

### 梅花鹿体内胚胎生产与移植技术规程

Code of practice for in vivo embryo production and transfer in sika deer

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

- XX - XX 实施



## 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。

本文件由辽宁省农业农村厅提出并归口。

本文件起草单位：辽宁省农业发展服务中心、桓仁强风鹿业科研繁育基地。

本文件主要起草人：邓福金、关春梁、杜学海、王化青、江馥语、李静、王超、关伟国、商业。

本文件发布实施后，任何单位和个人如有问题和意见建议，均可以通过来电和来函等方式进行反馈，我们将及时答复并认真处理，根据实际情况依法进行评估及复审。

归口管理部门通讯地址：辽宁省农业农村厅（沈阳市和平区太原北街 2 号），联系电话：024-23447862。

本文件起草单位通讯地址：辽宁省农业发展服务中心（沈阳市皇姑区辽河街60号），联系电话：024—81845015。

# 梅花鹿体内胚胎生产与移植技术规程

## 1 范围

本文件确立了梅花鹿体内胚胎生产与移植技术的流程，规定了供体的选择与饲养管理、供体的同期发情超数排卵与人工授精、手术法胚胎采集与胚胎质量鉴定、胚胎冷冻保存与解冻、胚胎移植与妊娠检查技术操作的要求，描述了过程记录表、照片、影像证实的方法。

本文件适用于梅花鹿体内胚胎生产与移植技术操作。

## 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/T 5458 液氮生物容器
- GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法
- GB/T 6935 中国梅花鹿种鹿
- GB/T 25881—2010 牛胚胎
- NY/T 1674—2008 牛羊胚胎质量检测技术规程
- NY/T 1900—2010 畜禽细胞与胚胎冷冻保种技术规范
- DB21/T 1835—2020 梅花鹿饲养管理技术规程
- DB22/T 2611—2017 梅花鹿冷冻精液
- DB21/T 2749—2017 梅花鹿冷冻精液人工授精技术规程

## 3 术语、定义和缩略语

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**供体 donor**

用于生产胚胎的母鹿个体。

### 3.2

**受体 recipient**

用于移植胚胎的母鹿个体。

### 3.3

**阴道栓 vaginal suppository**

一种内含孕酮、用特制放置器将其放入母鹿阴道的同期发情装置。

## 3.4

## 拇指管 goblet

一端封闭，另一端开口的圆柱形贮存冷冻胚胎细管的器材。在液氮中（-196℃）不变形、不爆裂。

## 3.5 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

CIDR: 孕酮阴道栓 (controlled internal drug releasing)

FSH: 促卵泡素 (follicle-stimulating hormone)

PMSG: 孕马血清促性腺激素 (pregnant mare serum gonadotropin)

PG: 前列腺素 (prostaglandin)

LHRH: 促黄体素释放激素 (luteinizing hormone releasing hormone)

PBS: 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline)

BSA: 牛血清白蛋白 (bovine serum albumin)

## 4 技术流程

梅花鹿体内胚胎生产与移植技术流程包括供体的选择与饲养管理、供体的同期发情超数排卵与人工授精、手术法胚胎采集与胚胎质量鉴定、胚胎冷冻保存与解冻、胚胎移植与妊娠检查。梅花鹿体内胚胎生产与移植技术流程见图1。

