

チョウ目害虫抵抗性ワタ (*cry1Ac, Gossypium hirsutum* L.) (OECD UI :  
MON-00757-7) 申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書..... 1

生物多様性影響評価書の概要

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況..... 2

(2) 使用等の歴史及び現状..... 2

(3) 生理学的及び生態学的特性..... 3

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

(1) 供与核酸に関する情報..... 5

(2) ベクターに関する情報..... 8

(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法..... 8

(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性..... 10

(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..... 11

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違..... 11

3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

(1) 使用等の内容..... 14

(2) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置..... 14

(3) 国外における使用等に関する情報..... 14

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

1 競合における優位性..... 15

2 有害物質の産生性..... 16

3 交雑性..... 17

4 その他の性質..... 17

第三 生物多様性影響の総合的評価..... 18

緊急措置計画書..... 19

第一種使用規程承認申請書

平成 16 年 8 月 18 日

農林水産大臣 亀井善之殿  
環境大臣 小池百合子殿

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

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

遺伝子組換え生物等の種類の名称	チョウ目害虫抵抗性ワタ ( <i>cry1Ac</i> , <i>Gossypium hirsutum</i> L.) (757, OECD UI: MON-ØØ757-7)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	食用又は飼料用に供するための使用、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	

## 生物多様性影響評価書の概要

### 第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

#### 1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

##### (1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

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

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

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

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

##### (2) 使用等の歴史及び現状

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

ロ ワタ属は41種から成るが、このうち栽培種は、旧大陸の「アジア綿」と総称される2倍体種(n=13)の*G. herbaceum*と*G. arboreum*及び、新大陸の「陸地綿」と呼ばれる4倍体種(n=26)の*G. hirsutum*と*G. barbadense*である。現在、「アジア綿」は、インド、アフリカ及びアジアの限定された地域で栽培されているのみで、世界で生産されるワタの約98%は2つの「陸地綿」で、その90%は*G. hirsutum*種となっている。

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

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

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

### (3) 生理学的及び生態学的特性

#### イ 基本的特性

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

#### ロ 生息又は生育可能な環境の条件

ワタの生育は平均気温 25 を最適とし、20~28 に適する。降雨量は年 1,000~1,500mm が適しており、生育期には相当の降雨を必要とする。しかし開花期以降の多雨は落花・落さくを増加させる。また少雨では繰綿歩合が低下する。北米のワタ作地帯は北緯 37~39 ° であり、北半球では一般に北緯 43 ° が北限で、ヨーロッパでは 42 °、中央アジアでは 44.3 ° まで分布している。日本では奥羽南端(37.5 °)までとされる。土壌は排水良好な砂質壤土に適し、アルカリ土壌に強く酸性を嫌う。また相当塩濃度の高い干拓地にも生育する。

## 八 繁殖又は増殖の様式

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

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

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

ワタの花粉重は比較的軽く、粘着性があるため風媒により交雑することは考えにくい。花粉はマルハナバチ(*Bombus* sp.)やミツバチ(*Apis mellifera*)によって媒介されることがある。しかし、虫媒により花粉が飛散する範囲は限られており、花粉に蛍光粒子を付着させて周辺の花への花粉の飛散を追跡した報告によると、意図的にハチの巣箱を回りに配置したワタ畑から約45m～60m離れた花畑でワタの花粉が付着していた花は1.6%程度であった。また、ワタ畑から1m離れた場合の交雑率は0.4%以下であり、16m離れると0.3%以下まで減少していたことが報告されている。更に遺伝子組換えワタのマーカー遺伝子を用いた交雑試験の結果によると、30×136mのワタ畑から1m離れた場所での交雑率は5%であったのに対して、7m離れた地点では1%以下に減少していた。しかし1%以下の交雑率はワタ畑から最も離れた25mの地点でも散発的に認められた。ワタの花粉の発芽能力は実験室の条件下では約8時間後には98%保たれているが、24時間後には30%、32時間後には1%まで低下する。更にワタの花粉の発芽能力は温度条件にも左右され易く、32 から 40 の間では、ほぼ全ての花粉が発芽していたが、42 以上になると花粉発芽は観察されなかった。

