

农业行业标准《蜂王人工授精技术规范》
(公开征求意见稿) 编制说明

XXXX

2024年11月

一、工作简况

（一）任务来源

根据农业农村部农产品质量安全监管司《关于下达 2023 年农业国家和行业标准制修订项目计划的通知》（农质标函〔2023〕51 号），由 XXXX 承担《蜜蜂人工授精技术规范》标准制定工作，由全国畜牧业标准化技术委员会（SAC/TC274）归口，项目编号是 NYB-23059，标准起草首席专家是 XXX。

（二）制定背景

畜禽种质资源是国家经济社会发展的战略性资源，是畜牧业科技原始创新与现代种业发展的物质基础。我国蜜蜂种质资源丰富，蜂群数量和蜂产品产量均居世界第一位。然而，由于蜜蜂在空中交尾，人类难以定向控制蜜蜂的繁殖，蜜蜂的保种和育种工作受到制约。蜂王人工授精技术的出现，标志着养蜂业的发展进入了一个新的时期，蜜蜂保种、育种技术的发展从此日新月异。

人类探索蜂王人工授精技术始于 240 多年以前。Huber（1814）、McLain（1887）、Watson（1927）、Nolan（1928）、Laidlaw（1930）、Mackensen（1947），以及 Ruttner 和 Schley（1980）等对蜂王人工授精技术的发展做出了重要贡献。其中 Watson 取得突破性进展并最终获得成功。中国蜂业工作者对蜂王人工授精仪的研制和使用起步较晚。利翠英先生于 1958 年开始研究蜂王人工授精技术，从前苏联引入中国第一台蜂王人工授精仪，开创了我国蜂王人工授精技术研究的先河。随后，相关单位陆续设计和生产出了几款蜂王人工授精仪，并投入使用。20 世纪 80 年代，我国科技人员初步掌握该技术。目前，我国在蜂王人工授精技术方面已达到国际领先水平，利用该技术取得了单雄授精、单雄多雌授精和自体授精的新突破。然而该项技术对操作人员的自身素质和熟练程度要求比较高，技术性比较强，因此，制定详细的蜂王人工授精技术规范供相关人员参照使用十分必要。

目前，国内国际上还没有关于蜂王人工授精技术方面的操作方法、规程、规范等标准出台。

XXXX 是“国家蜜蜂基因库”建设单位，蜂王人工授精技术居国内领先水平。项目组已开展了多项与蜂王人工授精相关的课题研究，其中“喀什黑环系蜜

蜂选育研究”获国家科技进步二等奖，“蜜蜂人工授精配套技术应用研究”获得吉林省科技进步二等奖，以蜜蜂人工授精仪为核心内容的“蜜蜂保育关键技术设备研究与应用”获得吉林省技术发明二等奖。在聚乙烯针头的研制与使用、蜂王人工授精技术在野外蜂场应用、蜜蜂单雄多雌授精、雄蜂精液采集和超低温冷冻贮存、影响授精蜂王质量的因素以及东方蜜蜂的人工授精技术等多方面开展了研究工作，取得了突破性的成果。发表相关研究论文 30 余篇，取得授权专利 12 项，出版《蜜蜂人工授精技术》专著 1 部，为该标准项目顺利开展奠定了基础。

课题组成员主持制定了农业行业标准《蜜蜂孢子虫病诊断技术》（NY/T 4138-2022），制定（修订）了《蜜蜂人工授精操作规程》（DB22/T889-1997）、《意大利蜜蜂》（DB22/855-1997）、《喀尔巴阡蜜蜂》（DB22/884-1997）、《卡尼鄂拉蜜蜂》（DB22/886-1997）、《中华蜜蜂》（DB22/887-1997）、《东北黑蜂》（DB22/888-1997）、《高加索蜜蜂》（DB22/989-2002）、《吉林白蜜》（DB22/T990-2020）、《天然成熟蜂蜜》（DB22/T991-2020）等地方标准，为该项目的顺利开展积累了经验。

蜜蜂的人工授精技术在原种保纯、杂交制种和良种选育工作中是不可或缺的，在养蜂生产、蜜蜂种质资源保护和开发利用方面具有积极的促进作用。蜂王人工授精技术规范的制定和颁布将对蜜蜂遗传学、生物学等研究以及蜜蜂育种和资源保护等工作产生重要促进作用，对我国蜂业高质量发展具有重要意义。

（三）起草过程

1.成立起草工作组

任务下达后，根据工作需要组建标准起草工作组。工作组成员结构合理，既具有较丰富的专业知识，又具有实践经验，熟悉蜂王人工授精业务，了解标准化工作的相关规定并具有较强的文字表达能力。工作组成员详见表 1。工作组组建后，根据标准起草工作的内容和特点进行了分工，明确了各自任务和职责。

表 1 标准起草工作组成员及分工

序号	姓名	单位	职务/职称	分工
1	XXX	XXXX	研究员	首席专家，主持标准制定
2	XXX	XXXX	研究员	全面参与标准起草工作
3	XXX	XXXX	副研究员	标准起草全面工作

4	XXX	XXXX	助理研究员	标准文本、图片
5	XXX	XXXX	高级技师	试验验证
6	XXX	XXXX	工程师	标准文本
7	XXX	XXXX	研究员	编制说明
8	XXX	XXXX	副研究员	编制说明

2.商定工作计划

标准起草工作组根据项目特点、任务内容和行业现状，制订了详细的工作计划和工作实施方案。

3.资料收集

2023年、2024年，标准起草工作组，分别组织人员参加了全国畜牧标委会在武汉和扬州举办的标准制定培训会。标准主要起草人员系统地查阅了国际、国内相关标准的发布实施情况，分析了相关技术的研究进展。收集了国内相关法律法规。其中涉及蜂王人工授精技术规范的法律法规主要有：《畜禽遗传资源保种场保护区和基因库管理办法》（2006年第64号令）、《全国养蜂业“十二五”发展规划》（2010年12月修订）、《养蜂管理办法（试行）》（2011年12月修订）、《中华人民共和国畜牧法》（2022年10月修订），本标准与上述法律法规无冲突。确定了参考所用的国内外相关法律法规、标准、书籍和论文。

