ICS 65.020.99
B 20

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 719.1~719.3—2003

转基因大豆环境安全检测技术规范

Environmental impact testing of genetically modified soybean

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 719.1-2003 转基因大豆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 719.2-2003 转基因大豆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……9
NY/T 719.3-2003 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……13

ICS 65.020.99
B 20

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 719.1—2003

转基因大豆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 soybean－

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 719《转基因大豆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 719 的第 1 部分。

本部分附录 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、南京农业大学、农业部科技发展中心。

本部分主要起草人：彭于发、彭德良、喻德跃、强胜、李宁、付仲文。

转基因大豆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 719 的本部分规定了转基因大豆生存竞争能力的检测方法。

NY/T 719 的本部分适用于转基因大豆变为杂草的可能性、转基因大豆与非转基因大豆及杂草在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 719 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 4404.2　　粮食作物种子 — 豆类

3 要求

3.1 试验材料

转基因大豆品种、受体大豆品种、当地普通栽培大豆品种。

上述材料的质量应达到 GB 4404.2 中不低于二级大豆种子的要求。

3.2 资料记录

3.2.1 试验地名称与位置

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、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，以及当地大豆田常见病、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oC 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 100 m 以上非大豆作物为隔离带，或 100 m 范围内与其它大豆花期相隔 30 d 以上。

3.3.2 隔离措施

种植非豆科植物作为隔离带。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，应立即报行政主管部门和公安部门，依法处理。

3.3.4 试验后的材料处理

转基因大豆材料应单收、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

保留试验地的边界标记。当年和第二年不再种植大豆，由专人负责监管，及时拔除并销毁转基因大豆自生苗。

4 试验方法

4.1 竞争性

4.1.1 试验设计

实验地为农田生态类型，采用不完全随机区组设计，三次以上重复，小区面积不小于 4 m × 4 m 。

4.1.2 播种

播种方式分为地表撒播和正常播种。播种密度分为低密度（正常密度减半）和高密度（正常密度加倍）播种。分期播种 4 次，适宜季节和非适宜季节各 2 次。每种播种方式和播种密度的播种面积为 2 m×2 m 。

4.1.3 管理

播种后不进行任何栽培管理。

4.1.4 调查和记录

分别于大豆种植后 1 个月、2 个月和 3 个月各调查 1 次，调查和记录的内容包括：杂草种类、株数，杂草相对覆盖度；大豆株数，株高（抽取最高的 10 株），覆盖率。播种后每 2 周随机抽取 10 株调查 1 次大豆复叶的动态变化。

4.1.5 结果分析

用方差分析方法比较转基因大豆、受体大豆、普通栽培大豆的出苗率、成苗率的差异，及其与杂草在覆盖率和株高等方面的差异。

4.2 转基因大豆对常规除草剂的耐性（适用于抗除草剂转基因大豆）

4.2.1 试验设计

以受体大豆和普通栽培大豆为对照，在温室中进行盆栽，不少于 3 次重复。

选用当地大豆生产常用的土壤处理除草剂１种、茎叶处理除草剂１～２种（兼除单、双子叶杂草的可选１种，否则选２种）及目标除草剂，按推荐用量、加倍用量用药，设清水对照。

4.2.2 播种

播种深度 3 cm～4 cm。盆钵直径不小于 20 cm，播种密度 300 粒/m^2。

4.2.3 管理

播种后按当地常规栽培方式管理。

4.2.4 调查和记录

分别在用药后２周和４周调查和记录成苗率、植株高度（选取最高的 5 株）、药害症状（选取药害症状最轻的 5 株）。药害症状分级见附录 A。

4.2.5 结果表述

受害率按下列公式计算。

$$X=\Sigma\ (N\times S)/(T\times M)\times 100$$

式中：

X— 受害率，%；

N— 同级受害株数；

S— 级别数；

T— 总株数；

M— 最高级别。

4.2.6 结果分析

用新复极差法比较转基因大豆、受体大豆和普通栽培大豆对常规除草剂耐性的差异。

4.3 自生苗产生率

4.3.1 试验设计

按 4.1.1 给出的细节。在竞争性试验的同一块田中进行。当年不收获种子，在入冬前调查落粒数，在下一年观察转基因大豆产生自生苗的比例。调查总面积不小于 200 m^2 。

