

DB32

江苏省地方标准

DB32/T 4503—2023

羊人工授精技术规程

Technical code of practice for sheep/goat artificial insemination

2023-07-03 发布

2023-08-03 实施

江苏省市场监督管理局 发布
中国标准出版社 出版

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。

本文件由江苏省农业科学院提出并归口。

本文件起草单位：江苏省农业科学院。

本文件主要起草人：钱勇、曹少先、王慧利、孟春花、李隐侠、丁强、张俊、钟声。

羊人工授精技术规程

1 范围

本文件规定了羊人工授精技术应用的场地条件、准备事项、采精、精液品质检查、精液稀释与保存、母羊发情鉴定、输精、配种记录等技术要求。

本文件适用于羊的人工授精。

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 20557—2006 山羊冷冻精液

NY/T 2169 种羊场建设标准

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

台羊 dummy sheep/goat

采精时专供公羊爬跨的被固定的活羊或固定好的假羊。

3.2

人工授精 artificial insemination

人为借助专门器械,将采集的种公羊精液经检查、稀释、保存等处理合格后,输入到发情母羊生殖道内,使其妊娠的一种繁殖技术。

[来源:NY/T 1335—2022,3.1]

4 场地条件

4.1 配种羊舍

4.1.1 新建羊场在规划设计时应包含配种羊舍,其他羊场也可通过改建或扩建设置配种羊舍,羊舍结构设计应符合 NY/T 2169 的规定。

4.1.2 配种羊舍面积应按每 1 000 只可繁殖母羊 1 200 m² 进行设计,内部空间应包括空怀母羊圈、待配母羊圈、种公羊圈、试情公羊圈和人工授精实验室、采精间(场地)、输精间(场地)等设施。

4.1.3 配种舍羊圈宜采用双列或多列平面布局,走道两侧羊圈应设圈门,走道与羊床高度应持平或高差 ≤20 cm。

4.2 人工授精实验室

4.2.1 建设面积一般为 $10\text{ m}^2\sim 30\text{ m}^2$ 。

4.2.2 实验室内应设置无菌间和器材洗涤消毒用的准备间。

4.2.3 无菌间的门窗应可密闭,室内应安装紫外线消毒灯和空调。

4.2.4 准备间应配置清洗水池、消毒和干燥设备,电源功率 $>5\text{ kw}$ 。

4.3 采精间

4.3.1 采精间应紧邻人工授精实验室,面积以 $8\text{ m}^2\sim 10\text{ m}^2$ 为宜。

4.3.2 采精间内应设置水池和采精架,地面应硬化并做防滑处理。采精架设计示意图见附录 A。

4.4 输精间

4.4.1 输精间宜为独立空间,可以是围栏围起来的专用场地,位置应设在待配种母羊圈的附近。

4.4.2 输精间内应设置输精操作台或输精保定栏杆。

5 准备事项

5.1 配种公羊

5.1.1 要求

5.1.1.1 应符合该品种的种用标准。

5.1.1.2 年龄以 1 岁~5 岁为宜,体格健壮、睾丸发育良好、性欲旺盛。

5.1.1.3 公羊与待配种母羊的比例可为 1:200~1:400。

5.1.2 调教

5.1.2.1 调教时间

青年公羊采精前应进行调教。调教时间宜从 8 月龄开始,刚开始每周采精 1 次,周岁后可按正常频率采精。

5.1.2.2 调教方法

5.1.2.2.1 开始调教时,可用体型较大的发情母羊作为台羊保定在采精架上。采精成功 3 次后,发情母羊即可换为非发情母羊或假羊。

5.1.2.2.2 对于性欲不强或不会爬跨的后备公羊,可采用以下方法进行调教:

- 在别的公羊配种时让其在旁边“观看”,刺激形成性条件反射;
- 将发情母羊分泌物抹在公羊鼻尖上刺激性欲;
- 将种公羊放入非育种群发情母羊群中,使其先自然交配几次,再进行采精训练;
- 增加运动量和运动强度。

