

中华人民共和国国家标准

农业农村部公告第 864 号—19—2024

转基因植物及其产品环境安全检测 抗虫玉米 抗虫性室内生物测定

Evaluation of environmental impact of genetically modified plants and its
derived products—Insect-resistant maize—
For laboratory bioassay of insect resistance

2024-12-30 发布

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。

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：天津市农业科学院、农业农村部科技发展中心、中国农业科学院棉花研究所、中国农业科学院植物保护研究所、山东省农业科学院植物保护研究所。

本文件主要起草人：赵新、张凯、王颢潜、王成、孙宇、齐欣、王雅偲、张辰、姚俊津、刘娜、李瑞环、雒珺瑜、谢家建、路兴波、徐晓辉、兰青阔、王永。



转基因植物及其产品环境安全检测

抗虫玉米 抗虫性室内生物测定检测

1 范围

本文件规定了室内条件下转基因抗虫玉米对棉铃虫(*Helicoverpa armigera*)、亚洲玉米螟(*Ostrinia furnacalis*)、黏虫(*Mythimna separata*)、草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)抗虫性的检测方法。

本文件适用于室内条件下转基因抗虫玉米对棉铃虫、亚洲玉米螟、黏虫、草地贪夜蛾的抗虫性检测。

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 4404.1—2008 粮食作物种子 禾谷类

农业部 953 号公告—10.1—2007 转基因植物及其产品环境安全检测 抗虫玉米 第 1 部分:抗虫性

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

转基因抗虫玉米 transgenic insect-resistant maize

通过基因工程技术将外源抗虫基因导入玉米基因组而培育出的抗虫玉米自交系及其衍生品种。

3.2

靶标害虫 target pest

转基因抗虫玉米中的目的蛋白所针对的目标生物,在本文件中特指棉铃虫、亚洲玉米螟、黏虫、草地贪夜蛾。

3.3

死亡率 mortality

死亡的受试生物个体数占总受试生物个体数的比率(%)。

3.4

校正死亡率 corrected mortality

经过用空白对照组的自然死亡率加以校正的处理组的死亡率。

4 原理

将室内饲养的棉铃虫、亚洲玉米螟、黏虫、草地贪夜蛾的初孵幼虫(卵孵化后 24 h 内),分别人工转接在转基因抗虫玉米组织上进行饲养。以转基因抗虫玉米对应的非转基因玉米为对照,饲养一定时间后,观察转基因抗虫玉米及其对应的非转基因玉米上棉铃虫、亚洲玉米螟、黏虫、草地贪夜蛾的存活情况,并根据感虫组的自然死亡率计算校正死亡率,评估转基因抗虫玉米对棉铃虫、亚洲玉米螟、黏虫、草地贪夜蛾的抗性水平。

5 仪器设备

5.1 光照培养箱或人工气候室。

5.2 其他相关仪器和设备。

6 试验材料

6.1 试验材料

转基因抗虫玉米品种(系)、对应的非转基因玉米品种(系)、感虫玉米品种(系)。应符合 GB 4404.1—2008 中不低于二级玉米种子的要求。

6.2 靶标害虫

棉铃虫、亚洲玉米螟、黏虫和草地贪夜蛾种群在实验室内饲养 2 代以上,遗传背景相对一致,且近 2 代内未接触过任何化学农药或转基因抗虫植物材料。选择棉铃虫、亚洲玉米螟、黏虫、草地贪夜蛾初孵幼虫(卵孵化后 24 h 内),用于室内生物测定试验。

6.3 区组设计

随机区组设计,3 次重复,小区面积为 30 m²(5 m×6 m),行距 60 cm,株距 25 cm,常规栽培管理,全生育期不应喷施杀虫剂。按照农业部 953 号公告—10.1—2007 中的 5.1 执行。

7 试验步骤

7.1 棉铃虫

7.1.1 取样时期和部位

每个小区随机选取 20 株正常生长的玉米植株,吐丝期采集新抽丝且未授粉的幼嫩花丝、灌浆期(授粉后 15 d~20 d)的幼嫩籽粒。

7.1.2 接虫方法

将每株玉米适量的整根花丝或完整籽粒放入适宜的养虫器皿内,每株玉米 5 皿,每皿 1 头,共 20 株玉米。

7.1.3 饲养条件

温度 26℃~28℃,相对湿度 70%~80%,光周期 16 h : 8 h(L : D)的条件下饲养。

7.1.4 调查时间和方法

接虫后,视玉米组织的新鲜程度更换相同来源的组织,于第 6 d 调查各处理棉铃虫的存活情况(用小毛笔轻触,无任何反应或生长受到明显抑制,则视为死亡),记录存活虫数。

