

# 中华人民共和国国家标准

农业农村部公告 XXXX 号公告—X—XXXX

修订农业部 2259 号公告—17—2015

---

## 转基因植物及其产品环境安全检测

### 耐除草剂油菜

#### 第 1 部分：除草剂耐受性

**Evaluation of environmental impact of genetically modified plants and its  
derived products—Herbicide-tolerant oilseed rape—**

**Part 1: Evaluation of the tolerance to herbicides**

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

---

中华人民共和国农业农村部 发布

# 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。

本文件是《转基因植物及其产品环境安全检测 耐除草剂油菜 第 1 部分：除草剂耐受性》。《转基因植物及其产品环境安全检测 耐除草剂油菜》分为以下 4 个部分：

- 第 1 部分：除草剂耐受性；
- 第 2 部分：生存竞争能力；
- 第 3 部分：外源基因漂移；
- 第 4 部分：生物多样性影响。

本标准修订农业部 2259 号公告—17—2015《转基因植物及其产品环境安全检测 耐除草剂油菜 第 1 部分：除草剂耐受性》，与农业部 2259 号公告—17—2015 相比，除结构调整和编辑性修改外，主要技术变化如下：

- 修改了“范围”。修改为“规定了转基因耐除草剂油菜对目标除草剂的耐受性的检测方法”（见 1 范围，2015 年版的 1 范围）。
- 修改了“试验设计”。小区面积 2m<sup>2</sup> 改为 20m<sup>2</sup>，删除室内进行除草剂耐受性检测的相关描述，修改为田间耐受性检测（见 5.1，2015 年版的 5.1.1）。
- 修改了“调查和记录”。增加施药后油菜株高和成活率调查（见 5.4，2015 年版的 5.1.3）。
- 修改了“结果分析”。删除药害率计算公式，增加成苗率和受害率计算公式（见 5.5，2015 年版的 5.1.4）。
- 修改了“结果表述”（见 5.6，2015 年版的 5.1.5）。
- 删除了“油菜田间杂草对目标除草剂的耐受性”涉及的相关内容（2015 年版的 5.2）。

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。

本文件由中华人民共和国农业农村部提出。

本文件由全国农业转基因生物安全管理标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：中国农业科学院油料作物研究所、农业农村部科技发展中心

本文件主要起草人：闫晓红，赵桐桐，朱莉，高芳瑞，沈晨辉，刘芳，武玉花，陆琳，王盼娣，张岩，王思远，任莉，王晨尧，吴刚，傅芳奇。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

- 农业部 2259 号公告—17—2015；
- 本次为第一次修订。

# 转基因植物及其产品环境安全检测 耐除草剂油菜

## 第 1 部分：除草剂耐受性

### 1 范围

本文件规定了转基因耐除草剂油菜对目标除草剂耐受性的检测方法。  
本文件适用于转基因耐除草剂油菜对目标除草剂耐受性水平的检测。

### 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 4407.2 经济作物种子第 2 部分：油料类

GB/T 17980.45—2026 农药 田间药效试验准则 第 45 部分：除草剂防治油菜田杂草

农业部 2259 号公告—13—2015 转基因植物试验安全控制措施 第 1 部分：通用要求

NY/T 721.1—2003 转基因油菜环境安全检测技术规范 第 1 部分：生存竞争能力检测

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

#### 3.1

**转基因耐除草剂油菜** **genetically modified herbicide-tolerant oilseed rape**

通过基因工程技术将耐除草剂基因导入油菜基因组而培育出的耐除草剂油菜。

#### 3.2

**非转基因油菜受体对照** **non-genetically modified oilseed rape**

与转基因耐除草剂油菜遗传背景相同或相似的非转基因油菜品种（品系）。

#### 3.3

**目标除草剂** **target herbicide**

转基因耐除草剂油菜中目的蛋白所耐受的除草剂。

#### 3.4

**推荐剂量中量** **mean rate of recommended dose**

为农药登记推荐的最大剂量和最小剂量的平均值。

### 4 要求

#### 4.1 试验材料

转基因耐除草剂油菜和对应的非转基因油菜受体对照。

上述材料的质量应达到 GB 4407.2 中油菜种子大田用种的要求。

#### 4.2 资料记录

按 NY/T 721.1—2003 中 3.2 的规定执行。

#### 4.3 安全控制措施

按 NY/T 721.1—2003 中 3.3 的规定执行

### 5 试验方法

### 5.1 试验设计

随机区组设计，3 次重复，小区间设有 1.0 m 宽隔离带，小区面积不小于 20 m<sup>2</sup>。处理包括：

处理 1：转基因耐除草剂油菜喷施清水；

处理 2：转基因耐除草剂油菜喷施目标除草剂；

处理 3：对应的非转基因油菜受体对照喷施清水；

处理 4：对应的非转基因油菜受体对照喷施目标除草剂。

若转基因油菜耐受多种目标除草剂，则每种目标除草剂各设 1 个处理。

所用除草剂的施用剂量分别为：农药推荐使用剂量的中剂量、中剂量的 2 倍量和中剂量的 4 倍量。

用药时间：按目标除草剂推荐时间施用。

### 5.2 播种

按当地冬油菜或春油菜常规播种时期、播种方式和播种量进行播种。

### 5.3 管理

播种后按当地常规栽培方式进行田间管理。

### 5.4 调查和记录

分别在用药前调查和记录小区油菜总出苗数，药后 4 周调查和记录小区油菜总成苗数，计算成苗率；药后 1 周、2 周和 4 周调查和记录油菜株高（小区中间相邻两行连续 20 株）及药害症状级别（小区中间相邻两行连续 20 株）。药害症状分级见附录 A。

