

NONGYAO SHENGWU HUOXING CESHI BIAOZHUN
CAOZUO GUIFAN
CHUCAOJI JUAN

农药生物活性测试标准 操作规范

除草剂卷

刘 学 顾宝根 主编



化学工业出版社

农药生物活性测试标准 操作规范

除草剂卷

刘 学 顾宝根 主编



化学工业出版社

· 北 京 ·

作为除草剂分卷之一，本书按靶标和应用技术两大部分，系统收集和整理了 155 项除草剂生物测定相关的 SOP 标准。其中，靶标部分包括了用于除草剂生物测定靶标的选择标准以及杂草种子的采集、保存、活力测定和休眠破除方法等的标准，除草剂生物测定所采用的常规靶标试材的生物学特性及培养方法标准，以及靶标试材包括禾本科杂草、阔叶杂草、莎草科杂草和藻类等 71 种杂草。应用技术部分则包含除草剂新化合物评价方法、室内生物活性测定方法、除草剂混剂活性评价方法、除草剂安全性评价方法和除草剂作用特性测定方法等标准。

本书可供从事农药特别是除草剂的生产质量控制、农药管理、农药登记、核查市场商品以及国际贸易的相关人员查阅和参考。

图书在版编目 (CIP) 数据

农药生物活性测试标准操作规范. 除草剂卷/刘学, 顾宝根
主编. —北京: 化学工业出版社, 2016. 6
ISBN 978-7-122-26957-7

I. ①农… II. ①刘…②顾… III. ①除草剂-生物活性-农
药测定-技术操作规程 IV. ①S481-65

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 094114 号

责任编辑: 刘 军	文字编辑: 孙凤英
责任校对: 宋 玮	装帧设计: 关 飞

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)
印 刷: 北京永鑫印刷有限责任公司
装 订: 三河市宇新装订厂
787mm×1092mm 1/16 印张 14³/₄ 字数 370 千字 2016 年 8 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899
网 址: <http://www.cip.com.cn>
凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 60.00 元 版权所有 违者必究

本书编写人员名单

主 编：刘 学 顾宝根

副 主 编：杨 峻 林长福 张宗俭

编写人员 （按姓名汉语拼音排序）

陈 杰	崔东亮	范志金	顾宝根	林长福
刘 学	单 彬	颜克成	杨 峻	叶贵标
张朝贤	张宏军	张 佳	张宗俭	

前言

农药伴随着人类社会文明的进步而发展,从公元前 1000 多年古希腊用硫黄熏蒸杀虫,到 19 世纪末法国波尔多液的利用,从 20 世纪 60 年代的滴滴涕 (DDT)、2,4-滴 (2,4-D) 等有机农药的问世,到后来诸多高效绿色农药以及仿生和生物农药的开发应用,农药一直在更新和进化,并在保护农林生产、确保粮食安全、改善人们环境卫生状况中,起着越来越重要的作用。随着食品安全要求的提高,环境保护意识的增强,对农药的要求越来越高,高效、安全、环保成为现代农药的发展方向,与此同时,农药检测技术也不断发展,以适应农药行业发展和农药管理的需要。

农药生物活性测定技术是最传统、最重要的农药检测技术之一,它贯穿于农药开发到生产应用的整个过程,是农药科研、教育、管理和应用的基本技术和方法。新农药的发现必须依赖生物活性测定所获得的各项资料和信息,对其是否有商品化价值做出评价,生测技术不仅是发现有效化合物的“眼睛”,也是新农药创制开发的“航标”。生测技术是农药登记管理进行药剂生物活性和使用效果验证的基本方法,通过规范的活性测定,验证药剂的有效性,确保农药的使用效果。此外,生测技术是农药药害鉴定、抗性监测、示范推广、使用技术形成及注意事项确定的必要手段,通过活性测定,完善农药使用技术,确保产品的安全性和使用的正确性。

随着农药科研技术水平的发展,农药管理标准和要求的提高,农药测试技术和方法不断向规范化、标准化方向发展,GAP 和 GLP 等实验质量管理体系不断形成和推广应用。生测技术是传统检测技术,具有生物试材多样、方法众多、条件复杂、评判标准不统一、结果变异大等问题。因此,生测技术的标准化和规范化尤为重要。为此,结合国家“十五”科技项目“创制农药生物活性评价 SOP 规范的建立”的成果,根据农药生测技术的实践和经验,农业部农药检定所和沈阳化工研究院组织国内从事农药生测技术工作的相关专家,编写了本书。