5.1.3 补饲

配种期间应加强配种公羊日粮营养,增喂鸡蛋、胡萝卜、复合维生素等。

5.2 试情公羊

5.2.1 试情公羊应选择参与配种、周岁以上的青年公羊,且体格健壮、性欲旺盛和无疾病的个体。

5.2.2 试情公羊的数量可按配种母羊数量 1:100~1:200 比例准备。

5.2.3 试情公羊参与试情期间应单独饲养。

5.3 配种母羊

应在配种期到来之前,及时做好羔羊断奶、母羊整群、预防接种、驱虫,并进行短期优饲,母羊膘情以中等水平为宜。

6 采精

6.1 准备工作

6.1.1 器材和物品

人工授精所需的器材和物品应在配种期到来之前准备齐全,器材和物品名录见附录 B。

6.1.2 器材清洗与消毒

器材清洗与消毒方法见附录 C。

6.2 采精操作

6.2.1 假阴道安装

6.2.1.1 将内胎装入外壳内,将两端露出的部分向外壳表面翻卷展平,内胎应松紧均匀、不扭曲。

6.2.1.2 在安装消毒好的假阴道一端安装集精杯,从外壳中央充气孔加入 50℃~55℃的热水至充气口处,然后在充气孔上安装好橡胶塞和充气阀(气嘴),从气嘴吹入适量空气,使假阴道采精口的一端内胎呈三角“Y”状为宜。

6.2.1.3 用消毒玻璃棒蘸取少许医用凡士林均匀涂于假阴道采精口一端,深度约为内胎 1/2。

6.2.1.4 把消毒过的玻璃棒式温度计插入假阴道内检测温度,温度以 40℃~42℃为宜。

6.2.2 采精

6.2.2.1 采精前先用湿毛巾把公羊阴茎周围污物擦洗干净。

6.2.2.2 当公羊爬跨台羊时,迅速拉开公羊,反复 2 次后再进行采精。

6.2.2.3 采精时,操作人员用右手掌心握住假阴道和集精杯,气嘴方向朝下,假阴道与地面呈 35°~40°夹角,在公羊爬跨台羊伸出阴茎时,左手迅速轻托包皮将阴茎导入假阴道内,公羊向前耸身射精后迅速将假阴道竖起,集精杯一端向下。

6.2.2.4 打开气嘴放气,取下集精杯,盖上盖,在采精杯外壳上注明公羊个体编号,尽快送到检查室内,并放到 30℃~37℃的恒温环境中,集精杯应避免阳光直射,防止污染。

6.2.2.5 不宜将不同公羊的精液混合后使用。

6.2.3 采精频率

每只公羊以每天采精 1 次为宜,特殊情况下 1 d 内需采精 2 次的,则应间隔 1 d 后再采精。

6.2.4 采精记录

应及时做好当天种公羊的采精记录,种公羊采精记录表样式见附录 D。

7 精液品质检查

7.1 色泽与气味

正常精液应为乳白色或浅乳黄色,略带腥味,无异味。

7.2 射精量

可用有刻度的集精杯或注射器测定,一次射精量如 $<0.5\text{ mL}$ 的,应检查公羊健康状况或调整采精频率。

7.3 精子密度

用于人工授精的鲜精的精子密度应 $\geq 6\times 10^8$ 个/mL。可采用血球计数板法或精子密度仪进行测定,精子密度仪应定期用血球计数板法进行校正。

7.4 精子活力

用于人工授精的鲜精的精子活力应 $\geq 60\%$ 。检测方法按 GB 20557—2006 中 A.3 的规定执行。

7.5 精子畸形率

用于人工授精的鲜精的精子畸形率应 $\leq 15\%$ 。检测方法按 GB 20557—2006 中 A.5 的规定执行。

8 精液稀释与保存

8.1 精液稀释液配制

常用精液稀释液(以下简称“稀释液”)配制方法见附录 E。

8.2 稀释方法

8.2.1 精液和稀释液的温度应保持相同或接近,稀释过程中应避免温度大幅度反复波动。具体操作步骤如下:

- 将配制好的稀释液连瓶置于 $30\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的恒温环境中;
- 将检查合格的精液连同玻璃容器(集精杯或试管)同样置于相同的恒温环境中;
- 根据精子密度、活力和当天需要配种的母羊数确定稀释倍数,应保证每只羊每次输精剂量($0.1\text{ mL}\sim 0.2\text{ mL}$)的有效精子数不少于 3 000 万个;
- 稀释前用注射器先吸入少量稀释液清洗内壁,弃去后再按需要量正式吸入稀释液,稀释时应沿精液容器壁缓缓注入精液内并轻轻摇动混匀;
- 用移液枪吸取一滴稀释后的精液,检查精子活力;
- 将稀释后的精液放回 $30\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的恒温环境中,盖上盖子;

8.2.2 精液稀释后,应尽快使用。如有分装和保存需要,应在分装瓶上注明公羊个体编号、采精时间、精子密度、活力和稀释倍数。

8.3 精液常温保存

8.3.1 将稀释分装好的精液置于 20℃~25℃下 1 h~2 h 后,放入 16℃~18℃恒温箱内避光保存;也可用 8 层~10 层纱布包裹严实直接放入 16℃~18℃恒温箱内。

