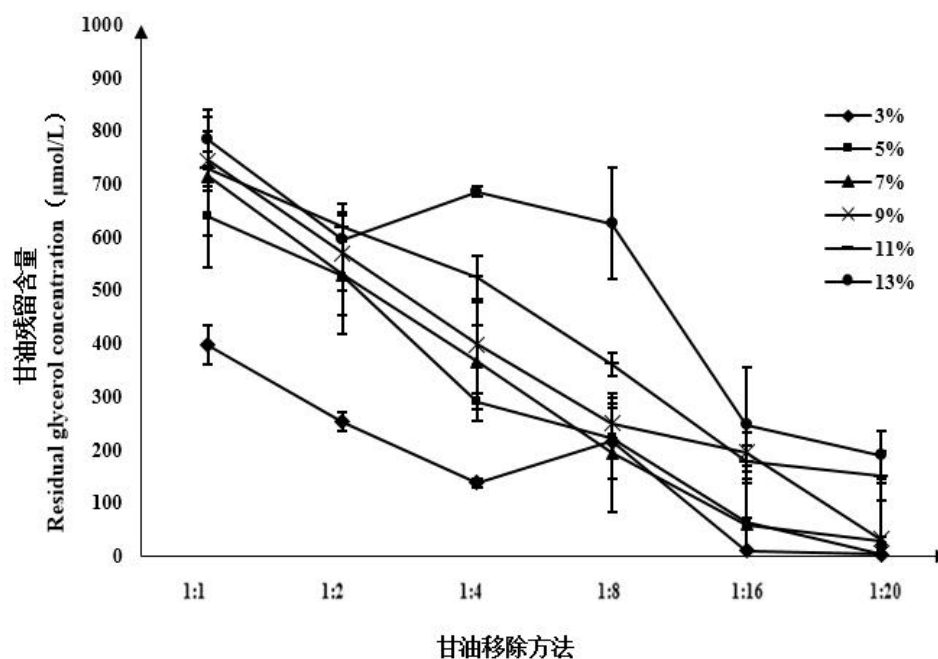


图1.不同甘油浓度组（3%、5%、7%、9%、11%、13%）与不同甘油去除方法（分别按1:1、1:2、1:4、1:8、1:16、1:20逐步稀释至最终稀释比）组合的精子残留甘油含量

鸡精液稀释液的渗透压是关键因素，一般为330~420 mOsm，也有278~434 mOsm，国外报道磷酸盐稀释液(BPSE)渗透压在 340~350 mOsm之间。众多学者的研究表明，渗透压为360~440 mOsm时，利于鸡精液冷冻保存时精子的存活和保存后的受精能力。但普遍认为精液稀释液的渗透压应接近等渗或稍高渗。基于前期制标团队研究结果，家禽精液渗透压值为328 mOsm，综合文献查阅与稀释液成分的调节，目前本标准中稀释液渗透压调节在340~390 mOsm是合理的。

前期制标团队研究结果和进行文献查阅发现，家禽精液pH值整体偏中性（表6），超出合理范围对精子活力和活率有一定影响。因此标准中用1M~3M氢氧化钠调节pH为7.0~7.4。

表6 鸡精液pH值变异范围

品种	周龄	检测方法	样本数	最小值	最大值	平均值	数据来源
北京油鸡	50	pH计	156	6.21	8.07	6.98	自测
藏鸡	50	pH计	119	6.37	8.07	6.99	自测
哥伦比亚洛克	50	pH计	122	6.43	8.27	7.04	自测
芦花	50	pH计	44	6.11	8.53	7.13	自测
洛岛红	50	pH计	83	5.16	8.23	7.01	自测

白来航	50	pH计	37	6.68	8.49	7.55	自测
-----	----	-----	----	------	------	------	----

NY/T 1234-2018《牛冷冻精液生产规程》要求精液评价后可加入一定量的复合抗生素（进行性控冷冻精液生产的必须添加），在稀释液配方中规范了“3种稀释液，每100 mL加青霉素、链霉素各5万IU~5万IU”；GB 20557-2006《山羊冷冻精液》中要求山羊冷冻精液“细菌数≤800个”，“每100 mL稀释液中添加青霉素、链霉素各10万单位”。

制标团队前期为探究不同水平抗生素对鸡冷冻精液抑菌效果及冷冻保存精液质量的影响，筛选出最佳添加量，以期获得在鸡精液冷冻保存入库中的理想效果。试验选择在稀释液和冷冻保护液中添加一定量的青链霉素，采精鸡精液混合均匀后分成3组，分别为无抗组（K0）、抗生素K1/2（500 IU/mL）组和抗生素K2组（1000 IU/mL）。制作鸡细管冷冻精液，检测不同水平抗生素对鸡冷冻精液活力和受精能力的影响。结果表明K2组受精率显著高于K1/2和K0组（ $P<0.05$ ），孵化率抗生素组比无抗组显著提高（ $P<0.05$ ），整体效果K2组最高（表7）；解冻后活力无显著差异，但20240609和20240618，K2组活力均高于其它组（表8）。

综上，本标准推荐鸡冷冻精所有稀释液每100 mL中添加青霉素、链霉素各10万单位，现配现用。

为保证标准文本整体结构，精液稀释液和冷冻保护液的配制放入附录B。此外，鸡精子对温度变化极其敏感，因此要求与鸡精液接触的稀释液和冷冻保护液应遵循等温原则，提前进行预热或者预冷。

表7 不同水平抗生素稀释液冻精液受精率结果

组别	输精前活力	入孵蛋/个	受精蛋/个	出苗数/只	受精率/%	孵化率/%
K0	0.37±0.06	108	6	4	5.5 ^b	66.67 ^b
K1/2	0.35±0.02	109	10	10	9.18 ^b	100 ^a
K2	0.35±0.02	106	19	19	17.9 ^a	100 ^a

表8 不同水平抗生素鸡冷冻精解冻活力结果

试验时间	K0	K1/2（500IU/mL）	K2（1000IU/mL）
20240609	0.45	0.5	0.5
	0.45	0.45	0.5
	0.45	0.45	0.5
20240611	/	0.45	0.45

	/	0.4	0.45
	/	0.45	0.4
20240613	0.45	0.45	0.45
	0.5	0.4	0.45
	0.5	0.45	0.4
20240618	0.65	0.65	0.675
	0.65	0.65	0.675
	0.65	0.65	0.675
方差分析	0.53±0.09 ^a	0.50±0.09 ^a	0.51±0.10 ^a

参考文献如下：

- 1) 张兆旺.稀释液溶质和渗透压对鸡精子体外存活及形态的影响.中国家禽, 2001, 23(8): 50-52.
- 2) 王世银,张兆旺,张伟.精液稀释液成分对低温保存鸡精子畸形率及存活时间的影响.黑龙江畜牧兽医, 2015, 485(17): 107-109.
- 3) 姚希芳.稀释液 pH 值及渗透压对3~5℃下鸡精液保存效果的影响.甘肃畜牧兽医, 2002, 5: 5-7.
- 4) 金美林, 蔡元. 不同稀释液对鸡精液低温保存影响的研究.甘肃畜牧兽医, 2017, 47(8): 87-88.
- 5) Moce E, Grasseau I, Blesbois E. Cryoprotectant and freezing-process alter the ability of chicken sperm to acrosome react. Anim. Reprod. Sci. 2010, 122: 359-366.
- 6) Zong Y, Sun Y, Li Y, Mehaisen G M, Yuan J, Ma H, Ni A, Wang Y, Hamad S K, Elomda A M, Abbas A O, Chen J. Effect of glycerol concentration, glycerol removal method, and straw type on the quality and fertility of frozen chicken semen. Poult. Sci. 2022, 101(6): 101840.