### 5.5 结果分析

用方差分析方法比较不同处理的转基因油菜与对应的非转基因油菜受体对照在成苗率、株高和除草剂受害率方面的差异。

成苗率按公式（1）计算：

$$P = W / T \times 100 \quad (1)$$

*P* 一成苗率，单位为百分率（%）；

*W* 一药后四周油菜成苗数；

*T* 一喷药前油菜总苗数。

计算结果保留 2 位小数。

除草剂受害率按公式（2）计算：

$$X = \frac{\sum(N \times S)}{T \times M} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中：

*X* 一受害率，单位为百分率（%）；

*N* 一某级受害株数；

*S* 一级别值；

*T* 一总株数；

*M* 一最高级别。

计算结果保留 2 位小数。

### 5.6 结果表述

检测结果表述为“喷施目标除草剂后，转基因耐除草剂油菜×××的成苗率、株高和受害率与对应的非转基因油菜受体对照差异达（未达）显著水平”，并对耐受剂量进行具体描述。

**附 录 A**  
(规范性)  
**除草剂药害症状的分级标准**

**表 A.1 除草剂药害症状的分级标准**

药害级别	症 状 描 述
0 级	无药害，与清水对照生长一致
1 级	微见药害症状，局部颜色变化，药害斑点占叶面积的 10%以下
2 级	轻度抑制生长或失绿，药害斑点占叶面积 1/4 以下
3 级	对生长发育影响较大，叶畸形或植株矮化或药害斑点占叶面积 1/2 以下
4 级	对生长发育影响大，叶严重畸形或植株明显矮化或药害斑点占叶面积 3/4 以下
5 级	药害极重，植株死亡或药害斑点占叶面积 3/4 以上

# 中华人民共和国国家标准

农业农村部 XXXX 号公告—X—XXXX  
修订农业部 2259 号公告—18—2015

---

## 转基因植物及其产品环境安全检测 耐除草剂油菜 第 2 部分：生存竞争能力

**Evaluation of environmental impact of genetically modified plants and its  
derived products—Herbicide-tolerant oilseed rape—  
Part 2: Survival and competitiveness**

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

---

中华人民共和国农业农村部 发布

## 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。

本文件是《转基因植物及其产品环境安全检测 耐除草剂油菜 第 2 部分：生存竞争能力》。《转基因植物及其产品环境安全检测 耐除草剂油菜》分为以下 4 个部分：

- 第 1 部分：除草剂耐受性；
- 第 2 部分：生存竞争能力；
- 第 3 部分：外源基因漂移；
- 第 4 部分：生物多样性影响。

本标准修订农业部 2259 号公告—18—2015《转基因植物及其产品环境安全检测 耐除草剂油菜 第 2 部分：生存竞争能力》，本标准与农业部 2259 号公告—18—2015 相比，除结构调整和编辑性修改外，主要技术变化如下：

- 修改了“范围”。修改为“本部分规定了耐除草剂转基因油菜生存竞争力的检测方法。本部分适用于转基因耐除草剂油菜变为杂草的可能性，含有耐除草剂性状的转基因油菜与非转基因油菜受体对照、杂草在荒地和农田中竞争能力的检测。”（见 1 范围，2015 年版的 1 范围）。
- 修改了荒地生存竞争能力的“试验设计”，小区面积从“不小于 10m<sup>2</sup>”改为“2m<sup>2</sup>”。（详见 5.1.1，2015 年版的 5.3.1）。
- 修改了荒地生存竞争能力的“播种”，播种方式从“按当地常规冬油菜或春油菜播种时间播种，方式为地表撒播，播种量 250 粒/m<sup>2</sup>–300 粒/m<sup>2</sup>”改为“分期播种 3 次，至少包含 1 个适宜季节和 1 个非适宜季节。播种方式为地表撒播，每小区播种 400 粒”。（详见 5.1.2，2015 年版的 5.3.2）。
- 修改了荒地生存竞争能力的“管理”，从“播种后不进行任何栽培管理”改为“为便于播种，播前可适当清理杂草；播种后不进行任何栽培管理”。（详见 5.1.3，2015 年版的 5.3.3）。
- 修改了荒地生存竞争能力的“调查记录”，从“采用对角线 5 点取样，调查样点内杂草种类、数目、优势群落高度”改为“调查和记录的内容包括全小区杂草的相对覆盖度及主要杂草种类”。（详见 5.1.4，2015 年版的 5.3.4）。
- 修改了栽培地生存竞争能力的“试验设计”，小区面积从“不小于 10m<sup>2</sup>”改为“20m<sup>2</sup>”。（详见 5.2.1，2015 年版的 5.4.1）。
- 栽培地生存竞争能力增加了关键生育时期油菜株高、相对覆盖度的检测指标（详见 5.2.3.1）。
- 修改了种子落粒性调查方法和计算公式（详见 5.2.3.4，2015 年版的 5.6）。
- 种子发芽率、种子自然延续能力和种子落粒性性只在栽培地情况下开展（详见 5.2.3.1、5.2.3.2、5.2.3.4）。
- 自生苗产生率只在荒地情况下进行检测（详见 5.1.5）。
- 繁育系数在荒地和栽培地同时开展（详见 5.1.6）。
- 删掉花粉醋酸洋红染色部分（详见 2015 年版的 5.5）。

