

农业农村部种业管理司

农种畜函〔2019〕14号

农业农村部种业管理司关于印发《国家级地方猪遗传材料采集保存工作实施方案》的通知

各省、自治区、直辖市农业农村(农牧)、畜牧兽医厅(委、局),新疆生产建设兵团农业农村局、黑龙江省农垦总局,各有关单位:

为贯彻落实《乡村振兴战略规划(2018-2022年)》《全国畜禽遗传资源保护和利用“十三五”规划》,切实加强我国地方猪遗传资源保护,有效应对非洲猪瘟疫情的严重威胁,农业农村部种业管理司决定开展国家级地方猪遗传材料采集保存工作。现将《国家级地方猪遗传材料采集保存工作实施方案》印发你们,请按照方案要求,认真抓好相关任务措施落实。如有不可抗力等有关情况,及时向我司畜禽种业处、全国畜牧总站反馈。

联系人及电话：

种业管理司畜禽种业处 周晓鹏 010-59193287

全国畜牧总站畜禽资源处 张桂香 010-59194625



国家级地方猪遗传材料采集保存工作实施方案

为贯彻落实《乡村振兴战略规划(2018-2022年)》《全国畜禽遗传资源保护和利用“十三五”规划》,有效应对非洲猪瘟疫情对地方猪遗传资源的严重威胁,加快国家级地方猪品种遗传材料采集和保存,提高地方猪遗传资源保护能力,维护地方猪遗传资源的系统性和完整性,制定本方案。

一、目的意义

我国地方猪遗传资源具有抗逆性强、耐粗饲、繁殖率高、肉质优良等特性,利用地方猪遗传材料开展育种工作,有利于提高生猪种业竞争力,发展特色畜牧业,满足城乡居民多样化、高品质消费需求。当前非洲猪瘟防控形势复杂严峻,对地方猪遗传资源安全造成重大威胁。采用超低温冷冻技术,采集保存我国地方猪品种的DNA、精液、体细胞及肠道菌群等遗传材料,是应对非洲猪瘟疫

情威胁,丰富地方猪品种保护手段,完善家畜遗传资源保种体系,推动生猪种业健康可持续发展的重要途径。

二、主要任务

(一)采集制作遗传材料

采集制作 61 个国家级保种场、保护区内国家级地方猪精液、体细胞等遗传材料(见附件 1)。每个地方猪品种收集不少于 120 份耳组织样(>2 克/份);每个品种制作冷冻精液不少于 15000 剂(0.25mL 细管)或者 7500 剂(0.5mL 细管);每个品种制作体细胞系不少于 222 份(每份 1mL);每个品种收集不少于 120 份健康后备猪新鲜粪便样品。

(二)构建国家级地方猪遗传材料信息数据库

在采集遗传材料的同时,收集供体出生日期、三代以内系谱信息、性能测定等表型记录数据,构建国家级地方猪遗传材料信息数据库。

三、任务分工

(一)全国畜牧总站。具体组织项目实施,制定遗传材料采集制作和验收标准,在江西农业大学、云南农业大学等单位协助下开

展技术培训,进行督导检查与验收,集中保存遗传材料,收集汇总记录档案。指导中国农业大学构建采集遗传材料信息数据库,做好数据库运行和维护等工作。

(二)保种场(保护区)。协助开展遗传材料采集和制作,以及病毒、细菌检测等工作,协助提供供体三代以内系谱(需签字盖章)、生产性能测定等数据以及正面、侧面数码照片各1张。

(三)遗传材料制作单位。江西农业大学、云南农业大学等遗传材料采集制作单位,与全国畜牧总站签订安全和保密承诺书,采集制作遗传材料并开展病毒、细菌等检测(见附件2、3),提供检测报告或者相关证明材料,填报相关数据(见附件4、5、6、7),按期将制作产品运送至国家级家畜基因库保存。

江西农业大学猪遗传改良与养殖技术国家重点实验室和云南农业大学协助全国畜牧总站制定遗传材料采集技术规范,进行技术指导,备份采集的遗传材料,定期向全国畜牧总站书面汇报工作进展。

