

チョウ目害虫抵抗性ダイズ(改変 *cry1Ac*, *Glycine max* (L.) Merr.)
(MON87701, OECD UI : MON-87701-2)申請書等の概要

5	第一種使用規程承認申請書	1
	生物多様性影響評価書	3
	第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報	3
	1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報	3
	(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況	3
10	① 和名、英名及び学名	3
	② 宿主の品種名	3
	③ 国内及び国外の自然環境における自生地域	3
	(2) 使用等の歴史及び現状	4
	① 国内及び国外における第一種使用等の歴史	4
15	② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途	4
	(3) 生理学的及び生態学的特性	8
	イ 基本的特性	8
	ロ 生息又は生育可能な環境の条件	9
	ハ 捕食性又は寄生性	9
20	ニ 繁殖又は増殖の様式	9
	① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命	9
	② 栄養繁殖の様式並びに自然条件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	10
25	③ 自殖性、他殖性の程度、自家不和合性の有無、近縁野生種との交雑性 及びアポミクシスを生ずる特性を有する場合はその程度	10
	④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命	14
	ホ 病原性	14
	ヘ 有害物質の産生性	14
	ト その他の情報	14
30	2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	24
	(1) 供与核酸に関する情報	24
	イ 構成及び構成要素の由来	24
	ロ 構成要素の機能	24
35	① 目的遺伝子、発現調節領域、局在化シグナル、選抜マーカーその他の供 与核酸の構成要素それぞれの機能	24
	② 目的遺伝子及び選抜マーカーの発現により産生される蛋白質の機能及 び当該蛋白質がアレルギー性を有することが明らかとなっている蛋白 質と相同性を有する場合はその旨	29

	③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容	34
	(2) ベクターに関する情報	34
	イ 名称及び由来	34
	ロ 特性	34
5	① ベクターの塩基数及び塩基配列	34
	② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能	34
	③ ベクターの感染性の有無及び感染性を有する場合はその宿主域に関する情報	34
	(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	34
10	イ 宿主内に移入された核酸全体の構成	34
	ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法	35
	ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過	35
	① 核酸が移入された細胞の選抜の方法	35
15	② 核酸の移入方法がアグロバクテリウム法の場合はアグロバクテリウム菌体の残存の有無	35
	③ 核酸が移入された細胞から、移入された核酸の複製物の存在状態を確認した系統、隔離ほ場試験に供した系統その他の生物多様性影響評価に必要な情報を収集するために用いられた系統までの育成の経過	35
	(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	38
20	④ 移入された核酸の複製物が存在する場所	38
	⑤ 移入された核酸の複製物のコピー数及び移入された核酸の複製物の複数世代における伝達の安定性	38
	⑥ 染色体上に複数コピーが存在している場合は、それらが隣接しているか離れているかの別	39
25	⑦ (6)の①において具体的に示される特性について、自然条件の下での個体間及び世代間での発現の安定性	39
	⑧ ウイルスの感染その他の経路を経由して移入された核酸が野生動植物等に伝達されるおそれのある場合は、当該伝達性の有無及び程度	41
	(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 ..	41
30	(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	41
	⑨ 移入された核酸の複製物の発現により付与された生理学的又は生態学的特性の具体的な内容	41
	⑩ 以下に掲げる生理学的又は生態学的特性について、遺伝子組換え農作物と宿主の属する分類学上の種との間の相違の有無及び相違がある場合はその程度	41
35	a 形態及び生育の特性	42
	b 生育初期における低温又は高温耐性	42
	c 成体の越冬性又は越夏性	42
	d 花粉の稔性及びサイズ	43

	e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率.....	43
	f 交雑率.....	44
	g 有害物質の産生性.....	44
	3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報.....	45
5	(1) 使用等の内容.....	45
	(2) 使用等の方法.....	45
	(3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法.....	45
10	(4) 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.....	45
	(5) 実験室等での使用等又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果.....	45
	(6) 国外における使用等に関する情報.....	46
	第二 項目ごとの生物多様性影響の評価.....	47
15	1 競合における優位性.....	47
	(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	47
	(2) 影響の具体的内容の評価.....	48
	(3) 影響の生じやすさの評価.....	48
	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	48
20	2 有害物質の産生性.....	49
	(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	49
	(2) 影響の具体的内容の評価.....	57
	(3) 影響の生じやすさの評価.....	60
	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	62
25	3 交雑性.....	62
	(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	62
	(2) 影響の具体的内容の評価.....	62
	(3) 影響の生じやすさの評価.....	62
	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	79
30	4 その他の性質.....	79
	第三 生物多様性影響の総合的評価.....	80
	参考文献.....	85
	緊急措置計画書.....	100
	モニタリング計画書.....	103
35	チョウ目害虫抵抗性ダイズ(改変 <i>cry1Ac</i> , <i>Glycine max</i> (L.) Merr.) (MON87701, OECD UI : MON-87701-2)の別添資料リスト.....	109

第一種使用規程承認申請書

平成24年7月13日

農林水産大臣 郡司 彰 殿

5 環境大臣 細野 豪志 殿

10 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 印
住所 東京都中央区銀座四丁目 10 番 10 号

15 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ダイズ (改変 <i>cry1Ac</i> , <i>Glycine max</i> (L.) Merr.) (MON87701, OECD UI : MON-87701-2)
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	別に定めるモニタリング計画書に基づき、申請者によるモニタリングを実施する

生物多様性影響評価書

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

5 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

① 和名、英名及び学名

10

和名：ダイズ

英名：soybean

学名：*Glycine max* (L.) Merr.

15

② 宿主の品種名

遺伝子導入に用いた宿主の品種名は A5547 である。

③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

20

ダイズはマメ科 *Glycine* 属 *Soja* 亜属に属する。*Soja* 亜属には栽培種であるダイズのほかに、野生種として *G. soja* (和名：ツルマメ) や *G. gracilis* も含まれる (OECD, 2000)。細胞学的、形態学的及び分子生物学的知見から、栽培種であるダイズ (*G. max*) は野生種である *G. soja* が祖先と考えられており、一方、*G. gracilis* は *G. soja* から *G. max* への分化における中間種あるいは *G. soja* と *G. max* の雑種であるという報告があるが (OECD, 2000)、確認はされていない。これらの野生種のうち、わが国に分布しているのはツルマメのみであり *G. gracilis* の分布は認められていない (日本雑草学会(編), 1991; 沼田ら, 1975)。なお、ツルマメは中国、韓国、日本、台湾及びロシアに分布しており (OECD, 2000)、わが国においては北海道、本州、四国、九州に分布し、主に河川敷や前植生が攪乱された工場跡地や畑の周辺、その他、日当たりの良い野原や道ばたに自生している (浅野, 1995; 高橋ら, 1996; 沼田ら, 1975; 大橋, 1999)。また、北海道、東北、四国で行われたツルマメの自生地に関する調査では、主に河川流域で自生地が確認された例が多く報告されている (河野ら, 2004; 菊池ら, 2005; 猿田ら, 2007; 山田ら, 2008; 友岡ら, 2009; 猿田ら, 2009)。

35

なお、ダイズは夏型一年生の栽培種であり、自生しているという報告はない (OECD, 2000)。

(2) 使用等の歴史及び現状

① 国内及び国外における第一種使用等の歴史

5

ダイズの起源地域は中国東北部で、紀元前 1100 年頃にこの地域で栽培化されたと推定され、その後、中国南部、東南アジア、朝鮮及び日本へ栽培が広がったと考えられる (昆野, 1987)。わが国へは弥生時代に渡来、栽培が始まったと考えられている (山内, 1992)。

10

② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

a. 主たる栽培地域

15

国際連合食糧農業機関 (FAO) の統計情報によると、2009 年の全世界におけるダイズの栽培面積は約 9,937 万 ha であり、上位国を挙げると米国が約 3,091 万 ha、ブラジルが約 2,175 万 ha、アルゼンチンが約 1,677 万 ha、インドが約 979 万 ha となっている。なお、同統計情報に基づく 2009 年のわが国における栽培面積は約 14.5 万 ha であった (FAOSTAT, 2012)。

20

b. 栽培方法

25

わが国でのダイズの慣行栽培法は以下のとおりである。播種適期は北海道地方で 5 月下旬、東北地方南部、北陸・東山地方で 6 月上旬、関東地方で 6 月中旬、東海地方以西中国地方までは 6 月下旬、九州地方で 4 月上旬から下旬 (夏ダイズ) 及び 7 月上旬から 8 月上旬 (秋ダイズ) となる。播種密度は、品種や栽培条件によって異なるが、早生品種・寒地・遅播きの場合などでは密植が行われる。雑草の防除については、生育期間中に除草を早めに行い、初期の雑草を抑えれば、やがてダイズの茎葉が繁茂してくるので、雑草は比較的発生し難くなる。また病害虫の防除は、ダイズの栽培で最も大切な作業の一つであり、生育初期の害虫に対しては早めに薬剤散布を行う。収穫は、抜き取るか地ぎわから刈り取り、これを地干し、又は掛け干しして乾燥し脱粒機で脱粒する方法と、コンバインで刈り取り・脱粒を一緒に行う方法とがある (栗原ら, 2000)。

30

c. 流通実態及び用途

35

わが国におけるダイズの利用方法は多岐に渡り、味噌、醤油、豆腐、納豆、ゆば、きな粉、煮豆、もやしとして食されるほか、分離蛋白、濃縮蛋白等は食品添加物として、搾油は食用植物油と

して、脱脂ダイズは家畜用飼料として利用されている（御子柴，1995）。

5 2009年のわが国におけるダイズの輸入量は約339万トンであり、そのうちの約71%が米国から輸入されている（財務省，2010）。2009年におけるダイズの国内生産量は約23万トンであり、国内消費仕向量¹は約367万トンであった。国内消費仕向量の用途別内訳は、飼料用が約11.5万トン、種子用が約0.7万トン、加工用（ダイズ油・脱脂ダイズ・味噌・醤油用）が約265.5万トン、減耗量²が約6.8万トン、純食料用³が約82.3万トンとなっている（農林水産省，2011a）。

15 輸入されたダイズがわが国で使用される際の用途は1) 搾油用、2) 飼料用及び3) 食品用（搾油用を除く、以下同じ）に大別される。これらの用途に用いられる際の輸送形態及び使用形態を以下に記載した（別添資料1）。

1) 搾油用

20 全輸入ダイズの73.5%に当たる約249万トンが搾油用として用いられている（農林水産省，2011a）。ダイズを搾油しているメーカーは港湾に隣接した場所に工場を持ち⁴（農林水産省，2009）、ダイズはベルトコンベアで直接工場へ搬入されるため、施設外への陸上輸送はない（業界への聞き取り）（別添資料1）。したがって、搾油用ダイズ種子に関して、港湾施設外でこぼれ落ちる可能性は極めて低いと考えられた。

2) 飼料用

25 全輸入ダイズの3.4%に当たる約11.5万トンが飼料用として用いられている（農林水産省，2011a）。なお、弊社による業界への聞き取り調査によると、飼料用ダイズ種子の年間使用量は約13.4万トンであった（別添資料1）。この違いは、食料需給表における飼料用ダイズ種子の量が、関税定率

¹ 国内生産量+輸入量-輸出量-在庫の増加量(又は+在庫の減少量)から算出される。

2009年は輸出量は約0万トン、在庫は約5万トン減であったため、 $23+339-0+5=367$ (万トン)が国内消費仕向量となる。

² 食料が生産された農場等の段階から、輸送、貯蔵を経て家庭の台所等に届く段階までに失われる全ての数量。

³ 国内消費仕向量-（飼料用+種子用+加工用+減耗量）から算出される。

⁴ ダイズから搾油している製油メーカーは備蓄設備を持つ。日本国内の大豆備蓄設備は全て沿岸部に建設されている。

法第 13 条に定められた承認工場での原料使用量 (流通飼料生産流通
価格等調査結果)に各種推定を加算した概算値であるのに対し、弊社聞
き取り調査では承認工場以外の丸ダイズを飼料用に加工するメーカーも
含め調査した結果であるためと考えられた。さらに弊社聞き取り調査では
5 食品メーカー、食品用ダイズ卸の過剰在庫及び長期在庫のものから飼料用
として利用される数量が反映されているが、食料需給表ではこれらの数量
は反映されにくいとされている (農林水産省食料産業局食品製造卸売課、
生産局畜産振興課聞き取り)。

10 なお、飼料用に使用されるダイズは、①食品用として輸入されたダイ
ズのうちの規格外品、②食品用として輸入されたダイズのうち過剰在庫や
長期在庫などから飼料用に転用されたもの、③搾油用にバラ積み本船で輸
入されたダイズの一部、及び④飼料用としてコンテナで輸入されたもの、
に分けられる (業界への聞き取り)。

15 飼料用ダイズ種子は、11 ヲ所の港湾に輸入され、29 ヲ所の飼料工場で
使用されている (業界への聞き取り)。以下にその内訳を記載する。

20 飼料用ダイズ種子の年間使用量約 13.4 万トンのうち、約 3.8 万トンは
港湾から 5km 以内に位置する飼料工場で使用され、8 万トンは港湾から
5km を超える内陸に位置する飼料工場で使用される (業界への聞き取り)
(別添資料 1)。また、食品メーカーや食品用ダイズ卸の過剰在庫及び長期
在庫のダイズで飼料工場に輸送されるものは約 1.6 万トンと推定されたが、
このダイズが港湾から 5km 以内に位置する飼料工場へ運ばれるのか、そ
れとも港湾から 5km を超える内陸に位置する飼料工場へ運ばれるのかは
明らかとなっていない (業界への聞き取り)。

25 これらのダイズが陸上輸送される際の形態としては、ベルトコンベア、
フレキシブルコンテナ、コンテナ及びバラ積み輸送が考えられる (別添資
料 1 の図 1~5, p7~9)。港湾から 5km 以内に位置している飼料工場へ陸上
輸送される約 3 万 8 千トンのうち、約 2,400 トンはベルトコンベア、フレ
キシブルコンテナ、コンテナ、紙袋といった密閉度の高い方法で輸送され
30 ている (別添資料 1 の表 3, p5)。しかし、残り約 3 万 6 千トンはバラ積
みか輸送形態不明であった (別添資料 1 の表 3, p5)。

35 また、港湾から 5km を超える内陸に位置する飼料工場へ陸上輸送され
る約 8 万トンのうち、約 3.2 万トンはフレキシブルコンテナ又はコンテナ
といった密閉度の高い方法で輸送されるが (別添資料 1 の図 2, p7、図 3
及び図 4, p8)、残り約 4.8 万トンはバラ積みか輸送形態不明であった (業
界への聞き取り) (別添資料 1 の表 4, p6)。なお、食品メーカーや食品用ダ
イズ卸の過剰在庫及び長期在庫となった 1.6 万トンのダイズが飼料工場に

輸送される際にはフレキシブルコンテナ又は紙袋が用いられている（業界への聞き取り）(別添資料 1)。

5 フレキシブルコンテナ、コンテナ、紙袋といった密封度の高い方法で輸送されている場合はこぼれ落ちの可能性は極めて低いため、輸送中にこぼれ落ちる可能性のあるダイズはバラ積みか輸送形態不明であると考えられた。したがって、輸送形態がバラ積み又は不明な丸ダイズで、港湾付近に位置する飼料工場に輸送されるものは約 3.6 万トン、内陸に輸送されるものは約 4.8 万トンで、合計約 8.4 万トンがバラ積み輸送か輸送形態不明と推定された。しかし、バラ積み輸送される際にも、積載深度のある深箱型ダンプトラックに積載すること、2重にシートを掛けること、こぼれ落ちの原因となる過積載の禁止等、こぼれ落ちを防止する措置が採られている（業界への聞き取り）(別添資料 1)。また、内陸に位置している飼料工場への輸送の際には、天候悪化時の雨濡れ及びこぼれ落ち防止を目的として従来よりシート掛けが実施されている（業界への聞き取り）(別添資料 1)。したがって、たとえバラ積み輸送であっても、輸送中にこぼれ落ちる可能性は低いと考えられた。

15 また、最近ではダイズ生産国でコンテナに詰められ、飼料用に輸入されるケースが増加しており、今後もこの傾向が継続すると考えられる（業界への聞き取り）(別添資料 1)。

20 バラ積み輸送される場合、使用されるトラックは 10 トン車以上であり、輸送経路としては、こうした大型トラックが通れる国道などの幹線道路が考えられた。

25 なお、飼料用原料は食品用原料と比べて価格が安く、原料品質への要求水準も低い。このため飼料用ダイズ種子として出荷・納入されたダイズが他用途に転用される可能性はほとんど無いと考えられる（業界への聞き取り）(別添資料 1)。

30 さらに、輸送先である飼料工場ではサルモネラ汚染や高病原性鳥インフルエンザ対策として、飼料工場内設備、飼料原料（製品）運搬車の清掃の徹底や、野鳥の飛来を防止する対策（工場内の原料及びこぼれ落ちの清掃など）が行われている。したがって、飼料工場内の荷受設備周辺にダイズがこぼれ落ちる可能性は低いと考えられる。

3) 食品用

35 全輸入ダイズの 29.2%に当たる約 99 万トンが食品用として用いられている（農林水産省, 2011a）。輸入されたダイズの用途としては豆腐（38 万トン）、納豆（11.5 万トン）、味噌（11.2 万トン）、醤油及びその他（豆乳、

煮豆、きな粉等)が考えられる (食品産業新聞社, 2011)。それらのダイズは港湾施設でトラックに積み込まれ、内陸の食品工場へ陸上輸送される。

5 陸上輸送される際には、紙袋及びフレキシブルコンテナで輸送される (別添資料 1 の図 2, p7, 図 6 及び図 7, p10)。この輸送形態は非遺伝子組換えダイズを取り扱うためではなく、食品工場側の荷受設備の関係であり、
10 遺伝子組換え不分別を取り扱うことになっても変わる可能性は低いと考えられる (業界への聞き取り) (別添資料 1)。

以上をまとめると、食品用ダイズ種子は内陸の食品工場へ輸送されるが、輸送の際は紙袋、フレキシブルコンテナといった密閉度の高い方法で
10 輸送されることから、こぼれ落ちる可能性は極めて低いと考えられた。なお、現状では食品用に丸ダイズを使用する際には全量非組換えダイズが使用されている (業界団体への聞き取り) (別添資料 1)。

また、栽培用ダイズ種子について、海外からの輸入量は 32 キロから 21 トン
15 (2002~2009 年)と変動は大きいものの、国産種子 (年間 7,000 トン)と比べるとごくわずかであり、輸入される栽培用種子の大半は中国産である (別添資料 1 の別紙表 1, p25)。海外における種子生産の際には異品種の混入を避けるために隔離措置がとられており、わが国に輸入される際にはバラ積みされることはなく、袋あるいは箱詰めされる。

20 わが国における採種については、主要農作物種子法に基づき審査を受けた採種ほ場 (指定種子生産ほ場)のみで行われている。指定種子生産ほ場は、異品種の混入を避けるために隔離され、異株は抜き取られることとなっており、また生産された種子についても異品種の混入の有無を審査することとなっている。審査の際の異品種の混入はないことが条件とされている (農林水産省生産局農産部穀物課聞き取り)。
25

(3) 生理学的及び生態学的特性

30 イ 基本的特性

ダイズは種子繁殖する一年生の双子葉作物であり、子葉は対生し、次に卵形の初生葉が子葉と直角に対生して、それ以降は 3 片の小葉からなる複葉を生じる (OECD, 2000)。茎は主茎と分枝に分けられ、主茎節の複葉の葉腋から
35 分枝が伸長し、また、根は一般に空中窒素固定能を有する根粒菌の寄生によって根粒を着生する (後藤, 1995)。花には 1 本の雌ずいがあり、その基部の子房に 1~5 個の胚珠を内蔵しており、子房は受粉後に肥大して莢を形成する

(後藤, 1995)。また、ダイズの花芽分化には日長と温度が大きく影響し、ある時間以上の暗期が花芽分化に必要で、温度は 15°C 以上を必要として 25°C 前後までは高いほど促進的に働き、短日高温では促進効果が大きい、長日高温では促進効果がないか、かえって遅れることがある (昆野, 1987)。

5

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

ダイズ種子の発芽適温は 30~35°C、最低発芽温度及び最低生育温度は 2~4°C であり、10°C 以下での発芽は極めて悪い (昆野, 1987)。ダイズの栽培適地は、
10 生育期間中 18~28°C 程度、多照で適度の降雨のあることが望ましいとされているが、今日のダイズ品種では日長感応性が細かく分化して各種の気候に対する適応性が高くなっており、赤道直下のインドネシアから北緯 60° のスウェーデンでも栽培可能である (昆野, 1987)。

本組換えダイズの宿主である A5547 は米国において、およそ北緯 36 度から 37 度の栽培地域に適した品種 (Maturity Group V) に分類される (Graphic
15 Maps, 2012; Wiebold, 2002)。この栽培地域において、Maturity Group V に分類される品種は 5 月初旬から播種される。また、6 月下旬が開花期にあたり (Lee et al., 2005)、開花が始まる最も早い時期の日長時間は約 14.5 時間であることが報告されている (Lammi, 2008)。

20 なお、わが国において、ダイズが雑草化した事例はこれまで報告されていない。

ハ 捕食性又は寄生性

25 —

ニ 繁殖又は増殖の様式

① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

30

ダイズの種子は裂莢した際に地表に落下する。わが国で栽培されるダイズの裂莢性には品種間差があるが、ダイズが大規模に栽培され、収穫が機械化されている米国などでは、ほとんどの品種が難裂莢性であり裂莢性の程度は低い。今回、遺伝子導入に用いた宿主である A5547 もまた難裂莢性であることが認められている。

35

ダイズの種子休眠性については知られていない。また、種子の発芽能力に関しては、常温で貯蔵した場合に通常約 3 年で失われる (昆野, 1995)。

② 栄養繁殖の様式並びに自然条件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

5 ダイズ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。

10 ③ 自殖性、他殖性の程度、自家不和合性の有無、近縁野生種との交雑性及びアポミクシスを生ずる特性を有する場合はその程度

15 ダイズ ($2n=40$) と交雑可能な近縁野生種としてわが国に分布しているのは *G. soja* (和名: ツルマメ、 $2n=40$) のみである(日本雑草学会(編), 1991; 沼田ら, 1975; OECD, 2000)。ツルマメは北海道、本州、四国、九州に分布するツル性の一年生植物で、主に河川敷や前植生が攪乱された工場跡地や畑の周辺、その他、日当たりの良い野原や道ばたに自生している(浅野, 1995; 高橋ら, 1996; 沼田ら, 1975; 大橋, 1999)。また、北海道、東北、四国で行われたツルマメの自生地に関する調査では、主に河川流域で自生地が確認された例が多く報告されている(河野ら, 2004; 菊池ら, 2005; 猿田ら, 2007; 山田ら, 2008; 友岡ら, 2009; 猿田ら, 2009)。

25 なお、1950年代にダイズとツルマメの形態的中間型を示す個体としてオオバツルマメがわが国で確認されており(島本ら, 1997; 阿部ら, 2001)、その形態がダイズに近かったことから、通常のツルマメと比べて、ダイズと交雑する可能性が高いことが予想された。しかし、過去10年以上にわたり日本各地より800近い集団からツルマメの収集を行った中に、オオバツルマメのような形態的中間型を示す個体は見つかっていないという報告があることから(阿部ら, 2001)、仮にこのような形態的中間型の個体がわが国で自生していたとしても、その生育する範囲はかなり限られていることが予想される。

30 ダイズとツルマメの自殖性及び他殖性の程度に関して、ダイズとツルマメは、通常開花前に開葯し、受粉が完了する上に、開花期の後半は、ほとんどの花が開花しない閉花受粉であるため(阿部ら, 2001)、どちらも典型的な自殖性植物であると考えられている。これまでに、通常のは場条件でダイズ同士における他家受粉率は平均で3.62%(Beard and Knowles, 1971)、ツルマメ同士における他家受粉率は平均で2.3%(Kiang et al., 1992)と報告されている。

35 しかし、ダイズの家受粉率は条件によっては上昇することもある。例え

ば、ダイズの開花期にミツバチの巣箱をダイズほ場の中心に設置した場合、平均で 2.96~7.26%となり、局所的には 19.5%に達したと報告されている (Abrams et al., 1978)。またツルマメ間の他家受粉率に関しても、秋田県雄物川流域で約 13%という高い他家受粉率を示す集団が発見されたとの報告がある (Fujita et al., 1997)。この集団から採取されたツルマメの 1 胚珠当たりの花粉数は平均で 600~700 粒で、この数は典型的な自家受粉植物と他家受粉植物の 1 胚珠当たりの平均的な花粉数 (Cruden, 1977) の間に位置していた。この高い他家受粉率の原因が、雄物川流域特有の環境条件によるものなのか、あるいは集団内の遺伝的特性によるものなのかは明らかにされていない。なお、雄物川流域のツルマメの集団は、護岸工事などによる環境の攪乱が行われておらず、集団サイズが大きく、訪花昆虫にとっては非常に魅力的な食料供給源であり、このツルマメの集団の周辺では花粉を媒介する昆虫であるミツバチやクマバチなどが頻繁に観察されていた。このことから、このツルマメ集団の周りの環境には、他家受粉を引き起こす要因が通常よりも多く存在していたと考えられる (Fujita et al., 1997)。

ダイズとツルマメは、上述したようにいずれも閉花受粉を行う自殖性植物である。さらに吉村ら (2006) はツルマメとダイズの開花時期は異なるため、ダイズとツルマメとの自然交雑は起こりにくいと述べている。吉村 (2008) は、関東地方では両者の開花には一ヶ月ほどの差がみられるとしている。なお、ツルマメの開花時期について、岩手県では 8 月上旬から 9 月中旬との報告がある (須田ら, 1995)。また、加賀ら (2006) は青森及び広島で採取されたツルマメ系統を秋田県、茨城県、広島県の 3 地点で栽培したところ、その開花期は 8 月中旬から 9 月中旬であったと報告している。

Nakayama and Yamaguchi (2002)は、ダイズとツルマメの間の交雑率を調査する目的で、丹波黒を用いた交雑試験を行っている。その理由として、奥原早生や鶴の子大豆といった品種ではダイズとツルマメの開花期が全く重ならないか、重なるとしても数日であるが、丹波黒はダイズ品種の中で開花期が遅いため、ダイズとツルマメの開花期が2週間程度重複したと報告している。こうした条件下で丹波黒とツルマメ (Gls/93-J-01) を 50cm 間隔でそれぞれ 30 個体ずつ交互に植えて、その自然交雑率を調査した。自然交雑実験終了後に結実したツルマメから採種された 686 個の種子から植物体を生育させ、調査した結果、ダイズとツルマメの雑種であると判断された植物体が 5 個体認められたことから、その交雑率は 0.73%と報告されている (Nakayama and Yamaguchi, 2002)。

また、農業環境技術研究所において、2005 年に除草剤グリホサート耐性の遺伝子組換えダイズとツルマメを 5cm 離して異なる 3 つの播種日で栽培し、ツルマメ個体の収穫種子を調査したところ、ダイズと自然交雑した交雑種子

はそれぞれの播種日で 7,814 粒中 0 粒、12,828 粒中 0 粒及び 11,860 粒中 1 粒であり、この交雑種子はダイズの播種時期をずらして両種の開花最盛期を最も近くした群から見つかったと報告されている (Mizuguti et al., 2009)。