标准内容：

4.3 公鸡挑选与采精训练

按照 NY/T 3458 的方法挑选公鸡和进行采精训练。

理由及依据：

NY/T 3458-2019《种鸡人工授精技术规程》对种公鸡挑选与训练进行了要求，

其中第3章要求“挑选符合品种要求、雄性特征明显的健康成年公鸡。在正式采精前1周~2周对公鸡采用背腹式按摩法进行采精训练，使公鸡形成条件反射。采精前，剪掉泄殖腔周边直径5 cm~7 cm的羽毛”。NY/T 3458-2019《种鸡人工授精技术规程》对种公鸡采精方法进行了规范，按照第6章要求和方法进行采精。采精时，1人用手抓住公鸡的双腿，使其自然分开，鸡头朝向笼内，鸡尾朝向采精人员，保定公鸡。采用背腹式按摩采精法，1人保定公鸡，1人按摩与收集精液。采精人员左手握住集精管，管口朝外，大拇指堵住管口，右手由公鸡的背部向尾部方向按摩，到尾骨处稍加力，待公鸡尾部翘起、泄殖腔外翻时，右手顺势将鸡尾部翻向背部，并将拇指和食指跨掐在泄殖腔外侧作适当挤压，精液即可顺利排出。精液排出时，左手迅速将管口朝上，接住精液。最后流出的少量水样精液弃掉，精液采满后，集精管放置于36℃保温杯内水浴或者手握集精管保温。每只公鸡每周采精3次~5次为宜。因此本标准参照NY/T 3458-2019《种鸡人工授精技术规程》对公鸡采精训练进行规范。

标准内容：

4.4 操作环境

4.4.1 应避免污染。

4.4.2 冻精制作室环境温度宜为3℃~5℃；如不满足，可在室温条件下在3℃~5℃的冰箱或者低温柜中进行鸡冻精制作。

理由及依据：

为保证获得合格的鸡冷冻精液，应避免污染。此外，鸡精子对温度变化极其敏感，因此要求与鸡精液接触的所有用品、用具应遵循等温原则，提前进行预热或者预冷。冻精制作时，逐步降低温度，为避免温度变化，需在低温环境中进行。冻精制作室、冰箱或者低温柜均可以提供3℃~5℃的低温环境。

2.3 精液采集

本章规范了用于精液采集的要求。

标准内容：

5.1 采精前准备

5.1.1 准备洁净无菌的离心管和精液稀释液，预热至37℃左右。

5.2 采精

5.2.1 按照NY/T 3458的方法采集精液到离心管中。

理由及依据：

DB43/T 2412-2022《鸡冷冻精液制作技术规程》对精液采集前准备进行了规范，其中第5章要求了“根据所采公鸡数量准备规格为5 mL的离心管”。NY/T 1234-2018《牛冷冻精液生产操作规程》对冷冻精液生产玻璃器皿清洗和消毒进行了规范。因此本标准推荐采用无菌玻璃或者塑料离心管用于精液采集。

加入等温的精液稀释液，可以减少突然降温对精子造成的应激。稀释液中含有供能、调节pH、渗透压、以及稳定细胞膜等的物质成分，增强精子抵抗冷冻损伤的能力。前期制标团队研究了稀释液温度与鲜精混合对鸡精液冷冻保存效果的影响。在稀释温度上，设计了3个稀释液温度（37℃、30℃和25℃）分别与鲜精混合后，在4℃降温平衡后冷冻保存，评估解冻后精子活力（图2）。结果表明：相较于其它温度，采集后的鲜精与37℃预热的稀释液立即缓慢混合后冷冻保存效果较好（表9）。综上，本标准推荐将稀释液预热至37℃。

表9 不同稀释液温度对鸡精子冷冻效果的影响

品种与周龄	分组	稀释液温度	冷冻程序	解冻后活力
北京油鸡 (48wk, n=9)	1	37℃（与采出的精液等温）	4℃ ~ -44℃, -12℃/min; -44℃ ~-120℃, -40℃/min	43.33%
	2	30℃		29.00%
	3	25℃		28.33%



图2.不同温度稀释液的稀释效果测定

2.4 精液品质检测

标准内容：

6.1 检测项目

感观、精液量、精子密度和精子活力。

6.2 检测方法

按照NY/T 4047的方法进行检测。

6.3 原精液品质要求

应符合表1的规定，其中任何一项不符合要求的则废弃。

表1 原精液品质要求

项目	指标
感官	呈乳白色，无血液、羽毛、粪便、尿酸盐或炎性分泌物
精液量/mL	≥ 0.2
精子密度/(10 ⁸ 个/mL)	≥ 20
精子活力/%	≥ 60

理由及依据：

NY/T 4047-2021《家禽精液品质检测方法》对精液感官、精子活力、精子密度等质量检测方法进行了规定，适用于本标准。

精液外观是精液品质的一个最直观的观测指标，大量实践观察表明，正常家禽精液为均匀质、乳白色。精液感官体现精液的纯净程度，血液、粪便或尿酸盐等污染物会影响精子冷冻后的活力和受精能力。GB 20557-2006《山羊冷冻精液》，

GB/T 31582-2015《牛性控冷冻精液》，NY/T 3444-2019《牦牛冷冻精液生产规程》，NY/T1234-2018《牛冷冻精液生产规程》等标准中均要求精液感官在正常情况下为色泽乳白色或淡黄色。因此本标准要求精液色泽乳白色，无血液、粪便或尿酸盐污染。

精子活力体现精子运动能力，研究表明精子活力与受精率高度相关，因此是冷冻精液品质的一个重要方面。制标团队前期对834只公鸡新鲜精子活力进行测定，结果显示81.29%公鸡个体精子活力大于60%（图3A）。通过对冷冻前精子活力<60%的个体进行精液冷冻，发现14.29%公鸡个体冷冻后精子活力大于30%（图3B）；通过对冷冻前精子活力大于60%的个体进行精液冷冻，发现51.29%公鸡个体冷冻后精子活力大于30%（图3C）。因此，本标准推荐公鸡个体精子活力应大于60%才能用于制作冻精。

