



贵州省农业农村厅办公室文件

黔农办发〔2019〕131号

省农业农村厅办公室关于印发《贵州省从江香猪遗传材料采集保存工作实施方案》的通知

黔东南州、从江县农业农村局，各有关单位：

为贯彻落实《全国畜牧遗传资源保护和利用“十三五”规划》，有效应对非洲猪瘟疫情的严重威胁，切实保护从江香猪遗传资源，根据《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》要求，结合我省实际，我厅组织编制了《贵州省从江香猪遗传材料采集保存工作实施方案》，现印发你们，请严格按照本方案抓紧组织实施，务必按时保质保量完成工作任务。

附件：贵州省从江香猪遗传材料采集保存工作实施方案



(此件公开发布)

贵州省农业农村厅办公室

2019年7月26日印发

共印10份

附件

贵州省从江香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）》《全国畜牧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

从江香猪作为我省优良畜禽之一，具有抗逆性强、耐粗饲、繁殖率高、肉质优良等特性，利用从江香猪遗传材料开展育种工作，有利于提高我省生猪种业竞争力，发展特色畜牧业，满足城乡居民多样化、高品质消费需求。目前我省基础研究比较薄弱，与应用研究脱节问题还很突出；缺原创性品种，种质资源收集保护力度不够、自主创新的基础不牢。同时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，采集保存从江香猪品种的组织、血液、DNA、精液及体细胞等遗传材料，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

采集制作从江香猪的精液、耳组织、体细胞、肠道微生物菌群等遗传材料。总任务为：收集不少于 240 份耳组织样（>2 克/份）；制作冷冻精液不少于 15000 剂（0.5mL 细管）；每个品种制作体细胞系不少于 480 份（每份 1mL），肠道微生物菌群不少于 240 份（>2 克/份）。

（二）构建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、性能测定数据、外貌鉴定照片等相关信息，构建国家级地方猪遗传材料信息数据库。

三、实施细则

（一）供体的选择

在从江香猪保种场中，选择 180 头从江香猪作为遗传材料采集供体，其中公猪 30 头，母猪 150 头。供体选择要求：首先需对供体的体型外貌进行鉴定（鉴定依据为中国畜禽遗传资源志中从江香猪的体型外貌特征），其次需确定供体的三代系谱。同时，需对供体进行相关疾病的检测。以上指标均合格即为合格供体。

（二）公猪的营养、调教及部分遗传样本的采集

在确定合格健康的供体后，需对公猪供体提高饲喂的营养和人工采精的调教公猪。同时，可对整个供体群体开展耳组织、

体细胞、肠道微生物等遗传材料的采集。

（三）精液遗传材料的采集及冷冻精液的制作

对调教合格的公猪进行人工采精，并立即开展冷冻精液的制作和保存。

（四）完善相关资料

在遗传材料采集完成后，按照全国畜牧总站的要求，填写完善所有遗传材料的资料，并备份存档到种畜禽种质测定中心。

四、任务分工

（一）省农业农村厅种业管理处。牵头组织项目实施，在种畜禽种质测定中心等单位协助下开展技术培训，进行督导检查与验收，指导种畜禽种质测定中心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）种畜禽种质测定中心。为遗传材料采集制作保存单位，负责具体安排实施从江香猪遗传材料的采集工作。填报相关数据，按期保量的完成工作。

（三）贵州省畜牧兽医研究所。商请协助种畜禽种质测定中心开展遗传材料采集和制作，参与合格供体的选择、相关遗传材料采集工作。

（四）从江县农业农村局。完成遗传材料采集制作单位与保种场的对接工作。确定从江香猪遗传材料供体的地点，保障协调保种场提供合格供体的数量，选派相关技术人员完成公猪的调教以及对供体进行相关疾病检测的送检工作等。

（五）从江香猪保种场。确保从江香猪供体的营养以及健康，协助遗传材料采集单位完成采样过程中的协助保定、收集供体三代以内系谱（需签字盖章）、生产性能测定数据以及正面、侧面照片各 1 张等工作。

（六）贵阳绿生源畜牧科技发展有限公司。协助种畜禽种质测定中心开展遗传材料采集和制作，参与合格供体的选择、相关遗传材料采集工作以及相关遗传资料的信息整理。

五、进度安排

2019 年 7 月 15 日—2019 年 7 月 25 日：由省农业农村厅种业管理处安排，种畜禽种质测定中心制定实施方案，明确参与遗传材料采集单位的任务。

2019 年 7 月 26 日—2019 年 7 月 30 日：从江县农业农村局、从江香猪保种场确定采样地点以及供体的初筛准备工作。

2019 年 8 月 1 日—2019 年 8 月 20 日：由种畜禽种质测定中心、贵阳绿生源畜牧科技发展有限公司、贵州省畜牧兽医研究所等单位完成从江香猪供体的确认工作，同时须有从江县农业农村局提供供体相关疾病检测的资质报告。