さらに、2006 年及び 2007 年には除草剤グリホサート耐性の遺伝子組換えダイズのプロット (4 条 (10 個体/条)) の間にツルマメ 3 個体を網状の壁に沿わせて栽培した場合の自然交雑率が調査されている (吉村, 2008)。その結果、ダイズと自然交雑した交雑種子数は 2006 年の試験では 44,348 粒中 0 粒、ダイズとツルマメの開花期間の重複が 2006 年の試験より長くなった 2007 年の試験では 25,741 粒中 35 粒であったと報告されている (吉村, 2008)。また、農業環境技術研究所は 2006 年及び 2007 年に、前述の 5cm 離して栽培する試験区に加え、遺伝子組換えダイズから 2、4、6、8 及び 10m 離してツルマメを栽培した試験区を設定し、その自然交雑率を調査している。その結果、自然交雑した交雑種子は、2006 年の試験では 68,121 粒中 0 粒、ダイズとツルマメの開花期間の重複が 2006 年の試験より長くなった 2007 年の試験では 66,671 粒中 3 粒であった。なお、2007 年の試験において見られた 3 粒の交雑個体については、2、4 及び 6m の区でそれぞれ 1 個体ずつ得られたと報告されている (吉村, 2008)。

よって、ダイズとツルマメ集団が隣接して生育し、かつ開花期が重なり合う場合は低頻度で交雑し得るが、そのような特殊な条件の場合でも、ダイズとツルマメが交雑する頻度は極めて低いと考えられた。

実際に、1996 年以降、15 年間除草剤グリホサート耐性ダイズが輸入されているが、農林水産省による遺伝子組換え植物実態調査 (平成 21 年及び 22 年) のダイズ輸入実績港 10 港での調査の結果では、ダイズ陸揚地点から半径 5km 以内において除草剤グリホサート耐性ダイズとツルマメの交雑体は認められなかった (農林水産省, 2011b; 2011c)。また、わが国と同様に、ツルマメの自生地域であり、かつ除草剤グリホサート耐性ダイズを輸入している韓国において、2000 年に広範囲の地域から採取された 243 系統のツルマメに除草剤グリホサートを散布したところ、全ての系統が枯死し、除草剤グリホサート耐性ダイズとツルマメの交雑体は確認されなかったと報告されている (Kim et al., 2003)。

従来ダイズとツルマメの雑種形成及びその後のダイズからツルマメへの遺伝子浸透に関しては、わが国において経時的な調査が行われている。2003 年から 2006 年にかけてツルマメと従来ダイズの雑種が、どの程度自生地において形成されているかを確認するために、日本各地のダイズ畑周辺で栽培ダイズとツルマメとの中間体が探索されている。その結果、調査した 58 地点 (秋田県 8 地点、茨城県 7 地点、愛知県 4 地点、広島県 6 地点、佐賀県 33 地点) の

うち秋田県の 1 地点及び佐賀県の 5 地点から形態的にダイズとツルマメの中間的な特徴を持つ 17 個体の中間体が発見され、その後、マイクロサテライトマーカーにより、これらの中間体はすべてダイズとツルマメの自然交雑に由来することが明らかになった (Kuroda et al., 2010)。

5 しかし、これら発見された中間体が同じ集団内で生存し続けるかどうかの追跡調査を、中間体の見つかった秋田県 1 地点、佐賀県 5 地点について行ったところ、佐賀県の 1 地点を除き翌年には雑種後代は確認されなかった。佐賀県の 1 地点では、翌年に 1 個体の雑種後代を確認したものの、翌々年は確認されなかった (Kuroda et al., 2010)。

10

さらに、ダイズからツルマメへの自然交雑の有無を DNA レベルで明らかにするために、F1 雑種及び雑種後代が発見された地点を含めて、秋田県、茨城県、佐賀県の 14 地点の種子 1,344 サンプルをマイクロサテライトマーカーで解析した結果、従来ダイズ由来の遺伝子のツルマメ集団中への浸透は確認されなかった (Kuroda et al., 2008)。同様に Stewart et al., (2003)も「ダイズから野生種への遺伝子浸透に関する分子学的事実はない」と述べている。

15

このようにダイズとツルマメの雑種の生存が制限される理由として、雑種自体の競合性の低下が考えられる。ダイズは人為的な栽培環境に適応進化し、自然環境で生育していくための形質を失っている可能性が考えられる。実際に、自然環境に適応したツルマメと栽培作物であるダイズでは形態的及び生態的特性に大きな違いがある。したがって、雑種及び雑種後代が栽培作物であるダイズの遺伝子のある割合で有することにより、自然環境に適応するのに不利になっている可能性がある。

20

実際に、人為的に交配して得た従来ダイズとツルマメの雑種をツルマメの親系統とともに播種した後で、それらの定着の様子を 3 年間追跡調査した結果、雑種系統の定着率は親系統であるツルマメと比較して明らかに劣っていたことが示されている (Oka, 1983)。さらに、従来ダイズとツルマメの雑種においては、休眠性、倒伏性、裂莢性はツルマメに比べ低下していることが報告されている (Oka, 1983; Chen and Nelson, 2004)。

25

上述したように、Kuroda et al. (2010)は 2003~2006 年に行った中間体の調査の結果、17 個体の中間体を発見しているが、雑種後代は速やかに自然環境から消失していたと報告している。その理由として、1) F1 雑種の休眠性は種子親であるツルマメの形質によって決定されるため土壌中で生存するが、雑種後代種子では硬実種子の割合が減少するため冬期に種子が腐るか、又は発芽しても寒さにより枯死する、2) 雑種後代の種子が越冬して発芽しても、その競合性はツルマメより低いために他の植物との競合に勝てず、淘汰されたこと、の 2 つを挙げている (Kuroda et al., 2010)。

35

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

5 ダイズの花には1花あたり10本の雄ずいがあり、各雄ずいは1つの葯を持つ
つ(後藤, 1995)。1葯あたりの花粉数は374~760粒(Palmer et al., 1978)、約
230~540粒(Koti et al., 2004)の報告がある。花粉の寿命は短く、その発芽能力は湿度が一定でない条件下では約8時間で失われることが報告されている
10 (Abel, 1970)。花粉の直径は15~25 μm である(Palmer, 2000)。また、花粉の飛
散距離に関しては、農業環境技術研究所が2001年から2004年の4年間に行
った除草剤グリホサート耐性遺伝子組換えダイズを用いた非組換えダイズと
の交雑試験では、交雑が観測された最長距離での交雑率は花粉親からの距離
が2001年は7.0mで交雑率0.040%、2002年は2.8mで0.08%、2003年は
15 0.7~10.5mまで調査したが交雑は認められず、2004年は3.5mで0.022%であ
った(Yoshimura et al., 2006)。また、訪花昆虫の種類は、主にアザミウマ類、
カメムシ目の昆虫が観察されたと報告している(Yoshimura et al., 2006)。

ホ 病原性

20 —

へ 有害物質の産生性

25 ダイズにおいて、自然条件下で野生動植物等の生育又は生息に影響を及ぼ
す有害物質の産生性は報告されていない。

ト その他の情報

① ダイズと交雑可能な近縁野生種であるツルマメの生育を制限する要因

30

一般的に自然条件下で自生する植物体の群落は他の植物との競合、非生物
的環境との相互作用、昆虫や動物による食害及び人間活動の影響といた
くつかの要因によって制限されている(Tilman, 1997)。

35 ツルマメの生育を制限する要因に関して、出芽したツルマメを個体識別し、
その生存・死亡状況を約2週間間隔で観察した結果、生育初期には、暑さと
乾燥により多数死亡し、生き残った個体も草刈で大きな損傷を受けて死亡し
たと報告されている(中山ら, 2000)。

また、Oka (1983)は、ツルマメの生育の制限要因として、周辺に生育する雑草種の影響を受けていると述べている。また、羽鹿ら (2003)は、ツルマメの自生場所は河原や工事現場など常に攪乱が生じているところで、生息環境が元々不安定な上、都市近郊などでは自生地が開発で破壊されたりするケースもあり、消滅する個体群も少なくない、と報告している。さらに、遷移の進んだ自生地ではイネ科などの雑草との競合により消えつつある個体群も見られ、攪乱が生じた後ツルマメが増殖を繰り返すことが可能な期間はかなり短い印象を受けたと報告している。

10 ② ツルマメに寄生するチョウ目昆虫

ツルマメに寄生するチョウ目昆虫については、農業環境技術研究所、農業・食品産業技術総合研究機構及び農業生物資源研究所が、東北地方 (岩手県盛岡市)、関東地方 (茨城県つくば市、筑西市)、中国地方 (広島県福山市、三原市、岡山県岡山市、倉敷市、島根県大田市)、九州地方 (熊本県熊本市、菊池市、合志市、菊池郡大津町、上益城郡嘉島町、佐賀県佐賀市、神崎市、小城市)の国内 4 地域において、それぞれ数ヵ所のツルマメ個体群を定期調査地点として選定し、2011年5月~11月の期間に調査を行っている (安田ら, 2012)。その結果、47種のチョウ目昆虫の幼虫がツルマメを食餌していたことが確認された。これら47種のうち、少なくとも1ヵ所の調査地域において「頻繁に発生が確認されるもの」、又は「中程度に発生が確認されるもの」に分類されるチョウ目昆虫は18種であった (安田ら, 2012) (表 1, p16)。なお、特定された18種のチョウ目昆虫のうち14種がダイズ害虫として既に記録のあるものであった (安田ら, 2012)。

表 1 安田ら (2012) の行ったツルマメ調査期間中に採取されたチョウ目昆虫のうち、「頻繁に発生が確認されるもの」及び「中程度に発生が確認されるもの」に分類される 18 種のチョウ目昆虫⁵

科	和名	学名	東 北	関 東	中 国	九 州	従来の寄生記録				
							ダイズ を含む	その他マメ科を 含む	マメ科以外	多食性 広食性	未知
ハマキガ科	ウスアトキハマキ	<i>Archips semistructa</i> (Meyrick)	-	○	○	-			●		
ハマキガ科	チャノコカクモンハマキ	<i>Adoxophyes honmai</i> Yasuda	-	△	○	○				☆	
ハマキガ科	ダイズサヤムシガ	<i>Matsumuraeses falcana</i> (Walsingham)	◎	◎	○	○	*				
ハマキガ科	マメシンクイガ	<i>Leguminivora glycinivorella</i> (Matsumura)	◎	-	-	-	*	ツルマメ			
ハモグリガ科	ダイズギンモンハモグリガ	<i>Microthauma glycinella</i> Kuroko	-	○	○	○	*				
ツトガ科	ヒメクロミスジノメイガ	<i>Omiodes miserus</i> (Butler)	-	◎	△	○		ヌスビトハギ			
ツトガ科	マエウスキノメイガ	<i>Omiodes indicatus</i> (Fabricius)	-	-	-	◎	*				
ツトガ科	ウコンノメイガ	<i>Pleuroptya ruralis</i> (Scopoli)	○	△	△	○	*				
シロチョウ科	モンキチョウ	<i>Colias erate poloographys</i> Motshulsky	○	△	-	△	*				
タテハチョウ科	コムシジ	<i>Neptis sappho intermedia</i> V.B.Pryer	○	-	-	-	*				
シャクガ科	ヨモギエダシャク	<i>Ascotis selenaria cretacea</i> (Butler)	○	○	△	△	*				
ドクガ科	マメドクガ	<i>Cifuna locuples confusa</i> (Bremer)	△	-	○	-	*				
ヤガ科	チャバネキボシアツバ	<i>Paragabara ochreipennis</i> Sugi	△	○	△	○					★
ヤガ科	オオウンモンクチバ	<i>Mocis undata</i> (Fabricius)	-	△	○	○	*				
ヤガ科	オオタバコガ	<i>Helicoverpa armigera armigera</i> (Hubner)	-	○	△	△	*				
ヤガ科	ツメクサガ	<i>Heliothis maritima adacta</i> Butler	○	-	-	-	*				
ヤガ科	ハスモンヨトウ	<i>Spodoptera litura</i> (Fabricius)	○	○	-	○	*				
ヤガ科	カブラヤガ	<i>Agrotis segetum</i> (Denis & Schiffenuller)	-	-	○	-	*				

◎：頻繁に発生が確認される ○：中程度に発生が確認される △：発生が少ない -：発生未確認

⁵本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社 に 帰属する

③ ツルマメに対する昆虫等の生物の食害程度及び食害の種子生産性に及ぼす影響

5 生育中期から成熟期におけるツルマメに対する昆虫等の生物による食害程度を明らかにし、その食害がツルマメの種子生産性に及ぼす影響を評価するために、a. 自生するツルマメ集団に対するチョウ目昆虫の食害程度の調査及び b. チョウ目昆虫の食害を模した摘葉処理試験を行った。a. は自生するツルマメ集団がチョウ目昆虫から受ける食害程度を調査することにより、
10 チョウ目昆虫による食害がツルマメ集団の生育の制限要因となりうるかを評価することを目的とし、b. は、その食害が莢数及び種子数に与える影響を評価することを目的とした。

a. ツルマメの食害程度の調査 (茨城・佐賀) (別添資料 2 及び別添資料 3)

15 チョウ目昆虫による食害がツルマメ集団の生育の制限要因となりうるかどうかについて評価するため、茨城県及び佐賀県に自生するツルマメ集団においてツルマメを食餌する生物又はツルマメに起こる病害を特定し、その食害及び傷害程度を調査した。食害及び傷害程度の評価は、各調査地点のツルマメ集団に 30cm×30cm の枠を無作為に 3 ヲ所設置し、その枠中の食害及び
20 傷害程度を葉面積に対して 0~100%で示すことにより行った。また、莢の食害程度の評価は、各調査地点のツルマメ集団から 15 莢を無作為に採取し、その莢の食害程度を表面積に対して 0~100%で評価することにより行った。なお、茨城県と佐賀県を調査地として選んだ理由は、両県ともダイズの主要な栽培地域であり、地理的距離も離れていることから異なる環境条件での結果が得られると考えられたからである。

25

i. 茨城県 (別添資料 2)

調査は 2011 年に 7 回 (第 1 回：6 月 27~28 日、第 2 回：7 月 21~22 日、
第 3 回：8 月 3~4 日、第 4 回：8 月 17~18 日、第 5 回：8 月 30~31 日、第 6
30 回：9 月 14~15 日、第 7 回：9 月 28~29 日)実施し、第 1 回は 20 地点、第 2 回は 21 地点、第 3 回から第 7 回は 23 地点で実施した。ツルマメを食害する、又は病害を引き起こす生物の特定は、ツルマメの食害の状態と病徴を観察することにより行った (別添資料 2 の Appendix1)。

調査の結果、多くの生物がツルマメに対して、食害又は病害をもたらしていることが明らかとなった。また、茨城県における全調査地点の食害及び病害を、調査日ごとにまとめた結果、ツルマメに対する食害及び病害の合計は
35 第 2 回目の観察時に最も高く (約 22%)、第 5 回目の調査で最も低い値であっ

た (約 8%) (図 1, p19)。なお、食害にはバッタ目昆虫、コウチュウ目昆虫、そしてチョウ目昆虫などが摂食することにより、植物組織が部分的に欠損している状態と、植物組織の欠損を伴わない状態の両方が含まれている (別添資料 2 の Appendix1)。さらに、最もツルマメを食害していた生物はバッタ目及びコウチュウ目昆虫であった。バッタ目昆虫による食害程度は第 1 回目の調査で最も高く (約 10%)、第 6 回目の調査で最も低かった (約 2%) (図 1, p19)。コウチュウ目昆虫による食害程度は第 2 回目の調査で最も高く (約 8%)、第 6 回目の調査で最も低かった (約 0.2%) (図 1, p19)。それに対し、チョウ目昆虫による食害程度は、全ての調査日を通じて、バッタ目昆虫による食害程度を下回っていた。コウチュウ目昆虫の食害程度と比較した場合、第 1~4 回目までの調査ではチョウ目昆虫による食害程度はコウチュウ目昆虫による食害程度を下回っていた。第 5~7 回目の調査ではチョウ目昆虫による食害程度はコウチュウ目昆虫による食害程度をわずかに上回っていたが、ともにその食害程度は 2%以下と極めて低かった。チョウ目昆虫による食害程度は第 6 回目の調査で最も高く (1.6%)、第 1 回目の調査で最も低かった (0.2%) (図 1, p19)。

さらに、第 7 回目の調査ではツルマメの莢における食害程度の観察を行った。茨城県における全調査地点の食害程度をまとめた結果、ツルマメの莢に対する食害程度の合計は 7.0%であった (表 2, p19)。ツルマメの莢を最も食害していたのはカメムシ目であり、その値は 6.1%であった。バッタ目、コウチュウ目及びチョウ目による食害はそれぞれ 1%以下であった (表 2, p19)。

以上の結果から、茨城県においてツルマメは、多くの生物から食害及び病害を受けているが、チョウ目昆虫による食害程度は食害及び病害の合計と比較して非常に低いことが明らかとなった。

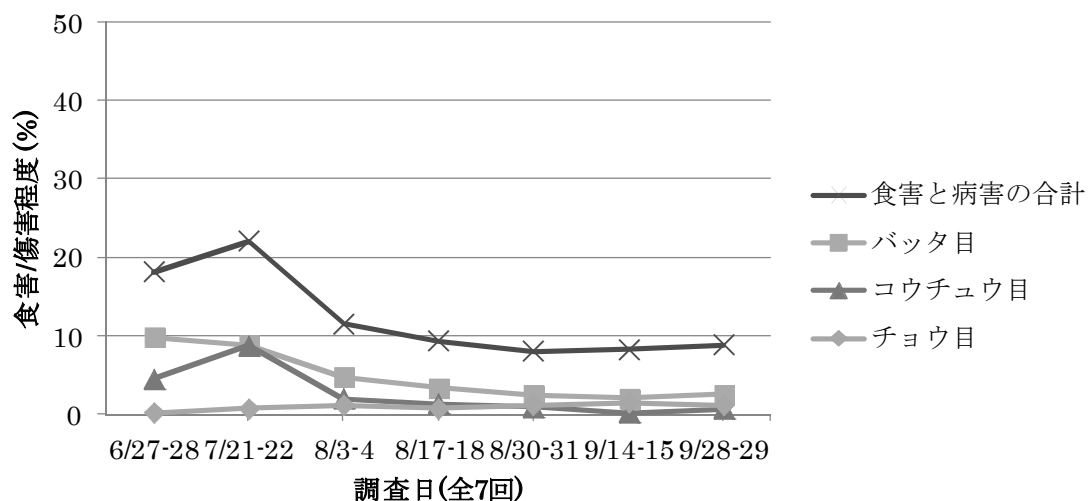


図 1 調査日ごとの全調査地点におけるツルマメの食害及び病害程度 (茨城県)⁶

5 表 2 全調査地点のツルマメの莢における食害程度 (茨城県：第 7 回)⁷

	チョウ目	バッタ目	コウチュウ目	カメムシ目	等脚類	合計
莢の食害程度 (%)	0.4	0.1	0.4	6.1	0.0	7.0

ii. 佐賀県 (別添資料 3)

調査は 2011 年に 7 回 (第 1 回： 6 月 29~30 日、第 2 回： 7 月 26~27 日、第 3 回： 8 月 10~11 日、第 4 回： 8 月 24~25 日、第 5 回： 9 月 7~8 日、第 6 回： 9 月 21~22 日、第 7 回： 10 月 5~6 日)実施し、第 1 回は 15 地点、第 2 回と第 3 回は 16 地点、第 4 回から第 7 回は 17 地点で実施した。ツルマメを食害する又は病害を引き起こす生物の特定は、ツルマメの食害の状態と病徴を観察することにより行った (別添資料 3 の Appendix 1)。

調査の結果、多くの生物がツルマメに対して、食害又は病害をもたらしていることが明らかとなった。また、佐賀県における全調査地点の食害及び病害を、調査日ごとにまとめた結果、ツルマメに対する食害及び病害の合計は第 1 回目観察時に最も高く (約 31%)、第 7 回目の調査で最も低かった (約

⁶本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

⁷本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

9%) (図 2, p21)。なお、食害にはバッタ目昆虫、コウチュウ目昆虫、そして
チョウ目昆虫などが摂食することにより、植物組織が部分的に欠損している
状態と、植物組織の欠損を伴わない状態の両方が含まれている (別添資料 3
の Appendix1)。さらに、最もツルマメを食害していたのはバッタ目昆虫及び
5 コウチュウ目昆虫であった。バッタ目昆虫による食害程度は第 1 回目の調査
で最も高く (約 20%)、第 6 回目の調査で最も低かった (約 1%) (図 2, p21)。
コウチュウ目昆虫による食害程度は第 1 回目の調査で最も高く (約 9%)、第
7 回目の調査で最も低かった (<0.1%) (図 2, p21)。チョウ目昆虫による食害
程度は、全ての調査日を通じて、バッタ目昆虫による食害程度を下回ってい
10 た。コウチュウ目昆虫の食害程度と比較した場合、第 1~3 回目までの調査で
はチョウ目昆虫による食害程度はコウチュウ目昆虫による食害程度を下回
っていた。第 4~7 回目の調査ではチョウ目昆虫による食害程度はコウチュウ
目昆虫による食害程度をわずかに上回っていたが、ともにその食害程度は
1%以下と極めて低かった。チョウ目昆虫による食害程度は第 2 回目の調査
15 で最も高く (2.2%)、第 3 回目及び第 6 回目の調査で最も低かった (0.7%) (図
2, p21)。

さらに、第 7 回目の調査ではツルマメの莢における食害程度の観察を行っ
た。佐賀県における全調査地点の食害程度をまとめた結果、ツルマメの莢に
対する食害程度の合計は 1.6%であった (表 3, p21)。ツルマメの莢を最も食
20 害していたのはカメムシ目であり、その値は 1.2%であった。バッタ目、コ
ウチュウ目及びチョウ目による食害程度はそれぞれ 1%以下であった (表 3,
p21)。

以上の結果から、佐賀県においてツルマメは、多くの生物から食害及び病
害を受けているが、チョウ目昆虫による食害程度は食害及び病害の合計と比
25 較して非常に低いことが明らかとなった。

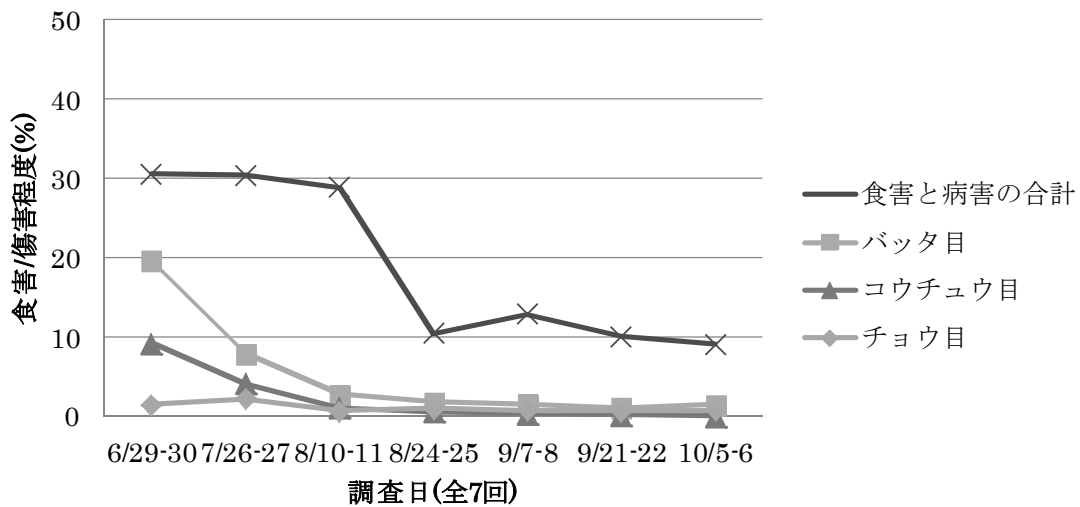


図 2 調査日ごとの全調査地点におけるツルマメの食害及び病害程度 (佐賀県)⁸

5 表 3 全調査地点のツルマメの莢における食害程度 (佐賀県：第 7 回)⁹

	チョウ目	バッタ目	コウチュウ目	カメムシ目	等脚類	合計
莢の食害程度 (%)	0.3	0.1	0.1	1.2	0.0	1.6

*表中では各生物の食害程度を四捨五入して示している。そのため、表中の合計と各生物の食害程度の合算値は一致しない。

10 茨城県及び佐賀県における調査の結果、ツルマメは多くの生物から食害及び病害を受けていることが確認された。また、いずれの県でも最もツルマメを食害していた生物はバッタ目昆虫及びコウチュウ目昆虫であった。その一方で、チョウ目昆虫による食害程度の全体に占める割合は非常に低いことが明らかとなった。以上のことから、今回の茨城県及び佐賀県で行ったツルマメ調査では、チョウ目昆虫による食害がツルマメ集団の生育の制限要因とな

15 っている可能性は非常に低いと考えられた。

b. 摘葉がツルマメの莢数及び種子数に与える影響 (別添資料 4)

⁸本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

⁹本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

米国の人工気象室で栽培したツルマメを用いて R1~R2 期 (開花始~開花期)における 0、10、25、50 及び 100%の摘葉が莢数及び種子数に与える影響を評価した。なお、ダイズにおいて、開花から着莢までの時期の摘葉が収量への影響が最も大きいと報告されている (Willson, 1989; Haile et al., 1998)ことから、R1~R2 期に摘葉を行うこととした。

試験の結果、R1~R2 期 (開花始~開花期)にツルマメの 50%の葉を取り除いた場合でも無処理区と比較して莢数及び種子数の減少は認められなかった。また、100%の葉を取り除いた場合では無処理区と比較して莢数及び種子数が統計学的に有意に減少していた (表 4, p23)。さらに、ツルマメの 50%の葉を取り除いた場合でも無処理区と比較して R7 期(成熟期)までの日数に違いは認められなかった (表 4, p23)。

植物は葉の損失に対して新たな葉の生育、あるいは成熟の遅延により補償することが知られている。一般的にダイズでは生殖生長期に摘葉を行った場合、収量の有意な減少が認められないのは 15~20%までの摘葉とされている (Willson, 1989; Rice, 2002; Hunt et al., 2010)。前述のようにダイズよりもツルマメの方が摘葉に対する補償能力が高いのは、ダイズでは植物の栽培化の過程で葉の欠損に対する補償能力が低下していったためと考えられた (Welter and Steggall, 1993)。

以上をまとめると、茨城県及び佐賀県におけるツルマメ調査の結果から、生育中期から成熟期のツルマメは、多くの生物により食害及び傷害を受けており、チョウ目昆虫の食害程度は最大でも 5%であった。また、ツルマメは 50%の葉を失った場合でも生育速度に影響無く新たな葉を作り、葉の欠損の無い場合と同等の莢数及び種子数を維持できる高い補償能力を持っていることが確認された。また、ツルマメ調査で観察されたチョウ目昆虫による食害程度はこれを下回るものであったため、チョウ目昆虫による食害程度はツルマメの生育速度及び種子生産に影響を及ぼすものではないと考えられた。

したがって、ツルマメの集団は主に環境要因やイネ科や多年生の雑草との競争によって制限されており、チョウ目昆虫による食害は大きな制限要因となっていないと考えられた。

表 4 R1-R2 期に 5 段階で摘葉したツルマメの莢数及び種子数¹⁰

摘葉率 (%) (R1-R2) ³	収量構成要素				形態及び生育の評価 (生長段階)	
	1 個体あたりの莢数		1 個体あたりの種子数		開花始 (R1 期)ま での日数 ³	成熟期 (R7 期) までの日数 ⁴
	平均 (SE) ¹	範囲 ²	平均 (SE) ¹	範囲 ²		
無処理	354 (17.8)	257~432	797 (40)	587~1,015	30	68
10	347 (7.9)	300~393	790 (25)	634~927	30	68
25	331 (11.4)	271~395	756 (32)	594~916	30	68
50	352 (13.6)	291~426	805 (36)	584~1,003	30	68
100	286 (22.6)*	169~386	568 (47)*	283~749	30	78

* 無処理との間に統計学的有意差が認められた (ANOVA、 $\alpha = 0.05$)

