

低リグニンアルファルファ（CCOMT, *Medicago sativa* L.）（KK179, OECD UI: MON-00179-5）の隔離ほ場試験の結果について

（独） 農業・食品産業技術総合研究機構
畜産草地研究所
日本モンサント株式会社

低リグニンアルファルファ（CCOMT, *Medicago sativa* L.）（KK179, OECD UI: MON-00179-5）の隔離圃場試験

- ・日本モンサント株式会社からの受託研究として平成24-25年度に実施。
- ・我が国において環境への影響を評価するため、米国モンサント・カンパニーが作出した低リグニンアルファルファを隔離ほ場で栽培し、ほ場環境への影響等が非組換えアルファルファと同等であることを検討する。

供試品種（合成品種）

組換え品種：KK179

（以下、組換え体とする。合成品種であるため、1/4は組換え遺伝子を持たない）

対照品種：KK179と同じ遺伝的背景を持つが組換え遺伝子は持たないもの

（以下、非組換え体とする）

商用品種：ハルワカバ、DKA50-18、WL 319HQ

どのようなDNAが導入されているか

T-DNA1領域

<i>CCOMT</i> (部分配列)	アルファルファ(<i>Medicago sativa</i>)由来のカフェオイル CoA 3-O-メチルトランスフェラーゼをコードする <i>CCOMT</i> 遺伝子の部分配列で、遺伝子抑制カセットを構成する。
P- <i>Pal-2</i>	インゲンマメ(<i>Phaseolus vulgaris</i>)由来のフェニルアラニンアンモニアリアーゼをコードする <i>Pal2</i> 遺伝子のプロモーターで植物細胞で恒常的に転写を誘導する。
T- <i>nos</i>	転写を終結させポリアダニル化を誘導する <i>A. tumefaciens</i> pTi 由来のノパリン合成酵素遺伝子の 3' 非翻訳領域

T-DNA2領域

CS- <i>npt II</i>	<i>E. coli</i> のトランスポゾン Tn5 に由来し、ネオマイシンフォスフトランスフェラーゼIIをコードする遺伝子。植物にネオマイシン及びカナマイシン耐性を付与する。
P- <i>35S</i>	カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)の 35S プロモーター領域で、植物細胞で恒常的に転写を誘導する。
T- <i>nos</i>	転写を終結させポリアダニル化を誘導する <i>A. tumefaciens</i> pTi 由来のノパリン合成酵素遺伝子の 3' 非翻訳領域

交雑防止方法

- ・開花させる形態生育調査試験区と種子生産性試験区は試験区全体を1mmメッシュの防虫網で覆い、訪花昆虫の侵入を防ぐ。
- ・組換え体隔離圃場で作業した際、靴、機械に付着した土壌をよく払い落としてから圃場外に出る。

試験終了後の試料の扱い

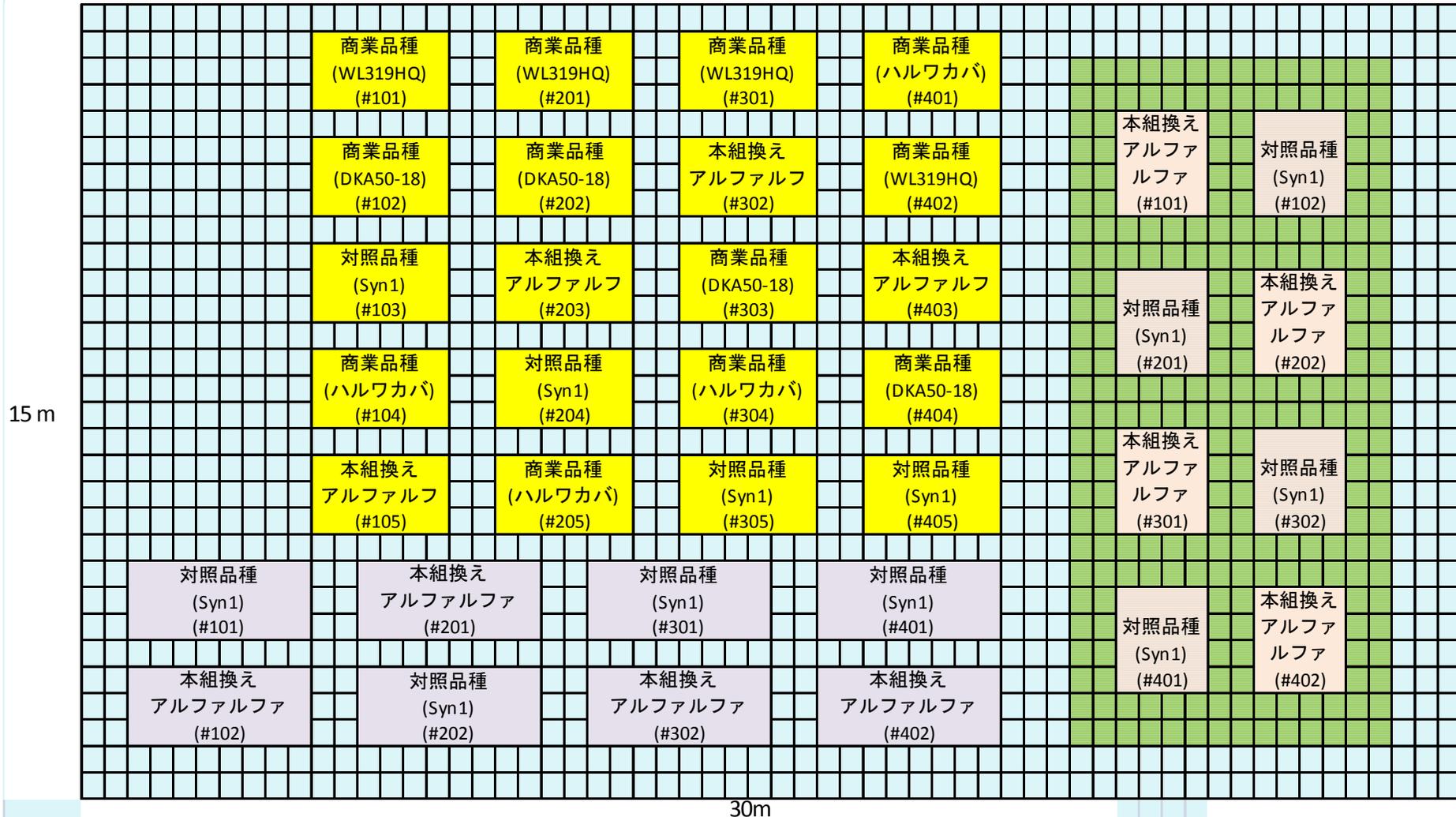
- ・試料採取後の植物体は、1株ずつ抜き取り、すべてオートクレーブして不活化する。