2019 年 8 月 21 日—2019 年 9 月 5 日：由种畜禽种质测定中心组织参与工作相关人员进行专业培训工作，并组织参与单位完成从江香猪耳组织、肠道微生物的采集及部分体细胞采集培养工作。

2019 年 9 月 6 日—2019 年 10 月 6 日：由从江县农业农村局

局和从江香猪保种场完成公猪营养饲喂和调教工作。

2019年10月7日—2019年10月31日：由种畜禽种质测定中心组织参与单位的相关人员完成从江香猪精液的收取和冷冻精液的制作。

2019年11月1日—2019年11月30日：开展遗传材料采集制作及入库保存工作，对收集制作的遗传材料进行质量抽查。

2019年12月1日—2019年12月20日：提交项目执行情况等总结报告。

六、保障措施

（一）加强组织领导。省农业农村厅种业管理处负责总体统筹监督协调，从江县农业农村主管部门积极协调配合本工作。省种畜禽种质测定中心牵头组织实施，贵阳绿生源畜牧科技发展有限公司、省畜牧兽医研究所、从江香猪保种场等通力协作、密切配合，确保高效完成工作。

（二）规范开展工作。由省种畜禽种质测定中心加强对县农业农村局和保种场的遗传材料采集培训指导，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。

（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。

七、参与人员

省农业农村厅种业管理处施文娟、余廷海，负责统筹监督协调；省种畜禽种质测定中心毛世明、陈光侯、周迪、龙清孟、李俊、陈大芳、李明勇、李平，负责完成所有遗传材料的采集制作工作；省畜牧兽医研究所史开志、赵春萍、张雄、杜春林，配合完成遗传材料采集制作；从江县农业农村局韦建灵、陈正林、杨廷模，负责提供健康合格供体等工作；贵阳绿生源畜牧科技发展有限公司张勇、郭勇、黄明捷，配合完成遗传材料采集制作。

- 附件：1. 贵州省香猪遗传材料制作及质量检查方案
2. 疫病检测清单
3. 遗传材料采集供体登记表
4. 精液采集和制作登记表
5. 体细胞制作记录表
6. 贵州省家畜基因库样品采集记录表

附件 1

香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)的每个品种保存冻精不少于 15000 剂(0.5mL 细管), 公猪不少于 10 头, 涵盖所有家系, 每个个体保存冻精液不少于 800 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, 年与日各占二位数字, 年度的后两位数组成年度的二位数, 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

■ GZXQ XZ 11003 120525 ■

棉塞封口端 封口端

GZXQ 为贵州省种畜禽种质测定中心代码, XZ 为香猪的品种代码, 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，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）0.5mL 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一代细胞 5 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。冷冻管上标记编号、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 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

每个保种场每个品种采样数量 40 头（对于有公猪家系全部进行采样，繁殖公猪、繁殖母猪各一头，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，每份耳样不少于 2 克（用 2ml 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 6 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、采样年龄、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 6 份（每份 2 克），其中 3 份用 2.0mL 冻存管包装后立即投入液氮或 -80°C 保存，另 3 份用 5.0mL 冻存管取 1 克新鲜粪便置于 3.0mL 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。①2mL 和 5mL 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 100mL 保护液为例：无菌生理盐水中加入 20mL 甘油和 5g 蔗糖，混匀、定容到 100mL。④液氮和干冰；⑤其他耗材：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 2mL 冻存管，擦拭干净冻存管，在管壁标记耳号、性别、采样日期和年龄，立即投入液氮中；④另取中间部分粪便 1 克装入放有 3mL 保护液的冻存管中，混匀，在管壁标记耳号、性别、采样日期和年龄，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 2

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 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 PCR 检测方法
5	猪伪狂犬病毒	ELISA	GB/T 18641-2002 伪狂犬病毒诊断技术或者 NY/SY153-2000 猪伪狂犬病毒诊断技术规范
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 22333-2018 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 18090-2018 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 口蹄疫诊断技术规范//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 口蹄疫诊断技术规范//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 3

遗传材料采集供体登记表

保种场(区):			时间: 年 月- 年 月		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							

备注: 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”。

贵州省种畜禽种质测定中心畜禽基因库制

附件 5

体细胞制作记录表

保种场(区)名称:

品种:

共 页, 第 页

[illegible]

贵州省种畜禽种质测定中心畜禽基因库制

附件 6

贵州省种畜禽种质测定中心畜禽基因库

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。