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。

本文件由中华人民共和国农业农村部提出。

本文件由全国农业转基因生物安全管理标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：中国农业科学院油料作物研究所、农业农村部科技发展中心

本文件主要起草人：闫晓红，赵桐桐，朱莉，高芳瑞，沈晨辉，刘芳，武玉花，陆琳，王盼娣，张岩，王思远，任莉，王晨尧，吴刚，傅芳奇。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

- 农业部 2259 号公告—18—2015；
- 本次为第一次修订。

# 转基因植物及其产品环境安全检测 耐除草剂油菜

## 第 2 部分：生存竞争能力

### 1 范围

本部分规定了转基因耐除草剂油菜生存竞争力的检测方法。

本部分适用于转基因耐除草剂油菜变为杂草的可能性，含有耐除草剂性状的转基因油菜与对应的非转基因油菜受体对照、杂草在荒地和农田中竞争能力的检测。

### 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。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 3543.4 农作物种子检验规程 发芽试验

GB 4407.2 经济作物种子第 2 部分：油料类

GB/T 17980.45—2026 农药 田间药效试验准则 第 45 部分：除草剂防治油菜田杂草

NY/T 721.1—2003 转基因油菜环境安全检测技术规范 第 1 部分：生存竞争能力检测

### 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

### 4 要求

#### 4.1 试验材料

转基因耐除草剂油菜和对应的非转基因油菜受体对照。

上述材料的质量应达到 GB 4407.2 中油菜大田用种的要求。

#### 4.2 资料记录

按 NY/T 721.1—2003 中 3.2 的规定执行。

#### 4.3 试验安全控制措施

按 NY/T 721.1—2003 中 3.3 的规定执行。

### 5 试验方法

#### 5.1 荒地生存竞争能力检测

##### 5.1.1 试验设计

试验地为自然生态类型，随机区组设计，每小区面积为  $4\text{ m}^2$  ( $2\text{ m}\times 2\text{ m}$ )，4 重复，小区间设 1.0 m 隔离带。

##### 5.1.2 播种

分期播种 3 次，至少包含 1 个适宜季节和 1 个非适宜季节。播种方式为地表撒播，每小区播种 400 粒。

5.1.3 管理

为便于播种，播前可适当清理杂草；播种后不进行任何栽培管理。

5.1.4 调查记录

播前调查 1 次全小区杂草的相对覆盖度，并记录主要杂草的种类。播种后 30 天开始至油菜成熟，每月调查一次。调查和记录的内容包括全小区杂草的相对覆盖度及主要杂草种类；同时，调查全小区油菜出苗数量及相对覆盖度。

5.1.5 油菜自生苗产生率

荒地条件下，油菜成熟后，不收获种子，不进行任何栽培管理。在下一个油菜生长季连续 2 个月各调查一次试验小区内油菜自生苗的情况，记录每小区自生苗的数量，按照公式 1 计算油菜自生苗产生率。然后，第二个月调查完毕后，对自生苗喷施目标除草剂，用药后四周调查油菜成活株数，并对成活的油菜进行转基因成分检测，计算耐除草剂油菜自生苗产生率（公式 2）。最后用人工或除草剂将转基因自生苗完全清除。

5.1.6 繁育系数

成熟后，每小区随机标定 10 株，测单株粒数。

5.1.7 结果分析

油菜自生苗产生率按照公式 1 计算：

$$X1 = n1/A \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X1 一油菜自生苗产生率，单位为株每平方米（株/m<sup>2</sup>）；

n1 一出苗总数，单位为株；

A 一调查的面积，单位为平方米（m<sup>2</sup>）。

耐除草剂转基因自生苗检出率按公式 2 计算：

$$X2 = n2/n1 \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中：

X2 一耐除草剂转基因自生苗检出率，单位为百分率（%）；

n2 一耐除草剂转基因自生苗检出数，单位为株；

n1 一自生苗的总数，单位为株。

繁育系数按公式 3 计算：

$$X3 = n3/10 \dots\dots\dots (3)$$

式中：

X3 一繁育系数，单位为粒/株；

n3 一10 株总粒数。

计算结果保留 2 位小数。

用方差分析方法比较转基因耐除草剂油菜、对应的非转基因油菜受体对照和杂草之间的荒地生存竞争能力的差异以及转基因耐除草剂油菜和对应的非转基因油菜受体对照之间自生苗产生率的差异。

