

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 826—2004

绵羊胚胎移植技术规程

Regulation for sheep embryo transfer

2004-08-25 发布

2004-09-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准的附录 A、附录 B、附录 C、附录 D 为规范性附录。

本标准由国家农业部农垦局提出并归口。

本标准起草单位：新疆农垦科学院畜牧兽医所

本标准主要起草人：石国庆、杨永林、倪建宏、皮文辉、陈静波、周平、万鹏程。

绵羊胚胎移植技术规程

1 范围

本标准规定了绵羊胚胎移植技术操作的基本原则、要求和方法
本标准适用于绵羊胚胎移植技术推广应用的规范化操作。山羊胚胎移植操作也可参照本规程。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

卵 ovum
母畜在性成熟时卵巢所排出的具有繁殖能力的细胞。

2.2

胚胎 embryo
卵经精子授精后称之为胚胎。

2.3

超数排卵 superovlation
指在母畜发情周期的适当时间,注射外源促性腺激素,使卵巢中比在自然情况下,在较多的卵泡发育并排卵的一项技术。

3 供体羊处理

3.1 供体羊的选择

- a) 供体羊应符合品种标准;
- b) 供体羊健康、无疾病且繁殖机能正常。

3.2 超数排卵时间

- a) 应在每年绵羊最佳繁殖季节进行;
- b) 在自然发情或诱导发情的第 12 d~13 d 进行。

3.3 超数排卵处理

3.3.1 促卵泡素(FSH)递减处理法

在自然发情或诱导发情的 12 d~13 d 开始肌肉注射 FSH,早、晚各一次,间隔 12 h,分 3 d 递减注射(表 1)。使用国产 FSH 总剂量为 200 IU~300 IU。
山羊的超数排卵可在发情周期的第 17 天开始,国产促卵泡素用 150 IU~250 IU,或用 PMSG 1 000~2 000 IU,其他操作与绵羊相同。

表 1 超数排卵方法示意图

时间;d						
0 d	13 d	14 d	15 d	0 d	2 d~3 d	7 d
发情	FSH	FSH	FSH	发情	输卵管采卵	子宫采卵
剂量;IU	75×2	50×2	25×2	人工输精		
	每日 2 次	每日 2 次	每日 2 次			

3.3.2 孕马血清促性腺激素(PMSG)和抗孕马血清促性腺激素(aPMSG)处理法

在自然发情或诱导发情的第 12 d~13 d,一次肌肉注射 PMSG 1 500 IU~2 500 IU,发情后 18 h~24 h肌肉注射等量的 aPMSG。

3.4 人工授精

动物母畜均表现发情,于当日上午、下午各人工授精一次,因母畜为超排处理,有多个卵子排出,因而需加大输精量,用原精的 0.2 mL(含 4 亿个精子)/次,直至发情结束。

