|  |  |
| --- | --- |
| ICS 65.020.30 |  |
| CCS B 40/49 |  |

四川省地方标准

DB51/T XXXX—XXXX

51

山羊人工授精技术规范

Technical Regulation of Artificial Insemination for Goats

（征求意见稿）

XXXX-XX-XX发布

XXXX-XX-XX实施

四川省市场监督管理局  发布

目次

[前言 II](#_Toc1338629139)

[1 范围 1](#_Toc1736248682)

[2 规范性引用文件 1](#_Toc1528554851)

[3 术语和定义 1](#_Toc224881564)

[4 设施设备 1](#_Toc212316984)

[5 种公羊准备 2](#_Toc1396444446)

[6 采精 2](#_Toc913804112)

[7 精液品质检查 3](#_Toc410094113)

[8 精液保存 3](#_Toc326881896)

[9 人工授精 4](#_Toc1699481210)

[10 妊娠诊断 6](#_Toc1754451285)

[11 记录 6](#_Toc1754451285)

[附录A 山羊人工授精准备仪器物品清单 7](#_Toc1003412084)

[附录B 器具清洗消毒 8](#_Toc1471626728)

[附录C 山羊精液稀释液配方 9](#_Toc1025426255)

[附录D 山羊人工授精记录表 10](#_Toc1025426255)

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。

本文件代替DB51/T 511—2005《肉用山羊人工授精技术操作规程》，与DB51/T 511—2005相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

——修订了标准名称（见封面）；

——增加了电刺激采精方法（见6.3）；

——增加了精液冷冻保存技术（见8.4）；

——增加了母羊同期发情技术（见9.2）；

——增加了妊娠诊断技术（见10）；

——修订了山羊人工授精准备仪器物品清单（见附录A）；

——增加了器具清洗消毒方法（见附录B）；

——对稀释液进行了分类，分为常温保存稀释液和冷冻保存稀释液（见附录C）；

——增加了山羊人工授精记录表（见附录D）

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。

本文件由四川省农业农村厅提出、归口并解释。

本文件起草单位：四川省畜牧总站，绵阳市农业科学研究院，乐至县农业农村局。

本文件主要起草人：王莉娟，李强，王小强，曹伟，周爱民，周玉刚，杨舒慧，舒刚，刘园，高慧纯，余易展，洪宁，张勇，刘政权。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——2005年首次发布为DB51/T 511—2005；

