

除草剤グリホサート耐性ピマワタ(改変 *cp4 epsps*, *Gossypium barbadense* L.)
(MON88913, OECD UI : MON-88913-8)申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書	1
生物多様性評価書	1
第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報	1
1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報	1
(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
① 和名、英名及び学名	1
② 宿主の品種名又は系統名	1
③ 国内及び国外の自然環境における自生地域	1
(2) 使用等の歴史及び現状	2
① 国内及び国外における第一種使用等の歴史	2
② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途	3
(3) 生理学的及び生態学的特性	4
イ 基本的特性	7
ロ 生息又は生育可能な環境の条件	7
ハ 捕食性又は寄生性	8
ニ 繁殖又は増殖の様式	8
① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命	8
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	8
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	9
④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命	9
ホ 病原性	10
ヘ 有害物質の産生性	10
ト その他の情報	10
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	11
(1) 供与核酸に関する情報	11
イ 構成及び構成要素の由来	11
ロ 構成要素の機能	11

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.....	11
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	12
③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容	12
(2) ベクターに関する情報	12
イ 名称及び由来	12
ロ 特性	13
① ベクターの塩基数及び塩基配列	13
② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能.....	13
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.....	13
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	13
イ 宿主内に移入された核酸全体の構成.....	13
ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法.....	13
ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過	13
① 核酸が移入された細胞の選抜の方法.....	13
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 の菌体の残存の有無	14
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.....	14
(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....	16
① 移入された核酸の複製物が存在する場所.....	16
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	16
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	16
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	16
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 等に伝播されるおそれのある場合は、当該伝達性の有無及び程度.....	17
(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	17
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	17
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.....	17
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.....	18
a 形態及び生育の特性.....	18
b 生育初期における低温又は高温耐性.....	19
c 成体の越冬性又は越夏性.....	19
d 花粉の稔性及びサイズ.....	19
e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率.....	20
f 交雑率.....	20
g 有害物質の産生性.....	21
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報.....	22
(1) 使用等の内容.....	22
(2) 使用等の方法.....	22
(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.....	22
(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.....	23
(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.....	23
(6) 国外における使用等に関する情報.....	23
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.....	26
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	26
(2) 影響の具体的な内容の評価.....	28
(3) 影響の生じやすさの評価.....	28
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	28
2 有害物質の産生性.....	28
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	28
(2) 影響の具体的な内容の評価.....	29
(3) 影響の生じやすさの評価.....	29
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	30
3 交雑性.....	30
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	30
(2) 影響の具体的な内容の評価.....	30
(3) 影響の生じやすさの評価.....	30

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	30
4 その他の性質	30
第三 生物多様性影響の総合的評価	31
緊急措置計画書	41

第一種使用規程承認申請書

平成 22 年 2 月 5 日

農林水産大臣 赤松 広隆 殿

5 環境大臣 小沢 鋭仁 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	除草剤グリホサート耐性ピマワタ (改変 <i>cp4 epsps</i> , <i>Gossypium barbadense</i> L.) (MON88913, OECD UI : MON-88913-8)
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：ピマワタ(海島綿)

学名：*Gossypium barbadense* L.

英名：Sea island cotton

15

和名：ワタ(陸地綿)

学名：*Gossypium hirsutum* L.

英名：Upland cotton

② 宿主の品種名又は系統名

20

G. barbadense (一般名: ピマワタ)及び *G. hirsutum*(一般名: ワタ)は共にアオイ科(Malvaceae)ワタ属(*Gossypium*)に属する複 2 倍¹体栽培種である。なお、交配に用いたピマワタ品種は W1377 及び W2490 である。

25 *G. barbadense* は *G. hirsutum* と共通の染色体構造(AADD)を持つ複 2 倍体 (tetraploid) $2n = 4x = 52$ である(Percy *et al.*, 1996; Robinson *et al.*, 2001; Kulkarni, 1992; Pandey and Subrahmanyam, 1987; Khalifa *et al.*, 1982)。

③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

30

G. barbadense の自生は、原産地であるペルー及びエクアドルの他、ブラジル、カリブ海沿岸各国及びアメリカ南端部といった熱帯若しくはそれに順ずる地域で見られる。また、*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(Lee, 1984)。

なお、わが国において *G. barbadense* 及び *G. hirsutum* と交雑が可能な

¹2種類の異種ゲノムを持つ4倍体種のことを複2倍体種と呼ぶ

Gossypium 属植物の自然分布は報告されていない(日本の野生植物 木本Ⅱ; 日本原色雑草図鑑)。

(2) 使用等の歴史及び現状

5

① 国内及び国外における第一種使用等の歴史

ワタ属のうち栽培種は 4 種に分けられ、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、新大陸の複 2 倍体種 10 (2n=52)で「陸地綿、アメリカ綿、メキシコ綿」として知られる *G. hirsutum*、「ピマ綿、超長繊維(ELS)綿、海島綿、エジプト綿、クレオール綿、インド綿」として知られる *G. barbadense* があり、個々に栽培品種化されてきた (Brubaker *et al.*, 1999; 栗原浩編、1981、工芸作物学、農文協)。

15 *G. barbadense* は、超長繊維(Extra Long Staple: ELS)の特性を有し、高級衣料素材として使用されている。一方、現在、第一種使用の承認がなされている組換えワタの宿主である *G. hirsutum* は、陸地ワタ(Upland cotton)と呼ばれ、中繊維長の特性を有し、全ワタ生産量の 90%を占め、衣料用素材として使用されている(Jenkins, 2003)。

20

G. barbadense は *G. hirsutum* と共通の染色体構造(AADD)を持つ複 2 倍体 (tetraploid)2n = 4x = 52 であることから(Percy *et al.*, 1996; Robinson *et al.*, 2001; Kulkarni, 1992; Pandey and Subrahmanyam, 1987; Khalifa *et al.*, 1982)、*G. barbadense* と *G. hirsutum* の間には遺伝的障壁はなく容易に交配できる(Percival *et al.*, 1999)。実際に従来 of 育種においては、*G. barbadense* の持つ有用な形質の 25 *G. hirsutum* への導入 (Yuan *et al.*, 2000)、*G. hirsutum* の持つ形質の *G. barbadense* への導入により、品種改良を頻繁に行ってきた(Wang *et al.*, 1995)。さらに、*G. barbadense* と *G. hirsutum* のハイブリットが商業的に栽培されている国があり、たとえばインドでは全栽培面積の約 5%を占めている 30 (ikisan; http://www.ikisan.com/links/ap_cottonHybrid%20Cotton.shtml)。

日本で古くから栽培されているワタはアジア綿の *G. arboreum* である。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 35 されているが、このワタはすぐに消滅したようである。その後、文禄年間(1592～1595)にワタの種子が九州に再び伝えられ、ワタ作は関東以南に広がり、明治

15～20年頃には10万ha、2万4千トンの生産をみるにいたったが、その後、外綿の輸入に押されて次第に衰微した(栗原浩編、1981、工芸作物学、農文協)。現在では、ワタの日本国内における商業栽培はほとんど行われておらず、主に観賞用などの目的で栽培されているのみである。

5

② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

ワタ属のうち栽培種は4種に分けられ、旧大陸の「アジア綿」と総称される2倍体種($n=13$)の *G. herbaceum* は、アフリカ及びアジアの乾燥地帯で、また、
10 同じく2倍体種の *G. arboreum* は主にインドで栽培されている。

また、新大陸の複2倍体種($2n=52$)である *G. hirsutum* 及び *G. barbadense* は、主要な栽培ワタ種であり、世界的なワタの主要栽培地域であるアメリカ、ヨーロッパ、中国、アフリカ及びオーストラリアで栽培されている。(Lee, 1984; Jenkins, 2003)。

15 *G. barbadense* は、エジプト、アメリカ、中国で主に栽培され、インド、トルクメニスタン、ペルー、イスラエル、スーダン、ウズベキスタン及びタジキスタンでも栽培されている。アメリカ国内では、*G. hirsutum* はアメリカ南東部及び南部のコットンベルト(ノースカロライナ州、サウスカロライナ州、ジョージア州、アラバマ州、ミシシッピ州、ルイジアナ州、アーカンソー州、テネシー
20 州及びテキサス州)地帯で栽培されているが、*G. barbadense* はアリゾナ州、カリフォルニア州、ニューメキシコ州及びテキサス州などのコットンベルト地帯より乾燥した地域で栽培されている。

米国農務省の統計情報に基づくと、2007/08年の全世界におけるワタ²の栽培
25 面積は3,265万haであり、上位国を挙げるとインドが950万ha、中国が620万ha、米国が424万ha、パキスタンが325万haとなっている(USDA, Oct 2008, World Agricultural Production)。

G. barbadense は、世界の繊維生産高のうちおよそ5%を占めており(Wu *et al.*, 2005)、ワタ栽培面積のうち、およそ3%を占めている。

30 *G. barbadense* の国別栽培面積については詳細は明らかになっていないが、2006年の生産量(ICAC, 2009)から *G. barbadense* の生産量上位4カ国の栽培面積はエジプトが24万ha、中国が14万ha、インドが13.3万ha、アメリカが13.1万haであると推計される。

