

チヨウ目害虫抵抗性ワタ(*cry1Ac, Gossypium hirsutum* L.) (531, OECD UI :
MON-00531-6) 申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書..... 1

生物多様性影響評価書の概要

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況..... 2
(2) 使用等の歴史及び現状..... 2
(3) 生理学的及び生態学的特性..... 3

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

(1) 供与核酸に関する情報..... 5
(2) ベクターに関する情報..... 8
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法..... 8
(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性... 9
(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性... 10
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違..... 11

3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

(1) 使用等の内容..... 13
(2) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響
を防止するための措置..... 13
(3) 国外における使用等に関する情報..... 14

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

1 競合における優位性..... 15
2 有害物質の産生性..... 16
3 交雑性..... 17
4 その他の性質..... 17

第三 生物多様性影響の総合的評価..... 18

緊急措置計画書..... 19

第一種使用規程承認申請書

平成 16 年 4 月 20 日

農林水産大臣 亀井善之殿
環境大臣 小池百合子殿

申請者 氏名 日本モンサント株式会社
代表取締役社長 山根精一郎
住所 東京都中央区銀座 4 - 10 - 10
銀座山王ビル 8F

第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第 4 条第 2 項の規定により、次のとおり申請します。

| | |
|---------------------|--|
| 遺伝子組換え生物等の種類の名称 | チョウ目害虫抵抗性ワタ (<i>cry1Ac</i> , <i>Gossypium hirsutum</i> L.) (531, OECD UI : MON-ØØ531-6) |
| 遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容 | 食用又は飼料用に供するための使用、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為 |
| 遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法 | |

生物多様性影響評価書の概要

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

イ 和名：ワタ．英名：Cotton．学名：*Gossypium hirsutum* L.

ロ 宿主はアオイ科ワタ属に属する4倍体栽培ワタ(*Gossypium hirsutum*)の品種Coker312である。

ハ ワタ属の野生種は熱帯及び亜熱帯の乾燥地帯に分布しており、Fryxell は野生の2倍体種はその地理的分布から、オーストラリア群(11種)、アフリカ・アラビア群(8種)及びアメリカ群(12種)の3群に分けられている。また、野生2倍体種に加え、新大陸に自生する野生4倍体種には、*G. tomentosum*(ハワイ)、*G. mustelinum*(ブラジル北西部)、*G. darwinii*(ガラパゴス)、*G. lanceolatum*(メキシコ)、*G. barbadense*(アンチル列島、中南米)及び*G. hirsutum*(中米)がある。*G. hirsutum*の自生個体が群生していることは稀で、多くの場合海岸沿いないしは小島に分散して生育している。

なお、わが国において*G. hirsutum*を含め4倍体栽培ワタと交雑が可能な*Gossypium*属植物の自然分布は報告されていない。

(2) 使用等の歴史及び現状

イ *Gossypium*に属する種、亜種は41種を数え、ワタの野生種は新旧両大陸・アフリカ及びオーストラリアに知られ、原産地はインド・メキシコおよびペルーとされる。ワタの日本への伝来は、799年にインド人によってもたらされたのが最初であるとされているが、このワタはすぐに消滅したようである。その後、文禄年間(1592～1595)にワタの種子が九州に再び伝えられ、ワタ作は関東以南に広がり、明治15～20年頃には10万ha、2万4千トンの生産をみるにいたったが、その後、外綿の輸入に押されてしだいに衰微した。現在では、ワタの日本国内における商業栽培は行われておらず、主に観賞用などの目的で栽培されているのみである。尚、日本で古くから栽培されているのはアジア綿の*G. arboreum*と考えられている。

ロ ワタ属は41種から成るが、このうち栽培種は、旧大陸の「アジア綿」と総称される2倍体種(n=13)の*G. herbaceum*と*G. arboreum*及び、新大陸の「陸地綿」と呼ばれる4倍

体種(n=26)の *G. hirsutum* と *G. barbadense* である。現在、「アジア綿」は、インド、アフリカ及びアジアの限定された地域で栽培されているのみで、世界で生産されるワタの約98%は2つの「陸地綿」で、その90%は *G. hirsutum* 種となっている。

摘採した実綿には種子がついており、これを繰綿機にかけて分離した綿毛(lint)を綿花あるいは原綿と呼んでいる。綿花は綿糸・綿織物などの製綿用、あるいは綿火薬や充填用などに用いられる。実綿から綿毛を分離した残りが種子で、その表面につく平均3~5mmの短い繊維(短毛又は地毛)を脱リンター機でかき取ったものをリンターと呼ぶ。リンターは搾油工場で副産物として生産され、人造繊維や綿火薬の原料とされ、やや長いものは太糸の原料ともされる。リンターをとった種子は17~23%の油分を含み、これを圧搾するか溶媒で抽出するかして綿実油が得られる。種子1tから約130kgの綿実油が得られ、食用油のほかマーガリンや石鹼の原料などとして用いられる。搾油後の綿実粕は精製して主に飼料や肥料として用いられる。

