

中华人民共和国国家标准

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

2015-05-21 发布

2015-08-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

《转基因植物及其产品环境安全检测 耐除草剂油菜》分为 2 个部分：

——第 1 部分：除草剂耐受性；

——第 2 部分：生存竞争能力。

本部分为《转基因植物及其产品环境安全检测 耐除草剂油菜》的第 2 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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这些专利的责任。

本部分由中华人民共和国农业部提出。

本部分由全国农业转基因生物安全管理标准化技术委员会(SAC/TC 276)归口。

本部分起草单位：农业部科技发展中心、中国农业科学院油料作物研究所。

本部分主要起草人：曾新华、宋贵文、吴刚、章秋艳、赵祥祥、武玉花、李文品。

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对生存竞争力生态影响的检测方法。

本部分适用于转基因耐除草剂油菜种子发芽率、种子自然延续能力、栽培条件下竞争能力、荒地条件下竞争能力、花粉活力、种子脱落性的检测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。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 第 4 部分：发芽试验

GB 4407.2 经济作物种子 第 2 部分：油料类

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

非转基因油菜对照 non-genetically modified oilseed rape control

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）。

4 要求

4.1 试验材料

转基因耐除草剂油菜品种（品系）、非转基因油菜对照品种（品系）。

上述材料的质量应达到 GB 4407.2 中不低于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 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 种子发芽率检测

5.1.1 试验方法

油菜成熟时在 5.4 条栽培条件试验所在田块，分别收获转基因耐除草剂油菜和非转基因油菜对照种子，干燥后按 GB/T 3543.4 规定的方法检测种子发芽率。

5.1.2 结果分析与表述

采用方差分析方法，比较转基因耐除草剂油菜与非转基因油菜对照发芽率的差异。检测结果表述为“检测样品×××的发芽率与非转基因油菜对照×××差异显著（或不显著）（ $p < 0.05$ 或 $p > 0.05$ ）”。

5.2 种子自然延续能力

5.2.1 试验设计

采用随机区组试验设计,设浅埋(3 cm)和深埋(20 cm)以及埋后 6 个月和 12 个月取出处理,4 次重复。将 100 粒待检测样品与非转基因油菜对照种子分别封装于 200 目尼龙网袋中,并标记品种名称或编号。试验在油菜田进行,供试油菜种子在收获后 3 周~4 周内埋入油菜田土中,期间不进行任何农事操作。

5.2.2 调查和记录

分别于埋藏 6 个月和 12 个月后取出种子,清理出未腐烂的种子并记载,按 GB/T 3543.4 规定的方法测定发芽率。

5.2.3 结果分析与表述

采用方差分析方法,比较转基因耐除草剂油菜、非转基因油菜对照不同处理发芽率的差异。

检测结果表述为“检测样品×××的种子自然延续能力与非转基因对照×××差异显著(或不显著)($p < \text{或} > 0. \times \times$)”

5.3 荒地生存竞争能力

5.3.1 试验设计

试验地为自然生态类型,采用随机区组设计,4 次重复,小区间设 1 m 隔离带,每个小区净面积不小于 10 m²。

5.3.2 播种

按当地冬油菜或春油菜常规播种时间播种,方式为地表撒播,播种量 250 粒/m²~300 粒/m²。

5.3.3 管理

播种后不进行任何栽培管理。

5.3.4 调查和记录

5.3.4.1 与杂草的竞争性

油菜播种前,采用对角线 5 点取样,每点面积 1 m²,调查样点内杂草种类、株数、优势群落高度、相对覆盖度。油菜播种后 30 d 开始至成熟,每月调查一次;杂草调查内容及取样方法同上;同时调查记录全小区油菜株数及相对覆盖度。

5.3.4.2 繁育系数

油菜成熟后,每小区随机选取 10 株油菜,测单株籽粒数。

5.3.4.3 自生苗产生率

油菜成熟后,不收获种子,不进行任何栽培管理。冬油菜区当年 11 月,春油菜区第二年 5 月调查小区内油菜出苗数,并喷施目标除草剂,用药后 4 周记录成活植株数,对成活的油菜进行分子检测。

5.3.5 结果分析与表述

油菜繁育系数、自生苗出苗数和耐除草剂转基因自生苗检出率按式(1)~式(3)计算。杂草的株数、株高、相对覆盖度计算各取样点平均数。采用方差分析方法,比较荒地条件下转基因耐除草剂油菜和非转基因油菜对照在与杂草竞争、繁育系数、自生苗产生率方面的差异。

繁育系数按式(1)计算。

$$X_1 = \frac{n_1}{10} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X_1 ——繁育系数,单位为粒每株(粒/株);

n_1 ——10 株总粒数。

单位面积的自生苗出苗数按式(2)计算。

$$X_2 = \frac{n_2}{A} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

X_2 ——单位面积出苗数,单位为株每平方米(株/ m^2);

n_2 ——出苗总数,单位为株;

