

栽培実験計画書

栽培実験名	除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性トウモロコシ (<i>gat4621, zm-hra, Zea mays</i> subsp.mays (L.) Iltis) (DP-098140-6 OECD UI : DP-098140-6) の隔離ほ場における生物多様性影響評価試験												
実施独立行政法人の所在地及び名称、栽培実験責任者	栃木県那須塩原市千本松 7 6 8 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所 (那須研究拠点) 栽培実験責任者 草地研究支援センター長 杉田紳一												
公表年月日	平成 1 9 年 4 月 2 7 日												
<p>1 . 栽培実験の目的、概要</p> <p>1) 目的及び背景</p> <p>我が国において環境への影響を評価するため、除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性トウモロコシ (<i>gat4621, zm-hra, Zea mays</i> subsp.mays (L.) Iltis) (DP-098140-6 OECD UI : DP-098140-6) を隔離ほ場で栽培し、ほ場環境への影響等が非組換えトウモロコシと同等であるかを検討する。</p> <p>2) 概要</p> <p>本栽培実験では、除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤の影響を受けない組換えトウモロコシを用い、平成 1 9 年 5 月下旬から平成 2 0 年 3 月末まで、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所 (那須研究拠点) の隔離ほ場で栽培試験を行う。具体的には、本組換えトウモロコシ、対照品種、ならびに参考品種を隔離ほ場で慣行栽培し、基本的な生育特性や花粉の稔性・サイズ、種子の生産量、有害物質の産生性等について調査し、組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシの間で栽培による影響を比較検討する。</p>													
<p>2 . 使用する第 1 種使用規程承認作物に関する事項</p> <p>1) 作物の名称</p> <p>除草剤グリホサート及びアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性トウモロコシ (<i>gat4621, zm-hra, Zea mays</i> subsp.mays (L.) Iltis) (DP-098140-6 OECD UI : DP-098140-6)</p> <p>2) 第 1 種使用規定承認作物承認の有無</p> <p>申請中である。</p> <p>3) 食品及び飼料安全性承認作物承認の有無</p> <p>現在承認されていない。今後申請を予定。</p>													
<p>3 . 栽培実験の全体実施予定期間</p> <table style="width: 100%; margin-top: 10px;"> <tr> <td style="width: 30%;">平成 1 9 年 5 月下旬</td> <td>隔離ほ場実験区画内に播種</td> </tr> <tr> <td>平成 1 9 年 6 ~ 9 月</td> <td>生育特性、花粉の稔性・サイズ、微生物相の調査</td> </tr> <tr> <td>平成 1 9 年 8 月</td> <td>除草剤散布試験</td> </tr> <tr> <td>平成 1 9 年 1 0 月</td> <td>収穫して収量の調査</td> </tr> <tr> <td>平成 1 9 年 1 0 月</td> <td>栽培の終了</td> </tr> <tr> <td>平成 1 9 年 1 0 月</td> <td>微生物相の調査</td> </tr> </table>		平成 1 9 年 5 月下旬	隔離ほ場実験区画内に播種	平成 1 9 年 6 ~ 9 月	生育特性、花粉の稔性・サイズ、微生物相の調査	平成 1 9 年 8 月	除草剤散布試験	平成 1 9 年 1 0 月	収穫して収量の調査	平成 1 9 年 1 0 月	栽培の終了	平成 1 9 年 1 0 月	微生物相の調査
平成 1 9 年 5 月下旬	隔離ほ場実験区画内に播種												
平成 1 9 年 6 ~ 9 月	生育特性、花粉の稔性・サイズ、微生物相の調査												
平成 1 9 年 8 月	除草剤散布試験												
平成 1 9 年 1 0 月	収穫して収量の調査												
平成 1 9 年 1 0 月	栽培の終了												
平成 1 9 年 1 0 月	微生物相の調査												

平成19年12月	有害物質の産生性試験
平成20年 1月	越冬性の調査
平成20年 3月	栽培実験の終了

4. 栽培実験を実施する区画の面積及び位置（研究所等内等の区画配置関係）

- 1) 第1種使用規程承認作物の栽培規模： 4.5a
- 2) 第1種使用規程承認作物の栽培位置： 栃木県那須塩原市千本松768
独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所(那須研究拠点)
ほ場No. 1（別添図1～3参照）