米国農務省の統計情報に基づくと、2002年の全世界におけるワタの栽培面積は2,943万haであり、上位国を挙げるとインドが760万ha、米国が503万ha、中国が418万ha、パキスタンが280万haとなっている。

2002年のわが国における種子の輸入量は約15万トンであり、その内の約96%がオーストラリアから輸入されている。輸入された種子の内、約4万トンが搾油用として用いられ、残りのほとんどは、牛の飼料用として用いられた。尚、我が国では、大阪府内の製油会社が唯一、種子を海外から輸入して搾油を行っている。また、現在、輸入されている栽培用種子は、そのほとんどが米国から輸入されており、主に観賞用として栽培されている。この栽培用種子はある特定の種苗会社により輸入されており、その種苗会社によると、米国において第三者に委託して輸入する栽培用種子は非組換えワタであることをPCR法により確認しているとのことである。

(3) 生理学的及び生態学的特性

基本的特性

ワタは種子繁殖する多年生のアオイ科作物で、草丈は90cm~120cmに伸び、15~20節を有し、各節に葉と2芽をつけ、発育枝と結果枝を生じる。尚、ワタには越冬する能力がないので、多年生となるのは基本的に熱帯地方のみで、温帯の日本では冬季に枯死する為、一年生である。

生息又は生育可能な環境の条件

ワタの生育は平均気温 25 を最適とし、20~28 に適する。降雨量は年 1,000~1,500mm が適しており、生育期には相当の降雨を必要とする。しかし開花期以降の多雨は落花・落さくを増加させる。また少雨では繰綿歩合が低下する。北米のワタ作地帯は北緯 37~39° で

あり、北半球では一般に北緯 43° が北限で、ヨーロッパでは 42°、中央アジアでは 44.3° まで分布している。日本では奥羽南端(37.5°)までとされる。土壌は排水良好な砂質壤土に適し、アルカリ土壌に強く酸性を嫌う。また相当塩濃度の高い干拓地にも生育する。

繁殖又は増殖の様式

完熟した種子は開じよの際に出てくるが、基本的に綿毛に覆われているために脱粒しにくい。種子の休眠性はきわめて低い。

ワタは、塊茎や地下茎などによる栄養繁殖を行わず、種子繁殖する。自然条件下において植物体を再生しうる組織又は器官からの出芽特性があるという報告はこれまでのところない。

ワタの受粉様式に関しては、他家受粉も可能であることが知られているが、基本的には自家受粉である。尚我が国においてワタと交雑可能な近縁野生種は知られていない。

ワタの花粉重は比較的重く、粘着性があるため風媒により交雑することは考えにくい。花粉はマルハナバチ(*Bombus* sp.)やミツバチ(*Apis mellifera*)によって媒介されることがある。しかし、虫媒により花粉が飛散する範囲は限られており、花粉に蛍光粒子を付着させて周辺の花への花粉の飛散を追跡した報告によると、意図的にハチの巣箱を回りに配置したワタ畑から約 45m~60m 離れた花畑でワタの花粉が付着していた花は 1.6%程度であった。また、ワタ畑から 1m離れた場合の交雑率は 0.4%以下であり、16m 離れると 0.3%以下まで減少していたことが報告されている。更に遺伝子組換えワタのマーカー遺伝子を用いた交雑試験の結果によると、30×136m のワタ畑から 1m 離れた場所での交雑率は 5%であったのに対して、7m 離れた地点では 1%以下に減少していた。しかし 1%以下の交雑率はワタ畑から最も離れた 25mの地点でも散発的に認められた。ワタの花粉の発芽能力は実験室の条件下では約 8 時間には 98%保たれているが、24 時間後には 30%、32 時間後には 1%まで低下する。

有害物質の産生性

他感物質等のような野生動植物等の生息又は生育に影響を及ぼす有害物質の産生性は知られていない。

その他の情報

ワタには、ゴッシポールと呼ばれるテルペノイド物質が含まれており、この生理活性物質は種子を含むあらゆる植物組織の分泌器官に存在する。ゴッシポールは哺乳動物の内臓器官や肺に炎症を起こし、実験動物においては呼吸困難、麻痺を起こす毒性物質として知られている。しかし、野生の哺乳動物が種子を捕食するという例は報告されていない。

