

除草剤グリホサート耐性クレーピングベントグラス(*cp4 epsps, Agrostis stolonifera*
L.) (ASR368, OECD UI: SMG-36800-2)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	3
(2) 使用等の歴史及び現状	4
(3) 生理学的及び生態学的特性	5
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	6
(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	11
(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	15
(2) 使用等の方法	15
(3) 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	16
(4) 実験室等での使用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	16
(5) 国外における使用等に関する情報	16
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	17
2 有害物質の産生性	18
3 交雑性	19
第三 生物多様性影響の総合的評価	21
緊急措置計画書	22

第一種使用規程承認申請書

平成 16 年 5 月 20 日

農林水産大臣 亀井善之 殿
環境大臣 小池百合子 殿

申請者 氏名 日本モンサント株式会社
代表取締役社長 山根 精一郎 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	除草剤グリホサート耐性クレーピングベントグラス(<i>cp4 epsps, Agrostis stolonifera</i> L.) (ASR368, OECD UI: SMG-36800-2)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	隔離ほ場における栽培、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	所在地：茨城県稲敷郡河内町生板字堤向 4475-2 名称：日本モンサント隔離ほ場 使用期間：承認の日から平成 17 年 11 月 30 日まで 1 隔離ほ場の施設 (1) 7,836 m ² の隔離ほ場の外周を囲むように約 1.5m のフェンスを設置している。 (2) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者名を明示した標識を掲げている。 (3) 隔離ほ場で使用した機械又は器具、隔離ほ場で作業に従事した者の靴等に付着した遺伝子組換え農作物を洗浄するための洗い場、隔離ほ場で使用した靴等を保管する靴箱等を設置している。

(4) 3,196 m²の隔離畑を囲むように防風網を設置している。

2 作業要領

- (1) 試験対象植物以外の植物の隔離ほ場内における生育を最小限に抑えるため、隔離ほ場内の試験の目的にあわせて雑草管理は適宜行う。
- (2) 種子及び砂を混和した土壌を栽培区画の表層に5mm以内の厚さで敷き、鎮圧後に不織布で被覆する。栽培終了後は、栽培区画に植物体全体を枯死させることができる除草剤(グリホサートを有効成分とするものを除く)を散布し植物体全体を枯死させた後、枯死した植物体を草焼きバーナーを用いて焼却する。その後、栽培区画に十分に灌水し、播種の際に敷いた土壌を草焼きバーナーを用いて加熱することにより残存種子を死滅させる。栽培終了後1年間は隔離ほ場内を継続的に観察し、クリーピングベントグラスの生育が確認された場合は、当該クリーピングベントグラスを地下部と共に抜き取り、隔離ほ場内に設置されている焼却炉で焼却する。
- (3) 本組換えクリーピングベントグラスを隔離ほ場の外に運搬し又は保管する場合は、密閉された容器に本組換えクリーピングベントグラスを入れる。
- (4) 隔離ほ場で使用する機械又は器具は隔離ほ場専用の物を使用する。やむを得ずほ場外に持ち出す際には十分に洗浄し、隔離ほ場外に土や植物残渣を持ち出す事のないように十分留意する。
- (5) 隔離ほ場で作業に従事した者の靴等は、隔離ほ場内に設置した洗い場で洗浄する。
- (6) 本組換えクリーピングベントグラスの花粉飛散を防止するため、調査に必要な無い穂については切除すると共に、調査に必要な穂には開花前から開花終了後まで袋がけを行う。
- (7) 隔離ほ場内の設備については随時点検、整備する。
- (8) (1)～(6)に掲げる事項を使用等をするものに遵守させること。
- (9) 生物多様性影響のおそれがあると認められたときに添付書類の緊急措置計画書に定められた生物多様性影響を効果的に防止するための措置を確実に講ずること。

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：クリーピングベントグラス、ハイコヌカグサ。 英名：creeping bentgrass.

学名： *Agrostis stolonifera* L.

ロ．宿主はイネ科(*Gramineae*)ヌカボ属(*Agrostis* 属)に属するクリーピングベントグラス(*Agrostis stolonifera* L.)の種子繁殖性品種(異質四倍体、 $2n=4x=28$)である Backspin である。

ハ．*A. stolonifera* の原産地については意見が統一されていないが、一般にはユーラシア大陸と北アメリカ大陸の冷涼な気候の地域であると考えられており、現在では世界中の同様の気候の地域に帰化している。自生もしくは帰化した *A. stolonifera* は海岸、山地の草地、氾濫原、遷移の初期状態にある森林などを含めた湿潤で肥沃な地域に多く生育している。ユーラシア大陸の牧草地では何世紀にも渡って一般的に見られる種である。

我が国では *Agrostis* 属の自生種は 7 種(1 亜種を含む)が報告されており、南千島・北海道～九州の高山の草地、岩地に生育するミヤマヌカボ(*A. flaccida* Hack.)、北海道・本州中部以北の高山草原に生育するコミヤマヌカボ(*A. mertensii* Trin.)、新潟県西部の深山に稀に生育するユキクラヌカボ(*A. hideoi* Ohwi)、北海道～九州の山地の林中に生育するヤマヌカボ(*A. clavata* Trin.)、ヤマヌカボの亜種であり日本全土の平地及び丘陵地に生育するヌカボ(*A. clavata* Trin. var. *nukabo* Ohwi)、北海道・本州中北部の日当たりの良い山地の草原や路傍に生育するエゾヌカボ(*A. scabra* Willd.)、関東以西～九州の半日陰の湿地にやや稀に生育するヒメコヌカグサ(*A. nipponensis* Honda) が挙げられる(日本の野生植物 単子葉植物)。また、海外から我が国に移入され帰化した *Agrostis* 属としては北海道・本州に野生化したクリーピングベントグラス(ハイコヌカグサ)(*A. stolonifera* L.)、北海道～九州の湿った草地に帰化したレッドトップ(コヌカグサ)(*A. alba* L.)の 2 種の生育が報告されている。