7.2 亚洲玉米螟

7.2.1 取样时期和部位

每个小区随机选取 20 株正常生长的玉米植株,心叶期(V6 期~V8 期)采集未展开的幼嫩心叶、吐丝期采集新抽丝且未授粉的幼嫩花丝、灌浆期(授粉后 15 d~20 d)的幼嫩籽粒。

7.2.2 接虫方法

将每株玉米适量的叶片或整根花丝或完整籽粒放入适宜的养虫器皿内,每株玉米 1 皿,每皿 5 头,共 20 株玉米。

7.2.3 饲养条件

温度 26℃~28℃,相对湿度 70%~80%,光周期 16 h : 8 h(L : D)的条件下饲养。

7.2.4 调查时间和方法

接虫后,视玉米组织的新鲜程度更换相同来源的组织,于第 6 d 调查各处理亚洲玉米螟的存活情况(用小毛笔轻触,无任何反应或生长受到明显抑制,则视为死亡),记录存活虫数。

7.3 黏虫

7.3.1 取样时期和部位

每个小区随机选取 20 株正常生长的玉米植株,V4 期~V6 期采集未展开的幼嫩心叶。

7.3.2 接虫方法

将每株玉米适量的叶片放入适宜的养虫器皿内,每株玉米 1 皿,每皿 5 头,共 20 株玉米。

7.3.3 饲养条件

温度 26℃～28℃，相对湿度 70%～80%，光周期 16 h：8 h(L：D)的条件下饲养。

7.3.4 调查时间和方法

接虫后，视玉米组织的新鲜程度更换相同来源的组织，于第 6 d 调查各处理黏虫的存活情况(用小毛笔轻触，无任何反应或生长受到明显抑制，则视为死亡)，记录存活虫数。

7.4 草地贪夜蛾

7.4.1 取样时期和部位

每个小区随机选取 20 株正常生长的玉米植株，V5 期～V8 期采集未展开的幼嫩心叶、吐丝期采集新抽丝且未授粉的幼嫩花丝，灌浆期(授粉后 15 d～20 d)的幼嫩籽粒。

7.4.2 接虫方法

将每株玉米适量的叶片或整根花丝或完整籽粒放入适宜的养虫器皿内，每株玉米 5 皿，每皿 1 头，共 20 株玉米。

7.4.3 饲养条件

温度 26℃～28℃，相对湿度 70%～80%，光周期 16 h：8 h(L：D)的条件下饲养。

7.4.4 调查时间和方法

接虫后，视玉米组织的新鲜程度更换相同来源的组织，于第 6 d 调查各处理草地贪夜蛾的存活情况(用小毛笔轻触，无任何反应或生长受到明显抑制，则视为死亡)，记录存活虫数。

8 结果分析与表述

8.1 结果分析

按公式(1)计算转基因抗虫玉米品种(系)、对应的非转基因玉米品种(系)和感虫玉米品种(系)的死亡率；按公式(2)计算转基因抗虫玉米品种(系)和对应的非转基因玉米品种(系)的各靶标害虫的校正死亡率，并进行方差分析。

$$x = \frac{N - n}{N} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中：
x ——死亡率，单位为百分号(%)；
n ——存活总数，单位为头；
N ——接虫总数，单位为头。

$$y = \frac{x_t - x_0}{1 - x_0} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中：
y ——校正死亡率，单位为百分号(%)；
x_t ——受试材料死亡率，单位为百分号(%)；
x₀ ——感虫对照材料死亡率，单位为百分号(%)。

注：如果取食感虫对照品种组织的靶标害虫幼虫死亡率小于 20%，表明试验体系正常，否则需重新试验。

8.2 结果表述

按照表 1 判定受检材料的抗性级别，结合统计分析结果，结果表述为“靶标害虫×××在转基因抗虫玉米×××(组织名称)和对应的非转基因玉米材料上的校正死亡率差异“达到显著(极显著)水平”或“不显著”，抗性级别为×××”。

表 1 靶标害虫抗性级别判定标准

抗性级别	亚洲玉米螟幼虫 校正死亡率(y)，%	棉铃虫/黏虫/草地贪夜蛾幼虫 校正死亡率(y)，%
高抗	y≥95	y≥90

表 1（续）

抗性级别	亚洲玉米螟幼虫 校正死亡率(y), %	棉铃虫/黏虫/草地贪夜蛾幼虫 校正死亡率(y), %
抗	$95 > y \geq 60$	$90 > y \geq 60$
中抗	$60 > y \geq 40$	$60 > y \geq 40$
感	$40 > y$	$40 > y$