なお、我が国において運搬の際にこぼれ落ちた種子からワタが自生化したという報告はされていない。

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

(1) 供与核酸に関する情報

構成及び構成要素の由来

チョウ目害虫抵抗性ワタ(*cry1Ac*, *Gossypium hirsutum* L.)(531, OECD UI : MON-00531-6) (以下本組換えワタとする)の作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来は表 1 に示した通りである。尚、本組換えワタ中で発現する Cry1Ac 蛋白質は、植物中での発現量を高めるために、野生型の Cry1Ac 蛋白質のアミノ酸配列を改変しており、アミノ酸配列の相同性は 99.4%である。本組換えワタ中で発現する Cry1Ac 蛋白質は、以下「改変 Cry1Ac 蛋白質」とする。

構成要素の機能

本組換えワタの作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能は p7 と p8 の表 1 に示した通りである。

チョウ目害虫抵抗性を付与するための目的遺伝子である改変 *cry1Ac* 遺伝子は、*Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-73 株の産生する野生型 Cry1Ac 蛋白質のアミノ酸配列を改変したものである。改変型を含む Cry1Ac 蛋白質は米国及びオーストラリアでのワタ栽培における主要チョウ目害虫である Tobacco budworm (*Heliothis virescens*)、Pink boll worm(*Pectinophora gossypiella*)及び Cotton boll worm 別名 Corn earworm (*Heliothrips zea*)を中心としたチョウ目昆虫に対して殺虫活性を示す。改変 Cry1Ac 蛋白質は、植物での発現を高めるために野生型 Cry1Ac 蛋白質の N 末端のアミノ酸配列のみを改変したものであり、改変 Cry1Ac 蛋白質のチョウ目害虫に対する活性は、野生型 Cry1Ac 蛋白質と同等である。改変 Cry1Ac 蛋白質を含む Cry1Ac 蛋白質は上記のワタの主要害虫以外にもメイガ科の European corn borer(*Ostrinia nubilalis*)などに対しても殺虫活性を持つが、チョウ目昆虫以外の幼虫に対しては殺虫活性を持たないことが知られている。

改変 Cry1Ac 蛋白質を含めた *B. t.* 菌の産生する *B. t.* 蛋白質は、標的昆虫の中腸上皮の特異的受容体と結合して陽イオン選択的小孔を形成し、その結果、消化プロセスを

阻害して殺虫活性を示す。また、本組換えワタ中に産生される、改変 Cry1Ac 蛋白質の活性部分であるコア蛋白質は、市販されている微生物農薬である Bt 製剤中の Cry1Ac 蛋白質のコア蛋白質と同一であり、Cry1Ac 蛋白質を含む Bt 製剤は、米国、ヨーロッパ及び日本で各種作物や樹木のチョウ目害虫防除に安全に使用されている。

改変 Cry1Ac 蛋白質が発現することにより本組換えワタは、ワタ栽培における主要チョウ目害虫である Tobacco budworm、Pink bollworm 及び Cotton bollworm などに対する抵抗性が付与されている。これまでワタ栽培には、チョウ目害虫の発生を抑える為に大量の殺虫剤が必要とされ、世界中で使用されている殺虫剤の約 25%がワタの栽培時に用いられたが、本組換えワタを導入することにより、(理由：欧米でも日本でも、環境中に長期間残存する農薬は登録できないため。また、生物多様性に影響を与えることの科学的根拠に欠けるため。)これらの化学農薬の使用量が大幅に削減されたという調査結果が米国、オーストラリア、中国などの栽培国で報告されている。

また、本組換えワタは、ワタを食害する限られた種類のチョウ目害虫のみに殺虫活性を示す為、広い殺虫スペクトラムを持つ化学農薬と異なり、アブラムシなどの二次害虫を捕食する益虫などの生存には影響を与えない。その結果、中国では本組換えワタを栽培するほ場内の益虫の数が、従来の栽培方法を用いているほ場と比較して 24%増加していると報告されている。

nptII 遺伝子によってコードされる neomycin phosphotransferase type II (NPTII) 酵素蛋白質は、アデノシン 5'-三リン酸(ATP)の末端リン酸基を抗生物質のアミノ配糖分子の水酸基に転移させる。この結果、パロモマイシン、カナマイシンなどのアミノグリコシド系抗生物質は不活性化される。通常、これらのアミノグリコシド系抗生物質は、リボソーム上の蛋白質と特異的に結合して蛋白質合成を阻害し細胞を殺すが、NPTII 蛋白質によってこれらの抗生物質がリン酸化されると、リボソーム上の標的蛋白質と結合できなくなる。このため、蛋白質合成阻害が起こらず細胞を殺すことができなくなる。

改変 Cry1Ac 蛋白質及び NPTII 蛋白質が、既知の接触アレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうか、データベース (SwissProt, GenPept, PIR, GenBank/EMBL) を用いて比較したところ、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を共有していなかった。