² 米国農務省の統計では *G. barbadense* は *G. hirsutum* と区別されていない

G. barbadense の栽培方法は *G. hirsutum* と同様であるが、*G. barbadense* の特徴である長い繊維を守るため、摘み取り及び繰綿機にかける方法が異なる。

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 (綿実) である。種子 (綿実) 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種子油 (綿実油) が得られる。種子 (綿実) 1t から約 130kg の種子油 (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。搾油後の種子粕 (綿実粕) は精製して主に飼料や肥料として用いられる (栗原浩編、1981、工芸作物学、農文協)。*G. hirsutum* には種子の表面にリンターと呼ばれる平均 3~5mm の短い繊維が存在するが、*G. barbadense* には存在しない。リンターは搾油工場での副産物として生産され、人造繊維や綿火薬の原料とされ、やや長いものは太糸の原料ともされる。

15

G. barbadense は、超長繊維及び繊維強度といった優れた繊維品質ゆえに (Smith, 1999) 高級衣料素材として利用されており、中繊維長の特徴を有する *G. hirsutum* とは区別される (USDA, 2001)。2007/2008 年の米国では、*G. barbadense* は *G. hirsutum* よりおよそ 85% 高い値段で取引されていた (USDA-AMS, 2008)。しかし、種子及びその副産物である綿実油は区別されることなく流通している (OECD, 2004; NCPA, 1993, 1997, 1999; USDA-FAS, 2005; O'Brian, 2002)。

20

2008 年のわが国における種子 (綿実) の輸入量は 13 万 3173 トンであり、そのうち約 75% がアメリカ、約 14% がオーストラリア、約 11% がブラジルから輸入されている (財務省貿易統計, 2009)。さらに輸入された種子の内、約 2 万 7 千トンが搾油用として用いられ、残りは牛の飼料用として用いられた (飼料ハンドブック、社団法人日本科学飼料協会)。なお、わが国で製造される種子油 (綿実油) は全て輸入原料を用いており、大阪府の製油会社が唯一国内で搾油を行っている。

25

30 (3) 生理学的及び生態学的特性

G. barbadense は、同じワタ属で複 2 倍体種の *G. hirsutum* と多くの共通した生物学的特性を持っている。表 1 に *G. hirsutum* と *G. barbadense* 間における主な類似点及び相違点を示す。

表1 *G. hirsutum* と *G. barbadense* における主な類似点・相違点³

形質	<i>G. hirsutum</i> / <i>G. barbadense</i>	参考文献
類似点		
染色体数	2n=52(AADD)	OECD, 2008
主根長	約 1~3m	OECD, 2008
葉序	3/8 互生葉序	OECD, 2008; Wise <i>et al.</i> , 2000
花の数	6~8 個/結果枝	McGregor, 1976
蕾から開花までの日数	25~30 日	McGregor, 1976
受粉方法	主に自家受粉 (虫媒による他家受粉もある)	McGregor, 1976; Llewellyn and Fitt, 1996; Galal <i>et al.</i> , 1972; Reddy <i>et al.</i> , 1992b
ゴシポールの型	遊離型と結合型をもつ	OGTR 2008
蜜線の存在部位	葉の裏側と総包片	OECD, 2008
耐病性	差異は認められていない	Wang <i>et al.</i> , 1995; Brubaker <i>et al.</i> , 1999
低温耐性	差異は認められていない	Christiansen, 1963; Christiansen, 1967; Kittock <i>et al.</i> , 1988
害虫抵抗性	差異は認められていない	OGTR 2008
休眠期間	2~3 ヶ月	Paiziev and Krakhmalev, 2006; OECD, 2008, OGTR 2008
光周性	中性	Wang <i>et al.</i> , 1995; Brubaker <i>et al.</i> , 1999
生殖成熟期	4~5 週間	OGTR 2008
種子の形態	尖った卵形で、長さは 8~12mm	OGTR 2008
発芽期	播種から 5~7 日	Smith, 1995
開花期	第 2、第 3 分枝後に開花	OECD, 2008

³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 1(つづき)

G. hirsutum と *G. barbadense* における主な類似点・相違点

形質	<i>G. hirsutum</i> / <i>G. barbadense</i>		参考文献
類似点			
枝の形態 ⁴	発育枝と結果枝を持つ		OECD, 2008
花の形態	5数性の完全花		McGregor, 1976; OECD, 2008
相違点			
高温耐性	生育初期において差異は認められていないが、生殖期間においては、 <i>G. barbadense</i> の方が高温に対する感受性が高い		Wang <i>et al.</i> , 1995; Brubaker <i>et al.</i> , 1999; Reddy <i>et al.</i> , 1993; Kittock <i>et al.</i> , 1987.
繊維の長さ	約 2.9cm	約 3.6cm	SeedQuest
繊維の強度(g/tex) ⁵	約 30	約 42	SeedQuest
リンターの有無	有	無	SeedQuest
栽培に必要な無霜期間	180-200 日	200-250 日	Reddy <i>et al.</i> , 2006; Unruh and Silvertooth, 1997; Duke, 1983
最適生育温度	30-35℃	25-30℃	Reddy <i>et al.</i> , 1992a
耐塩性	あり	あり(<i>G. hirsutum</i> より強い)	OGTR, 2008; Ashour and Abd-El'Hamid, 1970
草丈	1~3 m	1~2 m	Fryxell, 1984; OECD, 2008
葉縁の数	3~7 片	3~5 片	Fryxell, 1984;
花弁の赤い模様	なし	あり	Fryxell, 1984;
花弁の色	クリーム色	黄色	BeeCulture
朔の部屋数	4~5	3	BeeCulture

⁴発育枝は主茎と同じく単軸型の成長をする分枝で、頂芽が伸長して主軸を形成し、これに次いで側芽が側方に伸長して側枝を形成する。結果枝は仮軸型の成長をする分枝で、頂芽が伸長停止又は花芽分化にともなって頂芽の下の側芽が伸長を引き継ぎ、つぎつぎとこれを繰り返して主軸を形成する。

⁵ g/tex(grams/tex)はワタ繊維の強度を 1000m の繊維の切断に必要な強度に換算し、算出したもの

第一の 1-(2)-① (p2)で述べたとおり、*G. barbadense* と *G. hirsutum* 間で交配が頻繁に行われてきた結果を示すものとして、主要なワタ栽培国で、主に栽培されている 54 品種の *G. barbadense* 品種のゲノムについて RFLP 解析を行ったところ、*G. barbadense* 品種のゲノム中には平均で 8~12%の *G. hirsutum* ゲノムが移入していることが報告されている (Wang *et al.*, 1995; Brubaker *et al.*, 1999)。

さらに *G. barbadense* と *G. hirsutum* との遺伝的類似性に関して、Khan らは RAPD 法により 34 のワタ種間(部分的に品種間)の遺伝的類似性を数値化した結果を報告している⁶。その結果、種間の相同性が 0.788(*G. barbadense* vs. *G. hirsutum*)及び 0.828(*G. barbadense* vs. *G. hirsutum* Yucatenanse)、品種間の相同性が 0.848(*G. hirsutum* vs. *G. hirsutum* Yucatenanse)及び 0.796(*G. barbadense* vs. *G. barbadense* Mummy)であり、*G. barbadense* と *G. hirsutum* 種間の相同性が、同一種内の品種間の相同性を上回る場合もあった。したがって、*G. barbadense* と *G. hirsutum* が非常に遺伝的に類似しているものと考えられる(Khan *et al.*,2000)。

イ 基本的特性

G. hirsutum 及び *G. barbadense* は種子繁殖する多年生のアオイ科作物で、*G. hirsutum* の草丈は 100cm~300cm、*G. barbadense* は 100cm~200cm 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ずる。なお、栽培条件下では *G. hirsutum* 及び *G. barbadense* は一年生農作物として栽培され、草丈に関してはいずれも生育抑制剤により 1~1.5m 程度に抑制される。

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

G. barbadense の生育における最適温度域は 25~30°C であり (Reddy *et al.*, 1992a)、平均 21~22°C の無霜期間が最低でも年間 200~250 日必要である (Unruh and Silvertooth, 1997)。*G. barbadense* 及び *G. hirsutum* の低温耐性は概ね同じであると報告されている (Christiansen, 1963; Christiansen, 1967; Kittock *et al.*, 1988)。また、日中 15°C/夜間 10°C の温度条件はピマワタにとって低温ストレスであり、生育に悪影響が見られたという報告がある (Reddy *et al.*, 1995; Reddy *et al.*, 1993)。一

⁶45 のランダムプライマーを使用し PCR を行い、増幅されたバンド数を比較し、相同性を概算したもの(増幅されたバンドが全て一致した場合、相同性は 1.000 となる)

方、*G. hirsutum* は、最適温度域が 30～35℃であり (Reddy *et al.*, 1992a)、平均 21～22℃の無霜期間が最低でも年間 180～200 日必要である (Duke, 1983)。

G. barbadense 及び *G. hirsutum* はいずれも生育初期には温度に対する感受性が低い (Reddy *et al.*, 1993)、結果枝をつける生殖期間において *G. barbadense* の方が *G. hirsutum* と比べて高温に対する感受性が高く (Kittock *et al.*, 1987)、35℃で結実数が減少し、40℃になると種子をつけない、若しくはコットンボールを維持できなくなることが知られている。この現象は花のつぼみが高温により器官脱離を起こすためと考えられている (Reddy *et al.*, 1992a; Reddy *et al.*, 1992b; Reddy *et al.*, 1993)。また、ワタ属は比較的耐塩性の植物であり、*G. barbadense* は *G. hirsutum* より耐性があるとされている (Ashour and Abd-El'Hamid, 1970)。

北米のワタ作地帯は北緯 37～39 度であり、北半球では一般に北緯 43 度が北限で、ヨーロッパでは北緯 42 度、中央アジアでは北緯 44.3 度まで分布している。日本では福島県北部 (北緯 37.5 度) までとされる。