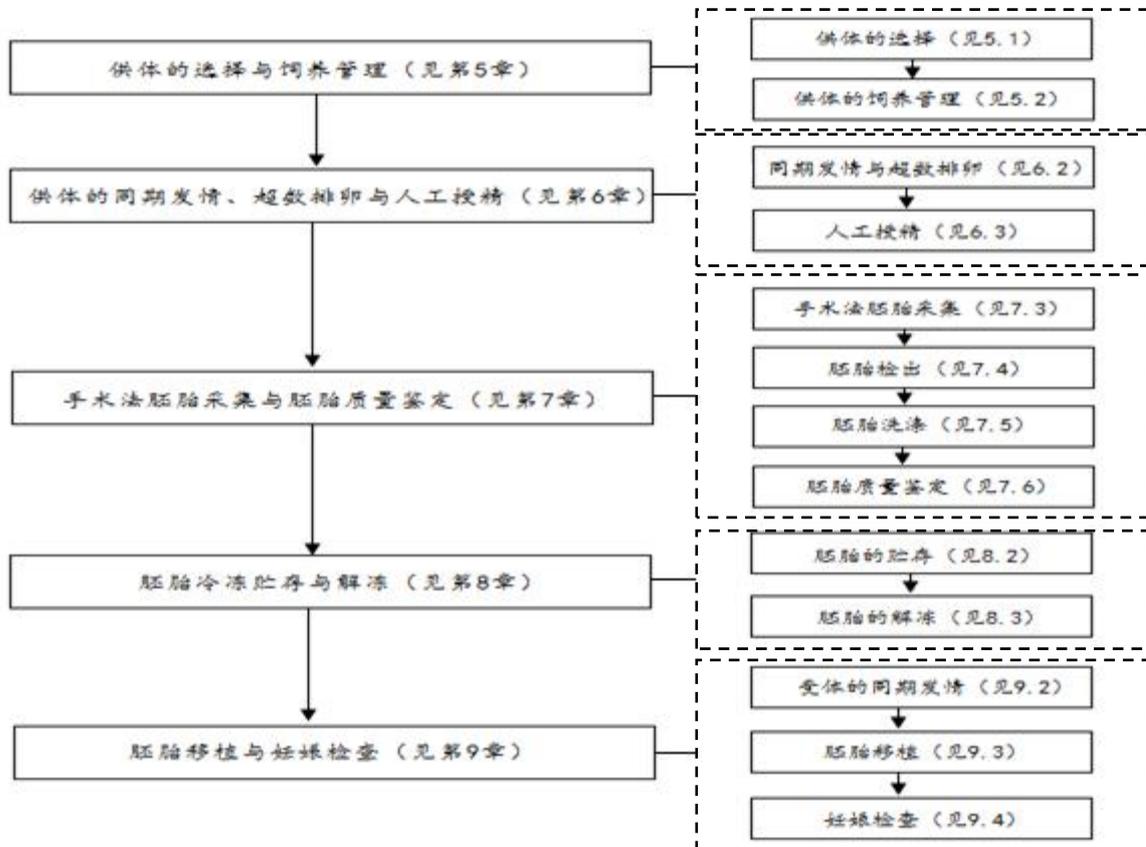


图1 梅花鹿体内胚胎生产与移植技术流程图

## 5 供体的选择与饲养管理

### 5.1 供体的选择

供体应满足以下条件：

- a) 品种优良，生产性能优秀，经济价值大，综合评定等级一级以上；
- b) 三代系谱完整，繁殖机能正常，遗传性能稳定；
- c) 3岁~5岁经产母鹿，体质健康，营养状况良好

### 5.2 供体的饲养管理

供体的饲养管理应满足以下条件：

- a) 单圈饲养，杜绝人员参观，以免引起应激；
- b) 超数排卵前4周~5周应进行短期优饲，每只每天补饲胡萝卜0.25 kg，精料饲喂量及配方遵守 DB21/T 1835—2020中5.5.3的规定；
- c) 同期发情处理后，肌肉注射维生素A、维生素D、维生素E，剂量按照产品说明；
- d) 超数排卵前4周，避免注射疫苗。

## 6 供体的同期发情、超数排卵与人工授精

### 6.1 器材和药品

#### 6.1.1 器材

同期发情、超数排卵与人工授精所需主要器材应符合附录 A 中 A.1 的相关规定。

#### 6.1.2 药品

同期发情、超数排卵与人工授精所需主要药品应符合附录 A 中 A.2 的相关规定。

### 6.2 同期发情与超数排卵

在发情周期的任意一天埋植 CIDR，埋栓当天记为第 0 天，在埋栓后第 11 天开始肌肉注射 FSH（同时换栓），每天早、晚各 1 次，间隔 12 h，4 d8 次，剂量递减，总剂量 10.00 mL。在第 6 次注射 FSH 时撤栓，同时肌肉注射 PG 1.50 mL，撤栓后 30 h ~36 h 肌肉注射 LHRH-A3 25 μg。FSH 4 d 注射程序见表 1。