5. 同種栽培作物等との交雑防止措置に関する事項

交雑防止措置の内容

実験作物の花粉の飛散を防止するために以下の措置を講じる。

- 1) 実験室内で花粉の稔性等を調べる個体は開花前に雄穂の袋がけを行う。
- 2) それ以外の個体は参考品種を除き、すべて雄穂が抽出し次第、除雄する。

6. 研究所内での収穫物、実験材料への混入防止措置

- 1) 実験材料を隔離ほ場内の実験室Aにある種子貯蔵庫から実験区画内に搬出する際には、こぼれ落ちないように袋に入れて搬出する。
- 2) 播種後から約3週間、防鳥網をかけて鳥害を防ぐ。
- 3) 隔離ほ場内の実験の過程で行う調査、管理作業及び収穫作業に使用する機械、ならびに着用する衣服、靴等は、使用後付着した土壌や種子等を隔離ほ場内で洗浄すること等により、組換えトウモロコシが隔離ほ場外に持ち出されることを防止する。
- 4) 収穫物は袋に入れ、分析を行う隔離ほ場内の実験室Aに設置された種子貯蔵庫に保管する。

7. 栽培実験終了後の第1種使用規程承認作物及び隔離距離内での同種栽培作物等の各年度毎の処理方法

- 1) 収穫した種子は分析に供試し、全ての分析終了後加熱処理して処分する。
- 2) 収穫しなかった種子及び収穫後の残りの植物体は速やかに隔離ほ場内に設けた専用区画で堆肥化によって完全に不活化する。

8. 栽培実験に係る情報提供に関する事項

1) 説明会等の計画

平成19年4月27日(金): 栽培実験計画書の公表

平成19年5月21日(月): 栽培実験に係る説明会

場所: 栃木県那須塩原市千本松768

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構

畜産草地研究所那須研究拠点

第2会議室

時間: 13:30～16:00

その他: 栽培実験実施中に、随時見学を受け入れることも可能。

2) その他の情報提供

栽培実験の実施状況、栽培終了後の状況及び実験結果については、当研究所ホームページ(<http://www.nilgs.affrc.go.jp>)で情報提供を行う。

3) 本栽培実験に係る連絡先

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所

那須企画管理室長 北村孝之
電話番号 0287-37-7003
メールアドレス kouryu_nasu@naro.affrc.go.jp

9. その他必要な事項

(参考情報)

1) 試験に供試する組換えトウモロコシについて

(1) 今回栽培するトウモロコシには、土壌細菌 (*Bacillus licheniformis*) 由来の N-アセチルトランスフェラーゼ遺伝子を一部改変した改変 *gat*(以下 *gat4621*) 遺伝子と、トウモロコシ由来のアセト乳酸合成酵素 (*zm-als*) 遺伝子を一部改変した改変 *als*(以下 *zm-hra*) 遺伝子が導入されている。*gat4621* 遺伝子が機能することで除草剤グリホサート耐性が、*zm-hra* 遺伝子が機能することで除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤耐性が付与される。

(2) 両遺伝子が持つ除草剤耐性機構は別添図 4, 5 に示した。

2) これまでの栽培実験の経緯及び結果について

2006 年に米国アイオワ州において、ほ場試験が行われた。その結果、野生植物との競合における優位性に関する特性(形態及び生育特性、種子の生産性、脱粒性、発芽率、休眠性、生育初期の低温耐性等)において、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの間で有意に上回る事例は認められなかった。

また、2006 年に米国において根圏土壌法及びサンドイッチ法を用いて有害物質の産生性について検討した。その結果、いずれの試験においても、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの間で有意差は認められなかった。

3) 目的遺伝子の機能

(1) *gat4621* 遺伝子 除草剤グリホサートは、植物中のトリプトファン、チロシン及びフェニルアラニンの芳香族アミノ酸合成に關与するシキミ酸経路の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS) の活性を阻害する。その結果、これらの芳香族アミノ酸が合成されなくなり植物を枯死させる。*gat4621* 遺伝子より産生される GAT4621 蛋白質は、除草剤グリホサートの NH 基をアセチル化し、EPSPS 活性を阻害しない N-アセチルグリホサートに変えることで、植物にグリホサートへの耐性を付与する(別添、図 4)。