4 胚胎采集

4.1 采卵时间

以发情日为 0 d,在 6 d~7.5 d 或 2 d~3 d 内用手术法分别从子宫和输卵管回收胚胎。

4.2 手术室设置及要求

采卵及胚胎移植需在专门的手术室内进行。

4.3 器械、冲卵液等物品的准备

4.3.1 手术用的金属器械放在含 0.5%亚硫酸钠(作为防锈剂)的 0.1%新洁尔灭液中浸泡 30 min 或在来苏儿液中浸泡 1 h。

4.3.2 玻璃器皿、敷料和创巾等物品消毒按此规程附录 B 执行。

4.3.3 经灭菌的冲卵液置于 37℃ 水浴加温,玻璃器皿置于 38℃ 培养箱内待用。

4.3.4 麻醉药、消毒药和抗生素等药物,以及酒精棉、碘酒棉等物品备齐。

4.4 供体羊准备

供体羊手术前应禁食 24 h~48 h,可供给适量饮水。

4.4.1 供体羊的保定和麻醉

供体羊仰卧在手术架上,固定四肢。肌肉注射 2% 静松灵 0.5 mL,局部用 0.5% 盐酸普鲁卡因麻醉。

4.4.2 手术部位及其消毒

手术部位一般选择乳房前腹中线部(在两条乳静脉之间)或后肢股内侧腹股沟部。剪毛消毒。

4.5 术者的准备

术者需穿无菌手术服,戴工作帽和口罩,手臂要消毒。

4.6 手术操作的基本要求

手术操作要求细心、谨慎、熟练。

4.6.1 手术分离

4.6.1.1 做切口注意要点:避开较大血管和神经。

4.6.1.2 切开皮肤。

4.6.1.3 切开皮下组织。

4.6.1.4 切开肌肉。

4.6.1.5 切开腹膜。

4.6.2 止血

4.6.2.1 毛细血管止血。

4.6.2.2 小血管止血。

4.6.2.3 较大血管止血。

4.7 采卵方法

4.7.1 输卵管法

供体羊发情后 2 d~3 d 采卵,用输卵管法。将冲卵管一端由输卵管全部的喇叭口插入,约 2 cm~3 cm 深(打活结或用钝圆的夹子固定),另一端接集卵皿。用注射器吸取 37℃ 的冲卵液 5 mL~10 mL,在子宫角靠近输卵管的部位,将针头朝输卵管方向扎入,一人操作,一只手的手指在针头方向后捏紧子宫角,另一只手推注射器,冲卵液由宫管结合部流入输卵管,经输卵管流至集卵皿。

4.7.2 子宫法

供体羊发情后 6 d~7.5 d 采卵用这种方法。术者将子宫暴露于创口表面后,用套有胶管的肠钳夹在子宫角分叉处,注射器吸入预热的冲卵液 20 mL~30 mL(一侧用液 50 mL~60 mL),冲卵针头(钝形)从子宫角尖端插入,当确认针头在管腔内,进退通畅时,将硅胶管连接于注射器上,推注冲卵液。当子宫角膨胀时,将回收卵针头从肠钳钳夹基部的上方迅速扎入,冲卵液经硅胶管收集于烧杯内,最后用两手指和食指将子宫角捋一遍。另一侧子宫角用同样方法冲洗。进针时,避免损伤血管;推注冲卵液时,力量和速度应适中。

4.7.3 冲卵管法

用手术法取出子宫,在子宫体扎孔,将冲卵管插入,使气球在子宫角分叉处,使冲卵管尖端靠近子宫角前端,用注射器注入气体 8 mL~10 mL,然后进行灌流,分次冲洗子宫角,每次灌注 10 mL~20 mL,一侧用液约 50 mL~60 mL,冲完后气球放气。冲卵管插入另一侧,用同样方法冲卵。

4.8 缝合

缝合按常规手术方法进行。

4.9 术后处理

采卵完毕后,用 37℃ 灭菌生理盐水湿润母羊子宫,冲去凝血块,再涂少许灭菌液体石蜡,将器官复位。腹膜、肌肉缝合后,撒一些碘胺粉等消炎防腐药。皮肤缝合后,在伤口周围涂碘酒,再用酒精做最后消毒。供体羊肌肉注射青霉素(80 万 IU)和链霉素(100 万 IU)。

5 胚胎检出

5.1 检胚操作要求

检胚者应熟悉体视显微镜的结构,做到熟练使用。

5.2 找卵要点

根据胚胎的比重、大小、形态和透明带折光性等特点找胚胎。

5.3 检胚前的准备

5.3.1 待检的胚胎应保存在 37℃ 条件下,尽量减少体外环境、温度、灰尘等因素的不良影响。

5.3.2 在酒精灯上拉制内径为 300 μ m~400 μ m 的玻璃吸管和玻璃针,每个冲卵供体羊需备 3 个~4 个培养皿,写好编号,放入养箱待用。

5.4 检胚方法及要求

用玻棒清除胚胎外围的黏液、杂质。将胚胎吸至第一个培养皿内,吸管先吸入少许磷酸缓冲液(PBS,配制方法见附录 A.1),再吸入胚胎,在培养皿的不同位置冲洗胚胎 3 次~5 次。