4.3.2 管理

不加任何管理措施。

4.3.3 调查和记录

调查和记录的内容包括：出苗率（大豆出苗旺盛期）、成苗率（始苗期１个月后）。

4.3.4 自生苗的验证

对自生苗进行生物测定或分子生物学检测，确认是否为转基因大豆。

4.3.5 结果表述

单位面积的自生苗出苗数和成苗数按公式（1）计算。

$$X=N_1/A_1 \quad \cdots\cdots (1)$$

式中:

X－单位面积出苗数,单位为株每平方米（株/m^2）；

N_1—出苗总数，单位为株；

A_1—调查的面积，单位为平方米(m^2)。

自生苗的转基因植株检出率按公式（2）计算。

$$X=n_2/N_2 \quad \cdots\cdots (2)$$

式中:

X－自生苗的转基因植株检出率,单位为百分数（%）；

n_2—自生苗的转基因植株检出数，单位为株；

N_2—自生苗的总数，单位为株。

成苗数按公式（3）计算。

$$X=N_3/A_3 \quad \cdots\cdots (3)$$

式中:

X－单位面积成苗数,单位为株每平方米（株/m^2）；

N_3—总成苗数，单位为株；

A_3—调查的面积，单位为平方米。

转基因大豆自生苗产生率按公式（4）计算。

$$X=n_4/N_4 \quad \cdots\cdots (4)$$

式中:

X—转基因大豆自生苗产生率,单位为百分数（%）；

n_4—转基因大豆检出数，单位为株；

N_4—检测植株总数，单位为株。

4.4 繁育系数

4.4.1 试验设计

按 4.1.1 给出的细节。

4.4.2 管理

按当地常规栽培方式播种后，不加任何其他管理措施。

4.4.3 调查和记录

记录转基因大豆、受体大豆和普通栽培大豆的始花期、盛花期、成熟期、单株粒数。

4.4.4 结果分析

用新复极差法比较转基因大豆、受体大豆和普通栽培大豆的始花期、盛花期、单株粒数的差异。

4.5 种子自然延续能力

4.5.1 试验设计

转基因大豆、受体大豆和普通栽培大豆种子每 20 粒分别盛装于小尼龙网袋中，各 12 袋，分别置于网室地表和网室地下 20 cm。4 次重复。试验从当地正常收获期开始。

4.5.2 种子发芽率检测

按 GB/T 3543.4 规定的方法进行。

4.5.3 调查和记录

记录正常幼苗、不正常幼苗、未发芽种子和新鲜不发芽种子。

4.5.4 结果分析

用新复极差法比较转基因大豆、受体大豆和普通栽培大豆在不同时期发芽率的差异。

4.6 种子落粒性

4.6.1 试验设计

按 4.1.1 给出的细节。

4.6.2 栽培管理

按当地常规栽培方式播种后，不加任何其他管理措施。

4.6.3 调查和记录

随机选择不同品种不同播期处理的 10 个植株，在大豆生理成熟后开始，观察供试材料在自然条件下的落粒数。每 7d 观察 1 次，共观察 3 次。计算落粒率。记录植株总粒数、已落粒数。

4.6.4 结果表述

落粒率按公式（5）计算。

$$X= n_5/ N_5 \cdots\cdots (5)$$

式中：

X—落粒率，单位百分数（%）；

n_5— 每株落粒数；

N_5—每株总粒数。

4.6.5 结果分析

用新复极差法比较转基因大豆、受体大豆和普通栽培大豆落粒性的差异。

附录 A
（规范性附录）
除草剂药害症状分级标准

表 A1 除草剂药害症状标准

药害级别	症状描述
0 级	与清水对照生长一致
1 级	株高、叶色略与对照不同
2 级	植株略显畸型、株高低于对照
3 级	植株明显矮化、茎杆增粗、叶片略显增厚且颜色加深或叶片变黄
4 级	植株停止生长，畸形严重、僵苗或整张叶片枯黄死亡，植株萎蔫
5 级	植株死亡

ICS 65.020.99
B 20

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 719.2—2003

转基因大豆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 soybean－

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 719《转基因大豆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 719 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、南京农业大学、农业部科技发展中心。

