

ICS 65.020.99
B 20

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T720.1~720.3 - 2003

转基因玉米环境安全检测技术规范

Environmental impact testing of genetically modified maize

2003-12-01 发布

2004-03-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

目录

NY/T 720.1-2003 转基因玉米环境安全检测技术规范 第1部分：生存竞争能力检测.....	1
NY/T 720.2-2003 转基因玉米环境安全检测技术规范 第2部分：外源基因流散的生态风险 检测.....	5
NY/T 720.3-2003 转基因玉米环境安全检测技术规范 第3部分：对生物多样性影响的检测	9

ICS 65.020.99
B 20

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 720.1 - 2003

转基因玉米环境安全检测技术规范 第 1 部分：生存竞争能力检测

Environmental impact testing of genetically modified maize -

Part 1: testing the survival and competitive abilities

2003-12-01 发布

2004-03-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

NY/T 720《转基因玉米环境安全检测技术规范》分为以下三个部分：

- 第 1 部分：生存竞争能力检测；
- 第 2 部分：外源基因流散的生态风险检测；
- 第 3 部分：对生物多样性影响的检测。

本部分是 NY/T 720 的第 1 部分。

本部分由中华人民共和国农业部提出并归口。

本部分起草单位：中国农业科学院植物保护研究所、农业部科技发展中心。

本部分主要起草人：彭于发、王振营、李宁、杨崇良、董英山、路兴波、付仲文。

转基因玉米环境安全检测技术规范

第 1 部分：生存竞争能力检测

1 范围

NY/T 720 的本部分规定了转基因玉米生存竞争能力的检测方法。

NY/T 720 的本部分适用于转基因玉米变为杂草的可能性、转基因玉米与非转基因玉米及杂草在荒地和农田中竞争能力的检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 NY/T 720 本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本部分，然而，鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本部分。

GB/T 3543.4 农作物种子检验规程 发芽试验

GB 4404.1 粮食作物种子 禾谷类

3 要求

3.1 试验材料

转基因玉米品种、受体玉米品种、当地推广的非转基因玉米品种。

上述材料的质量应达到 GB 4404.1 中不低于二级玉米种子的要求。

3.2 资料记录

3.2.1 试验地名称与位置

记录试验的具体地点、试验地的名称、地址经纬度或全球地理定位系统(GPS)地标。绘制小区示意图。

3.2.2 土壤资料

记录土壤类型、土壤肥力、排灌情况和土壤覆盖物等内容。描述试验地近三年种植情况。

3.2.3 试验地周围生态类型

3.2.3.1 自然生态类型

记录与农业生态类型地区的距离及周边植被情况。

3.2.3.2 农业生态类型

记录试验地周围的主要栽培作物及其他植被情况,以及当地玉米田常见病、虫、草害的名称及危害情况。

3.2.4 气象资料

记录试验期间试验地降雨(降雨类型、日降雨量,以mm表示)和温度(日平均温度、最高和最低温度、积温,以 $^{\circ}\text{C}$ 表示)的资料。记录影响整个试验期间试验结果的恶劣气候因素,例如严重或长期的干旱、暴雨、冰雹等。

3.3 试验安全控制措施

3.3.1 隔离条件

试验地四周有500 m以上非玉米作物为隔离带,或500 m范围内与其它玉米花期隔离30 d以上。

3.3.2 隔离措施

以非玉米作物作为隔离带,面积较小的试验地设围栏,设专人监管。

3.3.3 试验过程的安全管理

试验过程中如发生试验材料被盗、被毁等意外事故,应立即报告行政主管部门和当地公安部门,依法处理。

3.3.4 试验后的材料处理

转基因玉米材料应单收、单贮,由专人运输和保管。试验结束后,除需要保留的材料外,剩余的试验材料一律焚毁。

3.3.5 试验结束后试验地的监管

保留试验地边界标记。当年和第二年不再种植玉米,由专人负责监管,及时拔除并销毁转基因玉米自生苗。

4 试验方法

4.1 荒地生存竞争能力检测

每个小区面积为 6 m^2 ($2 \text{ m} \times 3 \text{ m}$), 4 次重复。

4.1.1 播种

从 4 月至 6 月, 分期播种 3 次, 分地表撒播和 5 cm 深度播种两种方式, 每小区播种 150 粒。

4.1.2 管理

播种后不进行任何栽培管理。

4.1.3 调查时期

在播前调查 1 次试验小区的杂草种类、数量, 按植株垂直投影面积占小区面积的比例估算出覆盖率。玉米播种后 30 d 开始, 至玉米成熟, 每月调查 1 次, 调查内容同播前。