6 胚胎的鉴定和分级

6.1 胚胎的鉴定

6.1.1 在 20 倍~40 倍体视显微镜下观察受精卵的形态、色调、分裂球的大小、均匀度、细胞的密度与透明带的间隙以及变性情况等。

6.1.2 凡卵子的卵黄未形成分裂球及细胞团的,均列为未受精卵。

6.1.3 胚胎的发育阶段 授精后 2 d~3 d 用输卵管法回收的卵,发育阶段为 2 细胞期~8 细胞期,可清楚地观察到卵裂球,卵黄腔间空隙较大。6 d~8 d 回收的正常受精卵发育情况如下:

- a) 桑葚胚——授精后第 5 d~6 d 回收的卵,只能观察到球状的细胞团,分不清分裂球,细胞团占据卵黄腔的 50%~60%;
- b) 致密桑葚胚——授精后 6 d~7 d 回收的卵,细胞团占卵黄腔 60%~70%;
- c) 早期囊胚——授精后第 7 d~8 d 回收的卵,细胞团的一部分出现发亮的胚泡腔,细胞团占卵黄腔 70%~80%,难以分清内细胞团和滋养层;
- d) 囊胚——授精后第 7 d~8 d 回收的卵,内细胞团和滋养层界限清晰,胚泡腔明显,细胞充满卵黄腔;
- e) 扩大囊胚——授精后第 8 d~9 d 回收的卵,囊腔明显扩大,体积增大到原来的 1.2 倍~1.5 倍,与透明带之间无空隙,透明带变薄,相当于正常厚度的 1/3;
- f) 孵育胚——一般在发情后 9 d~11 d,由于胚泡腔继续扩大,致使透明带破裂,卵细胞脱出;
- g) 凡在授精后第 6 d~8 d 回收的 16 细胞以下的受精卵均应列为非正常发育胚胎,不能用于移植或冷冻保存。

6.2 胚胎的分级

分为 A、B、C 三个等级。

6.2.1 A 级

胚胎形态完整,轮廓清晰,呈球形;分裂球大小均匀,结构紧凑,色调和透明度适中,无附着的细胞和液泡。

6.2.2 B 级

轮廓清晰,色调及细胞密度良好,可见到少量附着的细胞和液泡,变性细胞约占 10%~30%。

6.2.3 C 级

轮廓不清晰,色调发暗,结构较松散,游离的细胞或液泡较多,变性细胞达 30%~50%。

6.2.4 胚胎的等级划分还应考虑到受精卵的发育程度。发情后第 7 d 回收的受精卵在正常发育时应处于致密桑葚胚至囊胚阶段。凡在 16 细胞以下的受精卵及变性细胞超过一半的胚胎均属等外品,其中部分胚胎仍有发育的能力,但受胎率很低。

6.2.5 胚胎的分级主要是便于移植。一般来讲,A、B、C 级为可用胚,但 A、B 级胚胎可进行冷冻,C 级一般只用于鲜胚移植。

7 胚胎的冷冻保存

7.1 三步平衡法

7.1.1 10%甘油保存液的配制:取 9 mL 含 20% 羊血清的 PBS,加入 1 mL 甘油,用吸管反复混合 15 次~20 次,经 0.22 μ m 滤器过滤到灭菌容器内待用。

7.1.2 取含 20% 羊血清 0.3 M 蔗糖的 PBS 2 mL 和 3.5 mL,分别加入 10% 甘油 3 mL 和 1.5 mL,配成含 6% 和 3% 甘油的蔗糖冷冻液。将 3%、6% 和 10% 三种甘油浓度的冷冻液分别装入小培养皿。