4.专题调研

工作组成员前往国家蜜蜂保种场、保护区和省级蜜蜂保种育种单位实地调研，全面了解蜂王人工授精中对人员、人工授精前准备、消毒灭菌、精液采集、授精和授精后管理的要求和技术环节，总结、摸索和验证技术要求，确定关键的技术参数，摸清关键问题和难点问题，制定解决方案。

5.试验验证

工作组成员根据问题解决方案，开展相关试验和验证工作，进行大量重复试验，反复确认关键技术要求。主要包括雄蜂的捕捉、雄蜂的强迫排精、精液的采集、蜂王的授精等。

6.工作组会议讨论标准的起草

根据我国蜂业现状、现有资料以及蜂场调研和试验情况，各个分解任务负责人一次组织工作组会议，系统归纳和分析相关资料，确定各个技术环节规范要求，

准备起草标准。

7.征求意见稿的起草

由工作组负责人组织主要成员，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》和 GB/T 20001.5-2017《标准编写规则 第5部分：规范标准》相关要求起草本标准，然后召开会议讨论并反复修改后形成标准草案。后经多次与相关专家研究讨论，就标准草案提出可行性建议，并根据有关专家的意见，针对性的修改草案。经过反复讨论、修改、完善，形成标准征求意见稿。

8.定向征求意见

2023年11月~12月，工作组将该标准的征求意见稿和编制说明印发给相关的科研、管理、推广及大专院校等单位，广泛征求意见。共向20家单位23名专家发送《征求意见稿》。征求意见的单位见表2，不同领域单位类型情况见表3。

表2 征求意见单位名单

序号	单位名称及专家	备注
1	山西农业大学动物科学学院 姜玉锁	
2	中国农业科学院蜜蜂研究所 丁桂玲	
3	福建农林大学动物科学学院 陈大福	
4	扬州大学动物科学与技术学院 藺哲广	
5	山东农业大学动物科技学院 胥保华	
6	浙江省农业科学院畜牧兽医研究所 曹联飞	
7	江西农业大学动物科学技术学院 吴小波	
8	中国热带农业科学院环境与植物保护研究所 高景林	
9	四川省畜牧总站 赖康	
10	辽宁省畜牧业协会蜂业分会 张大利	
11	河南科技学院 张中印	
12	山西农业大学园艺学院 郭媛、张旭凤	
13	黑龙江省农业科学院牡丹江分院 高夫超	
14	黑龙江饶河东北黑蜂国家级自然保护区管理局 陈丽	
15	红河学院生物科学与农学院 沈登荣	
16	浙江大学蚕蜂研究所 郑火青	
17	辽宁省畜牧业发展中心 袁春颖、袁小波、熊成	
18	吉林省蜜蜂遗传资源基因保护中心 常志光	
19	扬州大学蜜蜂产品研究所 吉挺	无意见
20	延边朝鲜族自治州畜牧总站 侯丽娜	无意见

表 3 不同领域单位类型情况

序号	单位类型	单位数量
1	高等院校	10
2	科研单位	5
3	管理部门	5
4	其它	0

回函单位 20 家，给出建议或意见的单位 18 家 21 名专家，无建议或意见的单位 2 家，没有回函的单位数 0 家。不同领域单位类型比例为高等院校：科研单位：管理部门：其它=10:5:5:0。共征集到意见 93 条，其中全部采纳 63 条，占 67.7%；部分采纳 16 条，占 17.2%；未采纳 14 条，占 15.1%。

9.形成预审稿

对征集的意见进行归纳整理，修改和补充该标准，形成该标准的预审材料。

10.预审会审查通过

2024 年 10 月 18 日，XXXX 组织专家对本标准预审稿进行了认真审查。在听取起草组汇报的基础上，专家组（见表 4）审查了标准文本及编制说明，提出如下修改意见：

- (1) 标准名称修改为《蜂王人工授精技术规范》。
- (2) 适用范围明确为西方蜜蜂 (*Apis mellifera* Linnaeus) 和东方蜜蜂 (*Apis cerana* Fabricius) 的人工授精。
- (3) 授精效果监测删除侧输卵管形态、受精囊精子数及子脾密度。
- (4) 根据操作过程修改档案记录内容。
- (5) 补充有效产卵量的判定方法。
- (7) 按 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》和 GB/T 20001.5-2017《标准编写规则 第 5 部分：规范标准》的要求进一步规范标准文本。

结论：专家组一致同意审查通过，建议标准起草单位按照上述意见进一步修改后形成公开征求意见稿，报全国畜牧业标准化技术委员会秘书处。

同时，会议形成了审查意见汇总处理表和审查专家签字表。

表 4 预审专家名单

序号	专家姓名	单位	职称	电话	备注
1	石 巍	中国农科院蜜蜂研究所	研究员	18600033590	组长
2	张永宏	吉林大学动物科学学院	教授	13843127689	组员
3	陈大福	福建农林大学蜂学与生物医药学院	教授	13255052825	
4	曹 炜	西北大学食品科学与工程学院	教授	13572875671	
5	吴小波	江西农业大学动物科学技术学院	教授	13767079319	
6	高夫超	黑龙江省农业科学院牡丹江分院	研究员	13194533998	
7	刘连芳	吉林省标准研究院	高级工程师	13894840691	

11.形成公开征求意见稿

对预审专家组提出的意见进行归纳整理（见表 5），采纳意见并修改和补充文稿，形成该标准的公开征求意见材料。

表 5 审查意见与修改汇总表

序号	章条编号	文稿修改
1	题目	“蜜蜂”改为“蜂王”和“bees”改为“honey bees”，全文对应修改。
2	前言	“畜牧兽医局”改为“种业管理司”。
3	1	内容改为“本文件规定了蜂王人工授精技术中对授精前准备、精液采集、授精、授精蜂王管理、效果监测和档案管理等内容的要求。本文件适用于西方蜜蜂（ <i>Apis mellifera</i> Linnaeus）和东方蜜蜂（ <i>Apis cerana</i> Fabricius）的人工授精。”
4	3.1	“产卵”改为“父本”。
5	3.2	内容改为“培育授精用处女蜂王（3.4）所用的母本蜂群”。
6	3.3	内容改为“放置贮王笼用于暂时贮存蜂王的蜂群”。
7	3.4	为了便于推广，建议删除“小核群”的术语定义，标题改为“处女蜂王”，内容改为“未授精的蜂王”。
8	4	“要求”改为“授精前准备”。