——本次为第一次修订。

山羊人工授精技术规范

1　范围

本文件规定了山羊人工授精的设施设备、种公羊准备、采精、精液品质检查、精液保存、人工授精、妊娠诊断和记录。

本文件适用于山羊的人工授精操作。

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 山羊冷冻精液

NY/T 3186 羊冷冻精液生产技术规程

3　术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

假阴道采精Artificial vagina semen collection

指通过模拟雌性动物阴道的生理环境（如温度、压力、湿度及润滑度等），设计出特定的人工器具（即假阴道），诱导雄性动物射精并收集精液的采精方法。

3.2

电刺激采精Electro-Ejaculation

是指通过特定的电刺激装置，将低频电流施加于雄性动物的盆腔神经或生殖道周围组织，诱发射精反射并收集精液的采精方法。

3.3

同期发情Estrus synchronization

指通过人为干预手段，利用某些激素制剂使一群母羊的发情周期在短时间内（如2~5天）同步化，实现集中发情和配种的技术。

3.4

人工授精Artificial insemination

指通过人为操作，借助输精器械将人工采集的公羊精液输入发情母羊生殖道内，以代替自然交配的繁殖技术。

4　设施设备

4.1　采精室

采精场所固定，要求光照充足，地面清洁、干燥、防滑，室温 18℃～25℃。

4.2 设备、器械、药品

山羊人工授精准备仪器物品详细清单见附录A，器具消毒操作见附录B。

5　种公羊准备

5.1　种公羊要求

采精种公羊符合品种特征，达到品种标准一级以上，健康无病。种公羊应加强饲养管理，保证种公羊足够的运动量和运动强度。

5.2 种公羊调教

种公羊的调教从8月龄开始，让其熟悉采精环境和采精人员，观摩采精并训练采精；调教初期，每周采精1天，周岁后每周采精2～3天，每天采精1次。

6　采精

6.1 器械准备

凡接触山羊精液的用具，在使用前用中性肥皂或1%碳酸钠水溶液洗涤，再用无菌水冲洗干净，消毒灭菌（金属、玻璃器械采用高温灭菌，其余器械采用酒精消毒），干燥备用。

如采用电刺激采精方法，电刺激采精仪提前充电待用。

6.2 假阴道采精

6.2.1　假阴道的安装方法

安装假阴道按以下步骤进行：

a）内胎装入外壳内，露出的两端向外壳表面翻卷，并用橡皮圈固定；内胎要展平，松紧均匀。外壳中央上有灌水小孔，孔上安装橡胶孔塞，孔塞上安装调节钮（气嘴）。

b）在安装消毒好的假阴道一端接上集精杯，从外壳中央小孔加入50℃~55℃的热水150mL~180mL，安紧孔塞和调节钮；从调节钮吹入适量空气，使假阴道采精口的一端内胎呈三角形，大小以可容纳公羊阴茎为宜。

c）把消毒过的水银温度计插入假阴道，测量温度，使温度维持在40℃~42℃。

d）用消毒玻棒蘸取少许医用白凡士林或石蜡油均匀涂于假阴道内胎口处。

6.2.2　采精操作

假阴道采精操作按以下步骤进行：

a）选择健康的发情母羊做台羊（或选择采精用的固定台羊）。

b）用湿毛巾把公羊阴茎周围污物擦洗干净，操作人员右手拿假阴道，使假阴道与地面呈35°～40°的角度，公羊爬跨伸出阴茎时，左手轻托包皮，将阴茎迅速导入假阴道内，射精后迅速将集精杯竖立，及时打开气嘴放气，使全部精液流入集精杯。