7.1.3 胚胎分别在 3%、6% 和 10% 甘油的蔗糖冷冻液中浸 5 min。

7.1.4 胚胎装管:用 0.25 mL 塑料细管按以下顺序吸入,少量的 10% 甘油的 PBS 液、气泡、10% 甘油的 PBS 液(含有胚胎)、气泡、少量的 10% 甘油的 PBS 液(图 1 所示),加热封口两道。

7.1.5 塑料细管的编号:剪一段(2 cm)0.5 mL 塑料细管作为标记外套,内装色纸,注明供体品种、耳号、胚胎发育阶段及等级、制作日期(年、月、日),并在外套管上写明序号备查。

7.2 冷冻程序

将细管直接浸入冷冻仪的酒精浴槽内,以 1 $^{\circ}$ C/min 的速度从室温降至 -6 $^{\circ}$ C,停 5 min 后植冰,再

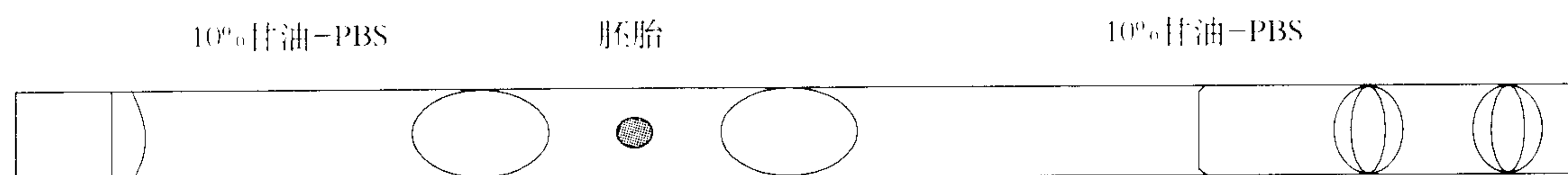


图 1 胚胎装管示意图

停留 10 min, 以 $0.3\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度降至 $36\text{ }^{\circ}\text{C}$, 再以 $0.1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度降至 $-38\text{ }^{\circ}\text{C}$, 直接投入液氮, 长期保存。

8 冷冻胚胎的解冻

8.1 解冻液的配制

根据 7.1.1 和 7.1.2 配制出 10%、6% 和 3% 甘油的蔗糖解冻液, 用 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤器灭菌, 分装在小培养皿内。第 1 杯~4 杯分别为 10%、6%、3%、0% 甘油的蔗糖解冻液, 第 5 杯为 PBS 保存液。

8.2 胚胎的解冻

胚胎从液氮中取出, 在 3 s 内投入 $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴, 浸 10 s。

8.3 三步脱甘油

用 70% 酒精棉球擦拭塑料细管, 用剪刀剪去棉端, 与带有空气的 1 mL 注射器连接。再剪去细管的另一端, 在室温下将胚胎推入 10% 甘油和 0.3 M 蔗糖的 PBS 解冻液中, 放置 5 min 后依次移入 6%、3% 和 0% 甘油的蔗糖 PBS 解冻液中, 各停留 5 min, 最后移至 PBS 保存液中镜检待用。

9 胚胎分割

9.1 准备工作

9.1.1 检查和调整好显微操作装置。

9.1.2 微细玻璃针和固定吸管的制作: 玻璃针细度要求为 $3\text{ }\mu\text{m}$ 。

9.1.3 安装好分割胚胎的用具。

9.1.4 将含有 20% 犊牛血清的 PBS 液经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤器过滤, 在灭菌直径为 90 mm 的塑料培养皿内做成液滴, 覆盖液体石蜡备用。