## 二 有害物質の生産性

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

## ホ その他の情報

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

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

## 2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

### (1) 供与核酸に関する情報

#### イ 構成及び構成要素の由来

チョウ目害虫抵抗性ワタ(*cry1Ac*、*Gossypium hirsutum* L.)(757, OECD UI: MON-00757-7) (以下本組換えワタとする)の作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来は表 1 に示した通りである。尚、本組換えワタ中で発現する *Cry1Ac* 蛋白質は、植物中での発現量を高めるために、野生型の *Cry1Ac* 蛋白質のアミノ酸配列を改変しており、アミノ酸配列の相同性は 99.4% である。本組換えワタ中で発現する *Cry1Ac* 蛋白質は、以下「改変 *Cry1Ac* 蛋白質」とする。

#### ロ 構成要素の機能

本組換えワタの作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能は p6~7 の表 1 に示した通りである。

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

改変 *Cry1Ac* 蛋白質を含めた *B.t.* 菌の産生する *B.t.* 蛋白質は、標的昆虫の中腸上皮の特異的受容体と結合して陽イオン選択的小孔を形成し、その結果、消化プロセスを阻害して殺虫活性を示す。また、本組換えワタ中に産生される、改変 *Cry1Ac* 蛋白質の活性部分であるコア蛋白質は、市販されている微生物農薬である Bt 製剤中の *Cry1Ac* 蛋白質のコア蛋白質と同一であり、*Cry1Ac* 蛋白質を含む Bt 製剤は、米国、ヨーロッパ及び日本で各種作物や樹木のチョウ目害虫防除に安全に使用されている。

改変 *Cry1Ac* 蛋白質が発現することにより本組換えワタは、ワタ栽培における主要チョウ目害虫である Tobacco budworm、Pink bollworm 及び Cotton bollworm などに対する抵抗性が付与されている。これまでワタ栽培には、チョウ目害虫の発生を抑える為に大量の殺虫剤が必要とされ、世界中で使用されている殺虫剤の約 25% がワタの栽培時に用いられてきたが、本組換えワタを導入することにより、これらの化学農薬の使用量が大幅

に削減されたという調査結果が米国、オーストラリア、中国などの栽培国で報告されている。

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

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

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

表 1 プラスミドベクターPV-GHBK04 の各構成要素

構成要素	由来及び機能
<p>改変 <i>cry1Ac</i> 遺伝子発現カセット</p>	
E35S	2重エンハンサーを持つ、カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)由来のプロモーター。目的遺伝子を恒常的に発現させる。
改変 <i>cry1Ac</i>	Tobacco budworm ( <i>Heliothis virescens</i> )、Pink bollworm( <i>Pectinophora gossypiella</i> )及びCotton bollworm 別名Corn earworm ( <i>Helioverpa zea</i> )などのワタの主要害虫を中心としたチョウ目昆虫に対して殺虫活性を示す改変Cry1Ac蛋白質をコードする遺伝子。 <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> の産生する野生型Cry1Ac蛋白質と99.4%のアミノ酸配列同一性を持つ蛋白質をコードする。
7S 3'	ダイズの -conglycinin遺伝子の3'非翻訳領域であり、mRNAのポリアデニル化シグナルを含む。目的遺伝子の転写を終結させる機能を持つ。
<p><i>nptII</i>遺伝子発現カセット</p>	
35S	カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)由来の35Sプロモーター領域。目的遺伝子を恒常的に発現させる。
<i>nptII</i>	<i>E. coli</i> のトランスポゾンTn5に由来する遺伝子(Beck <i>et al.</i> ,1982)。ネオマイシンホストランスフェラーゼIIをコードし、植物にカナマイシン耐性を付与する。遺伝子導入の際、組換え体植物を選抜するためのマーカーとして用いられる。
NOS3'	ノパリン合成酵素遺伝子の3'非翻訳領域であり、目的遺伝子の転写を終結させる機能を持つ。
<p>その他の構成要素</p>	
右境界配列(RB)	TiプラスミドpTiT37に由来する、ノパリン型T-DNAの右境界配列 (24bp)を含むDNA断片。右境界配列は、 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> から植物ゲノムへのT-DNAの伝達の際、伝達の開始点として利用される。
<i>Aad</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> 由来の3''(9)-O-アミノグリコシドアダニリルトランスフェラーゼ(AAD)をコードする遺伝子であり、スペクチノマイシン、及びストレプトマイシン耐性を付与する。
<i>oriV</i>	広宿主域プラスミドRK2に由来する複製開始領域であり、 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> ABI株においてベクターに自律増殖能を付与する。
<i>ori322/rop</i>	<i>E. coli</i> プラスミドpBR322に由来する複製開始領域であり、ベクターに <i>E. coli</i> における自律増殖能を付与する。この領域は複製開始点の他に、複製開始の制御に関わる <i>rop</i> 領域及び <i>E. coli</i> から <i>Agrobacterium tumefaciens</i> への接合伝達に必要な <i>oriT</i> 配列を含む。