c）取下集精杯，编写精液编号，准备作精液品质检查，并做好登记。

6.3 电刺激采精

电刺激采精操作按以下步骤进行：

a）对公羊进行保定。

b）对电极棒等采精器具进行清洗消毒。

c）在电源关闭状态，将电极棒沿着与公羊身体平行的角度插入公羊直肠，电极棒金属面紧贴直肠靠近腹部一面。

d）电压调为0V，打开电源，缓慢增加电压直至2V～4V，电压根据山羊的体型、体重进行相应调整。山羊体型越大，所需电压越大。

e）设置电刺激持续时间为5s～8s，间歇4s～5s，进行再次刺激，可重复刺激2～5次。

f）待公羊完成射精动作后，迅速将集精杯送至精液检查室，并及时清洗采精器具。

g）编写精液样品编号，准备作精液品质检查，并做好登记。

6.4 采精频率

6.4.1　假阴道采精

每天可采精2次，每次间隔30min以上，每周可采精2d～3d，间隔两天或三天进行采精。

6.4.2　电刺激采精

每天采精1次，每周采精1～2天，采精时间间隔三天以上。

7　精液品质检查

7.1　外观

正常精液呈乳白色或淡黄色，无臭味，无异物，略带腥味。

7.2　采精量

7.2.1　体积测量

通过刻度管上的刻度值测量精液的体积（mL）。

7.2.2　称重

将盛有精液的集精杯放置于称量天平上，称取重量（g），减去集精杯净重（g），再除以1.03（精液比重），即为精液的体积（mL）。一般每次射精量0.5mL～1mL。

7.3　精子密度

用精子密度仪测定或用传统比色法进行密度测定，单位为108个/mL。

7.4　精子活力

活力检查方法参照GB20557-2006中A.3的规定执行。

7.4　精子畸形率

畸形率检查方法参照GB20557-2006中A.5的规定执行。

7.5　精液质量

7.5.1　新鲜精液

外观正常，密度≥6×108个/mL、活力≥65%的精液进行输精或保存。

7.5.2　冷冻精液

输精冷冻精液质量应满足以下要求：

a）解冻后精子活力≥30%，精子畸形率≤20%；

b）每剂0.25mL细管冻精解冻后有效精子数不低于3000万个。

8　精液保存

8.1　稀释液的配制

当天使用或常温保存待用的精液，配制常温保存稀释液，参照附表C.1。用于冷冻保存的精液，配制冷冻保存稀释液，参照附表C.2。

8.2　稀释倍数

精液在稀释前必须进行活力和密度检查，然后确定稀释倍数。鲜精活力达65%以上，可作1~10倍稀释。常见稀释后密度为每毫升3～5亿个精子，可以此计算稀释倍数。

8.3　精液稀释操作

将稀释液置于30℃～34℃的水浴锅或恒温箱中预热。

稀释时，根据稀释倍数加入已预热至 30℃～34℃的稀释液，将稀释液沿杯（瓶）壁缓缓加入精液中，轻摇混匀。

在进行高倍稀释时需分两步进行，先进行低倍稀释，3min～5 min后再作高倍稀释。

稀释完毕后，必须作活力检查，稀释后活力达到0.65以上，即可进行分装与保存。

8.4　精液保存

常温保存的稀释精液，保存于35℃～38℃待用。

冷冻保存的稀释精液，参照NY/T 3186-2018进行分装、冷冻、保存。

9　人工授精

9.1 母羊选择

选择8月龄以上，体重达到成年体重的健康母羊，单独组群饲养，防止公羊混群偷配；提高母羊营养水平，让母羊膘情达到中上等。

9.2 母羊同期发情

9.2.1　孕激素法

采用孕激素法对母羊进行同期发情处理，按照以下步骤：

a）放栓

人工保定母羊后，外阴部用0.1%高锰酸钾水溶液或0.1%新洁尔灭消毒剂冲洗消毒，再用生理盐水冲洗干净；将孕酮海绵栓或硅胶栓（含孕酮300mg~500mg）塞入母羊阴道深处子宫颈外口处，拉线露出阴门外3cm左右。

b）取栓

以放置孕酮海绵栓或硅胶栓当日为0d计算，放置10d~12d后取出。

c）注射孕马血清促性腺激素（PMSG）

在取栓的同时肌肉注射PMSG 400 IU。在取栓后的30h～60h内，母羊通常会发情。

9.2.2　PG法

PG法一般采用肌肉注射前列腺素及其类似物，如氯前列烯醇（PGF2α）。

繁殖季节，待配母羊间隔10d～14d，两次肌肉注射氯前列烯醇（PGF2α），每次注射 0.05mg～0.1mg（根据母羊体重调整剂量），第二次注射后，24h～72h大多数母羊发情。

9.3 母羊发情鉴定

9.3.1　鉴定方法

9.3.1.1　外部观察法

发情母羊行为表现兴奋，频繁走动，食欲减退，频繁鸣叫。母羊外阴肿胀，阴道黏膜充血，分泌物增多具有一定的黏性，可拉成细丝状。

9.3.1.2　阴道检查法

利用开膣器进行阴道发情检查。如果发现母羊阴道粘膜充血发红，阴道有分泌物（发情初期粘液较少而稀薄，中期粘液增多，后期变得粘稠）；子宫颈松弛、充血，子宫颈口开张，即可判定为发情。

9.3.1.3　试情法

使用试情公羊进行鉴定。将佩戴试情布或输精管结扎的公羊放入母羊群，公母比例 1:30～50，让公羊自由游走寻找发情母羊，直至寻遍整个羊群。主动接近公羊，不停摇尾、鸣叫，公羊爬跨时静立不动的母羊即发情母羊，挑出待配。