本书根据农药良好实验室规范 (GLP) 要求,对农药室内活性试验的试材、设备、方法、条件和结果分析等进行了规范,努力达到试材的一致性、设备的统一性、方法的标准化、程序的规范化、结果的可靠性,实现试验可重复,结果可追溯,以适应农药研发和管理要求不断提高的需要。本书涵盖了靶标培养及试验操作的标准操作规范 (SOP) 155 条,希望本书有利于统一和规范我国农药生物测定工作,为农药研发、鉴定、示范、应用服务。

由于农药生物活性测定技术内容广、方法多,加上编者水平有限,书中难免有疏漏和不足之处,敬请专家和同仁批评指正。

编者

2016 年 6 月

目 录

第一部分 靶标篇 /1

(一) 杂草种子采集与保存	2
SOP-SC-3001 除草剂靶标试材的选择标准	2
SOP-SC-3002 杂草种子的常规采集方法	3
SOP-SC-3003 杂草种子的特殊采集方法	4
SOP-SC-3004 种子保存的方法和条件	5
(二) 种子活力测定方法	7
SOP-SC-3005 杂草种子活力常规测定方法	7
SOP-SC-3006 红墨水染色法种子活力的测定	10
SOP-SC-3007 TTC 法种子活力的测定	11
SOP-SC-3008 溴麝香草酚蓝法种子活力的测定	12
SOP-SC-3009 酯酶同工酶法种子活力的测定	13
SOP-SC-3010 电导率法杂草种子活力的测定	15
SOP-SC-3011 种子休眠的破除	16
(三) 常规靶标试材培养	18
SOP-SC-3012 稗草	18
SOP-SC-3013 马唐	20
SOP-SC-3014 金狗尾草	21
SOP-SC-3015 大狗尾草	22
SOP-SC-3016 看麦娘	23
SOP-SC-3017 日本看麦娘	25
SOP-SC-3018 早熟禾	26
SOP-SC-3019 牛筋草	27
SOP-SC-3020 野燕麦	28
SOP-SC-3021 千金子	29
SOP-SC-3022 蔺草	30
SOP-SC-3023 假高粱	31
SOP-SC-3024 硬草	32
SOP-SC-3025 雀麦	33
SOP-SC-3026 节节麦	34
SOP-SC-3027 棒头草	35
SOP-SC-3028 鸭舌草	36

SOP-SC-3029	雨久花	37
SOP-SC-3030	慈姑	38
SOP-SC-3031	矮慈姑	39
SOP-SC-3032	泽泻	40
SOP-SC-3033	苘麻	41
SOP-SC-3034	红蓼	42
SOP-SC-3035	水蓼	43
SOP-SC-3036	春蓼	44
SOP-SC-3037	酸模叶蓼	45
SOP-SC-3038	浮萍	46
SOP-SC-3039	紫萍	47
SOP-SC-3040	扁蓄	48
SOP-SC-3041	鬼针草	49
SOP-SC-3042	狼把草	50
SOP-SC-3043	豚草	51
SOP-SC-3044	苍耳	52
SOP-SC-3045	龙葵	53
SOP-SC-3046	曼陀罗	54
SOP-SC-3047	田旋花	55
SOP-SC-3048	藜	56
SOP-SC-3049	荠菜	57
SOP-SC-3050	豆茶决明	58
SOP-SC-3051	野大豆	59
SOP-SC-3052	大巢菜	60
SOP-SC-3053	野西瓜	61
SOP-SC-3054	萝藦	62
SOP-SC-3055	苣荬菜	63
SOP-SC-3056	大蓟	64
SOP-SC-3057	鼬瓣花	65
SOP-SC-3058	节节菜	65
SOP-SC-3059	水苋菜	67
SOP-SC-3060	眼子菜	68
SOP-SC-3061	鳢肠	69
SOP-SC-3062	丁香蓼	70
SOP-SC-3063	陌上菜	71
SOP-SC-3064	香薷	72
SOP-SC-3065	卷茎蓼	73
SOP-SC-3066	猪殃殃	74
SOP-SC-3067	婆婆纳	75
SOP-SC-3068	遏蓝菜	76
SOP-SC-3069	节列角茴香	77

