
第九章

非洲猪瘟与猪遗传物质生物技术保种

生物技术保种是利用超低温冷冻技术保存畜禽胚胎、精液、卵子、体细胞、DNA、组织等遗传材料的保种方法。生物技术保种是一种安全、高效的保种策略。自从非洲猪瘟在我国暴发以来，相关部门已经采取有效措施进行防控，但是猪遗传资源仍然面临着严重威胁。因此，利用生物技术对我国优良种猪遗传物质保种，对生猪产业发展意义重大，对于种猪育种场有必要应用现代生物技术保存场内的优良遗传资源，以备未来克隆恢复，尤其是濒危地方猪遗传资源，进行抢救性保存迫在眉睫。生物技术保存遗传资源主要包括以下 4 个层面，即配子冷冻保存（冷冻精液保存、卵母细胞）、冷冻胚胎、体细胞库建立、DNA 组织样及基因文库保存。



第一节 生物技术与猪遗传物质保种意义

一、建立资源战略储备，保障国家种业安全，推进种业强国建设及畜牧业供给侧改革

种业是农业核心竞争力的主要体现，“种业强，农业强”。我国是世界公认的畜禽种质资源大国，但不是强国。畜禽种质资源是人类社会可持续发展的物质基础。多年来种质资源的收集保存成为世界关注的焦点。无论是美国、英国、法国等发达国家，还是乌干达、马拉维、突尼斯等发展中国家都建立了自己的资源库。美国国家动物种质资源库（NAGP）是目前世界最大的畜禽种质资源库，至今已保存 149 个品种，107 万份遗传材料。我国国家级家畜基因库从 1992 年建设至今，已经保存了 104 个家畜品种，67 万份遗传材料。

我国是世界上猪遗传资源丰富的国家之一，有丰富的猪遗传资源，主要以产仔数多，肉品质优良，适应性好等优良特性著称于世，成为世界猪育种的优秀素材。如英国 PIC 公司在商业化瘦肉型猪选育体系中导入我国梅山猪的高繁殖性能基因后，培育出的大白猪品种享誉全球。但最近二十几年来，由于为满足人民对猪肉的需求，为了畜牧业上得到更高的效益而造成饲养品种趋于单一化，大约克夏猪、长白猪和杜洛克猪（简称杜长大），以及它们的二元杂交、三元杂交后代，几乎占据了我国所有的生猪市场。对于地方猪品种而言，受外来高产品种强烈冲击，生态环境的破坏以及人为的过度利用等诸多因素影响，我国地方猪品种数量逐渐减少和消失的问题日渐突出。

生猪养殖与非洲猪瘟生物安全防控技术

根据第二次全国畜禽遗传资源调查显示，中国特有的 88 种地方猪种里，大约 85% 地方猪种的存栏数量急剧下降，其中 31 个品种处于濒危状态和濒临灭绝。在这次为期 5 年的调查中，有横泾猪等 8 个地方猪种未发现，顶城猪等 4 个品种已灭绝。而地方品种是我国养猪业实现供给侧改革的基础。消费者需求正在转变，地方特色畜产品开发将持续受到关注。目前，我国蛋类人均占有量超过发达国家水平，肉类人均占有量超过世界平均水平。随着人们生活水平的提高，对畜禽产品的需求也将“多元化”，由吃饱到吃好、吃好到特色转变。地方畜禽品种的开发将受到越来越多的关注，可能成为下一轮的投资热点。而我国畜禽地方品种开发利用还有很大的空间，目前，我国商品猪生产中地方品种猪仍占不到总量的 10%。

二、解决活体保种成本高、保种效果不一致问题

我国每年从国外引进原种猪 1 万头，总是在延续“引种 - 退化 - 引种”恶性循环。尤其我国地方种公猪不能有效利用，导致保种群近交退化严重。在全国地方猪中，拥有 15 个左右公猪血统的品种已为数不多了，大多数品种可能已少于甚至远低于 15 个公猪血统。对于公猪血统数量的问题，可采用彭中镇教授提出的建议，根据数量遗传学原理，世代间隔为 3 年，实行各家系等数留种方式，应保 31 个公猪血统才能达到 50 年内平均近交系数仅为 5% 的目标；15 个公猪血统的情况下，50 年内该品种保种群体的平均近交系数可能会达到 9.94%。保存冷冻精液和体细胞可以解决这一问题。



三、有效应对非洲猪瘟疫情，减少地方猪遗传资源损失

当前我国非洲猪瘟疫情防控形势仍然十分严峻。在当前缺乏安全有效疫苗防制的形势下，猪场一旦发生非洲猪瘟疫情只能进行全群扑杀、隔离和封锁，对生猪产业造成损失极其严重，特别是对于国家生猪核心育种场、地方猪资源保种场、种公猪站以及其他养殖场，一旦感染非洲猪瘟疫情，极其可能导致群体灭绝，永久失去宝贵种质资源，损失不可估量。因此，面对非洲猪瘟的严峻形势，在做好生物安全措施的基础上，同步利用生物保种策略保存我国种猪资源精液细胞、组织等遗传材料，将是未来值得考虑的发展方向，作为活体保护的重要补充方式，对于应对非洲猪瘟疫情威胁，降低种猪资源灭绝风险具有重要现实意义和长远战略意义。

四、冷冻精液产品对于种猪遗传物质远程交换流通、育种的安全性十分重要

具有生物安全程度高、保存时间长、制作成本低等特点，还可以延长猪精液的保存期限，降低引种及饲养成本，提高优秀种公猪的利用率，破解鲜精制约性瓶颈，防止疫病传播，从质量上能够保障生猪生产对生物安全的需求。