4.1.4 调查方法

采用对角线 5 点取样, 杂草调查每点 0.25 m^2 。

4.2 转基因玉米自生苗数量

在种植后第二年 5 月和 6 月, 各调查 1 次前一年种植转基因玉米的试验小区内自生苗情况, 记录每小区自生苗的数量, 并对自生苗进行生物学测定或分子生物学检测, 然后用人工或除草剂将转基因玉米自生苗完全清除。

4.3 栽培地生存竞争能力检测

小区面积不小于 25 m^2 ($5 \text{ m} \times 5 \text{ m}$), 三次以上重复, 随机排列, 按当地常规耕作管理的模式进行。

4.3.1 播种

按当地春玉米或夏玉米常规播种时间、播种方式和播种量进行播种。

4.3.2 调查记录

在玉米苗期(定苗后 7d)、心叶中期(即小喇叭口期)、心叶末期(即大喇叭口期)、抽雄期以及吐丝期, 每点调查 10 株玉米的株高, 并估算出覆盖率。在成熟期每小区收获 20 株玉米果穗, 比较转基因玉米与受体玉米在种子产量方面的差异, 并对收获种子进行发芽率检测,

按 GB/T 3543.4 规定的方法进行。

4.4 结果分析

用方差分析方法比较转基因玉米、受体玉米和杂草之间的生存竞争能力的差异。

ICS 65.020.99
B 20

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 720.2 - 2003

转基因玉米环境安全检测技术规范 第 2 部分：外源基因流散的生态风险检测

Environmental impact testing of genetically modified maize -

Part 2: testing the ecological risk of gene flow

2003-12-01 发布

2004-03-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

NY/T 720《转基因玉米环境安全检测技术规范》分为以下三个部分：

- 第 1 部分：生存竞争能力检测；
- 第 2 部分：外源基因流散的生态风险检测；
- 第 3 部分：对生物多样性影响的检测。

本部分是 NY/T 720 的第 2 部分。

本部分由中华人民共和国农业部提出并归口。

本部分起草单位：中国农业科学院植物保护研究所、农业部科技发展中心。

本部分主要起草人：彭于发、王振营、李宁、杨崇良、董英山、路兴波、付仲文。

转基因玉米环境安全检测技术规范

第 2 部分：外源基因流散的生态风险检测

1 范围

NY/T 720 的本部分规定了转基因玉米外源基因流散的生态风险检测方法。

NY/T 720 的本部分适用于转基因玉米基因流散和不同距离的流散率的检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 NY/T 720 本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本部分，然而，鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本部分。

GB 4404.1 粮食作物种子 禾谷类

NY/T720.1-2003 转基因玉米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 NY/T 720 的本部分。

3.1

基因流散 gene flow

转基因玉米中的外源基因向其他玉米栽培品种自然转移的行为。

3.2

流散率 outcrossing rate

转基因玉米与普通栽培玉米或相关野生种发生自然杂交的比率。

4 要求

4.1 试验品种

---- 转基因玉米品种。

-----与供试转基因玉米籽粒颜色不同、生育期相当的当地普通玉米品种或甜(糯)玉米品种。

4.2 其他要求

按 NY/T720.1-2003 中第 3 章的要求。

5 试验方法

5.1 试验设计

试验地面积不小于 10 000 m²(100 m×100 m)，在中央划出一个 25 m²(5 m×5 m)小区种植转基因玉米，周围种植非转基因玉米。

5.2 播种

转基因玉米原则上应分期播种，使之与非转基因玉米花期相遇，按常规播种量播种。

5.3 调查方法

沿试验地对角线的 4 个方向，分别用 A, B, C, D 标记，距转基因玉米种植区 5 m、15 m、30 m 和 60 m，每点随机收获 10 株玉米（第 1 果穗）。并按照 A1, A2, A3, ... 的顺序作上标记，晒干后储存用进一步检测。记录收获的每个玉米果穗的籽粒总数。

5.4 检测方法(5.4.1 和 5.4.2 任选其一)

5.4.1 胚乳检测

用胚乳显隐性性状进行鉴别。根据不同方向、距转基因玉米不同距离收获的玉米籽粒中表现转基因玉米胚乳性状的数量，初步确定转基因玉米花粉传播距离和不同距离的流散率。

5.4.2 生物测定

根据相应的转基因玉米目标基因类型，用相应的生物学鉴定方法，测定不同方向、距转基因玉米不同距离收获的玉米籽粒中表现转基因玉米特性的数量，初步确定花粉传播距离和不同距离的流散率。