9	4.1	内容改为“应经过技术培训。操作时应着洁净工作衣帽，佩戴口罩和一次性手套”。
10	4.2	标题改为“仪器设备”，内容改为“蜜蜂人工授精仪、CO ₂ 麻醉系统、体式显微镜（10× ~ 20×）”。
11	4.3	标题改为“父群和母群选择”，内容改为“应符合本品种的要求且健康”。
12	4.4	标题改为“雄蜂”，内容改为“人工授精前 40 d ~ 50 d 培育雄蜂；出房时应在其胸部背板上标记；雄蜂的数量宜按人工授精蜂王数量的 100 倍以上培育”。
13	4.5	标题改为“蜂王”，内容改为“人工授精前 20 d ~ 24 d 培育蜂王”。
14	4.6	标题改为“授精室”，内容分为两个无题条，“4.6.1 应清洁卫生，温度宜在 25 ℃”和“4.6.2 采精前 30 min ~ 60 min 对授精室消毒处理。实验台面宜使用 75%酒精擦拭消毒；室内空间宜使用紫外灯进行消毒”。
15	4.7	标题改为“器材”，内容改为“背钩、腹钩、探针、麻醉器、诱入器、剪刀、镊子等应先使用蒸馏水冲洗干净，再置于煮沸消毒器内，煮沸 30 min ~ 60 min；针头、注射器等应先用 75% 的酒精棉球擦洗消毒处理，后用生理盐水冲洗 5 次”。
16	4.8	标题改为“精液缓冲液”，内容改为“根据实际条件选用精液缓冲液配方，应现用现配，常用的配方见附录 A”。
17	5	标题改为“精液采集”。
18	5.1	标题改为“雄蜂捕捉”，内容改为“选择出房 12 d 后且带有标记的雄蜂。上午捕捉时，应从蜂群的边脾和框梁上选择粗壮、行动敏捷的雄蜂，将其放入飞翔笼内；下午捕捉时，应在巢门口选择飞翔后归巢的雄蜂”。
19	5.2	标题改为“缓冲液灌注”，内容改为“采精前应先将针头注满精液缓冲液”。
20	5.3	标题改为“强迫排精”，内容改为“抓取雄蜂后，应先用拇指和食指抓住其胸部，并轻揉，再用另一只手的食指慢慢挤压腹部背板，强迫雄蜂阳茎外翻排精”。
21	5.4	标题改为“采精”。

22	5.4.1	改为无题条“精液采集应在显微镜下进行”。
23	5.4.2	改为无题条“采精时，注满精液缓冲液的针头应先吸入 3 μL ~ 4 μL 空气，将针头轻触雄蜂阳茎末端淡黄色精液表面，缓慢吸入精液，勿吸入白色粘液。应根据授精需要，一次连续采集多只雄蜂的精液；触碰到雄蜂体躯及人手指的精液应舍弃”。
24	5.4.3	改为无题条“采精后，针头应依次吸入 3 μL ~ 4 μL 空气、5 μL 以上缓冲液作封闭处理”。
25	5.4.4	改为无题条“采集的精液应尽快用于授精；不能及时利用的精液，应在避光室温条件下保存，2 d 内使用完毕”。
26	6	标题改为“授精”。
27	6.1	标题改为“蜂王麻醉”，内容改为“采用 CO_2 麻醉，使蜂王 10 s 内进入麻醉状态”。
28	6.2	标题改为“精液注射”，内容改为“调整显微镜与授精仪、麻醉器和针头的相对位置，使处女蜂王的腹部尾端呈现在显微镜视野中央，麻醉器中线与针头应在同一直线上，针头倾斜角度 $45^\circ \sim 60^\circ$ 。用背钩和腹钩打开螫针腔，背、腹板的间距应为 5 mm ~ 6 mm；授精前应先排出针头内的缓冲液和空气。针头进入阴道的深度，西方蜜蜂为 1.8 mm、东方蜜蜂为 1.0 mm。根据需要控制精液注入剂量和次数，西方蜜蜂宜为 8 μL ，东方蜜蜂宜为 6 μL ”。
29	7	标题改为“授精蜂王管理”，内容改为“蜂王授精完毕，应在其胸部背板标记。授精后，应将其诱入蜂群内进行产卵观察。巢门口应安装隔王栅，待蜂王产卵后再撤去隔王栅”。
30	8	标题改为“效果监测”，内容改为“利用测定蜂王日均有效产卵量（方法按照附录 B 规定执行）和产受精卵的比例指标监测授精效果。在授精 1 个月后的繁殖期内测定”。
31	9	标题改为“档案管理”，内容改为“应按照附录 C 做好人工授精过程中的档案记录，并长期保存”。
32	附录	删除原附录 A、附录 D、附录 E、附录 F。修改附录 B 为附录 A，其中的每个表的标题改为“缓冲液配方 1、2 或 3”。新附录 B 给出蜂王日均有效产卵量测定方法。补全附录 C 人工授精记录表中档案记录内容项。

二、标准编制原则和确定标准主要内容的依据

（一）标准的编写原则

1.效能原则

本标准表述要求时遵循效能原则，由反映过程效能的具体特性及特性值来表述要求，而不对履行过程的具体行为作出指示。

2.针对性原则

针对蜂王人工授精过程中的各个技术环节提出规范性的操作要求，针对性强。

3.规范性原则

本标准在制定过程中严格遵循 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》、GB/T 20001.5-2017《标准编写规则 第5部分：规范标准》中标准文本格式、条款要求进行编制。