四、进度安排

1月至6月中旬:制定实施方案,明确参与遗传材料采集单位

的任务,与有关单位签订购买服务合同。

6月下旬:举办国家级地方猪遗传材料采集制作培训班,全面启动相关工作。

6月下旬至12月:开展遗传材料采集制作及入库保存工作。对各制作单位收集制作遗传材料进行质量抽查。

12月底:各遗传材料制作单位提交项目执行情况等总结报告。

五、保障措施

(一)加强组织领导。农业农村部种业管理司负责总体统筹协调,省级农业农村主管部门积极协调配合本辖区内工作。全国畜牧总站牵头组织实施,省级畜牧技术推广机构、遗传材料制作单位以及国家级地方猪保种场(保护区)、地县农业农村部门、各级种业管理系统等通力协作、密切配合,确保高效完成工作。

(二)规范开展工作。加强对制作单位和保种场(保护区)的培训指导,强化项目参与人员、遗传材料、数据信息等管理,保证遗传材料质量与生物安全。明确所收集遗传材料的所有权、使用权等,相关专项成果等按照国家法律法规及相关规定实现共享。

(三)严格经费使用管理。承担单位应加强项目经费管理,建立健全内审机制,专款专用,明确经费预算、使用范围,严格按照预算支出。项目组织实施单位会同地方主管部门,定期不定期对项目单位的资金使用情况、执行进度等进行督导,保障项目规范有序实施。

附件: 1. 任务分工表

2. 国家级地方猪遗传材料制作及质量检测方案

3. 疫病检测清单

4. 遗传材料采集供体登记表

5. 精液采集和制作记录表

6. 体细胞制作记录表

7. 国家级家畜基因库样品采集记录表

任务分工表

序号	承担单位	品种 (类群)	保种场 (区)
1	山西农业大学	马身猪	山西省大同市种猪场
2	东北农业大学	民猪*	黑龙江省兰西县种猪场
3	辽宁绒山羊原种场有限公司	民猪*	辽宁省家禽遗传资源保存利用中心荷包猪保种场
4	上海农业科学院	浦东白猪	上海浦东汇浦东白猪繁育有限公司
		沙乌头猪*	上海崇明县种畜场
		梅山猪*	上海市嘉定区梅山猪育种中心
5	南京农业大学	二花脸猪*	常熟市牧工商总公司
		二花脸猪*	常州市武进区农业局
		二花脸猪*	苏州苏太企业有限公司
6	江苏农林职业技术学院	梅山猪*	江苏省苏州苏太企业有限公司
		梅山猪*	昆山市梅山猪保种有限公司
		梅山猪*	太仓市种猪场
		梅山猪*	江苏农林职业技术学院

序号	承担单位	品种（类群）	保种场（区）
7	扬州大学	米猪	金坛米猪原种场
		沙乌头猪*	江苏兴旺农牧科技发展有限公司
		淮猪*	江苏东海老淮猪产业发展有限公司
8	浙江大学	金华猪	浙江加华种猪有限公司
		嵊县花猪	绍兴市嵊花种猪有限公司
		嘉兴黑猪	嘉兴青莲黑猪原种场有限公司
9	安徽农业大学	安庆六白猪	安徽省安庆市望江县良种养殖有限公司安庆六白
		淮猪*	安徽省定远县种畜场
		皖南黑猪	安徽省宣城市
10	江西农业大学	玉江猪	江西省玉山黑猪原种场
		乐平猪	江西省东乡县欣荣农牧发展有限公司
		华中两头乌 (赣西两头乌猪)	萍乡市赣西两头乌养殖有限公司
11	青岛农业大学	莱芜猪	莱芜市莱芜猪原种场
		里岔黑猪	青岛里岔黑猪繁育基地
		大蒲莲猪	济宁东三大蒲莲猪原种场
12	河南农业大学	淮猪*	河南三高农牧股份有限公司
13	华中农业大学	华中两头乌 (通城猪)	湖北省通城县种畜场
		华中两头乌 (监利猪)	湖北荆贡种猪有限公司
		清平猪	湖北省当阳市清平种猪场