(2) *zm-hra* 遺伝子 アセト乳酸合成酵素 (ALS) は生体内で分枝アミノ酸であるロイシン、バリン及びイソロイシンの合成に關与し、植物の生育に必須の酵素である。除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤 (ALS 阻害剤) は ALS 活性を阻害するため、これら分枝アミノ酸が合成されなくなり植物は枯死する。一方、*zm-hra* 遺伝子により産生される ZM-HRA 蛋白質は ALS 阻害剤の影響を受けない変異型酵素であるため、ZM-HRA 蛋白質を発現する植物は、本阻害剤の存在下でも ALS 活性を示し、その結果分枝アミノ酸を合成し ALS 阻害剤に対して耐性になる(別添、図 5)。なお、同様な改変 *als* 遺伝子を利用した組換え作物の作出は、すでにダイズやイネで報告されている。

(http://www.bch.biodic.go.jp/download/lmo/public_comment/DP_356043_5ap.pdf,
http://www.bch.biodic.go.jp/download/lmo/public_comment/AD41ap.pdf)

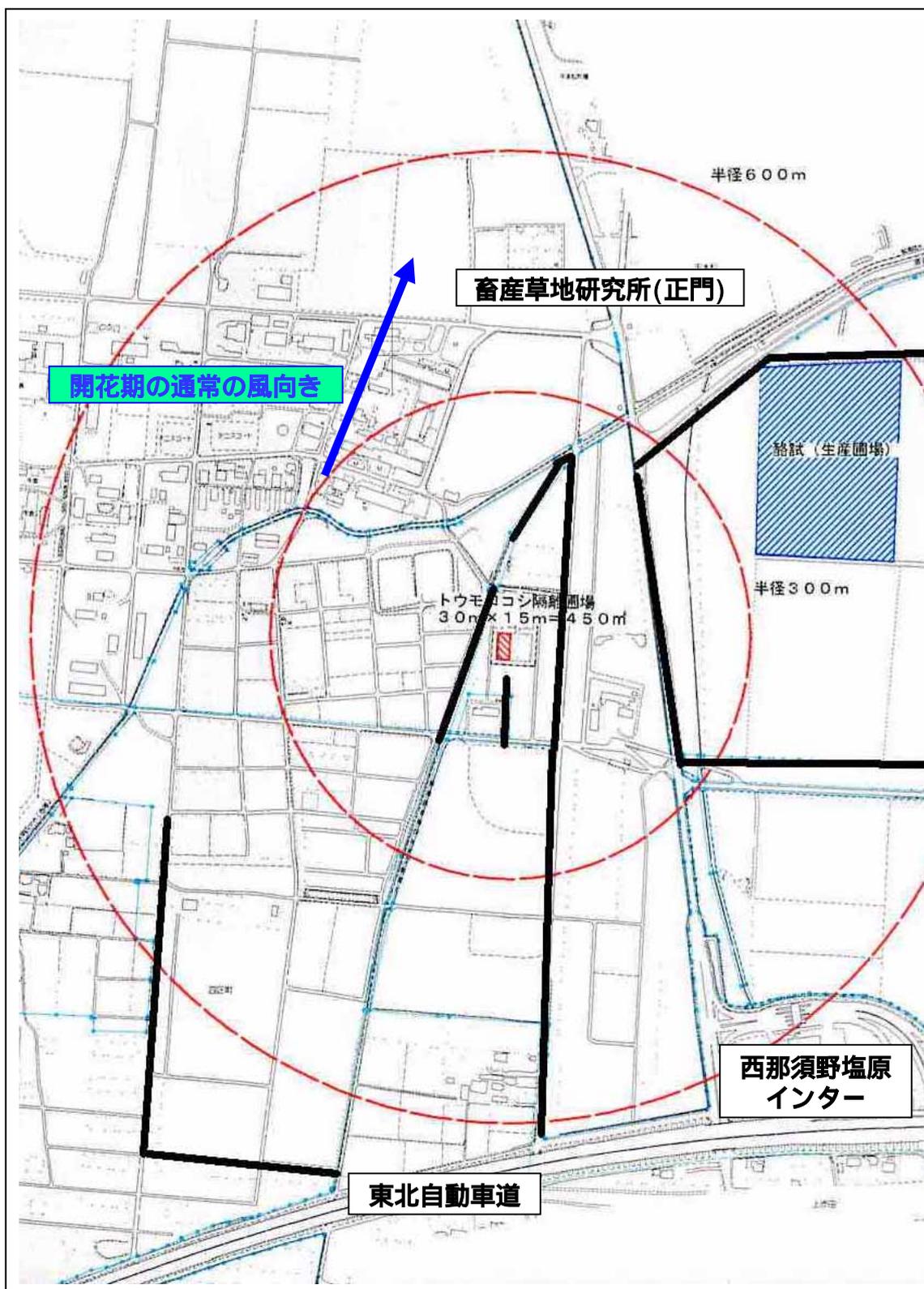


図1 隔離ほ場周辺図

隔離ほ場所在地: 栃木県那須塩原市千本松 768

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所(那須研究拠点)内
黒の太線は杉(樹高5~6m)の防風林を示す。

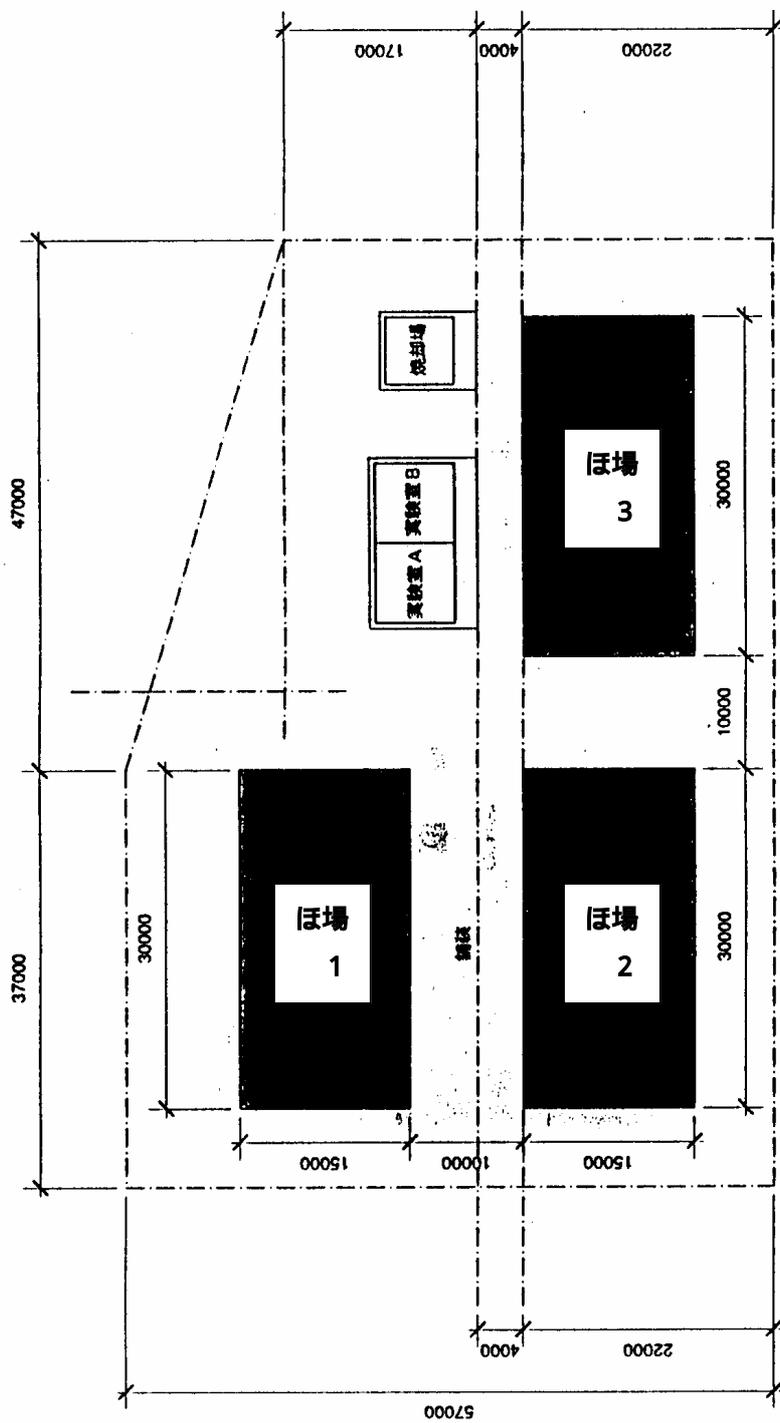


図2 畜産草地研究所 那須研究拠点 隔離ほ場配置図

(DP-098140栽培予定地:ほ場 1)