8.3.2 保存的精液每隔 8 h~12 h 摇动一次,摇动时应轻缓均匀。

8.3.3 精液常温保存时间不宜超过 48h,使用前应检查精子活力,精子活力<30% 的不宜使用。

8.4 精液低温保存

8.4.1 将稀释分装好的精液用 8 层~10 层纱布包裹严实,放于冰箱 4℃~6℃保鲜层固定位置。

8.4.2 保存期间应避免频繁开启冰箱门。

8.4.3 精液低温保存时间不宜超过 72 h,使用前应检查精子活力,精子活力<30% 的不宜使用。

9 母羊发情鉴定

9.1 宜采用“试情公羊”法进行发情鉴定,试情时间以每天早、晚饲喂前为宜。

9.2 试情时,可用试情布兜住试情公羊腹部并确保覆盖住阴茎。绵羊用试情布规格为 50 cm×40 cm,山羊用试情布规格为 40 cm×30 cm。

9.3 试情公羊应放入母羊圈内进行试情,配有运动场设施的也可在运动场内进行试情。试情人员应认真观察,遇到母羊挤在一起时,还应进行人为驱散,以保证每只母羊均有接触试情公羊的机会。

9.4 以母羊站立不动、接受爬跨为发情配种的最佳时机。

9.5 被试情公羊找出的所有发情母羊可集中到配种圈进行配种。

9.6 每次试情完毕,应将试情布解下,洗净晾干备用。

10 输精

10.1 母羊准备

10.1.1 母羊保定可采用站立方式或倒立方式。每日配种母羊较多的羊场或体型较大的母羊适用站立方式保定。

10.1.2 站立方式保定可在距离输精员站立地面 1m 左右的输精台上用保定架保定母羊,以使站在台下的输精员视线比母羊的输精部位高 10 cm~15 cm 为宜。

10.1.3 倒立方式保定可在发情母羊圈旁设置一根高度在 60 cm~80 cm 可调的横杆,将母羊后肢搭在横杆上,前肢着地进行保定,1 次可保定多只母羊。

10.1.4 母羊被保定在保定架上后,先用抹布蘸清水清除粪便等脏物,接着用纸巾擦干余液,再用无液滴渗出的酒精纱布块消毒,自然干燥即可。清洗时不应使用消毒剂。

10.2 输精方法

10.2.1 输精时由助手掀起羊尾,输精员配戴 LED 头灯,左手将用生理盐水湿润过的闭合状态的开腔器沿母羊阴门的形状缓慢插入阴道后,再轻轻转动 90°张开开腔器,调整头灯照射角度观察阴道内有无出血、炎症等疾病症状,确认正常后,通过调节深度和角度找到子宫颈口,并稳定住开腔器,右手将吸入精液的输精枪插入子宫颈口内约 1 cm,同时注入精液,输精完成后,右手先抽出输精枪,然后左手一边慢慢松开开腔器,一边从阴道中抽出。对于初产母羊,可采用羊用阴道内窥镜进行辅助输精。