序号	承担单位	品种 (类群)	保种场 (区)
14	湖南光大牧业科技有限公司	华中两头乌 (沙子岭猪)	湖南省湘潭市家畜育种站
		湘西黑猪*	湖南省桃源县湘西黑猪(桃源黑猪)资源场
		湘西黑猪*	湖南湘西牧业有限公司
15	湖南农业大学	宁乡猪	湖南省宁乡县畜牧水产局(保护区)
		宁乡猪	湖南宁乡猪原种场
16	华南农业大学	大围子猪	湖南天府生态农业有限公司
		粤东黑猪*	潮州市绿岛生态农业有限公司
		粤东黑猪*	蕉岭县泰农黑猪发展有限公司
		两广小花猪 (广东小耳花猪)	广东壹号食品股份有限公司
		大花白猪	国家级大花白猪/蓝塘猪保种场
17	中山大学	蓝塘猪	新丰板岭原种猪场
		槐猪	上杭绿琦槐猪保种场
18	福建农林大学	莆田黑猪	莆田市乡里香黑猪开发有限公司
19	北京农学院	五指山猪*	中国农业科学院北京畜牧兽医研究所
20	海南源太奇农牧业有限公司	五指山猪*	海南省农业科学院畜牧兽医研究所
		海南猪 (屯昌猪)	海南龙健畜牧开发有限公司

序号	承担单位	品种 (类群)	保种场 (区)
21	广西科达畜禽改良有限责任公司	两广小花猪 (陆川猪)*	广西陆川县良种猪场
		香猪*	广西环江香猪原种保种场
		巴马香猪	广西巴马香猪原种场
22	四川农业大学	内江猪	四川省内江市种猪场
		藏猪*	四川省甘孜藏族自治州乡城县(保护区)
23	贵阳绿生源畜牧科技发	香猪*	贵州省从江香猪原种繁育场
24	云南农业大学	滇南小耳猪	云南省西双版纳州种猪场
		撒坝猪	云南省楚雄州种猪场
25	云南省种畜繁育推广中心	大河猪	云南省富源县大河种猪场
		藏猪*	西藏林芝市工布江达县(保护区)
		藏猪*	云南迪庆州(保护区)
26	西北农林科技大学	汉江黑猪	陕西省勉县黑河猪种猪场
		八眉猪*	陕西省定边县种猪场
27	甘肃农业大学	八眉猪*	甘肃省灵台县八眉猪种质资源保护场
		藏猪*	甘肃甘南(新审定保护区)
28	青海正雅畜牧良种科技	八眉猪*	青海省互助八眉猪原种繁育场

备注: 1.具体任务可根据工作需要适当调整。

2.*表示该品种包括两个或者两个以上保护场(区)。

附件 2

国家级地方猪遗传材料制作及质量检测方案

一、精液冷冻保存

(一) 数量要求

每个保种场（保护区）的每个品种保存冷冻精液不少于 15000 剂（0.25mL 细管）或 7500 剂（0.5mL 细管），公猪不少于 6 头，涵盖所有家系，每个个体保存冷冻精液不少于 800 剂（0.25mL）或 400 剂（0.5mL）。

(二) 供体要求

符合品种特性、特征；三代以内无血缘关系，系谱清楚；健康、必检疾病为阴性。

(三) 细管标记及包装

应在细管上标明保种场（保护区）建设单位代码、品种代码、供体号和生产日期。保种场（保护区）建设单位代码用汉语拼音大写首字母表示，品种代码为该品种汉字的汉语拼音大写首字母，生产日期按年月日次序排列，年月日各占二位数字，年度的后两位数组成年年的二位数，月、日不够二位的，月、日前分别加“0”补充为二位数。

细管标记示例：



棉塞封口端

封口端

CQXK 为重庆畜牧科学院代码，RCZ 为荣昌猪的品种代码，11003

为该公猪号，120525 为 2012 年 5 月 25 日的生产日期。

细管装入指形管，指形管上标记供体猪号、冷冻精液数量及生产日期。再用灭菌纱布袋将装有冷冻精液的指形管包装起来，一个灭菌纱布袋装一头猪的冷冻精液，并有标签附在纱布袋上，放入液氮中保存。纱布袋标签要求标记如下内容：袋号、品种、供体猪号、冷冻精液数量、解冻后精子的活力。

(四) 质量检测

1. 抽样数量及要求

抽取总样本量的 2% 进行质量检测，检测合格率要求达到 80% 以上。

2. 指标

(1) 0.25mL 剂型冷冻精液

每支剂量 $\geq 0.18\text{mL}$ ；活力 $\geq 30\%$ ；精子畸形率 $\leq 20\%$ ；每支前进运动精子数 $\geq 2.5 \times 10^7$ ；每支细菌菌落数 ≤ 800 个。

(2) 0.5mL 剂型冷冻精液

每支剂量 $\geq 0.40\text{mL}$ ；活力 $\geq 30\%$ ；精子畸形率 $\leq 20\%$ ；每支前进运动精子数 $\geq 5.0 \times 10^7$ ；每支细菌菌落数 ≤ 1600 个。

