

ICS 65.120

CCS B46

团 体 标 准

T/SXSL 0xx-20XX

猪冷冻精液生产操作规程

Operating procedures for frozen boar semen production

（征求意见稿）

20XX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

陕西省饲料协会 发布

前 言

本标准的附录都是标准的附录。

本标准由陕西省饲料协会提出并归口。

本标准起草单位：西北农林科技大学、山西荷澜育种有限公司、陕西省畜牧技术推广总站、陕西省畜牧产业试验示范中心、大荔县畜牧发展中心。

本标准主要起草人：高磊、胡建宏、张毅、褚瑰燕、王佳伦、杨公社、贾永宏、陈辉、张曼、李智、杨晓茹。

猪冷冻精液生产操作规程

1. 范围

本文件规定了猪冷冻精液生产与保存的基本要求和技術要求, 包括精液采集、稀释液配制、品质检查、精液冷冻、解冻后品质检测、冻精包装、储存及运输等内容。

本文件适用于猪冷冻精液生产。

2. 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件, 其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准, 然而, 鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件, 其最新版本适用于本标准。

GB/T 4143-2022 牛冷冻精液

GB/T 5458-2012 液氮生物容器

GB/T 23238-2021 种猪常温精液

GB/T 25172-2020 猪常温精液生产与保存技术规范

GB/T 30396-2013 牛冷冻精液包装、标签、贮存和运输

NY/T 1234-2018 牛冷冻精液生产技術规程

NY/T 2077-2011 种公猪站建设技术规范

DB41/T 2371-2022 猪冷冻精液生产技术规范

3. 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1 种公猪 (breeding boars)

体型外貌和性能质量符合种用标准要求的公猪。

3.2 采精器 (semen collection instrument)

模拟母猪阴道环境条件的采精工具。由外壳、内胎、漏斗、集精管等组成。

3.3 采精 (semen collection)

用人工模拟且有自然交配感的工具, 以获得公猪精液的方法。

3.4 采精量 (volume per ejaculate)

公猪一次采精时排出的精液量。

3.5 精子密度 (sperm concentration)

单位体积精液中的精子数。单位为亿个每毫升 ($\times 10^8$ cells/mL)。

3.6 精子活力 (sperm motility)

在 37 °C 环境下前进运动精子占总精子数的百分率。

3.7 畸形率 (malformation rate)

在 37 °C 环境下畸形精子占总精子数的百分比。

3.8 菌落总数 (aerobic plate count)

每剂量精液在一定条件下培养后观察到的微生物菌落总数。

3.9 细管 (straw)

用于分装精液的聚乙烯复合材料的塑料管。

3.10 冷冻精液 (frozen semen)

经特殊方法处理经超低温冷冻并可在液氮中 (-196 °C) 长期保存的精液, 简称冻精。

4. 基本要求

4.1 种公猪

种公猪来源于取得省级《种畜禽生产经营许可证》的原种猪场, 具有三代以上完整系谱和性能测定记录, 遗传评估优良、健康无病符合种用要求。从国外引种需符合国家有关规定。

成年公猪宜每周采精二次至三次, 青年公猪宜每周一次至二次。

4.2 原精液

原精液外观要求呈乳白色, 颜色均匀一致。气味略带腥味, 无异味。采精量要求大于等于 100 mL, 精子活力大于等于 70%, 密度大于等于 1 亿个每毫升, 精子畸形率小于等于 20%。

4.3 操作环境

采精室要求使用面积不小于 12 m², 有控温、控湿、通风换气和消毒设施设备, 采精架牢固、可升降; 室内应配置防护栏, 地面防滑, 与采精准备室相通; 与精液生产室之间应有精液传递窗。