¹無処理及び 10%摘葉は n=11、25%、50%及び 100%摘葉は n=12

²各処理区における最大値及び最小値

³摘葉は R1~R2 期に行った。R1：開花始、R2：開花期

⁴収穫は R7 期に行った。R7：成熟初期。注：生育段階は Fehr and Caviness (1981)に基づく

¹⁰本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

5 (1) 供与核酸に関する情報

イ 構成及び構成要素の由来

10 チョウ目害虫抵抗性ダイズ (改変 *cry1Ac*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON87701, OECD UI: MON-87701-2) (以下「本組換えダイズ」という。) 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図 3 (p25)及び表 5 (p26~28)に示した。

15 なお、本組換えダイズに導入された *cry1Ac* 遺伝子から発現する Cry1Ac 蛋白質は野生型 (Genbank accession M11068)と比べて7カ所のアミノ酸が置換されている。また、N末端側に CTP1 蛋白質由来の4アミノ酸が結合している (別添資料 5)。よって、本組換えダイズに導入された *cry1Ac* 遺伝子は「改変 *cry1Ac* 遺伝子」とし、発現する蛋白質を「改変 Cry1Ac 蛋白質」とする。

20 また、本組換えダイズ作出の過程において選抜マーカーとして導入された *cp4 epsps* 遺伝子から発現する 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (CP4 EPSPS)は植物中での発現量を高めるため、CP4 EPSPS の機能活性を変更することのないように塩基配列に改変を加えたもので、*Agrobacterium* sp. CP4 株由来のアミノ酸配列と比較して、N末端配列から2番目のセリンがロイシンに改変されている。したがって、本組換えダイズに挿入された *cp4 epsps* 遺伝子は「改変 *cp4 epsps* 25 遺伝子」とする。ただし、本組換えダイズは、R1 世代において通常の散布量よりも低薬量での除草剤グリホサート散布を行い、除草剤による傷害を受けた個体のみを選抜することによって、遺伝的分離により改変 *cp4 epsps* 遺伝子を持たない個体のみを選抜している (図 5, p37)。

30 ロ 構成要素の機能

- ① 目的遺伝子、発現調節領域、局在化シグナル、選抜マーカーその他の供与核酸の構成要素それぞれの機能

35 本組換えダイズの作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能は表 5 (p26~28)に示したとおりである。

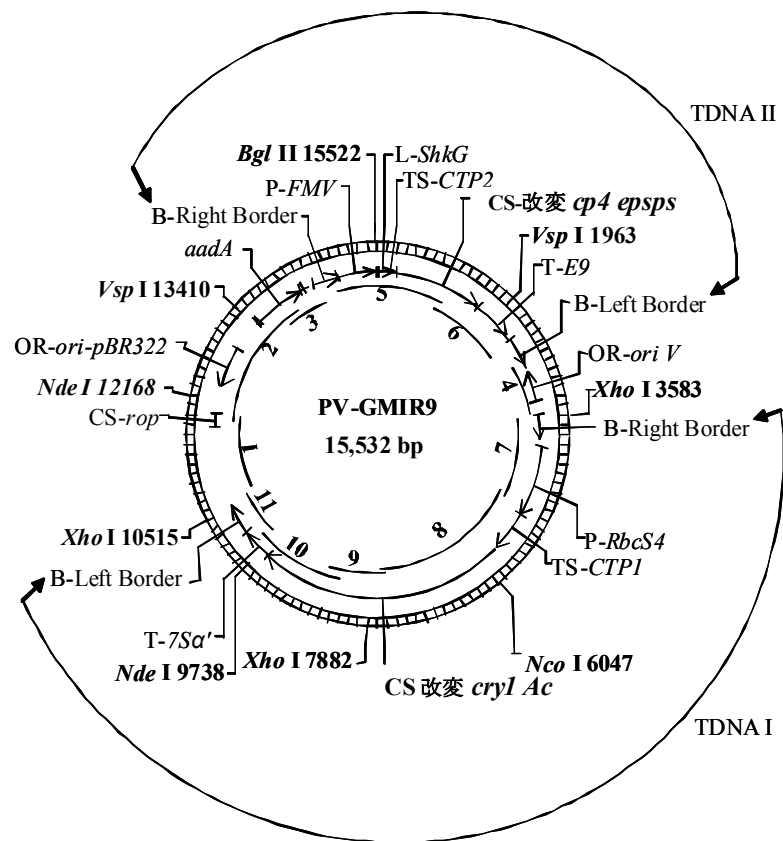


図 3 PV-GMIR9 のプラスミドマップ¹¹

本組換えダイズの育成過程で、上図の T-DNA I 領域は持つが、T-DNA II 領域は持たない個体を選抜した。

¹¹本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

表 5 供与核酸の構成並びに構成要素の由来及び機能¹²

構成要素	由来及び機能
T-DNAII (本組換えダイズ中には存在しない。プラスミド中の位置 15,532 から続く)	
Intervening Sequence	DNA のクローニングの際に利用された配列。
L¹-ShkG	5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS)蛋白質をコードしている <i>Arabidopsis thaliana</i> (シロイヌナズナ)の <i>ShkG</i> 遺伝子の 5'末端非翻訳領域(Klee et al., 1987; Herrmann, 1995)。遺伝子発現の調節に関与する。
TS²-CTP2	<i>A. thaliana</i> の EPSPS 蛋白質をコードする <i>ShkG</i> 遺伝子に由来する葉緑体輸送ペプチドをコードする配列(Klee et al., 1987; Herrmann, 1995)。目的蛋白質を細胞質から葉緑体へと輸送する。
CS³-改変 cp4-epsps	<i>Agrobacterium</i> sp. CP4 株由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (CP4 EPSPS)をコードしている <i>aroA</i> 遺伝子のコード配列(Padgett et al., 1996; Barry et al., 2001)。発現する蛋白質のアミノ酸配列は、 <i>Agrobacterium</i> sp. CP4 株由来のアミノ酸配列と比較して N 末端配列から 2 番目のセリンがロイシンに改変されている。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
T⁴-E9	<i>Pisum sativum</i> (エンドウ)のリブローズ-1, 5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニットをコードする <i>RbcS2</i> 遺伝子の 3'末端非翻訳領域。mRNA のポリアデニル化を誘導する(Coruzzi et al., 1984)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
B⁵-Left Border	T-DNA を伝達する際に利用される左側境界配列を含む <i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来の DNA 領域(Barker et al., 1983)。
外側骨格領域 (本組換えダイズ中には存在しない)	
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
OR⁶-ori V	広宿主域プラスミド RK2 に由来する複製開始領域であり、アグロバクテリウム中においてベクターに自律増殖能を付与する (Stalker et al., 1981)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。

¹²本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する
L¹ -Leader(リーダー配列); **TS²** - Targeting Sequence(ターゲティング配列); **CS³** - Coding Sequence(コード配列); **T⁴** - Transcription Termination Sequence(転写終結配列); **B⁵** - Border(境界配列); **OR⁶** - Origin of Replication(複製開始領域); **P⁷** - Promoter(プロモーター)

表 5 供与核酸の構成並びに構成要素の由来及び機能 (つづき)

構成要素	由来及び機能
T-DNA I	
B-Right Border	T-DNA を伝達する際に利用される右側境界配列を含む <i>A. tumefaciens</i> 由来の DNA 領域(Zambryski et al., 1982; Depicker et al., 1982)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
P⁷-RbcS4	<i>A. thaliana</i> のリブロース-1,5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニット 1A をコードする <i>RbcS4</i> 遺伝子のプロモーター、リーダー及び 5'末端非翻訳領域(Krebbers et al., 1988)。植物体地上部での発現を誘導する。
TS-CTP1	<i>A. thaliana</i> の <i>RbcS4</i> 遺伝子に由来する輸送ペプチドをコードする配列(Krebbers et al., 1988)。改変 Cry1Ac 蛋白質を葉緑体へ輸送する。
CS- 改変 <i>cry1Ac</i>	<i>B. thuringiensis</i> に由来する改変 Cry1Ac 蛋白質をコードする配列 (Fischhoff and Perlak, 1996)。改変 Cry1Ac 蛋白質は、 <i>B. thuringiensis</i> ssp. <i>kurstaki</i> HD-73 株から産生される野生型の Cry1Ac 蛋白質と比較して 7つのアミノ酸が異なる。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
T-7S α'	<i>G. max</i> のダイズ 7S α 種子貯蔵蛋白質をコードする <i>Sphas1</i> 遺伝子の 3'末端非翻訳領域。mRNA の転写を終結させ、ポリアダニル化を誘導する(Schuler et al., 1982)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
B-Left Border	T-DNA を伝達する際に利用される左側境界配列を含む <i>A. tumefaciens</i> 由来の DNA 領域(Barker et al., 1983)。

表 5 供与核酸の構成並びに構成要素の由来及び機能 (つづき)

構成要素	由来及び機能
外側骨格領域 (本組換えダイズ中には存在しない)	
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
CS-rop	ColE1 プラスミドに由来するプライマー蛋白質のリプレッサーのコード配列であり、 <i>E. coli</i> 中においてプラスミドのコピー数を維持する(Giza and Huang, 1989)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
OR-ori-pBR322	pBR322 から単離された複製開始領域であり、 <i>E. coli</i> においてベクターに自律増殖能を付与する(Sutcliffe, 1979)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
CS-aadA	トランスポゾン Tn 7 のアミノグリコシド改変酵素である 3''(9)- <i>O</i> -ヌクレオチジルトランスフェラーゼ由来の細菌プロモーター、コード配列及び 3' 非翻訳領域 (Fling et al., 1985)(GenBank accession X03043)。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。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
T-DNA II (本組換えダイズ中には存在しない。表の先頭に続く)	
B-Right Border	T-DNA を伝達する際に利用される右側境界配列を含む <i>A. tumefaciens</i> 由来の DNA 領域(Zambryski et al., 1982; Depicker et al., 1982)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
P-FMV	FMV 35S RNA のプロモーター(Rogers, 2000)。植物細胞内での転写を誘導する。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。

- ② 目的遺伝子及び選抜マーカーの発現により産生される蛋白質の機能及び当該蛋白質がアレルギー性を有することが明らかとなっている蛋白質と相同性を有する場合はその旨

5

【改変 *cry1Ac* 遺伝子】

本組換えダイズには *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* 由来の改変 *cry1Ac* 遺伝子がコードする改変 Cry1Ac 蛋白質を発現することにより、特定のチョウ目害虫に対する抵抗性が付与されている。

10

土壌中に一般的に存在するグラム陽性菌である *B. thuringiensis* の産生する Bt 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ことが知られている (Hofmann et al., 1988; Slaney et al., 1992; Van Rie et al., 1990)。

15

本組換えダイズに導入された改変 *cry1Ac* 遺伝子は *cry1Ab* 遺伝子の最初の 1,398 塩基 (アミノ酸配列では 1-466 番目) (Perlak et al., 1990) と *cry1Ac* 遺伝子の 1,399~3,534 番目 (アミノ酸配列では 467-1178 番目) の塩基 (Adang et al., 1985; Fischhoff and Perlak, 1996) を結合させることにより構築した (図 4, p31)。なお、*cry1Ab* 遺伝子の最初の 1,398 塩基は既に植物体内での発現量を高める目的で塩基配列にサイレント変異を加えてあり、この部分において、野生型 Cry1Ac 蛋白質 (Adang et al., 1985; Genbank accession M11068) とアミノ酸配列が 6 アミノ酸だけ異なる。また、*cry1Ac* 遺伝子の 1,399~3,534 番目については、植物体内での発現を高める目的で塩基配列にサイレント変異を新たに導入した。また、この部分において、野生型 Cry1Ac 蛋白質とアミノ酸配列が 1 アミノ酸だけ異なる。これは 766 番目のアミノ酸であり、遺伝子のクローニングに用いた *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* HD-73 株がもともと有していたアミノ酸変異であると考えられた (図 4 の b, p31)。よって、改変 *cry1Ac* 遺伝子から発現する改変 Cry1Ac 蛋白質は、*B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* HD-73 株から産生される野生型 Cry1Ac 蛋白質と比較して 7 つのアミノ酸が異なるが、これらの置換は既に第一種使用の承認 (平成 16 年 11 月 22 日) を受けているチョウ目害虫抵抗性ワタ (*cry1Ac*, *Gossypium hirsutum* L.) (531, OECD UI : MON-00531-6) 中で発現している改変 Cry1Ac 蛋白質と同一である。また、本組換えダイズ中で発現する改変 Cry1Ac 蛋白質は上述の 7 つのアミノ酸の置換に加え、N 末端側に CTP1 に由来する 4 アミノ酸が付加されている (別添資料 5)。

20

25

30

35

本組換えダイズで発現する改変Cry1Ac蛋白質の推定アミノ酸配列と、*B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* HD-73株から生産される野生型Cry1Ac蛋白質の推定アミノ酸配列との相同性は99.1%である。

5 Cry1A蛋白質はチョウ目昆虫のみに殺虫活性を持つことが知られている (Crickmore et al., 1998)。また、Cry1Ac蛋白質に分類される蛋白質は95%の相同性の範囲内で多様性を持っており (Crickmore et al., 1998)、*B. thuringiensis* から同定されたCry1Ac蛋白質にいくつかの変異型が存在することも知られている (Von Tersch et al., 1991)。上述したように、本組換えダイズで発現する改変Cry1Ac蛋白質と*B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* HD-73株が生産する野生型Cry1Ac蛋白質との相同性は99.1%であり、Cry1Ac蛋白質がもともと有する95%以上の相同性の範囲内であるため、改変Cry1Ac蛋白質のチョウ目昆虫に対する殺虫スペクトラムは自然界に存在するCry1Ac蛋白質と同等と考えられる。なお、Cry1Ac蛋白質は変異型や由来に関わらずチョウ目昆虫以外の昆虫種に対しては殺虫活性を持たないことを文献調査により確認した (表 6, p32)。また、チョウ目昆虫の中でも種によってCry1Ac蛋白質に対する感受性には差があることが知られている (表 7, p33)。

20 本組換えダイズは、チョウ目害虫による被害の深刻な熱帯及び亜熱帯に属する主に南米の地域において、現在チョウ目害虫防除のために使用されている殺虫剤の使用量を軽減するか無くすことを目標として育成された。実際に、南米でのダイズ栽培における主要チョウ目害虫であるベルベットビーンキャタピラー (ビロードマメケムシ) (*Anticarsia gemmatalis*)、ソイビーンルーパー (*Pseudoplusia includes*)、ソイビーンアクシルボーラー (*Epinotia aporema*)及びサンフラワールーパー (*Rachiplusia nu*)に対して殺虫活性を示すことが観察されている (別添資料 6-1、6-2、6-3 及び 6-4)。

30 改変 Cry1Ac 蛋白質が、既知のアレルゲンと類似のアミノ酸配列を共有するか否か、アレルゲンデータベース 10 (AD_2010¹⁴) を用いて FASTA 型アルゴリズムによって比較したが、既知アレルゲンと類似の配列は認められなかった。

¹⁴ AD_2010: Food Allergy Research and Resource Program Database (FARRP)

(<http://www.allergenonline.com>) から得られた配列をもとに作成されたデータベースで 1,471 配列が含まれる。

表 6 目別に見た Cry1Ac 蛋白質の殺虫活性¹¹⁶

目	殺虫活性	調査した種の数	感受性を持つ種の数
Lepidoptera (チョウ目)	+	47	46
Diptera (ハエ目)	-	1	0
Coleoptera (コウチュウ目)	-	8	0
Neuroptera (アミメカゲロウ目)	-	1	0
Hymenoptera (ハチ目)	-	6	0
Hemiptera (カメムシ目)	-	6	0
Isoptera (シロアリ目)	-	1	0
Blattaria (ゴキブリ目)	-	1	0
Collembola (トビムシ目)	-	2	0
Acari (ダニ目)	-	2	0
Haplotaaxida (ナガミミズ目)	-	1	0

¹ 75 報の文献調査より作成した(文献については別添資料 7 参照)。

¹⁶本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

表 7 Cry1Ac 蛋白質の殺虫スペクトラム¹⁷

学名	慣用名	LC ₅₀ (µg/ml diet)	95% Confidence Interval	参考文献
本組換えダイズの標的昆虫				
<i>Anticarsia gemmatalis</i>	ベルベットビーンキャタピラー (ピロードマメケムシ)	0.039	0.012 - 0.094	Travalini et al. (2003)
<i>Pseudoplusia includes</i>	ソイビーンルーパー	0.21-0.48	0.16 - 0.65	Luttrell et al. (1999)
<i>Epinotia aporema</i>	ソイビーンアクシルボーラー	0.45	0.32 - 0.58	Bledig et al. (2001)
<i>Rachiplusia nu</i>	サンフラワールーパー	0.27	-	Bledig et al. (2001)
その他のチョウ目昆虫				
<i>Manduca sexta</i> (L.)	タバコホーンワーム (タバコスズメガ)	0.036	0.028 - 0.048	MacIntosh et al. (1990)
<i>Trichoplusia ni</i> (Hübner)	キャベツルーパー (イラクサギンウワバ)	0.09	0.018 - 0.18	MacIntosh et al. (1990)
		0.31	0.23-0.61	Moar et al. (1990)
<i>Heliothis virescens</i> (Fabricius)	タバコバッドワーム	1	0.55 - 2.35	MacIntosh et al. (1990)
<i>Helicoverpa zea</i> (Boddie)	コーンイヤールーム	10	6.4 - 24.8	MacIntosh et al. (1990)
<i>Agrotis ipsilon</i> (Hufnagel)	ブラックカットワーム (タマヤナガ)	18	10.36 - 36.1	MacIntosh et al. (1990)
		>200	-	Gilliland et al. (2002)
		202.5	-	Lu and Yu (2008)
<i>Ostrinia nubilalis</i> (Hübner)	ヨーロピアンコーンボーラー (ヨーロッパアワノメイガ)	37	17.8 - 115.9	MacIntosh et al. (1990)
<i>Spodoptera exigua</i> (Hübner)	ビートアーミーワーム (シロイチモジヨトウ)	44	41.9 - 46.4	MacIntosh et al. (1990)

¹⁷本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

—

5 (2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

10 本組換えダイズの作出に用いられたベクターPV-GMIR9は、*E. coli*由来のプラスミド pBR322などを基に構築された。

ロ 特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

15

本組換えダイズの作出に用いられたPV-GMIR9の全塩基数は15,532bpである。

② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

20

*E. coli*における構築ベクターの選抜マーカー遺伝子として、スペクチノマイシンやストレプトマイシンに対する耐性を付与するトランスポゾン Tn7由来の *aadA* 遺伝子が T-DNA 領域外に存在している。

25 ③ ベクターの感染性の有無及び感染性を有する場合はその宿主域に関する情報

本ベクターの感染性は知られていない。

30 (3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

イ 宿主内に移入された核酸全体の構成

35 宿主内に移入された本プラスミド・ベクターの構成要素を表 5 (p26~28) に記載した。また、ベクター内での供与核酸の構成要素の位置と制限酵素による切断部位に関しては、図 3 (p25) に示した。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

5 プラスミド・ベクターPV-GMIR9 をアグロバクテリウム法によって、非組換えダイズ品種 A5547 の幼芽の頂端分裂組織に導入した。

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

① 核酸が移入された細胞の選抜の方法

10

従来ダイズ品種 A5547 の幼芽の頂端分裂組織とプラスミド・ベクター PV-GMIR9 を含む *A. tumefaciens* ABI 株を共置培養した後、グリホサートを添加した組織培養培地により形質転換された細胞の選抜を行った。

15 ② 核酸の移入方法がアグロバクテリウム法の場合はアグロバクテリウム菌体の残存の有無

20 カルベニシリン、セフトキシム及びチカルシリン・クラブラン酸を添加した組織培養培地により、形質転換に用いたアグロバクテリウム菌体を除去した。さらに、本組換えダイズのR5世代において、形質転換に用いたプラスミド・ベクターPV-GMIR9の外側骨格領域を標的としたPCR分析を行ったところ、本組換えダイズにはプラスミド・ベクターPV-GMIR9の外側骨格領域は存在しなかった (別添資料 8)。このことから、本組換えダイズには形質転換に用いたアグロバクテリウム菌体は残存しないことが確認された。

25

③ 核酸が移入された細胞から、移入された核酸の複製物の存在状態を確認した系統、隔離ほ場試験に供した系統その他の生物多様性影響評価に必要な情報を収集するために用いられた系統までの育成の経過

30 形質転換された再分化個体 (R0) を自殖し、その後代であるR1世代において通常の散布量よりも低薬量での除草剤グリホサート散布を行い改変 $cp4$ $epsps$ 遺伝子の有無に関するスクリーニングを行った。これによりグリホサートによって傷害を受けた個体のみをT-DNA II (改変 $cp4$ $epsps$ 遺伝子発現カセットを含む領域) を持たない個体として選抜した。ここで選抜したT-DNA II
35 を持たないR1個体において、さらにTaqMan PCR法によりT-DNA I (改変 $cryIAc$ 遺伝子発現カセットを含む領域)をホモで有する個体を選抜した。選抜された個体の後代を導入遺伝子解析及び形態特性調査の対象とした。その結

果、最終的に商品化系統としてMON87701系統を選抜した。

本組換えダイズの育成図を図 5 (p37) に示した。なお、本申請の対象は、R5 世代及び R5 世代から派生する全ての交雑後代系統である。

【社外秘につき非開示】

図 5 本組換えダイズの育成図

【社外秘につき非開示】

(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

① 移入された核酸の複製物が存在する場所

5

本組換えダイズの導入遺伝子が染色体に存在するかどうかを調べるため、導入遺伝子をホモで有する本組換えダイズ (R5 世代)を改変 *cryIAc* 遺伝子を持たないダイズ品種 (MSOY8329)と交配して F1 個体を作成した。この F1 個体を自殖して得られた F2 世代を作成した。さらに、F2 世代のうち改変 *cryIAc* 遺伝子をヘテロで持つ 1 個体を自殖することにより F3 世代を作成した。これら F2 及び F3 世代について、導入遺伝子の遺伝子型を TaqMan PCR 法により調査し、分離比の検定を行った。その結果、導入遺伝子の分離比は、メンデルの法則に従うと仮定して期待される 1:2:1 の分離比に適合していた (表 8, p38; 別添資料 9 の Table2)。したがって、本組換えダイズの導入遺伝子は染色体上に存在していると考えられる。

10

15

表 8 本組換えダイズの F2 及び F3 世代における導入遺伝子の分離比¹⁸

世代	供試 個体数	観測値			1:2:1 分離			χ^2	p 値
		+/+	+/-	-/-	期待値 +/+	期待値 +/-	期待値 -/-		
F2	297	79	148	70	74.25	148.50	74.25	0.5	0.76
F3	263	73	121	69	65.75	131.50	65.75	1.8	0.41

¹F3 世代は、F2 世代のうちヘテロ接合体である 1 個体を自殖することで得られた

20

② 移入された核酸の複製物のコピー数及び移入された核酸の複製物の複数世代における伝達の安定性

サザンブロット分析による導入遺伝子の解析の結果、本組換えダイズのゲノム中 1 ヲ所に 1 コピーの T-DNA I 領域が組み込まれており (別添資料 10 の Figure 4~6, p38~40)、複数世代 (R4、R5、R6、R8 及び R9 世代)にわたり安定して後代に遺伝していることが確認されている (別添資料 10 の Figure 14, p52)。また、外側骨格領域及び T-DNA II 領域は導入されてい

25

¹⁸本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

いことが確認されている (別添資料 10 の Figure 7~9, p41~43)。

③ 染色体上に複数コピーが存在している場合は、それらが隣接しているか離れているかの別

5

1 コピーなので該当しない (別添資料 10 の Figure 4~6, p38~40)。

④ (6)の①において具体的に示される特性について、自然条件の下での個体間及び世代間での発現の安定性

10

ウエスタンブロット分析により、本組換えダイズの複数世代 (R4、R5、R6、R8 及び R9 世代)にわたり改変 Cry1Ac 蛋白質が安定して発現していることが確認された (別添資料 11 の Figure2, p15)。

15

また、米国の 5 ヶ所のほ場 (アラバマ州、アーカンソー州、ジョージア州、イリノイ州及びノースカロライナ州)において、3 反復で栽培した本組換えダイズの葉 (Over-season leaf, OSL)、根、地上部、種子での改変 Cry1Ac 蛋白質の発現量を ELISA 法により分析した (別添資料 12)。なお葉のサンプリングは異なる生育ステージで 4 回行った (OSL-1: 3~4 葉期、OSL-2: 6~8 葉期、OSL-3: 10~12 葉期、OSL-4: 14~16 葉期)。また、米国の 1 ヶ所のほ場 (イリノイ州)で 1 反復で育成した本組換えダイズの花粉 (葯を含む)中での改変 Cry1Ac 蛋白質の発現量も測定した。

20

その結果、改変 Cry1Ac 蛋白質の発現量の平均値は葉で最も高く (30~53 µg/g fwt)、次いで地上部 (8.1µg/g fwt)、種子 (4.2µg/g fwt)、花粉 (2.3µg/g fwt) の順であった。なお根における改変 Cry1Ac 蛋白質の発現量は検出限界以下 (LOD=0.347µg/g fwt)であった (表 9, p40 及び別添資料 12, p18-19 の Table1 及び Table2)。

25

また、育成の過程において、改変 Cry1Ac 蛋白質の発現を各世代で確認しながら選抜を行った。

30

表 9 MON87701 系統の組織中における改変 Cry1Ac 蛋白質の発現量 (2007 年、米国)¹⁹

組織の種類 ⁹	Cry1Ac µg/g fwt 平均 (SD) ^{1,3}	範囲 ⁴ (µg/g fwt)	Cry1Ac µg/g dwt 平均 (SD) ²	範囲 (µg/g dwt)	LOQ/LOD (µg/g fwt)
OSL-1	30(8.5)	12-40	220(70)	110-350	2.5/0.74
OSL-2	38(16)	18-80	260(100)	130-500	2.5/0.74
OSL-3	34(17)	14-77	240(110)	94-480	2.5/0.74
OSL-4	53(36)	15-110	340(290)	78-960	2.5/0.74
根	< LOD	< LOD	NA ⁵	NA ⁵	0.4/0.347
地上部	8.1(7.2)	2.5-26	29(28)	8.2-95	2.0/0.55
収穫種子	4.2(0.73)	3.1-5.0	4.7(0.79)	3.4-5.7	1.0/0.47
花粉/葯 ⁶	2.3(0.58)	1.8-3.1	NA ⁷	NA ⁷	ND ⁸

1. 蛋白質発現量は、組織重量 (g)あたりの蛋白質重量 (µg)を新鮮重 (fwt)あたりで表した
2. 蛋白質発現量は、乾燥重 (dwt)あたりにおける µg/g として表した。乾燥重値は、新鮮重 (fwt)を水分分析データから得た乾燥重変換係数で割って算出した
3. 平均値及び標準偏差 (SD)は、各組織について算出した (OSL-1: n=13、地上部: n=14、花粉/葯: n=4、それ以外は n=15)
4. 最小値及び最大値は、各組織について算出した
5. 新鮮重あたりで検出限界以下の場合、乾燥重あたりに換算しなかった
6. 試料量が少ないため、花粉/葯の評価には精度を確認していないが、最適化を行った ELISA 法を用いた
7. 花粉/葯は試料量が少ないため、乾燥重あたりへの換算は行わなかった
8. 花粉/葯は試料量が少ないため、検出限界 (LOD)及び定量限界 (LOQ)は求めなかった
9. OSL1~4 は、OSL1: 3~4 葉期、OSL2: 6~8 葉期、OSL3: 10~12 葉期及び OSL4: 14~16 葉期を表し、それぞれの時期に葉のサンプルを採取した。また地上部は R6 期 (子実肥大期)の植物体を採取した