クリーピングベントグラスは一般的に湿潤で肥沃な土地に生育しており、理想的条件でない生育地ではより適応した草種に競合性において劣るため、優占雑草化することは

ない。また、米国において *Agrostis* 属が主要雑草種として報告された例は無い。

なお、わが国においては、近年水田や水田畦畔に発生するイネ科ほふく性多年生雑草のなかにクリーピングベントグラス(ハイコヌカグサ)の報告が見られるほか、*Agrostis* 属であるレッドトップ(コヌカグサ)が寒冷地のコムギ作における雑草種として報告されている。しかし、「草地の動態に関する研究」第三報～第五報(農林水産省 畜産草地研究所)、第六報(農業技術研究機構 畜産草地研究所)において *Agrostis* 属に関する報告はなく、米国で優占雑草化した例が無いのと同様にわが国でも優占雑草化は無いと見られる。

(2) 使用等の歴史及び現状

イ . *Agrostis* 属の芝草としての利用の歴史は古く、18 世紀には芝地にはベントグラスのような草丈の低い草種が適するとの記載が文献に見られる。現在のようにゴルフ場のグリーンに積極的に使用されるようになったのは 1900 年代初頭に南ドイツよりアメリカにサウスジャーマン・ミックス・ベントグラスとして種子が移入されてからである。サウスジャーマン・ミックス・ベントグラスはコロニアルベントグラス(*A. capillaris*)、ベルベットベントグラス(*A. canina*)、クリーピングベントグラスの 3 種類の草種の種子が混ざったものであり、アメリカで使用されるうち、1920 年代からグリーンに適する葉が密で葉色の美しいクリーピングベントグラスのみが選抜され利用されるようになった。初期のクリーピングベントグラスは栄養繁殖型の品種であり、病害など環境抵抗性が弱かったり苗の増殖に限界があったため、種子繁殖型品種が育成されてからは種子繁殖型品種が主流となった。

クリーピングベントグラスは他殖性であり、自殖して遺伝的に固定すると自殖弱勢が生ずる。このため種子繁殖型品種は遺伝的に優れた複数の系統をほ場で交雑させて得た合成品種を用いるため、品種内でも遺伝的に固定されていない。

我が国では明治年間に北海道で輸入牧草として初めて導入され、現在では一部わが国の自然環境下に自生種が見られるとの報告があるが、優占雑草化したという報告は無い。

ロ . 現在の主たる用途はゴルフ場のグリーンで、北海道から九州にかけて広く使用されている。しかしクリーピングベントグラスは寒地型芝草であるため耐暑性が弱く、病害にも弱いため、関東以西で良好な生育を保ちつつ越夏させる事は高度な管理技術を要する。北海道から関東地方にかけては、公園、競技場、家庭などの芝地用草種としても使用されているが、高度な管理が必要な事から、法面緑化用資材としては使用されていない(http://www.env.go.jp/council/13wild/y132-03/mat_02_9_3.pdf)。農林水産省植物防疫所の輸入植物品目別・国別検査表によると、日本は平成 14 年には *Agrostis* 属の種子を約 118 ト

ン輸入しており、これらの種子は殆ど全て米国から輸入されている。

わが国でのクリーピングベントグラスの慣行栽培法は以下のとおりである。播種は3～6月もしくは8～10月に行われるのが一般的である。播種時は排水を良くし、土壌が固結しないように砂を多く混合した床土を20cm程の厚さに準備する。床土の表層15～20cmに基肥として窒素、リン酸、カリを成分量で10～30g/m²混合する。播種量は8～10g/m²とし、播種後にローラーで鎮圧し種子と床土を密着させる。播種後は散水、施肥、除草、病害虫防除などの初期養生を行う。ある程度草丈が伸びた時点で刈込みを行う。ゴルフ場で最も利用されているグリーンでは生育量の少ない時期は週に1日程度の刈込みで十分だが、生育最盛期の4～10月にはほぼ毎日刈込みを行う。

(3) 生理的及び生態学的特性

イ 基本的特性

クリーピングベントグラスは多年生のイネ科草本で、草丈は5～100cmになり、地上を這うほふく茎は200cmになる。ほふく茎の各節より発根・発芽し、独立した新たな植物体を形成する。花序の長さは1～30cmであり、緑から紫がかかった小花からなる2～3mmの小穂をつける。

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

クリーピングベントグラスは寒地型芝草に分類され、生育適温は16～24であり、30～35になると生育障害を起こし、著しい場合には枯死する。耐寒性は強く、最低生存温度は-35との報告があるが、0以下になると地上部は凍害にあう事があり、4以上で成長を開始する。種子の発芽適温は20～25であり、我が国では3～6月もしくは8～10月が播種適期とされる。長日植物であるが、花芽分化には春化が必要である。これら温度条件等の他、クリーピングベントグラスの生育には水はけがよく肥沃な壤質砂土あるいは砂壤土が適し、最適土壌pHはpH5.5～6.5である。

ハ 繁殖又は増殖の様式

クリーピングベントグラスの脱粒性は弱いですが、成熟期後に長期間放置された場合には少量の種子が脱粒する場合がある。種子は小さく軽いため、飛散及び自然落下により地表に落ちる。クリーピングベントグラスの収穫された種子では休眠性は観察されない。しかし、発芽には光による刺激が必要なため、種子は地表から5cm以下に埋没した場合には発芽しない。種子の寿命は25年と報告されている。

クリーピングベントグラスは種子繁殖及び栄養繁殖により増殖する。栄養繁殖の場合にはほふく茎の各節より発根・発芽し、独立した新たな植物体を形成する。自然条件下では染色体が異数性を示し不稔であるために栄養繁殖でのみ増殖するクリーピングベ