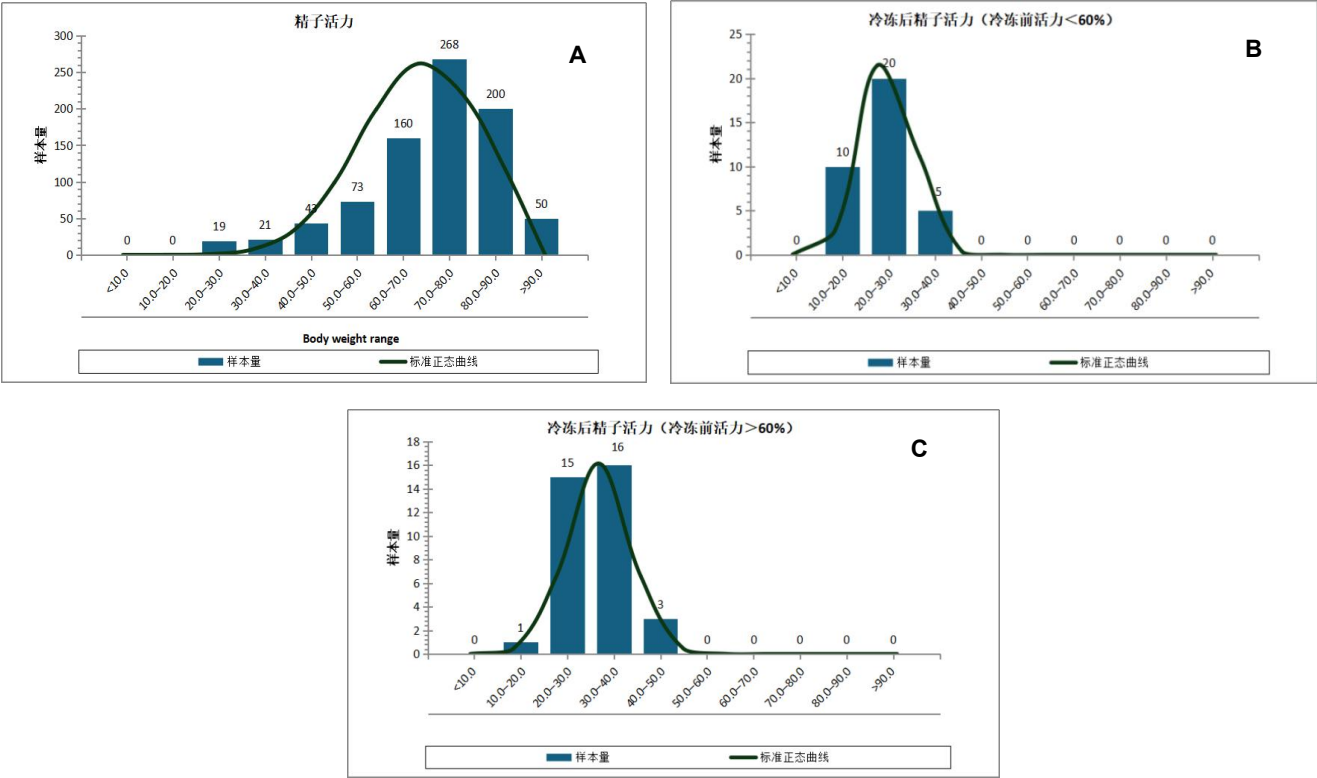


图3.精子活力测定结果

精液密度一般分为三个等级进行评定，即密、中、稀。从数量上来严格划分：每毫升的精子数量大于40亿时为密；间于20亿~40亿时为中；低于20亿为稀（蒋

延虎，2004）。NY/T 4047-2021《家禽精液品质检测方法》提供了不同精子密度的样品图示（图4），适用于本标准参考。制标团队前期对834只公鸡新鲜精子密度进行测定，结果显示91.01%公鸡个体精子密度大于 20×10^8 个/mL（图4）。NY/T 3458-2019《种鸡人工授精技术规程》规范了公鸡鲜精的“有效精子数=精液量 $\times$ 精子密度 $\times$ 精子活率”，并且要求输精量为“每次输精量 $18\ \mu\text{L}\sim 22\ \mu\text{L}$ ，其中有效精子数量不少于1000万个”。若鲜精精液密度稀（图4 c,d），精液量较少，经过稀释液稀释后生产的冻精则达不到有效精子数量要求，不建议用于制作冻精。因此，本标准推荐公鸡个体精子密度应不低于 20×10^8 个/mL，精子量应不低于0.2 mL才能用于制作冻精。

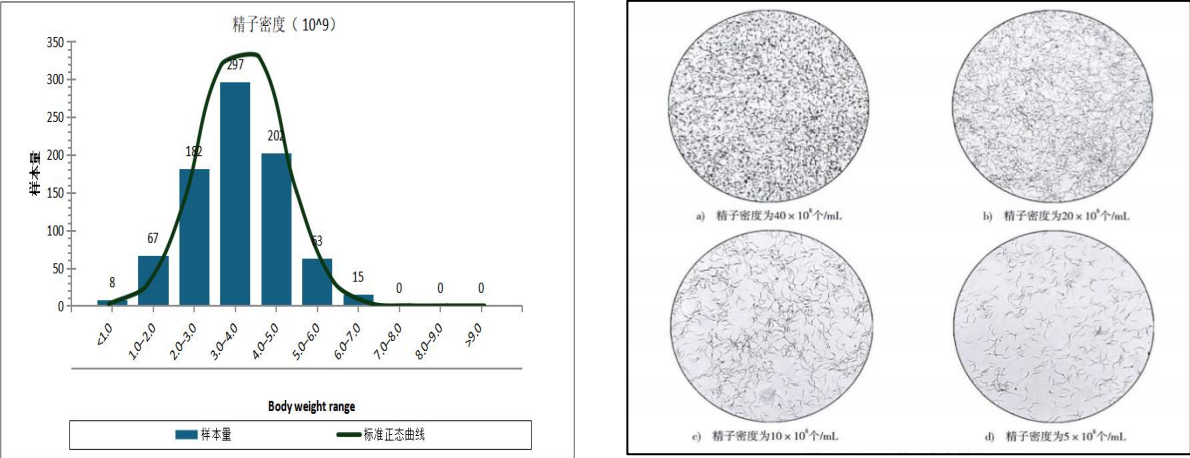


图4.精子密度测定结果与不同精子密度样品图示（NY/T 4047-2021）

2.5 稀释与第一次平衡

标准内容：

7.1 精液采集后应立刻进行稀释，精液与精液稀释液的温差不得超过 1°C ，根据精液温度调节稀释液温度，不得反向操作。

7.2 将与精液等体积的稀释液缓慢加入精液中，轻轻混匀，置于 $3^{\circ}\text{C}\sim 5^{\circ}\text{C}$ 平衡20 min~30 min。

理由及依据：

精子在体外保存时必须降低新陈代谢，这是通过降低精液温度来实现的，并且为防止有害的冷休克效应，精液温度必须逐渐降低。当稀释液与鲜精温差较大时，瞬时的混合会使精液迅速降温，可能导致精子冷应激损伤。

DB41/T 2371-2022《猪冷冻精液生产技术规范》对精液预稀释及平衡进行了规范,其中第7章要求了“经过质量评估合格的精液用等温预热且精液温度一致的预稀释液(配制见附录B)按照1:1~1:2比例稀释”。金美林(2017)等在精液的稀释与保存中提到“将采集的混合鲜精液与各稀释液按精液:稀释液=1:4进行等温稀释,再分装于洁净的青霉素空瓶中,加盖后用6层纱布包裹放入4℃冰箱中保存”。阳小胡(2018)等提出采用背腹部按摩双人采精法,用5 mL离心管采集4 mL精液后,分装到2个10 mL离心管中,按原精与 YD1液1:1比例进行等温稀释,存于5℃保温箱中尽快带回实验室。取12 μL精液在32℃恒温板液晶显示屏显微镜(物镜20×)下,按9级活力等级标准,活力低于0.7的精液不采用。检查完活力后于5℃冰箱中平衡30 min。

在稀释比例上,制标团队前期设计了3个稀释液与鲜精的稀释比例(1:0.5、1:1、1:2)在4℃降温平衡后冷冻保存,评估解冻后精子活力。结果表明:稀释液与鲜精1:1的稀释效果较好(表10)。采用常规2 mL塑料离心管采集并等温等比稀释新鲜精液后,放置于4℃保温箱中,5 min时即可逐步降温至4℃,实现第一步降温平衡(表11)。

综上,结合文献报道、相关标准及试验结果,本标准规范了稀释液与精液等体积、等温的稀释后,轻轻混匀,置于4℃水浴/金属浴/保温箱中暂存。

表10 不同稀释液比例对鸡精子冷冻效果的影响

品种与周龄	分组	稀释比例(精液:稀释液)	冷冻程序	解冻后活力
北京油鸡 (48wk, n=9)	1	1:0.5	4℃~-44℃, -12℃/min; -44℃~-120℃, -40℃/min	40.00%
	2	1:1		45.00%
	3	1:2		20.00%

鸡精液在未稀释的情况下,受精能力会迅速降低,精液稀释后使体外保存时间延长,但低温保存时间较长会不同程度损伤鸡精子的超微结构,对精子活力和受精率造成影响。DB43/T 2412-2022《鸡冷冻精液制作技术规程》对精液稀释进行了规范,其中第5章要求了“自采集精液开始计时,宜在30 min时开始细管精液制作。由于鸡的单次射精量较少(0.2 mL~1 mL),稀释后的精液体积能够在较