ハ 捕食性又は寄生性

—

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

G. hirsutum のさくは 4-5 室で構成され、*G. barbadense* のさくは 3 室で構成されている (BeeCulture, 2009)。ワタ属の完熟したさくはさく皮が裂けて開じよするが、種子は綿毛に覆われているために脱粒性は低い (Llewellyn and Fitt, 1966)。また、種子の休眠期間は 2-3 ヶ月である (Paiziev and Krakhmalev, 2006; OECD, 2008; OGTR, 2008)。

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

G. hirsutum 及び *G. barbadense* はいずれも、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。

- 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

5 *G. barbadense* 及び *G. hirsutum* の受粉様式に関しては、いずれも基本的には自家受粉である (Niles and Feaster, 1984)。虫媒による他家受粉も可能であることが知られており、その際の家受粉率は 5-30%であったと報告されている (Kerkhoven and Mutsaers, 2003)。

10 なお、わが国において *G. barbadense* 及び *G. hirsutum* と交雑可能な近縁野生種は知られていない(日本原色雑草図鑑; 日本の野生植物 木本 II)。

- ④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

15 ワタ属の花粉の生産量は 1 花当たりおよそ 4 万 5000 粒であり、*G. hirsutum* と *G. barbadense* の間で生産量の違いは報告されていない (McGregor, 1976)。*G. barbadense* の花粉の形状は、直径 118 μm で刺状突起を持ち、その長さは 15.4 μm 、密度は 1 μm^2 あたり 4.9×10^3 本である。一方、*G. hirsutum* の花粉は、直径 101 μm 、刺状突起の長さは 12.1 μm 、密度は 1 μm^2 あたり 8.3×10^3 本 (Kakani *et al.*, 1999)。

20 *G. barbadense* の花粉は大きく、粘着性があり重たいので、風媒により交雑することはほとんどなく、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 (McGregor, 1976)。

25 *G. barbadense* の花粉は *G. hirsutum* の花粉と比較してサイズが大きく長いとげを持つが、ハチによる花粉の媒介距離は変わらないとされている (Loper and Davis, 1985)。虫媒により花粉が飛散する範囲は限られている。*G. barbadense* 間の距離が 2m 以内の場合、受粉率はおよそ 8%、8m 離れると 2%以下、20m 離れると受粉率は認められなかったと報告されている (Galal *et al.*, 1972)。

30 また、*G. hirsutum* の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結果、ハチの巣箱を回りに配置したワタ畑から約 45m~60m 離れた花畑で約 1.6%の花からワタの花粉が検出された (McGregor, 1976)。さらに、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 0.03%以下まで減少していた (Llewellyn and Fitt, 1996)。Umbeck らの遺伝子組換え *G. hirsutum* のマーカー遺伝子を用いた交雑試験では、30 \times 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
35 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 (Umbeck *et al.*, 1991)。

ホ 病原性

—

5

へ 有害物質の産生性

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

10

ト その他の情報

ワタ栽培種全般には、ゴシポールと呼ばれるテルペノイド物質が含まれており、種子を含むあらゆる植物組織の分泌器官に存在する(Abou-Donia, 1976)。ゴ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(生化学辞典、1992、東京化学同人)。

G. barbadense は *G. hirsutum* よりゴシポール含量が高いことが知られており、*G. barbadense* と *G. hirsutum* の主要な害虫であるエアリアス属(*Earias spp.*)、ヨコバイ、ハダニに耐性を示すことが知られている(Reed, 1994; Matthews, 1994; Sengonca *et al.*, 1986; Matthews and Tunstall, 1994; Gannaway, 1994)。

また、ワタ栽培種全般にはジヒドロステルクリン酸、ステルクリン酸、マルバリン酸などのシクロプロペン脂肪酸(CPFA)が含まれており、種子の総脂質中のおよそ 0.5~1.0%を占める (Schneider *et al.* 1968)。CPFAs 含量は一般的に *G. hirsutum* が *G. barbadense* よりも高い(Frank, 1987)。本物質は鶏において卵黄の変色及びふ化率の低下などの有害な影響を及ぼすとされているが、搾油工程における脱臭処理によって著しく減少する(OECD, 2004)。

ゴシポール及びシクロプロペン脂肪酸は他感物質等の野生動植物等の生息又は生育に影響を及ぼす物質ではなく、野生の哺乳動物が種子(綿実)を捕食するという例も報告されていない。なお、わが国において運搬の際にこぼれ落ちた *G. hirsutum* 及び *G. barbadense* が自生化したという報告はされていない。

また、*G. barbadense* 及び *G. hirsutum* の種子の脂肪酸組成(Khattab *et al.*, 1977; Kerkhoven and Mutsaers, 2003; Khalifa *et al.*, 1982)及び油分組成(Pandey and Thejappa, 1981)は同程度であることが知られている。

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

5 除草剤グリホサート耐性ピマワタ (改変 *cp4 epsps*, *Gossypium barbadense* L. (MON 88913)) (以下「本組換えピマワタ」という。)は、2006年2月10日に既に第一種使用の承認がなされている除草剤グリホサート耐性ワタ (改変 *cp4 epsps*, *Gossypium hirsutum* L. (MON88913)) (以下「MON88913 (*G. hirsutum*)」
10 という。)に導入されている改変 *cp4 epsps* 遺伝子を、戻し交配育種により別の種に分類される *G. barbadense* に導入することにより開発された。

10 なお、MON88913(*G. hirsutum*) は、*Gossypium hirsutum* 種に属する栽培ワタ品種 Coker312 に *Agrobacterium* CP4 株由来の改変 *cp4 epsps* 遺伝子を導入し、改変 CP4 EPSPS 蛋白質を発現する除草剤グリホサート耐性ワタとして作出された。

15 (1) 供与核酸に関する情報

イ 構成及び構成要素の由来

20 MON88913(*G. hirsutum*)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別添資料1の表1(p7)に示した。

ロ 構成要素の機能

25 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

MON88913(*G. hirsutum*)の作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能は別添資料1の表1(p7)に示したとおりである。

- 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

本組換えピマワタに導入された改変 *cp4 epsps* 遺伝子から発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質の機能については別添資料 1 の p4-6 に示した。

改変 CP4 EPSPS 蛋白質が、既知の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、アレルゲンデータベース 10 (AD_2010⁷)を用いて FASTA 型アルゴリズム及び ALLERGENSEARCH 型アルゴリズムによって比較したが、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列は認められなかった。

10

- ③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

15

別添資料 1 の p4-6 に示したように、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が、植物の代謝経路に何らかの影響を及ぼす可能性は極めて低いと判断される。

20 (2) ベクターに関する情報

本組換えピマワタは、2006 年 2 月 10 日に既に第一種使用の承認がなされている、MON88913 (*G. hirsutum*)に導入されている改変 *cp4 epsps* 遺伝子を、戻し交配育種により別の種に分類される *G. barbadense* に導入することにより開発された。したがって、以下のイ及びロは MON88913(*G. hirsutum*)作出に用いたプラスミド・ベクターPV-GHGT35に関する情報を記載した。

25

イ 名称及び由来

30 別添資料 1 の(2)イ(p9)参照

⁷ FARRP (Food Allergy Research and Resource Program) Allergen Online database(FARRP, 2010)に 2010 年 1 月の時点で登録されていた配列からなるデータベース。

ロ 特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

5 別添資料 1 の(2)ロ(p9)を参照

② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

別添資料 1 の(2)ロ(p9)を参照

10

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

別添資料 1 の(4)ニ(p13)を参照

15

(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

20 MON88913(*G. hirsutum*)の作出に用いられたプラスミド・ベクターPV-
GHGT35の構成要素は別添資料 1 の表 1(p7)に示した。また、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、
別添資料 1 の図 1(p10)に示した。

25 ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

本組換えピマワタは、MON88913(*G. hirsutum*)に導入されている改変 *cp4*
epsps 遺伝子を、戻し交配育種により *G. barbadense* の非組換えピマワタ品種
W1377 及び W2490 に導入することにより作出された(図 1, p15)。

30

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

35 従来育種法を用いたため、該当しない。

- 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の菌体の残存の有無

従来育種法を用いたため、該当しない。

5

- 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

- 10 本組換えピマワタは、MON88913(*G. hirsutum*)に非組換え *G. barbadense* の商業品種 W1377 を掛け合わせた F1 雑種に、W1377 を合計で 4 回戻し交配を繰り返した後、その後代をさらに同じ *G. barbadense* の W2490 と 3 回掛け合わせた後、自殖により固定することで作出された(図 1, p15)。本組換えピマワタにおける導入遺伝子の存在及び発現の安定性、そして米国でのほ場試験に供試した世代は、図 1(p15)に記載した。

15

なお、本評価書における本組換えピマワタとは、BC2F5 世代から派生する全ての後代交配種を指す。

5

10

15

【社外秘につき非開示】

20

25

図1 本組換えピマワタの育成図

30

(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

5 ① 移入された核酸の複製物が存在する場所

本組換えピマワタの交配親である MON88913(*G. hirsutum*)において、導入遺伝子が核ゲノム上に存在することが既に証明されている(別添資料 1 の p13)。よって、MON88913(*G. hirsutum*)を交配親として、従来育種法によって育成された
10 本組換えピマワタにおいても導入遺伝子は核ゲノム上に存在すると判断した。

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

15 本組換えピマワタは、MON88913(*G. hirsutum*)のゲノム中に存在する改変 *cp4 epsps* 遺伝子を、従来育種法を用いて *G. barbadense* に導入することにより開発された。このことから、本組換えピマワタのゲノム中にも、MON88913(*G. hirsutum*)と同一の改変 *cp4 epsps* 遺伝子を含む T-DNA 領域が 1 コピー導入されていると考えられた。念のため、サザンブロット法を用いて本組換えピマワタ
20 が MON88913(*G. hirsutum*)由来の導入遺伝子を持つかどうかを確認した。