9.2 分割操作

9.2.1 将第 6 d~8 d 回收的发育良好的胚胎移入已做好的液滴, 每个液滴放入 1 枚胚胎, 用玻璃针或刀片从内细胞团正中切开。

9.2.2 使用刀具分割时可不用固定管。

9.2.3 分割好的胚胎移至含 20% 羊血清(或犊牛血清)的 PBS, 清洗后装管移植。

9.2.4 冷冻胚胎解冻后分割操作同上。

10 胚胎移植

10.1 受体羊的选择

10.1.1 受体羊要求健康、无疫病、营养良好。

10.1.2 无生殖疾病、发情周期正常的经产羊。

10.2 供体羊、受体羊的同期发情

10.2.1 自然发情

10.2.2 诱导发情

绵羊诱导发情分为孕激素类和前列腺素类控制同期发情两类方法。孕酮海绵栓法是一种常用的方法。

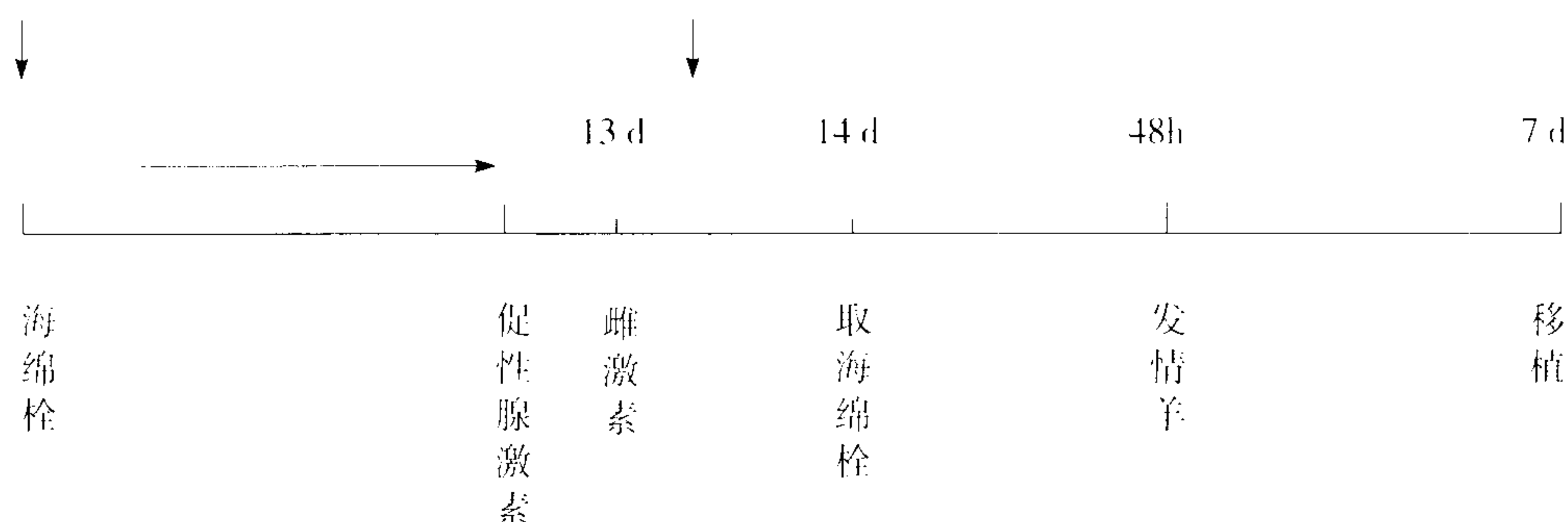


图2 受体羊海绵栓法同期发情示意图

海绵栓在灭菌生理盐水中浸湿后塞入阴道深处,至13 d~14 d取出,在取海绵栓的前一天或当天,肌肉注射PMSG(400 IU)和戊雌酸二醇或苯甲酸雌二醇(2 mg~4 mg),48 h前后受体羊可表现发情。