短时间达到4℃，结合相关标准规定，本标准推荐第一次降温平衡时间为20 min ~ 30 min。

表11 鸡精液稀释后达到4℃所需时间（常规2 mL离心管）

稀释液温度	立即混匀	1 min	2 min	3 min	4 min	5 min
37.0℃	37.0℃	22.2℃	13.1℃	9.4℃	7.1℃	5.0℃
	37.0℃	23.1℃	12.5℃	8.1℃	6.8℃	4.9℃
4.0℃	17.6℃	13.1℃	9.2℃	6.8℃	5.4℃	4.6℃
	17.2℃	12.7℃	9.1℃	6.9℃	5.4℃	4.5℃

2.6 冷冻保护液的添加与第二次平衡

标准内容：

8.1 将与稀释精液等体积的3℃ ~ 5℃预冷的冷冻保护液缓慢加入稀释精液中，轻轻混匀，置于3℃ ~ 5℃平衡10 min ~ 15 min。

理由及依据：

精子在体外保第一次降温平衡至4℃后，在冷冻前需加入对精子毒性和渗透损伤最小、保护作用最佳的冷冻保护剂，而冷冻保护剂需要渗入到精子细胞内才能起到保护作用。平衡过程是精液与含有甘油或者乙二醇等冷冻保护剂作用的时间，当平衡时间不足时，冷冻保护剂与精子内水分结合不完全，后续冷冻过程中易产生冰晶损伤等。甘油浓度过大或平衡时间过长，会加剧甘油对精子的毒害作用。因此，二次平衡是精子结构得到保护并准备冷冻的关键时期。最佳平衡时间取决于冷冻保护剂和实验条件。韩雪峰等（2003）试验结果表明，以甘油作为冷冻剂冷冻鸭精液时，平衡10 min优于0 min及30 min。安立龙等（2003）试验结果表明，以甘油作为冷冻剂平衡时间为10~30 min时，鸡精液冷冻效果最佳，精子活力最高。DB43/T 2412-2022《鸡冷冻精液制作技术规程》第6章要求了“按计算量添加 2℃~5℃的冷冻保护液（II 液），在2℃~5℃条件下平衡10 min，准备灌装”。因此，本标准综合文献报道与试验经验，将4℃预冷的冷冻保护液缓慢加入已平衡降温至4℃的精液中，轻轻混匀，在3℃ ~ 5℃继续平衡10 min~15 min。

2.5 ~ 2.6参考文献如下：

- 1) 韩雪峰,刘福柱,杨长锁.鸭精液冷冻保存试验研究.中国畜牧兽医, 2004, 31(7):45-45.
- 2) 安立龙,许英梅,蔡小燕,曾东莹,曾睿,杜炳旺.平衡时间对鸡精液冷冻效果影响的研究.家禽研究最新进展.长春:吉林科学技术出版社, 2003:188-191.
- 3) 金美林,蔡元.不同稀释液对鸡精液低温保存影响的研究.甘肃畜牧兽医, 2017, 47(8):87-88.
- 4) 阳小胡,孙麇,贾杏林,朱立军,蒋桂韬,燕海峰.甘油浓度与冷冻速率对鸡细管冻精质量的影响.家畜生态学报, 2018, 39(5):46-51.

2.7 精液灌装与码放

灌装与码放为本文件的第九章节内容。本章规范了用于鸡冷冻精液生产过程中精液灌装与细管码放的要求。

标准内容：

9.1 灌装

9.1.1 人工罐装

握住细管棉塞端，细管另一端插入待灌装精液中，用注射器等连接棉塞端吸取精液进入细管，在细管中间段留1.0 cm左右空气柱，宜采用封口粉封口。或通过移液器直接吸取精液从细管封口端进行灌装，在封口端留约1.0 cm左右空气柱，宜采用热熔、超声波等封口。封口前应擦干细管外壁残留液体。

9.1.2 机械全自动/半自动罐装

使用机械全自动或半自动细管精液灌装机灌装时，按仪器说明书进行操作。

理由及依据：

NY/T 3444-2019《牦牛冷冻精液生产技术规程》对冷冻精液的分装进行了规范。细管冷冻精液剂型为微型0.25 mL，剂量 ≥ 0.18 mL，分装应按照NY/T 1234的规定执行。GB 20557-2006《山羊冷冻精液》附录C中规范了山羊冷冻精液制作程序和使用，其中要求了细管精液的分装，平衡前在室温下或平衡后再3℃~5℃环境下均可分装，管内需留一定的空隙。微型分装管的精液量 ≥ 0.18 mL，中型管 ≥ 0.40 mL。DB 43/T 2412-2022《鸡冷冻精液制作技术规程》对精液灌装进行了规范，其中第6章要求了“人工灌装时，握住细管精液棉塞端，另一端插入待灌

装的精液中，分2次吸取精液，细管中间段留约1 cm空气柱。擦干细管外壁残留液体，用热熔、超声波或封口粉封口”。

通过灌装机、口吸法或移液器等方式均可进行精液灌装（图5A1-A3）。在灌装过程中要确保每根细管的灌装量均匀一致，避免出现误差。一般来说，冻精细管的灌装量需要根据具体的品种和保存要求进行精确控制。本标准要求需要留有空气柱（图5A4）。通常情况下，细管冻精的灌装量需能够保证有足够数量的精子用于有效受精，因此灌装量不宜过少；而当灌装量过多时，易出现细管爆裂的情况（图5C），因此灌装不宜过多且需留有1 cm空气柱。超声波或热熔时在封口端留1 cm空气柱（图5B1），避免温度对精子的影响；封口粉封口时则在中间留1 cm空气柱（图5B2），精液与封口粉接触时能够快速凝固，保证封口密闭性。

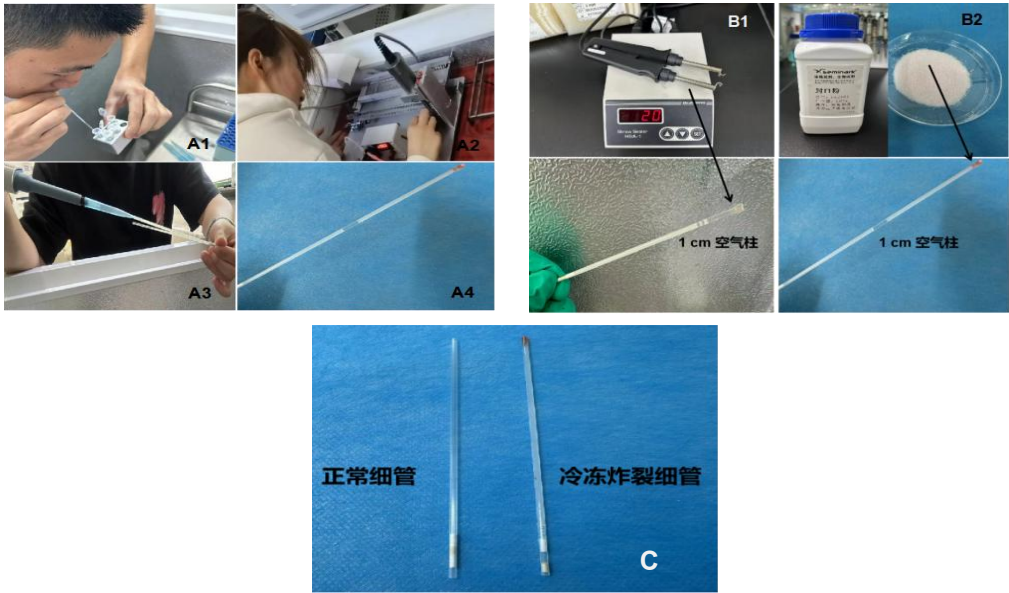


图5.灌装与封口

（图A灌装；图B封口；图C正常细管与冷冻炸裂细管）

标准内容：

9.2 码放

将细管方向一致、均匀码放于细管码架上，3℃ ~ 5℃暂存。

理由及依据：

NY/T 1234-2018《牛冷冻精液生产规程》标准中对细管精液“上架”进行了要求，即灌装、封口、标识后的细管上架码放时，应注意细管摆放的方向，棉塞封口端靠近操作者，超声波封口端远离操作者。放入程控冷冻仪时亦应如此放置。细管码放如图所示（图6）。