## (2) ベクターに関する情報

### イ 名称及び由来

本組換えワタの作出に用いられたベクターは、大腸菌(*Escherichia coli*)由来のプラスミド pBR322 などをもとに構築された。

### ロ 特性

本ベクターは、大腸菌での複製を可能にする複製開始点領域である *ori-322*、アグロバクテリウムでの複製を可能にする複製開始点領域である *oriV* から構成される。

本組換えワタの作出に用いられたプラスミドベクターPV-GHBK04 の全塩基数は、11,407bp である。

本プラスミドベクターの感染性は知られていない。

## (3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

### イ 宿主内に移入された核酸全体の構成

ベクター内での供与核酸の構成要素の位置及び方向並びに制限酵素による切断部位に関しては図 1 に記載した。

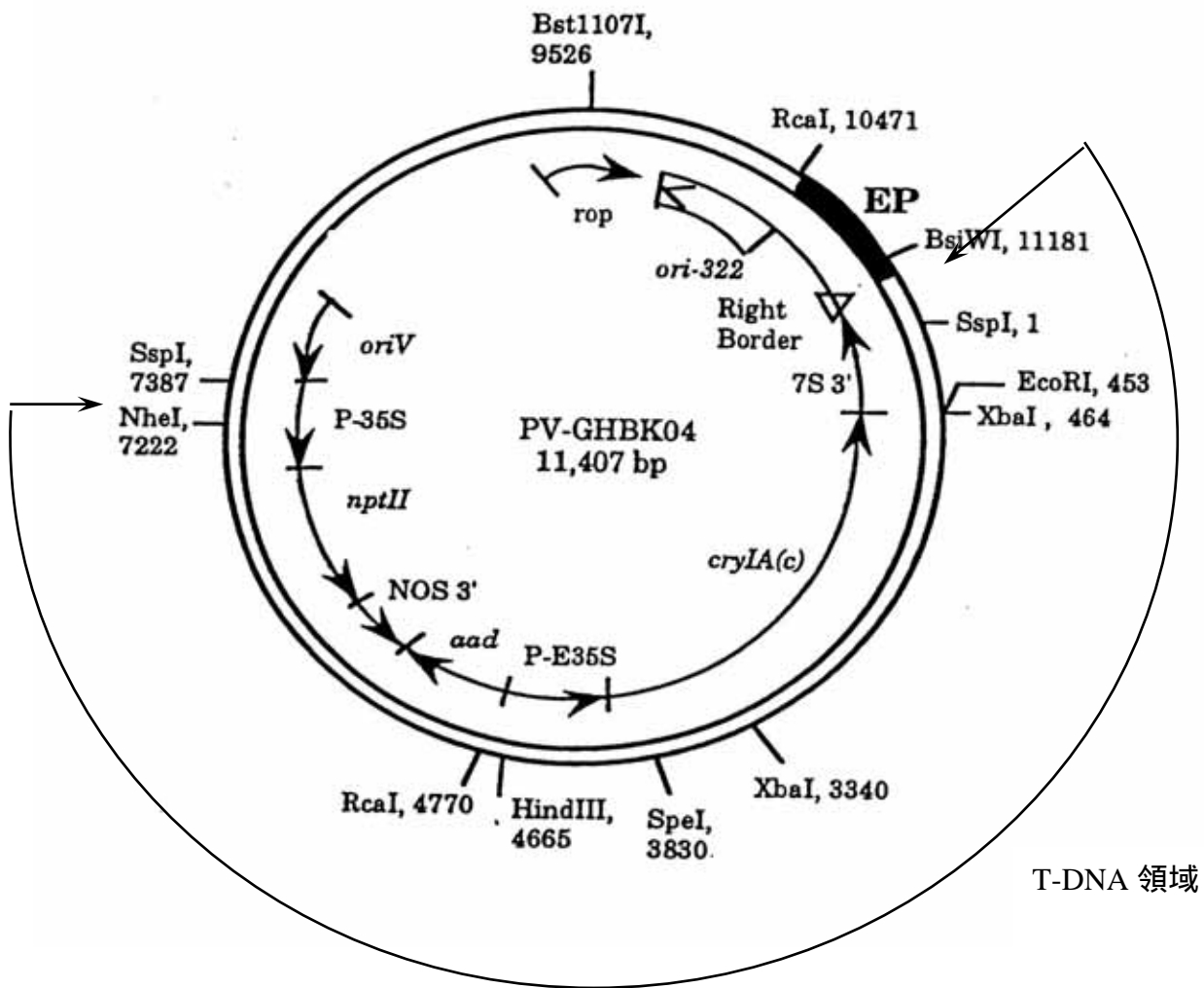


図 1 PV-GHBK04 のプラスミドマップ

#### ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

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

#### ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

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

形質転換体からアグロバクテリウムを除くため、形質転換体をカルベニシリンとパロモマイシンを含む培地で培養した後、これらの抗生物質を含まない再生培地に移した後、これらの抗生物質を含まない再生培地に移して培養した。

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

諸外国における認可状況は以下の通りである。

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

我が国における認可状況は以下の通りである。

- 1999年12月 農林水産省より「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、日本への輸入(加工用及び飼料用としての利用)認可を受けた。
- 1997年5月 厚生労働省(当時厚生省)より「組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価指針第4章」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。