4.可操作性原则

本标准的各项技术措施实用、易行、可操作。

5.协调性原则

与本行业现有其他标准及管理条例相衔接，与蜜蜂的其他育种和保种标准相适应。

（二）主要内容及其确定依据

本标准的主要内容是根据我国养蜂生产现状，并结合多年来的蜜蜂育种、保种及管理经验提出的。本标准设置的主要技术内容包括：术语和定义、授精前准备、精液采集、授精、授精蜂王管理、效果监测、档案管理。

1.术语和定义

a) 标准内容

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 父群 paternal colony

培育授精用雄蜂所用的父本蜂群。

3.2 母群 maternal colony

培育授精用处女蜂王（3.4）所用的母本蜂群。

3.3 贮王群 queen-storing colony

放置贮王笼用于暂时贮存蜂王的蜂群。

3.4 处女蜂王 virgin queen

未授精的蜂王。

b) 确定依据

本文件所列出的术语包括父群、母群、贮王群、处女蜂王，其确定的依据：该术语均是养蜂业常用术语，且在本标准文本中出现，非蜂学专业人士对此术语又可能存在理解问题，进而影响对本标准的理解，故此将其列出。所有术语的定义均由工作组筛选确定。

2. 授精前准备

a) 标准内容

4.1 操作人员

应经过技术培训。操作时应着洁净工作衣帽，佩戴口罩和一次性手套。

4.2 仪器设备

蜂王人工授精仪、CO₂麻醉系统、体式显微镜（10× ~ 20×）。

4.3 父群和母群选择

应符合本品种的要求且健康。

4.4 雄蜂

人工授精前 40 d ~ 50 d 培育雄蜂；出房时应在其胸部背板上标记；雄蜂的数量宜按人工授精蜂王数量的 100 倍以上培育。

4.5 蜂王

人工授精前 20 d ~ 24 d 培育蜂王。

4.6 授精室

4.6.1 应清洁卫生，温度宜在 25 ℃。

4.6.2 采精前 30 min ~ 60 min 对授精室消毒处理。实验台面宜使用 75% 酒精擦拭消毒；室内空间宜使用紫外灯进行消毒。

4.7 器材

背钩、腹钩、探针、麻醉器、诱入器、剪刀、镊子等应先使用蒸馏水冲洗干净，再置于煮沸消毒器内，煮沸 30 min ~ 60 min；针头、注射器等应先用 7

5% 的酒精棉球擦洗消毒处理，后用生理盐水冲洗 5 次。

4.8 精液缓冲液

根据实际条件选用精液缓冲液配方，应现用现配，常用的配方见附录 A。

b) 确定依据

关于操作人员：蜂王人工授精是在显微镜下对蜂王进行的显微授精操作过程，程序复杂，操作难度较大，对操作人员技术要求较高，操作人员应经过严格的技术培训和反复锻炼才可以掌握和独立完成蜂王授精工作。蜂王人工授精工作需要在洁净环境中进行，环境污染可能会影响授精蜂王的安全和使用寿命，因此对操作人员提出工作时应着洁净工作衣帽、戴口罩和一次性手套等要求。

关于仪器设备：蜂王人工授精涉及到的仪器设备包括蜂王人工授精仪、CO₂麻醉系统、体式显微镜，它们是应有的和必要的。其中，根据实际经验和调查结果，体式显微镜的使用倍率以 10× ~ 20×为宜。

关于父群和母群的选择：本标准是对蜂王人工授精过程提出具体要求，对父群和母群的选择不做过多要求，父群和母群的选择使用是根据使用者因保种、育种或科研等不同目的确定的，符合父群和母群的品种要求且健康即可。

关于雄蜂和蜂王的培育：（1）雄蜂的培育时间：《蜜蜂学》（吴杰，2012）关于雄蜂发育历期介绍为西方蜜蜂为 24 d，东方蜜蜂为 23 d。选择性成熟的雄蜂是在雄蜂出房 12 d 后。根据项目组的生产实践经验，加入雄蜂脾蜂王一般不会立即产卵，所以在人工授精前 40~50 d，向种用父群内加雄蜂脾能够保证人工授精时雄蜂达到性成熟；（2）雄蜂的培育数量：《蜜蜂人工授精技术》（薛运波，2016 年）中要求“实践中一般采用雄蜂与处女蜂王比例为 100:1 左右，以保证采集到足够的精液”，本文件采用该数据；（3）蜂王的培育：《蜜蜂学》（吴杰，2012 年）关于蜂王发育历期有如下表述：“蜂王的由幼虫发育成处女蜂王羽化出房需要 13 天”。人工培育蜂王一般选择 1 日龄的幼虫进行培育，选择性成熟的处女蜂王为出房 8 天后的处女蜂王，为了提高移虫接受率采用复式移虫法，需要提前 1 天进行移虫。所以，人工授精蜂王的培育从移虫到授精的时间为 13+8+1=22 天，结合生产实际，本标准采用蜂王的培育时期应是在人工授精前 20~24 天进行。

关于授精室和器材的使用条件：根据实践经验和调研结果，授精室应清洁卫

生，温度宜在 25 ℃；授精室和器材在使用前应严格消毒灭菌。参照《蜜蜂人工授精技术》（薛运波，2016 年）技术参数，结合调研结果，规定采精前 30 min ~ 60 min 对授精室消毒处理。实验台面宜使用 75%酒精擦拭消毒，室内空间宜使用紫外灯进行消毒。背钩、腹钩、探针等应先使用蒸馏水冲洗干净，再置于煮沸消毒器内，煮沸 30 min ~ 60 min。针头、注射器等不宜高温处理的器材，应先用 75% 的酒精棉球擦洗消毒处理，后用生理盐水冲洗 5 次。

关于精液缓冲液配制：蜂王人工授精所用精液缓冲液不宜高温灭菌处理，故此应现用现配，并推荐了三款缓冲液配方。该三款配方参照了《蜜蜂遗传育种》（邵瑞宜，1993 年），结合国内蜜蜂保种和育种生产实践，提出了三个使用效果较好且配制过程相对简单的精液缓冲液配方供选择使用。