サザンブロット分析の結果、本組換えピマワタは MON88913(*G. hirsutum*)と同一の導入遺伝子を持ち(別添資料 2 の p17、Figure 3)、複数世代(BC2F5～BC2F7 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た(別添資料 2 の p17、Figure 3)。

25

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

1 コピーなので該当しない。

30

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

35 米国の 5 ヶ所のほ場(カリフォルニア州(2 ヶ所)、アリゾナ州、ニューメキシコ州及びテキサス州)において、3 反復で育成した本組換えピマワタの葉及び種子での改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現量を ELISA 法により分析した。

その結果、改変 CP4 EPSPS 蛋白質の葉における発現量は、平均値が 410 $\mu\text{g/g}$ fwt で、その発現量の範囲は 280~600 $\mu\text{g/g}$ fwt であった。また、改変 CP4 EPSPS 蛋白質の種子における発現量は、平均値が 340 $\mu\text{g/g}$ fwt で、その発現量の範囲は 190~420 $\mu\text{g/g}$ fwt であった(別添資料 3 の p17、Table1)。なお、対照の
5 非組換えピマワタ W2490 における改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現量は、葉、種子ともに検出限界(葉 : LOD=0.069 $\mu\text{g/g}$; 種子 : LOD=1.7 $\mu\text{g/g}$)以下であった。

本組換えピマワタの複数世代における改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現の安定性を確認するために、本組換えピマワタの 3 世代間 (BC2F5、BC2F6、BC2F7) の
10 葉においてウエスタンブロット分析を行った。その結果、分析に供試した全ての世代で改変 CP4 EPSPS 蛋白質 (~43.8 kDa) が発現していることが確認され、非組換えピマワタ W2490 では確認されなかった(別添資料 4 の p16、Figure1)。なお、本組換えピマワタとコントロールである *E.coli* で発現させた改変 CP4 EPSPS 蛋白質から完全長の改変 CP4 EPSPS 蛋白質(~43.8kDa)の他におよそ
15 37kDa の蛋白質が見られたが、これは改変 CP4 EPSPS 蛋白質の断片であると考えられた。

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播されるおそれのある場合は、当該伝達性の有無及び程度

20

別添資料 1 の p13 の(4)ホ参照

(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

25

MON88913 (*G. hirsutum*)を検出するために開発した定性的 PCR 法(別添資料 5)を用いて、本組換えピマワタを検出及び識別することが可能であることを確認した(別添資料 6)。

30 (6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

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

35 本組換えピマワタへ導入された改変 *cp4 epsps* 遺伝子は改変 CP4 EPSPS 蛋白質を発現することにより、除草剤グリホサートに対する耐性を付与する。

- 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⁸

5

a 形態及び生育の特性

形態及び生育に関する特性を比較するため、米国の 3 ヶ所のほ場(アリゾナ州、カリフォルニア州、ニューメキシコ州)において 6 項目(苗立ち株数、初期の草勢、主茎長、第一花開花節より上の節数、第一朔果が開じょした節より上の節数、収量)について、本組換えピマワタ及び対照の非組換えピマワタ品種 W2490 の間の形態特性及び生育の差異を調査した。なお、参考品種として *G. barbadense* の従来商業品種 4 品種を供試し、試験は 3 反復で行った(別添資料 7 の p5、Table1)。

15

その結果、播種後 8 週目の草勢及び主茎長、第一花開花節より上の節数及び第一朔果が開じょした節より上の節数において統計学的有意差が認められたが、それ以外の項目では差異は認められなかった($p>0.05$)(別添資料 7 の p6-7、Table2)。

20

播種後 8 週目の草勢に関しては、カリフォルニア州のほ場において統計学的有意差が認められ、本組換えピマワタでは 2.3、対照の非組換えピマワタでは 4.0 であった。しかし、この値は参考として供試された従来商業品種の平均値の範囲内(1.0~3.3)であった。

25

播種後 8 週目の主茎長に関しては、アリゾナ州及びニューメキシコ州のほ場において統計学的有意差が認められた。アリゾナ州のほ場では本組換えピマワタが 74.9cm であったのに対し対照の非組換えピマワタでは 83.0cm であった。しかし、アリゾナ州での値は参考として供試された従来商業品種の範囲内(74.5~84.0cm)であった。

30

ニューメキシコ州のほ場では本組換えピマワタが 45.5cm であったのに対し対照の非組換えピマワタは 49.6cm であった。この値は参考として供試された従来商業品種の範囲(46.2~52.0cm)を外れていた。

⁸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

第一花開花節より上の節数に関しては、アリゾナ州のほ場の第一回目の観察において統計学的有意差が認められ、本組換えピマワタでは 10.6 節、対照の非組換えピマワタでは 11.9 節であった。この値は参考として供試された従来商業品種の平均値の範囲(10.9~11.3 節)を外れていた。

第一朔果が開じょした節より上の節数に関しては、ニューメキシコ州のほ場の第一回目の観察において統計学的有意差が認められ、本組換えピマワタでは 17.0 節、対照の非組換えピマワタでは 10.1 節であった。しかし、この値は参考として供試された従来商業品種の範囲内(11.5~19.3 節)であった。

b 生育初期における低温又は高温耐性

生育初期における低温耐性試験は、播種後 21 日目の本組換えピマワタ、対照の非組換えピマワタ W2490 及び従来商業品種 6 品種の幼苗を日中 15°C/夜間 10°C に設定した人工気象室で 21 日間栽培した後、草勢、草丈、生育ステージ、生重及び乾燥重の調査を行った。なお、本試験の温度条件はピマワタにとって低温ストレスであり、実際にこの温度条件で生育に悪影響がでることが報告されている (Reddy *et al.*, 1995; Reddy *et al.*, 1993)。

その結果、統計処理を行った項目(草勢、草丈、生重及び乾燥重)について本組換えピマワタと対照の非組換えピマワタの間で統計学的有意差は認められなかった($p>0.05$)(別添資料 8 の p6、Table3)。また、統計処理を行わなかった生育ステージに関しても本組換えピマワタと対照の非組換えピマワタとの間で違いは認められなかった (別添資料 8 の p6、Table3)。

c 成体の越冬性又は越夏性

G. hirsutum 及び *G. barbadense* は多年生植物に分類されるが、米国及び世界の他の多くのワタ栽培地域では一年生として栽培されており、結実し綿花及び種子を収穫した後、冬季に枯死する。米国における複数ヶ所のほ場では、本組換えピマワタは、予想通り対照の非組換えピマワタと同様に完全に落葉し、植物体も褐色に変化し、その枯死程度に差異は認められなかった。

d 花粉の稔性及びサイズ

米国のほ場で栽培された本組換えピマワタ、対照の非組換えピマワタ W2490

及び従来商業品種 4 品種から花粉を採取し、その稔性とサイズを調査した結果、本組換えピマワタの花粉稔性は 93.6%であり、対照の非組換えピマワタの 94.9%と比較して統計学的有意差は認められなかった(別添資料 9 の p4、Table1)。

5 花粉サイズについては本組換えピマワタと対照の非組換えピマワタとの間で統計学的有意差が認められ($p < 0.05$)、平均値は本組換えピマワタで 105.5 μm 、対照の非組換えピマワタでは 102.6 μm であった。この値は、参考として供試された従来商業品種の平均値の範囲(103.3~105.0 μm)を外れていた。また、*G. barbadense* の従来商業品種(非組換えピマワタ)を用いた報告の範囲(115~117.9 μm ; Saad, 1960; Kakani *et al.*, 1999)より小さい値であった。さらに、花粉の形態
10 に目視での違いは認められなかった(別添資料 9 の p5、Figure1)。

e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

15 第一の 2-(6)-②-a (p18)に上述したとおり、種子の生産量について本組換えピマワタ及び対照の非組換えピマワタの間で統計学的有意差は認められなかった。

脱粒性に関して、本組換えピマワタ及び対照の非組換えピマワタ W2490 の種子はともに繊維に絡み合って分離しにくく、脱粒性は双方とも同程度に低いと考えられた。

20

ワタ属は品種によって 2~3 ヶ月の休眠期間があることが知られているが、育種の過程でその休眠性の低いものが選抜されてきている(Paiziev and Krakhmalev, 2006; OECD, 2008; OGTR, 2008)。

25 また、暗黒条件下で 20°C16 時間及び 30°C8 時間を繰り返す温度条件における発芽率について、本組換えピマワタ、対照の非組換えピマワタ W2490 及び従来商業ピマワタ品種 4 品種より収穫した種子を 4 反復各約 100 粒ずつ温室にて播種し、発芽率の調査を行った。発芽種子については正常発芽率と異常発芽率に分けて調査し、非発芽種子については硬実種子率、枯死種子率及び吸水膨潤
30 状態(Viable Firm-Swollen)の種子率に分けて調査した(別添資料 10)。その結果、すべての項目で統計学的有意差は認められなかった(別添資料 10 の p4、Table1)。

f 交雑率

35 わが国では本組換えピマワタが属する複 2 倍体栽培ワタ *G. barbadense* と交雑可能な *Gossypium* に属する近縁野生種は存在しない(日本の野生植物 木本 II)。