表 1 FSH 4 d 注射程序

时间	剂量			
	第1天	第2天	第3天	第4天
6:30	FSH 2.60 mL	FSH 1.80 mL	FSH 1.40 mL	FSH 1.00 mL
18:30	FSH 2.20 mL	FSH 1.80 mL	FSH 1.40 mL	FSH 0.70 mL

注：每瓶FSH（500 IU）用10 mL生理盐水稀释。

### 6.3 人工授精

#### 6.3.1 种公鹿

符合 GB/T 6935 中的规定，且综合评价等级为超特级。

#### 6.3.2 冷冻精液

质量符合 DB22/T 2611—2017 中的规定。

#### 6.3.3 输精时间

撤栓后 38h~44 h 一次输精。

#### 6.3.4 输精方法

遵守 DB21/T 2749—2017 中 7.2 的规定。

### 6.4 记录

同期发情、超数排卵与人工授精后，应填写供体同期发情、超数排卵与人工授精记录表，见附录B中表B.1。

## 7 手术法胚胎采集与胚胎质量鉴定

### 7.1 基本要求

#### 7.1.1 现场条件

7.1.1.1 具有相对分开的采胚室、检胚室、胚胎冷冻室。

7.1.1.2 采胚室应宽敞明亮、无灰尘，并配有照明、上下水、工作台、保定架等设施，宜与检胚室相邻。

7.1.1.3 采胚室和检胚室应配备温度控制和紫外消毒设备，温度宜控制在18℃~25℃，提前1天用紫外线灯照射30 min~40 min。

#### 7.1.2 器材消毒

凡是接触鹿的器材，如手术剪、手术刀、宫颈钳、打孔器、镊子、创布、毛巾、纱布等，洗净后放入（金属器械用布包好）高压灭菌器中，温度 121℃~126℃，维持 30 min，消毒后置于无菌箱中备用。

#### 7.1.3 人员准备

操作人员应穿好工作服，戴好工作帽和乳胶手套，双手用0.1%新洁尔灭消毒。

#### 7.1.4 供体准备

供体应在手术前24 h断水断料，避免应激。

### 7.2 器材、药品和试剂

#### 7.2.1 器材

手术法胚胎采集与胚胎质量鉴定所需器材应符合附录 A 中 A.3 的相关规定。

### 7.2.2 药品和试剂

手术法胚胎采集与胚胎质量鉴定所需药品和试剂应符合附录 A 中 A.4 的相关规定。

### 7.2.3 冲胚液和保存液

冲胚液配制见附录C中C.1，保存液配制见附录C中C.2。或者使用商品冲胚液、保存液。

## 7.3 手术法胚胎采集

### 7.3.1 胚胎采集时间

应在人工授精后的第6天进行，人工授精当天为第0天。

### 7.3.2 胚胎采集步骤

7.3.2.1 用吹管、吹针、麻醉药将供体麻倒，运到采胚室，放在保定架上，呈水平仰卧保定，拉出舌头，戴上头套。

7.3.2.2 位于乳房前4 cm、腹中线两侧20 cm区域，先用剃须剪剔除皮肤的被毛，再用刮胡刀刮净。用湿毛巾擦净，先用5%碘酊消毒，再用75%酒精脱碘处理。

7.3.2.3 升起保定架一端，呈前（头）低后高姿势。术部盖上创布，并固定。

7.3.2.4 在乳房前4 cm，沿腹中线用手术刀切约5 cm切口，用宫颈钳将子宫角及卵巢牵出，观察左右卵巢上的黄体发育情况，记录黄体数目。

7.3.2.5 如果卵巢上有3个以上黄体发育良好，在子宫角基部（上1/3处）用止血钳穿孔，插入冲胚管，由冲胚管的充气孔注入20 mL冲胚液，使气囊封阻子宫腔。在子宫角的上端（子宫角和输卵管结合部）用打孔器打一小眼，插入套管针，拔出针芯，将装有冲胚液的20 mL注射器接到套管针上，注入20 mL冲胚液（35 ℃~37 ℃），将胚胎由冲胚管的出液孔收集于培养皿（Φ90 mm）中，用记号笔在培养皿上做好标记。抽出气囊中液体，取下冲胚管，用同样的方法冲取另一侧子宫角的胚胎。