3.精液采集

a) 标准内容

5.1 雄蜂捕捉

选择出房 12 d 后且带有标记的雄蜂。上午捕捉时，应从蜂群的边脾和框梁上选择粗壮、行动敏捷的雄蜂，将其放入飞翔笼内；下午捕捉时，应在巢门口选择飞翔后归巢的雄蜂。

5.2 缓冲液灌注

采精前应先将针头注满精液缓冲液。

5.3 强迫排精

抓取雄蜂后，应先用拇指和食指抓住其胸部，并轻揉，再用另一只手的食指慢慢挤压腹部背板，强迫雄蜂阳茎外翻排精。

5.4 采精

5.4.1 精液采集应在显微镜下进行。

5.4.2 采精时，注满精液缓冲液的针头应先吸入 3 μ L ~ 4 μ L 空气，将针头轻触雄蜂阳茎末端淡黄色精液表面，缓慢吸入精液，勿吸入白色粘液。应根据授精需要，一次连续采集多只雄蜂的精液；触碰到雄蜂体躯及人手指的精液应舍弃。

5.4.3 采精后，针头应依次吸入 3 μ L ~ 4 μ L 空气、5 μ L 以上缓冲液作封闭处理。

5.4.4 采集的精液应尽快用于授精；不能及时利用的精液，应在避光室温条件下保存，2 d 内使用完毕。

b) 确定依据

关于雄蜂的捕捉和精液采集过程的要求主要参考了《中国蜜蜂学》（陈盛禄，2001 年）、《蜜蜂人工授精技术》（薛运波，2016 年）、《Standard methods for instrumental insemination of *Apis mellifera* queens》（Cobey, 2013）等文献，并对采集精液的使用前处理内容进行了完善。即根据生产实际，明确了具体剂量“针头的针尖处应依次吸入 3~4 μL 空气和 >5 μL 稀释液作封闭处理”。

4.授精

a) 标准内容

6.1 蜂王麻醉

采用 CO_2 麻醉，使蜂王 10 s 内进入麻醉状态。

6.2 精液注射

调整显微镜与授精仪、麻醉器和针头的相对位置，使处女蜂王的腹部尾端呈现在显微镜视野中央，麻醉器中线与针头应在同一直线上，针头倾斜角度 $45^\circ \sim 60^\circ$ 。用背钩和腹钩打开螫针腔，背、腹板的间距应为 5 mm ~ 6 mm；授精前应先排出针头内的缓冲液和空气。针头进入阴道的深度，西方蜜蜂为 1.8 mm、东方蜜蜂为 1.0 mm。根据需要控制精液注入剂量和次数，西方蜜蜂宜为 8 μL ，东方蜜蜂宜为 6 μL 。

b) 确定依据

关于蜂王麻醉和授精过程的要求主要参考了《中国蜜蜂学》（陈盛禄，2001 年）、《蜜蜂人工授精技术》（薛运波，2016 年）、《Standard methods for instrumental insemination of *Apis mellifera* queens》（Cobey, 2013）等文献，并根据生产实际对授精时进针的角度提出具体要求；依据福建农学院养蜂系研究室（1984）研究结论，对东方蜜蜂蜂王的精液注射量进行了补充要求，即“东方蜜蜂宜为 6 μL ”

5.授精蜂王管理

a) 标准内容

7 授精蜂王管理

蜂王授精完毕，应在其胸部背板标记。授精后，应将其诱入蜂群内进行产卵观察。巢门口应安装隔王栅，待蜂王产卵后再撤去隔王栅。

b) 确定依据

关于授精蜂王的管理主要参考了《蜜蜂人工授精技术》（薛运波，2016年）等文献，并结合生产实际提出相关要求。

6.效果监测

a) 标准内容

8 效果监测

利用测定蜂王日均有效产卵量（方法见附录 B）和产受精卵的比例指标监测授精效果。在授精 1 个月后的繁殖期内测定。

b) 确定依据

根据文献和生产经验，利用测定蜂王日均有效产卵量和产受精卵的比例指标完全能够评估蜂王的授精质量，标准编写组最终确定利用该二指标监测蜂王的授精效果，指标测定时间规定在授精 1 个月后的繁殖期内进行，该期间蜂王表现为正常产卵能力。并参考《中国蜜蜂学》（陈盛禄，2001年）和《蜜蜂人工授精技术》（薛运波，2016年），给出蜂王授精质量优秀等级参考标准：西方蜜蜂蜂王日均有效产卵量 ≥ 1500 粒为授精优秀等级，东方蜜蜂蜂王日均有效产卵量 ≥ 600 粒为授精优秀等级。因蜜蜂保种、育种和科研等目的的不同，对授精蜂王日均有效产卵量的要求也不同，故本文件未设置蜂王授精的合格等级参考标准。

7.档案管理

a) 标准内容

9 档案管理

应按照附录 C 做好蜂王人工授精过程中的记录，并长期保存。

b) 确定依据

关于档案管理的相关要求主要参考了《中国蜜蜂学》（陈盛禄，2001年）、《蜜蜂人工授精技术》（薛运波，2016年）、《Standard methods for instrumental insemination of *Apis mellifera* queens》（Cobey, 2013）等文献，主要记录授精所用蜂王和雄蜂的来源、品种特征、培养和授精过程关键环节等信息。

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

(一) 试验验证的分析、综述报告

1.雄蜂捕捉时间和方法的确定

为了确定捕捉雄蜂的时间和方法，项目组进行了验证试验。

巢门口捕捉雄蜂，在晴朗的天气，发现雄蜂出巢飞翔一般是在每天的 10~17 时，大量出巢飞翔的时间一般在 13~17 时。所以如果上午捕捉雄蜂，打开蜂箱，从蜂群的边脾和框梁上选择粗壮、行动敏捷、带有标记的雄蜂捉入雄蜂笼内，个体较大行动迟缓的年幼雄蜂一般聚集在蜂巢中温湿度相对稳定区域，而性成熟雄蜂个体偏小，行动敏捷，多分布于边脾外围区域；如果下午捕捉雄蜂时，在巢门口捕捉，选择飞翔后归巢带有标记的雄蜂捉入笼内。