- 1997年6月 農林水産省より「組換え体利用飼料の安全性評価指針6の(2)」に基づき、飼料利用としての安全性認可を受けた。
- 2001年3月 厚生労働省より「組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。
- 2003年3月 農林水産省より「組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続き」に基づき、飼料利用としての安全性確認を受けた。

#### (4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

ゲノムウォーキング法、サザンブロット分析、PCR法、シーケンシングにより、挿入遺伝子の解析を行った。その結果、本組換えワタにおける挿入遺伝子がゲノム中の1ヶ所に組

み込まれており、2つの挿入遺伝子が存在することが明らかになった。第1挿入遺伝子は、改変 *cryIAc* 遺伝子発現カセット、*aad* 遺伝子発現カセット、*nptII* 遺伝子発現カセット、*oriV*、*ori322* からなる。第2挿入遺伝子は、7S 3'転写ターミネーターに結合した *cryIAc* 遺伝子の3'末端断片および上流が欠損している *e35S* プロモーターに結合した *cryIAc* 遺伝子の5'末端断片からなる。この *e35S* プロモーターに結合した改変 *cryIAc* 遺伝子の5'末端断片から mRNA が転写されていることが確認された。そこで全長改変 *CryIAc* 蛋白質を用いて作成したポリクローナル抗体を用いてウエスタンブロット分析を行ったところ、この mRNA から翻訳される蛋白質は検出されなかった。

この挿入遺伝子は、安定して後代に遺伝していることが、R2、R4 世代のサザンブロット分析により確認された。

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

#### (5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

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

#### (6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

イ 改変 *cryIAc* 遺伝子によってコードされる改変 *CryIAc* 蛋白質が、本組換えワタ中で発現していることが、葉、種子、若葉そして全植物体をサンプルとして用いた米国における ELISA 分析によって確認されている。