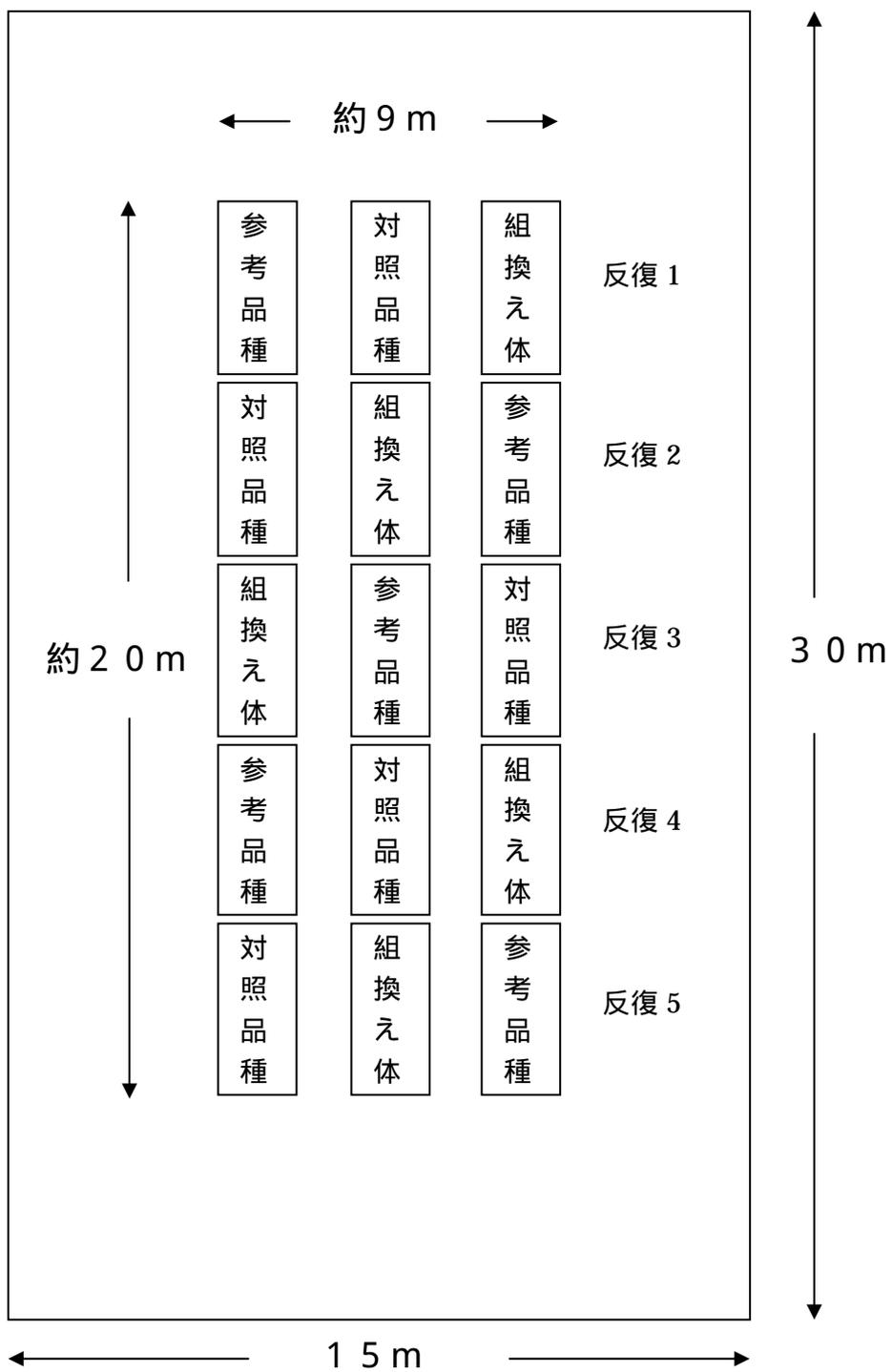


図3 実験区画配置図

1区 = 4畝(75 × 40cm で10株植え)