SOP-SC-3070 薄蒴草 78

SOP-SC-3071 播娘蒿 79

SOP-SC-3072 马齿苋 80

SOP-SC-3073 反枝苋 81

SOP-SC-3074 铁苋菜 82

SOP-SC-3075 牛繁缕 83

SOP-SC-3076 泽漆 84

SOP-SC-3077 鸭跖草 85

SOP-SC-3078 扁杆藎草 86

SOP-SC-3079 异型莎草 87

SOP-SC-3080 水莎草 88

SOP-SC-3081 香附子 89

SOP-SC-3082 蛋白核小球藻 90

第二部分 应用技术篇 /91

(一) 除草剂新化合物评价方法 92

SOP-SC-3083 除草剂普筛苗后喷雾处理法 92

SOP-SC-3084 除草剂普筛苗前喷雾处理法 95

SOP-SC-3085 除草剂初筛苗后喷雾处理法 97

SOP-SC-3086 除草剂初筛苗前喷雾处理法 99

SOP-SC-3087 除草剂复筛苗前喷雾处理法 101

SOP-SC-3088 除草剂复筛苗后喷雾处理法 104

(二) 除草剂室内生物活性测定方法 107

SOP-SC-3089 高粱法 (一) 107

SOP-SC-3090 高粱法 (二) 109

SOP-SC-3091 小杯法 110

SOP-SC-3092 小球藻法 111

SOP-SC-3093 去胚乳小麦幼苗法 113

SOP-SC-3094 番茄水培法 115

SOP-SC-3095 玉米根长法 117

SOP-SC-3096 再生苗称重法 119

SOP-SC-3097 除草剂培养皿法 120

SOP-SC-3098 浮萍法 122

SOP-SC-3099 燕麦幼苗法 124

SOP-SC-3100 稗草中胚轴法 126

SOP-SC-3101 除草剂烟草叶片浸渍法 128

SOP-SC-3102 萝卜子叶扩张法 129

SOP-SC-3103 除草剂菜豆叶片法 131

SOP-SC-3104 黄瓜幼苗形态法 132

SOP-SC-3105 黄瓜叶碟漂浮法	133
SOP-SC-3106 玻璃壁茎叶伸长法	135
SOP-SC-3107 小麦芽鞘法	137
SOP-SC-3108 大豆愈伤组织法	139
SOP-SC-3109 大麦胚乳法	140
SOP-SC-3110 油菜根生长抑制法	142
SOP-SC-3111 黄瓜子叶扩张法	144
SOP-SC-3112 “三重反应”法	146
SOP-SC-3113 离体黄瓜子叶生根法	148
SOP-SC-3114 离体小麦叶片保绿法	150
SOP-SC-3115 绿豆下胚轴生根法	151
SOP-SC-3116 水稻第二叶片倾斜法	153
SOP-SC-3117 水稻幼苗法	154
SOP-SC-3118 水稻幼苗高度法	155
SOP-SC-3119 豌豆劈茎法	157
SOP-SC-3120 尾穗苋黄化苗子叶苋红合成法	159
SOP-SC-3121 小麦芽鞘切段法	161
SOP-SC-3122 燕麦胚芽鞘切段法	163
SOP-SC-3123 叶绿素荧光法	165
SOP-SC-3124 整株盆栽法	166
SOP-SC-3125 种子萌发鉴定法	168
SOP-SC-3126 再生根法	169
SOP-SC-3127 百草枯电解质泄漏法	171
SOP-SC-3128 希尔反应法	172
SOP-SC-3129 改良半叶法测定除草剂对植物光合速率的影响	174
SOP-SC-3130 植物线粒体的分离制备及其活性测定	176
SOP-SC-3131 小篮子法测定除草剂对植物呼吸速率的影响	178
SOP-SC-3132 游离脯氨酸的测定	180
SOP-SC-3133 乙烯气相色谱法	181
SOP-SC-3134 化学去雄剂去雄效果的测定	182
SOP-SC-3135 除草剂离体 ALS 酶测定法	184
SOP-SC-3136 除草剂离体 EPSP 酶测定法	186
SOP-SC-3137 除草剂离体 HPPD 酶测定法	188
SOP-SC-3138 除草剂离体 PPO 酶测定法	190
(三) 除草剂混剂活性评价方法	192
SOP-SC-3139 等效线法混剂除草活性的测定	192
SOP-SC-3140 Gowing 法混剂除草活性的测定	194
SOP-SC-3141 Colby 法混剂除草活性的测定	196
(四) 除草剂安全性评价方法	198
SOP-SC-3142 除草剂作物安全性评价	198