ロ 本組換えワタの R4 世代並びに組換え母本である Coker312 を対照品種として 1998 年 5 月～1998 年 9 月まで九州農業試験場において隔離ほ場試験を行った。

しかし、本組換えワタにおいて 2 葉期から 4 葉期の初期生育時に主幹の伸長が停止し、側枝が伸長する側枝型株が観察された。その後 1998 年 10 月から 1999 年 2 月にかけて米国で行われた温室における追加試験において、側枝型株の発生率調査を行ったが、本組換えワタの R3 世代(1998 年の隔離ほ場試験に用いた種子の生産に使用した種子由来の植物体)及び R4 世代(1998 年の隔離ほ場試験に用いた種子の生産に使用した種子由来の植物体)において、それぞれ 33%、41%の割合で側枝型株が発生したが、本組換えワタ正常株由来 R5 世代及び本組換えワタ側枝型株由来 R5 世代での側枝型株の発生率はそれぞれ 3%、0%であり、本組換えワタの商業品種及び非組換え体では側枝型株は観察されなかった。また、この追加試験に供試した世代はいずれも *cryIAc* 遺伝子を有していることがサザンブロット分析により確認されている。以上のことから、側枝型株の発生は挿入遺伝子とは関連がないと考えられた。

#### 形態及び生育の特性

第一の 2-(6)-ロでも述べたように、本組換えワタ R4 において初期生育時に主幹の伸長が停止し、側枝が伸長する側枝型株が観察されたが、本組換えワタ R4 の形態及び生育

の特性の評価は生育の正常な株の観察結果を非組換えワタのそれと比較して行った。

19項目(発芽揃い、発芽率、草型、稈長、開花期、花色、葉形、有効花蕾数、結果枝数、開じょ期、繊維の色(綿毛の色)、さく(ワタの果実)の形状、1株当りのさく数、さくの室数、さく当りの種子数、種子の色、収穫期、1さくの重量、収穫期の地上部・地下部の重量)について本組換えワタ R4 及び対照の非組換えワタ間の形態特性及び生育の差異を調査した。

その中で、草型、幹長、有効花蕾数、結果枝数、繊維の色(綿毛の色)、さく(ワタの果実)の形状、1株当りのさく数、さくの室数、さく当りの種子数、種子の色、1さくの乾燥重量、及び収穫期の地上部・地下部の重量については、各プロットの各列から5個体を選び、それぞれ調査した。ただし、さくに関する調査は1個体当たり2さくについて行った。また、発芽揃い、発芽率、開花期、開じょ期、収穫期については、全個体を調査の対象とした。

その結果、有効花蕾数及び1株あたりのさく数において本組換えワタ R4 と対照の非組換えワタとの間で統計学的有意差が認められ、本組換えワタ R4 の有効花蕾数の平均は24.5個、対照の非組換えワタの平均は14.1個であった。また、1株あたりのさく数についても同様に統計学的有意差が認められ、本組換えワタ R4 と対照の非組換えワタの平均値はそれぞれ、12.5個と9.1個であった。その他の全ての項目に関しては統計学的有意差は認められなかった。

これらの有意差が認められた理由としては、本組換えワタ R4 では挿入遺伝子の発現によってワタノメイガとオオタバコガによる食害を受けなかったのに対し、非組換えワタはワタノメイガとオオタバコガによる食害を受け、有効花蕾数及び1株当たりさく数が減少したためであると考えられた。

尚、これら有効花蕾数及びさく数については、1993年に米国の7ヶ所のほ場で行われた野外試験において観察を行っているが、いずれのほ場においても、本組換えワタと対照の非組換えワタとの間で違いは認められなかった。

#### 生育初期における低温又は高温耐性

本組換えワタと対照の非組換えワタの幼苗の低温耐性(気温 10 )を評価したが、いずれも低温処理開始後 18 日目にはほぼ完全に枯死し、本組換えワタと対照の非組換えワタの間で低温耐性に差異は認められなかった。