7.3.2.6 用含青霉素的生理盐水（1瓶生理盐水加入1支青霉素）冲洗子宫角，放回腹腔。

7.3.2.7 创口用缝合针和缝合线缝合两层，腹膜和肌肉层连续缝合，皮肤结节缝合，外涂5%碘酊，肌肉注射兽用土霉素注射液7 mL和PG 2mL。

7.3.2.8 将供体鹿运回鹿舍，注射解麻药，单独饲养。

### 7.4 胚胎检出

7.4.1 在20 ℃~25 ℃环境条件下，将盛有冲胚液的培养皿放在28 ℃~30 ℃恒温板上，静置10 min，让其自然沉降。

7.4.2 在8倍~10倍体式显微镜下寻找胚胎，寻找到的胚胎用连有移胚针的1 mL注射器或吸胚管移入盛有保存液的培养皿（Φ35 mm）中，同一供体的胚胎应放在一个培养皿内，并记录。

### 7.5 胚胎洗涤

7.5.1 将同一供体的胚胎从保存液中吸出移到另一个培养皿中的保存液中，洗涤1次~2次。

7.5.2 每次洗涤保存液应不少于200 μL，每组洗涤胚胎数不应超过10枚，每次洗涤应更换移胚针、注射器或吸胚管，每次洗涤胚胎带入培养皿中的液体量不应超过1%。

7.5.3 胚胎洗涤后，置于50倍以上体式显微镜下观察胚胎发育状态，确定胚胎等级。

## 7.6 胚胎质量鉴定

### 7.6.1 胚胎发育期

7.6.1.1 人工授精后第 6 d 采集的胚胎应处于桑椹胚阶段。

7.6.1.2 胚胎发育期划分应按照 GB/T 25881—2010 中 4.4.1 的规定执行。

### 7.6.2 胚胎分级

#### 7.6.2.1 胚胎分级标准

胚胎等级划分应按照 NY/T 1674—2008 中 A.3.3.2.1 的规定执行。

#### 7.6.2.2 胚胎质量要求

胚胎分为 A、B、C、D 四个等级，A、B、C 级为合格，D 级为不合格。

## 7.7 记录

胚胎采集及质量鉴定后，应由操作人员及时填写胚胎采集与胚胎质量鉴定记录表，见附录 B 中表 B.2。

## 8 胚胎的冷冻、保存与解冻

### 8.1 器材

胚胎冷冻、保存与解冻所需器材应符合附录 A 中 A.5 的相关规定。

### 8.2 胚胎的冷冻

#### 8.2.1 冷冻液

配制见附录 C 中 C.3。或者使用商品冷冻液。

#### 8.2.2 胚胎要求

胚胎应处于桑椹胚至囊胚阶段，胚胎质量应为 A 级或 B 级。

#### 8.2.3 胚胎冷冻操作步骤

##### 8.2.3.1 胚胎的洗涤

把胚胎放进冷冻液中洗涤 2 次，在第 3 次洗涤时装入细管，时间不应超过 40 min。

##### 8.2.3.2 胚胎的装管

洗涤后应迅速用吸卵器或移胚针将胚胎装入 0.25 mL 细管，每支细管宜装 1 枚~2 枚胚胎。胚胎装入细管顺序：冷冻液（约 1.6 cm）→气泡（约 0.5 cm）→冷冻液（约 1.6 cm）→气泡（约 0.5 cm）→含胚胎冷冻液（约 2.5 cm）→气泡（约 0.5 cm）→冷冻液（约 1.6 cm）→气泡（约 0.5 cm）→冷冻液（约 1.6 cm），用经酒精灯加热的止血钳热塑封口（或使用封口器封口）。胚胎装入细管示意图见图 2。