精液生产室要求使用面积不小于 20 m², 有控温、控湿、通风换气和消毒设施设备, 窗户有窗帘。配备更衣间。

精液质量检测室要求使用面积不小于 10 m², 有控温、控湿、通风换气和消毒设施设备, 窗户有窗帘。

4.4 仪器与设备

4.4.1 仪器设备的配置应满足附录 A 的要求。

4.4.2 仪器设备运行正常, 定期进行维护保养。

4.4.3 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与维护保养。

4.4.4 用品、器具等应按照 NY/T 1234-2018

附录 A 中的规定进行清洗和消毒:

a) 玻璃器皿首次使用需要使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, 按操作说明书进行干燥、消毒、灭菌后待用。使用过的玻璃器皿用自来水冲洗;遇有污物或油垢不易清洗的器皿, 放入重铬酸钾洗液中浸泡数小时, 取出后立即用自来水冲洗, 后续步骤同上。

b) 采精器首次使用或使用后, 用水冲去表面污物后在加有洗涤剂的温热水中用长毛刷刷洗, 然后用水冲洗干净, 再用蒸馏水逐个冲洗。将洗净的采精器堆放在架子上, 其上覆盖两层清洁纱布, 晾干后用长柄镊子夹 75%酒精棉球由内向外旋转彻底消毒内胎和三角漏斗, 待酒精挥发后备用。如发现内胎漏气、漏水或皱折, 应及时更换或整理。

c) 载玻片、血盖片使用后立即浸泡于水中, 洗净后用柔软的布擦拭干净备用。

d) 纱布清洗干净经高压灭菌后待用。

e) 其它器具, 如:金属镊子、止血钳、药匙、胶塞和吸管胶头等, 使用 75%酒精擦拭消毒, 待酒精挥发尽后方能使用。细管、冷冻架使用前用紫外线消毒 30 min。

5. 猪冷冻精液生产

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, 所用卵黄应来源于无特定病原体鸡场的新鲜鸡蛋, 配制方法见附录 A。稀释液配制需现用现配, 化学试剂需精确称量(精确至万分位),

配制稀释液灭菌容器需要进行标记, 配制完成后需在瓶上标记日期、名称、保存时间等。

使用商品试剂盒应严格按照使用说明书的要求操作。

6. 品质检查

精液品质检查按照附录 D 中的规定执行。

7. 精液冷冻

7.1 预稀释及平衡

经过质量评估合格的精液, 用等温预热且与精液温度一致的预稀释液(配制见附录 B)按照 1:1~1:1.2 比例稀释, 稀释后的精液于室温(25 °C)静置 1 小时, 转入 17 °C 恒温冰箱, 平衡 2~3 h。

7.2 精液预处理后离心

称量离心瓶重 w_0 (g), 将离心瓶预冷至 17 °C, 然后将 17 °C 平衡好的精液装入离心瓶进行离心(17 °C 条件下, 800×g 离心 10 min), 弃上清液, 称重 w_1 (g)。

7.3 精液处理后进行 4 °C 平衡

用 17 °C 预冷的冷藏保护液(I 液)(配制见附录 B)重悬精子, 重悬后将离心瓶置于盛有 17 °C 水的 500 mL 烧杯中, 于 4 °C 冰箱或低温操作柜中缓慢降温至 4~5 °C (2.5~3 h)。按 2:1 加入冷冻保护液(II 液)(配制见附录 B)混匀, 在 4 °C 下继续平衡 0.5~1 h, 然后在低温操作柜中进行灌装。计算 I 液和 II 液所需体积的方法见附录 C。

7.4 冷冻

7.4.1 程序冷冻

在灌装的同时开启程序冷冻仪, 选定冷冻曲线, 待冷冻仪温度稳定在初始温度(4~5 °C)后, 迅速将摆放好细管的托架放入冷冻室中, 启动冷冻程序。待冷冻曲线走完后, 将托架迅速取出放入装有液氮的泡沫箱中, 液氮深度至少浸没所有细管。

7.4.2 熏蒸冷冻

将液氮倒入深度 50 cm 以上的专用冷冻箱预冷 10 min, 保持冷冻支架上的细管在液氮面之上 3 cm, 盖上冷冻箱盖子熏蒸冷冻 10 min, 最后将冷冻样品浸入液氮中。

7.4.3 分装

将细管支架升到液氮面上 1~2 cm, 然后将细管冻精装入拇指管 (每管 12 支), 再将拇指管装入纱布袋 (每袋 6 管), 在纱布袋或拇指管上标记或贴上打印好的标签。