SOP-SC-3143 除草剂选择性评价方法	201
SOP-SC-3144 除草剂药害诊断的基本程序	202
(五) 除草剂作用特性测定方法	203
SOP-SC-3145 温度变化对除草剂活性影响测定	203
SOP-SC-3146 土壤湿度变化对除草剂活性影响测定	205
SOP-SC-3147 光照强度变化对除草剂活性影响测定	207
SOP-SC-3148 土壤 pH 值对除草剂活性影响测定	209
SOP-SC-3149 有机质含量对除草剂活性影响测定	211
SOP-SC-3150 降雨对除草剂活性影响测定	213
SOP-SC-3151 活性炭隔离吸收传导性测定法	215
SOP-SC-3152 茎叶涂抹吸收传导性测定法	217
SOP-SC-3153 土壤色谱移动性测定法	219
SOP-SC-3154 培养皿玻璃缸挥发毒性测定法	221
SOP-SC-3155 盆栽玻璃缸挥发毒性测定法	223

第一部分

靶标篇

(一) 杂草种子采集与保存

SOP-SC-3001 除草剂靶标试材的选择标准

Pesticide Bioassay Testing SOP for Selection Criteria of Herbicide Material

除草剂生测靶标试材的选择范围很广，根据测定药剂以及研究目的不同，可以选择相应的靶标生物或其组织、细胞或细胞器（线粒体、质体等）。从藻类、苔藓等低等植物到杂草、栽培作物等，均可以作为除草剂生测靶标试材而使用。在除草剂生物测定研究中，靶标试材的选择应具备以下几个条件：

- (1) 在分类学上、经济上或地域上有一定代表性的杂草。
- (2) 对药剂敏感性符合要求，且对药剂的反应以及程度便于定性、定量测定，且与剂量有良好的相关性。
- (3) 易于移取、控制和进行试验操作。
- (4) 易于大规模工业化培养、繁育和保存，以便保证终年供给。不因地区或季节的限制而影响试验的开展。
- (5) 种群纯正，个体间差异小，生理标准均一。
- (6) 作为新化合物除草活性筛选靶标，最好选择生长迅速，代表性强，种子量大，无休眠习性，对光、温期不敏感，易于终年大量培养，对药剂反应敏感的试材进行试验。
- (7) 作为除草剂作用方式或特性研究，则应选择敏感性高、反应稳定的试材进行测定。
- (8) 应用范围以及禁用对象研究则应选择大面积栽培的作物以及当地的主要品种进行试验。

SOP-SC-3002 杂草种子的常规采集方法

Pesticide Bioassay Testing SOP for Weed Seed Harvesting

1 适用范围

本规范适用于了解不同种类杂草的成熟类型，适期采集杂草种子。

2 杂草种子成熟类型

有夏熟杂草和秋熟杂草两种类型。

2.1 夏熟杂草

亦为秋冬型杂草，常见有看麦娘、日本看麦娘、硬草、蔺草、棒头草、早熟禾、猪殃殃、繁缕、牛繁缕、婆婆纳、大巢菜、荠菜、碎米荠、雀舌草、稻槎菜、春蓼等，危害夏熟作物。4月上旬开始抽穗开花，4月中、下旬部分种子开始成熟，至5月中下旬种子全部成熟。

2.2 秋熟杂草

亦为夏季发生型杂草。常见禾本科有：稗、稻稗、双穗雀稗、马唐、牛筋草、绿狗尾、金狗尾、大狗尾、千金子；阔叶草有：蓼、藜、苋（反枝苋、凹头苋、刺苋）、播娘蒿、车前子、鳢肠、龙葵、苘麻、苍耳、裂叶牵牛、香薷、大刺儿菜、鸭舌草、鸭跖草、矮慈菇、青葙、眼子菜等。莎草科杂草有：香附子、异型莎草、日照飘拂草、碎米莎草、水莎草、三棱草、扁杆蔗草等。