5.2 栽培地生存竞争能力检测

5.2.1 试验设计

试验田为农田生态类型，随机区组设计，小区面积 20m<sup>2</sup>（4 m×5 m），四次重复，小区间设 1.0 m 隔离带。

5.2.2 播种

按当地冬油菜或春油菜常规播种时间、播种方式和播种量播种。

5.2.3 调查记录

5.2.3.1 竞争性

在油菜苗期（5-7 叶期）、抽薹期、初花期、盛花期、终花期、成熟期及收获期，每小区调查 10 株油菜株高，并估算全小区覆盖度。收获期每小区随机选择 10 株，收获种子，测定籽粒重量，并对收获种子按 GB/T 3543.4 规定的方法进行发芽率检测。油菜生育期划分详见附录 A。

5.2.3.2 种子自然延续能力

采用随机区组设计，4 次重复，小区净用地面积 1 m<sup>2</sup>。随机选取转基因油菜和对应的非转基因油菜受体对照各 100 粒置于尼龙网袋中，进行田间埋藏，设置浅埋（3cm）和深埋（20cm）两种方式，分别于埋后 6 个月和 12 个月后取出，按照 GB/T 3543.4 规定的方法检测种子发芽率。

5.2.3.3 繁育系数

参考 5.1.6

5.2.3.4 种子落粒性

油菜黄熟期（全小区约 2/3 角果变黄时），每小区随机选择 10 株油菜，每株在主花序中部角果中，随机标定 10 个发育正常、大小一致的角果，观察上述角果落粒数，每 7 d 观察 1 次，共观察 3 次，计算落粒率。

5.2.4 结果分析

种子脱落性计算公式如下：

$$P = M / (M + N) \times 100 \dots \dots \dots (4)$$

式中：

P 一种子脱落率，单位为百分率（%）；

M 一脱落的种子数；

N 一未脱落的种子数。

用方差分析方法比较转基因耐除草剂油菜与对应的非转基因油菜受体对照的栽培地生存竞争能力的差异，包括油菜的株高、覆盖度、种子产量、种子发芽率、繁育系数及种子落粒性等指标的差异。

**附 录 A**  
(规范性)  
油菜生育期的划分

表 A.1 油菜生育期的划分标准

生育期	划分标准
抽薹期	以 50%以上植株主茎开始延伸，主茎顶端离子叶节达 10 cm 为标准
初花期	以全区有 25%以上植株开始开花为标准
盛花期	以全区有 75%以上植株已经开花为标准
终花期	以全区有 75%以上植株完全谢花（花瓣变色，开始枯萎）为标准
成熟期	以全区有 20%以上角果转黄变色，且主花序中下部角果的种子呈成熟色为标准
收获期	实际收获日期

# 中华人民共和国国家标准

农业农村部 XXXX 号公告-X-XXXX

## 转基因植物及其产品环境安全检测 耐除草剂油菜 第 3 部分：外源基因漂移

Evaluation of environmental impact of genetically modified plants and its  
derived products—Herbicide-tolerant oilseed rape—  
Part 3: Gene flow

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

中华人民共和国农业农村部 发布

## 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。

本文件是《转基因植物及其产品环境安全检测 耐除草剂油菜 第3部分：外源基因漂移》。《转基因植物及其产品环境安全检测 耐除草剂油菜》分为以下4个部分：

- 第1部分：除草剂耐受性；
- 第2部分：生存竞争能力；
- 第3部分：外源基因漂移；
- 第4部分：生物多样性影响。

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。

本文件由中华人民共和国农业农村部提出。

本文件由全国农业转基因生物安全管理标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：中国农业科学院油料作物研究所、农业农村部科技发展中心

本文件主要起草人：闫晓红，赵桐桐，朱莉，高芳瑞，沈晨辉，刘芳，武玉花，陆琳，王盼娣，张岩，王思远，任莉，王晨尧，吴刚，傅芳奇。

# 转基因植物及其产品环境安全检测 耐除草剂油菜

## 第 3 部分：外源基因漂移

### 1 范围

本文件规定了转基因耐除草剂油菜外源基因漂移的检测方法。

本文件适用于转基因耐除草剂油菜与栽培油菜及油菜近缘种的异交率以及基因漂移的距离和频率的检测。

### 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 4407.2 经济作物种子第 2 部分：油料类  
农业部 953 号公告-7-2007 转基因植物及其产品环境安全检测 育性改变油菜  
农业部 2259 号公告—13—2015 转基因植物试验安全控制措施 第 1 部分：通用要求  
农业农村部第 423 号公告—11—2021 转基因植物及其产品环境安全检测 花粉活力的测定  
NY/T 721.1—2003 转基因油菜环境安全检测技术规范第 1 部分：生存竞争能力检测