8. 解冻检测与储存

8.1 冻后抽检

每份原精液制作的细管冻精至少抽取 3 支进行检测。细管从液氮罐中取出后在空气中停留 2~3 秒, 迅速置于 50 °C 水浴中解冻 16 秒, 擦干表面水分后, 将精液移入 5 mL 离心管中, 用预热到 37 °C 的解冻稀释液 (配制见附录 B) 作 10 倍稀释。在 37 °C 水浴中维持 10~15 min, 然后在显微镜下检测解冻后精子活力, 如活力合格, 即可将冻精转入液氮罐中长期保存。

8.2 包装

外包装上标明生产场、品种、种公猪号、生产日期和支数等。

8.3 储存

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。取存冷冻精液后要及时盖好液氮生物容器塞。

储存室应阴凉、干燥、清洁和通风良好。

9. 冷冻质量要求

9.1 精子活力

所制作冻精的精子活力应大于等于 40%。

9.2 精子畸形率

所制作冻精的精子畸形率应小于等于 20%。

9.2 菌落总数

所制作的冻精解冻后的菌落总数应小于等于 1000 个菌落形成单位每毫升 (CFU/mL)。

10. 生产记录

做好猪冻精生产相应记录, 参见附录 E。

11. 运输

应在液氮生物容器罐体外明显位置标上“向上”“小心轻放”等储运图示标志；液氮生物容器应轻装轻卸，不得倾斜、横倒、碰撞和强烈振动，确保冷冻精液始终浸泡在液氮中；液氮生物容器应有专人负责，移动时应提握液氮生物容器手柄抬起罐体后移动。

附录 A

(资料性)

猪冷冻精液生产仪器设备表

猪冷冻精液生产仪器设备见表 A.1。

表 A.1 猪冷冻精液生产仪器设备表

名称	规格及用途
采精架 (假台猪)	采精用, 可升降、调角度
防滑垫	环保橡胶, 不含滑石粉添加剂 (采精室地面防滑)
恒温水浴锅	数显式控温, 控温精度 $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$
电热恒温培养箱	数显温度、可控温度 $34\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$
磁力搅拌器	可恒温、调速
电子精密台称	精液、稀释粉称重
电子天平	$0\sim 300\text{ g}\pm 0.01\text{ g}$, 化学试剂称量
pH 计	$0.0\sim 14.0\pm 0.1$, 测定精液、稀释液的 pH 值
血球计数板	测定精液中精子数量
超纯水仪	稀释液用水
离心机	单孔 $200\text{ mL}\sim 750\text{ mL}$
液氮容器 (不同型号)	贮存液氮, 精液冷冻和保存
微量移液器	$50\text{ }\mu\text{L}\sim 100\text{ }\mu\text{L}$
微量移液器	$100\text{ }\mu\text{L}\sim 1000\text{ }\mu\text{L}$
温度计	温度测量, $0\sim 60\text{ }^{\circ}\text{C}$
精液冷冻程控仪	细管精液冷冻, 控温范围 $30\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 180\text{ }^{\circ}\text{C}$
采精保温杯	600 mL
量筒	500 mL 、 1000 mL , 量取液体
三角烧杯	50 mL 、 100 mL 、 250 mL 、 500 mL
细管精液分装机	封装细管精液
精子密度测定仪	精液中精子密度的测定, 亿/mL
精子质量分析系统	$40\times\sim 600\times$; 有相差镜头, 观测精子数、活力和畸形率
显微镜恒温台 (板)	数显温度, 加热恒温提高精子活体观察的准确性
低温平衡柜	稀释后的精液平衡, 细管精液封装

附录 B

（资料性）

冻精生产相关稀释液配制

B.1 预稀释液

推荐使用猪精液常温保存商品稀释液，按说明书配制。

B.2 I 液（冷藏保护液）

主要成分：乳糖、蛋黄。

按照以下比例配制冷藏保护液：称量 11 g 乳糖加入 100 mL 纯水中，使用容量瓶定容，配制成 11%（w/v）的乳糖溶液。将 25 mL 蛋黄加入到 100 mL 乳糖溶液中，使蛋黄最终比例达到 20%，使用磁力搅拌器混匀，3500×g 条件下离心 30 分钟，抽取上清，为冷藏液，使用前置于恒温箱内 17 °C 保存。