10.2.3 发情观察

受体羊发情观察早、晚各一次,母羊接受爬跨确认为发情。受体羊与供体羊发情同期差控制在 ± 24 h。

10.3 移植

10.3.1 移植液

- 0.03 g 牛血清白蛋白溶于10 mL PBS。
- 1 mL 血清+9 mL PBS。

以上两种移植液均含青霉素(100 IU/mL)、链霉素(100 IU/mL)。配好后,用0.22 μ m 滤器过滤,置于38℃培养箱待用。

10.3.2 受体羊准备

受体羊术前需空腹12 h~24 h,仰卧或侧卧于手术保定架上,肌肉注射0.3 mL~0.5 mL 2% 静松灵。手术部位及手术要求与供体羊相同。

10.3.3 简易手术法

对受体羊可用简易手术法移植胚胎。

术部消毒后,拉紧皮肤,在后肢内侧鼠蹊部做1.5 cm~2 cm 切口,用1个手指伸进腹腔,摸到子宫角引导至切口外,确认排卵侧黄体发育状况,用钝形针头在黄体侧子宫角扎孔,将移植管顺子宫角方向插入宫腔,推出胚胎,随即子宫复位。皮肤复位后即将腹壁切口覆盖,皮肤切口用碘酒、酒精消毒,一般不需缝合。若切口增大或覆盖不严密,应进行缝合。

10.3.4 移植胚胎注意要点

用内窥镜观察受体卵巢,胚胎移至黄体侧子宫角,无黄体不移植。

10.3.5 取出子宫,移植2枚胚胎

附 录 A
(规范性附录)
试剂配制

A.1 冲卵液(PBS)的配制

A.1.1 改进的 PBS 液配方

氯化钠 NaCl	136.87 mM	8.00 g/L
氯化钾 KCl	2.68 mM	0.20 g/L
氯化钙 CaCl ₂	0.90 mM	0.10 g/L
磷酸氢钾 KH ₂ PO ₄	1.47 mM	0.20 g/L
氯化镁 MgCl ₂ ·6H ₂ O	0.49 mM	0.10 g/L
磷酸氢钠 Na ₂ HPO ₄	8.09 mM	1.65 g/L
丙酮酸钠	0.33 mM	0.036 g/L
葡萄糖	5.56 mM	1.00 g/L
牛血清蛋白		3.00 g/L
(或犍牛血清)		10 mL/L
青霉素		100 IU/mL
链霉素		100 IU/mL
双蒸水加至		1 000 mL

A.1.2 PBS 液的配制

为了便于保存,可用双蒸水分别配制成 A 液和 B 液,以便高压灭菌,也可配制成浓缩 10 倍的原液。

A 液	100 mL	500 mL	1 000 mL
NaCl	8.0 g	40.0 g	80.0 g
KCl	0.2 g	1.0 g	2.0 g
CaCl ₂	100 mg	500 mg	1.0 g
MgCl ₂ ·6H ₂ O	100 mg	500 mg	1.0 g
B 液			
Na ₂ HPO ₄ ·7H ₂ O	2.16 g	10.8 g	21.6 g
(或无水 Na ₂ HPO ₄)	1.144 g	5.72 g	11.44 g
KH ₂ PO ₄	200 mg	1.0 g	2.0 g

配好的 A、B 原液和双蒸水分别高压灭菌,低温保存待用

A.1.3 冲卵液的配制

使用浓缩 A、B 液各取 100 mL 缓慢加入灭菌双蒸水 800 mL 充分混合 取其中 20 mL,加入丙酮酸钠 36 mg、葡萄糖 1.0 g、牛血清蛋白 3.0 g(或羊血清 10 mL)和抗生素,充分混合后用 0.22 μm 滤器过滤灭菌,倒入大瓶混合均匀待用 冲卵液 pH7.2 ~ 7.4,渗透压为 270 mM ~ 300 mM A、B 液混合后,如长时间高温(>40℃)会形成沉淀,影响使用,应注意避免

A.1.4 保存液的配制

2 mL 供体羊血清 + 8 mL PBS,青、链霉素各 100IU/mL,0.22 μm 滤器过滤灭菌

A.2 羊血清的制作

A.2.1 对超数排卵反应好的供体羊于冲卵后采血

A.2.2 血清制作程序:

用灭菌的针头和离心管从颈静脉采血,30 min 以内用 3 500 r/10 min 取血清。再用同样转速将分离出的血清再离心 10 min,弃去沉淀。

A.2.3 血清的灭活

将上述血清集中在瓶内,用 50℃ 水浴,(血清温度达 56℃)灭活 30 min,或者在 52℃ 温水中灭活 40 min。灭活后,用 3 500 r/10 min,再用 0.45 μ m 滤器过滤灭菌,然后分装为小瓶,于 4℃ 保存待用。

A.2.4 血清使用前,要做胚胎培养试验。只有经培养后确认无污染、胚胎发育好的血清才能使用。

附 录 B

(规范性附录)

实验的准备

B.1 器具的洗刷

B.1.1 器具使用后应立即浸于水中,流水冲洗。粘有污垢或斑点应立即洗刷掉,然后再用洗涤液清洗。

B.1.2 新的玻璃器皿用清水洗净后,放入洗液或稀盐酸中浸泡 24 h,流水冲洗掉洗液,再用洗涤液认真刷洗,或用超声波洗涤器洗涤。洗涤剂可用市售品。

B.1.3 水洗:从洗涤液中取出后立即放入流水中,冲洗 3 h 完全冲掉洗涤液。

B.1.4 洗净:用去离子水冲洗 5 次,再用蒸馏水洗 5 次,最后用双蒸水冲洗 2 次。

B.1.5 干燥和包装:洗净后的器具放入干燥箱烘干,再用白纸或牛皮纸包装待消毒。

B.2 器具的灭菌

B.2.1 高压灭菌:适用于玻璃器具、金属制品、耐压耐热的塑料制品,以及可用高压蒸汽灭菌的培养液、无机盐溶液、液体石蜡油等。上述器具经包装后放入高压灭菌器内,在 120°C ($1\text{ kg}/\text{cm}^2$) 处理 20 min~30 min, PBS 等培养液为 15 min。

B.2.2 气体灭菌法:对于不能用高压蒸汽灭菌处理的塑料器具,可用环氧乙烷等气体灭菌。灭菌方法与要求可根据不同设备说明进行操作。气体灭菌过的器具需放置一定时间才能使用。

B.2.3 干热灭菌法:对耐高温的玻璃及金属器具,包装好后放入干热灭菌器(干烤箱), 160°C 处理 1 h~1.5 h,或者使温度升至 180°C 以后,关闭开关,待降至室温时取出。在烘烤过程中或刚结束时,不可打开干燥箱门以防着火。

B.2.4 紫外线灭菌:塑料制品可放置在无菌间距紫外线灯 50 cm~80 cm 处,器皿内侧向上。塑料细管需垂直置于紫外线灯下照射 30 min 以上。

B.2.5 钴(Co^{50})同位素照射灭菌:将需要灭菌的器具包装好,送有关单位处理。

B.2.6 用 70% 酒精浸泡消毒:聚乙烯冲卵管以及乳胶管等,洗净后可在 70% 酒精液浸泡消毒。

B.3 培养液的灭菌

B.3.1 过滤灭菌法:装有滤膜的滤器经高压灭菌后使用。培养保存液 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜。血清用 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤。过滤时,应弃去开始的 2 滴~3 滴。

B.3.2 用抗生素灭菌:在配制培养液时,同时加入青霉素 100 IU/mL,链霉素 100 IU/mL。

B.4 液体石蜡油的处理

B.4.1 市售液体石蜡装入分液漏斗,用双蒸水充分摇动洗涤 3 次~5 次,静止或离心分离水分。

B.4.2 液体石蜡装入三角烧瓶内(装入量为容量的 70%~75%)用硅塞封口,塞上通入长和短的两根玻璃管,管上端塞好棉花。一根深入油面底层,一根不接触油面。高压灭菌 15 min 呈白浊色,冷却后静置 12 h,即为透明。