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

#### 3.1

**异交率** outcrossing rate

转基因耐除草剂油菜与栽培油菜品种或者油菜近缘种自然杂交的比率。

#### 3.2

**基因漂移** gene flow

转基因耐除草剂油菜中的外源基因通过花粉向其他品种或物种自然转移的行为。

#### 3.3

**油菜近缘种** closely related species of rapeseed

与转基因耐除草剂油菜具有生殖兼容性、能够发生天然杂交的野生或栽培近缘物种。

### 4 要求

#### 4.1 试验材料

异交率检测、基因漂移距离和频率检测所用试验材料：花粉供体为转基因耐除草剂油菜，花粉受体为转基因油菜生育期相近的当地常规油菜品种、油菜近缘种。花粉受体一般选择 1 个当地常规油菜品种，6 个油菜近缘种（3 个不同类型白菜品种和 3 个不同类型芥菜品种）。

花粉活力检测所用试验材料：转基因耐除草剂油菜、对应的非转基因油菜受体对照。

上述材料的质量应达到 GB 4407.2 中油菜大田用种的要求。

## 4.2 资料记录

按 NY/T 721.1-2003 中 3.2 的规定执行。

## 4.3 试验安全控制措施

按 NY/T 721.1-2003 中 3.3 的规定执行。

## 5 试验方法

### 5.1 异交率检测

#### 5.1.1 试验设计

随机区组设计，小区大小为 5 m×2 m，4 次重复。

#### 5.1.2 播种

按照当地常规播种方式进行播种。采用条播，行长 5 m，株距 20 cm，行距 40 cm。每个小区 3 行，第 1 行花粉供体，第 2 行花粉受体，第 3 行花粉供体。小区之间间隔 1 行距离。根据非转基因物种与转基因油菜生育期调整播种期，使花期相遇时间不少于 80%。

#### 5.1.3 田间管理

按当地常规栽培管理方法进行。

#### 5.1.4 调查方法

每个小区分别收获 10 株花粉受体材料（非转基因油菜栽培种、近缘种）种子供检测。每个处理收获不小于 5000 粒种子。

#### 5.1.5 检测方法

将收获的种子种植在温室或者田间，出苗后喷施目标除草剂，用药后四周记录成活植株数，并对成活的油菜进行分子检测，确定油菜近缘种的异交率。

#### 5.1.6 结果分析与表述

异交率按下列公式 1 计算。

$$P = N/T \times 100 \quad (\text{公式 1})$$

式中：

P 一异交率，单位为百分率（%）；

N 一含外源基因的阳性植株数，单位为株；

T 一播种后油菜出苗总数，单位为株。

计算转基因耐除草剂油菜与普通栽培油菜及近缘种之间的异交率平均数。

检测结果表述为“转基因耐除草剂油菜×××与非转基因油菜发生异交”，并对不同材料的异交率进行具体描述，或“转基因耐除草剂油菜×××与非转基因油菜无异交发生”。

### 5.2 基因漂移距离和频率

#### 5.2.1 试验设计

小区面积不小于 120 m×120 m，在不小于 15 m×15 m 的中央区域种植转基因耐除草剂油菜，四周种植与转基因油菜生育期相近的当地普通栽培油菜品种。不设重复。

#### 5.2.2 播种

按当地常规方式播种。花粉供体转基因油菜分两期播种，第一次与非转基因油菜同期播种，第二次

在第一次播种后 7d 进行，确保花期重叠时间大于 80%。

### 5.2.3 管理

按当地常规栽培管理方法进行。

### 5.2.4 调查方法

油菜成熟时，从中心区域向外沿东、西、南、北、东南、东北、西南、西北八个方向按距离梯度取样收获非转基因油菜种子。每个方向按 1 m、3 m、5 m、10 m、30 m、50 m 取样，每点随机取 10 株，并标记方向和距离。

### 5.2.5 检测方法

每点每个重复至少收获 5000 粒种子，按 5.1.5 的要求进行检测。

### 5.2.6 结果分析

根据 5.1.6，计算不同方向、不同距离样点异交率，确定不同方向上基因漂移的发生距离和频率。

## 5.3 花粉活力检测

### 5.3.1 试剂选择及试验材料的采集

除非另有说明，仅使用分析纯化学试剂和重蒸水。选择健康的植株用于花粉的采集。采取足量正在散粉的小花，放入未完全密封的容器中，低温保存，半小时内带回实验室进行试验。

### 5.3.2 花粉形态观察

选取转基因油菜和其对应的非转基因对照油菜植株各 3 株，作为 3 个生物学重复，收集小花进行形态观察。将收集的小花花药均匀地涂抹在液体花粉萌发培养基上，立即用显微镜观察转基因油菜及其对应的非转基因对照油菜花粉粒，并测量其直径大小。每株植物统计 30 个花粉粒直径，3 株共统计 90 个花粉粒的直径。

液体花粉萌发培养基配制方法：按附录 A 表 1 所示配方称取各试剂，依次溶解于少量重蒸水中，定容至 1L，于超净工作台中过滤除菌后，放于 4° C 冰箱中保存备用，取用前应先恢复至室温。