3 杂草种子的采收

在荒地、路旁、荒山等无农药污染地采收。根据各种杂草种子的成熟期，随时采收成熟种子。

4 采收后的处理

杂草种子采收后，平铺于种子盘表面，晾晒、揉打、过筛、风扬、去秕，保证种子净化率90%以上，含水量10%~15%。分装种子袋，贴上标签，记载杂草名称、采收时间、采收地点、采收人。

5 破除休眠处理

采收后的杂草种子经过自然休眠萌发或埋土、埋砂、层积处理，高温、低温、变温处理等破除休眠处理后，在适合的温湿度条件下测定种子发芽率，发芽率达到80%以上，入库4℃条件下保存。

SOP-SC-3003 杂草种子的特殊采集方法

Pesticide Bioassay Testing SOP for Weed Propagule Production

1 适用范围

本规范适用于了解不同种类杂草的繁殖器官及成熟类型，适期采集杂草的块茎或块根。

2 繁殖方式

有性繁殖和营养繁殖两种类型。有性繁殖主要以成熟的种子或果实传播繁衍后代；营养繁殖指杂草以其营养器官根、茎、叶或其一部分传播、繁衍滋生的方式。

3 营养繁殖类杂草

该类杂草主要为多年生杂草，根据营养器官的特点可分为：根茎类、根芽类、直根类、球茎类和鳞茎类等。例如：问荆、狗牙根、芦苇、两栖蓼、白茅、小旋花、刺儿菜、苣荬菜、苦荬菜、车前、蒲公英、羊蹄、香附子、酢浆草、眼子菜及小根蒜等主要以营养繁殖为主，一般这类杂草耐药性比较强，防治比较困难。

4 营养器官的采收

在路旁、荒山、闲置地等无农药污染地挖收或采集。根据各种杂草繁殖器官的生长期，随时采集根茎、根芽、直根、球茎和鳞茎等植株可繁殖部分。挖收时应保护芽体或块茎、块根不受损伤以防腐烂。

5 采收后的处理

繁殖器官采收后，平铺于种子盘表面，剔除病烂体、虫伤或机械伤体后，在通风阴凉处风干一定时间。体积大及水分含量高的块茎或块根，在不影响其萌发的基础上，可以做高温愈合处理，使形成愈伤木栓组织以减少病菌侵入机会。然后分装入种子袋，贴上标签，记载杂草名称、采收时间、采收地点、采收人。然后根据不同杂草的休眠条件创造适宜的储存环境，主要可通过窖藏、地下深埋及室内低温贮藏等方式。

SOP-SC-3004 种子保存的方法和条件

Pesticide Bioassay Testing SOP for Seed Storage Methods and Conditions

1 适用范围

本规范适用于杂草种子的贮藏。

2 贮藏方法

2.1 常规贮藏

在实际应用中，对种子的贮藏常采用在室内常温条件下的贮藏方法，一般包括袋装和散装。

2.1.1 袋装种子堆放

堆放时，袋与袋、袋与仓壁等之间要保持适当的间隔。种子袋内外要有标签，种子垛要有标牌，分别注明品种、等级、数量、纯度、净度、发芽率、水分、采集地、收获（入库）年月等。

2.1.2 散装种子的堆放

在种子批号较少，每批种子数量较大的情况下，利用散装方法堆放，便于检查、出晒、清理、节省包装材料（物），能提高仓容量。根据杂草种子的特点，通常可采用适当的散装工具。

2.2 低温贮藏

低温贮藏是在不损害种子生活力的前提下，利用多种方法降低仓贮温度，达到安全贮藏的一种方法，包括自然低温贮藏、通风低温贮藏和制冷低温贮藏等。

2.2.1 自然低温贮藏

利用冬季干冷空气使种子温度降低到 $\leq 0^{\circ}\text{C}$ 或 $\leq 5^{\circ}\text{C}$ ，采用隔热保冷措施延缓保冷时间，从而较长期地使种子处于低温状态。在气温回升前，要注意封闭门窗。