B.4.3 将所用的培养液用滤器除菌,按石蜡油量的 1/20 加入并充分混合

B.4.4 由长玻璃管通入 5% CO₂、95% 空气组成的混合气 30 min

B.4.5 经上述处理后的石蜡油在使用前放在二氧化碳培养箱内静置平衡一昼夜,使液相和油相完全分离,待用

附 录 C
(规范性附录)
羊胚胎移植主要器械与设备

C.1 回收卵器械

C.1.1 冲卵管——带硅胶管的 7 号针头(钝形),回收管——带硅胶管的 16 号针头(钝形),肠钳套乳胶管。

C.1.2 注射器 20 mL 或 30 mL。

C.1.3 集卵杯——50 mL 或 100 mL 烧杯。

C.2 检卵与分割设备

C.2.1 体式显微镜。

C.2.2 培养皿(35 mm×15 mm),(90 mm×15 mm),表面皿。

C.2.3 巴氏玻璃管。

C.2.4 培养箱,CO₂ 培养罐及 CO₂ 气体。

C.2.5 显微操作仪及附件。

C.3 移植

C.3.1 微量注射器、12 号针头。

C.3.2 移植管——内径 200 μm ~ 300 μm 玻璃细管或前端细后部膨大的(套在注射器上)塑料细管。

C.3.3 羊用腹腔内窥镜。

C.4 手术器械

C.4.1 毛剪,外科剪(圆头、尖头)。

C.4.2 活动刀柄、刀片、外科刀。

C.4.3 止血钳(弯头、直头)、蚊式止血钳、创巾夹、持针器、手术镊(带齿、不带齿)。

C.4.4 缝合针(圆刃针、三棱针)、缝合线(丝线、肠线)、创巾若干。

C.4.5 手术保定架、手术灯、活动手术器械车。

C.5 其他

C.5.1 蒸馏水装置 1 套,离子交换器 1 台。

C.5.2 干烤箱 1 台。

C.5.3 高压消毒锅 1 台。

C.5.4 滤器若干,0.22 μm、0.45 μm 滤膜,0.25 mL(塑料细管)。

C.5.5 pH 计 1 台

C.6 药品及试剂

C.6.1 配套 PBS 所需试剂

C.6.2 FSH 和 LH, PMSG 及抗 PMSG 等超排激素

C.6.3 2% 静松灵, 0.5% 普鲁卡因, 利多卡因

C.6.4 肾上腺素及止血药品

C.6.5 抗生素及其他消毒液、纱布、药棉等

附 录 D
(规范性附录)
记录表

D.1 供体羊超数排卵记录表

供体号：_____ 品种：_____ 出生时间(年龄)：_____

产羔时间：_____ 胎次：_____

处理前发情日期：(1)_____ (2)_____

超排处理日期：_____ 年 _____ 月 _____ 日 激素：_____ 批号：_____

总剂量：_____ 每日剂量：_____ (1)_____ (2)_____ (3)_____ (4)_____

促排药注射日期：_____ 剂量：_____

发情时间：_____ 症状：_____

输精时间：(1)_____ (2)_____ (3)_____ 公羊号：_____

回收卵时间：_____ 月 _____ 日 开始：_____ 时 _____ 分 结束：_____ 时 _____ 分

冲卵人：_____ 检卵人：_____

卵 巢	冲卵液回收率	卵 巢		回 收 卵 数	未 受 精 卵	退 化 卵	2~16 细 胞	胚胎发育与等级							
		CL	F					枚 数	等 级	M	CM	EB	BL	EXB	HB
左								A							
								B							
								C							
右								A							
								B							
								C							

D.2 受体羊移植记录表

序号	受体号	供体号	群号	发情日期	返情日期	黄体发育	移植时间	胚胎等级	术者	产羔	备注

D.3 冷冻胚胎记录表

供体号: 品种: 操作者:

冲卵结束时间: 冷冻时间: 防冻剂: 冷冻方法:

[illegible]