したがって交雑性については評価を行わなかった。

g 有害物質の産生性

- 5 本組換えピマワタはゴシポール及びシクロプロペン脂肪酸のような物質を産生するが、これらの物質は非組換えピマワタにも含まれている。また、他感物質等の野生動植物等の生息又は生育に影響を及ぼす物質ではなく、野生の哺乳動物が綿実を捕食するという例も報告されていない。

10 本組換えピマワタと対照の非組換えピマワタ W2490 との間の有害物質の産生性を調査するため、鋤き込み試験、後作試験、土壌微生物相試験を行った。

【鋤き込み試験】

- 15 本組換えピマワタの地上部から周辺の植物相に影響を及ぼすような有害物質が産生されているかを確認するために、米国の温室において本組換えピマワタ、対照の非組換えピマワタ W2490 及び従来商業ピマワタ品種 6 品種の植物体の地上部を供試して鋤き込み試験を行った。

20 その結果、いずれの試験においても、ピマワタの植物体の地上部を鋤込んだ土壌に播種した検定植物であるレタスの発芽株数、生育ステージ、草丈、生重及び乾燥重に統計学的有意差は認められなかった ($P>0.05$)(別添資料 11 の p4、Table1)。

【後作試験】

- 25 本組換えピマワタの地下部から周辺の植物相に影響を及ぼすような有害物質が産生されているかを確認するために、米国の温室において本組換えピマワタ、対照の非組換えピマワタ W2490 及び従来商業ピマワタ品種 6 品種の収穫時に採種した土壌を用いて後作試験を行った。

30 その結果、いずれの試験においても、ピマワタの収穫時に採取した土壌に播種した検定植物であるレタスの発芽株数、生育ステージ、草丈、生重及び乾燥重に統計学的有意差は認められなかった ($P>0.05$)(別添資料 11 の p4、Table1)。

【土壌微生物相試験】

- 35 本組換えピマワタから土壌微生物相に影響を及ぼすような有害物質が産生されているかを確認するために、米国の温室において土壌微生物相試験を行った。

- 本組換えピマワタ、対照の非組換えピマワタ W2490 及び従来商業ピマワタ品種 6 品種を栽培した土壤中の細菌数、糸状菌数及び放線菌数を調査した結果、細菌数及び糸状菌において本組換えピマワタと対照の非組換えピマワタとの間に統計学的有意差が認められた(表 2 及び別添資料 12 の p23、Table2)。しかし、
- 5 細菌数、糸状菌数ともに参考として供試された従来商業品種の平均値の範囲内であった(別添資料 12 の p23、Table2)。さらに、放線菌数に統計学的有意差は認められなかった(別添資料 12 の p23、Table2)。

10 表 2 土壤微生物相試験⁹

	平均値(CFU/g dwt soil)		従来商業品種の平均値の範囲
	本組換えピマワタ	対照の非組換えピマワタ	
細菌	* 2.84×10^8	1.37×10^8	1.15×10^7 - 3.74×10^8
糸状菌	* 2.29×10^6	1.46×10^6	1.10×10^6 - 3.03×10^6
放線菌	1.93×10^7	2.36×10^7	2.19×10^7 - 3.28×10^7

*対照の非組換えピマワタ W2490 と比較して有意差あり ($\alpha=0.05$)

3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

15

(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

20

(2) 使用等の方法

—

25

(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

—

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

- (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

5

- (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

—

10

- (6) 国外における使用等に関する情報

本組換えピマワタの諸外国における申請状況は以下のとおりである。

15

米国：

2006年8月 遺伝子組換え作物の形質を異なる種に導入しても従来の交配育種法を用いる限り、規制の対象とはならないため、米国食品医薬品局(FDA)により、食品及び飼料で承認されている MON88913(*G. hirsutum*)の承認の範囲に、本組換えピマワタが含まれるとの決定がなされた。

20

2006年9月 上記と同じ理由により、米国農務省(USDA)により、環境で承認されている MON88913(*G. hirsutum*)の承認の範囲に、本組換えピマワタが含まれるとの決定がなされた。

25

メキシコ：

2008年7月 *G. hirsutum* と *G. barbadense* の高い類似性が認められ、すでに食品及び飼料で承認されている MON88913(*G. hirsutum*)の承認の範囲に、本組換えピマワタも含まれるとの決定がなされた。

30

カナダ：

2007年2月 カナダ食品検査局(CFIA)に飼料・環境の安全性審査の申請を行った。

2008年10月 カナダ厚生省(Health Canada)に食品としての安全性審査の申請を行った。

35

2008年10月 カナダ食品検査局(CFIA)より飼料・環境の安全性認可を受

けた。

2008年12月 カナダ厚生省(Health Canada)より食品としての安全性認可を受けた。

5 オーストラリア：

栽培に関して、遺伝子組換え作物の形質を異なる種に導入する場合は、新たな規制の対象となるため、オーストラリアでは *G. hirsutum* 品種の栽培承認は得ているが、新たに *G. barbadense* 品種の申請を行った。

10 2007年3月 オーストラリア遺伝子テクノロジー規制機関(OGTR) にほ場試験の申請を行った。

2007年11月 OGTR よりほ場試験の認可を受けた。

15 オーストラリア・ニュージーランド食品基準局(FSANZ)からの承認(2006年2月)は単純に“ワタ(*Gossypium*)”としか記載されていない。そのため、FSANZ に確認したところ、*G. barbadense* は既に認可の範囲に含まれているため、新たに食品として MON88913(*G. barbadense*)の承認申請を行う必要はないとの回答を得た。

20 なお、本組換えピマワタのわが国における申請状況は以下のとおりである。

2009年7月 厚生労働省に「組換え DNA 技術応用食品及び添加物の安全性審査の手続き」に基づく食品利用としての安全性確認の申請を行った。

25 2009年8月 農林水産省に「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」に基づく飼料利用としての安全性確認の申請を行った。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価¹⁰

5 第一の 1-(2)-①(p2)及び第一の 1-(3)(p4)に示したとおり、*G. barbadense* と *G. hirsutum* は、共通の染色体構造(AADD)を持つ複 2 倍体(tetraploid) $2n = 4x = 52$ であることから、両者間には遺伝的障壁はなく容易に交配できる。実際に育種現場において *G. barbadense* と *G. hirsutum* は、お互いの品種改良を行うための育種材料として用いられてきた(Yuan *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 1995)。その結果として、*G. barbadense* のゲノム中には *G. hirsutum* ゲノムの一部が存在していることが報告されており(Wang *et al.*, 1995; Brubaker *et al.*, 1999)、遺伝学的にも類似していると考えられている(Khan *et al.*, 2000)。

15 また、表 1(p5)に示したように *G. barbadense* と *G. hirsutum* は、形態学的・生理学的にいくつかの相違点を持っている。しかし、第一の 1-(1)-①(p1)に記載したように *G. barbadense* の自生は、原産地であるペルー及びエクアドルの他、ブラジル、カリブ海沿岸各国及びアメリカ南端部といった熱帯若しくはそれに準ずる地域のみでしか確認されていない。また、わが国においては、*G. barbadense* を含めた栽培ワタの種子がこれまでに搾油用あるいは飼料用として輸入されているが、それらの種子が輸送中にこぼれ落ちた後に、わが国の自然条件下で自生化したという報告はない。さらに、他の植物と競合性を持つ雑草は休眠性、脱粒性、種子散布機構などの特性を一つ又は複数持つことが知られているが(Lingenfelter and Hartwig, 2003; Anderson, 1996)、*G. barbadense* と *G. hirsutum* の間で見られる相違点は競合における優位性に関与するものではないと考えられる。

25 また、わが国において MON88913(*G. hirsutum*)を用いて行った隔離ほ場試験の結果、MON88913(*G. hirsutum*)と対照の Null 型(*G. hirsutum*)との間に競合における優位性及び有害物質の産生性に関与するような相違は認められなかった(別添資料 1)。同様に、米国で行ったほ場試験においても、MON88913(*G. hirsutum*)と対照の Null 型(*G. hirsutum*)との間に競合における優位性及び有害物質の産生性に関与するような相違は認められていない(別添資料 1 の p21)。したがって、MON88913(*G. hirsutum*)と対照の Null 型(*G. hirsutum*)の比較を行った際に米国と我が国の環境の違いが与える影響はほとんどないと考えられる。

¹⁰本項目中で、第一の 2-(6)-②の 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

5 以上のことから、本組換えピマワタをわが国における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に使用するための以下に続く評価は、MON88913 (*G. hirsutum*)の生物多様性影響評価を行った際の情報に加えて、今回本組換えピマワタ及びその宿主である W2490 を供試して米国のほ場で採取された試験結果に基づいて行えると判断した(別添資料 7)。

1 競合における優位性

10 (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

15 現在、わが国では *G. barbadense* を含めて栽培ワタの商業栽培はほとんど行われておらず、主に観賞用などの目的で栽培されているのみである。さらに、これまでにわが国に搾油用あるいは飼料用として輸入された栽培ワタの種子が、その輸送中にこぼれ落ちた後に、わが国の自然条件下で自生化したという報告はされていない。

20 本組換えピマワタと対照の非組換えピマワタとの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、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産性、脱粒性、休眠性及び発芽率(第一の 2-(6)-②-a-e、p18~20))を比較調査した結果、播種後 8 週目の草勢、播種後 8 週目の主茎長、第一花開花節より上の節数、第一朔果が開じょした節より上の節数、花粉のサイズ以外の項目では本組換えピマワタと対照の非組換えピマワタとの間に違いあるいは統計学的有意差は認められなかった。