表 1 発現ベクターPV-GHBK04 の各構成要素

| 構成要素 | 由来及び機能 |
|----------------------------|--|
| 改変 <i>cry1Ac</i> 遺伝子発現カセット | |
| <i>E35S</i> | 2重エンハンサーを持つ、カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)のプロモーター。 |
| 改変 <i>cry1Ac</i> | Tobacco budworm (<i>Heliothis virescens</i>)、Pink bollworm(<i>Pectinophora gossypiella</i>)及びCotton bollworm 別Corn earworm (<i>Heliocoverpa zea</i>)などのワタの主要害虫を中心としたチョウ目昆虫に対して殺虫活性を示す改変Cry1Ac蛋白質をコードする遺伝子。 <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> の産生する野生型Cry1Ac蛋白質と99.4%のアミノ酸配列同一性を持つ蛋白質をコードする。 |
| <i>7S 3</i> | ダイズの -conglycinin遺伝子の3'非翻訳領域であり、mRNAのポリアデニル化シグナルを含む。目的遺伝子の転写を終結させる機能を持つ。 |
| <i>nptII</i> 遺伝子発現カセット | |
| <i>35S</i> | カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)の35Sプロモーター領域。 |
| <i>nptII</i> | <i>E. coli</i> のトランスポゾンTn5に由来する遺伝子。ネオマイシンフォスフォトランスフェラーゼIIをコードし、植物にカナマイシン耐性を付与する。遺伝子導入の際、組換え体植物を選抜するためのマーカーとして用いられる。 |
| <i>NOS3'</i> | ノパリン合成酵素遺伝子の3'非翻訳領域であり、目的遺伝子の転写を終結させる機能を持つ。 |
| その他の構成要素 | |
| 右境界配列 (RB) | TiプラスミドpTiT37に由来する、ノパリン型T-DNAの右境界配列 (24bp)を含むDNA断片。右境界配列は、 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> から植物ゲノムへのT-DNAの伝達の際、伝達の開始点として利用される。 |
| <i>Aad</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> 由来の3-(9)-0-アミノグリコシドアデニリルトランスフェラーゼ(AAD)をコードする遺伝子であり、スペクチノマイシン、及びストレプトマイシン耐性を付与する。 |

| 構成要素 | 機能及び由来 |
|-------------------|---|
| <i>oriV</i> | 広宿主域プラスミドRK2に由来する複製開始領域であり、 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> ABI株においてベクターに自律増殖能を付与する。 |
| <i>Ori322/rop</i> | <i>E. coli</i> プラスミドpBR322に由来する複製開始領域であり、ベクターに <i>E. coli</i> における自律増殖能を付与する。この領域は複製開始点の他に、複製開始の制御に関わる <i>rop</i> 領域及び <i>E. coli</i> から <i>Agrobacterium tumefaciens</i> への接合伝達に必要な <i>oriT</i> 配列を含む。 |

(2) ベクターに関する情報

名称及び由来

本組換えワタの作出に用いられたプラスミド・ベクターは、pBR322に由来する。pBR322は*E. coli*由来の合成プラスミドである。

特性

本プラスミドベクターの全塩基数は、11,407bpである。

プラスミド・ベクターpBR322は、大腸菌での構築ベクターの選抜マーカーとしてテトラサイクリン、アンピシリン耐性、DNA複製開始点ori配列を持つ2本鎖環状DNAである。

本プラスミドベクターの感染性は知られていない。

(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

宿主内に移入された核酸全体の構成

宿主内に移入された本プラスミド・ベクターの構成要素については表1に示した。

宿主内に移入された核酸の移入方法

プラスミド・ベクターPV-GHBK04中のT-DNA領域をアグロバクテリウム法により従来ワタ品種Coker 312へ導入した。

遺伝子組換え生物等の育成の経過

アグロバクテリウム法によりプラスミド・ベクターPV-GHBK04中のT-DNA領域をCoker 312の胚軸に導入した後、カナマイシンを含む培地上で再生個体を得た。

形質転換体からアグロバクテリウムを除くため、形質転換体をカルベニシリンとパロ

モマイシンを含む培地で培養した後、これらの抗生物質を含まない再生培地に移した後、これらの抗生物質を含まない再生培地に移して培養した。

得られた再生個体について挿入遺伝子や改変 Cry1Ac 蛋白質の発現量の解析により更に選抜を進め、人工気象室、温室試験を経て、野外圃場での実際の害虫抵抗性及び農業形質などから総合的に判断して本組換えワタが選抜された。

諸外国における認可状況は以下の通りである。

- 1995年6月 米国食品医薬品局(FDA)より食品及び飼料としての安全性認可を受けた。
- 1995年7月 米国農務省(USDA)より無規制裁培の認可を受けた。
- 1995年8月 米国環境省(EPA)はCry1Ac蛋白質に対し、残留基準値の設定の免除を認めた。
- 1996年8月 オーストラリア遺伝子技術規制局の暫定機関(IOGTR)から飼料及び環境への安全性認可を受けた。
- 2000年7月 オーストラリア・ニュージーランド食品基準局(FSANZ)から食品としての安全性認可を受けた。
- 2003年6月 オーストラリア遺伝子技術規制局(OGTR)から飼料及び環境への安全性認可を受けた。

