

ICS 65.020.30
CCS B 41

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 4665—2025

犬精液品质检测技术规范

Technical specification for quality detection of canine semen

2025-01-09 发布

中华人民共和国农业农村部 发布



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。

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。

本文件由农业农村部畜牧兽医局提出。

本文件由全国伴侣动物(宠物)标准化技术委员会(SAC/TC 541)归口。

本文件起草单位：公安部南昌警犬基地、北京市动物疫病预防控制中心、北京市小动物诊疗行业协会、北京市标准化研究院、公安部昆明警犬基地、中国人民武装警察部队军犬基地。

本文件主要起草人：吴衍、余盼、熊前、叶俊华、李川武、韦海涛、刘朗、谢翔燕、项茹雪、万九生、刘成功、王春亮、李涛。



犬精液品质检测技术规范

1 范围

本文件规定了犬精液的质量要求、外观检查、采精量检查、精子密度检查、精子活力检查和精子畸形率检查。

本文件适用于犬精液品质的实验室检测。

2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

精液 semen

公犬射精时由尿生殖道排出的分泌物,由精子和精清两部分组成。

3.2

采精量 ejaculate volume

单只公犬一次射精时排出的第二段精液体积。

3.3

精子密度 sperm concentration

单位体积精液中的精子数目。

3.4

精子活力 sperm motility

在 37 °C 下前进运动精子数占总精子数的百分率。

3.5

精子畸形率 abnormal sperm percentage

畸形精子数占总精子数的百分率。

4 质量要求

犬精液质量应符合表 1 的要求。

表 1 精液质量要求

项目	指标
外观	颜色应呈乳白色,无异常分泌物,无皮毛等异物
采精量, mL	≥0.5
精子密度, 个/mL	≥0.5 × 10 ⁸
精子活力, %	≥70
精子畸形率, %	≤20

5 检测方法

5.1 外观检查

可采用目测法对精液外观进行检查。

5.2 采精量检查

5.2.1 主要器材

刻度试管,精度为 0.1 mL,量程为 5 mL~10 mL。

5.2.2 检查方法

采集公犬射出的第二段精液,用刻度试管测量精液量。

5.3 精子密度检查

5.3.1 主要器材

血细胞计数板、移液器、小试管、计数器、显微镜或电视显微装置、滴管、3.0%氯化钠溶液。

5.3.2 检查方法

采用血细胞计数板法检查。具体操作要求和步骤如下:

- a) 用移液器准确吸取 20 μL 样品,使用 3.0%氯化钠溶液 0.38 mL 与其混合均匀,使之成为 20 倍稀释的稀释精液;
- b) 将备好的血细胞计数板用血盖片将计数室盖好,用小吸管吸取 1 滴稀释精液滴于血盖片边缘,使之自行流入计数室,均匀充满,不宜有气泡或厚度过大;
- c) 将制好的样品在 200 倍~400 倍显微镜下观察计数。

5.3.3 计算

精液密度按公式(1)计算。每样品应观察上、下两个计数室,取平均值。如两个计数室计数结果误差超过 5%,则应重检。

$$\text{精子密度} = 5N \times 5(\text{即计数室 } 25 \text{ 个中方格的总精子数}) \times 10(1\text{mm}^3 \text{ 内的精子数}) \times 1\,000(\text{每毫升精液的精子数}) \times 20(\text{稀释倍数}) \dots\dots\dots (1)$$

公式(1)可简化为公式(2)。

$$\rho = N \times 10^6 \dots\dots\dots (2)$$

式中:

ρ——精子密度,单位为 10⁸ 个/mL,计算结果保留至小数点后 2 位;

N——5 个中方格的精子数,单位为个。

5.4 精子活力检查

5.4.1 主要器材

显微镜或显微电脑装置、恒温水浴箱、试管、载玻片、盖玻片、显微镜保温箱或恒温装置、移液器等。

5.4.2 检查方法

检测要求及操作步骤如下:

- a) 取约 10 μL 精液(冻精直接置于 37 °C 水浴中解冻后取样)置于载玻片上加盖玻片,每个试样制备 2 个样片;
- b) 立即在载物台温度保持 37 °C 的情况下用 200 倍~400 倍显微镜观察活力,也可通过显微电脑装置在荧光屏上观察活力;
- c) 每样片观察 3 个视野,并应观察不同液层精子的运动状态,进行全面评定。

5.4.3 计算

按公式(3)计算精子活力。

$$M = \frac{n_1 + n_2}{2} \dots\dots\dots (3)$$

式中:

M——精子活力,单位为百分号(%),计算结果保留至小数点后 2 位;

n₁——第一样片精子活力的数值,单位为百分号(%);

n₂——第二样片精子活力的数值,单位为百分号(%).

5.5 精子畸形率检查

5.5.1 主要器材

显微镜、载玻片、血细胞分类计数器、小吸管、蒸馏水、吉姆萨染液、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、甲醛、甲醇、甘油,所用试剂均为 AR 级。

5.5.2 溶液配制

实验所需溶液配制要求应符合附录 A 的要求。

5.5.3 制片

允许同时使用精子活力检查样品。

- a) 抹片:取精液 1 滴,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 35° 夹角,将样品均匀地拖布于载玻片上,自然风干(约 5 min),每样品制作 2 个抹片;
- b) 固定:在已风干的抹片上滴 1.0 mL~2.0 mL 中性福尔马林固定液,固定 15 min 后用清水缓缓冲去固定液,吹干或自然风干。

5.5.4 染色

将固定好后抹片反扣在带有平槽的有机玻璃面上,将吉姆萨染液滴于槽和抹片之间,让其充满平槽并使抹片接触染液,约 1.5 h 后用清水缓缓冲去染液,晾干待检。

5.5.5 镜检

将制备好的抹片在显微镜(400 倍~600 倍)下观察,每个抹片观察 200 个以上的精子(分左、右两个区),取两片的平均值,两片的变异系数不得大于 20%,若超过应重新制片。

5.5.6 计算

精子畸形率应按公式(4)计算。

$$A = \frac{A_1}{S} \times 100 \dots\dots\dots (4)$$

式中:

- A —— 精子畸形率,单位为百分号(%),计算结果保留至小数点后 2 位;
 A₁ —— 畸形精子数,单位为个;
 S —— 精子总数,单位为个。

附 录 A

(规范性)

精子畸形率检查实验溶液配制

A.1 磷酸盐缓冲液

磷酸二氢钠($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.55 g
磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	2.25 g
双蒸馏水定容至 100 mL。	

A.2 中性福尔马林固定液

40%甲醛(HCHO ,使用前经碳酸镁中和和过滤)	8.0 mL
磷酸二氢钠($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.55 g
磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	2.25 g
用 0.89%氯化钠约 50.0 mL 溶解后加入 8.0 mL 中和后的甲醛,再加 0.89%氯化钠溶液定容至 100 mL。	

A.3 吉姆萨原液

吉姆萨染料	1.0 g
甘油[$\text{C}_3\text{H}_5(\text{OH})_3$]	66.0 mL
甲醇(CH_3OH)	66.0 mL

吉姆萨染料放入研钵中加少量甘油充分研磨直至无颗粒,然后将甘油全部倒入并放入恒温培养箱中保温继续溶解 4 h,再加甲醇充分溶解混匀,过滤后储存于棕色瓶中待用。储存时间越久,染色效果越好。

A.4 吉姆萨染液

吉姆萨原液	2.0 mL
磷酸盐缓冲液	3.0 mL
蒸馏水	5.0 mL
现配现用。	