10.2.2 输精应采用一次试情两次输精的方式,两次输精应间隔 12h,即早晨试情发情的母羊当日早、晚

各输精一次。完成两次输精的母羊即可放回圈内,如果 24 h 后母羊通过试情仍表现为发情,应进行第三次输精,但在一个发情期内,输精不超过 3 次。

11 配种记录

11.1 所有完成输精的母羊应及时作好配种记录,并通过分析配种记录评价配种成绩,定期检查受胎情况。配种记录表样式见附录 F。

11.2 超过三个情期仍未怀孕的母羊应作为难孕羊处理。

附 录 A
(资料性)
羊用采精架设计示意图

图 A.1 给出了羊用采精架设计示意图,可根据羊品种大小酌情调整。

单位为毫米

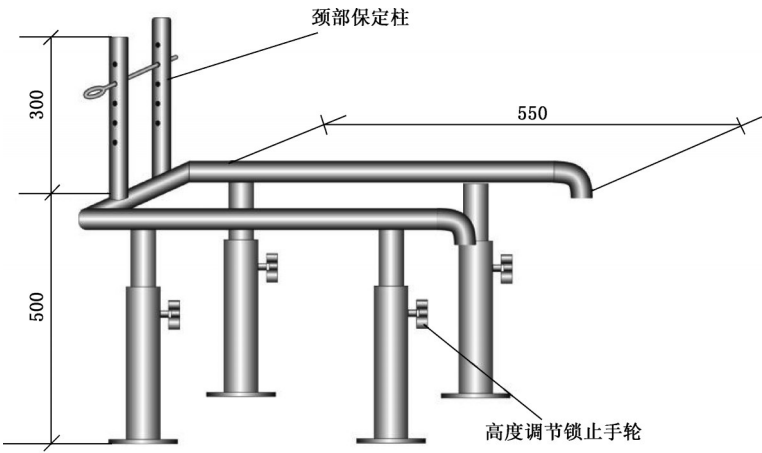


图 A.1 羊用采精架设计示意图

附 录 B
(资料性)
羊人工授精器材与物品

表 B.1 给出了羊人工授精所需器材与物品的名录。

表 B.1 羊人工授精器材与物品

分类	器材名称	规格	单位	数量	备注
仪器设备	生物显微镜	双目镜,带显示屏	套	1	显示屏分辨率1 024×768以上
	显微镜载物台恒温板	室温—50℃可调	台	1	数显控温
	消毒柜	上层臭氧、下层电热	台	1	家用型
	电子天平	500 g/0.01 g	台	1	—
	恒温水浴箱	带排水阀,数显温控	台	1	精液及稀释液保温
	超声波清洗机	13 cm×28 cm×15 cm	台	1	器材清洗
	电冰箱	24 L 数显可调温	台	1	精液低温保存
	电热高压消毒锅	18 L 自控	台	1	高压蒸汽消毒
	超纯水机	或蒸馏水机	台	1	稀释液配制
玻璃器材	盖玻片	20 mm×20 mm	盒	5	每盒100片
	载玻片	76 mm×26 mm	盒	1	50片/盒
	烧杯	50 mL~500 mL	个	各2	—
	三角烧瓶	50 mL~500 mL	个	各2	—
	容量瓶	100 mL~500 mL	个	各2	—
	广口瓶	500 mL(茶色、无色)	个	各2	无色为酒精棉球用
	玻璃磨砂下口瓶	5 000 mL	个	1	蒸馏水存用
	量筒	100 mL~500 mL	个	各2	—
	玻璃漏斗	90 mm	个	2	—
	玻璃搅拌棒	250 cm	根	4	—
	温度计	0℃~100℃	支	2	—
常用器械	移液枪	0 uL~200 uL	个	2	—
	移液器吸头	200 uL	包	1	1 000支/包
	移液器支架	—	个	1	—
	不锈钢镊子	20 cm	把	1	—
	不锈钢消毒桶	63 cm×350 cm	个	2	金属输精器消毒用
	不锈钢药勺	—	个	2	—
	手术剪	18 cm	把	2	—
	试管架	—	个	1	—

表 B.1 羊人工授精器材与物品（续）

分类	器材名称	规格	单位	数量	备注
专用器械	假阴道外壳	—	个	10	—
	假阴道内胎	—	条	20	—
	气嘴	—	个	20	—
	开腔器	—	把	5	—
	塑料量杯	2 000 mL	个	2	盛装开腔器
	集精瓶	—	个	20	—
	头灯	LED、可调焦、充电式	套	2	带感应控制开关
	输精器	金属	支	10	—
试剂耗材	75% 酒精	—	—	适量	—
	柠檬酸钠	分析纯、500 g/瓶	瓶	1	—
	葡萄糖	分析纯、500 g/瓶	瓶	1	—
	青、链霉素	80万单位/瓶	瓶	各 20	—
	生理盐水	—	—	适量	—
	丁腈手套	中号	盒	10	—

附 录 C

(资料性)

