

栽培実験計画書

栽培実験名	ディフェンシン遺伝子導入イネの複合耐病性評価及び有望系統の選抜
実施独立行政法人・研究所名	(独) 農業・生物系特定産業技術研究機構 中央農業総合研究センター
公表年月日	平成 17 年 (2005 年) 4 月 22 日
1. 栽培実験の目的, 概要 (1) 目的 ①宿主品種「どんとこい」は中央農研・北陸研究センターが良食味品種として平成 5 年 (1993 年) に育成した品種である。栽培実験に用いる第 1 種使用規程承認作物は、この品種に複合病害抵抗性を付与するために、カラシナのディフェンシン遺伝子をアグロバクテリウムを用いた超迅速形質転換法により導入したものである。低農薬栽培による食の安全・安心が消費者の重大な関心事であり、また農薬による環境負荷の低減および農薬施用コストの低減も生産上の重要課題となっていることから、早急に実用化を図る必要がある。 ②当栽培実験は、高度複合病害抵抗性を持つイネ系統の実用化に向けて、組換えイネ系統の圃場条件下での実用的耐病性の評価を行なうために、隔離圃場内でもち病抵抗性及び白葉枯病抵抗性の評価並びに栽培特性の評価を行ない、また試験研究用種子を採種することを目的とする。 ③また、我が国の自然環境の下で生育した場合の特性を明らかにするため、隔離圃場において、隣接する区画に指標イネ品種を栽培し、土壌微生物、周辺生物相について組換えイネ系統栽培実験区との比較を行ない、当該系統の栽培による周辺の生物多様性への影響について科学的知見を蓄積する。 (2) 概要 ①全体計画 平成 17 年 (2005 年) および平成 18 年 (2006 年) の 2 年計画 ②平成 17 年 (2005 年) : 系統の選抜と採種 平成 18 年 (2006 年) : 選抜した系統の詳細な評価と採種	
2. 使用する第 1 種使用規程承認作物に関する事項 (1) 作物の名称 複合病害抵抗性イネ (宿主品種「どんとこい」) AD41 系統(AD4131, AD4142) AD48 系統(AD4811) AD51 系統(AD5141) AD77 系統(AD7763), AD97 系統(AD9721, AD9742) (2) 第 1 種使用規程の承認取得年月日又は第 1 種承認規程が承認申請中である場合にはその旨 当研究センター内での隔離圃場試験を実施するための第 1 種使用規程の承認を申請中。 (3) 食品安全性承認作物又は飼料安全性承認作物の該当性 食品安全性の審査は受けていないが、(独) 食品総合研究所が実施した試験によれば、2 種の導入遺伝子のうちの mALS については毒性タンパク質と推定されるアミノ酸配列をもっていないことが確認され、またもう一つの導入遺伝子であるディフェンシンについては毒性タンパク質と推定されるアミノ酸配列およびアレルゲンと推定されているアミノ酸配列を持たず、人工胃液・人工腸液を用いた消化性試験を行ない、完全に消化されることが確認されている。	

3. 栽培実験の全体実施予定期間、各年度ごとの栽培開始予定時期及び栽培終了予定時期

(1) 全体実施予定期間

平成 17 年（2005 年）および平成 18 年（2006 年）までの 2 年計画

(2) 各年度毎の栽培開始予定時期及び栽培終了予定時期等

	播種時期	移植予定時期	栽培終了予定時期
平成 17 年 (2005 年)	4 月下旬 (P1P 隔離温室内) 5 月下旬～6 月上旬 (隔離圃場内または P1P 隔離温室内)	5 月下旬～7 月上旬	9 月下旬～10 月上旬
平成 18 年 (2006 年)	4 月下旬～6 月上旬 (隔離圃場内)	5 月下旬～7 月上旬	9 月下旬～10 月上旬

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) 区画の面積

隔離圃場内 8.6 アール（南北 20m×東西 43m）の 2 面の水田のうち北西角の約 4.0 アール（南北 20m×約 20m）の区画を使用する。（別紙 1, 2 参照）

(2) 栽培を行なう隔離圃場の位置

（独）農業・生物系特定産業技術研究機構 中央農業総合研究センター・北陸研究センター稲田圃場内。隔離圃場の境界から事業所境界までの距離は、北側で約 180m、東側で約 100m、南側で約 250m、西側で約 270m である。（別紙 3～4 参照）