¹⁹本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

⑤ ウイルスの感染その他の経路を経由して移入された核酸が野生動植物等に伝達されるおそれのある場合は、当該伝達性の有無及び程度

5 移入された核酸の配列には伝達を可能とする機能はないため、ウイルスの感染その他の経路を経由して野生動植物等に伝達されるおそれはない。

(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

本組換えダイズは、本組換えダイズに特異的に結合可能なプライマーセットを利用して、End Point TaqMan PCR 法による検出及び識別が可能である (別添資料 13)。検定に用いる DNA の濃度は、PCR の 1 反応あたり 5~10ng であることが推奨されており、種子 1 粒を用いて検定できる。

15

本法の再現精度については 91 粒の本組換えダイズ及び 44 粒の非組換えダイズを用いて確認試験を行った (別添資料 13)。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

20

① 移入された核酸の複製物の発現により付与された生理学的又は生態学的特性の具体的な内容

本組換えダイズへ導入された改変 *cry1Ac* 遺伝子は改変 Cry1Ac 蛋白質を発現することにより、チョウ目害虫に対する抵抗性を付与する (別添資料 6-1、6-2、6-3 及び 6-4)。

25

② 以下に掲げる生理学的又は生態学的特性について、遺伝子組換え農作物と宿主の属する分類学上の種との間の相違の有無及び相違がある場合はその程度²⁰

30

2009 年~2010 年に日本モンサント株式会社河内研究農場の隔離ほ場において、本組換えダイズの隔離ほ場試験を行った。試験には本組換えダイズの R9 世代を供試した (図 5, p37)。対照の非組換えダイズとしては、本組換えダイズの遺伝子導入母本である A5547 を用いた。なお、生育初期における

²⁰本項目中の以下に続く a~g に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

低温耐性及び花粉の稔性及びサイズについてはモンサント・カンパニー (米国)において試験を実施した。

a 形態及び生育の特性

5

形態及び生育に関する特性を比較するため、種苗登録のための種苗特性分類表調査項目を参考に、20項目(発芽始め、発芽期、発芽揃い、発芽個体数、発芽率、小葉の形、毛茸の多少、開花始め、開花終わり、伸育型、成熟期、主茎長、主茎節数、分枝数、最下着莢節位高、草型、収穫期の植物重、収穫種子の形状(粒色、粒揃い及び粒形))について評価を行った。その結果、統計処理を行った項目(発芽個体数、主茎長、主茎節数、分枝数、最下着莢節位高、収穫期の植物重)では、発芽個体数において本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に統計学的有意差が認められた(別添資料14の表2, p9)。発芽個体数は本組換えダイズで913個体、対照の非組換えダイズで973個体であり、本組換えダイズの方が少なかった。

10

15

また、統計処理を行わなかった項目(発芽始め、発芽期、発芽揃い、発芽率、小葉の形、毛茸の多少、開花始め、開花終わり、伸育型、成熟期、草型、収穫種子の形状(粒色、粒揃い及び粒形))では、発芽揃いを除く全ての項目において本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に違いは認められなかった。なお、本組換えダイズ、対照の非組換えダイズともに発芽率が80%に達しなかったため発芽揃いを観測することができなかった(別添資料14の表2, p9)。

20

b 生育初期における低温又は高温耐性

25

生育初期における低温耐性試験は2007年にモンサント・カンパニー(米国)の人工気象室において実施した。生育初期における低温耐性試験は、播種後19日目の本組換えダイズ、対照の非組換えダイズA5547及び従来商業品種6品種の幼苗を日中15°C/夜間8°Cに設定した人工気象室で20日間栽培した後、草勢、主茎長、生育ステージ、生体重及び乾燥重について比較した。その結果、いずれの項目についても本組換えダイズと対照の非組換えダイズの間で統計学的有意差は認められなかった(別添資料15のTable 4, p21)。

30

35

c 成体の越冬性又は越夏性

本隔離ほ場で生育した本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズを成熟

期の後も引き続き生育させ、わが国の冬期における生育状況を観察した。2010年1月5日に越冬性試験区において供試個体の観察を行ったが、本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズのいずれも枯死していた(別添資料14の図6, p12)。

5

d 花粉の稔性及びサイズ

本隔離ほ場で生育した本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズから採取した花粉をヨウ素ヨードカリ溶液で染色し、花粉の稔性及びサイズを比較した。その結果、本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズの花 pollen 稔性に違いは認められなかった。また、花粉の形態や大きさにも違いは認められなかった(別添資料14の図7, p13)。

また、2007年に米国のイリノイ州のほ場で栽培された本組換えダイズと対照の非組換えダイズから花粉を採取し、その稔性及びサイズを調査した。その結果、花粉の稔性率及びサイズに統計学的有意差は認められなかった(別添資料16のTable2, p16、Figure 1, p17)。

15

e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

本隔離ほ場で同一条件で栽培された本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズについて、種子の生産量に関する項目(稔実莢数、一株あたりの粗粒重、一株あたりの精粒重、百粒重)を調査した。これらの項目について統計処理を行った結果、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に統計学的有意差は認められなかった(別添資料14の表3, p16)。

25

裂莢性については、本隔離ほ場で生育した本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズを成熟期に収穫し、植物体をビニールハウス内で自然乾燥した後に裂莢の程度を観察した。その結果、本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズのいずれも難裂莢性であり、種子の裂莢性における違いは認められなかった(別添資料14の表3, p16)。

30

休眠性及び発芽率については、本隔離ほ場で生育した本組換えダイズと対照の非組換えダイズの収穫直後の種子をシャーレに置床して、25°Cでインキュベートし、発芽個体数を経時的に調査した。その結果、本組換えダイズと対照の非組換えダイズはいずれも高い発芽率を示し(91.7%及び94.4%)、最終発芽個体数において統計学的有意差は認められなかった(別添資料14の表3及び表4, p16)。

35

f 交雑率

5 本組換えダイズと対照の非組換えダイズの間
の交雑率を調査するために、本組換えダイズを花粉親とし、対照の非組換えダイズの収穫種子における交雑体の発生頻度を調査した。なお、交雑体の判定については花粉親に当たる本組換えダイズの発現蛋白質の有無を指標とした。

10 形態・生育特性調査区で栽培された対照の非組換えダイズ区の本組換えダイズに隣接する条（両端各 3 株を除く）から種子を採種した。これらの非組換えダイズは、南東あるいは北西に隣接するプロットの本組換えダイズとは 1.65m の距離があった（別添資料 14 の図 2, p5）。なお、このプロットには開花期には防虫網はかけていなかった。収穫種子から無作為に選出した 480 粒を温室においてポットに播種し、本葉第 2~3 葉期に生長した時点で、葉における発現蛋白質の有無をラテラルフロー法により 1 粒ごとに確認した。

15 本試験に供試した 480 粒の中に、発現蛋白質が検出されたものは存在しなかったため（別添資料 14）、本調査において交雑は認められないと考えられた。

g 有害物質の産生性

20

本組換えダイズから土壤微生物あるいは他の植物に影響を与える物質が産生されていないことを確認するために土壤微生物相試験、鋤込み試験及び後作試験を行った。その結果、土壤微生物の菌数、ハツカダイコンの発芽株数及び乾燥重において本組換えダイズ区と対照の非組換えダイズ区との間に統計学的有意差は認められなかった（別添資料 14 の表 5~表 7, p20）。

25

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

- 5 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) 使用等の方法

- 10 別に定めるモニタリング計画書に基づき、申請者によるモニタリングを実施する。

- 15 (3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法

別に定めるモニタリング計画書に基づき、モニタリングを実施する。

- 20 (4) 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。

- 25 (5) 実験室等での使用等又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果

—

(6) 国外における使用等に関する情報

表 10 本組換えダイズの海外の主要栽培予定国及び輸入予定国における申請及び認可状況

5

10

【社外秘につき非開示】

15

なお、本組換えダイズのわが国における申請状況は以下のとおりである。

20

表 11 本組換えダイズのわが国における申請及び認可状況²¹

2012年8月現在

申請時期	承認時期	機関	内容
2008年12月	2009年7月	農林水産省・環境省	環境(第一種使用規程:隔離ほ場) ²²
2012年7月	—	農林水産省・環境省	環境(第一種使用規程) ⁷
2010年6月	2011年3月	厚生労働省	食品 ²³
2010年6月	2011年9月	農林水産省	飼料 ²⁴

²¹本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

²²遺伝子組換え生物等の使用等の規則による生物の多様性の確保に関する法律に基づく。

²³食品衛生法に基づく。

²⁴飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律に基づく。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価²⁵

1 競合における優位性

5 (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

10 ダイズがこれまで北米において栽培ほ場の外で発見されたという報告はない (OECD, 2000)。わが国においても、ダイズは弥生時代から栽培されていると考えられ、イネ・ムギとともに最も長い使用経験があるが、これまでダイズがわが国の自然条件下で雑草化した例は報告されていない。

15 競合における優位性に関わる諸形質のうち形態及び生育の特性、成体の越冬性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率 (第一の 2-(6)-②-a~e、p42~43) を本隔離ほ場試験において調査した結果、発芽個体数において本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に統計学的有意差が認められた ($p<0.05$)。発芽個体数は、本組換えダイズが 913 個体、対照の非組換えダイズが 973 個体であり、本組換えダイズの方が少なかった (第一の 2-(6)-②-a、p42)。

20 また、生育初期における低温耐性及び花粉の稔性及びサイズを米国において調査した結果、統計処理を行った項目では本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に統計学的有意差は認められず、統計処理を行わなかった項目についても本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で違いは認められなかった (第一の 2-(6)-②-b、p42)。

25 本試験の収穫種子の発芽個体数には本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に統計学的有意差は認められなかったことから (第一の 2-(6)-②-e、p43)、観察された差は本組換えダイズに導入された形質によるものではなく、本試験に供試した種子の品質に起因するものと考えられた。

30 なお、本組換えダイズ、対照の非組換えダイズともに発芽率が 80%に達しなかったため発芽揃いを観察することができなかった (本組換えダイズ：71.3%、対照の非組換えダイズ：76.0%)。このため本試験に用いられた本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズの種子の来歴を調査した。その結果、本試験に用いられたこれらの種子はともに 2007 年にイリノイ州のほ場で採種されたものであったが、収穫された種子において、発芽能に影響を与える

²⁵本項目中で、第一の 2-(6)-②の a~g に記載された試験結果に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

ことが報告されている *Phomopsis* 属や *Cercospora* 属といった種子伝染性の病害 (Pathan et al., 1989; Zorrilla et al., 1994) の発生が確認されていた。そこで、わが国へ送付する前に本試験に用いられた本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズの種子に病害防除のための種子消毒剤処理を行った。以上から、
5 本試験で発芽率が 80%に達しなかった理由としては、これらの種子に確認された伝染性の病害や種子消毒剤処理による影響が考えられたが、明確な原因は特定されなかった。

本組換えダイズには改変 Cry1Ac 蛋白質の発現によりチョウ目害虫抵抗性が付与されている。しかし、他の野生植物と競合する雑草は休眠性、裂莢性、
10 種子散布機構といった形質を 1 つ以上持つことが知られているが (Lingenfelter and Hartwig, 2003; Anderson, 1996)、休眠性及び裂莢性において、本組換えダイズと対照の非組換えダイズの間には差異は認められなかった (第一の 2-(6)-②-e, p43)。なお、種子散布機構には、動物や鳥に付着するフックのような莢を持つもの、風散布のための冠毛を持つもの、自動的に種子を
15 はじくものなどがある (Lingenfelter and Hartwig, 2003)。これらの特性は、いずれも種子が容易に離脱することが前提と考えられるが、本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズは難裂莢性であり、脱粒性が低いことが確認されている (第一の 2-(6)-②-e, p43)。このことから、本組換えダイズの種子散布機構は対照の非組換えダイズと比較して変化していないと判断された。以上の
20 ことから、このチョウ目害虫に対する抵抗性が付与された要因のみで、これまで栽培作物として品種改良されてきたダイズが、わが国の自然環境下で複数世代にわたり安定して自生できるほどの競合における優位性を獲得するとは考えにくい。

25 以上のことから、競合における優位性に起因する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

30 —

(3) 影響の生じやすさの評価

—

35

(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、本組換えダイズの第一種使用等の内容を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（国内における栽培を含まない）とする範囲内では、競合における優位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。

5

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

10 ダイズは弥生時代からわが国で栽培されており、イネ・ムギとともに最も長い使用経験があるが、これまでにダイズにおいて有害物質の産生性は報告されていない。

15 本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で、有害物質の産生性の有無を土壌微生物相試験、鋤込み試験及び後作試験（第一の 2-(6)-②-g, p44）により比較検討したが、統計学的有意差は認められなかった。

20 本組換えダイズ中ではチョウ目昆虫に対して殺虫活性を示す改変 Cry1Ac 蛋白質が発現しているが、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有していないことが確認されている（第一の 2-(1)-ロ-②, p30）。また、改変 Cry1Ac 蛋白質は、酵素活性を持たないため、宿主の代謝系に作用して有害物質を産生することはないと考えられた。

25 本組換えダイズ中で発現する改変型を含む Cry1Ac 蛋白質はチョウ目昆虫に対して殺虫活性を示すが、それ以外の昆虫種に対しては殺虫活性を持たないことが確認されている（表 6, p32）。このことから、何らかの影響を受ける可能性のある野生動植物として、わが国に生息するチョウ目昆虫が考えられた。

30 本組換えダイズがわが国へ輸入された場合、わが国に生息するチョウ目昆虫が、本組換えダイズ由来の改変 Cry1Ac 蛋白質に曝露される可能性として、食用又は飼料用に供するために輸入された種子が輸送中にこぼれ落ちた後に生育した場合が想定された。さらに、チョウ目昆虫が改変 Cry1Ac 蛋白質に曝露される経路としては、1. 本組換えダイズを直接食餌する場合、2. 本組換えダイズから飛散した花粉を食餌する場合、そして 3. 本組換えダイズが交雑によりツルマメと雑種を形成し、チョウ目害虫抵抗性を獲得した雑種及びその後代を食餌する場合が考えられた。

35 これらの経路から改変 Cry1Ac 蛋白質に曝露され、何らかの影響を受ける

可能性について、①環境省第4次レッドリスト昆虫類 (環境省, 2012)に掲載された絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されているチョウ目昆虫、②ツルマメを食餌するチョウ目昆虫を対象とし評価を行った。

5 ① 絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されているチョウ目昆虫

環境省第4次レッドリスト昆虫類 (環境省, 2012)に掲載された絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されているチョウ目昆虫について、改訂・日本の絶滅のおそれのある野生生物 (環境省, 2006)、日本産蛾類大図鑑 (井上ら, 1982)、日本産蛾類標準図鑑 1, 2 (岸田, 2011a; 2011b)、原色日本蝶類生態図鑑 I~IV (福田ら, 1982; 福田ら, 1983; 福田ら, 1984a; 福田ら, 1984b)、日本産蝶類標準図鑑 (白水, 2006)、日本産蛾類生態図鑑 (山本ら, 1987)、矢野 (2012)、みんなで作る日本産蛾類図鑑 (2012)、山口むしの会 (2012)、中村ら (1996)、吉松 (1994)、岐阜県 (2010)、秋田県 (2002)、長野県 (2004)、石川県 (2009)及び駒井ら (2011)を用いて、1) 幼虫の食餌植物、及び2)生息域、の2点から絞込みを行った結果、ダイズ又はツルマメが生育している場所に生息しており、ダイズ、ツルマメ、及びその雑種後代を食餌植物とする可能性のある絶滅危惧種及び準絶滅危惧種のチョウ目昆虫として、8種を特定した (別添資料 17 及び表 12, p51~55)。さらに、18種については、生息域又は食餌植物に関する情報が不足していた (表 12, p51~55)。

表 12 影響を受ける可能性が否定できない絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されているチョウ目昆虫*²⁶

和名	学名	生息地及び食草	
		生息地、生息環境	幼虫の食草
絶滅危惧 IA 類 (CR)			
タイワンツバメシジミ南西諸島亜種	<i>Everes lacturnus lacturnus</i>	海岸近くの樹林帯に隣接する農地周辺、草原、ガレ場。	マメ科のシバハギなど。
カバシタムクゲエダシヤク	<i>Sebastosema bubonaria</i>	疎林のある河川敷。	不明。
ノシメコヤガ	<i>Sinocharis korbae</i>	人里的な環境。	不明。
絶滅危惧 IB 類 (EN)			
ミスジコスカシバ	<i>Scalarignathia montis</i>	長野県追分、高ボッチ高原でのみ採集されている。	不明。
ヒメシロチョウ	<i>Leptidea amurensis</i>	採草地、農地、河川堤防、人家周辺、林縁。	マメ科のツルフジバカマなど。
タイワンツバメシジミ本土亜種	<i>Everes lacturnus kawaii</i>	海岸近くの樹林帯に隣接する農地周辺、草原、ガレ場。	マメ科のシバハギなど。
シルビアシジミ	<i>Zizina emelina</i>	河川堤防、農地、採草地。	マメ科のミヤコグサ、ヤハズソウ、シロツメクサなど。
ソトオビエダシヤク	<i>Isturgia arenacearia</i>	河川敷内のマメ科草本の粗生する乾性草原。マコモ、ヨシなどが密生した場所にはいない。本州 (長野県)。	ツルフジバカマ、クサフジ、ヤハズエンドウなどマメ科植物。

²⁶本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

表 12

影響を受ける可能性が否定できない絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されているチョウ目昆虫

*(つづき)

チャホシホソバナミシヤク	<i>Brabira kasaii</i>	本州 (青森県)。	幼虫は未発見。同属のキリバネホソナミシヤクはウド (ウコギ科)を食べる。
クロコシロヨトウ	<i>Leucapamea hikosana</i>	九州 (福岡県英彦山)。	不明。同属のコマエアカシロヨトウはスゲ属の一種 (カヤツリグサ科)を食べる。
オイワケクロヨトウ	<i>Lacanobia aliena</i>	北海道定山溪、青森県手賀町、長野県菅平高地の草原と関係すると思われる。	ホースシューヴェッチ (マメ科、 <i>Hippocrepis comosa</i> L.)などの草本類を食べる。
ヒメカクモンヤガ	<i>Chersotis deplanata</i>	利尻島、本州 (関東地方、中部地方の高原)。	不明。
絶滅危惧 II 類 (VU)			
アキヨシトガリエダシヤク	<i>Hypoxystis pulcheraria</i>	本州 (山口県秋吉台)でのみで採集されている。	不明。バラ科植物を与えたが、全く食いつかなかったという。
ミヤノスゲドクガ	<i>Laelia miyanoi</i>	本州 (愛知県、岐阜県)。	不明。本属の他の種はイネ科やカヤツリグサ科などを食べる。
マガリスジコヤガ	<i>Protodeltote wiscotti</i> <i>Lithacodia wiscotti</i>	北海道東部。本州では極めて少ない。沼沢地で採集される。	不明。
ヌマベウスキヨトウ	<i>Chilodes pacificus</i>	北海道、本州。ヨシ草原を中心とした湿地環境に生息。東京荒川河川敷では5~6月に水辺のヨシ原に多産する。	不明。シルクメイトによる人工飼育に成功している。生息地からヨシ、マコモなどイネ科やカヤツリグサ科の湿地

			植物に依存していると考えられる。
--	--	--	------------------

表 12 影響を受ける可能性が否定できない絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されているチョウ目昆虫
*(つづき)

キュウシュウスジヨトウ	<i>Doerriesa coenosa</i>	本州 (千葉県、三重県)、九州、対馬。 海岸の湿地。	不明。
エゾスジヨトウ	<i>Doerriesa striata</i>	北海道、本州。湿地環境。	不明。採集記録などから、モウセンゴケを伴う傾斜地の貧栄養湿地が本種の生息環境と推測される。生息地からヨシ、マコモなどイネ科やカヤツリグサ科の湿地植物に依存していると考えられる。
準絶滅危惧(NT)			
ゴマフツトガ	<i>Chilo puleratus</i>	本州、四国、九州、沖縄本島に局地的に分布する。ヨシやススキなどの自生する明るい湿地に見られる。	幼虫の食草は不明であるが、湿地を好む植物と思われる。
モリオカツトガ	<i>Chrysoteuchia moriokensis</i>	北海道、本州 (東北地方、関東北部、北陸)の湿地に局地的分布。高原のヨシなどが生える冷涼な湿原と考えられる。	不明。同属のテンスジツトガはムギ(イネ科)を食べる。
カバイロシジミ	<i>Glaucopsyche lycormas</i>	北海道、青森県北部の津軽半島と下北半島の海岸沿い。分布は狭い地域。	マメ科のクサフジ、オオバクサフジ、ヒロハノクサフジ、クララ、ムラサキツユクサ、アカツメクサ。

ウスジロドクガ	<i>Calliteara virginea</i>	本州。東北地方や本州中部の草原で採取されるがまれである。	ハギ類 (マメ科)。
---------	----------------------------	------------------------------	------------

表 12 影響を受ける可能性が否定できない絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されているチョウ目昆虫
*(つづき)

チョウカイシロコブガ	<i>Nola umetsui</i>	本州、秋田県にかほ市 (鳥海山麓)でのみ発見されている。ススキ草原と低層湿地、ハンノキ林が混交する環境に生息する。	不明。本属の他の種ではシソ科、スイカズラ科 (ツマグロコブガ)、カヤツリグサ科 (クロスジシロコブガ)、マンサク科 (クロフマエモンコブガ)、ブナ科、カバノキ科、バラ科 (カバイロコブガ)などが知られている。
カギモンハナオイアツバ	<i>Cidariphura sugnata</i>	本州、四国、九州、屋久島。明るい雑木林の林縁や河川敷などの草地に発生してるが少ない。	不明。同属のキスジハナオイアツバは藻類を食べる。
ギンスジアカヤガ	<i>Heliothis bivittata</i>	九州 (長崎)	不明。
アサマウスモンヤガ	<i>Xestia descripta</i>	浅間山湯ノ平、長野県川上村、国師岳、岡谷市高ボッチなどの草原に局所的に産する稀種。標高 1,900m 付近の高原に生息する。	不明。

5 *環境省第4次レッドリスト昆虫類 (環境省, 2012)に掲載された絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されているチョウ目昆虫について、改訂・日本の絶滅のおそれのある野生生物 (環境省, 2006)、日本産蛾類大図鑑 (井上ら, 1982)、日本産蛾類標準図鑑 1, 2 (岸田, 2011a; 岸田, 2011b)、原色日本蝶類生態図鑑 I~IV (福田ら, 1982; 福田ら, 1983; 福田ら, 1984a; 福田ら, 1984b)及び日本産蝶類標準図鑑 (白水, 2006)、日本産蛾類生態図鑑 (山本ら, 1987)、矢野 (2012)、みんなで作る日本産蛾類図鑑 (2012)、山口むしの会 (2012)、中村ら (1996)、吉松 (1994)、岐阜県 (2010)、秋田県 (2002)、長野県 (2004)、石川県 (2009)及び駒井ら (2011)を用いて、1) 幼虫の食餌植物、及び2)生息域、の2点から絞込みを行った。

② ツルマメに寄生するチョウ目昆虫

0 の 1-(3)-ト-② (p15)に記載したように、ツルマメに寄生するチョウ目昆虫については、農業環境技術研究所、農業・食品産業技術総合研究機構及び農業生物資源研究所が、東北地方 (岩手県盛岡市)、関東地方 (茨城県つくば市、筑西市)、中国地方 (広島県福山市、三原市、岡山県岡山市、倉敷市、島根県大田市)、九州地方 (熊本県熊本市、菊池市、合志市、菊池郡大津町、上益城郡嘉島町、佐賀県佐賀市、神崎市、小城市)の国内 4 地域において、それぞれ数カ所のツルマメ個体群を定期調査地点として選定し、2011 年 5 月~11 月に調査を行っている。その結果、47 種のチョウ目昆虫の幼虫がツルマメを食餌していたことが確認された。これら 47 種のうち、少なくとも 1 カ所の調査地域において「頻繁に発生が確認されるもの」、又は「中程度に発生が確認されるもの」に分類されたチョウ目昆虫 18 種をツルマメを食餌することにより影響を受ける可能性のあるチョウ目昆虫種として特定した (表 1, p16)。なお、特定された 18 種のチョウ目昆虫のうち 14 種がダイズ害虫として既に記録のあるものであった (安田ら, 2012)。

以上のことから、影響を受ける可能性のあるチョウ目昆虫として、絶滅危惧種及び準絶滅危惧種から 26 種、それ以外に上述した調査に基づき 18 種を特定した。

(2) 影響の具体的内容の評価

Cry1Ac 蛋白質は、チョウ目昆虫に対して特異的に殺虫活性を発揮するが、LC₅₀ (半数致死濃度)からも明らかなようにその活性は種によって異なることが分かっている (表 6, p32 及び表 7, p33)。

上記の特定された 26 種の絶滅危惧種及び準絶滅危惧種のチョウ目昆虫 (表 12, p51~55) に対して改変 Cry1Ac 蛋白質が殺虫活性を示すかは調査されていない。しかし、絶滅危惧種及び準絶滅危惧種以外でツルマメを食餌する可能性のあるチョウ目昆虫については、Cry1Ac 蛋白質に対する感受性を調査されている種もある。これらの文献情報を基に、安田ら (2012)が行った調査から特定された 18 種のチョウ目昆虫に対する Cry1Ac 蛋白質の感受性を推察した (表 13, p58~59)。

なお、調査対象の種に関する感受性データが無い場合は、同じ属の別種のデータを使用した。実際に、Cry1Ac 蛋白質に対して、異なる種であっても属が同一の種の場合は、同等の感受性を示すことが報告されている (Liao et al., 2002; de Escudero et al., 2006; Ibargutxi et al., 2006; Kranthi et al., 1999; Luttrell et al., 1999; MacIntosh et al., 1990; Höfte and Whiteley, 1989)。しかし、調査対象と同じ属の別種のデータがない場合には、同亜科や同科の別種のデータを基に類推した。Cry1Ac 蛋白質は標的チョウ目昆虫に対する特異性が非常に高いことが知られていることから、同科の場合でも Cry1Ac 蛋白質に対する感受性が高い属と感受性の低い属が存在する場合がある。その場合には、感受性の高い属のデータ (LC₅₀)を調査対象のチョウ目昆虫種の Cry1Ac 蛋白質に対する感受性として採用することで、より厳しい評価となるようにした。

その結果、18 種のうち 15 種は Cry1Ac 蛋白質に対する感受性が高いと考えられた。また、ヨモギエダシャク、ダイズ栽培における主要害虫であるハスモンヨトウ及びダイズの生育初期にダイズを食餌するカブラヤガの Cry1Ac 蛋白質に対する感受性は高くないと考えられた。

表 13 安田ら (2012) の行ったツルマメ調査期間中に採取されたチョウ目昆虫のうち、「発生が頻繁に確認されるもの」及び「中程度に発生が確認されるもの」に分類される 18 種の Cry1Ac 蛋白質に対する感受性²⁷