图2 胚胎装入细管示意图

### 8.2.3.3 胚胎细管的标识

胚胎细管应标识细管号、胚胎数量、胚胎发育期、胚胎等级、供体品种、供体号、公鹿品种、公鹿号、生产日期和生产单位等内容，示例见附录D中D.1。

### 8.2.3.4 胚胎冷冻步骤

胚胎冷冻操作步骤如下：

- a) 将胚胎冷冻仪预先冷却至 $-6.0\text{ }^{\circ}\text{C}\sim-6.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ；
- b) 将装有胚胎的细管棉塞端朝下插入冷冻槽内平衡 $4\text{ min}\sim 5\text{ min}$ ；
- c) 用经液氮冷却后的镊子夹细管封口端植冰；
- d) 植冰后平衡 $5\text{ min}\sim 10\text{ min}$ ；
- e) 以 $0.3\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}\sim 0.6\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率降温至 $-32\text{ }^{\circ}\text{C}\sim-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，投入液氮。

### 8.2.3.5 记录

胚胎冷冻结束后，应由操作人员填写冷冻胚胎生产记录表，见附录B中表B.3。

## 8.3 胚胎的保存

8.3.1 冷冻胚胎细管宜装入拇指管内，拇指管应标识供体号、公鹿号、细管数量、生产日期、生产单位，示例见附录D中D.2。

8.3.2 冷冻胚胎细管应保存在液氮罐的液氮中。

8.3.3 存放冷冻胚胎细管的液氮罐应符合GB/T 5458的规定。

## 8.4 胚胎的解冻

胚胎解冻操作步骤如下：

- a) 从液氮罐中取出冷冻胚胎细管；
- b) 在空气中（ $18\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ）停留 $5\text{ s}\sim 7\text{ s}$ ；
- c) 投入 $32\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中停留 $30\text{ s}\sim 45\text{ s}$ ；
- d) 从水浴中取出胚胎细管，用灭菌纸巾擦干细管表面水珠，再用酒精棉球擦拭细管表面；
- e) 用细管剪剪去胚胎细管封口，将胚胎细管中的冷冻液及胚胎推出到培养皿中；
- f) 在体式显微镜下检查，合格胚胎进行移植。

## 9 胚胎移植与妊娠检查

### 9.1 受体的选择与饲养管理

### 9.1.1 受体的选择

受体应满足以下条件：

- a) 2岁~4岁经产鹿，生产性能较低；
- b) 体质健康，繁殖机能正常；
- c) 膘情适中，体型相对较大；
- d) 母性好，无恶癖。

### 9.1.2 受体的饲养管理

应符合 5.2 中的相关规定。

## 9.2 受体的同期发情

### 9.2.1 器材和药品

9.2.1.1 受体同期发情所需器材应符合附录A中A.1的相关规定。

9.2.1.2 受体同期发情所需药品应符合附录A中A.2的相关规定。

### 9.2.2 同期发情处理

#### 9.2.2.1 新鲜胚胎

受体宜早于供体一天埋植 CIDR 和撤出 CIDR，撤栓时肌肉注射 PMSG 330 IU。

#### 9.2.2.2 冷冻胚胎

在发情周期任意一天埋植 CIDR，埋栓当天记为第 0 天，在埋栓后第 12 天~14 天撤栓，同时肌肉注射 PMSG 330 IU。

## 9.3 胚胎移植

### 9.3.1 器材和药品

9.3.1.1 胚胎移植所需器材应符合附录A中A.6的相关规定。

9.3.1.2 胚胎移植所需药品应符合附录A中A.7的相关规定。

### 9.3.2 移植时间

#### 9.3.2.1 新鲜胚胎

与供体胚胎采集同一天进行。胚胎鉴定合格后 2 h 内完成移植。

#### 9.3.2.2 冷冻胚胎

受体撤出 CIDR 后第 8 d~9 d 进行。解冻后胚胎应在 10 min 内完成移植。

### 9.3.3 移植要求

挑选单侧卵巢有黄体的受体进行胚胎移植。

### 9.3.4 胚胎要求

9.3.4.1 移植的新鲜胚胎质量应达到B级（含B级）以上。

9.3.4.2 移植的冷冻胚胎质量应为A级。

### 9.3.5 移植方法

#### 9.3.5.1 术前准备

受体手术前 24 h 断水断料，避免应激。

#### 9.3.5.2 胚胎移植操作步骤

胚胎移植操作步骤如下：

a) 符合 7.3.2.1 中的相关规定；

b) 符合 7.3.2.2 中的相关规定；

c) 在乳房前 4 cm、腹中线两侧 10 cm 处用手术刀各切约 1 cm 切口，一侧插入打孔器和内窥镜，另一侧插入宫颈钳，通过内窥镜和宫颈钳相互配合观察左右卵巢上的黄体发育情况；