按照 NY/T 1234-2018 中 5.2 的方法抽取蛋黄：鸡蛋使用前先用温水洗净，再用 75% 酒精棉球对蛋壳表面进行消毒，待酒精挥发尽后用蛋清分离器取出完整的卵黄后用灭菌的注射器穿过卵黄膜抽取卵黄；也可在鸡蛋腰正中线处敲开一裂纹，将鸡蛋一分两半，2 个蛋壳交替倾倒，除去蛋清，然后将卵黄倒在灭菌纸（卫生纸、滤纸）上滚动，除去卵黄膜上残留的蛋清后将卵黄挤入洁净的烧杯中待用。

B.3 II 液（冷冻保护液）

主要成分：乳糖、蛋黄、OEP、甘油。

按照以下比例配制冷冻保护液：取 89.5 mL I 液置于 250 mL 烧杯中，用移液器抽取 9 mL 甘油和 1.5 mL OEP 加至其中，混匀，为冷冻液，置 4°C 备用。

B.4 解冻液

推荐使用猪精液常温保存商品稀释液，按说明书配制。

附录 C

(资料性)

精液离心与稀释

C.1 精液离心

C.1.1 离心前应准确称量离心管净重 (g), 做好标记。

C.1.2 降、恒温后精液在 17 °C 环境条件下 800×g 离心 10 min, 弃上清, 称重。

精子体积按式 (C. 1) 计算:

$$(v_0 = (w_1 - w_0)/1.04) \dots\dots\dots (C. 1)$$

式中:

v_0 ——浓缩后精子体积, 单位为 mL;

w_1 ——离心瓶加精子重, 单位为 g;

w_0 ——离心瓶重, 单位为 g;

1.04 ——浓缩后精液比重估计值。

C.2 稀释

C.2.1 采集鲜精后检测鲜精密度 p_0 , 稀释后精液密度 $p_1=p_0/\text{稀释倍数}$ 。

C.2.2 稀释后精子 17 °C 平衡后, 取体积为 $v_{17^\circ\text{C}}$ 的样品离心, 去上清, 加入 I 液体积 v_1 , 4 °C 平衡。此时精液密度为 p_2 。

C.2.3 平衡后 2:1 加入 II 液, II 液体积为 v_2 。此时精液密度为 p_3 , 即最终密度 $p_3 = \frac{2}{3} p_2$ 。

C.2.4 精液冷冻前体积, 即加入 I 液和 II 液后精液总体积 $v_3=v_0+v_1+v_2$ 。

C.2.5 精液最终密度 p_3 由生产需求而定。 p_3 推荐密度为 5 亿个/mL, 即 p_2 为 7.5 亿个/mL。

I 液、II 液的添加体积分别按式 (C. 2. 1、C. 2. 2) 计算:

$$v_1 = \frac{v_{17^\circ\text{C}} \times p_1}{p_2} - v_0 \dots\dots\dots (C. 2. 1)$$

$$v_2 = \frac{1}{2} (v_0 + v_1) \dots\dots\dots (C. 2. 2)$$

式中:

p_1 ——鲜精稀释后的密度, 单位为亿个/mL;

$v_{17^\circ\text{C}}$ ——17 °C 平衡后, 取样至离心瓶中的样品体积, 单位为 mL;

p_2 ——加入 I 液后样品密度, 由最终密度推算得出, 单位为亿个/mL;

v_0 ——浓缩后精子体积, 单位为 mL;

v_1 ——加入 I 液的体积, 单位为 mL;

V_2 ——加入 II 液的体积, 单位为 mL。

附录 D

(规范性)

猪冷冻精液质量检测方法

D.1 通则

试验中除非另有规定, 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。试验所用的测量仪器应经过计量检定机构检定合格,并在有效期内。