科	和名	学名	評価 ¹	補足説明	Cry1Ac 蛋白質に対する LC ₅₀	参考文献
ハマキガ科	ウスアトキハマキ	<i>Archips semistructa</i> (Meyrick)	○又はそれ以上	同亜科の <i>Pandemis pyrusana</i> から類推	1.6 ng/cm ²	Knight et al. (1998)
	チャノコカクモンハマキ	<i>Adoxophyes honmai</i> Yasuda				
	ダイズサヤムシガ	<i>Matsumuraeses falcana</i> (Walsingham)		同亜科の <i>Cydia pomonella</i> から類推	12 - 186 ug/ml	Boncheva et al. (2006)
	マメシンクイガ	<i>Leguminivora glycinivorella</i> (Matsumura)				
ハモグリガ科	ダイズギンモンハモグリガ	<i>Microthauma glycinella</i> Kuroko	同上科の <i>Plutella xylostella</i> から類推	0.005-0.015mg/L 0.713 ng/well	Sayyed et al. (2005); Wang et al. (2006); Gong et al. (2010); Tabashnik et al. (2011)	
ツトガ科	ヒメクロミスジノメイガ	<i>Omiodes miserus</i> (Butler)	◎	同亜科の <i>Maruca vitrata</i> 及び <i>Ostrinia furnacalis</i> から類推	0.68 - 2.37 ug/ml (or g) diet	Han et al. (2009); Xu et al. (2010); Srinivason (2008)
	マエウスキノメイガ	<i>Omiodes indicatus</i> (Fabricius)				
	ウコンノメイガ	<i>Pleuroptya ruralis</i> (Scopoli)				
シロチョウ科	モンキチョウ	<i>Colias erate poloographys</i> Motshulsky	◎	同属(<i>Colias</i> 属)の別種から類推	0.18 ug/ml	別添資料 18
タテハチョウ科	コムスジ	<i>Neptis sappho intermedia</i> V.B.Pryer		同科の <i>Danaus plexippus</i> から類推	13.8 ng/ml	Hellmich (2001)

¹: 試験設計及び LC₅₀ を考慮し、殺虫剤として使用した場合に対象の昆虫種に対する効果を 4 段階で示した

◎ : 非常に高い活性を示す、○ : 高い活性を示す、△ : 活性を示す、× : 活性が低い

5

²⁷本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

表 13 安田ら (2012) の行ったツルマメ調査期間中に採取されたチョウ目昆虫のうち、「発生が頻繁に確認されるもの」及び「中程度に発生が確認されるもの」に分類される 18 種の Cry1Ac 蛋白質に対する感受性 (つづき)

科	和名	学名	評価 ¹	補足説明	Cry1Ac 蛋白質に対する LC ₅₀	参考文献
シャクガ科	ヨモギエダシャク	<i>Ascotis selenaria cretacea</i> (Butler)	△	文献報告有り	No LC50 available; Suppressed	Zhang et al. (2006)
	マメドクガ	<i>Cifuna locuples confusa</i> (Bremer)	◎	同亜科の <i>Lymantria dispar</i> から類推	7.5 ng/cm ²	Lee et al. (2001)
ヤガ科	チャバネキボシアツバ	<i>Paragabara ochreipennis</i> Sugi	◎又はそれ以下	同科の別種から類推	0.02 - 0.12 ug/ml	Du et al. (2010); Luttrell et al. (1999); 別添資料 19
	オオウンモンクチバ	<i>Mocis undata</i> (Fabricius)		同科の <i>Trichoplusia ni</i> から類推	0.09 - 0.31 ug/ml	MacIntosh et al. (1990); Moar et al. (1990)
	オオタバコガ	<i>Helicoverpa armigera armigera</i> (Hubner)	◎	文献報告有り	0.022 - 0.11 ug/ml	Du et al. (2010)
	ツメクサガ	<i>Heliothis maritima adauca</i> Butler		同属(<i>Heliothis</i> 属)の別種から類推	0.02 - 0.12 ug/ml	Luttrell et al. (1999); 別添資料 19
	ハスモンヨトウ	<i>Spodoptera litura</i> (Fabricius)	△	文献報告有り	Supressed	Zhang et al. (2006)
	カブラヤガ	<i>Agrotis segetum</i> ([Denis & Schiffernuller])	×	同属の <i>Agrotis ipsilon</i> から類推	18-203 ug/g	Gilliland et al. (2002); MacIntosh et al. (1990); Lu and Yu (2008)

¹: 試験設計及び LC₅₀ を考慮し、殺虫剤として使用した場合に対象の昆虫種に対する効果を 4 段階で示した

◎: 非常に高い活性を示す、○: 高い活性を示す、△: 活性を示す、×: 活性が低い

(3) 影響の生じやすさの評価

まず、(1)で特定されたチョウ目昆虫の幼虫が、本組換えダイズを直接食餌することにより個体群で影響を受ける可能性について評価した。

5 表 12 (p51) 及び表 13 (p58~59)のチョウ目昆虫の幼虫が、本組換えダイズを直接食餌することにより個体群で影響を受けるのは、食用又は飼料用に供するために輸入された本組換えダイズ種子が輸送中にこぼれ落ちて生育する場所に、そのチョウ目昆虫の幼虫の個体群が局所的に生息している場合に限られる。しかしながら、第二の3の交雑性の項目 (p62~79)に記載したとおり、表 12 (p51~55) 及び表 13 (p58~59)のチョウ目昆虫の生息域がダイズの主要輸送経路である幹線道路沿いに限定されているとは考えにくい。そのため、これらのチョウ目昆虫の幼虫が、本組換えダイズを直接、食餌することにより個体群で影響を受ける可能性は極めて低いと判断された。

10 さらに、念のため (1)で特定されたチョウ目昆虫の幼虫の食草を調査した。その結果、絶滅危惧種及び準絶滅危惧種のチョウ目昆虫のうちマメ科植物を食餌する8種(タイワンツバメシジミ (2 亜種)、ヒメシロチョウ、シルビアシジミ、ソトオビエダシャク、オイワケクロヨトウ、カバイロシジミ及びウスジロドクガ)については、ダイズ以外のマメ科植物を食餌することが報告されていることから、仮にダイズを食餌するとしても、ダイズを専食しているわけではないと考えられた。また、生息域又は食草に関する情報が不足しているチョウ目昆虫18種については、これらのチョウ目昆虫がダイズの主要輸送経路である幹線道路沿いに限定して生息し、さらにダイズ又はツルマメのみを食餌している可能性は低いと考えられた。

15 また、表 13 (p58~59)に記載したツルマメを食餌する主要チョウ目昆虫25 18種のうち、14種はダイズの食害報告があり防除対象となっている。残りの4種の食草について調査した結果、ウスアトキハマキはマメ科以外を、チャノコカクモンハマキはチャノキを、ヒメクロミスジノメイガはヌスビトハギをそれぞれ食餌することが確認された。よって、これら3種のチョウ目昆虫は仮にダイズを食餌するとしても、ダイズのみを専食していることはないと考えられた。また、チャバネキボシアツバの食草に関しては、情報が少ないが、矢作川 (愛知県)の河畔林で発見されている (間野, 2009)ことからダイズの主要輸送経路である幹線道路沿いに限定して生息しているとは考えにくい。

30 以上のことから、(1)で特定されたチョウ目昆虫の幼虫が、本組換えダイズを直接食餌することにより個体群で影響を受ける可能性は極めて低いと判断された。

次に (1)で特定されたチョウ目昆虫の幼虫が、本組換えダイズから飛散した花粉を食餌する可能性について評価した。本組換えダイズの花粉における改変 Cry1Ac 蛋白質の発現量 (2.3 μ g/g fwt) は、他の組織、特にチョウ目害虫抵抗性を発揮するのに重要な葉 (OSL-1~OSL-4)における発現量 (30~53 μ g/g fwt) と比較して低いことが確認されている (表 9, p40)。さらに、ダイズの花粉の生産量は極めて少なく、かつ花粉に粘着性があるため、花粉が飛散する可能性は低いと考えられる。実際にわが国でダイズほ場中心部における畦間のダイズ花粉飛散量を測定したところ、花粉の堆積量は最大で1日あたり0.368粒/cm²、平均値は0.18粒/cm²であった (Yoshimura et al., 2006)。さらに前述したように食用又は飼料用に供するために輸入された本組換えダイズが輸送中にこぼれ落ちた後に生育したとしても、その個体数は限られていることから、(1)で特定されたチョウ目昆虫が、本組換えダイズの花粉を食餌することにより個体群で影響を受ける可能性は、本組換えダイズを直接食餌する場合と同様に極めて低いと判断された。

最後に本組換えダイズが交雑によりツルマメと雑種を形成し、チョウ目害虫抵抗性を獲得した雑種及びその後代を (1)で特定されたチョウ目昆虫の幼虫が食餌する場合について評価を行った。

前述したように、表 12 (p51~55)に記載した絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に分類されるチョウ目昆虫及びツルマメを食餌するチョウ目昆虫の幼虫の食草及び生息地から、これ等のチョウ目昆虫がダイズの主要輸送経路である幹線道路沿いに限定して生息し、さらにツルマメのみを食餌している可能性は低いと考えられた。

また、第二の3の交雑性の項目 (p62~79)に記載したとおり、食用又は飼料用に供するためにわが国に輸入された本組換えダイズが輸送中にこぼれ落ちた後に生育し、それらがツルマメと交雑する可能性は極めて低いと考えられた。さらに、仮に交雑したとしても改変 *cry1Ac* 遺伝子を持つ雑種がわが国の自然条件に適応してツルマメ集団内で優占化する可能性は低いと考えられた。よって、表 12 (p51)に記載した絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に分類されるチョウ目昆虫に加え、表 1 (p16)に記載したツルマメ及びツルマメとダイズとの雑種を食餌する可能性のあるチョウ目昆虫についても、チョウ目害虫抵抗性を獲得した雑種及びその後代をチョウ目昆虫の幼虫が食餌することにより個体群で影響を受ける可能性は低いと考えられた。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

5 以上のことから、本組換えダイズの第一種使用等の内容を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 (国内における栽培を含まない)とする範囲内では、有害物質の産生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。

3 交雑性

10 (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

15 第一の 1-(3)-ニ-③ (p10) に記載したように、ダイズと交雑可能な近縁野生種としてわが国に分布しているのはツルマメのみである (日本雑草学会(編), 1991; 沼田ら, 1975; OECD, 2000)。したがって、交雑性に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物等としてツルマメが特定された。

(2) 影響の具体的内容の評価

20 ダイズとその近縁野生種であるツルマメとの間では低い確率で交雑が生じ、雑種が形成される (OECD, 2000)。したがって、交雑性に関する具体的な影響としては、本組換えダイズ由来の改変 *cryIac* 遺伝子が当該雑種からツルマメの集団中に浸透した後に、その集団の競合における優位性が高まる

25 (3) 影響の生じやすさの評価

30 本組換えダイズがわが国で第一種使用規程に従って使用された場合、本組換えダイズとツルマメが交雑する可能性があることは否定できない。しかし、第一の 1-(3)-ニ-③ (p10)に記載したように、ダイズとツルマメはともに、自殖性植物であり、開花期が重複した場合でもその交雑率は低いことが報告されている (阿部ら, 2001; 吉村ら, 2006; Nakayama and Yamaguchi, 2002; Mizuguti et al., 2009; 吉村, 2008)。また、仮に交雑したとしても、その雑種及びその後代は、ダイズの遺伝子のある割合で有することにより、自然環境への適応にツルマメと比べ不利となり、淘汰されることが報告されている (Kuroda et al., 2010; Oka, 1983; Chen and Nelson, 2004)。

本組換えダイズとツルマメとの交雑性に関する試験は行っていない。しか

しながら、本隔離ほ場試験において本組換えダイズと対照の非組換えダイズとを隣接した試験区で栽培し、本組換えダイズを花粉親としたときの自然交雑率を調査したところ、交雑は認められず (第一の 2-(6)-②-f, p44)、これまでに報告されているダイズ品種間の自然交雑率 (0.03~6.32%) (Woodworth, 1922; 5 Garber and Odland, 1926; Cutler, 1934; Weber and Hanson, 1961; Caviness, 1966; Beard and Knowles, 1971; Ahrent and Caviness, 1994; Abud et al., 2003; Ray et al., 2003) を超えるものではなかった。また、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で生殖に関わる形質を比較した結果、花粉形態及び花粉稔性 (第一の 2-(6)-②-d, p43) において違いは認められず、種子の生産性 (第一の 2-(6)-②-e, p43) において有意差は認められなかった。したがって、本組換えダイズとツルマメとの交雑率は従来ダイズとツルマメとの交雑率と同様に極めて低いと考えられた。 10

また、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で形態及び生育の特性、休眠性及び裂莢性に違いは認められなかったことから (第一の 2-(6)-②-e, p43)、本組換えダイズとツルマメの雑種の競合性は従来ダイズとツルマメの雑種の競合性と同程度に低いと考えられた。 15

しかし、第二の 2 の有害物質の産生性 (p49~62) に記載したように、農業環境技術研究所、農業・食品産業技術総合研究機構及び農業生物資源研究所が行ったツルマメに寄生するチョウ目昆虫の調査で、少なくとも 1 ヲ所の調査地域において「頻繁に発生が確認されるもの」、又は「中程度に発生が確認されるもの」に分類される 18 種のチョウ目昆虫が特定されている (安田ら, 2012)。これら 18 種のチョウ目昆虫の Cry1Ac 蛋白質に対する感受性を文献報告を基に調査した結果、15 種が Cry1Ac 蛋白質に対する感受性が高いと考えられた (表 13, p58~59)。このことから、仮に本組換えダイズがツルマメと交雑した場合はツルマメの適応度が上がる可能性は否定できないと考えられた。 20

なお、本組換えダイズは、熱帯及び亜熱帯に属する主に南米のダイズ栽培地域において、現在チョウ目害虫防除のために使用されている殺虫剤の使用量を軽減することを目標として育成されており、わが国のダイズ栽培におけるチョウ目害虫防除を目的とはしていない。このため、本組換えダイズ中で発現する Cry1Ac 蛋白質が、わが国のダイズ主要害虫に対して殺虫活性を持たない場合も有り得る。実際に、わが国において生育初期にツルマメを食餌するカブラヤガ及びわが国のダイズの主要害虫であるハスモンヨトウの Cry1Ac 蛋白質に対する感受性は文献報告に基づくと高くないと推察された (表 13, p58~59)。 25 30 35

そこで、チョウ目昆虫による食害がツルマメの生育に与える影響について、以下のようにツルマメの生育段階に応じて考察した。

5 生育初期のツルマメに関しては、第一の 1-(3)-ト-① (p14)に記載したように、多くの個体が暑さと乾燥により死亡し、生き残った個体も草刈で大きな損傷を受けて死亡したと報告されており (中山ら, 2000)、チョウ目昆虫の食害以外にツルマメの生存に影響を与える要因があると考えられる。さらに、生育初期にツルマメを食餌するカブラヤガに対して、Cry1Ac 蛋白質は活性を示さないことが知られている。

10 また、生育中期から成熟期のツルマメは、第一の 1-(3)-ト-③-a (p17~21)に記載したように、Cry1Ac 蛋白質に感受性を持たない多くの生物により食害及び傷害を受けていることが確認された。また、チョウ目昆虫による食害程度は低く、その葉面積に占める割合は最大で約 5%であった。

15 また、第一の 1-(3)-ト-③-b (p19~23)に記載したように、米国の温室でチョウ目害虫による食害を模した摘葉試験を行った結果、ツルマメは 50%の葉を失った場合でも生育速度に影響無く新たな葉を作り、葉の欠損の無い場合と同等の莢数及び種子数を維持できる高い補償能力を持っていることが確認された。また、今回の茨城県及び佐賀県で行ったツルマメ調査で観察されたチョウ目昆虫による食害程度は、これを下回るものであったことから、ツルマメの生育速度及び種子生産に影響を及ぼすものではないと考えられた。

20 さらに、第一の 1-(3)-ト-① (p15)に記載したようにツルマメの集団は主に環境要因やイネ科や多年生の雑草との競合によって制限されていると報告されている (羽鹿ら, 2003)。

25 以上のことから、ツルマメに改変 *cry1Ac* 遺伝子が移行した場合には、チョウ目昆虫に対する抵抗性が付与され、適応度が上がる可能性が考えられたが、その影響の程度は低いと考えられた。

30 しかし、ツルマメに改変 *cry1Ac* 遺伝子が移行した場合の影響の程度が低いことを、実際に本組換えダイズとツルマメの雑種を用いてほ場試験や温室試験で実証することは困難である。したがって、影響の生じやすさを評価するにあたっては、影響の程度に加えて、本組換えダイズが食用又は飼料用に供するために輸入され、輸送中にこぼれ落ちた後に、生育した場合のツルマメとの交雑の生じやすさについても併せて考察する必要があると考えられた。そこで、その交雑の生じやすさについては以下のように、①わが国に輸入されたダイズが輸送中にこぼれ落ちる可能性、②輸送中にこぼれ落ちたダイズ種子が生育する可能性、③こぼれ落ちから生育したダイズが、ツルマメと隣接して生育し、交雑する可能性の順に考察を行った。

35

第一の 1-(2)-②-c (p4~8)に記載したように、わが国に輸入されるダイズの用途は搾油用、飼料用及び食品用に大別される。その輸送形態から、飼料用ダイズ種子のうち、バラ積み輸送されるものが輸送中にこぼれ落ちる可能性が考えられた。

5 飼料用ダイズ種子の年間使用量は約 13.4 万トンである。これらの飼料用ダイズ種子は、11 港に陸揚げされた後、29 ヶ所の飼料工場に輸送され、加工される (業界への聞き取り)。第一の 1-(2)-②-c (p4)に記載したように約 13.4 万トンの飼料用ダイズ種子のうち、約 8.4 万トンが各飼料工場にバラ積み輸送される際に港湾施設外でこぼれ落ちる可能性が考えられた。しかし、バラ積み輸送であっても、積載深度のある深箱型ダンプトラックに積載すること、
10 2重にシートを掛けること、こぼれ落ちの原因となる過積載の禁止等のこぼれ落ちを防止する措置がとられていることから (業界への聞き取り) (別添資料 1)、こぼれ落ちる量は極めて少ないと考えられた。

15 次に、輸送中にこぼれ落ちたダイズ種子が生育する可能性について考察した。

上述したように、わが国に輸入されたダイズ種子が輸送中にこぼれ落ちる量は極めて少ないと考えられたが、具体的な数量についての情報は無い (別添資料 1)。また、ダイズ種子の発芽能力は輸送過程における砕粒の発生等により低下し (Lusas, 2004)、貯蔵中及び輸送中の温度上昇及びその期間の長期化によっても低下すること (de Alencar et al., 2006)が報告されている。したがって、わが国に食用又は飼料用に供するために輸入されたダイズ種子は、ある程度の発芽能力を維持しているとは考えられるが、栽培用種子のような高い発芽能力を持つとは考えにくい。さらに、秋から冬の間の輸送中にこぼれ落ちたダイズ種子はこぼれ落ちた後吸水し寒さや乾燥で死んでしまう可能性が高いことから、翌春に発芽する可能性は低いと考えられる。また、道端でも吸水後に乾燥すると死ぬことから発芽しにくいと考えられる。さらに、発芽後、栽培管理が行われない環境下では、雑草との競合に打ち勝つ必要がある。加えて、輸送経路は幹線道路と考えられるため、発芽しても、開花に至る前に道路端の除草作業により刈り取られる可能性が高いと考えられる。
20
25
30

実際に、農林水産省により平成 21 年及び 22 年にダイズの輸入実績港 10 港のダイズ陸揚地点から半径 5km の地域を対象に、ダイズ又はツルマメの生育状況の調査が行われている。その結果、生育が確認されたダイズは平成 21 年は 16 個体、平成 22 年は 8 個体であった (農林水産省, 2011b; 2011c)。確認されたこぼれ落ちから生育した個体数は、調査の行われた 10 港から搬出されていると考えられる飼料用ダイズ種子 約 8 万トン (約 5.3×10^{11} 粒)から見ると極めて小さいと考えられる。
35

以上のことから、ダイズの栽培作物としての生育特性、及び輸送経路と考えられる幹線道路沿いで除草が実施されることを考えると、輸送中にこぼれ落ちたダイズ種子が生育する可能性は極めて低いと考えられた。

5 最後に、こぼれ落ちから生育したダイズが、ツルマメと隣接して生育し、交雑する可能性について考察した。

10 北海道、東北、四国で行われたツルマメの自生地に関する調査では、主に河川流域で自生地が確認された例が多く報告されているものの (河野ら, 2004; 菊池ら, 2005; 猿田ら, 2007; 山田ら, 2008; 友岡ら, 2009; 猿田ら, 2009)、バラ積みダイズの輸送経路となるような幹線道路沿いでの自生地の報告は少ない。また、茨城県及び佐賀県で合計 40 地点のツルマメ集団に対して行った調査の結果でも、水路・河川沿いの調査地点では、空き地や耕作放棄地よりもツルマメ集団の専有率が高い事が観察されたものの、幹線道路沿いでは大きなツルマメ集団は確認されなかった。

15 以上のことから、こぼれ落ちから生育したダイズがツルマメと隣接して生育する可能性は低いと考えられた。実際、農林水産省による遺伝子組換え植物実態調査 (平成 21 年及び 22 年)でもダイズの輸入実績のある港湾のダイズ陸揚地点から半径 5km 以内においてダイズとツルマメが隣接して生育している例は認められていない。

20 また、ツルマメとダイズが交雑するためには開花期が重複する必要があるが、ツルマメの開花時期については、第一の 1-(3)-ニ-③ (p11)に記載したように、地域間差は比較的小さく 8 月中旬から 9 月中旬ごろまでと考えられた。その一方で、ダイズの栽培適期と生育特性を考えると、5 月より前にこぼれ落ちたダイズはツルマメの開花前に開花が終了し、8 月より後にこぼれ落ちたダイズはツルマメの開花終了後に開花するか、閉花受粉を行うと考えられる。よって、5 月から 8 月以外にこぼれ落ちたダイズは開花まで生育できないか、開花まで生育したとしてもツルマメと開花期が重複しない可能性が高いと考えられる。

30 さらに、仮にダイズとツルマメ集団が隣接して生育し、開花期が重複した場合でもその交雑率は最大 0.73%と報告されている (Nakayama and Yamaguchi, 2002; Mizuguti et al., 2009; 吉村, 2008)。

35 実際に、1996 年以降、15 年間除草剤グリホサート耐性ダイズが輸入されているが、農林水産省による遺伝子組換え植物実態調査 (平成 21 年及び 22 年)のダイズ輸入実績港 10 港での調査の結果では、ダイズ陸揚地点から半径 5km 以内において除草剤グリホサート耐性ダイズとツルマメの交雑体は認められなかった。また、わが国と同様に、ツルマメの自地域であり、かつ除草剤グリホサート耐性ダイズを輸入している韓国において、2000 年に広範

圃の地域から採取された 243 系統のツルマメに除草剤グリホサートを散布したところ、全ての系統が枯死し、除草剤グリホサート耐性ダイズとツルマメの交雑体は確認されなかったと報告されている (Kim et al., 2003)。

5 このことから、こぼれ落ちから生育したダイズが、ツルマメと隣接して生育し、交雑する可能性は極めて低いと考えられた。

10 以上のことから、食用又は飼料用に供するために輸入されたダイズ種子が、輸送中にこぼれ落ちた後に生育し、ツルマメと交雑する可能性は極めて低いと考えられたが、さらに上述した情報を基に以下のような試算を行った (別添資料 1)。なお、この試算は、交雑の可能性が最大となる場合を想定している。

15 ダイズのわが国における年間輸入量、用途別使用量、使用実態、輸送形態及び農林水産省による遺伝子組換え植物実態調査 (平成 21 年及び 22 年)において生育が確認されたダイズ個体数を基に、輸送中にこぼれ落ち、開花まで生育したダイズと交雑したツルマメに結実する交雑種子数について試算を行った (別添資料 1)。なお、最大限のリスクを評価するために、本組換えダイズが輸入される南米に限らず、輸入ダイズ全量を基に試算を行った。

20 上述したように、食品用ダイズ種子は密閉度の高い紙袋又はフレキシブルコンテナで輸送されるため、輸送中にこぼれ落ちる可能性は低い。よって、本試算では食品用ダイズ種子を試算から除外し、飼料用ダイズ種子のみを対象とした。なお、飼料用ダイズ種子のうち、密閉度の高いベルトコンベア、コンテナ、フレキシブルコンテナ及び紙袋で輸送されるものは試算から除外した。したがって、飼料用ダイズ種子を取扱う 29 工場のうち、バラ積み輸送を行う 25 工場を試算の対象とした。なお、釧路港を原料発港とする 1 工場については、日高より北東ではツルマメは生育していないことから G 及び I の試算からは除外し、残りの 24 ヶ所の飼料工場について試算を行った。

30 以下に博多港に陸揚げされたダイズ種子が、飼料工場㊸ (別添資料 1 の表 7, p23)に輸送中にこぼれ落ちた後に生育し、ツルマメと交雑することでツルマメに結実する雑種種子数の試算方法を示した。なお、博多港から飼料工場㊸までの経路での試算を例として用いた理由は、原料発港である博多港から飼料工場㊸までの輸送距離が他の飼料工場と比べて長いこと、飼料工場㊸の取扱量が多いこと、さらに農林水産省による遺伝子組換え植物実態調査 (平成 21 年及び 22 年)で報告された生育ダイズ個体数が最も多い博多港を原料発港としていることによる。また、以下に記載した式の左辺には四捨五入した数値を記載しており、右辺には四捨五入前の数値を使用した試算結果を記載していることから、式の左辺の計算値と右辺に記載した試算結果は必ずしも

一致しない。

試算方法 (例) (別添資料 1 の表 7, p20~21)

- 5 A. p66 に記載したように、5月から 8月以外にこぼれ落ちたダイズは開花まで生育できないか、開花まで生育したとしてもツルマメと開花期が重複しない可能性が高いと考えられる。よって、飼料工場㊟が 5~8 月に取扱うダイズの量を算出した (約 2,000 トン : 500 トン/月 × 4)。
- 10 B. A を粒数換算すると約 130 億粒 (百粒重を 15g と仮定) である。
C. 博多港から飼料工場㊟までの陸上輸送距離は直線で 66.0km である。
- 15 D. 農林水産省による遺伝子組換え植物実態調査 (平成 21 年及び 22 年) の結果から、それぞれの港から 5km 以内で確認されたダイズ個体数の港ごとの 2 年間の平均値を算出した (博多港 : 8 個体)。輸送中のダイズのこぼれ落ちがランダムに起き、発生確率は前後の時間及び空間における事象と独立であると考えポアソン分布に従うとし、算出した平均値から港ごとにこぼれ落ちから発生する生育個体数の 95% 信頼区間を求め、試算には 95% 信頼区間の上限値から下限値を変動幅として使用した。博多港の場合こぼれ落ちから生育するダイズの個体数は 3.45-15.76 であ
- 20 った。
- 25 E. 農林水産省の調査の対象は港湾から半径 5km の範囲であることから、運搬中は 5km ごとに同じ確率でこぼれ落ち、港湾から飼料工場㊟までの距離 5km ごとに 3.45~15.76 個体が生育していたと仮定した。また、博多港からは合計 2,600 トンのダイズが輸送されており、輸送中のダイズ種子のこぼれ落ちは、各飼料工場の取扱い量に比例して発生すると仮定した。上記の 2 つの仮定に基づき、博多港から飼料工場㊟までの輸送中にこぼれ落ち、生育する可能性のある個体数を算出した。その結果、
- 30 35.1~160.1 個体であった。

$$\text{最小} : 3.45 (\text{個体}) \times \frac{66.0 (\text{km})}{5 (\text{km})} \times \frac{2,000 (\text{トン})}{2,600 (\text{トン})} = 35.1 (\text{個体})$$

$$\text{最大} : 15.76 (\text{個体}) \times \frac{66.0 (\text{km})}{5 (\text{km})} \times \frac{2,000 (\text{トン})}{2,600 (\text{トン})} = 160.1 (\text{個体})$$

F. E で算出した博多港から飼料工場㊟までの間に生育するダイズ
 5 個体数の最大値と最小値を分子とし、B で算出した飼料工場の
 5-8 月の取扱量を分母として博多港から飼料工場㊟までの輸送
 中にダイズがこぼれ落ちて生育する確率を算出した。その結果、
 2.6×10^{-9} から 1.2×10^{-8} であった。

$$\text{最小} : \frac{35.1 (\text{個体})}{1.3 \times 10^{10} (\text{粒})} = 2.6 \times 10^{-9}$$

$$\text{最大} : \frac{160.1 (\text{個体})}{1.3 \times 10^{10} (\text{粒})} = 1.2 \times 10^{-8}$$