器材清洗与消毒方法

C.1 器材清洗

C.1.1 器材清洗按照“浸泡→初步清洗→精细清洗→自来水冲洗→蒸馏水过洗”流程操作,洗涤剂宜选用泡沫少、中性、易清除的产品,如家用洗洁精类。

C.1.2 精细清洗过程宜用超声波清洗机来完成。

C.1.3 精细清洗后器材可置于自来水龙头下反复冲洗,对于容器类器材可采用“灌入↔倒出”方式反复操作5次以上,此步骤不宜采用盆洗方式。

C.1.4 自来水冲洗后器材可置于两盆蒸馏水中分别过洗一次,对于直接与精液或稀释液接触的器材(如输精器、集精瓶、稀释液储存容器和载玻片等)可增加过洗次数。

C.2 器材消毒

C.2.1 金属、玻璃器材宜采用电热干燥箱 120℃消毒 30 min。

C.2.2 橡胶、尼龙、塑料等不耐高温的器材宜采用紫外线或臭氧消毒。

C.2.3 纱布、毛巾等器材宜采用蒸汽消毒,消毒时间达到 30 min。

C.2.4 开腔器在每次清洗擦干后,可用酒精灯火焰消毒,然后插入生理盐水中备用。

C.2.5 输精枪在每一只母羊输精完成后,可用 75% 酒精棉球从后向前擦拭消毒,后用生理盐水棉球反复擦拭,然后再给另外一只母羊输精。

C.2.6 玻璃棒式温度计可用 75% 酒精棉球擦拭消毒,后用生理盐水棉球反复擦拭。

C.2.7 采精、输精器材不可放入水中煮沸消毒。

附录 D
(资料性)
种公羊采精记录表

表D.1给出了种公羊采精记录表的样式。

表 D.1 种公羊采精记录表

公羊个体编号：_____ 品种：_____ 年龄：_____ 来源：_____ 第 _____ 页

采精日期 (月、日、时)	原精液品质			稀释后精液品质			保存精液			输精 剂量 mL	授精母 羊数量 只	输精员	备 注
	射精量 mL	密度 亿/mL	活力 %	稀释液 (代码)	稀释 比例	密度 亿/mL	活力 %	保存 方式	保存时间 h				

记录人(签字): _____

附 录 E
(资料性)
精液稀释液配制

E.1 基础稀释液配制

E.1.1 基础稀释液配方

配方一:0.9%注射用生理盐水。

配方二:葡萄糖 3.3 g,柠檬酸三钠 1.4 g,溶于 100 mL 的蒸馏水中。

配方三:乳糖 5.5 g,葡萄糖 3.0 g、柠檬酸三钠 1.5 g、柠檬酸 0.02 g,溶于 100 mL 的蒸馏水中。

基础稀释液仅用于输精时的精液稀释,不宜直接用于精液的保存。

E.1.2 配制方法

E.1.2.1 按配方称取试剂放入烧杯中,再用量筒量取双蒸馏水 100 mL 加入其中,用磁力搅拌器或玻璃棒搅拌使其溶解。

E.1.2.2 将烧杯中的溶液,用一层定性滤纸过滤溶液至三角瓶中,三角瓶口用加硫酸纸或牛皮纸盖住并用橡皮筋固定,放在盖有石棉网的电炉上加热至沸腾,迅速将其取下,冷却至常温。也可装入耐高温样品瓶用高压蒸汽灭菌。

E.1.2.3 密封的基础稀释液可在低温环境下长期保存,已启用的基础稀释液可放入在 2℃~5℃冰箱中备用,保存时间不超过 12 h。

E.2 常温保存稀释液配制

E.2.1 取 E.1.1 中配方三配制的基础稀释液 100 mL 放入消毒过的三角烧瓶或样品瓶内,加入青霉素和链霉素各 10 万单位,充分混合均匀后备用。

E.2.2 常温保存稀释液不可用于精液低温保存。

E.2.3 常温保存稀释液现用现配,剩余的弃用。

E.3 低温保存稀释液配制

E.3.1 取 E.1.1 中配方三配制的基础稀释液 80 mL 放入消毒过的三角烧瓶或样品瓶内,加入新鲜卵黄 20 mL,再加入青霉素和链霉素各 10 万单位,充分混合均匀后备用。

E.3.2 低温保存稀释液也可用于常温精液稀释。

E.3.3 低温保存稀释液现用现配,剩余的弃用。

附录 F
(资料性)
母羊配种记录表

表 F.1 母羊配种记录表

表F.1给出了母羊配种记录表的样式。

年度：_____																		
品种 _____																		
群别： <input type="checkbox"/> 核心群 <input type="checkbox"/> 繁育群 <input type="checkbox"/> 后备群																		
母羊编号	圈号 (舍一栏)	第一情期			第二情期			第三情期			预产日期 (年/月/日)	实产日期 (年/月/日)	产羔登记(编号、只)				备注	
		配种日期 (月/日)	与配公羊	配种方式 (AI、NM)	配种日期 (月/日)	与配公羊	配种方式 (AI、NM)	配种日期 (月/日)	与配公羊	配种方式 (AI、NM)			♂	♀	畸形	死胎		

注: AI表示为人工授精; NM表示为本交配种。

记录员(签字): _____

参 考 文 献

- [1] NY/T 1335—2022 牛人工授精技术规程
-