尚、本組換えワタ側枝型株に関して、本組換えワタ側枝型株由来の幼苗の低温耐性(気温 10 )も同時に評価している。その結果、本組換えワタ側枝型株由来の幼苗と本組換えワタ正常株由来の幼苗、非組換えワタの幼苗とも低温処理開始後 18 日目にはほぼ完全に枯死し、低温耐性に差異は認められなかった。

#### 成体の越冬性又は越夏性

ワタは基本的に多年生植物であるが、これは熱帯地方で生育した場合のみであり、日

本及び世界のワタの栽培地帯では、結実後、冬季には通常自然に枯死する。実際に本組換えワタの隔離ほ場試験終了時には、部分的に枯死が始まっていることを確認している。以上のことから、成体の越冬性試験は行わなかった。

#### 花粉の稔性及びサイズ

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

#### 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

種子の生産量については、の形態及び生育の特性で示したように、1株当りのさく数、さくの室数、さく当りの種子数について本組換えワタと対照の非組換えワタとの差異を調査している。その結果、1株あたりのさく数について、対照の非組換えワタとの間で統計学的有意差が認められたが( $P < 0.05$ )、それ以外の項目については、差異は認められなかった。統計学的有意差の認められた1株あたりのさく数は、本組換えワタで12.5個、対照の非組換えワタで9.1個であった。

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

尚、さく数については、1993年に米国の7ヶ所のほ場で行われた野外試験で観察を行っているが、本組換えワタと対照の非組換えワタとの間で違いは認められなかった。

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

ワタの種子休眠性は極めて浅いことが知られている。発芽最適温度である25℃での発芽率を調査した結果、本組換えワタは非組換えワタと同様に高い発芽率が観察されていることから、休眠性は極めて浅いと考えられた。また、その種子の自然条件下での寿命は短く、土壌温度が15~16℃に達する前に播種されると土壌中でほとんど腐敗することが知られている。以上のことから休眠性に関する試験は行わなかった。

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

尚、本組換えワタ側枝型株に関して、本組換えワタ正常株由来種子、本組換えワタ側枝型株由来種子、対照の非組換え体の種子を用いた発芽率の調査も行っているが、これらの間で統計学的有意差は認められなかった。

## 交雑率

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

## 有害物質の産生性

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

本組換えワタ側枝型株に関して、後作試験及び土壌微生物相試験において本組換えワタ正常株由来種子、本組換えワタ側枝株由来種子、対照の非組換え体の種子を用いた評価を行っているが、これらの間で統計学的有意差は認められていない。

## 3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

### (1) 使用等の内容

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

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

申請書に添付した緊急措置計画書を参照。

### (3) 国外における使用等に関する情報

本組換えワタは、1993年から1994年までの2年間、米国の80箇所のほ場において試験を行い、雑草性に関する特性、形態・生育に関する特性、収量に関わる特性、病害虫感受性、自生性(volunteers)の観察により評価したが、対照の非組換えワタとの間で生物多様性に影響を及ぼすような差異は認められなかった。

## 第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

### 1 競合における優位性

#### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

競合における優位性に関わる諸形質について、第一、2-(6)の 形態及び生育の特性、 生育初期における低温耐性、 種子の生産量、休眠性及び発芽率に記載したように比較検討した結果、有効花蕾数および1株あたりのさく数を除く全ての項目で本組換えワタ及び対照の非組換えワタとの間で差異は認められなかった。有効花蕾数および1株あたりのさく数において本組換えワタ R4 と対照の非組換えワタとの間で統計学的有意差が認められたが、本組換えワタ R4 では挿入遺伝子の発現によってワタノメイガとオオタバコガによる食害を受けなかったのに対し、非組換えワタはワタノメイガとオオタバコガによる食害を受けたためであると考えられ、またその他の競合における優位性に関わる諸形質で非組換えワタとの間で差異は認められなかったこと、さらに米国における野外試験ではこれらの項目で違いは認められなかったことから、この差が競合における優位性に影響を及ぼすものではないと考えられた。