我が国における認可状況は以下の通りである。

- 1997年4月 農林水産省より「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、日本への輸入(加工用及び飼料用としての利用)認可を受けた。
- 1997年5月 厚生労働省(当時厚生省)より「組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価指針第4章」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。
- 1997年6月 農林水産省より「組換え体利用飼料の安全性評価指針6の(2)」に基づき、飼料利用としての安全性認可を受けた。
- 2001年3月 厚生労働省より「組換え DNA 技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。
- 2003年3月 農林水産省より「組換え DNA 技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続き」に基づき、飼料利用としての安全性確認を受けた。

(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

サザンブロット分析、コスミドクローニング法、そしてゲノムウォーキング法により、挿入遺伝子の解析を行った結果、本組換えワタのゲノム DNA 中には、改変 *cry1Ac* 遺伝子発現カセット、*nptII* 遺伝子発現カセットそして *aad* 遺伝子発現カセットより構成される第 1 挿

入遺伝子と、第1挿入遺伝子の5'末端側に逆向きに隣接し、改変 *cry1Ac* 遺伝子の3'領域断片と7S3ターミネーターにより構成される第2挿入遺伝子、そして第3挿入遺伝子として245bpの7S3ターミネーター断片が存在していることが明らかとなった。

サザンブロット分析に関しては、7種類のプローブ(Probe 1~Probe 6及び挿入遺伝子の5'近傍配列)と7通りの制限酵素処理(*AseI* + *BstZ17I*, *SspI*, *XmnI*, *BamHI*, *BamHI* + *NdeI*, *BamHI* + *PmeI*)を組み合わせるにより行われた。

次にコスミドクローニング法及びゲノムウォーキング法により得られたDNA断片の配列を解析することにより第2挿入遺伝子の5'近傍配列、第1挿入遺伝子の3'近傍配列、第3挿入遺伝子の両近傍配列を決定した。また、第1及び第2挿入遺伝子の構造を最終的に確認するために、PV-GHBK04の塩基配列をもとにプライマーを設計しPCR分析を行った結果、予想されたサイズのPCR産物が検出された。更にこれらのPCR産物のDNA配列を解析することにより、最終的に第1及び第2挿入遺伝子の全塩基配列を決定した。

第1並びに第2挿入遺伝子が安定して後代に遺伝していることが、R5、R6世代及び2つの商品化品種のゲノムDNAを抽出し、サザンブロット分析を行うことにより明らかとなった。尚、2つの商品化品種のゲノムDNA中には、7S3配列の断片である第3挿入遺伝子は含まれていない。

この理由としては、隣接して挿入されている第1並びに第2挿入遺伝子と比べると第3挿入遺伝子は染色体上で離れた位置に挿入されている為、戻し交配の過程で分離したことが考えられた。また、第3挿入遺伝子は転写を終結させる因子である7S3配列の断片であるために、本組換えワタにおけるチョウ目害虫抵抗性には寄与していない。従って、第3挿入遺伝子は戻し交配による育種が行われている間の選抜の対象にはなっていない。

また、チョウ目害虫抵抗性も複数世代において安定して発現している事が、改変Cry1Ac蛋白質の発現の有無のみを確認できる簡便ELISA法により育成過程で確認されている。

(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

本組換えワタを検出及び識別する為の方法としては、挿入遺伝子及びその周辺の植物ゲノムのDNA配列をプライマーとして用いる定性的PCR法を開発しており、本法により本組換えワタを特異的に検出可能である。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

イ 改変 *cry1Ac* 遺伝子によってコードされる改変 Cry1Ac 蛋白質は本組換えワタの葉、種子、若葉そして生体中で発現していることが ELISA 分析によって確認されている。

ロ 本組換えワタの R5 世代並びに組換え母本である Coker312 を対照品種として平成 8 年 6 月～平成 8 年 12 月まで九州農業試験場において隔離ほ場試験を行った。

形態及び生育の特性

19 項目(発芽揃い、発芽率、草型、稈長、開花期、花色、葉形、有効花蕾数、結果枝数、開じょ期、繊維の色(綿毛の色)、さく(ワタの果実)の形状、1 株当りのさく数、さくの室数、さく当りの種子数、種子の色、収穫期、1 さくの乾燥重量、収穫期の地上部・地下部の重量)について本組換えワタ及び対照の非組換えワタ間の形態特性及び生育の差異を調査した。