試験区について

- 形態生育調査試験区
草丈、地上部重など生育に関するデータ及び有害物質産生性試験
- 病害虫調査試験区
リグニンが減ることにより、病害虫の発生が多くならないかを比較する
- 種子生産性試験区
アルファルファは他殖性であり、種子の生産性について比較する

各試験区の作付図

- 形態生育特性試験区(1.2m×3.0m)
条間30cm×4条
プロット間50cm、反復間1.0m
- 種子生産試験区(1.5m×4.0m)
条間75cm×2条
プロット間1.0m、反復間1.0m
- プロットの間及び周囲には害虫の移動を均一化するために従来商業品種を植える。
- 病害虫試験区(2.0m×2.0m)



耕種概要

- 8月上旬にイチゴ育苗用のポットに1粒ずつP1P温室で播種・育苗の後、11月4日に隔離ほ場に移植した。尚、組換え体については幼苗の葉DNAのPCRにより目的遺伝子が入っていることを確認した個体のみ移植した。

結果

- 形態生育調査試験区、病害虫試験区、種子生産性試験区の調査したすべての項目について組換え体と非組換え体区の間には有意差はみられなかった。

形態生育調査試験区の調査項目

- 最長莖長(一番刈り前)
- 倒伏性(一番刈り前)
- 地上部重
- 花序軸あたりの花数
- 最長莖長(二番刈り前)
- 倒伏性(二番刈り前)
- 地上部重
- 株数(越夏性)
- 地上部重
- 秋の最長莖長

これらすべてに
組換え体と非組
換え体の中で
有意差はみら
れなかった

4月25日の生育の様子



組換え体(103)

ハルワカバ(104)

非組換え体(105)



アルファルファ
の菌核病

アルファルファタコゾウムシによる食害(左)と幼虫(右)



アルファルファについてアブラムシを食べるナナホシテントウ



成虫



幼虫

種子生産性試験区の調査項目

莢数
裂莢性
1莢粒数
1000粒重
総種子重量
花粉のサイズ
花粉稔性

これらすべてに
組換え体と非組
換え体の間で
有意差はみら
れなかった

11月5日の全体の様子



鋤込み試験の様子



後作試験の様子



鋤込み試験の様子2



土壤微生物相に及ぼす影響

方法

収穫時に組換え体及び非組換え体の各反復区の圃場作土層4地点から土壌をコアサンプラーにより約100gずつ採取し、混和した。このように採取した土壌中の微生物(糸状菌、細菌、放線菌)について、希釈平板法により糸状菌はローズベンガル培地で3日間25°C、細菌及び放線菌はPTYG培地で7日間25°Cで静置培養した後、コロニー数を計測した。

収穫時における土壌微生物数（放線菌、細菌、糸状菌）

収穫時の調査において、放線菌数、細菌数、糸状菌数いずれも組換え区と非組換え区との間で有意差はなかった。

試験がすべて終了したので1株ずつ掘り上げてオートクレーブする



掘り上げたアルファルファを肥料袋に入れてオートクレーブする場所まで運ぶところ



2014年2月5日に試験を無事終了



評価試験の結論

- 低リグニンアルファルファ（CCOMT, *Medicago sativa* L.）（KK179, OECD UI: MON-00179-5）の生物多様性影響に関して、一般形態及び生育特性、生殖・繁殖及び稔性特性、病害虫抵抗性、有害物質の産生性の各項目について対照の非組換えアルファルファと比較することにより検討した。各調査項目において組換え体と非組換え体の間で有意差あるいは相違はみられなかった。これらの結果に基づき、本組換え体の栽培によって生じる生物多様性影響は、従来のアルファルファ品種を栽培した際に生じる生物多様性影響を越えるものではないと判断された。