D.2 精子活力

D.2.1 仪器设备与耗材

D.2.1.1 精子质量分析仪:由相差显微镜、显示器和专用分析软件等组成。相差显微镜至少应配有 10 倍、20 倍的物镜镜头。专用分析软件的主要技术参数应为 VCL 不小于 $5\text{ }\mu\text{m/s}$ 、VSL 不小于 $5\text{ }\mu\text{m/s}$ 、 $\text{STR}=\text{VSL}/\text{VAP}$ 不小于 25%。精子质量分析仪可读取并显示多个视野的平均值。

注 1:VCL 为精子曲线运动速度。

注 2:VSL 为精子直线运动速度。

注 3:VAP 为精子平均运动速度。

注 4:STR 为精子直线运动速度与平均运动速度的比值。

D.2.1.2 恒温载物台: $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

D.2.1.3 恒温箱: $17\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

D.2.1.4 移液器:量程小于等于 $20\text{ }\mu\text{L}$ 。

D.2.1.5 专用定容玻片:腔室高度 $20\text{ }\mu\text{m}\pm 2\text{ }\mu\text{m}$ 。

D.2.2 试验步骤

a) 开启精子质量分析仪预热至少 5 分钟, 安装恒温载物台(带有恒温载物台的一体化仪器不需要此步骤), 开启恒温载物台电源开关, 设置温度为 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

b) 检查物镜是否转换到相差显微镜镜头, 必要时应按照说明书进行物镜校准并转换光圈模式, 以达到最佳备用状态;调节显微镜光源至适宜的亮度, 将低倍物镜正对载物台的通光孔, 调节物镜与恒温载物台之间的最佳距离, 观察视野明亮程度, 通过调节聚光器, 直至视野光线最佳。

c) 将专用定容玻片置于恒温载物台上预热, 预热时间应大于 1 分钟。

d) 从恒温箱中取出待检样品, 在 18~25 °C 室温条件下轻摇 2~3 分钟。若样品包装为袋装, 则将空精液瓶置于恒温箱 30 分钟以上, 再将袋装精液转移至精液瓶中, 置于恒温箱中, 待检。

e) 保持精液瓶与视线水平, 使其倾斜约 45°, 将移液器的吸头伸入液面下 15 mm~20 mm 处, 避开凝结絮状物, 吸取 3 μL~5 μL 样品, 滴于专用定容玻片进样口处, 让其自行流入腔室, 待检 (样点 1); 用同样方法吸取 3 μL~5 μL 样品, 滴于专用定容玻片另一腔室的进样口处, 待检 (样点 2)。

f) 点样后预热 1~3 分钟, 在 200 倍条件下, 按照操作要求在 3 分钟内完成样点 1 和样点 2 的检测。

g) 每个样点至少读取 3 个视野的数据, 记录每个样点的平均值。

D.2.3 试验数据处理

精子活力按式 (D.2) 进行计算:

$$M = \frac{M_1 + M_2}{2} \dots\dots\dots (D.2)$$

式中:

M —— 精子活力, %;

M₁ —— 仪器给出的样品平行样样点 1 检测活力的平均值, %;

M₂ —— 仪器给出的样品平行样样点 2 检测活力的平均值, %。

计算结果保留至小数点后 1 位。若两个样点计算结果相对偏差大于 5%, 则应重检。

D.3 精子畸形率

伊红苯胺黑染色法是一种常用的精子活体染色方法, 其操作过程相对简单, 不需要复杂的设备或技术要求, 实验操作更加便捷。

D.3.1 试剂或材料

D.3.1.1 水: 三级水。

D.3.1.2 伊红 Y 染色液: 将 0.67 g 伊红 Y 和 0.9 g 氯化钠溶于 100 mL 纯水中。

D.3.1.3 伊红苯胺黑染色液: 将 10 g 苯胺黑加入 100 mL 伊红 Y 染色液中, 加热至沸腾, 然后冷却至室温, 用滤纸过滤, 储存于黑色密封玻璃瓶中。商品化试剂伊红苯胺黑染色液按说明书配制或使用。