### 5.3.3 花粉的离体萌发

#### 5.3.3.1 初始花粉的萌发

选取转基因油菜和其对应的非转基因对照油菜小花各 10 组，首先选取 1 组，立即分别均匀地涂抹到 3 个固体花粉萌发培养基上，置于铺有一层湿润滤纸的大培养皿中培养（温度 25°C ± 2°C，湿度 70%~85%），2 h 后置于显微镜下观察每个培养皿中花粉的萌发情况。

固体花粉萌发培养基配制方法：按附录 A 表 2 所示配方称取各试剂，依次溶解于少量重蒸水中（琼脂粉除外），定容至 1L，过滤除菌，配制成 2×液体花粉萌发培养基。使用前将 2×培养基加热至 72°C 10min 后，于超净工作台中加入等体积的灭菌的 0.4%的琼脂粉（将 4g 琼脂粉加入 1L 重蒸水），使得琼脂的终浓度为 0.2%，混匀后，倒入小皿中，自然冷却后放于 4° C 冰箱中保存备用，取用前应先恢复至室温。

#### 5.3.3.2 不同处理后的花粉萌发

转基因油菜或其对应的非转基因对照油菜的剩余 9 组小花分别于 25°C、30°C、35°C 条件下均放置不同时间（1 h、3 h、6 h）后，在 5.3.3.1 所述培养条件下进行花粉萌发试验，每组小花培养 3 皿，2 h 后用显微镜观察每个培养皿中花粉的萌发情况。

#### 5.3.3.3 花粉萌发率的统计

每个培养皿观察 3 个视野，统计每个视野中萌发花粉数和总花粉数，每视野统计的花粉总数应不少于 20 个，每处理观察的花粉总数不少于 180 个。若花粉管长度大于花粉粒直径，则视其为萌发的花粉。

#### 5.3.3.4 结果分析

根据试验记录计算转基因油菜及其对应的非转基因对照油菜的平均花粉粒大小和花粉萌发率。平均花粉粒大小按以下公式 2 计算。

$$X = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n} \dots\dots\dots \text{(公式 2)}$$

式中：

X — 平均花粉粒大小，单位为微米（ $\mu\text{m}$ ）；

$X_i$  — 第 i 个花粉的直径，单位为微米（ $\mu\text{m}$ ）；

N — 统计花粉总粒数。

花粉萌发率按以下公式 3 计算。

$$Y = \frac{n_1}{N} \times 100\% \dots\dots\dots \text{(公式 3)}$$

式中：

Y — 花粉萌发率，单位为%；

$n_1$  — 萌发花粉数；

N — 用于统计的花粉总数。

采用方差分析法（t 检验法）比较在相同处理条件下，转基因油菜及其对应的非转基因对照油菜花粉粒大小和花粉萌发率的差异。

## 6 结果表述

根据统计分析结果，结合油菜开花授粉时期的天气记录等，确定外源基因在不同方向和不同距离的异交率，检测结果表述为：“转基因耐除草剂油菜×××与非转基因油菜发生异交”，并对目的基因漂移的距离和不同距离目的基因漂移的频率做具体描述，或“转基因耐除草剂油菜×××与非转基因油菜无异交发生”。

根据统计分析结果，评估转基因油菜与其对应的非转基因对照油菜花粉活力的差异。结果表述为：“转基因××与其非转基因对照花粉粒大小差异显著（或不显著）；在××时间和××温度处理条件下，花粉萌发率差异显著（或不显著）”。

## 附录 A (规范性)

表 1 油菜液体花粉萌发培养基（PGM）配方

成份	含量 (g/L)
蔗糖 (Sucrose)	150
硼酸 ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )	0.5
氯化钙 ( $\text{CaCl}_2$ )	0.55
PEG6000	50
赤霉素 (GA)	0.002
维生素 B1 ( $\text{VB}_1$ )	0.01

表 2 2×固体花粉萌发培养基配方

成份	含量 (g/L)
蔗糖 (Sucrose)	300
硼酸 ( $H_3BO_3$ )	1
氯化钙 ( $CaCl_2$ )	1.11
PEG6000	100
赤霉素 (GA)	0.004
维生素 B1 ( $VB_1$ )	0.02
高纯度琼脂粉 (Noble Agar)	4

农业农村部公告第 XXXX 号-X-XXXX

# 中华人民共和国国家标准

农业农村部 XXXX 号公告-X-XXXX

## 转基因植物及其产品环境安全检测

### 耐除草剂油菜

#### 第 4 部分：生物多样性影响

The detection of environmental safety of genetically modified plants and its

derived products—Herbicide-tolerant oilseed rape—

Part 4: Impacts on biodiversity

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

中华人民共和国农业农村部 发布

## 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。

本文件是《转基因植物及其产品环境安全检测 耐除草剂油菜 第4部分：生物多样性影响》。《转基因植物及其产品环境安全检测 耐除草剂油菜》分为以下4个部分：

- 第1部分：除草剂耐受性；
- 第2部分：生存竞争能力；
- 第3部分：外源基因漂移；
- 第4部分：生物多样性影响。

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。

本文件由中华人民共和国农业农村部提出。

本文件由全国农业转基因生物安全管理标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：中国农业科学院油料作物研究所、农业农村部科技发展中心