A ——调查的面积,单位为平方米(m^2)。

耐除草剂转基因自生苗检出率按式(3)计算。

$$X_3 = \frac{n_3}{N_4} \dots\dots\dots (3)$$

式中:

X_3 ——耐除草剂转基因自生苗检出率,单位为百分数(%);

n_3 ——耐除草剂转基因自生苗检出数,单位为株;

N_4 ——自生苗的总数,单位为株。

结果表述为“荒地条件下,检测样品×××的×××(指标)与非转基因油菜对照×××差异显著(或不显著)($p < \text{或} > 0. \times \times$)”。并从杂草和油菜的生长情况、油菜开花时间和繁育特性等方面指标的变化情况描述荒地条件下检测样品(转基因油菜)竞争性的变化。

5.4 栽培地生存竞争能力

5.4.1 试验设计

试验地为农田生态类型,采用随机区组设计,4次重复,小区间设1 m隔离带,每个小区净面积不小于10 m^2 。

5.4.2 播种

按当地冬油菜或春油菜常规播种时间和播种量,采取条播方式播种。

5.4.3 管理

按当地常规栽培管理方法进行。冬油菜区油菜成熟收获后,各小区翻耕种植其他作物,9月下旬翻耕整地;春油菜区油菜成熟收获后,各小区立即翻耕并灌水,第二年3月上旬再次翻耕并灌水。

5.4.4 调查和记录

繁育系数:油菜成熟后,每小区随机选取10株油菜,测单株籽粒数。

自生苗产生率:油菜成熟后,统计全小区油菜株数。冬油菜区当年11月,春油菜区第二年5月调查小区内油菜出苗数。并喷施目标除草剂,用药后4周记录成活植株数,并对成活的油菜进行分子检测。

5.4.5 结果分析与表述

油菜繁育系数、自生苗出苗数和耐除草剂转基因自生苗检出率按式(1)~式(3)计算。采用方差分析方法,比较栽培地条件下转基因耐除草剂油菜、非转基因油菜对照在繁育系数、自生苗产生率方面的差异。

结果表述为“栽培地条件下,检测样品×××的×××(指标)与非转基因油菜对照×××差异显著(或不显著)($p < \text{或} > 0. \times \times$)”。并从油菜的生长情况、油菜开花时间和繁育特性等方面指标的变化情况描述栽培地条件下检测样品(转基因油菜)竞争性的变化。

5.5 花粉活力

5.5.1 试验方法

在油菜盛花期,从5.4条中的转基因耐除草剂油菜和非转基因油菜对照小区中各选择典型单株10株,每株取当天开放、开放2 d和开放3 d的花各2朵,从花朵中取出花药,置于载玻片中央,滴加一滴1%醋酸洋红,用镊子和解剖针释放花粉后,盖上盖玻片,在显微镜下观察、计数可染色花粉数和花粉总数。每朵花观察不少于500粒花粉。

5.5.2 结果分析

通过 t 测验,比较转基因耐除草剂油菜与非转基因油菜对照同一时期花的花粉可染率是否存在显著差异。

5.5.3 结果表述

检测结果表述为“检测样品×××与非转基因油菜对照×××的花粉活力差异显著(或不显著)($p<$ 或 $>0. \times \times$)”,若存在显著差异则对花粉活力的差异进行具体描述。

5.6 种子脱落性

5.6.1 试验设计

5.6.1.1 油菜黄熟期在 5.4 条栽培条件试验田块中,分别随机选取转基因耐除草剂油菜与非转基因油菜对照各 5 株,收获后在常温常压下室内悬挂自然干燥 1 个月。每个单株取发育正常、充分成熟的角果 100 个以上,用保鲜袋装好备用。

5.6.1.2 测量时,每单株选取 12 个角果混合,共 60 个角果,3 次重复。将角果在 80℃ 条件下烘烤 30 min 后密封过夜。每重复选取 20 个角果放入内径为 14.8 cm、高 7.4 cm 的圆柱形塑料容器内,放入 8 个直径为 14 mm 的钢珠,将容器放置在恒温摇床上,在转速为 280 r/min 条件下震荡 2 min。

5.6.2 调查和记录

处理完成后记录脱落的种子数;同时将角果装入网袋,调查袋中种子数,作为未脱落的种子数。

5.6.3 结果分析

5.6.3.1 种子脱落率按式(4)计算,结果保留 1 位小数。

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

式中:

P ——种子脱落率,单位为百分数(%);

M ——脱落的种子数;

N ——未脱落的种子数。

5.6.3.2 用方差分析方法比较转基因油菜与非转基因油菜对照种子脱落率的差异。

5.6.4 结果表述

结果表述为“检测样品×××的种子脱落率为×××%,与非转基因油菜对照×××差异显著(或不显著)($p<$ 或 $>0. \times \times$)”。