第 二 节 生物技术保种方案

一、冷冻保存精液

在当前非洲猪瘟严峻形势下，推广应用猪冷冻精液是濒

生猪养殖与非洲猪瘟生物安全防控技术

危地方猪遗传资源保种的主要捷径，并能快速保存优秀种公猪遗传物质。猪冷冻精液生产技术已经成熟，冻精解冻活力60%~80%、受胎率85%、产仔数10头左右，我国部分公司冻精解冻活力、受胎率、产仔数以及后代适应性等指标已达到国际先进水平。按照冻精解冻程序复苏冻存精液，结合深部输精技术，即可发挥优秀种公猪的基因价值。

《畜禽细胞与胚胎冷冻保种技术规范》（NY/T 1900—2010）标准根据我国畜禽保存现状，在总结其他畜禽资源保种过程中存在问题的基础上参照国际种质资源保存的标准制定了猪冷冻精液保存标准，主要内容为：

冷冻精液保存指标为每个品种保存冷冻精液不少于30 000剂（0.5mL细管），每个品种公猪不少于10头，每个个体保存冻精不少于300剂，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 $\geq 1.0 \times 10^9$ ，每支细菌菌落数 ≤ 800 个。但该标准是基于今后大面积改良或恢复品种而制作的冷冻精液保存数量，目前，非洲猪瘟疫情严峻，为了抢救性采集保存地方品种猪冷冻精液，在考虑能恢复有效群体的情况下，建议按每个品种收集保存冷冻精液5 000剂（0.50mL）或者10 000剂（0.25mL）即可，其他指标同上。

二、卵子冷冻保存

最近10年，卵母细胞的低温储藏取得了很大的进展。在许多不同种生物中，卵母细胞冻融后是可育的。在一些物种中，



卵母细胞冻融后的成功发育、受精和胚胎形成已有报道。由卵母细胞发育成胚胎再形成个体已在牛、老鼠、马和人等实验成功，目前通过冷冻卵母细胞产生后代的效率还是低于冷冻胚胎。《畜禽细胞与胚胎冷冻保种技术规范》（NY/T 1900—2010）标准规定每个品种保存冷冻卵母细胞不少于 1 000 个，母畜不少于 35 头，每个个体保存卵母细胞不少于 30 个。

三、体细胞冷冻保存

体细胞冷冻保存是成熟的保种技术，该技术具备可以保存不同日龄、不同性别的种猪资源，结合体细胞克隆技术，可以随时快速恢复原有种猪资源群体，避免非洲猪瘟疫情造成灭群威胁。动物组织细胞培养学的发展和体细胞的超低温冷冻保存研究可以弥补活体保存、精液和胚胎冷冻保存技术的不足，为构建濒危猪地方遗传资源体细胞库，大规模地保存濒危地方猪的遗传资源提供了技术平台和保障。动物体细胞含有该物种所有的遗传物质，当该物种由于某些因素在地球上消失时，其遗传物质是不会消失的，我们就可以从细胞库中提取该物种的体细胞，通过细胞培养或移植技术，重建已灭绝的动物。随着细胞生物学和分子发育生物学高度发展，无论从收集、提供实验材料，或是从收集、保存和应用动物遗传资源角度看，动物体细胞技术都将有重大意义和辉煌前景。国内体细胞克隆技术指标已经达到国内领先、世界一流水平，已具备在全国范围进行示范与推广的条件。《畜禽细胞与胚胎冷冻保种技术规范》（NY/T 1900—2010）标准规定体细胞冷冻保存指标公猪不少于 10

生猪养殖与非洲猪瘟生物安全防控技术

头，母猪不少于 25 头，每个个体体外培养第 3 ~ 4 代细胞 6 管，细胞密度为 $1 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$ 个 /mL，台盼蓝染色检查细胞存活力 80% 以上。

四、胚胎冷冻保存

冷冻胚胎在牛、羊的慢冷冻和玻璃化程序都非常成功。猪的冷冻胚胎技术仍在攻克中，主要猪胚胎内脂肪滴对低温比较敏感。但是，最近的研究表明，抽出猪胚胎内脂肪及胚玻璃化方法上取得了一些进展。《畜禽细胞与胚胎冷冻保种技术规范》（NY/T 1900—2010）标准规定每个品种冷冻保存体内胚胎不少于 200 枚，每个品种公畜不少于 10 头，母畜不少于 25 头，每个种公畜配种获得的胚胎数不少于 20 枚，冻前胚胎质量为 A 级。

五、DNA 与构建基因文库

遗传资源就是基因资源，基因是贮存在 DNA 分子上的遗传信息，理论上保存该遗传资源的 DNA 就是保护了遗传资源，随着分子生物学技术的发展，对遗传变异的分析已经从表型、蛋白质多态深入到 DNA 分子水平，利用 DNA 分子水平可以更全面、准确地分析种群的遗传变异。

利用基因克隆技术可以组建动物基因组文库，使一些独特的遗传资源得到长期保存，在需要时可通过转基因技术在畜禽群体中重现。基因组文库是指将某生物的全部基因组 DNA 切割成一定长度的 DNA 片段克隆到某种载体上而形成的集合。

基因组 DNA 和文库的区别在于前者不能永久利用，后者可以无限增殖，可持续利用。目前，以基因保存为目的的猪文库构建方面国内外还没有应用，只是保存了一定数量的基因组 DNA。以保存为目的文库构建方面，我国已经开展了 20 多年研究应用工作。