その中で、草型、幹長、有効花蕾数、結果枝数、繊維の色(綿毛の色)、さく(ワタの果実)の形状、1 株当りのさく数、さくの室数、さく当りの種子数、種子の色、1 さくの乾燥重量、及び収穫期の地上部・地下部の重量については、各プロットの中央列から 3 個体以上を選び、合計 10 個体以上についてそれぞれ調査した。ただし、さくに関する調査は 1 個体当たり 2 さくについて行った。また、発芽揃い、発芽率、開花期、開じょ期、収穫期については、全個体を調査の対象とした。

その結果、1 株あたりのさく数において本組換えワタと対照の非組換えワタとの間で統計学的有意差が認められ、本組換えワタの 1 株あたりのさく数の平均は 9.6 個、対照の非組換えワタの平均は 6.5 個であった。また、さくの乾燥重量についても同様に統計学的有意差が認められ、本組換えワタと対照の非組換えワタの平均値はそれぞれ 7.7g と 8.1g であった。その他の全ての項目に関しては統計学的有意差は認められなかった。

これらの有意差が認められた理由としては、殺虫剤散布を行ったのにも関わらず、対照の非組換えワタが、チョウ目害虫であるワタノメイガとアワノメイガによる食害を受けた為、1 株あたりのさく数が本組換えワタと比較して減少し、その分個々のさくが肥大した結果によるものだと考えられた。

生育初期における低温又は高温耐性

隔離ほ場試験において、生育初期における低温耐性試験は行っていないが、米国の 3 箇所のほ場(Tifton, ジョージア州(GA), Starkville, ミシシッピ州(MS), Loxley, アラバマ州(AL))において、1994 年の秋に R4 世代から収穫した種子をそのまま各ほ場に播種して翌春まで、その種子の発芽率、越冬性に関して調査している。尚、これら米国の 3 箇所のほ場はいずれも米国南部の代表的なワタの栽培地帯であり、我が国の平均的な気候条件と比較して冬季の冷え込みも比較的少ないことから、我が国よりもワタが生育し易い気候条件であると判断された。

調査の結果、播種した本組換えワタの種子の発芽は 3 箇所全てのほ場で、翌春ま

で認められなかった。

更に 1991 年から 1993 年までの 3 年間、米国の 21 箇所のほ場においてほ場試験が行われた際に、収穫時期が比較的早かったほ場では、ほ場内にこぼれ落ちた種子が収穫後の秋に発芽しているのが確認されたが、翌春には全て枯死していたと報告されている。以上のことから本組換えワタの生育初期における低温耐性は、対照の非組換えワタと同様に低いと判断された。

成体の越冬性又は越夏性

ワタは基本的に多年生植物であるが、これは熱帯地方で生育した場合のみであり、日本及び世界のワタの栽培地帯では、結実後、冬季には通常自然に枯死する。実際に本組換えワタの隔離ほ場試験終了時には、部分的に枯死が始まっていることを確認している。以上のことから、成体の越冬性試験は行わなかった。

花粉の稔性及びサイズ

我が国においては、本組換えワタの種子を販売する予定はなく、ワタの商業栽培も行われていない。したがって、本組換えワタが我が国の生物多様性に影響を与えるとすれば、搾油用あるいは飼料用として輸入された種子が輸送中に我が国の自然条件下でこぼれ落ちて生育或いは、自生化して他の植物を駆逐する場合が想定された。しかし、こぼれ落ちた種子が発芽した後に生育或いは自生化して、完全な成体になるまでは形成されないことと、これまでに、輸送中にこぼれ落ちた種子が、我が国の自然条件下で生育或いは自生化したという報告はされていないことから、花粉の稔性及びサイズの調査は行わなかった。

種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

種子の生産量については、の形態及び生育の特性で示したように、1 株当りのさく数、さくの室数、さく当りの種子数について本組換えワタと対照の非組換えワタとの差異を調査している。その結果、1 株あたりのさく数について、対照の非組換えワタとの間で統計学的有意差が認められたが($P < 0.05$)、それ以外の項目については、差異は認められなかった。統計的有意差の認められた 1 株あたりのさく数は、本組換えワタで 9.6 個、対照の非組換えワタで 6.5 個であった。

1 株あたりのさく数で有意差が認められた理由は、の形態及び生育の特性で示したように、殺虫剤散布を行ったのにも関わらず、対照の非組換えワタが、チョウ目害虫であるワタノメイガとアワノメイガによる食害を受け、その結果 1 株あたりのさく数が本組換えワタと比較して減少した為と考えられた。