G. 輸送中にこぼれ落ちた後に生育したダイズがツルマメと隣接す
 10 る確率に関してはデータがないため、確率を最小 0、最大 1 と
 仮定し、E で算出した輸送中にこぼれ落ち生育するダイズ個体
 のうち、ツルマメと隣接して開花期まで生育する可能性のある
 個体数を試算した。

$$\text{最小} : 35.1 (\text{個体}) \times 0 = 0 (\text{個体})$$

$$\text{最大} : 160.1 (\text{個体}) \times 1 = 160.1 (\text{個体})$$

H. G で算出した博多港から飼料工場㊟までの間にツルマメと隣接
 15 して生育するダイズ個体数の最大値と最小値を分子とし、B で
 算出した飼料工場㊟の 5~8 月の取扱量を分母として原料発港か
 ら飼料工場までの間にダイズがこぼれ落ちツルマメと隣接して
 20 生育する確率を試算した。その結果、0 から 1.2×10^{-8} であった。

$$\text{最小} : \frac{0 (\text{個体})}{1.3 \times 10^{10} (\text{個体})} = 0$$

$$\text{最大} : \frac{160.1 (\text{個体})}{1.3 \times 10^{10} (\text{個体})} = 1.2 \times 10^{-8}$$

I. 輸送中にこぼれ落ち、開花まで生育したダイズと交雑したツルマメに結実する交雑種子数を算出した。

ダイズとツルマメの交雑に関してはこれまでに Nakayama and Yamaguchi (2002)、Mizuguti et al. (2009)、吉村 (2008) の報告がある。この中で、Nakayama and Yamaguchi (2002) は日本のダイズ品種とツルマメを格子状に交互に生育させている。一方、Mizuguti et al. (2009) 及び吉村 (2008) は米国産の除草剤耐性遺伝子組換えダイズを用いて自然交雑率を調査していることから、輸入ダイズとツルマメの交雑率の推定には Mizuguti et al. (2009) 及び吉村 (2008) の行った試験が適していると考えられた。

また、Mizuguti et al. (2009) はダイズ 1 個体とツルマメ 1 個体を 5cm 離して異なる 3 つの播種日 (6/20, 7/5 及び 7/20) で各 20 組栽培し、両植物体が絡み合って生育、開花した場合の自然交雑率を調査しているが、吉村 (2008) は米国産の除草剤耐性遺伝子組換えダイズ 40 個体 (10 個体/条×4 条) のプロットの中にツルマメ 3 個体を網状の壁に沿わせて栽培した場合の自然交雑率を調査している。吉村 (2008) が行った試験は栽培ダイズとダイズ畑の畦畔等に自生するツルマメの交雑を想定していると考えられる。よって、輸送中にこぼれ落ちたダイズとツルマメが隣接して生育する際の状況としては、Mizuguti et al. (2009) の行った試験が最も現実的で、かつ交雑率を最大に評価できると考えられた。したがって、ダイズが輸入され、輸送中にこぼれ落ち、開花まで生育したダイズと交雑したツルマメに結実する交雑種子数の試算には Mizuguti et al. (2009) の報告値を用いて行うこととした。Mizuguti et al. (2009) はダイズとツルマメの開花期が重なるように設定した 3 つの試験を行っている。ダイズとツルマメが交雑してできる可能性のある交雑種子数は最大でダイズ 16 個体で 1 粒、最小でダイズ 19 個体で 0 粒であり、この数値を試算に用いた。その結果、博多港に陸揚げされたダイズ種子が、飼料工場②に輸送中にこぼれ落ちた後に生育し、ツルマメと交雑することでツルマメに結実する雑種種子数は、0 から 10 粒であると考えられた。

$$\text{最小} : 0 (\text{個体}) \times \frac{0}{19} = 0 (\text{粒})$$

$$\text{最大} : 160.1 (\text{個体}) \times \frac{1}{16} = 10.0 (\text{粒})$$

上記の試算方法で計 24 ヲ所の飼料工場についてそれぞれ試算を行った結果、G の「輸送中にこぼれ落ち生育するダイズ個体のうち、ツルマメと隣接して開花期まで生育する可能性のある個体数」については、22 工場では最大でも 50 個体未満であり、残る 2 工場ではそれぞれ 51 個体及び 160 個体であった。なお、最大で 160 個体と試算された飼料工場は、上述した試算方法の事例として用いた飼料工場㊟であった。

また、I の「輸送中にこぼれ落ち、開花まで生育したダイズと交雑したツルマメに結実する交雑種子数」の最大値は 17 工場で 1 粒未満、2 工場で 1 粒以上 2 粒未満、3 工場で 2 粒以上 3 粒未満、1 工場で 3 粒以上 4 粒未満、1 工場で 10 粒と試算された (別添資料 1)。なお、最大で 10 粒と試算された飼料工場も、上述した試算方法の事例として用いた飼料工場㊟であった。

以上の試算の結果、全ての原料発港から飼料工場までの経路の中で、博多港から飼料工場㊟までの経路が最も多くの交雑種子が発生すると予想され、その数は最大で 10 粒と試算された。

しかし、上述した試算 (別添資料 1 の表 7) は、各試算過程において最大のリスクを考慮しているため、輸送中にこぼれ落ち、開花まで生育したダイズと交雑したツルマメに結実する交雑種子数が過大に評価されていることが懸念された。そこで、別添資料 1 の表 7 の試算において結実する交雑種子数が最大の 10 粒となった博多港から飼料工場㊟への輸送における経路での試算を例として、さらに現状に即していると考えられる 2 つの条件を加味してより詳細な試算を行った。

1 つ目の追加条件として、輸入ダイズが博多港から飼料工場㊟までの輸送中にこぼれ落ち、生育するダイズ個体数の輸送距離に伴う推移について評価を行った。2 つ目の追加条件として、GIS (geographic information system) を用いて、博多港から飼料工場㊟までの輸送経路において、こぼれ落ちたダイズが生育する可能性がある土地面積に占めるツルマメが生育している可能性がある土地面積の割合を算出することにより、輸送中にこぼれ落ちたダイズがツルマメと隣接して生育する可能性についてさらに詳細な評価を行った (別添資料 20)。以下に詳細を記載する。

まず、輸入ダイズが博多港から飼料工場㊟までの輸送中にこぼれ落ち、生育するダイズ個体数の輸送距離に伴う推移について以下のように検討

した。

上述したように (p65)、飼料原料をバラ積みで輸送する際には、1) 積載深度のある深箱型ダンプトラックに積載すること、2) 2重にシートを掛けること、3) こぼれ落ちの原因となる過積載の禁止等、こぼれ落ち防止措置が取られていることからこぼれ落ちの可能性は低いと考えられる。よって、バラ積みのダイズが輸送中にこぼれ落ちるとすると、積載中にトラックのトラックリアゲートとあおり²⁸の間又はあおりと荷台に掛けられたシートや飛散防止装置²⁹との間などに入っていたものが陸揚地点から数 km の範囲でこぼれ落ちる可能性が最も高く、こぼれ落ちるダイズ種子数はダイズ陸揚地点から離れるに従い減少すると考えられた。実際に、農林水産省による調査でダイズ陸揚地点から 5km 以内で確認されたダイズ個体が発見された 15 地点と各港のダイズ陸揚地点の間の直線距離をみると、15 地点中 14 地点はダイズの陸揚地点から約 1.6km 以内の距離であった³⁰。なお、残りの 1 地点は、2009 年に千葉港で非遺伝子組換えダイズ 1 個体がダイズ陸揚地点から約 3.2km 離れた地点で確認されたものであった (別添資料 20 の図 1, p3)。

以上のことから、原料発港から飼料工場までの輸送中にこぼれ落ち、発芽・生育するダイズの個体数は、各 5km ごとに半減していくと考えることで、こぼれ落ちから生育するダイズ個体数をより現実的に評価することが出来ると考えた。

次に GIS (geographic information system)を用いて、博多港から飼料工場②までの輸送経路において、こぼれ落ちたダイズがツルマメと隣接して生育する可能性について、以下のように検討を行った。

上述したように原料発港から飼料工場までの間にこぼれ落ち、発芽・生育するダイズの個体数は、各 5km ごとに半減していくと考えられることから、博多港のダイズ陸揚地点から半径 10km の範囲で、飼料工場②までに想定される輸送経路沿いでダイズがこぼれ落ち、生育すると考えられる土地の面積のうち、ツルマメが生育している可能性のある土地の面積の割合を、GIS (Geographic Information System) を利用して調査することによ

²⁸ トラックの荷台床面の周囲を囲む部分。側あおり、後あおりからなる。

²⁹ 積荷の飛散やこぼれ落ちを防止するために、トラック荷台のあおり上部に設置する金属製又は布製の被い。

³⁰ 2009 年：鹿島港(1,323m; 1,062m; 502m)、千葉港(3,202m)、神戸港(338m; 381m)、博多港(1,580m; 1,469m; 1,153m)

2010 年：苫小牧港(208m; 456m)、博多港(1,365m; 1,360m; 363m; 567m)

り、輸送中にこぼれ落ち、生育したダイズがツルマメと隣接して生育する可能性について考察を行った。

博多港のダイズ陸揚地点のある埠頭の全道路（埠頭内ではどの道路も輸送に利用される可能性があるため）、ダイズの陸揚地点から飼料工場²への輸送経路と考えられる2つのルートについて、ダイズ陸揚地点から半径10kmの道路の車道の両端から15mを調査対象³¹として、航空写真（デジタルオルソ画像）から解析した。なお、飼料用ダイズ種子は価格が安いことから、輸送の際に高速道路を使用することはない（業界への聞き取り）。このことから、高速道路は調査対象から除外した。

まず、調査対象の中で輸送中にこぼれ落ちたダイズが生育可能な土地について、航空写真を用いて9つのカテゴリーに分類を行った（表14, p75）。なお、建造物のある場所及びコンクリート等で地表が覆われている場所は輸送中にこぼれ落ちたダイズが生育する可能性がないことから分類の対象外とした。

また、各カテゴリーについて、【各カテゴリーに分類した土地面積に対して、輸送中にこぼれ落ちたダイズが生育する可能性の係数： C_M 】及び【各カテゴリーに分類した土地面積に対して、ツルマメが生育している可能性の係数： C_S 】をそれぞれパーセンテージで設定した（表14 p75）。

まず、 C_M については、ダイズの輸送経路における生育状況に関する情報は無いが、基本的に管理が行われていない空き地等（カテゴリー2）や河川敷（カテゴリー7）については、全面積でダイズが生育する可能性があるとして、当該 C_M を100%とした（表14, p75）。

その一方で、管理が行われている庭、植栽（カテゴリー3）、公園、球場（芝生）（カテゴリー4）、中央分離帯（カテゴリー8）及び街路樹（カテゴリー9）については、ダイズが生育する可能性は下がると考えられたため C_M を30%とした（表14, p75）。

また、裸地、空き地、駐車場等（カテゴリー1）は管理が行われる土地であることから、管理が行き届きにくい周縁部のみでダイズが生育する可能性があると考え、 C_M を5%とした。水田・畑（カテゴリー5）及び林（カテゴリー6）も、畦畔及び周縁部のみでダイズが生育可能と考え、 C_M を5%と

³¹ 道路構造令により、自転車歩行者道の幅員について歩行者の交通量が多い道路では3.5m以上、その他の道路にあつては2m以上とされている。また、横断歩道橋等を設ける場合には3m、ベンチの上屋を設ける場合には2m、並木を設ける場合には1.5m、ベンチを設ける場合には1m、その他の場合には0.5mを加えることとされている。前述の路上施設全てが設置された場合の歩道幅員は11.5mとなる。

した (表 14, p75)。

次に、 C_S について検討した。輸送中にこぼれ落ちたダイズが生育する可能性のある場所は、基本的に雑草であるツルマメも生育し得ると考えられた。しかし、北海道、東北、四国で行われたツルマメの生育地に関する調査では、主に河川流域で自生地が確認された例が多く報告されているもの
5 の、バラ積みダイズの輸送経路となるような幹線道路沿いでの自生地の報告は少ない (河野ら, 2004; 菊池ら, 2005; 猿田ら, 2007; 山田ら, 2008; 友岡ら, 2009; 猿田ら, 2009)。また、弊社が茨城県及び佐賀県で合計 40 地点のツルマメ集団に対して行った調査の結果でも、水路・河川沿いの調査地
10 点では、空き地や耕作放棄地よりもツルマメ集団の占有率が高いことが観察されたものの、幹線道路沿いでは大きなツルマメ集団は確認されなかった。

これらの情報を基に考えると、輸送中にこぼれ落ちたダイズが生育する可能性のある土地の全面積で、ツルマメが生育しているとは考えられない。
15 このことから、ツルマメが生育している可能性の係数 (C_S)は、輸送中にこぼれ落ちたダイズが生育する可能性の係数 (C_M)よりも、常に低く見積もることとした。

これらの条件を加味し、ツルマメが生育している可能性が最も高い河川敷 (カテゴリー7)は、 C_S を 50%とした。また、草本で覆われている空き地等 (カテゴリー2)は河川敷よりはツルマメが生育している可能性が低い
20 ことから C_S を 30%とした (表 14, p75)。

その一方で、管理されている庭、植栽 (カテゴリー3)、公園、球場 (芝生) (カテゴリー4)、中央分離帯 (カテゴリー8)及び街路樹 (カテゴリー9)については、ツルマメが生育している可能性は低いことから C_S を 5%としたが、
25 庭、植栽 (カテゴリー3)についてはその他と比べ管理が十分でないこともあると考え、 C_S を 10%とした (表 14, p75)。また、管理されている裸地、空き地、駐車場等 (カテゴリー1)は、ツルマメの生育に適した場所とは考えにくい
30 が、管理が行き届かない周縁部では、ツルマメが生育している場合もあるので、 C_S を 1%とした (表 14, p75)。

水田・畑 (カテゴリー5)及び林 (カテゴリー6)は、畦畔または周辺部のみツルマメが生育している可能性があるとし C_S を 2.5%とした (表 14, p75)。

表 14 輸送中にこぼれ落ちたダイズが生育する可能性のある土地及びツルマメが生育している可能性のある土地の категория及び各 категорияにおける生育の可能性 (係数：%)³²

	category	definition	係数 (%)	
			ダイズ C _M	ツルマメ C _S
1	裸地、空き地、駐車場等 (草無し)	全体的に地面が露出しており、土地の周縁部以外で草本が認められない	5	1
2	空き地、駐車場、耕作放棄地等 (草有り)	部分的に地面が露出しているが、土地の中央部等でも草本が認められる	100	30
3	庭、植栽	住宅、ビルに隣接する管理された庭、植栽	30	10
4	公園・球場 (芝生)	芝生が植えられ、管理された土地	30	5
5	水田・畑	耕作が行われている水田・畑 (畦畔を含む)	5	2.5
6	林	樹木が生育する土地	5	2.5
7	河川敷	河川沿いで植物の生育が確認される土地	100	50
8	中央分離帯	道路中央部の樹木帯、植栽	30	5
9	街路樹	歩道の樹木帯、植栽	30	5

5

次に、航空写真から分類を行った各 category の面積を ArcGIS Desktop 10 により算出し、その面積を C_M と掛け合わせるにより、ダイズが生育する可能性のある土地の面積を求めた。同様に、各 category の面積と C_S を掛け合わせるにより、ツルマメが生育している可能性のある土地の面積を求めた。これらの値から、輸送中にこぼれ落ちたダイズが生育する可能性のある土地の面積に占めるツルマメが生育している可能性のある面積の割合を算出した。この値をダイズとツルマメが隣接して生育する確率とした。その結果、ダイズとツルマメが隣接して生育する確率はダイズ陸揚地点から 5km 以内では 0.241、5km から 10km の距離では 0.295 であった (表 15 の B, p77 及び別添資料 20)。

10

15

以上の 1) 輸入ダイズが博多港から飼料工場²²までの間にこぼれ落ち、生育するダイズ個体数の輸送距離に伴う推移、及び 2) GIS (Geographic

³²本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

Information System)を用いて、博多港から飼料工場②までの輸送経路において、こぼれ落ちたダイズがツルマメと隣接して生育する可能性について検討を行った結果に基づき、博多港から飼料工場②にダイズが輸送される間にこぼれ落ち、ツルマメと隣接して生育する可能性のあるダイズ個体数及びそのダイズ個体とツルマメが交雑することにより発生する可能性のある交雑種子数について以下にさらなる試算を行った。

まず、p68 の D と同様に、農林水産省による遺伝子組換え植物実態調査の結果を基に、博多港から 5km でこぼれ落ちから発生する生育個体数の 95%信頼区間を求めた (3.45~15.76)。この後の試算には 95%信頼区間の上限値を最大値として使用した。また、一つの港湾から複数の飼料工場にダイズが輸送されている場合は、各飼料工場へ運ばれるダイズ種子の量(取扱量)に比例して輸送中のダイズ種子のこぼれ落ちが発生すると仮定した。飼料工場②と飼料工場①が博多港を原料発港として利用しており、5-8 月の取扱量はそれぞれ 2,000 トン及び 600 トンであることから、15.76 個体中 12.13 個体は飼料工場②に起因すると考えられた。

しかし、前述したように、原料発港から飼料工場までの間にこぼれ落ち、発芽・生育するダイズの個体数は、各 5km ごとに半減していくと仮定し、こぼれ落ちから発生し生育するダイズ個体数を算出した (表 15 の A, p77)。

なお、ツルマメと隣接して生育するダイズ個体数が計算上 1 個体未満となる 20km 以遠では、5km ごとに 1 個体のダイズがツルマメと隣接して生育していると仮定した (表 15 の A, p77)。

さらに、GIS(Geographic Information System)を用いた調査の結果、ダイズがこぼれ落ち、生育する可能性のある土地のうち、ツルマメが生育している可能性のある土地の割合はダイズ陸揚地点から 5km 以内では 0.241、5~10km の間では 0.295 であったことから、ツルマメと隣接して生育するダイズ個体数はダイズ陸揚地点から 5km 以内では 2.92、5~10km の間では 1.79 と試算された (表 15 の C, p77)。なお、10km 以遠についてはダイズとツルマメが隣接している確率を最大の 0.5 として試算を行い、ツルマメと隣接して生育するダイズ個体数を試算した (表 15 の C, p77)。

算出したツルマメと隣接して生育するダイズ個体数を基に、これらのダイズとツルマメが交雑して発生する交雑種子数を試算した (表 15 の D, p77)。なお、交雑率の試算には Mizuguti et al. (2009)の試験結果 (16 個体中 1 粒)を用いた。

その結果、博多港から飼料工場②への輸送中にこぼれ落ち、ツルマメと隣接して生育する可能性のあるダイズ個体数は最大で 11.99 個体、これらのダイズ個体とツルマメが交雑することにより発生する可能性のある交雑種子数は最大で 0.75 粒と試算された (表 15 の D, p77)。

表 15 博多港から飼料工場②の間でこぼれ落ちから発生し、ツルマメと隣接して生育するダイズ個体数の最大値及びそれらのダイズとツルマメが交雑することにより発生する交雑種子数の最大値の試算結果³³

博多港のダイズ 陸揚地点からの 距離	A	B	C	D
	こぼれ落ちから発生し、生育するダイズ個体数 (個体)	ダイズとツルマメが隣接して生育する確率	原料発港から飼料工場までの間でツルマメと隣接して生育するダイズ個体数 (個体)	原料発港から飼料工場までの間に発生する交雑種子数 (粒)
0-5km	12.13	0.241	2.92	0.18
5-10km	6.07	0.295	1.79	0.11
10-15km	3.03	0.5	1.52	0.09
15-20km	1.52	0.5	0.76	0.05
20-25km	1.00	0.5	0.50	0.03
25-30km	1.00	0.5	0.50	0.03
30-35km	1.00	0.5	0.50	0.03
35-40km	1.00	0.5	0.50	0.03
40-45km	1.00	0.5	0.50	0.03
45-50km	1.00	0.5	0.50	0.03
50-55km	1.00	0.5	0.50	0.03
55-60km	1.00	0.5	0.50	0.03
60-65km	1.00	0.5	0.50	0.03
65-66km	1.00	0.5	0.50	0.03
合計			11.99	0.75

*表中の数字は四捨五入した値のため、個々の数値と合計欄の数値は必ずしも一致しない。

5

さらに、ツルマメに結実した種子は動物等による食害によりその数が減少することが考えられる。また、翌年に発芽した場合でも、他の植物との競合等により種子生産まで生育する個体数はさらに少なくなると考えられる。例えば、Mizuguti et al. (2009)は3つの試験区でツルマメを栽培し、16個体のツルマメから7,814粒、19個体のツルマメから12,828粒、16個体のツルマメから11,860粒の種子をそれぞれ採種している(それぞれ1個体あたり488粒、675粒及び741粒)。仮にMizuguti et al. (2009)の試験で

10

³³本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

報告されたツルマメ 1 個体あたりの種子生産量がツルマメの個体群維持に必要な種子生産量であったと仮定すると、結実種子のうち翌年に結実まで生育するものの割合は 0.13~0.20% (741 粒中 1 粒~488 粒中 1 粒)である。したがって、表 15 (p77)の D に示された交雑種子数の最大値 (0.75)のうち
5 翌年結実にいたる種子数の最大値は 0.0015 (0.75×0.0020) 粒となり、交雑種子の後代が生育する可能性は極めて低いと考えられた。

さらに、第一の 1-(3)-ニ-③ (p11)に記載したように、ダイズとツルマメの雑種及びその後代は、ダイズの遺伝子のある割合で有することにより、自然環境での適応においてツルマメより不利になり (Oka, 1983; Chen and
10 Nelson, 2004)、速やかに消失するとされている (Kuroda et al., 2010)。実際に、日本各地のダイズ畑周辺で 17 個体の栽培ダイズとツルマメとの交雑体が発見されたが、追跡調査の結果、翌々年には交雑体は 0 個体となったことが報告されている (Kuroda et al., 2010)。

また、本組換えダイズとツルマメが交雑した場合には、その雑種にはチョウ目昆虫に対する抵抗性が付与され、適応度が上がる可能性が考えられるが、第一の 1-(3)-ト-③-a (p17~19)に記載したように、ツルマメは Cry1Ac
15 蛋白質に感受性を持たない多くの生物により食害及び傷害を受けており、チョウ目昆虫による食害の割合は最大で約 5%であった。また、第一の 1-(3)-ト-③-b (p21~21)に記載したように、この調査で認められたチョウ目
20 昆虫によるツルマメの食害程度はツルマメの生育速度及び種子生産に影響を及ぼすものではないと考えられた。さらに、第一の 1-(3)-ト (p14~23)に記載したように、ツルマメの集団は主に環境要因やイネ科や多年生の雑草との競合によって制限されており、チョウ目昆虫による食害は大きな制限要因となっていないと考えられる。

以上をまとめると、わが国に輸入されたダイズ種子が、原料発港から各飼料工場への輸送中にこぼれ落ちた後に、ツルマメと隣接して生育し、交雑することでツルマメに結実する雑種種子数は、極めて少ないと考えられた。さらに、チョウ目昆虫に対する抵抗性によって交雑体の適応度が大幅に上がるとは考えにくいことから、本組換えダイズとツルマメの交雑後代は従来ダイズとツルマメの交雑後代と同様に自然環境中から速やかに
30 消失すると考えられる。

したがって、本組換えダイズを輸入した際に交雑に起因する影響の生じやすさは極めて低いと判断された。

35

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

5 以上のことから、本組換えダイズの第一種使用等の内容を、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（国内における栽培を含まない）とする範囲内では、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。

4 その他の性質

10 —

第三 生物多様性影響の総合的評価

競合における優位性：ダイズは弥生時代からわが国で栽培されていると考えられており、イネ・ムギとともに最も長い使用経験があるが、これまでダイズがわが国の自然条件下で雑草化した例は報告されていない。本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で競合における優位性に関わる諸形質(形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、成体の越冬性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率)を調査した結果、発芽個体数において本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に統計学的有意差が認められた。また、本組換えダイズ、対照の非組換えダイズともに発芽率が 80%に達しなかったため発芽揃いを観測することができなかった。

検討の結果、発芽個体数において統計学的有意差が認められ、発芽揃いを観測できなかったが、収穫種子の発芽個体数に統計学的有意差は認められなかったことから、観察された差は本組換えダイズに導入された形質に起因したのではなく、本試験に供試した種子の品質に起因するものと考えられた。

本組換えダイズには、改変 Cry1Ac 蛋白質の発現によるチョウ目害虫抵抗性の形質が付与されているが、このチョウ目害虫に対する抵抗性付与の要因のみによって、これまで栽培作物として品種改良されてきたダイズが、わが国の自然環境下で自生できるほどの競合における優位性を獲得するとは考えにくい。

以上のことから、本組換えダイズの使用を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(国内における栽培を含まない)とする範囲内では、競合における優位性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと考えられた。

有害物質の産生性：ダイズに関して、これまでに有害物質の産生性は報告されていない。本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で、有害物質の産生性の有無を土壤微生物相試験、鋤込み試験、後作試験により比較検討したが、統計学的有意差は認められなかった。

本組換えダイズ中ではチョウ目昆虫に対して殺虫活性を示す改変 Cry1Ac 蛋白質が発現しているが、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有しないことが確認されている。また、改変 Cry1Ac 蛋白質は、酵素活性を持たず、宿主の代謝系から独立して機能しているため、宿主の代謝系に作用して有害物質を産生することはないと考えられた。

さらに、わが国に生息する絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に指定されているチョウ目昆虫及びツルマメを食餌するチョウ目昆虫が 1. 本組換えダイズを

直接食餌する場合、2. 本組換えダイズから飛散した花粉を食餌する場合、そして 3. 本組換えダイズが交雑によりツルマメと雑種を形成し、チョウ目害虫抵抗性を獲得した雑種及びその後代を食餌する場合に受ける影響を考察した。その結果、食用又は飼料用に供するためとして輸入された本組換えダイズ種子が輸送中にこぼれ落ちた後に生育した場所に、特定されたチョウ目昆虫の個体群が局所的に生息している可能性は極めて低いこと、ダイズの花粉の産出量は極めて少なく、かつ花粉に粘着性があるため飛散する可能性は低く、これらチョウ目昆虫の幼虫が本組換えダイズの花粉を食する可能性は極めて低いことから、特定されたチョウ目昆虫が個体群で影響を受ける可能性は極めて低いと考えられた。また、ツルマメのみに依存するチョウ目昆虫は存在する可能性は低く、交雑性の項目で後述するとおり、食用又は飼料用に供するためにわが国に輸入された本組換えダイズが輸送中にこぼれ落ちた後に生育し、それらがツルマメと交雑して雑種を形成する可能性はきわめて低いため、チョウ目害虫抵抗性を獲得した雑種及びその後代をチョウ目昆虫が食餌することにより、チョウ目昆虫が個体群で影響を受ける可能性は極めて低いと判断された。

以上のことから、本組換えダイズの使用を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（国内における栽培を含まない）とする範囲内では、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと考えられた。