二、体细胞冷冻保存

(一) 数量要求

每个保种场（保护区）的每个品种公猪不少于 12 头，涵盖所有家系；母猪不少于 25 头，每个个体体外培养原代或第 1 代细胞 6 管，每管 1mL，用 1.5mL 或 2.0mL 冻存管包装，细胞密度为 $1 \times 10^5/\text{mL}$ 以上。

(二) 供体要求

符合品种特性、特征；三代以内无血缘关系，系谱清楚；健康、必检疾病为阴性。

(三) 冷冻管标记及包装

冻存管上标记编号、品种汉语名称或代码，细胞名称或代码、性别、培养代数、冻存日期。用灭菌纱布袋将冻存管包装起来，一个灭菌纱布袋装 2-3 头猪的冻存管，并有标签附在纱布袋上，放入液氮中保存。纱布袋标签标记品种、供体猪号、冻存管数量。

(四) 质量检测

1. 抽样数量。抽取总样本量的 4% 进行质量检测，检测合格率要求达到 70% 以上。

2. 指标。细胞密度不低于 1×10^5 个/mL；细胞活力 80% 以上；支原体检测为阴性。

三、耳组织及基因组 DNA 样冷冻保存

每个保种场（保护区）每个品种采样数量 40 头（对所有公猪家系全部进行采样，繁殖公猪、繁殖母猪各 1 头，以及后备公猪和后备母猪各 1 头，且后备猪避免全同胞关系）。每个品种每个个体采集 3 份耳样，每份耳组织样不少于 2 克（用 2 ml 冻存管保存），冻存管上详细标注品种、耳号、性别、采样日期、场地等关键信息。耳样采集后立即置于液氮中保存。

四、肠道菌群冷冻保存

(一) 数量要求

每个保种场（保护区）每个品种公猪不少于 10 头，母猪不少于

50 头，每头猪采集粪便样本 2 份（每份 2 克）。

（二）供体要求

60 日龄后备猪，符合品种特性、特征；三代以内无血缘关系，系谱清楚；近一个月没有使用抗生素、食欲正常、体重达该品种 60 日龄阶段标准。

（三）冻存管标记及包装

冻存管上标记编号、品种汉语名称、性别、采样日龄、采样日期。

（四）采样要求和方法

1. 采样要求

（1）每头猪采集新鲜粪便样本 2 份（每份 2 克），其中一份用 2.0 mL 冻存管包装后立即投入液氮或 -80°C 保存，另一份用 5.0 mL 冻存管取 1 克新鲜粪便置于 3.0 mL 含 20% 甘油和 5% 蔗糖的保护液中，液氮或 -80°C 保存。

（2）采样用冻存管要求无菌，配置的含 20% 甘油和 5% 蔗糖的保护液无菌。

（3）从肛门采集新鲜粪便样品，采样时每头猪要更换新的手套，防止交叉污染。

2. 粪便样品采集和保存方法

（1）采样前准备。① 2 mL 和 5 mL 冻存管高压灭菌（或直接购买无菌冻存管）；② 配置 75% 乙醇；③ 冷冻保护液配置：以配置 100 mL 保护液为例：无菌生理盐水中加入 20 mL 甘油和 5g 蔗糖，混匀、定容到 100 mL。④ 液氮或干冰；⑤ 其它耗材：一次性手套、纸巾等。

(2) 样品采集。①固定采样猪，用纸巾和 75%乙醇擦洗肛门；②换上一次性手套，从肛门采集粪便样品；③从采集的粪便团块中，取中间部分粪便 2 克装入 2 mL 冻存管，擦拭干净冻存管，在管壁标记耳号、性别、采样如期和年龄，立即投入液氮中；④另取中间部分粪便 1 克装入放有 3 mL 保护液的冻存管中，混匀，在管壁标记耳号、性别、采样如期和年龄，投入液氮中。⑤在液氮中保存，或送至实验室后转移到-80℃。⑥样品运输邮寄可用干冰。