試験は5反復で行う。

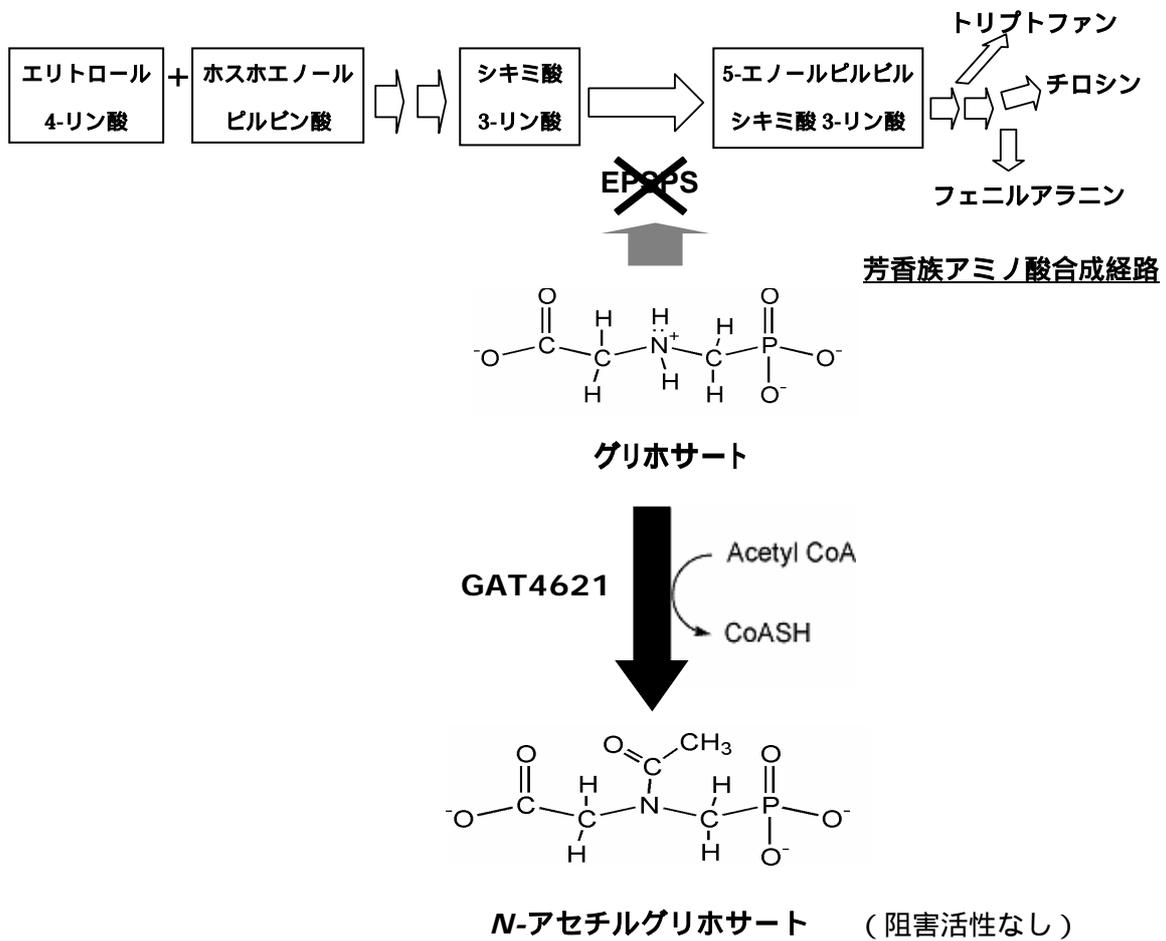


図4 GAT4621蛋白質の作用機作

除草剤グリホサートによってEPSPS活性が阻害されると、植物の生育に必須の芳香族アミノ酸が合成できなくなり植物は枯死する。GAT4621蛋白質は除草剤グリホサートのNH基をアセチル化する活性を有し、その結果生じるN-アセチルグリホサートは阻害活性を失う。その結果、植物は芳香族アミノ酸が合成できるようになり生育する。