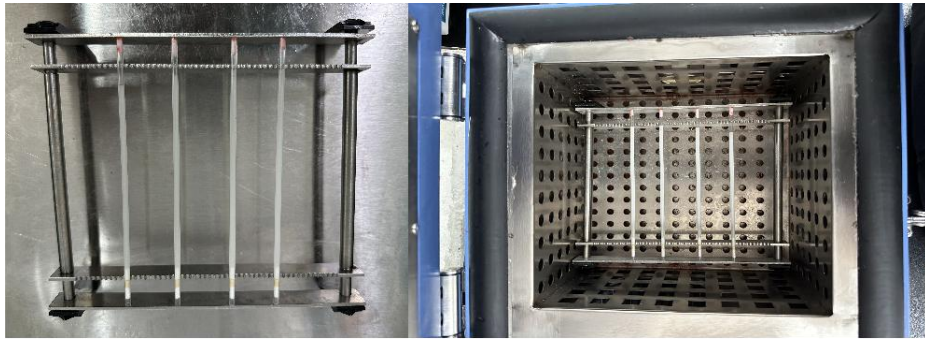


图6.细管码放

2.8 精液冷冻

精液冷冻为本文件的第十章节内容。本章规范了用于鸡冷冻精液生产过程中精液冷冻方法和降温程序的要求。实践表明，程序冷冻仪和液氮熏蒸法都能起到程序降温的效果。程序冷冻仪需要购置专业的仪器，在不满足条件时，液氮熏蒸法通过调节冻精细管与液氮面的高度也可以实现程序降温。因此在冷冻步骤中，将两种方法都写明，便于不同条件情况下使用。

标准内容：

10.1 程序冷冻仪法

按仪器说明书进行操作，将码放好的细管置于已预冷至4℃的程序冷冻仪冷冻室内，采用以下冷冻程序进行冷冻：12℃/min速率从4℃下降到-44℃（降温时间约4 min），再以40℃/min速率从-44℃下降到-120℃（降温时间约2 min）。冷冻程序结束后将细管立即浸入液氮中。

理由及依据：

程序冷冻仪法是常用的精液冷冻方法，可以设置精确的冷冻降温程序，但设备贵（图7）。冷冻程序是精液冷冻技术的关键，通过查阅大量文献发现目前常用的冷冻程序包括一步冷冻法和两步冷冻法（快速冷冻与慢速冷冻两阶段）。前期制标团队探究了不同冷冻程序对鸡精液冷冻保存效果的影响，设计了3个冷冻

程序分别进行精液冷冻，评估解冻后精子活力。组1和2均为结果表明：本标准程序冷冻保存效果较好（表12）。该程序已经过多次试验验证，相对成熟且稳定。

表12 不同冷冻程序对鸡精子冷冻效果的影响（n=3）

分组	冷冻程序	来源	解冻后活力
1	4℃～-44℃，-12℃/min；-44℃～-120℃，-40℃/min	本标准程序	43.33%
2	5℃～-35℃，-7℃/ min ；-35℃～140℃，-20℃/ min	Seigneurin（1995）	35.00%
3	5℃~-140℃（7℃/min）	Aurore（2018）	40.00%

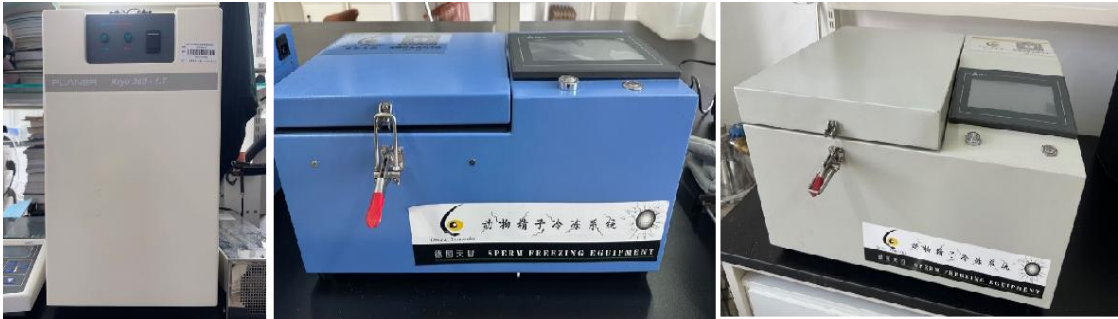


图7.程序冷冻仪

标准内容：

10.2 液氮熏蒸法

10.2.1 提前10 min以上将液氮倒入用于熏蒸细管的泡沫箱、不锈钢箱等容器，液氮深度宜为3 cm～4 cm。

10.2.2 将码放好的细管置于液氮面之上3 cm～5 cm，盖上容器盖，静置5 min 后将细管迅速浸入液氮中。

理由及依据：

DB43/T 2412-2022《鸡冷冻精液制作技术规程》对液氮熏蒸法进行了规范，其中第7章提出液氮熏蒸法是“将载有细管的细管承载泡沫框叠加于厚度为3 cm～5 cm 的泡沫框上，浮于已注入液氮的熏蒸泡沫箱液氮面上，细管离液氮面距离4 cm～ 6 cm。盖上泡沫箱盖，静置5 min 后将细管迅速浸入液氮中。”参照相关标准，进一步精准控制熏蒸距离，多次试验验证液氮熏蒸程序，已相对成熟且稳定（图8）。



图8.液氮熏蒸装置

2.9 冻精质量评定

冻精质量评定为本文件的第十一章内容。本章规范了用于鸡冷冻精液解冻方法与质量检测。

标准内容：

11.1 冻精解冻

11.1.1 将细管冻精从液氮中取出，迅速浸没在3℃ ~ 5℃水浴中，解冻2 min ~ 3 min至冻精完全融化。

11.1.2 取出细管，擦干表面水珠，剪去封口端，用推针从棉塞端将精液推至试管或离心管内，3℃ ~ 5℃暂存。

理由及依据：

解冻程序一般与冷冻程序对应，即快速冷冻对应快速解冻，慢速冷冻对应低温慢速解冻。本文件规定的方法为慢速冷冻法，因此也推荐4℃低温慢速解冻。

制标团队验证了不同解冻方法对鸡精液冷冻保存效果的影响。结果表明，4℃，2-3 min能够实现精液解冻，且解冻效果较好（表13）。因此本标准推荐鸡冷冻精液的解冻方法为3℃~5℃水浴中解冻2 min ~ 3 min至完全融化。

表13 不同解冻程序对鸡精子冷冻效果的影响

品种与周龄	分组	解冻方法	来源	解冻后活力
北京油鸡 (48wk, n=6)	1	4℃, 水浴, 3 min	本标准程序	40.00%
	2	37℃, 水浴, 30s	Najafi (2018)	10.00%



图9.精液解冻

据观测，液氮取出的冻精细管在4℃水浴时可以在2-3 min完全融化（图9）。DB43/T 2412-2022《鸡冷冻精液制作技术规程》对冷冻精液解冻方法进行了规范，精液解冻是“将冷冻细管精液从液氮中取出，迅速浸入2℃～5℃水浴解冻泡沫箱中水浴1 min～3 min，取出擦干细管表面水分。解冻大批量细管精液时，应及时搅动细管，避免细管瞬间被冰包裹而影响解冻效果”。

以下参考文献中解冻方法均为4℃，2-3 min。

- 1) Seigneurin F, Grasseau I, Chapuis H, et al. An efficient method of guinea fowl sperm cryopreservation. Poultry Science, 2013, 92(11):2988-2996.
- 2) Nabi M M, Kohram H, Yegane H M, et al. Comparative evaluation of Nabi and Beltsville extenders for cryopreservation of rooster semen. Cryobiology, 2015, 72(1):47-52.