脱粒性については、本組換えワタとその対照の非組換えワタは共に、収穫時種子は綿毛とリントに覆われており、自然条件下での脱粒性は観察されなかった。

ワタの種子休眠性は極めて浅いことが知られている。またその種子の自然条件下での寿命は短く、土壤温度が 15～16 に達する前に播種されると土壤中でほとんど腐敗することが知られている。実際に で示したように、米国の 3 箇所のは場(Tifton, GA, Starkville, MS, Loxley, AL)において、秋に収穫した種子をそのまま各は場に播種して、翌春まで観察した結果、対照の非組換えワタと同様に発芽個体は認められなかった。この結果から、本組換えワタの種子は、対照の非組換えワタの種子と同様にほとんどが土壤中で低温のために腐敗したと考えられた。以上のことから本組換えワタの種子の低温での生存性及び越冬能力は極めて低く、我が国の冬季における低温条件下では発芽能力を維持できないと判断された為、休眠性に関する試験は行わなかった。

発芽率については、 の形態及び生育の特性で調査している。その結果、対照の非組換えワタとの間で統計的有意差は認められなかった。

交雑率

わが国では本組換えワタが属する 4 倍体栽培ワタ *Gossypium hirsutum* と交雑可能な *Gossypium* に属する近縁野生種は存在しない。従って交雑率については評価を行わなかった。

有害物質の産生性

で述べたように、本組換えワタが有害物質を産生して我が国の生物多様性に影響を与えるとすれば、搾油用あるいは飼料用として輸入された種子が輸送中にこぼれ落ちた後に、人の管理が及ばない場所で生育或いは自生化して他の植物を駆逐する場合が想定された。根や地上部からの有害物質に関しては、こぼれ落ちた種子が発芽して、ある程度まで生育した後でないと影響を生じる可能性のある量は発生しないと考えられたことと、これまでに、輸送中にこぼれ落ちた種子が、我が国の自然条件下で生育或いは自生化したという報告はされていないことから、有害物質の産生性に関する調査は行わなかった。

3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

(1) 使用等の内容

食用又は飼料用に供するための使用、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為

(2) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置

申請書に添付した緊急措置計画書を参照。

(3) 国外における使用等に関する情報

本組換えワタは、1991年から1993年までの3年間、米国の21箇所のほ場において試験を行い、雑草性に関する特性、形態・生育に関する特性、収量に関わる特性、病害虫感受性、自生性(volunteers)の観察により評価したが、対照の非組換えワタとの間で育種上の観点から意味のある差異は認められなかった。

2002年の本組換えワタの栽培面積は、全世界で約100万haであったと予想されているが、これまでのところ本組換えワタが生物多様性に影響を与えたという報告はされていない。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

1 競合における優位性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

競合における優位性に関わる諸形質について、第一、2-(6)の 形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、 種子の生産性、休眠性及び発芽率に記載したように比較検討した結果、全ての項目で差異は認められなかった。

本組換えワタはチョウ目害虫抵抗性を有するが、この形質のみで競合における優位性が高まるとは考えにくい。

更に第一の 3-(6)で示したように本組換えワタは 1996 年に米国での商業栽培が開始され、2002 年には我が国の種子の主要輸入先であるオーストラリアを含めて世界の約 100 万 ha のほ場で栽培されたと予想される為、当然我が国にもその種子が飼料用或いは搾油用として輸入されて来ていると考えられる。しかし、現在までに本組換えワタを含んでいると考えられる種子が、輸送中にこぼれ落ちて、我が国の自然条件下で生育或いは自生化したという報告はされていない。

以上のことから、競合における優位性について影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、競合における優位性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

2 有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

我が国では、ワタの商業栽培は行われておらず、本組換えワタの種子を販売する予定もない為、本組換えワタが有害物質を産生して野生動植物に影響を与えるとするならば、搾油用あるいは飼料用として輸入された種子が輸送中にこぼれ落ちた後に、生育或いは自生化した場合が想定された。

第一の3-(6)で示したように本組換えワタは1996年に米国での商業栽培が開始され、2002年には我が国の種子の主要輸入先であるオーストラリアを含めて世界の約100万haのほ場で栽培されたと予想される為、当然我が国にもその種子が飼料用或いは搾油用として輸入されて来ていると考えられる。しかし、現在までに本組換えワタを含んでいると考えられる種子が、輸送中に我が国の自然条件下でこぼれ落ちて生育或いは自生化したという報告はされていない。また、第一、2-(6)の形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、種子の生産性、休眠性及び発芽率に記載したように、本組換えワタの種子の越冬性、発芽率は、対照の非組換えワタと比較して大きな相違はないことから、本組換えワタは従来の非組換えワタと同様に我が国の自然条件下で生育或いは、自生化する可能性は極めて低いと考えられた。

以上のことから本組換えワタは、我が国で生育した場合の非意図的な有害物質の生産性は明らかにされていないが、輸送中にこぼれ落ちた種子が我が国の自然条件下で生育或いは自生化する可能性は極めて低いと考えられた為、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されないと判断された。