ントグラスも存在するが、これらは、環境の変動が非常に小さく、1 個体が長期間生存可能であり有性生殖の優位性がない条件でのみ観察される。

クリーピングベントグラスは典型的な他殖性植物であり、自家不和合性が高い。交雑可能なクリーピングベントグラスの近縁種としては *Agrostis* 属と *Polypogon* 属があげられる。*Agrostis* 属の種間交雑については過去に多くの報告がある。これらの報告において、形成された種間雑種は両親の中間型の形態を示すため、両親に比較して競合の優位性を示す事はないと考えられる。*Agrostis* 属内の種間交雑による雑種(F1)の形成は可能であるが、両親のゲノム構造が異なり雑種(F1)個体は異数体となるため、雑種(F1)個体では種子もしくは配偶体の形成能力は極めて低く、完全に不稔性となるか稔性は著しく低下するとの報告がある。また、クリーピングベントグラスと *Polypogon* 属との属間交雑については、雑種個体は全て不稔となることが報告されている。さらに、*Agrostis* 属の種間雑種及び属間雑種が自然条件下において優占雑草化したという報告はない。

クリーピングベントグラスは風媒花である。花粉は球形であり、そのサイズは、米国モンサント社の試験において約 42 μm であった。また、花粉の寿命は米国モンサント社の試験において平均して 1.5 ~ 2.5 時間であった。クリーピングベントグラスの花粉が飛散する距離は最大 292m という報告もある。クリーピングベントグラスの花粉に関する文献は少なく、花粉の生産量や稔性に関する報告はない。

二 有害物質の産生性

クリーピングベントグラスにおいて、自然条件下で周囲の野生動植物等の生育または生息に影響を及ぼす有害物質の産生は報告されていない。

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

除草剤グリホサート耐性クリーピングベントグラス(*cp4 epsps, Agrostis stolonifera* L.) (ASR368, OECD UI: SMG-36800-2) (以下、「本組換えクリーピングベントグラス」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、表 1(p9)に示したとおりである。

ロ 構成要素の機能

本組換えクリーピングベントグラスの作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能は表 1(p9)に示した。

グリホサートは、非選択的な除草剤であるラウンドアップの有効成分で、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路中の酵素の一つである 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素(EPSPS)(E.C.2.5.1.19)と特異的に結合してその活性を阻害する。そのため植物はグリホサートを処理すると EPSPS が阻害されることにより蛋白質合成に必須の芳香族アミノ酸を合成できなくなり枯れてしまう。*cp4 epsps* 遺伝子によって産生される CP4 EPSPS 蛋白質は、グリホサート存在下でも活性阻害を受けないため、結果として本蛋白質を発現する組換え植物ではシキミ酸経路が正常に機能し、グリホサートを散布しても生育することができる。

尚、EPSPS は植物や微生物に特有の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の一つであり、植物中では葉緑体または色素体に存在する。シキミ酸経路は植物の固定する炭素の5分の1に関与すると考えられる重要な代謝経路である。本経路は、その第一段階に関与する 3-デオキシ-D-アラビノ-ヘプツロソン酸-7-リン酸(3-deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate, DAHP)合成酵素によって調節を受けて制御されるが、DAHP からコリスミ酸が生成されるまでの段階では、中間代謝物質や最終生成物によって阻害されたり抑制される可能性が極めて低いことが明らかにされている。EPSPS は DAHP からコリスミ酸が生成されるまでの段階の間で機能する酵素であり、このことは EPSPS が本経路における律速酵素ではないことを示唆している。従って、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、通常の40倍のEPSPSを生成する植物細胞において、芳香族アミノ酸が過剰に合成されないことが報告されており、加えて、モンサント社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。これらのことは EPSPS が本経路における律速酵素ではないことを支持している。また、EPSPS はホスホエノールピルビン酸塩(PEP)とシキミ酸-3-リン酸塩(S3P)から、EPSP と無機リン酸塩(Pi)を生じる可逆反応を触媒する酵素であり、これらの基質と特異的に反応することが知られている。これら以外に唯一 EPSPS と反応することが知られているのは S3P の類似体であるシキミ酸であるが、その反応性は S3P との反応性の200万分の1にすぎず、生体内で基質として反応するとは考えられない。

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、データベース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有していなかった。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

本組換えクリーピングベントグラスの作出に用いられたベクターは、大腸菌 (*Escherichia coli*) のプラスミド pUC 119 などをもとに構築された。

ロ 特性

本ベクターは大腸菌における構築ベクターの選抜マーカー遺伝子としてカナマイシン/ネオマイシン耐性遺伝子(*nptII* 遺伝子)、大腸菌での複製を可能にする複製開始点領域である ori より構成される。各構成要素の詳細は表 1(p9)に示した通りである。

本組換えクリーピングベントグラスの作出に用いられた PV-ASGT08 の全塩基数は 9,308bp である。

本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

本組換えクリーピングベントグラスの作出には、上記の *nptII* 遺伝子を持つ pUC119 由来のベクターを元に、二つの *cp4 epsps* 遺伝子カセット ([P-ract1/ract1 intron]-[CTP2]-[CP4 EPSPS]-[NOS 3']及び[e35S]-[Zmhsp70]-[CTP2]-[CP4 EPSPS]-[NOS3']) を連結したプラスミド PV-ASGT08 を用いた。植物細胞に遺伝子を導入する際には、この PV-ASGT08 を制限酵素 *HindIII* で処理し、ベクター領域を除いた直鎖状 DNA 断片 (PV-ASGT08L) を用いた。なお、*cp4 epsps* 遺伝子カセットを 2 種類用いているのは、植物体のどの生育ステージでも安定に CP4 EPSPS 蛋白質を発現させるためである。