试验验证结果：上午，边脾和框梁上的雄蜂性成熟比例显著高于巢脾内部；下午，巢门处返回的雄蜂体内既无粪便排泄，性成熟比例又显著高于蜂巢内雄蜂。因此，确定“5.1 雄蜂捕捉 选择出房 12 d 后且带有标记的雄蜂。上午捕捉时，应从蜂群的边脾和框梁上选择粗壮、行动敏捷的雄蜂，将其放入飞翔笼内；下午捕捉时，应在巢门口选择飞翔后归巢的雄蜂。”



图 1 蜂巢内捕捉雄蜂



图 2 蜂箱前捕捉雄蜂

2.雄蜂的强迫排精

促使雄蜂排精的过程为：从雄蜂笼内抓取雄蜂，先用左手拇指和食指抓住雄蜂胸部，并轻揉一下，另一只手的食指挤压腹部背板，强迫雄蜂阳茎外翻排精。操作中发现：加压时用力不稳定，排精效果不好，如用力太小，雄蜂阳茎不能成功外翻；如用力太大，容易导致精液飞溅或阳茎球破裂，使精液混入体液。在雄蜂阳茎外翻过程中，外翻的阳茎球和精液容易接触到雄蜂体表面或者操作者的手指，造成污染。

雄蜂在强迫排精的操作过程中，操作者的手法是技术的关键，因此提出相关技术要求为“5.3 强迫排精 抓取雄蜂后，应先用拇指和食指抓住其胸部，并轻揉，再用另一只手的食指慢慢挤压腹部背板，强迫雄蜂阳茎外翻排精。”



图3 性成熟雄蜂阳茎外翻，示精液



图4 雄蜂阳茎外翻，示精液污染

3.精液的采集

精液采集试验过程中发现以下现象和问题：采集精液前，先将已灭菌的注射器安装好，然后用精子生理液冲洗注射器及针头，最后注射器及针头内注满稀释液。把注射器固定到授精仪上，针尖移到体视显微镜的视野内，调整显微镜焦距至针尖清晰，接着进行精液采集。采集精液前，针头首先吸入一小段空气，1.0~1.5 μL 的空间，目的是使生理液与精液有气泡相隔，以免精液混入大量生理液造成稀释。但是吸入的空气量不能太大，如果吸入空气量较大，在采集精液或授精过程中受到阻力时，空气会产生膨胀或压缩变型，给采集精液或授精带来不便。采集精液时，针尖要贴紧精液的表面，以免吸入空气。但是针尖又不能深入精液

深层，容易吸入黏液。虽然每只西方蜜蜂雄蜂最多有 1.5~1.7 μL 的精液附在黏液表面，但是实际上只能采集到 1.0 μL 左右（东方蜜蜂精液量 0.3 μL /只），很容易吸入黏液。因此，在采集下一只雄蜂精液时，将采集的前一只雄蜂精液推出针尖外一部分，使其与准备采集的精液面相接触后再吸入，这样既可以防止采精时吸入空气，又可以减少吸入黏液的机会。一旦发现吸入黏液时要尽快排出，哪怕是稀黏液也不可以混进精液吸入针头。因为黏液不仅会堵塞针头，如果注射到蜂王侧输卵管后会凝固而堵塞输卵管，这样不仅影响了精子进入受精囊，而且还会造成蜂王死亡。采集精液结束时，针头内仍然要吸入一段空气，然后用生理液封口，以免纤细的针头因精液的凝固而堵塞。雄蜂精液储存时间越久，光照时间越长，精子活力越低，受精能力越差。精液采出后常温贮存 2 d，仍然可以用于蜜蜂保种工作。



图5 针头内采集的雄蜂精液和气泡



图6 雄蜂精液采集

综上，提出相关技术要求为“5.4 采精”、“5.4.1 精液采集应在显微镜下进行。”、“5.4.2 采精时，注满精液缓冲液的针头应先吸入 3 μL ~ 4 μL 空气，将针头轻触雄蜂阳茎末端淡黄色精液表面，缓慢吸入精液，勿吸入白色黏液。应根据授精需要，一次连续采集多只雄蜂的精液；触碰到雄蜂体躯及人手指的精液应舍弃。”、“5.4.3 采精后，针头应依次吸入 3 μL ~ 4 μL 空气、5 μL 以上缓冲液作封闭处理。”、“5.4.4 采集的精液应尽快用于授精；不能及时利用的精液，应在避光室温条件下保存， 2 d 内使用完毕。”

4.蜂王的授精

蜂王授精的基本过程和存在的问题：

a) 打开螯针腔

蜂王麻醉的同时，调节显微镜的位置及焦距，使处女蜂王的腹部清晰地呈现在视野中央。然后移动背腹钩操纵杆，当蜂王腹部停止抽动时，移动腹钩操纵杆，使腹钩钩住腹板，接着在探针的配合下使背钩钩住背板，同时移动背、腹钩操纵杆双向拉动，使背、腹板拉至 3~4 mm 的距离。调整显微镜焦距，移动背钩操纵杆，使背钩端部“膨大”部分伸到蜂王螫针鞘基部，并使其嵌入基部的三角缝内。背钩嵌入后，再次移动背、腹钩操纵杆，把背、腹板距离拉至 5~6 mm。