标准内容：

11.2 质量检测

11.2.1 检测项目

剂量、感官、精子密度、精子活力、受精率和受精蛋孵化率。

11.2.2 检测方法

按照 NY/T 4047的方法检测解冻精液剂量、感官、精子密度和精子活力。按照附录C检测受精率和受精蛋孵化率。

11.2.3 解冻精液质量要求

解冻精液质量应符合表2要求。

表2 解冻精液质量要求

项目	指标
----	----

剂量	0.50 mL细管：≥ 0.45 mL；0.25 mL细管：≥ 0.18 mL
感官	呈乳白色，无血液、羽毛、粪便、尿酸盐或炎性分泌物
精子密度/(10 ⁸ 个/mL)	≥ 5
精子活力/%	≥ 30
受精率/%	≥ 40
受精蛋孵化率/%	≥ 80

理由及依据：

NY/T 4047-2021《家禽精液品质检测方法》对精液感官、精子活力、精子密度等质量检测方法进行了规定，适用于本标准。

鸡冷冻精液的人工授精涉及甘油的移除、精液稀释、人工输精、种蛋收集与受精率检测等，步骤较为繁琐，为保证标准正文的协调性，具体内容放进附录中。

冷冻精液中甘油的移除：鸡精液冷冻最常用的冷冻保护剂是甘油，甘油浓度越大保护效果好，但甘油浓度越大对精细胞膜和各细胞器的物理损伤也越大，所以受精能力可能会变差。同时，对于家禽而言，甘油具有生殖毒性，在授精之前要通过清洗离心法来降低甘油对精卵结合的影响。通过不连续的Accudenz色谱柱离心分离也可以移除甘油（Long and Kulkarni, 2004），此方法无需逐步稀释，但成本较高，且精子损失量大。因此最佳的甘油浓度与稀释比例去除甘油十分重要。

Lake（1978）最早提出逐步稀释离心的方法。研究者采用10%甘油，解冻精液和稀释液比例为1:4，一步添加，受精率为1.4%；分步稀释清洗比例为1:4时，最高只获得28.8%的受精率。证明分步稀释比一步稀释对甘油的移除效果更好。前期制标团队研究了不同甘油浓度和甘油移除方法对鸡精液冷冻保存效果的影响。设计了6个甘油浓度（3%、5%、7%、9%、11%和13%）和6个移除甘油方法（稀释比1:1、1:2、1:4、1:8、1:16和1:20）的36个组合，CASA评估了解冻后精子运动参数、残留甘油浓度和受精率。结果表明：不同甘油浓度冻后精子活力存在差异（ $P < 0.01$ ），3%组显著低于其它组（ $P < 0.01$ ）；甘油浓度和移除方法对精子运动参数无互作（ $P > 0.05$ ）。在相同甘油浓度下，稀释比越大，残留越低，但精子活力下降。综上，5%-7%与1:2组合精子活力和甘油残留浓度均无显著差异。因此本标准中的甘油终浓度为6%，在冻精应用中最终解冻后精液和去甘油稀释液比例为1:2（表5，图1）。冷冻精液解冻后，逐步加入4℃预冷的稀释液进

行甘油移除。按解冻后的精液与稀释液比例分别为1:0.035, 1:0.09, 1:0.165, 1:0.3, 1:0.62, 1:0.79分6次加入稀释液，最终解冻后精液和去甘油稀释液比例为1:2，每次加入后轻轻混匀，间隔2 min。将稀释后的精液以600 g 在4℃离心10 min，用移液器移除含有甘油的上清。

由于冷冻前已调整和控制精子密度，因此经过3倍稀释，冻精精子密度应不低于 6.67×10^8 个/mL，去除甘油的解冻精液中加入与解冻后精液等体积的稀释液重悬沉淀，使精子密度与解冻前一致。

人工输精时间与方法参照NY/T 3458-2019《种鸡人工授精技术规程》，其中规范了公鸡鲜精的“有效精子数=精液量×精子密度×精子活率”，并且要求输精量为“每次输精量18 μL~22 μL，其中有效精子数量不少于1000万个”。本标准中已对原精精子密度进行规范，要求不低于 20×10^8 个/mL，经过稀释处理后，冻精密度应均不低于 6.67×10^8 个/mL。由于 20×10^8 个/mL是最低要求，在实际生产中，大部分公鸡精液密度超过这个值，因此本标准要求解冻精液密度应均不低于 5×10^8 个/mL。此外，由于冷冻后精子活率低，在实际应用时需要结合解冻后活率进行输精量的调整以达到有效精子数，提高受精率。在实际操作时发现母鸡受精量有限。因此，本标准中推荐每只母鸡输精0.1 mL~0.2 mL，并且要求其中含有前向运动精子数不少于 1×10^7 个左右（1000万个）。输精深度和部位对于冷冻精液的受精率是至关重要的。研究表明冷冻精液深部位输精，能获得较高受精率。在猪上，冷冻精液的人工输精方式也多为深部输精。因此本标准推荐，输精深度为距离泄殖腔3 cm~4 cm。冷冻精液第一次输精24 h后开始收集种蛋，与鲜精的种蛋收集方法一致，由于冷冻精液受精持续能力低（图10），因此最后一次输精4天后停止收集种蛋。收集的种蛋按照GB/T 40454规定的方法进行孵化。按NY/T 823给出的方法检测受精率。

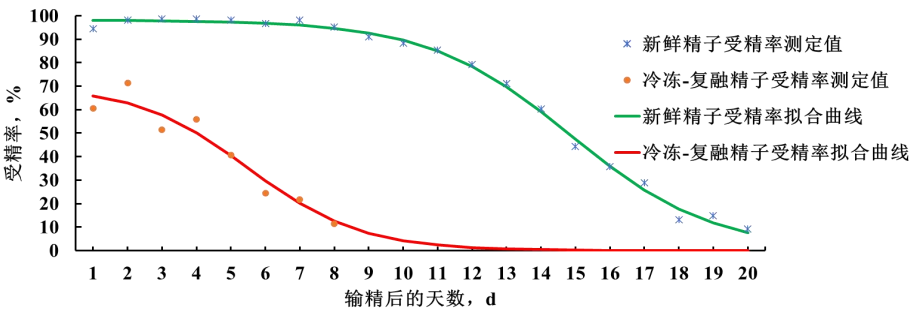


图10.鲜精和冷冻-复融精子受精率和受精持续能力对比

GB 20557-2006《山羊冷冻精液》规范了羊冻精解冻后活力 $\geq 30\%$ 。指标团队通过对冷冻前精子活力大于60%的个体进行精液冷冻，发现51.29%公鸡个体冷冻后精子活力大于30%（图3C）。在实验过程中发现精子畸形率和活率检测步骤较为复杂，GB 20557-2006《山羊冷冻精液》规范了冻精解冻后精子畸形率 $\leq 20\%$ ；GB 4143-2022《牛冷冻精液》要求牛冻精精子畸形率 $\leq 20\% \sim 22\%$ ；GB/T 31582-2015《牛性控冷冻精液》规范了冻精解冻后精子畸形率 $\leq 15\%$ 。制标团队测定了30只35周龄的北京油鸡公鸡冻精精子畸形率约为24.83%~29.52%，活率约为45.20%~62.36%（表14）。与牛、羊相比，鸡精子抗冻性较低，因此，在畸形率和活率指标上存在较大差异。目前相关的国标和行标对精子活率的规范较少，本标准综合文献报道与试验经验，建议优先用精子活力作为参考指标。