表 1 除草剤グリホサート耐性クリーピングベントグラス ASR368 の作出に
用いられたプラスミドベクターPV-ASGT08 の構成要素の由来及び機能

構成要素	由来及び機能
<i>cp4 epsps</i> 遺伝子カセット	
P-ract1	イネ由来のアクチン 1 遺伝子のプロモーター領域。目的遺伝子を発現させる。
ract1 intron	イネ・アクチン遺伝子のイントロン。スプライシングの効率を高めることによって、目的遺伝子を発現させる。
CTP 2	シロイヌナズナの <i>epsps</i> 遺伝子の中で、EPSPS 蛋白質の N 末端側に存在する葉緑体輸送ペプチド部分をコードする配列である。目的蛋白質を細胞質から葉緑体へと輸送する。
<i>cp4 epsps</i>	<i>Agrobacterium</i> CP4 菌株由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子。機能の詳細については p4-5 に記載した。
NOS 3'	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> T-DNA 由来のノパリン合成酵素(NOS)遺伝子の 3'非翻訳領域で、mRNA の転写を終結させ、ポリアダニル化を誘導する。
<i>cp4 epsps</i> 遺伝子カセット	
E35S	カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)の 35S プロモーター及び二重エンハンサー領域を持つ。全組織中に恒常的に目的遺伝子を発現させる。
ZmHsp70 Intron	トウモロコシの熱ストレス蛋白質(heat shock protein)遺伝子のイントロン。ZmHsp70 イントロンは植物における外来遺伝子の発現量を高めるために用いられる。
CTP2	シロイヌナズナの <i>epsps</i> 遺伝子の中で、EPSPS 蛋白質の N 末端側に存在する葉緑体輸送ペプチド部分をコードする配列である。目的蛋白質を細胞質から葉緑体へと輸送する。
<i>cp4 epsps</i>	<i>Agrobacterium</i> CP4 菌株由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子。機能の詳細については p4-5 に記載した。
NOS 3'	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> T-DNA 由来のノパリン合成酵素(NOS)遺伝子の 3'非翻訳領域で、mRNA の転写を終結させ、ポリアダニル化を誘導する。
その他の構成要素	
Ori	<i>E. coli</i> プラスミド pUC119 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。
<i>NptII</i>	大腸菌のトランスポゾン Tn5 より単離された遺伝子で、neomycin phosphotransferase type II(NPTII)酵素蛋白質をコードする。

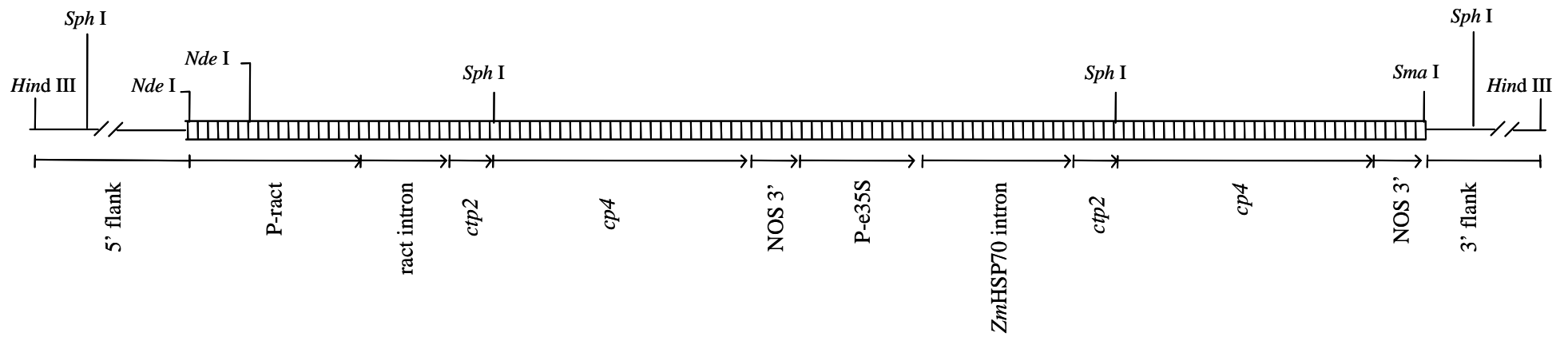


図 1. グリホサート耐性クレーピングベントグラスASR368のゲノム中に挿入されたDNA断片の模式図

□ 宿主内に移入された核酸の移入方法

直鎖状 DNA 断片である PV-ASGT08L をパーティクルガン法によって、クリーピングベントグラス品種 Backspin に導入した。

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

本組換えクリーピングベントグラスの開発は 1997 年より始まった。プラスミド・ベクター PV-ASGT08 を *Hind*III で処理し、直鎖状 DNA 断片である PV-ASGT08L を、パーティクルガン法により従来クリーピングベントグラス品種 Backspin のカルスに導入した後、グリホサートを含む培地上で形質転換カルスを選抜して再生個体を得た。得られた再生個体について挿入遺伝子や CP4 EPSPS 蛋白質の発現量の解析により、さらに選抜を進め、人工気象室、温室試験を経て、野外ほ場での実際のグリホサート耐性及び生育量、病害抵抗性等の農業形質から総合的に判断して本組換えクリーピングベントグラスが選抜された。

(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

サザンブロット分析による挿入遺伝子の解析の結果、本組換えクリーピングベントグラスのゲノム中 1 ヶ所に 1 コピーの挿入遺伝子が組み込まれていることが確認された。また、ベクター領域は挿入されておらず、挿入遺伝子の 2 つの *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットも完全な状態で挿入されていた。また、挿入遺伝子は安定して後代に遺伝していることが複数世代におけるサザンブロット分析によって示された。尚、p10 の図 1 に挿入されたゲノム断片の図を示した。

更に、本組換えクリーピングベントグラスの植物体地上部中での CP4 EPSPS 蛋白質の発現量を若葉及び生育日数別に分析した。その結果、若葉では平均して 77.1 $\mu\text{g/g}$ fwt、生育日数では移植後 100 日で 69.7 $\mu\text{g/g}$ fwt、移植後 330 日で 66.6 $\mu\text{g/g}$ fwt、移植後 390 日で 65.6 $\mu\text{g/g}$ fwt、移植後 480 日で 64.1 $\mu\text{g/g}$ fwt であった。尚、CP4 EPSPS 蛋白質の発現も、複数世代で安定して発現していることを選抜の過程でグリホサート散布試験により確認している。

(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

サザンブロットによる特異的な検出、識別が可能であり、約 10 μg のゲノミック DNA を用いれば検出可能である。尚、PCR による検出・同定方法に関しては、隔離ほ場に限定しない栽培等を目的とした使用等の為の申請の際に提出する予定である。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