本文件主要起草人：闫晓红，赵桐桐，朱莉，高芳瑞，沈晨辉，刘芳，武玉花，陆琳，王盼娣，张岩，王思远，任莉，王晨尧，吴刚，傅芳奇。

# 转基因植物及其产品环境安全检测 耐除草剂油菜

## 第 4 部分：生物多样性影响

### 1 范围

本文件规定了转基因耐除草剂油菜对油菜田生物多样性影响的检测方法。

本文件适用于转基因耐除草剂油菜对油菜田节肢动物群落多样性、主要病害及杂草群落影响的检测。

### 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 4407.2 经济作物种子第 2 部分：油料类

农业部 2259 号公告-13-2015 转基因植物试验安全控制措施 第 1 部分：通用要求

NY/T 721.1-2003 转基因油菜环境安全检测技术规范第 1 部分：生存竞争能力检测

### 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

### 4 要求

#### 4.1 试验材料

转基因耐除草剂油菜及其对应的非转基因油菜对照。

上述材料的质量应达到 GB 4407.2 中油菜大田用种的要求。

#### 4.2 资料记录

按 NY/T 721.1-2003 中 3.2 的规定执行。

#### 4.3 试验安全控制措施

按 NY/T 721.1-2003 中 3.3 的规定执行

### 5 试验方法

#### 5.1 试验设计

随机区组设计，小区面积 150 m<sup>2</sup>，每个处理 3 次重复。设置以下处理：

处理 1：转基因耐除草剂油菜不喷施靶标除草剂；

处理 2：对应的非转基因油菜受体对照不喷施靶标除草剂；

处理 3：转基因耐除草剂油菜喷施目标除草剂。

转基因油菜含有多种目标除草剂时，每种目标除草剂各设 1 个处理。

所用目标除草剂的施用剂量为农药推荐使用剂量的中剂量。

用药时间：按目标除草剂推荐时间施用。

注：不喷施目标除草剂处理按照当地常规管理。

## 5.2 播种及管理

按照当地气候条件，采用当地播种方式，适时播种。原则上油菜全生育期不应进行任何病、虫害防治，但必要时可以适当喷施杀虫剂进行保苗，其他按当地常规农事措施管理。

## 5.3 调查记录

### 5.3.1 对节肢动物生物多样性的影响

转基因油菜喷施目标除草剂的处理（4.1 的处理 3）在苗期（5-7 叶期）、抽薹期和盛花期各调查 1 次。

直接观察调查法：在油菜苗期（5-7 叶期）、抽薹期、初花期、盛花期、终花期、成熟期及收获期各调查 1 次，每小区采用对角线 5 点取样，每点随机调查 5 株油菜。记录整株油菜及其地面各种昆虫和（或）蜘蛛的数量、种类和发育阶段。开始调查时，首先要快速观察活泼易动的昆虫和（或）蜘蛛的数量。油菜生育期划分标准参照附录表 A 表 1。

以下两种方法任选一种。

陷阱调查法：用于地表节肢动物多样性比较。在油菜苗期（5-7 叶期）、抽薹期、初花期、盛花期、终花期、成熟期及收获期各调查 1 次，每小区采用对角线 5 点取样，每点埋设 3 个塑料杯（Φ15 cm×10 cm），杯中放入 5% 的洗涤剂水，不超过杯容积的 1/3，间隔 0.5 m。在埋杯的第 2 天，调查杯中的节肢动物种类和数量。

吸虫器调查法：在油菜苗期（5-7 叶期）、抽薹期、初花期、盛花期、终花期、成熟期及收获期各调查 1 次，每小区采用对角线 5 点取样，每点用吸虫器抽取 5 株油菜(全株)及其地面 1 m<sup>2</sup> 范围内的所有节肢动物种类。

记录所有调查得到的节肢动物的名称、发育阶段和数量，对田间不易识别的种类进行编号，带回室内，进一步鉴定。

用节肢动物群落的多样性指数、均匀性指数和优势集中性指数 3 个指标，分析比较转基因油菜田昆虫群落、害虫和天敌亚群落的稳定性。

节肢动物群落的多样性指数按公式（1）计算。

$$H = -\sum_{i=1}^n P_i \ln P_i \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$H$  —多样性指数；

$P_i$  —  $N_i/N$ ；

$N_i$  —第  $i$  个物种的个体数；

$N$  —总个体数。

计算结果保留 2 位小数。

节肢动物群落的均匀性指数按公式（2）计算。

$$J = H/\ln S \dots\dots\dots (2)$$

式中：

$J$  —均匀性指数；

$H$  —多样性指数；

$S$  —物种数。

计算结果保留 2 位小数。

节肢动物群落的优势集中性指数按公式 (3) 计算。

$$C = \sum_{i=1}^n (N_i / N)^2 \dots\dots\dots (3)$$

式中：

$C$  —优势集中性指数；

$N_i$  —第  $i$  个物种的个体数；

$N$  —总个体数。

计算结果保留 2 位小数。

### 5.3.2 对油菜病害的影响

在处理 1、处理 2 和处理 3 的小区，每小区采用对角线 5 点取样方法，每点连续调查相邻的两行 20 株油菜。在油菜苗期和成熟期调查菌核病、病毒病和霜霉病。各种病害分级标准见附录 A 表 2-表 6。