5.4.3 分子生物学检测

对 5.4.1 和 5.4.2 中初步确认的含外源基因的籽粒或植株进行检测,确定基因流散的距离和不同距离的流散率。

5.5 调查和记录

记录收获的每个玉米果穗的籽粒总数及其中的含外源基因的玉米籽粒数。

5.6 结果表述

流散率按下列公式计算。

$$P = \frac{N}{T} \times 100$$

式中：

P —流散率，%；

N —每穗玉米中含外源基因的玉米籽粒数量，单位为粒；

T —每穗籽粒总量，单位为粒。

5.7 结果分析

用方差分析方法分析转基因玉米花粉传播距离和不同距离的流散率。

ICS 65.020.99

B 20

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 720.3—2003

转基因大豆环境安全检测技术规范

第3部分：对生物多样性影响的检测

Environmental impact testing of genetically modified maize -

Part 3: testing the effects on biodiversity

2003 - 12 - 01 发布

2004 - 03 - 01 实施

中华人民共和国农业部

发 布

前 言

NY/T 720《转基因玉米环境安全检测技术规范》分为以下三个部分：

- 第 1 部分：生存竞争能力检测；
- 第 2 部分：外源基因流散的生态风险检测；
- 第 3 部分：对生物多样性影响的检测。

本部分是 NY/T 720 的第 3 部分。

附录 A 为规范性附录。

本部分由中华人民共和国农业部提出并归口。

本部分起草单位：中国农业科学院植物保护研究所、农业部科技发展中心。

本部分主要起草人：彭于发、王振营、李宁、杨崇良、董英山、路兴波、付仲文。

转基因玉米环境安全检测技术规范

第 3 部分：对生物多样性影响的检测

1 范围

NY/T 720 的本部分规定了转基因玉米对玉米田生物多样性影响的检测方法。

NY/T 720 的本部分适用于转基因玉米对玉米田主要害虫及优势天敌种群数量、节肢动物群落结构及玉米病害影响的检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 NY/T 720 本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本部分，然而，鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本部分。

GB 4404.1-1996 粮食作物种子 禾谷类

NY/T720.1-2003 转基因玉米环境安全检测技术规范 第 1 部分：生存竞争能力的检测

3 术语和定义

下列术语和定义适用于 NY/T 720 的本部分。

3.1

靶标生物 target organisms

转基因玉米中目的基因所针对的目标生物。

3.2

非靶标生物 non-target organisms

转基因玉米中目的基因所针对的目标生物以外的其它生物。

4 要求

4.1 试验品种

- 转基因玉米品种；
- 受体玉米品种；
- 当地普通栽培玉米品种。

4.2 其他要求

按 NY/T 720.1-2003 中第 3 章的要求。

5 试验方法

5.1 试验设计

小区面积不小于 150 m^2 ($10\text{ m} \times 15\text{ m}$)，三次以上重复，常规耕作管理，全生育期不应喷施杀虫剂。

5.2 播种

按当地春玉米或夏玉米常规播种时间、播种方式和播种量进行播种。

5.3 调查记录

5.3.1 对玉米田节肢动物多样性的影响

5.3.1.1 调查方法

直接调查观察法：从定苗后 10 d 到成熟，每 7 d 调查 1 次，每小区采用对角线 5 点取样，每点固定 5 株玉米。记载整株玉米(蚜虫、叶螨记载上、中、下 3 叶)及其地面各种昆虫和蜘蛛的数量、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。对田间不易识别的种类进行编号，带回室内鉴定。

吸虫器调查法：在玉米定苗 15 d 后调查第 1 次，以后在玉米心叶中期、心叶末期、花丝盛期和灌浆后期各调查 1 次，共计 5 次，每小区采用对角线 5 点取样。每点用吸虫器抽取 5 株玉米(全株)及其地面 1 m^2 范围内的所有节肢动物种类。将抽取的样品带回室内清理和初步分类后，放入 75 %乙醇溶液保存，供进一步鉴定。

5.3.1.2 结果记录

记录所有直接观察到和用吸虫器抽取的节肢动物的名称、发育阶段和数量。

5.3.2 转基因抗虫玉米对靶标害虫(亚洲玉米螟)的抗虫作用

5.3.2.1 调查方法

每小区采用对角线 5 点取样, 每点连续调查相邻四行的 20 株玉米, 在心叶末期和穗期(收获前)各调查 1 次。心叶末期调查玉米心叶被害情况, 收获前剖秆(包括雌穗)调查玉米植株被害情况。

5.3.2.2 结果记录

调查玉米心叶受玉米螟危害程度, 其判断标准见附录 A 表 A1, 计算各小区心叶期玉米螟对叶片为害级别(食叶级别)的平均值, 然后按附录 A 表 A2 的规定判定玉米对玉米螟抗性水平。穗期调查记录玉米螟蛀孔数量、活虫数和蛀孔隧道长度(cm)。