2.2.2 通风低温贮藏

利用通风机等设备，将冷空气通入，以降低种子温度，延长种子的贮藏时间。冬季使用效果明显，其他季节根据不同情况，合理使用这一方法。

2.2.3 制冷低温贮藏

这是更高水平的贮藏条件，以控制贮藏温度不受季节、环境等因素的影响。可以建立低温种子库，进行制冷贮藏。对于试验常用的杂草种子，一般数量不是很大时，最常用的是利用制冷冰柜和冰箱贮藏（ $-5\sim 0^{\circ}\text{C}$ ）。

2.3 其他贮藏

此外，对于一些种子可采用其他的贮藏方法，如地下贮藏、气体贮藏等。

2.3.1 地下贮藏

许多种子埋藏在地下，气体与温度等条件有利于长期保持其活力。选取一耕地或非耕地地块，要求地面较为平整，不宜积水，土壤湿度适宜。在地中挖出一个 30cm 长、15cm 宽、35cm 深的土坑，将一个 25cm $\times$ 10cm 的网袋平铺于坑底，四边展平并固定，在开口的一边装入种子，从网底一面铺到开口处，不能将种子重叠。对于不同的种子，应放置于不同的坑，且每种设 3 个重复。标牌和各种记录写清楚。最后，将从原地取出的土按原来层位埋入

坑中，并做标记。

2.3.2 气体贮藏

一些种子保存在普通大气中，寿命很短。但如果在低温和无氧条件下，则寿命可以延长很长时间。气体贮藏一般要求具有较好密闭性的容器，在低温（冰点温度下）条件下，在容器内放入氯化钙（按容量计，每升放氯化钙 9g），并排除空气而代以二氧化碳。二氧化碳浓度一般为 40%~50%。

3 注意事项

在贮藏中，应将不同品种、不同等级、不同水分的种子分开。籽粒易混难辨的种子分开，新陈种子分开。杂质过多、水分较高或有其他问题的种子应严格分开保存。

(二) 种子活力测定方法

SOP-SC-3005 杂草种子活力常规测定方法

Pesticide Bioassay Testing SOP for Determination of Weed Seed Germinability

1 适用范围

本规范适用于测试靶标种子发芽率和发芽势的测定。

2 标准发芽法

2.1 取样

随机取样经检验后的好种子 4 份。种子数量每份根据种子大小从 50~100 粒不等。

2.2 制作发芽床

大粒种子用洗涤后的细沙作发芽床；小粒种子用滤纸或吸水纸、纱布等作衬垫物。所用器具都需先消毒处理，然后将发芽床放入培养皿中。中粒种子两种发芽床均可。

2.3 加水

根据发芽床特性加入适量水分，用滤纸、吸水纸等吸去多余水分。

2.4 置床

将种子整齐排列在发芽床上，种子间保持适当距离。沙床测定时，可将种子轻轻压入沙中，使种子与沙面一致，然后加盖、标记，放入适宜温度的发芽箱内（湿度 90%）。

2.5 检查和记载

在试验期间，注意通气，以及温度、水分等情况。发芽试验按计算发芽势和发芽率的规定日期各检查、记载一次。如发芽率的日期规定在 7d 以上，应增加检查记载次数。

2.6 记载标准和计算方法

2.6.1 种子发芽记载标准

- ① 正常发芽种子。种子幼根、幼芽生长明显，色泽正常。
- ② 不正常发芽种子。种子缺根、缺芽或根芽腐烂、畸形；幼根、幼芽萎缩，呈水肿状等。

2.6.2 种子发芽势和发芽率的计算方法

$$\text{发芽势} = \frac{\text{发芽初期（规定日期内）正常发芽粒数}}{\text{共检种子粒数}} \times 100\%$$

$$\text{发芽率} = \frac{\text{发芽终期（规定日期内）全部正常发芽粒数}}{\text{供检种子粒数}} \times 100\%$$

发芽势和发芽率以 4 次重复平均数表示。4 次结果与平均数之间允许有一定差距（表 1）。

表 1 发芽率允许误差

平均发芽率/%	允许误差/%
>95	±2
91~95	±3
81~90	±4