25 播種後 8 週目の草勢に関しては、米国の 3 ヶ所のほ場 (アリゾナ州、カリフォルニア州、ニューメキシコ州)中 1 ヶ所(カリフォルニア州)において統計学的有意差が認められ、本組換えピマワタでは 2.3、対照の非組換えピマワタでは 4.0 であり、本組換えピマワタは対照の非組換えピマワタより草勢が上回っていた。この値は、同じカリフォルニア州で参考として供試された従来商業ピマワタ品種 4 品種の平均値の範囲内(1.0~3.3)に収まっており、従来品種の変動の範囲内であった。よって、播種後 8 週目の草勢は競合における優位性を高めるものではないと考えられた。

35 播種後 8 週目の主茎長に関しては、アリゾナ州及びニューメキシコ州のほ場において統計学的有意差が認められた。

アリゾナ州では本組換えピマワタが 74.9cm であったのに対し対照の非組換えピマワタでは 83.0cm であった。しかし、この値は、参考として供試された従来商業ピマワタ品種 4 品種の平均値の範囲内(74.5~84.0cm)であった。

- 5 ニューメキシコ州のほ場では本組換えピマワタが 45.5cm であったのに対し対照の非組換えピマワタでは 49.6cm であった。この値は参考として供試された従来商業ピマワタ品種 4 品種の平均値の範囲(46.2~52.0cm)を外れていた。しかし、この主茎長の若干の差異により競合における優位性が高まるとは考えにくいと判断された。

- 10 第一花開花節より上の節数に関しては、アリゾナ州のほ場の第一回目観察において統計学的有意差が認められ、本組換えピマワタでは 10.6 節、対照の非組換えピマワタでは 11.9 節であった。この値は、参考として供試された従来商業ピマワタ品種 4 品種の平均値の範囲(10.9~11.3 節)を外れていた。しかし、統計学的有意差が認められたのは、3ヶ所のほ場のうち 1ヶ所であり、かつ 3 回の
- 15 観察のうち第一回目の観察のみであり、アリゾナ州の他の 2 回(第二回目、第三回目の観察)及び他の 2ヶ所のほ場(カリフォルニア州、ニューメキシコ州)では統計学的有意差は認められなかった。よって、この若干の差異により競合における優位性が高まるとは考えにくいと判断された。

- 20 第一朔果が開じよした節より上の節数に関しては、ニューメキシコ州のほ場の第一回目の観察において統計学的有意差が認められ、本組換えピマワタでは 17.0 節、対照の非組換えピマワタでは 10.1 節であった。しかし、参考として供試された従来商業ピマワタ品種 4 品種の平均値の範囲内(11.5~19.3 節)に収まっており、従来品種の変動の範囲内であった。第一朔果が開じよした節より上の
- 25 節数は競合における優位性を高めるものではないと考えられた。

- 花粉のサイズに関しては、本組換えピマワタでは 105.5 μm 、対照の非組換えピマワタでは 102.6 μm であり、統計学的有意差が認められた。参考として供試された従来商業ピマワタ品種 4 品種の変動の範囲(103.3~105.0 μm)を外れてお
- 30 り、*G. barbadense* の従来商業品種(非組換えピマワタ)を用いた報告(115~117.9 μm ; Saad, 1960; Kakani *et al.*, 1999)の範囲も外れていた。しかし、観察された差は小さく(<3%)、この若干の差異により競合における優位性が高まるとは考えにくいと判断された。

- 35 本組換えピマワタには改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現により除草剤グリホサート耐性が付与されているが、グリホサートを散布されることが想定しにくい自

然条件下においてグリホサート耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えられない。また、除草剤グリホサートの散布が想定されるような場所では、その他の除草剤を用いるか、物理的に抜き取るといった方法で除去することが可能である。

5

10 以上のことから、本組換えピマワタは播種後 8 週目の草勢、播種後 8 週目の主茎長、第一花開花節より上の節数、第一朔果が開じょした節より上の節数、花粉のサイズにおいて統計学的有意差が認められ、除草剤グリホサート耐性を有するが、上記のようにこれらは競合における優位性を高めるほどの変化ではなく、またそれぞれの形質は互いに影響しあうとは考えにくい。したがってこれらの形質を全て併せ持ったとしても、競合における優位性が高まることはないと判断された。

15 したがって、本組換えピマワタにおいて、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

—

20

(3) 影響の生じやすさの評価

—

25 (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。

30 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

35 これまで *G. barbadense* 及び *G. hirsutum* が他感物質のように野生動植物等の生息又は生育に支障を及ぼす物質を産生することは知られていない。

5 本組換えピマワタと対照の非組換えピマワタ W2490 との間で、有害物質の産生性の有無を、鋤込み試験、後作試験、土壤微生物相試験により比較検討した結果、土壤微生物相試験において細菌数及び糸状菌数に統計学的有意差が認められた(表 2、p22)。しかし、これらの値は参考として供試された従来商業ピマワタ品種 6 品種の変動範囲内に収まっており、従来品種の変動の範囲内であった(第一の 1 - (3) - へ)。

10 以上のことから、本組換えピマワタに他の野生動植物の生育を阻害する有害物質が含まれているとは考えにくいと判断された。

15 本組換えピマワタは除草剤グリホサートに耐性を持つ CP4 EPSPS 蛋白質を産生する性質を有しているが、本蛋白質は既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有さないことが確認されている(第一の 2-(1)-ロ-②)。また、第一の 2-(1)-ロ-①に述べたように、CP4 EPSPS 蛋白質は芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素蛋白質であるが、本経路における律速酵素ではなく、EPSPS 活性が増大しても、本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている。実際に、モンサント・カンパニー
20 がこれまでに商品化した除草剤グリホサート耐性作物(ダイズ、ナタネ、ワタ、トウモロコシ)の食品/飼料安全性の評価の過程で、それら組換え作物種子中のアミノ酸組成を調べて、芳香族アミノ酸含量に元の非組換え作物との間で相違のないことが確認されている。したがって、CP4 EPSPS 蛋白質が原因で、本組換えピマワタ中に有害物質が産生されるとは考えにくいと判断された。

25 以上のことから有害物質の産生性に関して、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。

30 (2) 影響の具体的内容の評価

—

(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

以上のことから、有害物質の産生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。

5

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

10 わが国では本組換えピマワタが属する複2倍体栽培ワタ *G. barbadense* 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(日本の野生植物 木本 II)。よって、交雑性について、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。

15 (2) 影響の具体的内容の評価

—

(3) 影響の生じやすさの評価

20

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

25 以上のことから、交雑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。

4 その他の性質

30 上記の他に、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ピマワタの性質はないと判断された。

第三 生物多様性影響の総合的評価

5 第一の 1-(2)-①(p2)及び第一の 1-(3)(p4)に示したとおり、*G. barbadense* と *G. hirsutum* は、遺伝学的に類似していると考えられている。しかし、わが国においてワタの商業栽培自体行われておらず、またわが国の自然条件下における自生は報告されていない。さらに、表 1(p5)に示した *G. barbadense* と *G. hirsutum* の間で見られる形態学的・生理学的ないくつかの相違点が競合における優位性、有害物質の産生性及び交雑性に関与するものではないと考えられる。

10

以上のことから、今回本組換えピマワタ及びその宿主である W2490 を供試して米国のほ場で採取された試験結果に基づいてわが国における生物多様性影響評価を行えると判断した(別添資料 7)。

15 競合における優位性：

本組換えピマワタと対照の非組換えピマワタ W2490 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、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率)を比較検討した。

20 その結果、本組換えピマワタは播種後 8 週目の草勢、播種後 8 週目の主茎長、第一花開花節より上の節数、第一朔果が開じょした節より上の節数、花粉のサイズにおいて統計学的有意差が認められた(別添資料 7 の p6~7、Table2)。しかし、これらは競合における優位性を高めるほどの変化ではなく、またそれぞれの形質は互いに影響しあうとは考えにくい。したがってこれらの形質を全て併せ持ったとしても、競合における優位性が高まることはない判断された。

25

また、本組換えピマワタは改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現により非選択性除草剤グリホサートに高い耐性を持つが、グリホサートを散布されることが想定しにくい自然条件下においてグリホサート耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えられない。また、除草剤グリホサートの散布が想定されるような場所では、その他の除草剤を用いるか、物理的に抜き取るといった方法で除去することが可能である。

30

35 以上のことから、本組換えピマワタに関して、競合における優位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。よって、本組換えピマワタは、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。

有害物質の産生性：

これまで *G. barbadense* 及び *G. hirsutum* が他感物質のように野生動植物の生息又は生育に支障を及ぼす物質を産生することは知られていない。

5

本組換えピマワタと対照の非組換えピマワタとの間で、有害物質の産生性の有無を、鋤込み試験、後作試験、土壤微生物相試験により比較検討した結果、土壤微生物相試験において細菌数及び糸状菌数に統計学的有意差が認められた(別添資料 12 の p23、Table2)。しかし、細菌数、糸状菌ともに参考として供試した従来商業ピマワタ品種の変動範囲内に収まっており、従来品種の変動の範囲内であった。よって、意図しない有害物質の産生性はないと考えられた。

10

本組換えピマワタは除草剤グリホサートに耐性を持つ改変 CP4 EPSPS 蛋白質を産生する性質を有しているが、本蛋白質が有害物質であるとする報告はない。また、第一の 2-(1)-ロ-①に述べたように、CP4 EPSPS 蛋白質は芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素蛋白質であるが、本経路における律速酵素ではなく、EPSPS 活性が増大しても、本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている。実際に、モンサント・カンパニーがこれまでに商品化した除草剤グリホサート耐性作物(ダイズ、