对油菜菌核病、病毒病和霜霉病发病情况用发病率  $D$  表示，按下列公式计算。

$$D = \frac{N}{T} \times 100 \dots\dots\dots (4)$$

式中：

$D$ —发病率，单位为百分率 (%)；；

$N$ —病株数，单位为株；

$T$ —调查总株数，单位为株。

对油菜菌核病、病毒病和霜霉病发病严重程度用病情指数表示，病情指数计算公式计算。病情指数计算见式 (5)：

$$I = \frac{\sum (N \times R)}{M \times T} \times 100 \dots\dots\dots (5)$$

式中：

$I$  —病情指数，单位为百分率 (%)；；

$\Sigma$  —调查病害相对病级数值及其株数乘积的总和；

$N$  —病害某一级别的植株数，单位为株；

$R$  —病害的相对病级数值；

$M$  —病害的最高病级数值；

$T$  —调查总株数，单位为株。

### 5.3.3 对油菜田主要杂草发生的影响

在处理 1、处理 2 及处理 3 小区内，采用对角线 5 点取样，每点取 0.25 m<sup>2</sup> (0.5 m×0.5 m) 样方。在盛花期和成熟期各调查 1 次，记录样点内主要杂草种类、杂草覆盖度。

## 6 结果分析

用方差分析方法比较转基因耐除草剂油菜与对应的非转基因油菜受体对照在油菜田节肢动物群落

结构、主要病害及主要杂草发生等方面的差异。

附录 A

(规范性)

油菜生育期划分标准和病害分级标准

表 A.1 油菜生育期的划分标准

生育期	划分标准
抽薹期	以 50%以上植株主茎开始延伸，主茎顶端离子叶节达 10 cm 为标准
初花期	以全区有 25%以上植株开始开花为标准
盛花期	以全区有 75%以上植株已经开花为标准
终花期	以全区有 75%以上植株完全谢花（花瓣变色，开始枯萎）为标准
成熟期	以全区有 20%以上角果转黄变色，且主花序中下部角果的种子呈成熟色为标准
收获期	实际收获日期

表 2 油菜菌核病（成熟期）的分级标准

病情分级	症状描述
0 级	全株茎、枝、果轴无症状。
1 级	全株三分之一以下分支数（含果轴，下同）发病，或主茎有小型病斑；全株受害角果数（含角果直接受害和病害引起的非生理性早熟和不结实，下同）在四分之一以下。
2 级	全株三分之一至三分之二枝数发病，或主茎中上部有大型病斑；全株受害角果数过四分之一至二分之一。
3 级	全株三分之二以上分枝数发病，或主茎中下部有大型病斑；全株受害角果数达二分之一至四分之三。
4 级	全株绝大部分或全部分枝发病，或主茎有少数病斑或主茎下部有大型绕茎病斑；全株受害角果数达四分之三以上。

表 3 油菜病毒病（苗期）的分级标准

病情分级	症状描述
0 级	全株叶片无病状。
1 级	全株三分之一以下叶片数有病状，无皱缩叶.苗形基本正常。
2 级	全株三分之一至三分之二叶片数有病状，或三分之一以下叶片数皱缩或局部枯死，苗形轻度矮缩。
3 级	全株三分之二叶片数有病状，或三分之一至三分之二叶片数皱缩或局部枯死，苗形显著矮缩。
4 级	全株皱缩或局部枯死叶片数达三分之二以上，植株生长停滞，接近死亡或死亡。

表 4 油菜病毒病（角果发育期）的分级标准

病情分级	症状描述
0 级	全株叶、茎、枝、果无病状。
1 级	叶片有病状，茎、枝有或无病斑，株形、结果数量基本正常，畸形角果数三分之一以下。
2 级	植株轻度矮化或局部畸形，结果数减少三分之一以下，畸形角果数达三分之一以上。
3 级	植株明显矮化或畸形，结果数减少三分之一以上，畸形角果数达三分之二以上。
4 级	植株严重矮化或畸形，结果数减少三分之二以上。

表 5 油菜霜霉病（苗期）分级标准

病情分级	症 状 描 述
0	全株叶片无症状。
1	全株 1/4 以下叶片数发病，病斑为局限型。
2	全株 1/4—2/4 叶片数发病，有少量扩散型病斑。
3	全株 2/4—3/4 叶片数发病，多数为扩散型病斑。
4	全株 3/4 以上叶片数发病，多数为扩散型病斑，病叶开始枯黄。

表 6 油菜霜霉病（角果发育期）分级标准

病情分级	症 状 描 述
0	全株无症状。
1	全株 1/2 以下茎生叶数发病，分枝、角果基本正常。
2	全株 1/2 以上茎生叶数发病或 1/3 以下分枝数（含主茎，下同）发病，受害角果数在 1/4 以下。
3	全株 1/3—2/3 分枝数发病，受害角果数达 1/4—2/4。
4	全株 2/3 以上分枝数发病，受害角果数达 2/4 以上。