交雑性：交雑性に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物等としてツルマメが特定された。従来知見より、ダイズとツルマメの開花期は重なりにくく、その交雑率も低いことが知られている。隔離ほ場試験において本組換えダイズと対照の非組換えダイズ間での自然交雑率を調査した結果、従来のダイズと同程度であった。また、本組換えダイズの種子の生産量、花粉形態及び花粉稔性など生殖に関わる形質の調査結果から、本組換えダイズの交雑率は従来ダイズと同様に低いと考えられた。また、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で形態及び生育の特性、休眠性及び裂莢性に違いは認められなかったことから、本組換えダイズとツルマメの雑種の競合性は従来ダイズとツルマメの雑種の競合性と同程度に低いと考えられた。また、ツルマメに寄生するチョウ目昆虫調査、それらチョウ目昆虫の Cry1Ac 蛋白質に対する感受性、各種昆虫によるツルマメ食害程度の調査及びツルマメの摘葉試験の結果、ツルマメに改変 *cry1Ac* 遺伝子が移行した場合には、チョウ目昆虫に対する抵抗性が付与され、適応度が上がる可能性が考えられたが、

その影響の程度は低いと考えられた。しかし、ツルマメに改変 *cryIAc* 遺伝子が移行した場合の影響の程度が低いことを、実際に本組換えダイズとツルマメの雑種を用いてほ場試験や温室試験で実証することは困難である。したがって、影響の程度に加えて、本組換えダイズが食用又は飼料用に供するために輸入され、輸送中にこぼれ落ちた後に、生育した場合のツルマメとの交雑の生じやすさについても併せて考察する必要があると考えられた。そこで、その交雑の生じやすさについては以下のように、①わが国に輸入されたダイズが輸送中にこぼれ落ちる可能性、②輸送中にこぼれ落ちたダイズ種子が生育する可能性、③こぼれ落ちから生育したダイズが、ツルマメと隣接して生育し、交雑する可能性について考察を行った。

①わが国に輸入されたダイズが輸送中にこぼれ落ちる可能性

わが国に輸入されるダイズのうち、飼料用ダイズ種子で、バラ積み輸送されるものが港湾から各飼料工場にバラ積み輸送される際に港湾施設外でこぼれ落ちる可能性が考えられた。しかし、バラ積み輸送であっても、積載深度のある深箱型ダンプトラックに積載すること、2重にシートを掛けること、こぼれ落ちの原因となる過積載の禁止等のこぼれ落ちを防止する措置がとられていることから、こぼれ落ちる量は極めて少ないと考えられた。

②輸送中にこぼれ落ちたダイズ種子が生育する可能性

ダイズの栽培作物としての生育特性、及び輸送経路と考えられる幹線道路沿いで除草が実施されることを考えると、輸送中にこぼれ落ちたダイズ種子が生育する可能性は極めて低いと考えられた。

③こぼれ落ちから生育したダイズが、ツルマメと隣接して生育し、交雑する可能性

ツルマメの自生地、ダイズとツルマメの開花期及びその交雑率を考えると、こぼれ落ちから生育したダイズが、ツルマメと隣接して生育し、交雑する可能性は極めて低いと考えられた。

食用又は飼料用に供するために輸入されたダイズ種子が、輸送中にこぼれ落ちた後に生育し、ツルマメと交雑する可能性は極めて低いと考えられたが、ダイズのわが国における年間輸入量、用途別使用量、使用実態、輸送形態及び農林水産省による遺伝子組換え植物実態調査(平成21年及び22年)において生育が確認されたダイズ個体数を基に、港湾から各飼料工場までの輸送中にこぼれ落ち、開花まで生育したダイズと交雑したツルマメに結実する交雑種子数について、輸送中にこぼれ落ちた後に、生育した場合のツルマメとの交雑の生じやすさが最大となる場合を想定して試算を行った。

その結果、「輸送中にこぼれ落ち、ツルマメと隣接して生育する可能性のあるダイズ個体数」は博多港から飼料工場②までの経路において最大で 160 個体、「輸送中にこぼれ落ち、開花まで生育したダイズと交雑したツルマメに結実する交雑種子数」は同経路において最大で 10 粒と試算された。博多港から飼料工場②までの経路を例として、さらに現状に即していると考えられる 2 つの条件（①輸入ダイズが原料発港から飼料工場までの間にこぼれ落ち生育するダイズ個体数の輸送距離に伴う推移、及び②土地利用形態等により輸送中にこぼれ落ち生育したダイズ種子がツルマメと隣接して生育する可能性の違い）を加味してより詳細な試算を行った結果、博多港から飼料工場②への輸送中にこぼれ落ち、ツルマメと隣接して生育する可能性のあるダイズ個体数は最大で 11.99 個体、これらのダイズ個体とツルマメが交雑することにより発生する可能性のある交雑種子数は最大で 0.75 粒と試算された。

その結果、わが国に輸入されたダイズ種子が、原料発港から各飼料工場への輸送中にこぼれ落ちた後に、ツルマメと隣接して生育し、交雑することでツルマメに結実する雑種種子数は、極めて少ないと考えられた。

さらに、ツルマメ 1 個体あたりの種子生産量がツルマメの個体群維持に必要な種子生産量であると仮定すると、結実種子のうち翌年に結実まで生育するものの割合は約 0.13~0.20% (それぞれ 1 個体あたり 488 粒、675 粒及び 741 粒)と試算され、ツルマメに結実した本組換えダイズとツルマメの交雑種子のうち、翌年に結実まで生育するものは最大 0.0015 (0.75×0.0020)粒と試算され、交雑種子の後代が生育する可能性は極めて低いと考えられた。これに加え、ダイズとツルマメの雑種及びその後代は、ダイズの遺伝子のある割合で有することにより、自然環境での適応においてツルマメより不利になり、速やかに消失するとされている。

また、本組換えダイズとツルマメが交雑した場合には、その雑種にはチョウ目昆虫に対する抵抗性が付与され、適応度が上がる可能性が考えられるが、ツルマメは Cry1Ac 蛋白質に感受性を持たない多くの生物により食害及び傷害を受けており、チョウ目昆虫による食害の割合は最大で約 5%であった。また、認められたチョウ目昆虫によるツルマメの食害程度はツルマメの生育速度及び種子生産に影響を及ぼすものではないと考えられた。さらに、ツルマメの集団は主に環境要因やイネ科や多年生の雑草との競合によって制限されており、チョウ目昆虫による食害は大きな制限要因となっていないと考えられた。

以上のことから、本組換えダイズの使用を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 (国内における栽培を含まない)とする範囲内では、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考えられた。

- 5 よって、総合的評価として、本組換えダイズの第一種使用等の内容を、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（国内における栽培を含まない）とする範囲内では、わが国の生物多様性に影響を生ずるおそれはないと判断された。

参考文献

- Abel, G.H. 1970. Storage of soybean pollen for artificial crossing. *Agronomy Journal* 62: 121-123.
- 5
- Abrams, R.I., C.R. Edwards and T. Harris. 1978. Yields and cross-pollination of soybeans as affected by honey bees and alfalfa leafcutting bees. *American Bee Journal* 118: 555-558.
- 10
- Abud, S., P.I. Mello de Souza, C.T. Moreira, S.R.M. Andrade, A.V. Ulbrich, G.R. Vianna, E.L. Rech and F.J. Lima Aragão. 2003. Gene flow in transgenic soybean in the Cerrado region, Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 38: 1229-1235.
- Adang, M.J., M.J. Staver, T.A. Rocheleau, J. Leighton, R.F. Barker and D.V. Thompson. 1985. Characterized full-length and truncated plasmid clones of the crystal protein of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-73 and their toxicity to *Manduca sexta*. *Gene* 36: 289-300.
- 15
- Ahrent, D.K. and C.E. Caviness. 1994. Natural cross-pollination of twelve soybean cultivars in Arkansas. *Crop Science* 34: 376-378.
- 20
- Anderson, W.P. 1996. Weed ecology. Pages 27-38 in *Weed Science: Principles and Applications*. Third Edition. West Publishing Company, St. Paul, Minnesota.
- 25
- Barker, R.F., K.B. Idler, D.V. Thompson and J.D. Kemp. 1983. Nucleotide sequence of the T-DNA region from the *Agrobacterium tumefaciens* octopine Ti plasmid pTi15955. *Plant Molecular Biology* 2: 335-350.
- Barry, G.F., G.M. Kishore, S.R. Padgett and W.C. Stallings. 2001. Glyphosate-tolerant 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthases. Patent 6,248,876, U.S. Patent Office, Washington, D.C.
- 30
- Beard, B.H. and P.F. Knowles. 1971. Frequency of cross-pollination of soybeans after seed irradiation. *Crop Science* 11: 489-492.
- 35
- Bledig, S., R. Dobert, L. Harrison, G. Head, T. MacRae and S. Zampierin. 2001. Integrated pest management for insect-protected soybean in Argentina. Monsanto

Technical Report MSL-17422. St. Louis, Missouri.

Boncheva, R., S. Dukiandjiev, I. Minkov, R.A. de Maagd and S. Naimov. 2006. Activity of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxins against codling moth (*Cydia pomonella* L.) larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* 92: 96-99.

Caviness, C.E. 1966. Estimates of natural cross-pollination in Jackson soybeans in Arkansas. *Crop Science* 6: 211-212.

10 Chen, Y. and R.L. Nelson. 2004. Genetic variation and relationships among cultivated, wild, and semiwild soybean. *Crop Science* 44: 316-325.

Coruzzi, G., R. Broglie, C. Edwards and N.-H. Chua. 1984. Tissue-specific and light-regulated expression of a pea nuclear gene encoding the small subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase. *The EMBO Journal* 3: 1671-1679.

Crickmore, N., D.R. Zeigler, J. Feitelson, E. Schnepf, J. Van Rie, D. Lereclus, J. Baum and D.H. Dean. 1998. Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 62: 807-813.

20 Cruden, R.W. 1977. Pollen-ovule ratios: A conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* 31: 32-46.

Cutler, G.H. 1934. A simple method for making soybean hybrids. *Journal of the American Society of Agronomy* 26: 252-254.

de Alencar, E.R., L.R.D.A. Faroni, A.F. de Lacerda Filho, L.G. Ferreira and M.R. Meneghitti. 2006. Influence of different storage conditions on soybean grain quality. Pages 30-37 in 9th International Working Conference on Stored Product Protection, Campinas, São Paulo, Brazil.

de Escudero, I.R., A. Estela, M. Porcar, C. Martínez, J.A. Oguiza, B. Escriche, J. Ferré and P. Caballero. 2006. Molecular and insecticidal characterization of a CryII protein toxic to insects of the families Noctuidae, Tortricidae, Plutellidae, and Chrysomelidae. *Applied and Environmental Microbiology* 72: 4796-4804.

Depicker, A., S. Stachel, P. Dhaese, P. Zambryski and H.M. Goodman. 1982. Nopaline

synthase: Transcript mapping and DNA sequence. *Journal of Molecular and Applied Genetics* 1: 561-573.

5 Du, W.-x., D.-y. Wang, J.-n. Yu and X.-c. Li. 2010. Baseline susceptibility of *Helicoverpa armigera* to Bt toxin (Cry1Ac) in cotton field of Xinjiang. *Xinjiang Agricultural Sciences* 47: 902-905.

FAOSTAT. 2012. World soybeans area harvested 2009. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
10 <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567> [Accessed August 8, 2012].

Fehr, W.R. and C.E. Caviness. 1981. Reproductive stages. Pages 6-7 in *Stages of Soybean Development*. Iowa State University Cooperative Extension, Ames, Iowa.

15 Fischhoff, D.A. and F.J. Perlak. 1996. Synthetic plant genes. Patent 5,500,365, U.S. Patent Office, Washington, D.C.

Fling, M.E., J. Kopf and C. Richards. 1985. Nucleotide sequence of the transposon Tn7 gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, 3''(9)-*O*-nucleotidyltransferase. *Nucleic Acids Research* 13: 7095-7106.

Fujita, R., M. Ohara, K. Okazaki and Y. Shimamoto. 1997. The extent of natural cross-pollination in wild soybean (*Glycine soja*). *Journal of Heredity* 88: 124-128.

25 Garber, R.J. and T.E. Odland. 1926. Natural crossing in soybeans. *Journal of the American Society of Agronomy* 18: 967-970.

Gilliland, A., C.E. Chambers, E.J. Bone and D.J. Ellar. 2002. Role of *Bacillus thuringiensis* Cry1 δ endotoxin binding in determining potency during lepidopteran larval development. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 1509-1515.

Giza, P.E. and R.C.C. Huang. 1989. A self-inducing runaway-replication plasmid expression system utilizing the Rop protein. *Gene* 78: 73-84.

35 Gong, Y., C. Wang, Y. Yang, S. Wu and Y. Wu. 2010. Characterization of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac in *Plutella xylostella* from China. *Journal of*

Invertebrate Pathology 104: 90-96.

Graphic Maps. 2012. North America. Worldatlas, Galveston, Texas.

<http://www.worldatlas.com/webimage/countrys/na.htm> [Accessed May 10, 2012].

5

Höfte, H. and H.R. Whiteley. 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. Microbiological Reviews 53: 242-255.

10 Haile, F.J., L.G. Higley, J.E. Specht and S.M. Spomer. 1998. Soybean leaf morphology and defoliation tolerance. Agronomy Journal 90: 353-362.

Han, H., G. Li, Z. Wang, J. Zhang and K. He. 2009. Cross-resistance of Cry1Ac-selected Asian corn borer to other Bt toxins. Acta Phytophylacica Sinica 36: 329-334.

15

Hellmich, R.L., B.D. Siegfried, M.K. Sears, D.E. Stanley-Horn, M.J. Daniels, H.R. Mattila, T. Spencer, K.G. Bidne and L.C. Lewis. 2001. Monarch larvae sensitivity to *Bacillus thuringiensis*-purified proteins and pollen. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 98: 11925-11930.

20

Herrmann, K.M. 1995. The shikimate pathway: Early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. The Plant Cell 7: 907-919.

25 Hofmann, C., H. Vanderbruggen, H. Hofte, J. Van Rie, S. Jansens and H. Van Mellaert. 1988. Specificity of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxins is correlated with the presence of high-affinity binding sites in the brush border membrane of target insect midguts. Biochemistry 85: 7844-7848.

30 Hunt, T., K. Jarvi and R. Wright. 2010. Decision-making guide for defoliating insects in soybean. Crop Watch: Nebraska crop production and pest management information. University of Nebraska-Lincoln, Lincoln, Nebraska.
<http://cropwatch.unl.edu/web/cropwatch/archive?articleID=4235423> [Accessed July 5, 2012].

35 Ibargutxi, M.A., A. Estela, J. Ferré and P. Caballero. 2006. Use of *Bacillus thuringiensis* toxins for control of the cotton pest *Earias insulana* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae). Applied and Environmental Microbiology 72: 437-442.

- Kiang, Y.T., Y.C. Chiang and N. Kaizuma. 1992. Genetic diversity in natural populations of wild soybean in Iwate Prefecture, Japan. *Journal of Heredity* 83: 325-329.
- 5
- Kim, K.-U., T.-D. Kang, J.-H. Lee, I.-J. Lee, D.-H. Shin, Y.-H. Hwang, S.-U. Kim and H.-M. Kim. 2003. Physio-ecological characteristics of wild soybeans (*Glycine soja*) collected throughout Korea and their response to glyphosate. *Korean Journal of Weed Science* 23: 153-159.
- 10
- Klee, H.J., Y.M. Muskopf and C.S. Gasser. 1987. Cloning of an *Arabidopsis thaliana* gene encoding 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase: Sequence analysis and manipulation to obtain glyphosate-tolerant plants. *Molecular and General Genetics* 210: 437-442.
- 15
- Knight, A.L., L.A. Lacey, B.A. Stockhoff and R.L. Warner. 1998. Activity of Cry1 endotoxins of *Bacillus thuringiensis* for four tree fruit leafroller pest species (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Agricultural Entomology* 15: 93-103.
- 20
- Koti, S., K.R. Reddy, V.G. Kakani, D. Zhao and V.R. Reddy. 2004. Soybean (*Glycine max*) pollen germination characteristics, flower and pollen morphology in response to enhanced ultraviolet-B radiation. *Annals of Botany* 94: 855-864.
- Kranthi, S., K.R. Kranthi and N.V. Lavhe. 1999. Baseline toxicity of Cry1A toxins to the spotted bollworm, *Earias vittella* F. *Crop Protection* 18: 551-555.
- 25
- Krebbers, E., J. Seurinck, L. Herdies, A.R. Cashmore and M.P. Timko. 1988. Four genes in two diverged subfamilies encode the ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase small subunit polypeptides of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology* 11: 745-759.
- 30
- Kuroda, Y., A. Kaga, N. Tomooka and D. Vaughan. 2010. The origin and fate of morphological intermediates between wild and cultivated soybeans in their natural habitats in Japan. *Molecular Ecology* 19: 2346-2360.
- 35
- Kuroda, Y., A. Kaga, N. Tomooka and D.A. Vaughan. 2008. Gene flow and genetic structure of wild soybean (*Glycine soja*) in Japan. *Crop Science* 48: 1071-1079.

- Lammi, J. 2008. Online-Photoperiod Calculator. <http://www.tornio.info/sol.html>
[Accessed May 10, 2012].
- 5 Lee, C.D., D.B. Egli and J.H. Herbek. 2005. Predicting soybean first flowering date. University of Kentucky Cooperative Extension Service, Lexington, Kentucky. <http://www.uky.edu/Ag/CornSoy/Newsletters/cornsoy5-1.pdf> [Accessed July 5, 2012].
- 10 Lee, M.K., J.L. Jenkins, T.H. You, A. Curtiss, J.J. Son, M.J. Adang and D.H. Dean. 2001. Mutations at the arginine residues in $\alpha 8$ loop of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin Cry1Ac affect toxicity and binding to *Manduca sexta* and *Lymantria dispar* aminopeptidase N. FEBS Letters 497: 108-112.
- 15 Liao, C., D.G. Heckel and R. Akhurst. 2002. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins for *Helicoverpa armigera* and *Helicoverpa punctigera* (Lepidoptera: Noctuidae), major pests of cotton. Journal of Invertebrate Pathology 80: 55-63.
- 20 Lingenfelter, D.D. and N.L. Hartwig. 2003. Introduction to weeds and herbicides. Pennsylvania State University Agricultural Research and Cooperative Extension, University Park, Pennsylvania.
- 25 Lu, Q. and H. Yu. 2008. Study on the toxicity difference and mechanisms of two Bt proteins in *Agrotis ypsilon*. Dissertation for the master degree in agriculture. Northeast Agricultural University, Harbin, China.
- 30 Lusas, E.W. 2004. Soybean Processing and Utilization. Pages 949-1045 in Boerma HR, Specht JE (eds) Soybeans: Improvement, Production and Uses, ASA, CSSA and SSSA. Third Edition., Madison, Wisconsin.
- 35 Luttrell, R.G., L. Wan and K. Knighten. 1999. Variation in susceptibility of noctuid (lepidoptera) larvae attacking cotton and soybean to purified endotoxin proteins and commercial formulations of *Bacillus thuringiensis*. Journal of Economic Entomology 92: 21-32.
- MacIntosh, S.C., T.B. Stone, S.R. Sims, P.L. Hunst, J.T. Greenplate, P.G. Marrone, F.J. Perlak, D.A. Fischhoff and R.L. Fuchs. 1990. Specificity and efficacy of purified

Bacillus thuringiensis proteins against agronomically important insects. *Journal of Invertebrate Pathology* 56: 258-266.

5 Mizuguti, A., Y. Yoshimura and K. Matsuo. 2009. Flowering phenologies and natural hybridization of genetically modified and wild soybeans under field conditions. *Weed Biology and Management* 9: 93-96.

10 Moar, W.J., L. Masson, R. Brousseau and J.T. Trumble. 1990. Toxicity to *Spodoptera exigua* and *Trichoplusia ni* of individual P1 protoxins and sporulated cultures of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1 and NRD-12. *Applied and Environmental Microbiology* 56: 2480-2483.

15 Nakayama, Y. and H. Yamaguchi. 2002. Natural hybridization in wild soybean (*Glycine max* ssp. *soja*) by pollen flow from cultivated soybean (*Glycine max* ssp. *max*) in a designed population. *Weed Biology and Management* 2: 25-30.

20 OECD. 2000. Consensus document on the biology of *Glycine max* (L.) merr. (soybean). ENV/JM/MONO(2000)9. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No.15. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.

25 Oka, H.-I. 1983. Genetic control of regenerating success in semi-natural conditions observed among lines derived from a cultivated x wild soybean hybrid. *Journal of Applied Ecology* 20: 937-949.

30 Padgett, S.R., D.B. Re, G.F. Barry, D.E. Eichholtz, X. Delannay, R.L. Fuchs, G.M. Kishore and R.T. Fraley. 1996. New weed control opportunities: Development of soybeans with a Roundup Ready™ gene. Pages 53-84 in *Herbicide-Resistant Crops: Agricultural, Environmental, Economic, Regulatory, and Technical Aspects*. S.O. Duke (ed.). CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.

Palmer, R.G. 2000. Genetics of four male-sterile, female-fertile soybean mutants. *Crop Science* 40: 78-83.

35 Palmer, R.G., M.C. Albertsen and H. Heer. 1978. Pollen production in soybeans with respect to genotype, environment, and stamen position. *Euphytica* 27: 427-433.

- Pathan, M.A., J.B. Sinclair and R.D. McClary. 1989. Effects of *Cercospora kikuchii* on soybean seed germination and quality. *Plant Disease* 73: 720-723.
- 5 Perlak, F.J., R.W. Deaton, T.A. Armstrong, R.L. Fuchs, S.R. Sims, J.T. Greenplate and D.A. Fischhoff. 1990. Insect resistant cotton plants. *Bio/Technology* 8: 939-943.
- Ray, J.D., T.C. Kilen, C.A. Abel and R.L. Paris. 2003. Soybean natural cross-pollination rates under field conditions. *Environmental Biosafety Research* 2: 133-138.
- 10 Rice, M. 2002. Estimating soybean defoliation. *Integrated Crop Management IC-488(19)*. Iowa State University, Ames, Iowa.
<http://www.ipm.iastate.edu/ipm/icm/node/1873/print> [Accessed July 5, 2012].
- 15 Rogers, S.G. 2000. Promoter for transgenic plants. Patent 6,018,100, U.S. Patent Office, Washington, D.C.
- Sayyed, A.H., M.N.R. Attique, A. Khaliq and D.J. Wright. 2005. Inheritance of resistance and cross-resistance to deltamethrin in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) from Pakistan. *Pest Management Science* 61: 636-642.
- 20 Schuler, M.A., E.S. Schmitt and R.N. Beachy. 1982. Closely related families of genes code for the α and α' subunits of the soybean 7S storage protein complex. *Nucleic Acids Research* 10: 8225-8244.
- 25 Slaney, A.C., H.L. Robbins and L. English. 1992. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* toxin CryIII α : An analysis of toxicity in *Leptinotarsa decemlineata* (Say) and *Diabrotica undecimpunctata howardi* Barber. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 22: 9-18.
- 30 Srinivasan, R. 2008. Susceptibility of legume pod borer (LPB), *Maruca vitrata* to δ -endotoxins of *Bacillus thuringiensis* (Bt) in Taiwan. *Journal of Invertebrate Pathology* 97: 79-81.
- 35 Stalker, D.M., C.M. Thomas and D.R. Helinski. 1981. Nucleotide sequence of the region of the origin of replication of the broad host range plasmid RK2. *Molecular and General Genetics* 181: 8-12.

- Stewart, C.N., M.D. Halfhill and S.I. Warwick. 2003. Transgene introgression from genetically modified crops to their wild relatives. *Nature Reviews Genetics* 4: 806-817.
- 5 Sutcliffe, J.G. 1979. Complete nucleotide sequence of the *Escherichia coli* plasmid pBR322. Pages 77-90 in *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, Cold Spring Harbor, New York.
- Tabashnik, B.E., F. Huang, M.N. Ghimire, B.R. Leonard, B.D. Siegfried, M.
- 10 Rangasamy, Y. Yang, Y. Wu, L.J. Gahan, D.G. Heckel, A. Bravo and M. Soberón. 2011. Efficacy of genetically modified *Bt* toxins against insects with different genetic mechanisms of resistance. *Nature Biotechnology* 29: 1128-1131.
- Tilman, D. 1997. Mechanisms of plant competition. Pages 239-261 in *Plant Ecology*.
- 15 Second Edition. M.J. Crawley (ed.). Blackwell Science, Ltd., Oxford, England.
- Travalini, C., R.B. Silva, J.B. Schmidt and C. Omoto. 2003. Baseline susceptibility of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) to Cry1Ac protein from *Bacillus thuringiensis* in Brazil. It is unpublished
- 20 paper.
- Van Rie, J., S. Jansens, H. Höfte, D. Degheele and H. Van Mellaert. 1990. Receptors on the brush border membrane of the insect midgut as determinants of the specificity of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxins. *Applied and Environmental Microbiology*
- 25 56: 1378-1385.
- Von Tersch, M.A., H.L. Robbins, C.S. Jany and T.B. Johnson. 1991. Insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kenyae*: Gene cloning and characterization and comparison with *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* CryIA(c) toxins. *Applied and*
- 30 *Environmental Microbiology* 57: 349-358.
- Wang, C.-L., S.-W. Wu, Y.-H. Yang and Y.-D. Wu. 2006. Field-evolved resistance to Bt δ -endotoxins and Bt formulation in *Plutella xylostella* from the southeastern coast region of China. *Acta Entomologica Sinica* 49: 70-73.
- 35
- Weber, C.R. and W.D. Hanson. 1961. Natural hybridization with and without ionizing radiation in soybeans. *Crop Science* 1: 389-392.

- Welter, S.C. and J.W. Steggall. 1993. Contrasting the tolerance of wild and domesticated tomatoes to herbivory: Agroecological implications. *Ecological Applications* 3: 271-278.
- 5
- Wiebold, B. 2002. Soybean variety adaptation. United Soybean Board, University of Missouri College of Agriculture, Food, and Natural Resources, Columbia, Missouri. <http://www.plantsci.missouri.edu/soydoc/adapt.htm> [Accessed February 1, 2011].
- 10
- Willson, H.R. 1989. Soybean insect defoliation assessment. Ohio pest management and survey program. Field crops pest management circular #22. The Ohio State University, Columbus, Ohio. <http://ohioline.osu.edu/icm-fact/fc-22.html> [Accessed July 5, 2012].
- Woodworth, C.M. 1922. The extent of natural cross-pollination in soybeans. *Journal of the American Society of Agronomy* 14: 278-283.
- 15
- Xu, L., Z. Wang, J. Zhang, K. He, N. Ferry and A.M.R. Gatehouse. 2010. Cross-resistance of Cry1Ab-selected Asian corn borer to other Cry toxins. *Journal of Applied Entomology* 134: 429-438.
- 20
- Yoshimura, Y., K. Matsuo and K. Yasuda. 2006. Gene flow from GM glyphosate-tolerant to conventional soybeans under field conditions in Japan. *Environmental Biosafety Research* 5: 169-173.
- 25
- Zambryski, P., A. Depicker, K. Kruger and H.M. Goodman. 1982. Tumor induction by *Agrobacterium tumefaciens*: Analysis of the boundaries of T-DNA. *Journal of Molecular and Applied Genetics* 1: 361-370.
- Zhang, G.-F., F.-H. Wan, W.-X. Liu and H.-Y. Guo. 2006. Early instar response to plant-delivered Bt-toxin in a herbivore (*Spodoptera litura*) and a predator (*Propylaea japonica*). *Crop Protection* 25: 527-533.
- 30
- Zorrilla, G., A.D. Knapp and D.C. McGee. 1994. Severity of phomopsis seed decay, seed quality evaluation, and field performance of soybean. *Crop Science* 34: 172-177.
- 35
- 秋田県 2002 秋田県の絶滅のおそれのある野生生物 2002 秋田県版レッドデータブック 動物編 秋田県環境と文化のむら協会 秋田

- 浅野 貞夫 1995 原色図鑑/芽ばえとたね 全国農村教育協会 東京 p. 62
- 5 阿部 純・島本 義也 2001 第6章 ダイズの進化：ツルマメの果たしてきた役割. 栽培植物の自然史－野生植物と人類の共進化－ 山口 裕文・島本 義也 (編) 北海道大学図書刊行会 北海道 pp. 77-95
- 10 石川県 2009 改訂・石川県の絶滅のおそれのある野生生物 いしかわレッドデータブック〈動物編〉2009
http://www.pref.ishikawa.lg.jp/size/reddata/rdb_2009/documents/ikkatu.pdf
 [Accessed Aug 2012]
- 15 井上 寛・杉 繁朗・黒子 浩・森内 茂・川辺 湛・大和田 守・1982 日本産蛾類大図鑑 講談社
- 大橋 広好 1999 マメ科. 新装版 日本の野生植物 草本II 離弁花類 佐竹 義輔・大井 次三郎・北村 四郎・亘理 俊次・富成 忠夫(編) 平凡社 東京 p.211
- 20 加賀秋人・黒田洋輔・友岡憲彦・Duncan Vaughan・大澤良・佐治光・田部井豊 2006 (2) 遺伝子組換え植物の導入遺伝子の環境拡散リスクと植物多様性影響評価に関する研究 ⑤ダイズとツルマメの雑種後代の適応度に関する研究 遺伝子組換え生物の開放系利用による遺伝子移行と生物多様性への影響評価に関する研究 環境省. pp. 145-155.
- 25 河野雄飛・高田吉丈・湯本節三 2004 東北地域における野生大豆(ツルマメ)の収集 一岩手県内北上川および北部河川流域一 植物資源探索導入調査報告書 20 農業生物資源研究所 pp11-17.
- 30 環境省 2006 改訂・日本の絶滅のおそれのある野生生物 5 [昆虫類] 環境省 自然保護局野生生物課 (編) 自然環境研究センター 東京
- 環境省 2012 第4次レッドリスト昆虫類
http://www.env.go.jp/press/file_view.php?serial=20554&hou_id=15619 [Accessed Aug, 2012]
- 35 菊池彰夫・猿田正恭・岡部昭典 2005 吉野川流域における野生大豆(ツルマメ)の収集 植物資源探索導入調査報告書 21 農業生物資源研究所 pp 1-7.