制标团队前期采用30周龄的不同品种公鸡（每组24只）新鲜精液对120只30周龄的健康白来航母鸡进行人工授精时，三个品种的受精率依次为白来航（94.33%）>洛岛红（91.34%）>北京油鸡（90.70%）；用冷冻精液进行人工授精时，受精率依次为北京油鸡（72.31%）>白来航（60.64%）>洛岛红（59.99%）。北京油鸡单天最高和最低的种蛋受精率分别为88.89%和61.11%，白来航分别为75.00%和46.88%，洛岛红分别为71.88%和44.12%。三个品种新鲜精液和冷冻精液的受精蛋孵化率都超过90%，健雏率在99%以上，且新鲜精液和冷冻精液的受精蛋孵化率、健雏率无显著差异（表15-16）。此外，在探究外源添加剂试验中，采用31周龄白来航公鸡（每组24只）冷冻精液对31周龄的健康白来航母鸡进行人工授精时，获得受精率为57.02%（图11）。鸡冷冻精液的人工授精涉及甘油的移除、精液稀释、人工输精、种蛋收集与受精率检测等，步骤较为繁琐，涉及母鸡等影响因素。因此，本标准规范鸡冻精受精率应不低于40%。由实验结果发现冻精与鲜精的受精蛋孵化率和健雏率无明显差异，因此孵化率应不低于80%。

表14 北京油鸡公鸡冻精精子畸形率和活率测定

个体号	畸形精子数	总精子数	畸形率	活精子数	总精子数	活率
1	53	200	26.50%	96	200	48.00%
2	44	201	21.89%	120	203	59.11%
3	48	200	24.00%	110	202	54.46%
4	43	201	21.39%	111	204	54.41%
5	40	202	19.80%	111	208	53.37%
6	49	203	24.14%	115	204	56.37%

7	57	203	28.08%	78	207	37.68%
8	49	204	24.02%	104	200	52.00%
9	53	202	26.24%	101	201	50.25%
10	45	201	22.39%	100	203	49.26%
11	47	200	23.50%	92	204	45.10%
12	56	202	27.72%	91	200	45.50%
13	60	201	29.85%	66	204	32.35%
14	50	203	24.63%	106	203	52.22%
15	48	200	24.00%	100	207	48.31%
16	50	200	25.00%	88	202	43.56%
17	51	201	25.37%	84	204	41.18%
18	55	200	27.50%	97	201	48.26%
19	47	200	23.50%	97	201	48.26%
20	55	200	27.50%	83	199	41.71%
21	45	200	22.50%	64	201	31.84%
22	59	200	29.50%	40	201	19.90%
23	40	200	20.00%	92	200	46.00%
24	55	200	27.50%	94	198	47.47%
25	55	200	27.50%	98	200	49.00%
26	57	200	28.50%	73	200	36.50%
27	45	200	22.50%	87	200	43.50%
28	50	200	25.00%	72	200	36.00%
29	48	200	24.00%	80	201	39.80%
30	42	200	21.00%	90	202	44.55%
平均值			24.83%			45.20%

表15 不同品种公鸡新鲜精子和冻精精子受精率和孵化率测定

组别	品种	入孵蛋 数(个)	受精蛋 数(个)	受精率 (%)	受精蛋 孵化率(%)	健雏率 (%)
新鲜 精液	洛岛红	381	348	91.34	92.53	99.69
	白来航	370	349	94.33	92.26	99.69
	北京油鸡	359	326	90.70	91.41	99.32
	平均	370	341	92.15	92.08	99.68
冷冻 精液	洛岛红	366	219	59.99	90.41	98.99
	白来航	356	216	60.64	94.44	99.02
	北京油鸡	389	281	72.31	91.81	99.22
	平均	370	239	64.31	92.05	99.55

表16不同品种公鸡冻精精子单天受精率测定

人工 输精 的次数	洛岛红		白来航		北京油鸡	
	入孵蛋 数(个)	受精 率(%)	入孵蛋 数(个)	受精 率(%)	入孵蛋 数(个)	受精 率(%)
第1次	—	—	—	—	—	—
第2次	—	—	—	—	—	—
第3次	35	65.71	33	57.58	36	61.11
	32	71.88	32	71.88	37	78.38
	36	52.78	33	72.73	34	79.41
	34	44.12	28	53.57	37	64.86
第4次	32	71.88	32	75.00	31	64.52
	33	45.45	33	66.67	35	77.14
	34	55.88	31	54.84	37	64.86
	35	68.57	32	59.38	35	77.14
第5次	33	54.55	32	46.88	39	64.10
	31	67.74	36	55.56	36	88.89
	31	61.29	34	52.94	32	75.00
平均		59.99		60.64		72.31

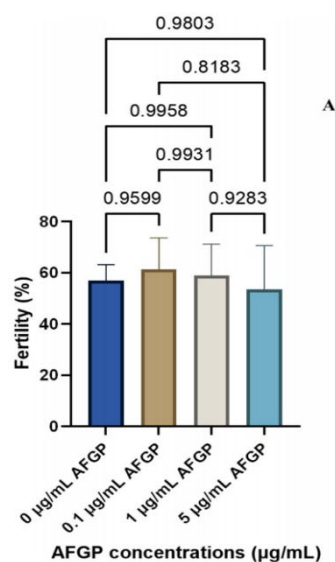


图11. 不同浓度AFGP对公鸡冻精受精率的影响

参考文献如下:

- 1) Tajima A, Graham E F, Shoffner R N, et al. Cryopreservation of semen from unique lines of chicken germ plasm. Poultry Science, 1990, 69(6):999.
- 2) Lake P E, Stewart J M. Preservation of fowl semen in liquid nitrogen--an improved method. British Poultry Science, 1978, 19(2):187-194.
- 3) Abouelezz F, Castano C, Toledano-Diaz, A, et al. Effect of the interaction between cryoprotectant concentration and cryopreservation method on

frozen/thawed chicken sperm variables. *Reproduction in Domestic Animals*, 2015, 50(1):135-141.

- 4) Zong Y, Sun Y, Li Y, Han X, Ma T, Zhao Y, Yuan J, Ma H, Ma L, Chen J. Regulation of winter wheat-originated antifreeze glycoprotein on rooster spermatozoa freezability. *Poult Sci.* 2024, 103(9):104053.
- 5) 王林全,曾凡同. 公鸡不同个体冷冻精液的受精率和冷冻精液不同输精深度对受精率的影响. *畜牧兽医学报*, 1983, (02): 33-38.
- 6) 宗云鹤, 李云雷, 徐松山, 倪爱心, 袁经纬, 麻慧, 武艳平, 江琳琳, 王攀林, 石雷, 陈超, 谢金防, 孙研研, 陈继兰. 鸡精子抗冻性种间差异及其与精浆生化指标和候选基因表达的相关性, *中国家禽*, 2020, 42(12): 6-13.