イ *cp4 epsps* 遺伝子によってコードされる CP4 EPSPS 蛋白質が植物体の各部位で発現することにより、本組換えクリーピングベントグラスには、除草剤グリホサートに対する耐性が付与される。実際に、非組換えクリーピングベントグラスが除草剤グリホサートの影響を受けて枯死するのに対して、本組換えクリーピングベントグラスは正常に生育することを選抜の過程で確認している。

□ モンサント社は 2000~2002 年に米国の 10 箇所の圃場、及び 3 箇所の温室において本組換えクリーピングベントグラスの特性検定試験を行った。尚、クリーピングベントグラスは他殖性であ

るため、特性検定試験には本組換えクリーピングベントグラスと従来クリーピングベントグラス品種を交配した後代を用いている。供試した世代及び材料については以下の通りである。

R0：本組換えクリーピングベントグラス初代個体

B99061R：本組換えクリーピングベントグラスの作出に用いたカルスから細分化した非組換えクリーピングベントグラス個体。

R1：上記の R0 に対し、従来クリーピングベントグラス品種である Penneagle、Pennlinks、Providence、Putter、Southshore の花粉を交配して得られた後代集団のうち、グリホサート耐性を有する個体。

F1：従来クリーピングベントグラス品種である Penneagle、Pennlinks、Providence、Putter、Southshore に対し、本組換えクリーピングベントグラス初代 (R0) の花粉を交配して得られた後代集団のうち、グリホサート耐性を有する個体。

RS(Roundup Susceptible)：上記の R1 及び F1 を得る際に、各後代集団から遺伝的に 1 対 1 の割合で分離して得られるグリホサート耐性を持たない後代個体。対照のクリーピングベントグラスとして用いた。

比較品種：Backspin、Crenshaw、Penn-4、SR1020

特性検定試験を行うにあたっては、形態及び生育の特性 生育初期における低温又は高温耐性 成体の越冬性又は越夏性 花粉の稔性及びサイズ 種子の生産性、休眠性及び発芽率、交雑性について評価を行った。

形態及び生育の特性

穂長、止葉の長さ、止葉の幅、止葉の葉鞘長、葉舌長、地上部重、1 穂あたりの小花数、5 穂あたりの種子数、種子収量(粗粒重及び精粒重、種子の 1,000 粒重)について本組換えクリーピングベントグラス R1 及び対照のクリーピングベントグラス RS を供試し形態特性の差異を調査したところ、統計学的有意差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

クリーピングベントグラスは多年生であり、温帯の自然条件下では、夏に生育が弱勢化するものの、越冬・越夏するものと考えられたので、生育初期における高温耐性試験は行っていない。隔離ほ場試験において試験を行う予定である。

成体の越冬性又は越夏性

クリーピングベントグラスは多年生であるため、温帯の自然条件下では、夏に生育が弱勢化するものの、正常に越冬・越夏できると考えられたので、成体の越夏性試験は行っていない。隔離ほ場試験において試験を行う予定である。

花粉の稔性及びサイズ

米国において、本組換えクリーピングベントグラスの R0、F1 と対照のクリーピングベントグラス B99061R、並びに参考として従来品種 3 品種を供試して花粉の直径及び寿命について調査を行ったが、統計学的有意差は認められなかった。なお、花粉の寿命については、午前 11

時に採集した花粉を 30 分毎に花粉発芽調査用の培地に置床し、さらに 1 時間後に約 300 粒の花粉を観察し、顕微鏡下で花粉管が発芽している花粉の有無を調査することで花粉の寿命を判定している。したがって、花粉の寿命のみでなく、花粉の稔性についても本組換えクリーピングベントグラスと対照のクリーピングベントグラス並びに従来品種との間には差異が無いと推測される。なお、隔離ほ場試験においても花粉の稔性について調査する予定である。

種子の生産量、発芽率、休眠性及び脱粒性

種子の生産量に関しては、の形態及び生育の特性で述べたとおり、5 穂あたりの種子数、種子収量(粗粒重及び精粒重)、種子の 1,000 粒重について本組換えクリーピングベントグラス R1 及び対照のクリーピングベントグラス RS を供試し特性の差異を調査しているが、統計学的有意差は認められなかった。

種子の発芽率については、2002 年に米国のオレゴン州の温室試験において行った。本組換えクリーピングベントグラスの R0 個体に従来クリーピングベントグラス品種である Penneagle、Pennlinks、Providence、Putter、Southshore の花粉を交配して得られた種子を用い、14、昼 25/夜 15、32 の異なる 3 種の温度条件下に 4 週間おき、1 週間ごとに発芽率の調査を行った。R0 個体が *cp4 epsps* 遺伝子に関してヘテロであるため、R0 個体より採種した種子は R1(グリホサート耐性)と RS(グリホサート感受性)個体が理論値では 1:1 に分離するはずである。従って、R0 個体より採種した種子の発芽個体を試験開始後 4 週間目に温室に移動してさらに生育させた後、ラウンドアップを散布し、グリホサート耐性個体の分離比を検定する事で、*cp4 epsps* 遺伝子による本組換えクリーピングベントグラスの発芽率に対する影響の有無を調査した。

この結果、32 条件において、R1 の分離比は理論上の分離比よりも統計学的に有意に低かったが、その他の 2 温度条件においては有意差は認められなかった。クリーピングベントグラスは高温ストレスに弱いため、32 条件下では R1 個体もグリホサート散布後に高温ストレスにより枯死していると考えられた。従って、発芽率において、本組換えクリーピングベントグラスと対照のクリーピングベントグラスの間に差異はないと考えられた。

休眠性については、上述した発芽率検定試験において本組換えクリーピングベントグラスと対照のクリーピングベントグラスとの間に差異がなかったことから、差異がないものと推察される。隔離ほ場試験においても休眠性の確認試験を行う予定である。

脱粒性については調査していないが、の形態及び生育の特性で述べたとおり、5 穂あたりの種子数、種子収量(粗粒重及び精粒重)について本組換えクリーピングベントグラスと対照のクリーピングベントグラスの間で統計学的有意差は認められなかった。これらの形質の調査では、収穫した穂を指でしごいて調査皿の上に落下した種子を調査対象にしている為、脱粒性に差異があれば、種子数や収量にも差異が生じると考えられる。種子数と収量に統計学的有意差が認められなかった事から、本組換えクリーピングベントグラスと対照のクリーピングベントグラスにおいて、脱粒性には差異がないと推察される。隔離ほ場試験においても調査を行う予定である。