- 岸田 泰則 2011a. 日本産蛾類標準図鑑 1 学習研究社 東京
- 岸田 泰則 2011b. 日本産蛾類標準図鑑 2 学習研究社 東京
- 5 岐阜県 2010 岐阜県の絶滅のおそれのある野生動物 (動物編)改訂版 6. 昆虫類 <http://www.pref.gifu.lg.jp/kanky/shizen/red-data-dobutsu/konchu-ru/> [Accessed Aug. 2012]
- 10 栗原 浩・蓬原雄三・津野 幸人・山田 盾 2000 第 6 章 豆類 2.ダイズ. 作物栽培の基礎 農山漁村文化協会 東京 pp. 233-246
- 駒井 古実・吉安 裕・那須 義次・斉藤 寿久 2011 日本の鱗翅類一系統と多様性 東海大学出版 東京
- 15 昆野 昭晨 1987 13. 食用作物 ダイズ. 農学大事典 第 2 次増訂改版 農学大事典編集委員会 (編) 養賢堂 東京 pp. 551-557
- 20 昆野 昭晨 1995 生育のステージと生理、生態 I 種子と発芽. 農業技術大系作物編 6 農山漁村文化協会 東京 pp. 基 29-33
- 後藤 寛治 1995 ダイズの起源と特性 III 植物としての特性. 農業技術大系作物編 6 農山漁村文化協会 東京 pp. 基 19-25
- 25 財務省. 2010. 財務省貿易統計 <http://www.customs.go.jp/toukei/suii/html/time.htm>[Accessed May, 2011]
- 猿田正恭・菊池彰夫・岡部昭典 2007 四万十川流域における野生大豆(ツルマメ)の収集 植物資源探索導入調査報告書 23 農業生物資源研究所 pp1-7.
- 30 猿田正恭・高田吉丈・岡部昭典 2009 愛媛県における野生大豆(ツルマメ)の探索・収集 植物資源探索導入調査報告書 25 農業生物資源研究所 pp13-19.
- 35 島本 義也・福士 泰史・阿部 純 1997 飼料用ダイズ (オオバツルマメ) の細胞質ゲノムの特徴 育種学雑誌 47(別 2): 159.
- 白水 隆 2006 日本産蝶類標準図鑑 学習研究社

- 須田 裕・白澤 澄江 1995 岩手県紫波郡矢巾町の花暦 –開花時期と開花期間
-. 岩手大学教育学部研究年報 第 55 巻第 1 号 165-183.
- 5 大豆油糧日報 2011 食品産業新聞社. 東京.
- 高橋 将一・羽鹿 牧太・異儀田 和典 1996 九州中部で収集したツルマメの生
育特性 九州農業研究 58 九州農業試験研究機関協議会. p51.
- 10 友岡憲彦・Muthaiyan Pandiyan・田口哲彦・根本英男・加賀秋人・伊勢村武久・
Duncan A. Vaughan 2009 北海道におけるマメ科植物遺伝資源の探索収集、
2008 年 植物資源探索導入調査報告書 25 農業生物資源研究所 pp1-11.
- 中村正直・工藤広悦・内藤幸之助, 1996. 葦毛湿原(豊橋市岩崎町)で獲られた蛾類
15 目録(葦毛第 2 湿原(指定外地)の蛾類調査 蛾類通信 189: 223-230
- 中山 祐一郎・山口 裕文 2000 トランスジェニック作物からの遺伝子の生態
系への拡散防止に関する研究 2. 大豆の祖先野生種ツルマメはどこでどのよ
うに生活しているのか 雑草研究. 別号, 講演会講演要旨 (39), 182-183,
20 2000-04-20. 日本雑草学会
- 長野県 2004 長野県版レッドデータブック～長野県の絶滅のおそれのある野
生動物～動物編 長野県自然保護研究所 長野
- 25 日本雑草学会(編) 1991 第Ⅱ編 雑草名. 改訂・雑草学用語集 日本雑草学
会 東京 p. 67
- 沼田 真・浅野 貞夫・奥田 重俊・吉沢 長人・桑原 義晴・岩瀬 徹 1975 新
版・日本原色雑草図鑑 沼田真人・吉沢長人(編) 全国農村教育協会 東京 p.
30 107
- 農林水産省 2011a 平成 21 年度食料需給表(確定値)
<http://www.maff.go.jp/j/zyukyu/fbs/pdf/fbs-fy21d.pdf> [Accessed May, 2012]
- 35 農林水産省. 2011b. 「平成 21 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について
http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/c_data/pdf/21kekka.pdf

- 農林水産省. 2011c. 「平成 22 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について
http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/c_data/pdf/22_natane.pdf
- 農林水産省 2009. 我が国の油脂事情
- 5 <http://www.library.maff.go.jp/GAZO/20036901.htm>
- 羽鹿 牧太・高橋 浩司・平賀勸 2003 房総半島におけるツルマメの探索・収集 植物資源探索導入調査報告書 19 農業生物資源研究所 pp7-15.
- 10 福田 晴夫・浜 栄一・葛谷 健・高橋 昭・高橋 真弓・田中 蕃・田中 洋・若林 守男・渡辺 康之 1982 原色日本蝶類生態図鑑Ⅰ 保育社.
- 福田 晴夫・浜 栄一・葛谷 健・高橋 昭・高橋 真弓・田中 蕃・田中 洋・若林 守男・渡辺 康之 1983 原色日本蝶類生態図鑑Ⅱ 保育社.
- 15 福田 晴夫・浜 栄一・葛谷 健・高橋 昭・高橋 真弓・田中 蕃・田中 洋・若林 守男・渡辺 康之 1984a 原色日本蝶類生態図鑑Ⅲ 保育社.
- 福田 晴夫・浜 栄一・葛谷 健・高橋 昭・高橋 真弓・田中 蕃・田中 洋・若林 守男・渡辺 康之 1984b 原色日本蝶類生態図鑑Ⅳ 保育社.
- 20 松尾 和人・川島 茂人・杜 明遠・斎藤 修・松井 正春・大津 和久・大黒 俊哉・松村 雄・三田村 強 2002 Bt 遺伝子組換えトウモロコシの花粉飛散が鱗翅目昆虫に及ぼす影響評価 農業環境技術研究所報告 第 21 号. 41-73
- 25 間野 隆裕 2009 矢作川上中流域のガ類群集 矢作川研究 13:39-60
- 御子柴 公人 1995 日本人とダイズ I. ダイズの日本史. 農業技術大系 作物編 6 農山漁村文化協会 東京 pp. 基 3-8
- 30 みんなで作る日本産蛾類図鑑 2012 <http://www.jpmoth.org/> [Accessed Aug. 2012]
- 安田耕司・榊原充隆・菊地淳志・水谷信夫・松村正哉・加賀秋人・菊池彰夫・高田吉丈・大木信彦 2012 ツルマメを寄主植物とするチョウ目昆虫 蛾類通信 263: 333-335.
- 35

- 矢野 高広 2011 高ボッチ高原のミスジコスカシバ やどりが 230, 6-7
- 山内 文男 1992 1. 大豆食品の歴史. 大豆の科学 山内 文男・大久保 一良 (編) 朝倉書店 東京 pp. 1-13
- 5 山口むしの会
<http://www.geocities.jp/yamagutimusinokai/topics/2009/090825akiyosidai/090823a.htm> [Accessed Aug., 2012]
- 10 山田哲也・羽鹿牧太・松永亮一・高橋浩司 2008 静岡県伊豆半島におけるツルマメの探索・収集 植物資源探索導入調査報告書 24 農業生物資源研究所 pp1-7
- 15 山本 光人・中臣 謙太郎・佐藤 力夫・中島 秀雄・大和田 守 1987 日本産蛾類生態図鑑 杉 繁郎 (編) 講談社 東京
- 吉松 慎一 1994 ヌマベウスキョトウの幼生期と人工飼育 蛾類通信 177:22-23
- 20 吉村泰幸 2008 遺伝子組換え植物と野生種との交雑率の評価ー圃場条件下における遺伝子組換えダイズとツルマメとの自然交雑ー. 第 23 回日本雑草学会シンポジウム講演要旨 遺伝子組換え植物の生態系影響評価と管理ーLMO の適正な利用のためにー 日本雑草学会(編) 日本雑草学会 pp. 30-33
- 25 吉村泰幸・水口亜樹・松尾和人 2006 ほ場で遺伝子組換えダイズとツルマメが交雑する可能性は低い. 独立行政法人 農業環境技術研究所 研究成果情報 第 23 集 pp.22-23

緊急措置計画書

平成24年7月13日

5

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 東京都中央区銀座四丁目10番10号

- 10 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ダイズ (改変 *cry1Ac*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON87701, OECD UI : MON-87701-2) (以下「本組換えダイズ」という。)の第一種使用等において、1. に記載した緊急措置を講ずるための実施体制の責任者は、2. に示す方法に基づき第一種使用等の状況の把握を行った結果、(1)本組換えダイズとツルマメの交雑体が確認された場合、もしくは(2)トラックの横転等により、通常の運搬により生じうると想定されるこぼれ落ちの範囲を超える
- 15 本組換えダイズの環境中への散逸が確認された場合において、3. に示す方法により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し、4. に示す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を講ずる。

20

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

実施体制及び責任者は以下に示すとおりである。

社内委員	
*	日本モンサント株式会社 代表取締役社長 東京都中央区銀座四丁目 10 番 10 号 (電話番号 03-6226-6080)
	日本モンサント株式会社 農薬規制・環境部 部長
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部 部長
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部 油糧作物担当課長
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 広報部 部長
	日本モンサント株式会社 広報部

*：管理責任者

5

2. 第一種使用等の状況の把握の方法

(1) 本組換えダイズとツルマメとの交雑体

10 第一種使用規程において定めるモニタリング計画書に基づき、輸入ダイズ（油脂用、飼料用等の加工用途を目的として輸入されるダイズであって発芽可能なもの。以下同じ。）が運搬される道路沿いにおいて調査を実施し、本組換えダイズとツルマメの交雑体の有無を確認する。

15 (2) トラックの横転等により、通常の運搬により生じうると想定されるこぼれ落ちの範囲を超える本組換えダイズの環境中への散逸

新聞報道等による情報収集及び業者等からの情報提供により、事故状況を把握する。

20 (1) 又は (2) の事案の発生を把握した場合には、直ちにその旨を農林水産省消費・安全局農産安全管理課及び環境省自然環境局野生生物課（以下「農林水産省及び環境省」という。）に報告する。

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

5 緊急措置の発生状況に応じ、農林水産省及び環境省と協議した上で、周知する者、内容及び手法を決定する。

4. 遺伝子組換え生物等を不活化するための具体的な措置の内容

10 農林水産省及び環境省と協議した上で、以下に記載する措置を講じるものとする。

(1) 2. (1)の事案が確認された場合には、直ちに確認された交雑体及び周辺に自生するツルマメを伐採し不活化する。

15 (2) 2. (2)の事案が確認された場合には、現場に落下・放置された貨物は通常、回収、保管される。すなわち、トラックの横転等により通常の運搬により生じうると想定されるこぼれ落ちの範囲を超える本組換えダイズ的环境中への散逸があった場合でも、その多くは既に回収されているものと考えられるが、当該種子が適切に回収

20 されているか、直ちに現地において確認を行う。仮に回収漏れ又は回収が行われていない場合は、回収を行う。

(3) (1)又は(2)の応急措置を講じた後、一定期間、発生地周辺におけるダイズ、本組換えダイズ及び本組換えダイズとツルマメの交雑体の有無に関する調査を実施

25 する。当該調査の手法、期間、規模等の内容は農林水産省及び環境省と協議の上、決定する。当該結果は毎年取りまとめ、農林水産省及び環境省に報告するものとし、当該内容に基づき、両省と協議の上、翌年の調査内容を決定する。

30 なお、調査結果については、開示されることにより特定の者に不当な利益又は不利益をもたらすおそれがあるものと判断される情報を除き、公開するものとする。

5. 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

35 緊急措置を執るべき状況が生じた場合には、上述のとおり、農林水産省及び環境省へ報告するとともに緊密な連絡体制を構築する必要がある。

このため、1. で規定する管理責任者は、この命に当たらせる専任の連絡員を任命し、連絡員が常に最新の情報を把握した上で、農林水産省及び環境省からの問い合わせに対応可能となるよう、社内体制を構築するものとする。

モニタリング計画書

平成24年7月13日

5 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 東京都中央区銀座四丁目10番10号

1. 実施体制及び責任者

10

実施体制及び責任者は以下に示すとおりである。

社内委員	
*	日本モンサント株式会社 代表取締役社長 東京都中央区銀座四丁目10番10号 (電話番号 03-6226-6080)
	日本モンサント株式会社 農薬規制・環境部 部長
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部 部長
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部 油糧作物担当課長
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 広報部 部長
	日本モンサント株式会社 広報部

*：管理責任者

15 2. モニタリングの対象となる野生動植物等の種類の名称及び項目

- (1) 名称 *ダイズ(Glycine max)*及び*ツルマメ(Glycine soja)*
(2) 項目 チョウ目害虫抵抗性ダイズ(改変 *cryIAc*, *Glycine max* (L.) Merr.)
(MON87701, OECD UI : MON-87701-2) (以下「本組換えダイズ」という。)
20 及び本組換えダイズとツルマメとの交雑体

3. モニタリングを実施する場所及びその場所における対象となる野生動植物等の生息又は生育状況

(1) モニタリングを実施する場所

5 以下の考え方に従い調査場所を設定する。ただし、前年の調査において、ダイズの生育が確認された調査場所及びツルマメの大規模な群落が確認された場所については、優先的に調査場所として設定するものとする。

10 ① 輸入ダイズ（油脂用、飼料用等の加工用途を目的として輸入されるダイズであって発芽可能なもの。以下同じ。）が運搬される港湾から加工場への主要な道路のうち、以下の基準に従い、こぼれ落ちによる輸入ダイズの環境中への散逸の可能性が特に高いと考えられる道路を少なくとも3ルート選定する。

15 【選定基準】

ア 文献及び5の(2)のダイズの輸入・流通に関するヒアリング結果等により、輸入ダイズの環境中への散逸が大きいと考えられる道路。

20 イ 港湾における輸入ダイズの取扱量の大きさと港湾から加工場までの距離から、輸入ダイズの環境中への散逸が大きいと考えられる道路。

25 ② 選定した調査対象道路を車や徒歩等によって回り、以下の基準に従い、港湾から加工場に向かう車線の道路端から幅10mで、かつ、車道2.5kmごとに長さの総計が100mを上回るよう調査場所を設定する³⁴。

【選定基準】

30 ア ダイズ及びツルマメの生育適地であるものと考えられる河川敷と草本の生育している空き地、及びダイズがこぼれ落ちやすいと考えられる道路の湾曲部。ただし、これらの場所が私有地、中央分離帯等のため調査が困難と認められる場合には対象外とする。

³⁴道路脇に歩道が設置されている場合、トラックからこぼれ落ちたダイズがアスファルト上を転がったり、跳ねたりすることが想定されるが、その外側の土の部分や草本などが生育しているところでは跳ねる事が想定されないため、歩道幅を考慮し、道路端から10mまでを調査することとした。

本組換えダイズの生物多様性影響評価において行った特定の原料発港から飼料工場までの道路周辺におけるダイズ陸揚地点からの半径10km内の解析において、輸送経路沿いの面積のうち、ダイズ及びツルマメの生育適地である河川敷の面積割合は0.4%であった。さらに、河川敷に次いで生育の可能性が高いと考えられる空き地、駐車場、耕作放棄地等(草有り)の土地の面積を加えた場合でもその割合は約3.5%であった。そこで、道路の長さ2.5kmごとに100m(4%)を調査することとした。

③ ②の調査場所に加え、加工場周辺について、その立地等を勘案し、可能な範囲で調査場所を選定する。

(2) 対象となる野生動植物等の生息又は生育状況

5 以下の手順により、(1)の調査場所内における本組換えダイズ、本組換えダイズとツルマメの交雑体及びツルマメの生息又は生育状況の確認を行う。

10 ① ダイズの生育状況を調査する。なお、この際に、調査場所の立地等を勘案し、必要に応じ、ツルマメの大規模な群落について調査を行う。

② ダイズの生育が認められた場合、別紙に定める方法により、当該ダイズが本組換えダイズであるか否かを確認する。

15 ③ 当該ダイズが本組換えダイズであることが確認された場合には、確認場所から半径 10m 以内³⁵のツルマメの生息又は生育状況を調査する。

④ ツルマメの生育が認められる場合には、別紙に定める方法により本組換えダイズとの交雑体であるか否かを確認する。

20 ただし、モニタリング開始初年度から継続して調査を実施している調査場所で、初めて本組換えダイズの生育が確認された場合には、本組換えダイズとの交雑体であるか否かの確認は行わない。そして翌年、同じ調査場所を調査し、ツルマメの生育が確認された場合には、ダイズの生育状況の如何を問わず、別紙に定める方法により確認したツルマメが本組換えダイズとの交雑体であるか否かを確認する³⁶。

4. モニタリングの期間

30 モニタリングの実施期間は、本組換えダイズが日本に輸入される期間及び輸入停止後の一定期間とする。

5. 実施時期、頻度その他のモニタリングの方法

35 (1) 実施時期及び頻度

³⁵第1種使用規程承認組換え作物栽培実験指針(平成16年2月24日付け15農会第1421号)における、ダイズの同種栽培作物等との隔離すべき距離に基づき設定した。

³⁶ダイズとツルマメが交雑した場合、結実した種子が発芽するのは交雑が発生した年の翌年となる。モニタリング開始初年度から継続して調査を実施している調査場所では、本組換えダイズの生育が初めて確認された年の翌年に交雑体が発生する可能性があるが、その年に交雑体が生じることはない。

ツルマメ及びダイズの開花時期を勘案し、3.(1)で設定した場所において年1回調査を実施するものとする。

(2) その他

年1回、穀物卸業者、食品製造業等の関連団体からヒアリングを行い、以下に掲げる、ダイズの輸入・流通に関する情報を収集するものとする。

- ① 輸入港毎のダイズ種子の輸入数量に関する情報
- ② 輸入ダイズ種子が、港湾からトラックで輸送され、使用される可能性のある加工場の名称、場所、及び各加工場でのダイズ種子の使用数量
- ③ 上記②の輸送に関し、輸入ダイズ種子をトラックに積みこむ港湾の場所
- ④ 上記②の輸送に関し、その輸送形態

6. モニタリング結果の解析の方法

ダイズの生育状況、本組換えダイズの確認個体数・場所、ツルマメの生育状況、ダイズの輸入・流通等の情報を、承認時及びモニタリングを開始した以降の情報と比較し、傾向を分析する。

7. 農林水産大臣及び環境大臣への結果の報告の方法

モニタリング調査を実施した翌年1月末までに、別表の様式に従い、農林水産省消費・安全局農産安全管理課及び環境省自然環境局野生生物課（以下「農林水産省及び環境省」という。）に対し報告を行う。

8. その他必要な事項

(1) モニタリング実施要領の作成

モニタリングの実施に当たっては、具体的な調査場所、時期、手順等をまとめたモニタリング実施要領を農林水産省及び環境省と協議の上、作成するものとする。

(2) モニタリング計画書の見直し

本組換えダイズの生育状況や輸入状況等のヒアリングにより得られる状況の変化を踏まえ、必要に応じ、農林水産省及び環境省と協議の上、本計画書を見直すものとする。

(3) モニタリングの結果の公表

モニタリングの結果は、開示されることにより特定の者に不当な利益又は不利益をもたらすおそれがあるものと判断される情報を除き、公開するものとする。

試料の採取及び検査方法

5

1. 試料の採取方法

調査場所ごとに、ダイズ及びツルマメの個体数を記録する。ダイズについては生育を確認した全個体を採取し、生育を確認した本組換えダイズの周囲（半径 10 m 内）に生育するツルマメについては、1 地点（※）あたり 10 個体を上限として採取する。

10

採取にあたっては、他の個体とのコンタミネーションを避けるよう、必要な対応をとることとする。

※ 1 地点とは、本組換えダイズ 1 個体の生育地点を中心とした半径 10m 内とする。

15

2. 試料の検査方法

採取したダイズ及びツルマメについては、形態的特徴により植物種名を確定する。

20

本組換えダイズ又は本組換えダイズとツルマメとの交雑体か否かについては、分析キットにより改変 Cry1Ac 蛋白質の有無を検査し、判定を行う。分析キットは、免疫クロマトグラフ法により改変 Cry1Ac 蛋白質の有無を分析するものであって、その精度が確認されているものとする。

25

モニタリング結果報告書

年 月 日

5

農林水産省消費・安全局農産安全管理課長
環境省自然環境局野生生物課長

10

氏名(名称)
住所

チョウ目害虫抵抗性ダイズ(改変 *cry1Ac*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON87701, OECD UI : MON-87701-2) (以下「本組換えダイズ」という。)の第一種使用規程に基づくモニタリングの結果を以下に報告します。

15

項 目	内 容
1. 実施体制	
2. 調査時期	
3. 実施場所	
4. 調査方法	
5. 調査結果 (1) ダイズの生育個体数及び生育場所 (2)本組換えダイズの生育個体数及び生育場所 (3)ツルマメの生育場所及び生育規模 (ツルマメの採種個体数) (4)本組換えダイズとの交雑体の個体数及び生育場所 (5)ダイズの輸入・流通に関する情報 (6)モニタリング結果の解析結果	
6. その他	

備考

- ・ 位置情報等、関連資料を添付する。
- ・ 記載項目が多数ある場合には、別紙を用いて整理する。

チョウ目害虫抵抗性ダイズ(改変 *cry1Ac*, *Glycine max* (L.) Merr.)
(MON87701, OECD UI : MON-87701-2)の別添資料リスト

- 5 別添資料 1 わが国に輸入されたダイズ種子の量及びその使用形態に関する情報及びわが国に輸入されたダイズが、内陸に輸送中にこぼれ落ち、ツルマメと隣接して開花まで生育する確率の試算 (社外秘)
- 10 別添資料 2 Field survey of *Glycine soja* populations in Japan during 2011 (Ibaraki) (MJL-11-03-87701) (社外秘)
- 別添資料 3 Field survey of *Glycine soja* populations in Japan during 2011 (Saga) (MJL-11-04-87701) (社外秘)
- 15 別添資料 4 Evaluation of Defoliation Effects on *Glycine soja* Pod and Seed Production (RAR-2011-0266) (社外秘)
- 別添資料 5 本組換えダイズの作出に用いられた改変 *cry1Ac* 遺伝子から推定した改変 *Cry1Ac* 蛋白質のアミノ酸配列 (社外秘)
- 20 別添資料 6-1 Trait Efficacy (Bt field efficacy) (社外秘)
- 別添資料 6-2 Efficacy of Soybean Lines Expressing TIC107 and Cry2Ab2-U.S. 2002 Field and Screenhouse trials. (MSL-18350) (社外秘)
- 25 別添資料 6-3 *Bt* soybean Screenhouse and Field Efficacy Trials--Argentina 2002-2003. (MSL-18808) (社外秘)
- 別添資料 6-4 *Bt* Soybean Screenhouse and Field Efficacy Trials-U.S. 2003. (MSL-19120) (社外秘)
- 30 別添資料 7 *Cry1Ac* Insecticidal Activity Spectrum (社外秘)
- 別添資料 8 Summary of PCR Analysis to Confirm the Absence of *Agrobacterium* Used to Produce Insect-Protected MON 87701 soybean (社外秘)
- 35

- 別添資料 9 Heritability and Stability of Genes Present in Insect-Protected Soybean MON 87701 across Multiple Generations (社外秘)
- 5 別添資料 10 Amended Report for MSL0022176: Molecular Analysis of Insect-Protected Soybean MON 87701 (MSL0022327) (社外秘)
- 10 別添資料 11 Western Blot Analysis of Cry1Ac Protein in MON 87701 Soybean Leaf across Multiple Generations in Support of a Japan Stage III Application (MSL0021419) (社外秘)
- 別添資料 12 Amended Report for MSL0021531: Assessment of the Cry1Ac Protein Levels in Soybean Tissues Collected from MON 87701 Produced in U.S. Field Trials During 2007 (MSL0022409) (社外秘)
- 15 別添資料 13 Soybean MON87701 EndPoint TaqMan PCR for Single Seed (BQ-QC-10725-01) (社外秘)
- 20 別添資料 14 チョウ目害虫抵抗性ダイズ(改変 *cry1Ac*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON87701, OECD UI: MON87701-2) の隔離ほ場における生物多様性影響評価試験結果報告書 (社外秘)
- 別添資料 15 An Assessment of the Effect of Cold Stress on Insect-Protected Soybean MON87701 under Growth Chamber Conditions(MSL0021174) (社外秘)
- 25 別添資料 16 Viability and Morphology Evaluation of Pollen from Insect-Protected Soybean MON87701 Produced in a U.S. Field Trial During 2007 (MSL0021055) (社外秘)
- 30 別添資料 17 環境省レッドリスト掲載のチョウ目昆虫に関する生息地及び食草 (社外秘)
- 別添資料 18 Insecticidal Activity of Purified δ -Endotoxins from *Bacillus thuringiensis* Against *Colias lesbia* (Fab.) (Lepidoptera: Pieridae) and *Spilosoma virginica* (Fab.) (Lepidoptera: Arctiidae) (MSL18020) (社外秘)
- 35

別添資料 19 Independent and combined activity of Cry1Ac and in Cry2Ab2 *in vitro* and plant tissue studies (MSL16204) (社外秘)

5 別添資料 20 輸送中にこぼれ落ち、発芽・生育したダイズ個体とツルマメが隣接して生育する可能性の考察 (社外秘)