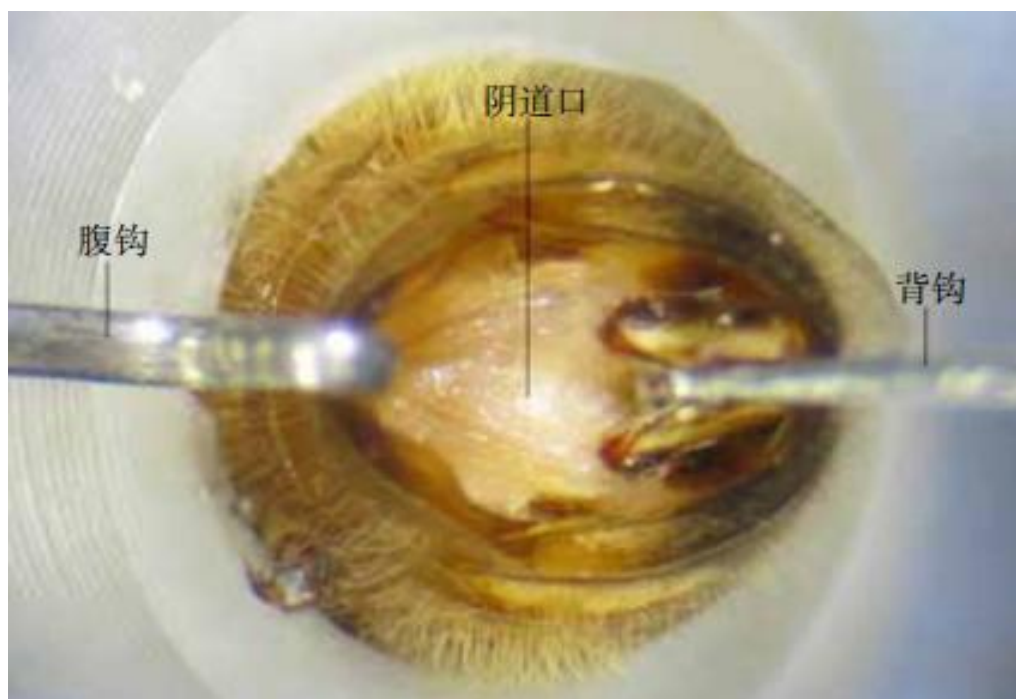


图 7 打开的蜂王螫针腔

b) 进针注射

蜂王背、腹板拉开后，调整蜂王的角度，使蜂王的纵轴线与注射器纵轴平行，其纵轴线与垂直线的夹角 30~45°左右。调节显微镜至螫针腔清晰，此时可以看到螫针腔中央靠近螫针鞘基部有一皱褶开口，该开口就是阴道口。看到阴道口后，移动注射器，排除针头尖部的保护液及气泡，调节纵向导轨使针尖接近阴道口，左手将探针插入阴道，并向蜂王腹面靠拢。使探针压住阴道瓣突，并使阴道口扩张，这时右手调节纵向导轨使针尖沿着探针的背部徐徐进入阴道，直至中输卵管，取出探针，当进针深度达到约 1.8 mm（东方蜜蜂深度 1.0mm）时，进针略感受到阻力，阴道口有下陷迹象时，停止进针，然后将针头稍退出一点，开始注射精液。如果在针头达到这个深度之前，其周围的软组织开始随着移动，表明针头很可能插入到阴道旁边的瓣突或者误进入侧囊，应该立即退出，再次进针。在一切

顺利进行时，慢慢将精液注入。如果针头内的精液不移动，精液与生理液之间的气泡呈被压缩状态时，则表明针头没有进入输卵管内，需要重新调整进针。蜂王背部和腹部之间的中线必须与腹钩和背钩间的中线完全一致，注射器也必须准确地直线推进。蜂王被正确固定时，螫针腔底部所呈现的三角形阴道瓣褶是左右对称的。如果这些步骤都能正确地进行，针头会比较容易推进入中输卵管内。一次性授精通常注射 8 μL （东方蜜蜂 6 μL ）精液，两次性授精每次注射 4 μL （东方蜜蜂 3 μL ）精液，两次性授精的第一次与第二次授精时间间隔为 24~48 h。注精完毕，稍待 10~15 秒后退出针头，卸下麻醉管，小心退出蜂王，给蜂王作上标记，待苏醒后送回原核群。蜂王人工授精技术熟练的操作者，也可以不借助探针即可将针头正确插入蜂王中输卵管内。

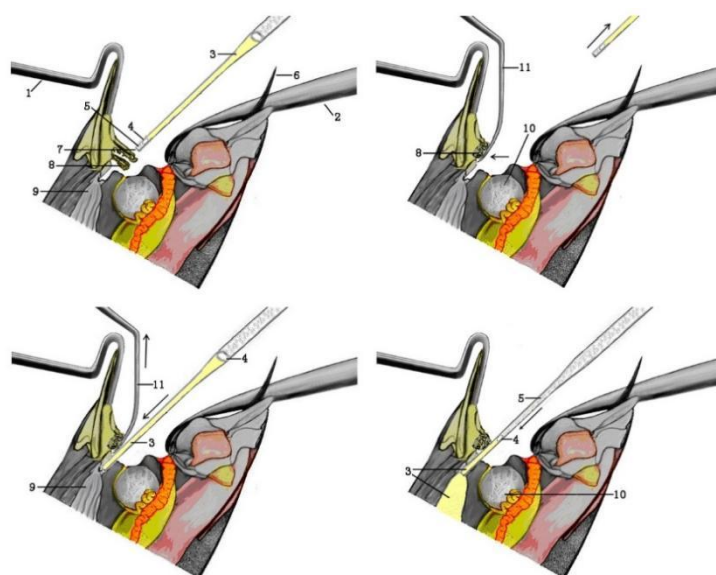


图 8 探针辅助进针的授精过程

（左上：调整注射器 右上：探针辅助 左下：进针和移出探针 右下：注射精液
1.腹钩 2.背钩 3.精液 4.气泡 5.生理液 6.整针 7.针头 8.瓣突 9.输卵管 10.受精囊 11.
探针）



图9 授精进针



图10 注射精液

综上，提出授精技术要求为“6 授精”、“6.1 蜂王麻醉 采用 CO₂ 麻醉，使蜂王 10 s 内进入麻醉状态。”、“6.2 精液注射 调整显微镜与授精仪、麻醉器和针头的相对位置，使处女蜂王的腹部尾端呈现在显微镜视野中央，麻醉器中线与针头应在同一直线上，针头倾斜角度 45° ~ 60°。用背钩和腹钩打开螯针腔，背、腹板的间距应为 5 mm ~ 6 mm；授精前应先排出针头内的缓冲液和空气。针头进入阴道的深度，西方蜜蜂为 1.8 mm、东方蜜蜂为 1.0 mm。根据需要控制精液注入剂量和次数，西方蜜蜂宜为 8 μL，东方蜜蜂宜为 6 μL。”