d) 把卵巢上有黄体一侧子宫角用宫颈钳拉出，在子宫角基部（上 1/3 处）用打孔器打一小孔，用连接有移胚针的 1 mL 注射器把含有胚胎的 0.1 mL~0.2 mL 的保存液注入子宫内；

e) 符合 7.3.2.6 中的相关规定；

f) 左右创口各缝合 1 针，外涂 5%碘酊，同时肌肉注射青霉素 400 IU 或兽用土霉素注射液 5 mL 和黄体酮 1 mL；

g) 移植鹿运回鹿舍，注射解麻药，单独饲养，精心照顾。

### 9.4 妊娠检查

在胚胎移植后 50 d 用超声波仪进行检查，确定母鹿是否怀孕及胚胎发育情况。

### 9.5 记录

胚胎移植和妊娠检查后，应由操作人员填写受体胚胎移植与妊娠检查记录表，见附录 B 中表 B.4。

## 10 证实方法

梅花鹿体内胚胎生产与移植过程中应保留各环节的记录表、照片和影像等。

查验环节的记录表、照片和影像包括：

a) 供体同期发情、超数排卵与人工授精记录表；

b) 胚胎采集与胚胎质量鉴定记录表、照片及影像；

c) 冷冻胚胎生产记录表；

d) 受体胚胎移植与妊娠检查记录表、照片及影像。

**附 录 A**  
**(规范性)**  
**器材、药品及试剂**

**A.1 同期发情、超数排卵与人工授精所需主要器材**

吹管（内径 2 cm、长 135 cm）、吹针（2 mL）、注射器（2 mL、5 mL）、恒温水浴箱、细管剪、输精枪（0.25 mL）、输精枪外套、一次性长臂塑料手套等。

**A.2 同期发情、超数排卵与人工授精所需主要药品**

麻醉药（盐酸赛拉唑）、解麻药（盐酸苯噻唑）、孕酮阴道栓（CIDR）、促卵泡素（FSH）、氯前列烯醇钠（PG）、兽用注射用促黄体素释放激素（LHRH-A3）、生理盐水等。

**A.3 手术法胚胎采集与胚胎质量鉴定所需器材**

吹管、吹针、体视显微镜、腹腔内窥镜、恒温水浴箱、高压灭菌器、恒温板（28 ℃）、保定架（自制）、打孔器、套管针、冲胚管（F16）、注射器（1 mL、2 mL、5 mL、20 mL）、一次性无菌培养皿（Φ90 mm、Φ35 mm）、剃须剪、刮胡刀、手术剪（13 cm）、手术刀、缝合针、缝合线、止血钳、宫颈钳、移胚针、记号笔、乳胶手套、创布、无菌纱布等。

**A.4 手术法胚胎采集与胚胎质量鉴定所需药品及试剂**

麻醉药（盐酸赛拉唑）、解麻药（盐酸苯噻唑）、冲胚液、保存液、冷冻液、0.1%新洁尔灭、75%酒精、生理盐水、5%碘酊、青霉素、链霉素、兽用注射用土霉素、前列腺素（PG）等。

**A.5 胚胎冷冻、保存与解冻所需器材**

体视显微镜、恒温板、胚胎冷冻仪、液氮罐（30 mL）、液氮、细管（0.25 mL）、拇指管（Φ13 mm）、移胚针、注射器（1 mL）、培养皿（Φ35 mm、Φ90 mm）、记号笔、酒精灯、镊子、封口器。

**A.7 胚胎移植与妊娠检查所需主要器材**

吹管、吹针、注射器（1 mL 2 mL）、移胚针、液氮罐、保定架、腹腔内窥镜、镊子、剃须剪、刮胡刀、手术刀、缝合针、缝合线、套管针、宫颈钳、兽用B超仪、乳胶手套等。