2.10 标识与包装

冷冻精液的包装为本文件的第十二章节内容。

标准内容：

12.1 细管与细管标识

细管封口严密，细管的管壁上应标识品种及来源、制作日期和制作单位等信息，字迹应清晰易认。

理由及依据：

NY/T 3444-2019《牦牛冷冻精液生产操作规程》对冷冻精液的标识进行了规范。标识应在细管壁上清楚标记生产单位、品种、牛号、生产日期或批次。GB 4143-2022《牛冷冻精液》中规范了牛品种代码编制，其中编制原则是按照品种名称、类别、以汉语拼音字母编制牛品种代码。品种名称、类别依据国家畜禽遗传资源委员会公布的《国家畜禽遗传资源品种名录》，标准中介绍了编制方法和136个牛品种代码。GB 20557-2006《山羊冷冻精液》规范了冷冻精液标志，种公羊的品种可用代号。代号为该品种第一、第二个汉字的汉语拼音大写字母。

目前鸡品种并没有代码标准，可根据产品要求和鸡品种标明代码，代码编制方法可参考GB 20557-2006。

标准内容：

12.2 包装与包装标识

细管先用贮精管分装，再用灭菌纱布袋或其他器皿包装，其上标识品种及来源、制作日期和制作单位等信息，字迹应清晰易认。

理由及依据：

GB/T 30396-2013《牛冷冻精液包装、标签、贮存和运输》对冷冻精液的包装和标示进行了规范。贮精管最多贮存25支0.25 mL微型细管冷冻精液；包装袋材料为灭菌纱布或其他纺织品（轻、薄、牢固、通透性良好），每个包装袋装贮精管数量不应超过8管（图12）。标示分为内标签和外标签，内标签标明牛号、品种、细管数量；外标签标明牛号、品种、细管数量、包装日期、产品标准编号、生产许可证号、生产者名称和地址及联系方式、贮存方式和条件、使用说明等。NY/T 3444-2019《牦牛冷冻精液生产技术规程》对冷冻精液的包装盒储存进行了规范。先用专用塑料管分装，再用灭菌纱布袋包装。以上包装方法适用于本标准。



图12. 精液包装

2.11 贮存与运输

贮存与运输为本文件的第十三章节内容。本章规范了用于对已生产的鸡冷冻精液贮存与运输的要求。

标准内容：

13 贮存与运输

应符合GB/T 30396—2013中第7章、第8章要求。

理由及依据：

GB/T 30396-2013《牛冷冻精液包装、标签、贮存和运输》对冷冻精液的贮存和运输进行了规范，要求“贮存容器应符合GB/T 5458和GB/T 14174的要求；细管冷冻精液应浸没于液氮生物容器的液氮中。冷冻精液由一个液氮生物容器转移到另一液氮生物容器时，在液氮生物容器外停留时间不得超过3s。取存冷冻精液

2.12 记录

标准内容:

14 记录

理由及依据：

精液生产记录见表 F.1。

表 F.1 精液生产记录表

[illegible]

图13. 记录表

(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) 制标团队经十余年科研攻关，使得我国在鸡精液冷冻保存技术方面得到突破，冻精受精率平均达到60%以上，单日受精率最高达到88%。标准是制标团队在充分查阅相关文献和总结过去经验的基础上，形成的重要凝练成果。

目前除了制标团队，其他科研院所、技术推广部门包括上海市农业科学院畜牧研究所、贵州省种畜禽种质测定中心、河北农业大学、四川农业大学、山东农业大学、河南农业大学、浙江农林科技大学等单位已应用本标准技术收集冻精资源与开展试验等，目前已保存了40多个鸡品种的冷冻精液，通过质检并汇交国家家养动物种质资源库等种质库保存，证明本标准方法的可行性。

(2) 预期的经济效益、社会效益和生态效益

《鸡冷冻精液生产技术规范》行业标准颁布实施后，将为我国鸡冷冻精液的收集制备工作提供指导和规范，提高种质资源保护效率，促进种禽企业优秀品种/个体的繁育和高效利用。

(四) 与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况

经查，国际、国外均没有《鸡冷冻精液生产技术规范》同类标准。但在标准的起草过程中查阅了一些相关专著。本标准在制定过程中参考和对比了FAO的方法，本标准推荐的精液冷冻保存技术方案在北京油鸡等多个品种中验证，稳定性和可靠性更高。

(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

经查，尚无《鸡冷冻精液生产技术规范》此类国际标准，因此本标准不存在采标国际标准的问题。

(六) 与有关法律、行政法规及相关标准的关系

本文件制订过程中注意到有关现行法律、法规和相关国家标准和行业标准的內容。本文件的制定符合《中华人民共和国畜牧法》《中华人民共和国防疫法》等有关法律和法规文件的相关规定，本文件内容相关内容的规定与现行的法律法

规、相关标准相辅相成，没有相悖的内容。

(七) 重大分歧意见的处理经过和依据

本标准在制定过程中不存在重大分歧意见。

(八) 涉及专利的有关说明

经检索，未识别到与本标准技术内容有关的专利。

(九) 实施国家标准的要求，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

实施要求：因本标准为推荐性行业标准，供相关养殖企业、保种主体、基因库等在进行鸡精液冷冻保存时采纳应用。

组织措施：由主管部门、TC 秘书处或组织起草单位组织、策划，开展标准宣贯，必要时，通过组织现场技术培训等加强实践操作标准化。

技术措施：制定宣贯计划、编制宣贯文件和标准解读文件等、在书刊杂志、网站、微信公众号等媒介报道标准制定、发布和实施情况。

过渡办法：本标准为技术规范类标准，属于首次发布，不需要过渡期调整，建议按照常规在发布半年后实施。

(十) 其他应当说明的事项

本文件没有需要说明的其他事项。

《鸡冷冻精液生产技术规范》行业标准编制小组

2025 年 1 月

附件 1

预审会议审查意见汇总处理表

标准名称： 鸡冷冻精液生产技术规范 共 2 页

标准项目承担单位： XXXX

2025 年 1 月 8 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	2	GB 30396 牛冷冻精液修改为“GB 4143 牛冷冻精液”	专家组	采纳	
2	2	调整顺序至参考文献位置	专家组	采纳	
3	3	增加“平衡”术语定义。	专家组	采纳	
4	3.1	修改为“冷冻精液：冻精 经特定方法处理后在液氮中（-196℃）保存的精液”，（删除来源）	专家组	采纳	
5	3.3	修改为“一端封闭另一端开口的贮存细管冻精的柱形器材。注：管体要求厚薄均匀一致，在常温至超低温（-196℃）环境下不变形、不破裂（注：移至附表,并对耗材进行要求）。”	专家组	采纳	
6	4	在“准备工作”中增加器具与耗材的清洗和消毒、仪器检定与校准等相关内容。	专家组	采纳	
7	4.1.2	修改为：鸡精液接触的所有用具的使用遵循等温原则，进行预热或者预冷。	专家组	采纳	
8	4.1.4	修改为：器具与耗材的清洗和消毒操作应按照 NY/T 1234 和 NY/T 3458 的规定执行。（附录补充常规耗材）	专家组	采纳	
9	4.2.2	修改为：使用时遵循等温原则，提前进行预热或者预冷。	专家组	采纳	

10	5-7	合并调整第 5、6、7 章相关内容。	专家组	采纳	
11	7.1.1	修改为：握住细管棉塞端，细管另一端插入待灌装精液中，吸取精液进入细管，细管中间段留 1.0 cm 左右空气柱，宜采用封口粉封口。或通过移液器进行灌装，细管封口端留约 1.0 cm 左右空气柱，宜采用热熔、超声波等封口。封口前擦干细管外壁残留液体。	专家组	采纳	
12	9.2.2	稀释精液和解冻精液的质量要求以表格形式呈现。冻精质量指标保留剂量、精子活力和精子密度	专家组	采纳	
13	11	“冻精的贮存与运输”内容应按照 GB/T30396 的要求执行。	专家组	采纳	
14	编制说明	进一步修改与完善编制说明	专家组	采纳	
15	标准文本	按 GB/T1.1-2020、GB/T 20001.5-2017 的要求进一步规范标准文本	专家组	采纳	

注：提出单位为专家组。