本部分主要起草人：彭于发、彭德良、喻德跃、强胜、李宁、付仲文。

转基因大豆环境安全检测技术规范
第 2 部分：基因流散的生态风险检测

1 范围

NY/T 719 的本部分规定了转基因大豆基因流散的生态风险检测方法。

NY/T 719 的本部分适用于转基因大豆与野生大豆、普通栽培大豆的流散率以及基因流散距离和频率的检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 NY/T 719 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。

NY/T 719.1－2003　转基因大豆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 719 的本部分。

3.1

基因流散 gene flow

转基因大豆中的外源基因向普通栽培大豆或相关野生种自然转移的行为。

3.2

流散率 outcrossing rate

转基因大豆与普通栽培大豆或相关野生种发生自然杂交的比率。

4 要求

按 NY/T 719.1－2003 中第 3 章的要求。

5 试验方法

5.1 转基因大豆与野生及栽培大豆不同基因型流散率

5.1.1 试验设计

单行相间种植，按对比法顺序排列，受体材料不少于 10 个。小区面积不少于 10 m^2，4 次重复，东西向、南北向各 2 次重复。

5.1.2 播种

播种深度 3 cm ~ 4 cm。每平方米播种 10 g ~ 12 g。

5.1.3 管理

按当地常规栽培方式管理。

5.1.4 调查和记录

调查并记录出苗期、始花期、盛花期、终花期和成熟期。

5.1.5 检测

将收获的非转基因材料种子（每处理不少于 1000 粒）在温室或田间种植，出苗后进行生物学鉴定或分子生物学检测，记录含有外源基因的植株数。

5.1.6 结果表述

流散率按公式（1）计算。

$$P = \frac{N}{T} \times 100 \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots (1)$$

式中：

P—流散率，%；

N—检测的含有外源基因的植株数，单位为株；

T—播种后出苗总数，单位为株。

5.1.7 结果分析

用方差分析方法比较转基因大豆与野生及普通栽培大豆不同基因型流散率的差异。

5.2 基因流散距离和频率的检测

5.2.1 试验设计

采用角度大于 90° 的扇形，扇形口位于上风口，扇形半径 30 m ~50 m，不设重复。面积约 2000 ~ 3500 m^2。转基因大豆种植在扇形口，其他材料种植于扇形脊。用转基因大豆为授粉者，半径不小于 2 m，选择非转基因普通栽培大豆为接受花粉者。

5.2.2 播种

播种深度 3cm ～4cm。。每平方米播种 10g ~12g。

5.2.3 管理

按当地常规栽培方式管理。

5.2.4 调查方法

在成熟期以扇行口为起点，按距离梯度 1 m、2 m、5 m、10 m、20 m 和 50 m 收获非转基因大豆种子，每个距离取样不少于 1000 粒种子。

5.2.5 检测方法

收获后的种子当年在温室条件下或次年在田间种植，出苗后进行生物学鉴定或分子生物学检测，记录含有外源基因的植株数。

5.2.6 结果表述

计算基因流散距离和频率。

流散率结果计算见公式（1）。

ICS 65.020.99
B 20

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 719. 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 soybean－

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 719《转基因大豆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 719 的第 3 部分。

本部分附录 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、南京农业大学、农业部科技发展中心。

本部分主要起草人：彭于发、彭德良、喻德跃、强胜、李宁、付仲文。

转基因大豆环境安全检测
第 3 部分：对生物多样性影响的检测

1 范围

NY/T 719 的本部分规定了转基因大豆对生物多样性影响的检测方法。

NY/T 719 的本部分适用于转基因大豆对大豆田节肢动物多样性、大豆病害及大豆根瘤菌影响的检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 NY/T 719 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 4404.2　粮食作物种子 — 豆类

NY/T 719.1－2003　转基因大豆环境安全检测技术规范　第 1 部分：生存竞争能力检测

3 要求

按 NY/T 719.1－2003 中第 3 章的要求。

4 试验方法

4.1 试验设计

小区采用随机排列，小区间设有 2 m 宽隔离带，小区面积不小于 150 m^2，4 次重复。

处理 1 转基因大豆不喷施农药；

处理 2 受体大豆不喷施农药；

处理 3 当地普通栽培大豆品种不喷施农药；

处理 4 当地普通栽培大豆品种喷施农药。

4.2 播种

播种深度 3 cm～4 cm。每平方米播种 10 g～12 g。

4.3 管理

按当地常规栽培方式管理。

4.4 调查和记录

4.4.1 对大豆田节肢动物多样性的影响

4.4.1.1 调查方法

直接观察法：从出苗到成熟，每 10 d 调查 1 次，每次调查时每小区对角线 5 点取样，每点调查 20 株，记载大豆上、中、下 3 个叶位的节肢动物的种类和所处的发育阶段。在调查时应包括:

—— 害虫：粉虱、 蚜虫、蓟马、螨类、斜纹夜蛾、豆天蛾等；

—— 捕食性昆虫：蜘蛛、瓢虫、草蛉、花蝽、猎蝽；

—— 拟寄生昆虫：赤眼蜂（成虫阶段）。

吸虫器调查法：在大豆齐苗后 V3－V5 调查第 1 次，以后在 R1 和 R5 期各调查 1 次。每处理调查 5 点，每点用吸虫器由下往上吸取 10 株大豆（全株）及其地面上的节肢动物。样品用 75 %乙醇溶液浸泡，带回室内整理和分类鉴定。

4.4.1.2 调查和记录

记录节肢动物粉虱、 蚜虫、蓟马、螨类、斜纹夜蛾、豆天蛾、蜘蛛、瓢虫、草蛉、花蝽、猎蝽、赤眼蜂等的发生种类和数量。

4.4.2 对大豆主要病害的影响

4.4.2.1 调查方法

病毒病：在大豆苗期、鼓粒期各调查 1 次，按对角线 5 点取样，每点 20 株。

霜霉病：在大豆出苗后 30d、始花期、鼓粒期各调查 1 次，按对角线 5 点取样，每点 20 株。

孢囊线虫病：在大豆出苗后 V3－V5 期调查 1 次，按对角线 5 点取样，每点 20 株。

4.4.2.2 记录

记录大豆田病毒病、霜霉病和孢囊线虫病的发病株数、发病级别和调查总株数。

按分级标准调查植株发病程度，以发病率和病情指数表示。分级标准见规范性附录 B，C，D。

4.4.2.3 结果表述

发病率按公式（1）计算。

$$D=N_1/T_1 \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots \quad (1)$$

式中：

D—发病率，单位为百分数（%）；

N_1—发病植株数，单位为株；

T_1—调查总株数，单位为株。

病情指数按公式（2）计算。

$$I=\sum (N_2\times R)/[T_2\times M] \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots \quad (2)$$

式中：

I—病情指数，%；

N_2—各级发病植株数，单位为株；

R—发病等级；

T_2—调查总株数，单位为株；

M—分级的最高级别。

4.4.3 对大豆根瘤菌的影响

4.4.3.1 调查方法

在大豆收获期，每小区按对角线 5 点取样，每点 20 株。

4.4.3.2 记录

统计单株大豆全根系根瘤数。

4.5 结果分析

用方差分析法比较转基因大豆与其它大豆对大豆田节肢动物多样性、大豆病害及大豆根瘤菌影响的差异。

附录 A

（规范性附录）

分级标准

表 A1 大豆花叶病毒病分级标准

病情级别	症状描述
0 级	植株正常，无症状
1 级	植株正常，叶平展，呈轻花叶或黄花斑驳（无脉枯）
2 级	植株基本正常，花叶，斑驳花叶，卷叶花叶
3 级	植株略矮，皱缩花叶
4 级	植株矮化，叶片畸形皱缩，系统脉枯或枯斑，芽枯

表 A2 大豆霜霉病分级标准

病情级别	症状描述
0 级	无病斑或其他感染标志
1 级	有少数局限型病斑，小点状，直径 1mm 以下；病斑约占叶面积 1 %以下
2 级	散生不规则形褪绿病斑，直径 2 mm 左右，病斑约占叶面积 1 %~5 %
3 级	病斑扩展，直径 3 mm ~4mm，病斑约占叶面积 6 %~20 %
4 级	扩展型病斑，直径 4 mm 以上，病斑约占叶面积 21 %~50 %
5 级	扩展型病斑，病斑约占叶面积 51 %

表 A3 大豆孢囊线虫病分级标准

病情级别	每株孢囊数
0 级	根系无孢囊
1 级	0.1~3.0 个
3 级	3.1~10.0 个
5 级	10.1~30.0 个
7 级	30~100 个
9 级	100 个以上