9.3.1.4　电阻值测定法

使用排卵测定仪测定阴道黏液的电阻值，当电阻值<400Ω时，表明母羊处于排卵期，可以进行输精。

9.3.2　鉴定时间

每天早晚各鉴定一次，每次不少于30min。

9.4 输精

9.4.1　母羊保定

采用倒提后腿法或者用保定架保定发情母羊。

9.4.2　输精时间

9.4.2.1　母羊自然发情

母羊发情后12h～24h第一次输精，间隔8h～12h第二次输精，若还持续发情的，可在第二次输精后8h~12h进行第三次输精。

9.4.2.2　母羊同期发情

孕激素法输精时间：从撤栓后0h开始计算，分别在36h、48h、60h各输精一次。

PG法输精时间：第二次注射PG后36h开始观察母羊发情情况，发情后8h～12h第一次输精，间隔8h～12h第二次输精，若还持续发情的，可在第二次输精后8h~12h进行第三次输精。

9.4.3　输精剂量

输精可使用鲜精或冻精。鲜精活力≥65%，每次输精有效精子数不少于5000万，已稀释鲜精输精剂量一般为0.1mL～0.3mL；冻精活力≥30%，每次输精有效精子数不少于3000万，冻精输精剂量一般为0.2mL以上。

初配母羊输精，由于阴道狭窄，开膣器难以打开，可在阴道深部输精，输精剂量加大2～3倍。

9.4.4　输精操作

输精按以下步骤进行：

a）输精前将母羊外阴部用0.1%新洁尔灭擦洗消毒，再用生理盐水冲洗干净；

b）将用生理盐水温润过的开膣器以闭合状态慢慢插入母羊阴道，打开开膣器，用额灯或手电筒光源寻找子宫颈口；

c）将输精枪慢慢插入子宫颈口内0.5cm~1cm，将精液注入子宫颈口内，最后缓慢取出输精枪和开膣器；

d）输精后的母羊应在原保定位置停留10min，以防精液倒流。输精后的母羊应保持2h～3h的安静状态，不应接近公羊或强行牵拉。

10　妊娠诊断

10.1　返情观察

配种后，母羊观察20d～30d，不发情的母羊即视为妊娠，发情的母羊进行补配。

10.2　B超早期妊娠诊断

配种后30d～35d，用兽用B超进行早期妊娠诊断。

母羊呈站姿保定，后躯对着操作人员。操作人员将涂有耦合剂的探头紧贴在母羊乳房左侧或右侧肷部，同时手部稍用力，紧贴皮肤向前后、左右移动扫描，观察显示屏上母羊子宫、胎盘、胎体等部位的情况，判断母羊是否妊娠。