5.蜂王日均有效产卵量测定

根据文献，在繁殖期，西方蜜蜂授精蜂王日均有效产卵数 ≥ 1500 粒为优秀等级，东方蜜蜂授精蜂王日均有效产卵数 ≥ 600 粒为优秀等级。检测具体方法是：

用方格网（西方蜜蜂 5 cm×5 cm 方格网，东方蜜蜂 4.4 cm×4.4 cm 方格网，每个方格中约含有 100 个巢房）测量蜂王日均有效产卵量，测量蜂群内所有封盖子的数量，西方蜜蜂每隔 12 d 测一次，东方蜜蜂每隔 11 d 测一次，连续测量三次，统计所有子脾封盖子数量总和，则为蜂王的有效产卵量，再计算出蜂王日均有效产卵数。

因此，提出蜂王日均有效产卵量测定方法：“在蜜蜂繁殖期，用方格网（西方蜜蜂 5 cm×5 cm 方格网，东方蜜蜂 4.4 cm×4.4 cm 方格网，每个方格中约含有 100 个巢房）测量蜂王日均有效产卵量，即测量蜂群内所有封盖子的数量，西方蜜蜂每隔 12 d 测一次，东方蜜蜂每隔 11 d 测一次，连续测量三次，统计所有子脾封盖子数量总和，则为蜂王的有效产卵量，再计算出蜂王日均有效产卵量。西方蜜蜂蜂王日均有效产卵量 ≥ 1500 粒为授精优秀等级，东方蜜蜂蜂王日均有效产卵量 ≥ 600 粒为授精优秀等级。”



图 11 方格法测定蜂王有效产卵数量

（二）技术经济论证

本标准文本是在归纳总结现有文献资料、科研成果和多年一线生产实践基础上，经过工作组认真商定工作计划、资料收集、专题调研、试验验证、会议讨论和标准的起草，征求了高校、科研、生产和管理等领域专家的意见，最终形成的。经试验验证，本标准框架结构适宜，技术指标先进，方法科学。

本标准是我国蜂业发展急需的技术规范性标准，其颁布和实施将进一步规范和普及蜂王人工授精技术，有利于加快蜜蜂资源开发利用步伐，培育出适合我国蜂业和现代农业发展需要的特色蜂种，促进现代养蜂业高质量发展。

（三）预期的经济效益、社会效益和生态效益

农业行业标准《蜂王人工授精技术规范》，作为蜜蜂行业共同遵守的准则和依据，将加快人工授精技术在蜜蜂保种和育种中的推广应用和普及；可以有效提升优质蜂王培育的生产效率和规模，进一步扩大我国养蜂规模和蜂产品生产效能，产生显著的经济效益。

本标准的制定和颁布，将对蜜蜂遗传学、生物学等研究以及蜜蜂种质资源保护与开发利用方面产生积极的促进作用；将促进我国蜜蜂基因库、保种场、保护区建设，提高我国蜜蜂遗传资源保护能力，加快蜜蜂种业发展。

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

经查，国际和国外均没有《蜂王人工授精技术规范》此类标准，无需开展相关试验验证的对比工作。但本标准参考了 Susan Cobey 推荐的蜂王人工授精标准方法的文献“Cobey SW, Tarpy DR, Woyke J. 2013. Standard methods for instrumental insemination of *Apis mellifera* queens. *Journal of Apicultural Research*, 52(4), 1-18. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.09>”。

20 世纪 90 年代，工作组成员初步掌握了该技术，并在接下来的三十余年内，围绕设备研发和技术攻关持续投入，先后开展了 8 项相关课题，利用该技术取得了蜜蜂单雄授精、单雄多雌授精和自体授精等新突破，革新了 6 代人工授精仪，创制了拉针器、精液采集器、精液自动混匀器等辅助设备，获得授权国家专利 12 件，具有完全自主知识产权，相关成果整体达到国际先进水平，其中混合精液授精技术、精液超低温冷冻贮存技术、以及在授精仪研发领域达到了国际领先水平（中国农学会，2020），相关成果获得 2021 年吉林省技术发明二等奖。

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，国际和国外均没有《蜂王人工授精技术规范》此类标准，本标准不存在采标问题。

六、与有关法律、行政法规及相关标准的关系

本标准符合《中华人民共和国畜牧法》（2022 年 10 月修订）、《养蜂管理办法》（2011 年 12 月修订）和《畜禽遗传资源保种场保护区和基因库管理办法》

(2006年第64号令)等法律法规相关要求,与相关推荐性国标和行业标准协调一致。

七、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准 of 农业行业标准,在制定过程中充分与管理部门、科研机构、生产企业、养蜂户等沟通交流。本标准文本未见重大分歧意见。

八、涉及专利的有关说明

经查,本标准不涉及相关专利技术。

九、实施标准的要求,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

(一) 实施要求

建议本标准发布后半年实施。

(二) 组织措施

本标准一经发布,标准起草组将给出标准实施的建议方案,经由农业农村部主管部门下发通知宣传贯彻落实,由各级农业农村部门推动,拨专款,责成标准起草单位举办技术培训班。应用蜂王人工授精的机构、部门、团体或个体蜂场等,要设定专门的授精技术人员。

(三) 技术措施

由畜牧业标准化委员会蜂业工作组负责制定宣贯计划,编制宣贯文件、杂志报导,标准起草单位负责技术培训和指导。

操作人员应了解体视显微镜和授精仪及其配套设备的性能,熟练掌握人工授精操作要领;蜂王人工授精要求选择优质、性成熟的处女蜂王和雄蜂;蜂王人工授精环境要求清洁卫生,以保证最佳的蜂王人工授精效果;要有授精蜂王管理档案,追踪管理。培训效果要达到:懂原理、会操作、会验证,基本能够独立完成工作任务。

十、其他应当说明的事项

本文件没有其他应予说明的事项。

《蜂王人工授精技术规范》起草工作组

2024年11月5日