本組換えワタはチョウ目害虫抵抗性を有しているため、同種間では競合における優位性がある程度高まることが予想される。しかし、人の手助けがないと繁殖できない栽培作物であるワタが、本形質が付与されたことによって自生化し、自己繁殖し、優占化する野生植物になるほど競合における優位性を持つとは考えにくい。

本組換えワタは過去に海外で栽培されたため、当然我が国にもその種子が飼料用或いは搾油用として輸入されて来ていると考えられる。しかし、現在までに本組換えワタを含んでいると考えられる種子が、輸送中にこぼれ落ちて、我が国の自然条件下で生育し自生化したという報告はされていない。

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

#### (2) 影響の具体的内容の評価

#### (3) 影響の生じやすさの評価

#### (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

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



## 2 有害物質の産生性

### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

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

本組換えワタは過去に海外で栽培されたことがあるため、我が国に輸入される飼料用或いは搾油用のワタに極少量混入する可能性を否定できない。しかし、現在までに本組換えワタを含んでいると考えられる種子が、輸送中に我が国の自然条件下でこぼれ落ちて生育或いは自生化したという報告はされていない。また、第一、2-(6)の形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、種子の生産量、休眠性及び発芽率に記載したように、本組換えワタの幼苗の越冬性、発芽率は、対照の非組換えワタと比較して大きな相違はないことから、本組換えワタは従来の非組換えワタと同様に我が国の自然条件下で生育し自生化する可能性は極めて低いと考えられた。

本組換えワタ側枝型株に関しては、後作試験及び土壌微生物相試験において、本組換えワタ正常株由来種子、本組換えワタ側枝型株由来種子、対照の非組換え体の種子を用いた評価を行っているが、これらの間で統計学的有意差は認められなかった。

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

### (2) 影響の具体的内容の評価

### (3) 影響の生じやすさの評価

### (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

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

## 3 交雑性

### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

我が国では本組換えワタが属する4倍体栽培ワタ *Gossypium hirsutum* と交雑が可能な

*Gossypium* に属する近縁野生種は自生していない。よって、交雑性に起因する生物多様性影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

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

4 その他の性質

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

### 第三 生物多様性影響の総合的評価

本組換えワタは海外で商業栽培されたが、これまでのところ本組換えワタが生物多様性に影響を与えたという報告はされていない。

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

競合における優位性に関わる諸形質について、第一、2-(6)の 形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、種子の生産量、休眠性及び発芽率に記載したように比較検討した。その結果、有効花蕾数および1株当たりさく数を除く全ての項目について、差異は認められなかった。差異の認められた有効花蕾数と1株当たりさく数については対照の非組換えワタがワタノメイガとオオタバコガによる食害を受けたためであると考えられたこと、また米国における野外試験ではこれらの項目で違いは認められなかったことから、これらの差異が競合における優位性に影響を及ぼすものではないと考えられ、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がないと判断された。また、本組換えワタの種子の越冬性、発芽率は、対照の非組換えワタと比較して大きな相違はないことから、本組換えワタは従来の非組換えワタと同様に我が国の自然条件下で自生化する可能性は極めて低いと考えられた。

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

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

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

## 緊急措置計画書（食用・飼料用に供する場合）

平成16年8月18日

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

第一種使用規程の承認を申請しているチョウ目害虫抵抗性ワタ(*cry1Ac*、*Gossypium hirsutum* L.)(757, OECD UI: MON-00757-7)(以下、本組換えワタという)の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社は生物多様性影響のリスク評価を実施する。このリスク評価に基づき、生物多様性に及ぼす影響に応じた管理計画を設定し、こうした危険性を軽減する方法の決定への協力などを必要に応じて行う。さらに、特定された危険性の重大性や起こりうる確率から判断して、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合は、当該影響を効果的に防止するため、特定された問題に応じ、以下のことを行う。尚、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合とは、本組換えワタに関して、科学的に我が国の生物多様性に影響を生ずることが立証された場合のことである。

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