15

20

ナタネ、ワタ、トウモロコシ)の食品/飼料安全性の評価の過程で、それら組換え作物種子中のアミノ酸組成を調べて、芳香族アミノ酸含量に元の非組換え作物との間で相違のないことが確認されている。したがって、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が原因で、本組換えピマワタ中に有害物質が産生されるとは考えにくいと判断された。

25

以上のことから、本組換えピマワタに関して、有害物質の産生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。

交雑性：

わが国には本組換えピマワタが属する複 2 倍体栽培ワタ *G. barbadense* 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ことから、本組換えピマ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。

35

よって、総合評価として、本組換えピマ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が生ずるおそれはないと判断した。

引用文献

- 5 Abou-Donia, M.B. (1976) Physiological Effects and Metabolism of Gossypol. *Residue Review* **61**: 126-160.
- Anderson, W.P. (1996) Weed science principles and applications, 3rd ed. West Publishing Company, St. Paul, MN. p. 27-37.
- 10 Ashour, N.I., Abd-El'Hamid, A.M. (1970) Relative salt tolerance of Egyptian cotton varieties during germination and early seedling development. *Plant and Soil* **33**: 493-495.
- BeeCulture; accessed July 15, 2009
15 http://www.beeculture.com/content/pollination_handbook/chap_9.html
- Brubaker, C.L., Bourlamd, F.M., Wendel, J.E. (1999) The origin and domestication of cotton. Chapter 1.1. In: CW Smith, JT Cothorn, eds. Cotton: Origin, History, Technology, and production. John Wiley and Sons, Inc., New York: 3-31.
20
- Christiansen, M.N., 1963, Influence of Chilling upon Seedling Development of Cotton. *Plant Physiology* 38:520-22
- Christiansen, M.N., 1967. Periods of sensitivity to chilling in germinating cotton. *Plant*
25 *Physiology* 42:431-433.
- Duke, J.A. (1983) *Gossypium hirsutum* L: Handbook of energy crops.
http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke-energy/Gossypium_hirsutum.html.
- 30 Frank, A.W. (1987). Food uses of cottonseed protein. Chapter 2. In: B.J.F Hudson, ed. *Development in Food proteins*, Volume 5. Elsevier Applied Science, New York. pp 31-80.
- Fryxell, P.A. (1984) Taxonomy and germplasm resources. Chapter 2. In: R.J. Kohel, C.F.

- Lewis, eds. *Cotton*. American Societies of Agronomy, Crop Science and Soil Science, Madison, WI. Pp 27-58.
- 5 Galal, H.E., Abou el Fittouh, H.A., Morshed, G. (1972) Effect of direction and distance on cross pollination in Egyptian cotton (*Gossypium barbadense* L.). *Experimental Agriculture* **8**: 67-71.
- 10 Gannaway, J.R. (1994) Breeding for Insect Resistance. Chapter 22. In: GA Matthews, JP Tunstall, eds. *Insect Pests of Cotton*, Edition 1. C.A.B. International, Wallington.: 431-453.
- ICAC. (2009). *Extra-Fine Cotton Update*. Revised: May 5, 2009, International Cotton Advisory Committee, Washington, D.C.
- 15 Ikisan. http://www.ikisan.com/links/ap_cottonHybrid%20Cotton.shtml
- Jenkins, J.N. (2003) Cotton. In: *Traditional crop breeding practices: an historical review to serve as a baseline for assessing the role of modern biotechnology*. OECD.: 61-70.
- 20 Kakani, A., S. Saha, V.T. Sapra, A. Zipf, D.M. Stelly. (1999) Genetic mechanism and chromosomal location of pollen-specific gene(s) in *Gossypium*. *Crop Sci.* **39**: 668-673.
- 25 Kerkhoven and Mutsaers. 2003. *Plant Resources of Southeast Asia*. No. 17, Fiber Plants.
- 30 Khalifa, H., Khatab, A.H., Wahb, A., Ahmen, K., EL-Tinay, A.H. (1982) Variation of Chemical Composition of Cotton Seeds With Respect to Species, Picking Time and Location. *Cotton Seeds*: 171-180.
- Khan, S.A., Hussain, D., Askari, E., Steward, J.M., Malik, K.A., Zafar, Y. (2000) Molecular phylogeny of *Gossypium* species by DNA fingerprinting. *Theoretical and Applied Genetics* **101**: 931-938.
- 35 Khattab, A.H., Khalifa, H., EL-Tinay, A.H. (1977) Chemical composition of seeds of

- some species of the genus *Gossypium*. *Journal of Agricultural Science Cambridge* **88**: 55-59.
- 5 Kittock, D.L., Taylor, B.B., Hofmann, W.C. (1987). Partitioning Yield Reduction from Early Cotton Planting. *Crop Science* 27: 1011-1015.
- Kittock, D. L., Turcotte, E. L. and Hofmann, W. C. (1988), Estimation of Heat Tolerance Improvement in Recent American Pima Cotton Cultivars. *Journal of Agronomy and Crop Science* 161: 305–309.
- 10 Kulkarni, A.S., R.R. Khotpal, P.B. Shingwekar, and H.A. Bhakare. 1992. Glycolipid composition of some seed varieties of cotton. *J. Food Sci. Technol. India*. 29(6):366-368.
- 15 Lee, J.A. (1984) Cotton, Agronomy No. 24, p25, Soil Science Society of America, Inc. (Kohel, R.J. and C.F. Lewis, eds.) Wisconsin. USA
- Lingenfelter, D.D. and N.L. Hartwig. 2003. Introduction to weeds and herbicides. Agricultural Research and Cooperative Extension CAT UC175. The Pennsylvania State University, University Park.
- 20 Llewellyn, D. and G. Fitt. (1996) Pollen dispersal from two field trials of transgenic cotton in the Namoi Valley, Australia. *Molecular Breeding* **2**: 157-166.
- 25 Loper, G.M. and D.D. Davis. 1985. Disparity of Cotton Pollen Dispersal by Honey Bees Visiting Upland and Pima Pollen Parents. *Crop Sci.* 25:585-589.
- 30 Matthews, G.A. (1994) Jassids (Hemiptera: Cicadellidae). Chapter 14. In: GA Matthews, JP Tunstall, eds. *Insect Pests of Cotton*, Edition 1. C.A.B. International, Wallingford.: 353-357.
- Matthews, G.A., Tunstall, J.P. (1994) *Insect pests of cotton*. Matthews, G.A., Tunstall, J.P. (eds). C.A.B. International, Wallingford, England.
- 35 McGregor, S.E. (1976) Insect Pollination of Cultivated Crop Plants, Agricultural

Handbook No. 496, United States Department of Agricultural Research Service,
Washington, D.C.: 171-190.

- 5 NCPA. (1993) Cottonseed Oil. L.A.Jones and C.C.King (eds.). National Cottonseed
Products Association, Inc., and The Cotton Foundation. Pp.1-60.
- NCPA. (1997 (estimated)). Cottonseed Feed Products Guide. National Cottonseed
Products Association.
- 10 NCPA. (1999). Cottonseed and Its Products. CSIP 10th ed. National Cottonseed
Products Association.
- Niles, G.A. and Feaster, C.V. (1984) Cotton, Agronomy No.24, P205, Soil Science
Society of America, Inc., (Kohel, R.J. and C.F. Lewins, eds.) Wisconsin, USA
- 15 O'Brian, R.D. (2002) Cottonseed Oil, Chemistry and Technology of Oils and Fats,
Volume 6. In: Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and
Uses. Blackwell Publishers, Oxford. Pp. 203-230.
- 20 OECD. (2004) Consensus Document on Compositional Considerations for New
Varieties of Cotton (*Gossypium hirsutum* and *Gossypium barbadense*): Key Food
and Feed Nutrients and Anti-Nutrients. ENV/JM/MONO (2004) 16. Series on the
Safety of Novel Foods and Feeds, No.11.
- 25 OECD. 2008. Consensus Document on the Biology of Cotton (*Gossypium* spp.).
ENV/JM/ MONO(2008)33. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in
Biotechnology No. 45.
- OGTR. 2008. The Biology of *Gossypium hirsutum* L. and *Gossypium barbadense* L.
30 (Cotton), Ver. 2. Office of the Gene Technology Regulator, Australian Government
Department of Health and Ageing, Canberra, Australia.
- Paiziev, A.A. and V.A. Krakhmalev. 2006. Microstructure of Dormant Cotton Seeds.
Asian J. Plant Sci. 5(3):492-497.
- 35 Pandey, S.N. and Thejappa, N. (1981) Fatty acid composition in Indian cottonseed oil.

Cotton Technology research laboratory (ICAR), Mutangs, Bombay.