**A.8 胚胎移植与妊娠检查所需主要药品**

麻醉药（盐酸赛拉唑）、解麻药（盐酸苯噻唑）、保存液、75%酒精、5%碘酊、黄体酮、青霉素、链霉素、兽用注射用土霉素、0.1%新洁尔灭。

附录 B  
(资料性)

梅花鹿体内胚胎生产与移植记录表

- B.1 供体同期发情、超数排卵与人工授精记录表见表 B.1。
- B.2 胚胎采集与胚胎质量鉴定记录表见表 B.2。
- B.3 冷冻胚胎生产记录表见表 B.3。
- B.4 受体胚胎移植记录表见表 B.4。

表 B.1 供体同期发情、超数排卵与人工授精记录表

同期发情						
阴道栓	剂量		批号		产地	
放栓日期				撤栓日期		
超数排卵						
超排药			批号			
时间		剂量		时间		
第一天	早			第二天	早	
	晚				晚	
第三天	早			第四天	早	
	晚				晚	
促排药	注射时间				剂量	
人工输精						
输精时间		精液号			输精员	

表 B.2 胚胎采集与胚胎质量鉴定记录表

品种		供体号		胎次		采胚日期		采胚时间				
采胚人			检胚人					记录人				
超数排卵	黄体数:		左侧:	右侧:		其他						
胚胎质量评定	可用胚胎							不可用胚胎			未受精	
	总数	等级	EM	M	CM	EB	BL	EXB	总数	2~8细胞		退化
		A										
		B										
		C										
	D											
注: EM-早期桑椹胚; M-桑椹胚; CM-致密桑椹胚; EB-早期囊胚; BL-囊胚; EXB-扩张囊胚												



附录 C  
(资料性)  
主要液体配制

### C.1 冲胚液

C.1.1 磷酸盐缓冲液 (PBS)，配方见表 C.1。

C.1.2 使用时宜在 PBS 液中添加一定量的青霉素和链霉素。

C.1.3 使用时应在 PBS 液中添加 1% (V/V) 犊牛血清或胎牛血清，或 0.04% BSA (m/V)。

### C.2 保存液

10% (V/V) 胎牛血清或 0.4% BSA (m/V) 的 PBS 液。

### C.3 冷冻液

1.5 mol/L 乙二醇的保存液 (含 0.1 mol/L 蔗糖)。

表 C.1 PBS 配方

成分	含量
NaCl	8.00 g/L
KCl	0.20 g/L
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·12H <sub>2</sub> O)	1.50 g/L (2.916 g/L)
Ca <sub>2</sub> Cl (Ca <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O)	0.10 g/L (0.132 g/L)
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.20 g/L
MgCl <sub>2</sub> (MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O)	0.10 g/L (0.2133 g/L)
丙酮酸钠	0.036 g/L
葡萄糖 (葡萄糖·H <sub>2</sub> O)	1.00 g/L (1.10 g/L)
青霉素	100 000 U (0.075 g) /L
链霉素	50 000 U (0.005 g) /L

注 1: 配制 PBS 的所用药品为分析纯以上。  
 注 2: 配制 PBS 所用水按照 GB/T 6682 的三级水规定执行。  
 注 3: 配制成的 PBS PH 为 7.2~7.6, 渗透压为 270 mOsm~290 mOsm。  
 注 4: 配制成的 PBS 高压灭菌后低温冷藏 (4 °C~5 °C), 现用现配。  
 注 5: 使用进口成品 PBS 粉, 按照产品使用说明书在有效期内使用。

附录 D

(资料性)

胚胎细管与拇指管标识

D.1 胚胎细管标识

D.1.1 胚胎细管应标识细管号、胚胎数量、胚胎发育期、胚胎等级、供体品种、供体号、公鹿品种、公鹿号、生产日期和生产单位。

D.1.2 胚胎细管标识可用记号笔或喷码机在细管表面标注或打印，示例见图 D.1。



图 D.1 胚胎细管标识示例

D.2 拇指管标识

D.2.1 贮存冷冻胚胎细管的拇指管应标识供体号、公鹿号、细管数量、生产日期、生产单位。

D.2.2 拇指管标识可用记号毛在拇指管表面标注，示例见图D.2。



图 D.2 拇指管标识示例