附件 3

疫病检测清单

序号	检测项目	检测方法	检测依据
1	非洲猪瘟病毒	荧光 PCR	T/CVMA 5-2018 非洲猪瘟病毒实时荧光 PCR 检测方法
2	猪瘟病毒	荧光 RT-PCR	GB/T 27540-2011 猪瘟病毒实时荧光 RT-PCR 检测方法/陆生动物诊断试验和疫苗手册 2014 年 2.8.3 猪瘟
3	猪繁殖与呼吸综合征病毒	荧光 RT-PCR	GB/T 35912-2018 猪繁殖与呼吸综合征病毒荧光 RT-PCR 检测方法/陆生动物诊断试验和疫苗手册 2014 年 2.8.6 猪繁殖与呼吸综合征
4	猪口蹄疫病毒	荧光 RT-PCR	GB/T 27528-2011 口蹄疫病毒实时荧光 RT-PCR 检测方法
5	猪伪狂犬病毒	ELISA	GB/T 18641-2002 伪狂犬病诊断技术或者 NY/SY 153-2000 猪伪狂犬病诊断技术规范
6	猪圆环病毒	荧光 PCR	GB/T 35901-2018 猪圆环病毒 2 型荧光 PCR 检测方法
7	猪细小病毒	荧光 PCR	NY/T 2840-2015 猪细小病毒间接 ELISA 抗体检测方法
8	日本乙型脑炎病毒	荧光 PCR	GB_T 22333-2008 日本乙型脑炎病毒反转录聚合酶链反应试验方法
9	猪流感病毒	RT-PCR 检测方法	GB/T 27521-2011 猪流感病毒核酸 RT-PCR 检测方法

10	流行性腹泻病毒	RT-PCR 检测方法	GB/T 34757-2017 猪流行性腹泻病毒 RT-PCR 检测方法
11	猪链球菌	荧光 PCR 检测方法	GB/T 19915.7-2005 猪链球菌 2 型荧光 PCR 检测方法
12	布鲁氏菌抗体	虎红平板凝集试验、 试管凝集试验	GB/T 18646-2018 动物布鲁氏菌病诊断技术
13	猪瘟病毒抗体	ELISA	GB/T 35906-2018 猪瘟抗体间接 ELISA 检测方法
14	猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体	ELISA	GB/T 18090-2008 猪繁殖与呼吸综合征诊断方法
15	口蹄疫病毒抗体 (O 型)	ELISA	GB/T 18935-2003 口蹄疫诊断技术规程/陆生动物诊断试验和疫苗手册 2012 年 2.1.8 口蹄疫
16	口蹄疫病毒抗体 (A 型)	ELISA	GB/T 18935-2003 口蹄疫诊断技术规程/陆生动物诊断试验和疫苗手册 2012 年 2.1.8 口蹄疫
17	圆环病毒抗体	ELISA	GB/T 35910-2018 猪圆环病毒 2 型阻断 ELISA 抗体检测方法

备注：1-5 为必检测项目，6-17 为选测项目。

附件 4

遗传材料采集供体登记表

保种场（区）：

时间：

年 月 一 年

共

页

第

页

序号	耳号	性别	出生日期 /年龄	保种场（区）	来源	亲缘关系	备注
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							

有系谱者不用填写，来源：填写省（市）、县、乡、村；亲缘关系：填写与收集了遗传物质的其他个体的亲缘关系，如和“XXX”“父子”或“同父”“同母”...有亲缘关系但不清楚的填写“有”，没有亲缘关系的填写“无”，亲缘关系不清楚填写“不清楚”。

全国畜牧总站国家家畜基因库制

精液采集和制作记录表

保种场（区）名称：

品种：

共 页 第 页

日期	耳号	每次射精量 (mL)		总采精量 (ml)	精液颜色	原精活力	原精度 (每 ml)	采精人	稀释量	稀释后活率	平衡时间	平衡后活率	冷冻时间	冷冻后活率	冷冻数量	袋号	冷冻人	
		一次	二次															

附件 6

体细胞制作记录表

保种场（区）名称：

品种：

共 页 第 页

序号	样品号	耳号	性别	冷冻日期	培养代数	数量(份)	密度亿/mL	制作人	备注
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									
14									
15									
16									
17									
18									
19									
20									

全国畜牧总站国家家畜基因库制

国家家畜基因库

样品采集记录表

品种名称:

保种场 (区):

采样量:

采样人员:

采样时间:

序号	采样编号	耳号	类别	样品类型	家系编号	备注
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						
22						
23						
24						
25						

注：1. 采样编号：品种代码（三位）和顺序号（二位），其中品种代码为该品种汉字的汉语拼音大写首字母，顺序号不足位数用“0”补齐。

2. 类别：指能繁母猪、种公猪、后备公猪或后备母猪。

3. 样品类型：指耳组织或血液。