交雑率

本組換えクリーピングベントグラス R0、F1 及び対照のクリーピングベントグラス B99061R、並びに参考として従来品種 3 品種を供試して、放任受粉(他殖条件)及び自家受粉(自殖条件)での結実率を調査した。他殖条件での結実率において、本組換えクリーピングベントグラスと対照のクリーピングベントグラス及び従来品種との間に統計学的差異は認められなかった。また、自殖による結実率にも本組換えクリーピングベントグラス R0 と対照のクリーピングベントグラス B99061R の間に差異はなかった。さらに、他殖に比較して、自殖による結実率はいずれも低かったが、自家不和合性にも相違の無い事が示された。従って、本組換えクリーピングベントグラスと対照のクリーピングベントグラスにおいて、他殖性及び自家不和合性に差異はないと考えられた。

米国において、2001～2002 年に本組換えクリーピングベントグラスと近縁の交雑可能な植物種との間における交雑率を、ほ場試験を行い調査した。本組換えクリーピングベントグラス移植区から半径 2m、50m、185m、274m、354m の円周上にクリーピングベントグラスと交雑可能と考えられる *Agrostis* 属(非組換えクリーピングベントグラスを含む 12 種)並びに *Polypogon* 属(3 種)を栽培した。それぞれの区より採種した種子を発芽させ、グリホサート耐性個体の出現頻度を調査することで、交雑率を検定した。

まず、非組換えクリーピングベントグラス区では、2m 離れた区では交雑率は最大 48.87% であった。また、本組換えクリーピングベントグラスの風下では組換えクリーピングベントグラス区から 354m 離れた試験区から最大 0.15% の交雑個体が検出されたが、風上側では 50m 離れた試験区でも交雑個体は検出されないか、あるいは交雑個体の出現頻度は非常に低かった。このことより、本組換えクリーピングベントグラスの交雑率は風向及び花粉親からの距離により大きく影響を受ける事が確認された。

次に、非組換えクリーピングベントグラス以外の *Agrostis* 属 11 種及び *Polypogon* 属 3 種の区では、本組換えクリーピングベントグラスとの間の交雑個体の出現頻度は極めて低かったが、2m 及び 50m 離れた区で交雑個体が検出され、交雑率は 2m 区で最大 2.68%(*p. fugax*)、50m 区で最大 0.026%(*A. capillaris*)であった。また、組換えクリーピングベントグラス区から 185m 以上離れた区では風下であっても交雑個体は検出されなかった。このことから、通常のクリーピングベントグラス同士の種内交雑に比べ、種間及び属間交雑においては交雑可能な距離は大幅に短く、組換えクリーピングベントグラスから 185m 以上離れた場合には雑種は形成されない事が明らかとなった。

さらに、得られた交雑個体についてその生育を両親と比較したが、交雑個体の生育量は両親と比較して同等か、あるいは減少していた。この結果は、*Agrostis* 属の種間交雑についての過去の文献において、形成された種間雑種は両親の中間型の形態を示すとの報告と一致している。

有害物質の産生性

クリーピングベントグラスにおいて有害物質の産生性は報告されていない。本組換えクリーピングベントグラス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、本蛋白質が有害物質であるとする報告はない。また、第一の 2-(1)-ロ- に示したように、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合成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、モンサント社がこれまでに商品化した除草剤ラウンドアップ耐性作物(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。従って、CP4 EPSPS 蛋白質が原因で、本組換えクリーピングベントグラス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ため、有害物質の産生性については試験を行っていない。確認のため、隔離ほ場試験において後作、鋤き込み、土壌微生物相試験を行う予定である。

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

隔離ほ場における栽培、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

所在地：茨城県稲敷郡河内町生板字堤向 4475 - 2

名称：日本モンサント隔離ほ場

使用期間：承認の日から平成 17 年 11 月 31 日まで

1 隔離ほ場の施設

- (1) 7,836 m²の隔離ほ場の外周を囲むように約 1.5m のフェンスを設置している。
- (2) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者名を明示した標識を掲げている。
- (3) 隔離ほ場で使用した機械又は器具は隔離ほ場内で専用使用する。また、隔離ほ場で作業に従事した者の靴等に付着した遺伝子組換え農作物を洗浄するための洗い場、隔離ほ場で使用した靴等を保管する靴箱等を設置している。
- (4) 3,196 m²の隔離畑を囲むように防風網を設置している。

2 作業要領

- (1) 試験対象植物以外の植物の隔離圃場内における生育を最小限に抑えるため、隔離圃場内の試験の目的にあわせて雑草管理は適宜行う。
- (2) 種子及び砂を混和した土壌を栽培区画の表層に 5mm 以内の厚さで敷き、鎮圧後に不織布で被覆する。栽培終了後は、栽培区画に植物体全体を枯死させることができる除草剤(グリホサートを有効成分とするものを除く)を散布し植物体全体を枯死させた後、枯死した植物体を草焼きバーナーを用いて焼却する。その後、栽培区画に十分に灌水し、播種の際に敷いた土壌を草焼きバーナーを用いて加熱することにより残存種子を死滅させる。栽培終了後 1 年間は

隔離ほ場内を継続的に観察し、クレーピングベントグラスの生育が確認された場合は、当該クレーピングベントグラスを地下部と共に抜き取り、隔離ほ場内に設置されている焼却炉で焼却する。