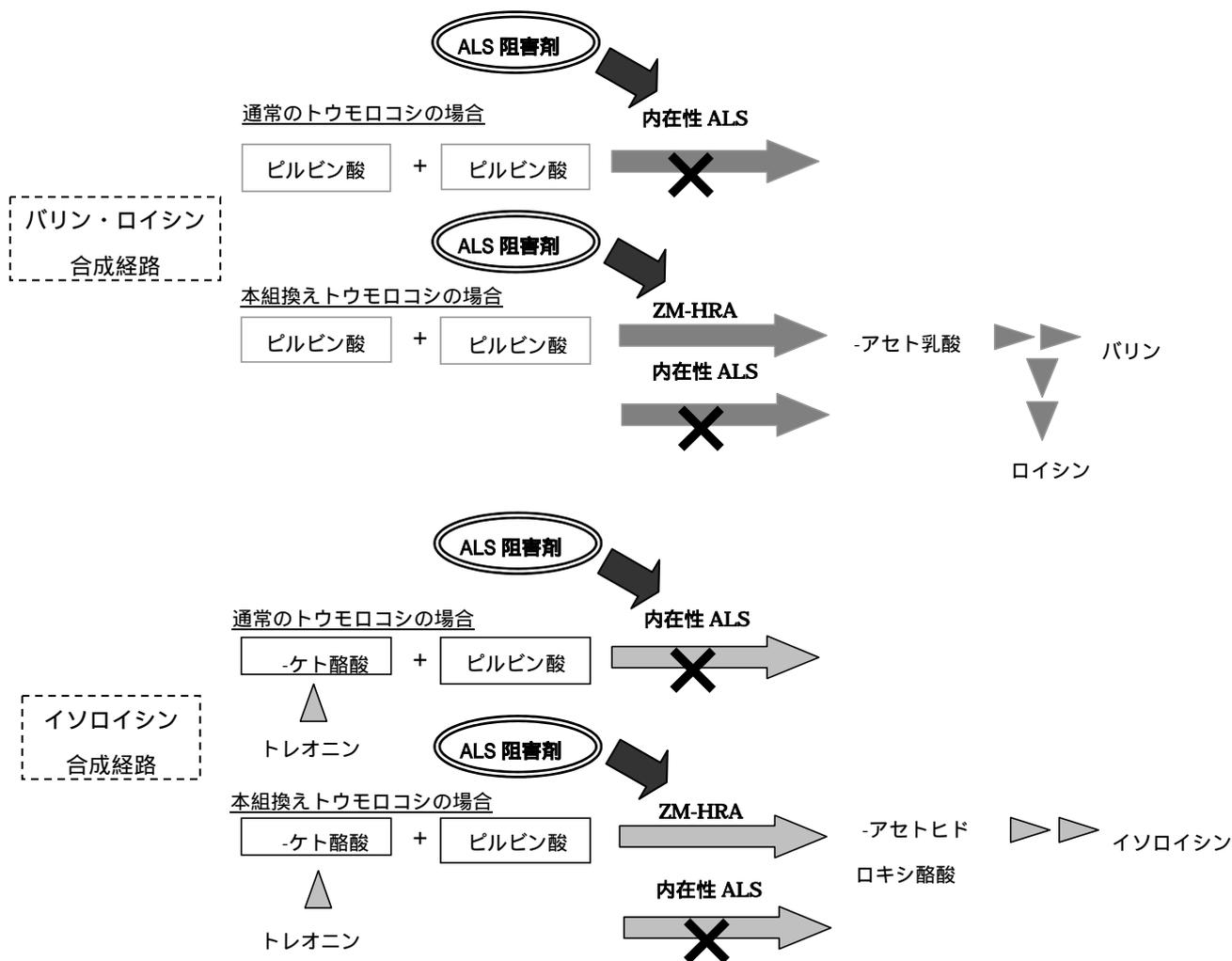


図5 ZM-HRAタンパク質の作用機作

植物の内在性アセト乳酸合成酵素(ALS)は、除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤(ALS阻害剤)によって阻害され、バリン、ロイシン、イソロイシンの分枝アミノ酸合成ができなくなるため植物は枯死する。一方、本組換えトウモロコシは、除草剤ALS阻害剤の影響を受けないZM-HRAを発現するため、ALS阻害剤存在下で分枝アミノ酸(バリン、ロイシン、イソロイシン)の合成が可能となり、植物は生育する。