5.3.3 转基因抗虫玉米对其他主要鳞翅目非靶标害虫的抗虫作用。

方法同 5.3.2, 具体调查对象为棉铃虫(*Helicoverpa armigera* Hübner)、甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua*)、粘虫(*Mythimna separata*(Walker))、高粱条螟(*Proceras venenosatum*(Walker))、桃蛀螟(*Dichocrocis punctiferalis*(Guénee))等主要鳞翅目害虫。对于高粱条螟和桃蛀螟的植株被害率、蛀孔数和幼虫存活数可结合 5.3.2 调查亚洲玉米螟危害时一同调查。

5.3.4 对玉米病害的影响

5.3.4.1 调查方法

在玉米心叶末期和穗期各调查 1 次, 每小区采用 5 点取样, 每点连续调查相邻的两行 20 株玉米, 对玉米主要病害发生情况进行调查, 具体病害的分级标准按附录 A 中表 A3、表 A4、表 A5 和表 A6 执行。

5.3.4.2 结果表述

对玉米茎腐病、玉米粗缩病、玉米瘤黑粉病和丝黑穗病的发病情况用发病率 D 表示, 按下列公式计算。

$$D = (N/T) \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

D ——发病率, %;

N ——病株数，单位为株；

T ——调查总株数，单位为株。

对玉米叶斑类病害（玉米大斑病、玉米小斑病和玉米弯孢菌叶斑病）、玉米矮花叶病、玉米纹枯病和玉米穗腐病的发病情况，通过对玉米鉴定材料群体中个体植株发病程度的综合计算，确定各鉴定材料的病情指数。病情指数计算方法如下：

$$I = \frac{\sum(N \times R)}{M \times T} \times 100 \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中：

I ——病情指数；

——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。

5.4 结果分析

采用方差分析方法比较转基因玉米与非转基因玉米对主要害虫及天敌种群数量、节肢动物群落结构以及主要病害的影响。

附录 A
(规范性附录)
分级评价标准

表 A1 玉米心叶受玉米螟危害程度的分级标准

食叶级别	症状描述
1	仅个别心叶上有少量针刺状(1 mm)虫孔
2	仅个别心叶上有中等数量针刺状(1 mm)虫孔
3	少数心叶上有大量针刺状(1 mm)虫孔
4	个别心叶上有少量绿豆大小(2 mm)虫孔
5	少数心叶上有中等数量绿豆大小(2 mm)虫孔
6	部分心叶上有大量绿豆大小(2 mm)虫孔
7	少数心叶上有少量直径大于 2 mm 的虫孔
8	部分心叶上有中等数量直径大于 2 mm 的虫孔
9	大部心叶上有大量直径大于 2 mm 的虫孔

表 A2 玉米对玉米螟的抗性评价标准

虫害级别	心叶期食叶级别平均值	抗性类型
1	1.0~2.0	高抗 HR
3	2.1~4.0	抗 R
5	4.1~6.0	中抗 MR
7	6.1~8.0	感 S
9	8.1~9.0	高感 HS

表 A3 玉米叶斑病分级标准

病情分级	症状描述
1	叶片上无病斑或仅在穗位下部叶片上有少量病斑, 病斑占叶面积少于 5%
3	穗位下部叶片上有少量病斑, 占叶面积 6%~10%, 穗位上部叶片有零星病斑
5	穗位下部叶片上病斑较多, 占叶面积 11%~30%, 穗位上部叶片有少量病斑
7	穗位下部叶片有大量病斑, 病斑相连, 占叶面积 31%~70%, 穗位上部叶片病斑较多
9	全株叶片基本为病斑覆盖, 叶片枯死

表 A4 玉米纹枯病分级标准

病情分级	症状描述
0	全株无症状
1	果穗下第 4 叶鞘及以下叶鞘发病
3	果穗下第 3 叶鞘及以下叶鞘发病
5	果穗下第 2 叶鞘及以下叶鞘发病
7	果穗下第 1 叶鞘及以下叶鞘发病
9	果穗及其以上叶鞘发病

表 A5 玉米穗腐病分级标准

病情分级	症状描述
1	发病面积占果穗总面积 0%~1%
3	发病面积占果穗总面积 2%~10%
5	发病面积占果穗总面积 11%~25%
7	发病面积占果穗总面积 26%~50%
9	发病面积占果穗总面积 51%~100%

表 A6 玉米矮花叶病分级标准

病情分级	症状描述
0	全株无症状
1	少数叶片出现轻微花叶症状
3	较多叶片出现轻微花叶症状
5	穗位以上叶片出现典型花叶症状，植株略矮，果穗略小
7	全株叶片出现典型花叶症状，植株矮化，果穗小
9	全株花叶症状显著，病株严重矮化，果穗不结实