(2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上の結果から、本組換えワタは有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生じるおそれはないと考えられた。

3 交雑性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

我が国では本組換えワタが属する4倍体栽培ワタ *Gossypium hirsutum* と交雑が可能な *Gossypium* に属する近縁野生種は自生していない。よって、交雑性に起因する生物多様性影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、本組換えワタは、交雑性に起因する生物多様性影響を生じるおそれはないと判断された。

4 その他の性質

生物多様性影響の評価を行うことが適当であると考えられる本組換えワタの性質は、上記の他にはないと判断された。

第三 生物多様性影響の総合的評価

本組換えワタは 1996 年に米国で商品化されて以降、現在までに米国、オーストラリア、中国、インドなどで商業栽培されている。2002 年の本組換えワタの栽培面積は、全世界で約 100 万 ha であったと予想されているが、これまでのところ本組換えワタが生物多様性に影響を与えたという報告はされていない。

一方、我が国においては、本組換えワタの種子を販売する予定はなく、ワタの商業栽培自体も行われていない。更に、我が国には本組換えワタと交雑可能な *Gossypium* 属植物の自然分布は報告されていないことから、本組換えワタが我が国の生物多様性に影響を与えるとするならば、搾油用あるいは飼料用として輸入された種子が輸送中に我が国の自然条件下でこぼれ落ちて生育或いは自生化して他の植物を駆逐した場合が想定された。そこで、本組換えワタの隔離ほ場試験では、輸送中に人の管理が及ばない場所にこぼれ落ちた種子がその場で発芽し、自生化する可能性の有無を中心に調査した。

競合における優位性に関わる諸形質について、第一、2-(6)の 形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、種子の生産性、休眠性及び発芽率に記載したように比較検討した。その結果、全ての項目について、差異は認められなかったことから、競合における優位性に起因する生物多様性影響を生じるおそれがないと判断された。また、本組換えワタの種子の越冬性、発芽率は、対照の非組換えワタと比較して大きな相違はないことから、本組換えワタは従来の非組換えワタと同様に我が国の自然条件下で自生化する可能性は極めて低いと考えられた。

本組換えワタは、我が国の自然条件下で生育した場合の非意図的な有害物質の産生性は明らかにされていないが、本組換えワタの種子が輸送中にこぼれ落ちた後に、我が国の自然条件下で生育或いは、自生化する可能性は従来の非組換えワタと同様に極めて低いと考えられた。以上から、有害物質産生性に起因する生物多様性を生ずる恐れはないと判断された。

我が国では本組換えワタが属する 4 倍体栽培ワタ *Gossypium hirsutum* と交雑が可能な *Gossypium* に属する近縁野生種は存在しないことから、本組換えワタが交雑性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

よって、総合的評価として、本組換えワタを第一種使用規程に従って使用した場合に生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断した。

緊急措置計画書（食用・飼料用に供する場合）

平成16年4月20日

氏名 日本モンサント株式会社
代表取締役社長 山根精一郎
住所 東京都中央区銀座4-10-10
銀座山王ビル8階

第一種使用規程の承認を申請しているチョウ目害虫抵抗性ワタ(*cry1Ac*、*Gossypium hirsutum* L.)(531, OECD UI: MON-00531-6(以下、本組換えワタという)の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社は生物多様性影響のリスク評価を実施する。このリスク評価に基づき、生物多様性に及ぼす影響に応じた管理計画を設定し、こうした危険性を軽減する方法の決定への協力などを必要に応じて行う。さらに、特定された危険性の重大性や起こりうる確率から判断して、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合は、当該影響を効果的に防止するため、特定された問題に応じ、以下のことを行う。尚、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合とは、本組換えワタに関して、科学的に我が国の生物多様性に影響を生ずることが立証された場合のことである。

- 1 第一種使用等における緊急措置を講ずるための実施体制及び責任者は以下に示す通りである。
個人名・所属は個人情報につき非開示
- 2 第一種使用等の状況の把握の方法
弊社は種子会社等から、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行う。
- 3 第一種使用等をしている者に緊急措置を講ずる必要があること及び緊急措置の内容を周知するための方法
生物多様性影響に関して必要に応じて生産国の生産農家や関連団体に情報提供を行い、厳密な使用方法の周知徹底等に努める。
- 4 遺伝子組換え生物等を不活化し又は拡散防止措置を執ってその使用等を継続するための具体的な措置の内容
具体的措置として、特定された問題に応じ、輸入された本組換えワタの環境放出が行われないようにすること、環境中に放出された本組換えワタがあった場合はそれらが環境中で生存しないようにすること、必要に応じて本組換えワタが日本に輸入されないようにすること等、必要な措置を実行する。
- 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制
生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社はそのことを直ちに農林水産省や環境省に報告する。