D.3.2 试验步骤

按如下步骤进行检测：

a) 按照 D.2 d) ~e) 规定的方法吸取 30 μL 样品和 10 μL 伊红苯胺黑染色液，放入离心管中，轻摇混匀，制成精液、伊红苯胺黑染色液的混合液，放置 30~60 秒；

b) 用移液器吸取 10 μL 精液、伊红苯胺黑染色液的混合液，滴于载玻片一端，用另一边光滑的载玻片与有样品的载玻片呈约 35° 夹角，先浸润与样品接触的边缘向另一侧缓慢推动，将样品均匀地涂抹在载玻片上，自然风干（约 5 分钟），每样品制作 2 个抹片；

c) 将染片置于 400 倍下观察，观察顺序为从左到右，从上到下。根据观察到的精子形态，判定正常精子和畸形精子，且一边观察，一边用计数器计数，累计观察约 200 个精子，分别记录精子总数和畸形精子总数，拍照保存该样品的图片。

D.3.3 精子形态判定

精子形态判定	精子形态
正常精子	头部呈椭圆形，中部和尾部自然延伸
畸形精子	头部：大头、小头、梨形头、圆头、双头等； 尾部：原生质滴、断尾、卷尾、双尾、异常弯曲等

D.3.4 试验数据处理

畸形率按式（D.3）进行计算：

$$A_i = \frac{A}{A_0} \times 100 \dots\dots\dots (D.3)$$

式中：

A_i —— 畸形率，%；

A_0 —— 观察精子总数，单位为个；

A —— 观察畸形精子总数，单位为个。

用两个平行样的平均值表述样品检测结果，计算结果保留至小数点后 1 位。若两个平行样计算结果之间的绝对差值大于 5%，则应重检。

D.4 细菌数

D.4.1 试剂或材料

D.4.1.1 牛肉浸膏、蛋白胨、磷酸氢二钾（ $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ）、氯化钠（ NaCl ）、琼脂粉和蒸馏水。

D.4.1.2 营养琼脂培养基：取牛肉浸膏 5.0 g、蛋白胨 10.0 g、磷酸氢二钾 1.0 g、氯化钠 5.0 g，

用蒸馏水 1000 mL 溶解, 加琼脂粉 20 g, 加温融解。调 pH 至 7.4~7.6, 并用脱脂棉过滤, 分装于三角烧瓶中, 高压灭菌 (0.1 MPa、20 分钟)。商品化的试剂按说明书配制使用。

D.4.2 设备和器材

D.4.2.1 恒温培养箱: 37 °C±1 °C。

D.4.2.2 恒温水浴锅: 46 °C±1 °C。

D.4.2.3 天平: 精度 0.001 g。

D.4.2.4 无菌操作台。

D.4.3 试验步骤

取 2 剂细管冷冻精液, 在无菌操作台内, 用酒精棉球将细管消毒后, 将试样分别加入 2 个标记的灭菌培养皿内, 将 15 mL~20 mL 冷却至 46 °C 的培养基倒入培养皿, 水平晃动培养皿使精液与培养基均匀混合。待琼脂凝固后翻转培养皿, 置 37 °C±1 °C 恒温培养箱内培养 48 小时取出。观察、统计每个培养皿内菌落数。应设置空白对照, 若空白对照内出现菌落, 应重检。

D.4.4 试验数据处理

菌落总数按式 (D.4) 进行计算, 结果取整数:

$$N = \frac{n_1 + n_2}{2} \dots\dots\dots (D.4)$$

- N —— 样品中的菌落数, 单位为菌落形成单位 (CFU) ;
- n₁ —— 第一培养皿菌落数, 单位为菌落形成单位 (CFU) ;
- n₂ —— 第二培养皿菌落数, 单位为菌落形成单位 (CFU) 。

附录 E

(资料性)

猪冷冻精液生产记录样式

猪冷冻精液生产相应记录样式见表 E.1。

表 E.1 猪冷冻精液生产记录样式

日期	公猪号	采精量 mL	采集员	颜色	活力	密度 亿/mL	检查员	预计生 产支数	冷冻后 活力	冷冻 数量	操作员	备注