- (3) 本組換えクレーピングベントグラスを隔離ほ場の外に運搬し又は保管する場合は、密閉された容器に本組換えクレーピングベントグラスを入れる。
- (4) 隔離ほ場で使用する機械又は器具は隔離ほ場専用の物を使用する。やむを得ずほ場外に持ち出す際には十分に洗浄し、隔離ほ場外に土や植物残渣を持ち出す事のないように十分留意する。
- (5) 隔離ほ場で作業に従事した者の靴等は、隔離ほ場内に設置した洗い場で洗浄する。
- (6) 本組換えクレーピングベントグラスの花粉飛散を防止するため、調査に必要な無い穂については切除すると共に、調査に必要な穂には開花前から開花終了後まで袋がけを行う。
- (7) 隔離ほ場内の設備については随時点検、整備する。
- (8) (1)～(6)に掲げる事項を使用等をするものに遵守させること。
- (9) 生物多様性影響のおそれがあると認められたときに添付書類の緊急措置計画書に定められた生物多様性影響を効果的に防止するための措置を確実に講ずること。

- (3) 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

- (4) 実験室等での使用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

本組換えクレーピングベントグラスの病虫害感受性に関して、対照のクレーピングベントグラス及び従来品種を比較対照として1999年より2002年に米国において延べ65箇所のほ場で行った試験において11種の害虫及び9種の病害の発生に着目してモニタリングを行った。その結果、本組換えクレーピングベントグラスと対照のクレーピングベントグラス及び従来品種の間には病虫害抵抗性に差異は報告されなかった。また、これらの試験において本組換えクレーピングベントグラスの生育特性や雑草性に関わる性質についても目観察によって確認したが、従来品種との差異は報告されなかった。

- (5) 国外における使用等に関する情報

本組換えクレーピングベントグラスについて、米国においてこれまで1999～2002年の間に延べ65ヶ所の圃場試験が行われているが、非組換えクレーピングベントグラスと比較して生物多様性影響を生じるおそれがあるような相違は報告されていない。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

1 競合における優位性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

競合における優位性に関わる諸形質について、第一、2-(6)- 形態及び生育の特性、種子の生産性、休眠性及び発芽率、そして第一、3-(5) 実験室等での使用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の項目に記載したように、本組換えクリーピングベントグラスと対照のクリーピングベントグラスとの間で、競合における優位性に関して差異は認められなかった。クリーピングベントグラスは一般的に湿潤で肥沃な土地に生育しており、理想的条件でない生育地ではより適応した草種に競合性において劣るため、優占雑草化することはない。

わが国においては、近年水田や水田畦畔に発生するイネ科ほふく性多年生雑草のなかにクリーピングベントグラス(ハイコヌカグサ)の報告が見られるが、湛水後の代かきにより土壤に埋没させると土壤中で死滅する。本組換えクリーピングベントグラスは除草剤グリホサートに耐性を持つが、水田や水田畦畔ではグリホサート剤以外の除草剤による防除が一般的であり、それ以外の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はグリホサートの散布が選択圧になるとは考えにくい。従って、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。

以上のことから、競合における優位性について、本組換えクリーピングベントグラスは、我が国の自然条件下で生育した場合の特性は明らかにされていないが、非組換えクリーピングベントグラスとの間に大きな相違はないと考えられ、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、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

以上の結果から、本組換えクリーピングベントグラスは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬、廃棄及びこれに付随する行為の範囲内では、競合における優位性に関して、生物多様性影響を生じるおそれがないと判断された。

2 有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある動植物等の特定

これまでに、クリーピングベントグラスが生物多様性に影響を生じさせるような有害物質を産生するといった報告はされていない。

本組換えクリーピングベントグラス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、本蛋白質が有害物質であるとする報告はない。また、第一の 2-(1)-ロ- に示したように、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、モンサント社がこれまでに商品化した除草剤ラウンドアップ耐性作物(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、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。従って、CP4 EPSPS 蛋白質が原因で、本組換えクリーピングベントグラス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。

また、米国において 1999～2002 年に行われた 65 箇所における本組換えクリーピングベントグラスのほ場試験において、ほ場内の益虫等に影響がないかどうかを目観察にてモニタリングしているが、非組換えクリーピングベントグラスとの間で相違は報告されていない。

以上のことから、有害物質の産生性について、本組換えクリーピングベントグラスは、わが国の自然条件下で生育した場合の特性は明らかにされていないが、非組換えクリーピングベントグラスとの間に大きな相違はないと考えられ、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、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

以上の事から、本組換えクリーピングベントグラスは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬、廃棄及びこれに付随する行為の範囲内では、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生じるおそれがないと判断された。

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

隔離ほ場試験においては交雑防止措置として、調査に不要な穂は切除し、調査に必要な穂に関しては開花前から開花終了までの間は袋がけを行うため、花粉が飛散することはないと考えられる。

したがって、交雑性における優位性について、本組換えクリーピングベントグラスは、わが国の自然条件下で生育した場合の特性は明らかにされていないが、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、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。

なお、本組換えクリーピングベントグラスが本隔離ほ場から拡散した場合について、以下のように考察した。

クリーピングベントグラス(*Agrostis stolonifera* L.)は他殖性で自家不和合性が高く、風媒花であるため、*Agrostis* 属の種間交雑については過去に多くの報告がある。*Agrostis* 属内の種間交雑による雑種(F1)の形成は可能であるが、両親のゲノム構造が異なり雑種(F1)個体は異数体となるため、雑種(F1)個体では種子もしくは配偶体の形成能力は極めて低くなり、完全に不稔性となるか稔性が著しく低下すると報告されている。また、クリーピングベントグラスと *Polypogon* 属との属間交雑については、雑種個体は全て不稔となることが報告されている。よって、雑種個体がさらに種子繁殖により優占雑草化する可能性は極めて低いと考えられる。

実際に2001～2002年に米国において行われた本組換えクリーピングベントグラスと *Agrostis* 属並びに *Polypogon* 属の間の交雑性を検定するほ場試験において、交雑可能な距離はクリーピングベントグラス同士の交雑可能な距離(354m)に比較して著しく短く、クリーピングベントグラスより風下側であっても 185m 以上離れた区では雑種(F1)種子は検出されなかった。また、種間交雑率及び属間交雑率は極めて低かったが、クリーピングベントグラスから 2m 及び 50m 離れた区では雑種(F1)種子が検出された。さらに、得られた雑種(F1)個体についてその生育を両親と比較したが、雑種(F1)個体の生育量は両親と比較して同等か、あるいは減少していたため、雑種(F1)個体が自然条件下で両親の属する種に比較して競合における優位性が高まるとは考えられなかった。