11　记录

人工授精应做好相应的记录。记录内容见附录D。

附录A  
（资料性）  
山羊人工授精准备仪器物品清单

A.1　山羊人工授精准备仪器物品清单

见表A.1。

表A.1　山羊人工授精准备仪器物品清单

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **编号** | **品名** | **数量** | **备注** |
| 1 | 高压灭菌锅 | 1 个 | 用于人工授精物品的灭菌 |
| 2 | 恒温干燥箱 | 1 台 | 放置已灭菌的人工授精设备 |
| 3 | 恒温水浴锅 | 2 个 | 对恒温假阴道、精液、精液稀释液等进行保温 |
| 4 | 显微镜（×400） | 2 台 | 检测精液活力 |
| 5 | 盖玻片 + 载玻片 | 若干 | 显微镜测定精液活力配套使用 |
| 6 | 恒温板 | 2 个 | 放置载玻片及盖玻片恒温 |
| 7 | 假阴道 + 集精杯 | 若干 | 视公羊数量而定，准备数量大于公羊数量3~5套 |
| 8 | 电刺激采精仪 | 1套 | 每一只羊采精之后，需清洗电极棒 |
| 9 | 精子密度仪 | 1 台 | 检测精液密度 |
| 10 | 精液稀释液 | 1 瓶 | 需准备大于20mL |
| 11 | 液氮罐（含液氮） | / | 制作、储存、运输冷冻精液 |
| 12 | 排卵测定仪 | 1 台 | 用于测定母羊阴道黏液电阻值 |
| 13 | 兽用B超 | 1 台 | 监测母羊是否发情或妊娠 |
| 14 | 阴道栓 | 1 包（50个） | 孕酮海绵栓或孕酮硅胶栓，用于同期发情 |
| 15 | 激素类药物 | / | PMSG、PGF2α等，根据同期发情群体规模来确定使用量 |
| 16 | 注射器 | 2 袋 | 1mL、5mL各一袋，分别搭配输精枪及精液稀释液使用 |
| 17 | 开膣器 | 5 个 | 大于输精操作技术员2把，以做备用 |
| 18 | 输精枪 | 10 根 | 输精量0.2 mL /只，准备适宜大小输精枪 |
| 19 | 新洁尔灭 | 1 瓶（500mL） | 输精及同期发情操作中，用于消毒 |
| 20 | 生理盐水 | 6瓶（500mL） | 用于冲洗输精器械及母羊黏液 |
| 21 | 医用凡士林 | 1 瓶（400mL） | 假阴道内胎润滑、开膣器润滑 |
| 22 | 消炎类常备药品 | 1 套 | 应对母羊生殖道发炎等异常情况（具体药物） |
| 注：除上述外，还需准备75% 酒精、蒸馏水、量杯、玻棒/镊子、水银温度计、纸巾、手电筒/额灯、口罩、手套、记录本、药匙、桌椅、毛巾、肥皂、记号笔、签字笔、工作服等。 | | | |

附录B  
（资料性）  
器具清洗消毒

B.1　玻璃器皿

B.1.1 首次使用的玻璃器皿先用自来水刷洗，除去灰尘。放入5%稀盐酸中浸泡12h，取出后立即用自来水冲洗，再用超声波洗涤器清洗15min~30min，或用洗涤剂（如洗洁精）刷洗，无菌水冲洗干净，然后放入高压蒸汽灭菌锅（120◦C，20min~30min）进行灭菌处理，烘干备用。或采取高温干燥消毒处理，即将洗净的玻璃器皿送入高压电热干燥箱，加热至160度后再恒温1.5h~2h，自然冷却后待用。

B.1.2 使用过的玻璃器皿可直接泡入洗涤剂中，浸泡后刷洗干净烘干消毒备用。使用多次的器皿用简化酸液（5%~10%的硝酸溶液或10%~20%的盐酸溶液）浸泡2h~ 4h或过夜处理，后续步骤同B.1.1.

B.2 采精器

假阴道使用前后，用水冲去表面污物，把内胎拆下，在加有洗涤剂的温热水中浸泡10min以上，用长毛刷刷洗，用水冲洗干净，再用蒸馏水逐个冲洗。将洗净的假阴道外套放在架子上，其上覆盖两层清洁纱布，干燥备用。内胎悬挂干燥备用。新内胎或长期未使用的内胎也要浸泡刷洗。使用前用长柄镊子夹75%酒精棉球由内向外旋转彻底清洁内胎，待酒精挥发后，用生理盐水棉球多次擦拭。

B.3 集精杯、集精杯外套和盖子等

玻璃集精杯清洗消毒同B.1。

塑料集精杯、集精杯外套和盖子使用后，用水冲去表面污物，然后在加有洗涤剂的温热水中刷洗，用水冲洗干净，再用蒸馏水逐个冲洗，洗净放在架子上，其上覆盖两层清洁纱布，干燥备用。塑料集精杯用75%酒精消毒，最后用生理盐水棉球多次擦拭；集精杯和盖子用紫外线消毒30min后方可使用。

B.4 金属器皿

开膣器、输精枪等耐高温（不锈钢）的金属器皿消毒：先用软毛刷或专用擦拭布蘸取中性洗涤剂（如无磷洗洁精），彻底清除金属器皿表面的精液、黏液、灰尘等，再用流动清水冲洗干净。然后放入高压蒸汽灭菌锅（120◦C，20min~30min）进行灭菌处理，烘干备用。