- Pandey, S.S. and V.V.R. Subrahmanyam. 1987. Compositional studies on cottonseed and its oils. *J. Oil Technol. Assoc. India.* 19:38-40.
- 5
- Percival, A. E., J.F. Wendel, and J.M. Stewart. (1999) Taxonomy and Germplasm Resources, in *Cotton: Origin, History, Technology, and Production.* Pp 33-63. Smith, W.C. (ed.). John Wiley and Sons, Inc.
- 10
- Percy, R.G., M.C. Calhoun, and H.L. Kim. 1996. Seed gossypol variation within *Gossypium barbadense* L. cotton. *Crop Sci.* 36:193-197.
- Reddy, K.R., Hodges, H.F., McKinioon, J.M., Wall, G.W. 1992a Temperature effects on Pima cotton growth and development. *Agronomy Journal* **84**: 237-243.
- 15
- Reddy, K.R., Reddy, V.R., Hodges, H.F. 1992b Temperature effects on early season cotton growth and development. *Agronomy Journal* **84**: 229-237.
- Reddy, K.R., Hodges, H.F., McKinion, J.M. 1993 Temperature effects on Pima cotton leaf growth. *Agronomy Journal* **85**: 681-686.
- 20
- Reddy, K.R., H.F. Hodges, and J.M. McKinion. 1995. Carbon dioxide and temperature effects on pima cotton development. *Agronomy Journal.* 87:820-826
- 25
- Reddy, K.R. and H.F. Hodges. 2006. Exploring the limitations for cotton growth and yield. *Journal of New Seeds* 8(2):1-22.
- Reed, W. (1994) *Earias* Spp. (Lepidoptera: Noctuidae). Chapter 5. In: GA Matthews, JP Tunstall, eds. *Insect Pests of Cotton*, Edition 1. C.A.B. International, Wallingford.: 151-176.
- 30
- Robinson, P.H., G. Getachew, E.J. de Peters, and M.C. Calhoun. 2001. Influence of variety and storage for up to 22 days on nutrient composition and gossypol level of Pima cottonseed (*Gossypium* spp.). *Anim. Feed Sci. Technol.* 91:149-156.
- 35
- Saad, S.I. (1960) The sporoderm stratification in the Malvaceae. *Pollen et Spores* **2**: 13-

41.

Schneider, E.L., Loke, S.P., Hopkins, D.T. (1968) Gas-liquid chromatographic analysis of cyclopropenoid fatty acids. *Journal of the American Oil Chemists Society* **45**:
5 585-590.

SeedQuest; accessed July 15, 2009

<http://www.seedquest.com/News/releases/2005/october/13698.htm>

10 Sengonca, C., Lababidi, M.S., Gerlach, S. (1986). The Effects of Different Cotton Varieties on the Carmine Spider Mite, *Tetranychus cinnabarinus* Bosid. (Acri: Tetranychidae). *Plant Breeding* **97**: 297-303.

Smith, C.W. (1995). Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Chapter 6. In: Crop Production: Evolution, History, and Technology, John Wiley and Sons, Inc., New York. Pp.
15 287-349.

Smith, W.C. (1999). Production statistics. Chapter 3.1. In: WC Smith, JT Cothren, eds. *Cotton: Origin, History, Technology and Production*. John Wiley and Sons, Inc.,
20 pp 435-449.

Umbeck, P. F., K. A. Barton, E. V. Nordheim, J.C. McCarty, W.L. Parrot, and J.N. Jenkins. (1991) Degree of pollen dispersal by insects from a field test of genetically engineered cotton. *J. of Economic Entomology* **84**(6): 1943-1950.
25

Unruh, B.L., Silvertooth, J.C. (1997) Planting and irrigation termination timing effects on the yield of Upland and pima cotton. *Journal of Production Agriculture* **10**: 74-79.

30 USDA. (2001) The Classification of Cotton. USDA Agricultural Handbook. P.566.

USDA. (Oct 2008) World Agricultural Production

Web: http://www.fas.usda.gov/wap_arc.asp

35 USDA (2006) Opinion Letter on Approved Events Introgressed into Pima Cotton. An unpublished memorandum.

- USDA-FAS. (2005) Oilseeds: World Markets and Trade. Circular Series FOP 7-05, July, 2005.
- 5 USDA-AMS (United States Department of Agriculture, Agriculture Marketing Service). 2008. Cotton Price Statistics 2007-2008 Annual Report. Vol. 89, No. 13.
- Wang, L., Dong, M., Paterson, A.H. (1995) The distribution of *Gossypium hirsutum* chromatin in *G. barbadense* germ plasm: molecular analysis of ontogenetic plant breeding. *TAG Theoretical and Applied Genetics* 91: 1153-1161.
- 10
- Wise, R.R., Sassenrath-Cole, G.F. and Percy, R.G. 2000. A comparison of leaf anatomy in field-grown *Gossypium hirsutum* and *G. barbadense*. *Ann. Bot.* 86 : 731-738.
- 15 Wu, Z., Soliman, K.M., Zipf, A., Saha, S., Sharma, G.C., Jenkins, J.N. (2005) Isolation and Characterization of genes Differentially Expressed in Fiber of *Gossypium barbadense* L. *The Journal of Cotton Science* 9: 166-174.
- Yuan, Y.L., Chen, Y.H., Tang, C.M., Jing, S.R., Liu, S.L., Pan, J.J., Koher, R.J., Zhang, T.Z. (2000) Effects of the dominant glandless gene Gl_2^e on agronomic and fibre characters of Upland cotton. *Plant breeding* 119: 59-64
- 20
- 栗原 浩編 (1981) 工芸作物、農文協、
- 25 佐竹 義輔 編 (2002) 日本の野生植物 木本 II、平凡社
- 新編 飼料ハンドブック(1998年)、社団法人 日本科学飼料協会
- 今堀 和友、山川 民夫 著 (1992) 生化学辞典、東京化学同人
- 30 沼田 真 吉沢 長人編 (1997) 日本原色雑草図鑑、財団法人 日本植物調節剤研究協会
- 平成 20 年 財務省貿易統計 (2009) (ウェブ版)
- 35 Web: <http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm>

緊急措置計画書

平成22年2月5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4丁目10番10号
- 10 第一種使用規程の承認を申請している除草剤グリホサート耐性ピマワタ(改変 *cp4 epsps*, *Gossypium barbadense* L.)(MON88913, OECD UI : MON-88913-8) (以下、「本組換え体」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おそれがあると、科学的根拠に基づき立証された場合、以下の措置を執ることとする。

15

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

日本モンサント株式会社

平成22年2月現在

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 河内研究農場 農場長
	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
	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 バイオ規制・環境部
	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 バイオ規制・環境部

5 *: 管理責任者

2 第一種使用等の状況の把握の方法

10 弊社は、モンサント・カンパニーと連絡をとり、種子、穀物生産、収穫物の状況に関し、種子製造、種子供給、販売、穀物取扱業者など使用の可能性のある関係各者から可能な限り情報収集を行う。

15

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 弊社は、モンサント・カンパニーと連絡をとり、生産農家や穀物取扱業者などの取引ルートへ本組換え体の適切な管理、取扱いなどの生物多様性影響のリスクとその危機管理計画について情報提供を行う。

10 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

15 生物多様性影響を生ずるおそれがあると認められた場合、弊社は、モンサント・カンパニーの協力のもと、本組換え体が環境中に放出されないように必要かつ適切な措置をとるとともに、環境中に放出された本組換え体は、環境中で生存しないように不活化する。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

20 弊社は、信憑性のある証拠及びデータにより生物多様性影響が生ずるおそれが示唆された場合、直ちに農林水産省や環境省に報告する。

除草剤グリホサート耐性ピマワタ(改変 *cp4 epsps*, *Gossypium barbadense* L.)
(MON88913, OECD UI: MON-88913-8)の別添資料リスト

- 5 別添資料 1 除草剤グリホサート耐性ワタ(改変 *cp4 epsps*, *Gossypium hirsutum* L.)
(MON88913, OECD UI:MON-88913-8) 評価書【一部社外秘につき非
開示】
- 別添資料 2 Stability of MON 88913 in Three Generations of *Gossypium barbadense* :
MSL0021540 【社外秘につき非開示】
- 10 別添資料 3 Assessment of CP4 EPSPS Protein Levels in Cotton Leaf and Seed from
MON 88913 in *Gossypium barbadense* Produced in 2007 U.S. Field Trials :
MSL0021554 【社外秘につき非開示】
- 別添資料 4 Amended Report for MSL0021556: Western Blot Analysis of CP4 EPSPS
Protein in Cotton Leaf from MON 88913 in *Gossypium barbadense* across
Multiple Generations : MSL0021860 【社外秘につき非開示】
- 15 別添資料 5 Roundup Ready[®] Flex Cotton MON 88913 Event Specific EndPoint
TaqMan PCR for Seed Pools of 1:150 【社外秘につき非開示】
- 別添資料 6 Verification of Performance of "Roundup Ready Flex Cotton MON 88913
Event Specific EndPoint TaqMan PCR for Seed Pools of 1:150" on
20 *Gossypium barbadense* MON 88913 : RAR-10-165 【社外秘につき非開
示】
- 別添資料 7 Phenotypic Evaluation of Glyphosate-Tolerant *Gossypium barbadense*
MON 88913 in U.S. Field Trials During 2007 : RPN-07-323 【社外秘につ
き非開示】
- 25 別添資料 8 An Assessment of the Effect of Cold Stress on Glyphosate-Tolerant
Gossypium barbadense MON 88913 under Growth Chamber Conditions :
RPN-08-180 【社外秘につき非開示】
- 別添資料 9 Viability and Morphology Evaluation of Pollen from Glyphosate-Tolerant
Gossypium barbadense MON 88913 Produced in a Greenhouse : RPN-07-
271 【社外秘につき非開示】
- 30 別添資料 10 Dormancy and Germination Evaluation of Glyphosate-Tolerant *Gossypium*

barbadense MON88913 Using Seed Produced in the U.S. in 2007 : RPN-07-274 【社外秘につき非開示】

5 別添資料 11 Shoot and Soil Medium Residual Effects Evaluation of Glyphosate-Tolerant *Gossypium barbadense* MON 88913 : REG-08-333 【社外秘につき非開示】

10 別添資料 12 Enumeration of Soil Microorganisms from a Greenhouse Study Assessing Potential Residual Effects from Glyphosate-Tolerant MON 88913 in *Gossypium barbadense* : MSL0021563 【社外秘につき非開示】