わが国に生育するクリーピングベントグラスと交雑する可能性のある近縁種としては、第一の 1-(1)-3-2- に示したように、*Agrostis* 属のミヤマヌカボ(*A. flaccida* Hack.)、コミヤマヌカボ(*A. mertensii* Trin.)、ユキクラヌカボ(*A. hideoi* Ohwi)、エゾヌカボ(*A. scabra* Willd.)、ヒメコヌカグサ(*A. nipponensis* Honda)、ヤマヌカボ(*A. clavata* Trin.)およびヤマヌカボの亜種であるヌカボ(*A. clavata* Trin. var. *nukabo* Ohwi)、レッドトップ(コヌカグサ)(*A. alba* L.)及び *Polypogon* 属の本州～琉球の湿った砂地に生育するハマヒエガエリ(*P. monspeliensis* (L.) Desf.)と本州～琉球の日当たりの良い湿地に生育するヒエガエリ (*P. fugax* Steud.) の 2 属 10 種(1 亜種を含む)が報告されている。

わが国でクリーピングベントグラスが主に利用されているのはゴルフ場のグリーン及び公園や

競技場の芝地である。クリーピングベントグラスで形成される芝地では頻繁に刈込みを行う事から、本組換えクリーピングベントグラスが一般的な芝地管理の下にある場合には出穂・開花して花粉が飛散する事は考えにくい。仮に出穂して花粉が飛散する事があったとしても、第一の2-(6)-ロ- に述べたように、本組換えクリーピングベントグラスから 185m 以上離れた場合には種間雑種及び属間雑種は形成されないと推定される。

上述した *Agrostis* 属及び *Polypogon* 属のうち、ミヤマヌカボ・コミヤマヌカボ・ユキクラヌカボ・エゾヌカボ・ヒメコヌカグサ・ヤマヌカボに関しては、生育場所が山地内の草地・林地・湿地であり、クリーピングベントグラスの利用されるゴルフ場や公園等の芝地からは生育地が隔てられているため、クリーピングベントグラスの花粉が飛散して交雑する可能性は極めて低いと考えられる。尚、隔離ほ場周辺には、上述したような生育場所は無いことを確認している。

また、交雑により形成された雑種は本組換えクリーピングベントグラスの有する除草剤グリホサート耐性を付与される事になるが、仮に雑種が生育したとしても、形成された種間雑種や属間雑種は両親の中間型の形態を示すこと、クリーピングベントグラスは理想的でない生育地では、より適応した種との競合において不利である事から、それぞれの生育地により適応しているレッドトップ、ヌカボ、ハマヒエガエリ、ヒエガエリの生育地で雑種が優占雑草化することは考えにくい。

さらに、レッドトップのコムギほ場における防除にはグリホサート剤は用いられない事、ヌカボ・ハマヒエガエリ・ヒエガエリの雑種が生育する場面ではグリホサートが散布されることは想定しにくいいため、グリホサート耐性を付与された事により競合における優位性が高まるとは考えられない。

(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

以上から、本組換えクリーピングベントグラスは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬、廃棄及びこれに付随する行為の範囲内では、交雑性に起因する生物多様性影響を生じるおそれがないと判断された。

第三 生物多様性影響の総合的評価

本組換えクリーピングベントグラスと対照のクリーピングベントグラスの競合における優位性に関わる諸形質を比較検討したところ、全ての項目で有意差は認められなかった。また、本組換えクリーピングベントグラスは除草剤グリホサートに耐性を持つが、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。以上から、本組換えクリーピングベントグラスは、わが国の自然条件下で生育した場合の特性は明らかにされていないが、非組換えクリーピングベントグラスとの間に大きな相違は無いと考えられ、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬、廃棄及びこれに付随する行為により、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。

クリーピングベントグラスに関して、これまでに有害物質の産生性は報告されておらず、これまでの米国でのほ場試験においても有害物質の産生性に関わる相違は報告されていない。以上から、本組換えクリーピングベントグラスは、わが国の自然条件下で生育した場合の特性は明らかにされていないが、非組換えクリーピングベントグラスとの間に大きな相違は無いと考えられ、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬、廃棄及びこれに付随する行為により、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。

本組換えクリーピングベントグラスはわが国に生育する近縁種である *Agrostis* 属及び *Polypogon* 属と交雑する可能性がある。しかし、形成された種間雑種は両親の中間型の形態を示すため、両親に比較して競合における優位性を示す事はないと考えられる。また、交雑により形成された雑種は本組換えクリーピングベントグラスの有する除草剤グリホサート耐性を付与される事になるが、これらの雑種が生育する場面ではグリホサートが散布されることは想定しにくいいため、グリホサート耐性を付与された事により競合における優位性が高まるとは考えられない。以上から、本組換えクリーピングベントグラスは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬、廃棄及びこれに付随する行為の範囲内では、交雑性に起因する生物多様性影響を生じるおそれがないと判断された。

よって、総合的評価として、本組換えクリーピングベントグラスを限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬、廃棄及びこれに付随する行為により、我が国の生物多様性に影響が生じるおそれはないと結論された。

緊急措置計画書

平成16年5月20日

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

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クレーピングベントグラス(*cp4 epsps, Agrostis stolonifera* L.) (ASR368, OECD UI: SMG-368 00-2) (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、本組換え体に関して、科学的に我が国の生物多様性に影響を生ずることが立証された場合のことである。

- 1 第一種使用等における緊急措置を講ずるための実施体制及び責任者は以下に示す通りである。
個人名・所属は個人情報につき非開示
- 2 第一種使用等の状況の把握の方法
第一種使用等の状況は、日本モンサント河内研究農場実験従事者から得られた情報により把握する。
- 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
実験従事者に直接口頭で伝える。
- 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、本組換え体を隔離ほ場内で焼却するなどして隔離ほ場外への本組換え体の放出が行われないようにすること、また隔離ほ場周辺をモニタリングすることにより本組換え体が隔離ほ場外へ放出されていないことを確認すること等、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及び環境省に報告する。