不耐高温的金属器皿消毒：常规清洁去污后，将金属器皿完全浸泡在碘伏溶液中30min，取出后用无菌水冲洗2~3次，去除残留碘伏。

B.5 其他器具消毒

电极棒、温度计、镊子、止血钳、药匙等用75%酒精擦拭消毒，待酒精挥发尽后方可使用。

附录C  
（资料性）  
山羊精液稀释液配方

C.1　稀释液配制要求

所有化学试剂为化学纯以上；鸡蛋应新鲜，来源于健康鸡群；水为蒸馏水或双蒸水。

C.2　山羊精液常温稀释液配方

见表C.1。

表C.1　山羊精液常温稀释液配方

|  |  |
| --- | --- |
| 配方种类 | 配制方法 |
| 配方一 | 0.9%注射生理盐水。备注：该稀释液保存时间短，只能进行现场操作。 |
| 配方二 | 取Tris3.6 g、葡萄糖0.5 g、柠檬酸2g溶于90 mL蒸馏水中，加入青霉素10万IU、链霉素10万IU，0.22μm滤器过滤除菌后于4℃保存。使用前加入1.5 mL卵黄，并定容至100 mL，用0.45μm滤器过滤备用； |
| 配方三 | 脱脂奶粉10 g、葡萄糖0.2 g 溶于100mL蒸馏水，95℃加热处理8min。冷却至室温后，加入青霉素10万IU、链霉素10万IU。然后于8000 g×30 min离心取上清，用0.45μm滤器过滤备用。 |

C.3　山羊精液冷冻稀释液配方

见表C.2。

表C.2　山羊精液冷冻稀释液配方

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 配方种类 | 配方成分 | 配制方法 |
| 配方一 | 葡萄糖3.77g、柠檬酸钠1.57g、甘油7mL、卵黄14mL、青霉素10万IU、链霉素10万IU、灭菌蒸馏水 | 取50mL灭菌蒸馏水溶解葡萄糖和柠檬酸钠，与卵黄、甘油混合，加灭菌蒸馏水定容至100mL，最后加入青霉素、链霉素。封口，搅拌30min待用。 |
| 配方二 | 葡萄糖3g、乳糖4.8g、柠檬酸钠1.6g、甘油6mL、卵黄15mL、青霉素10万IU、链霉素10万IU、灭菌蒸馏水 | 取50mL灭菌蒸馏水溶解葡萄糖、乳糖和柠檬酸钠，与卵黄、甘油混合，加灭菌蒸馏水定容至100mL，最后加入青霉素、链霉素。封口，搅拌30min待用。 |
| 配方三 | Tris 4.36g、葡萄糖0.65g、蔗糖1.60g、柠檬酸1.97g、谷氨酸0.04g、甘油6mL、卵黄18mL、青霉素10万IU、链霉素10万IU、灭菌蒸馏水 | 取50mL灭菌蒸馏水溶解Tris、葡萄糖、蔗糖、柠檬酸、谷氨酸，与卵黄、甘油混合，加灭菌蒸馏水定容至100mL，最后加入青霉素、链霉素。封口，搅拌30min待用。 |

附录D  
（资料性）  
山羊人工授精记录表

D.1　公羊精液品质检查记录表

见表D.1。

表D.1　公羊精液品质检查记录表

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 时间 | 公羊耳号 | 每次采精量（mL） | | 总采精量（mL） | 颜色 | 活力 | 密度（亿个/mL） | 稀释倍数 | 备注 |
| 一次 | 二次 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

采精人员： 记录人员：

D.2　母羊输精记录表

见表D.2。

表D.2　母羊输精记录表

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 序号 | 母羊耳号 | 胎次 | 发情时间 | 第一次输精 | | 第二次输精 | | 是否受孕 | 预产期 |
| 公羊耳号 | 时间 | 公羊耳号 | 时间 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

输精人员： 记录人员：