5. 同種栽培作物等との交雑防止措置に関する事項

(1) 交雑防止措置の内容

①組換え体は隔離圃場内で栽培する。指針および通知（平成 17 年 4 月 12 日）に示されている組換えイネの栽培実験に必要な隔離距離 26m を確保するため、隔離圃場内の北西部の一角で組換えイネ系統を栽培し、隔離圃場内の組換え体栽培区以外は、交雑モニタリング用モチ品種を栽培するか、または裸地とする。組換え体と隔離圃場外の北陸研究センター内水田のイネとの距離は 26m 以上である（別紙 1, 2 参照）。最も近接した一般農家水田は東側にあり、事業所境界に接した高架の道路を挟んで隔離圃場境界から約 220m の距離にある。（別紙 3, 4 参照）

②上記の距離距離による交雑防止に加えて、以下の交雑防止措置を講ずる。

(a) いもち病抵抗性検定の目的で周囲の水田と同時期（普通期）で移植した組換え体は開花前に穂または植物体を刈り取る。白葉枯病抵抗性検定および栽培試験・採種の目的での栽培では移植時期を 6 月下旬から 7 月上旬に遅らせることにより、実験系統の開花期を一般農家水田の主要品種コシヒカリの開花期と重複しないようにする。実験系統の開花開始見込み時期は 8 月第 4 半月～ 8 月第 5 半月である。近隣の一般農家で栽培されている品種はコシヒカリまたはそれより出穂期の早い品種のみであり、コシヒカリの開花開始時期は 8 月第 1 半月～ 第 2 半月と見込まれる（別紙 5 参照）。また、中央農研・北陸研究センター稲田圃場内では、8 月第 4 半月までに概ね 90% 以上のイネ品種・系統が開花期を終わっていると見込まれる。したがって隔離圃場の組換え系統と周辺の水稲では出穂期で 2 週間以上の時間的隔離があると見込まれる。

(b) 組換えイネの開花期には組換え個体を袋掛けするかまたは組換え個体栽培区を不織布等で覆うなどして、花粉の拡散を防止する。

(2) 同種栽培作物等の栽培区画の配置

組換えイネ栽培試験区から 26m の範囲にはモニタリング用水稲以外に同種栽培作物であるイネの一般栽培は無い（別紙 1 参照）。隔離圃場内で栽培するイネはすべて隔離圃場内水田に鋤き込んで不活化するかまたは密封して搬出し焼却する。

(3) モニタリングの方法

- ①本栽培実験に用いる組換えイネ系統は、食品安全性および飼料安全性について未承認であるため、交雑のモニタリングを実施する。
- ②モニタリングのための指標作物として、宿主品種と出穂期がほぼ等しい水稻モチ品種「カグラモチ」及び「らいちょうもち」を用い、これらを隔離圃場内の組換えイネ栽培区の周辺および隔離圃場内外周部で栽培する。また、開花期には中央農研・北陸研究センターの敷地内の境界近辺に両品種を配置する。（別紙 1, 4 参照）
- ③ 交雑の確認は、玄米が白濁するモチ性イネがウルチ性イネの花粉によって交雑すると雑種子は半ウルチ性となって玄米が半透明になることを利用して行なう。さらに半透明になった玄米が出現した場合には、花粉元の個体が組換えイネかまたは周囲のウルチ品種・系統かを判別するために組換えイネの導入遺伝子の有無を検知できる PCR 法による解析を行なう。交雑の確認に用いる種子数は各位置別にそれぞれ 1 万粒以上である。
- ④圃場にはフィールドサーバー（圃場観察装置）を設置して、圃場の状況を常に観察する。

6. 研究所等の内での収穫物、実験材料への混入防止措置

隔離圃場内での組換え体の栽培は指針に従って行なう他、以下のとおり行なう。

(1) 栽培実験の種子、種苗の分別管理

- ① 種子の催芽は隔離温室においてラベルを付けた丈夫な種子袋またはプラスチックチューブに入れて行ない厳重に管理する。播種及び育苗作業は隔離温室（P1P 温室内）または隔離圃場内で行なう。育苗箱は仕切を設けたものを用いるなどにより、系統・品種の混入を防止する。播種後の育苗箱は防鳥ネット等の被覆等によって鳥や小動物の侵入による苗の混入・持ち出しを防止する。
- ②移植は手作業で行なう。移植作業に先立ち系統別に水田に区画を設けて移植時の過誤を防ぎ、また試験区ごとに波型板等で区切って流れ苗による混入・流出が起こらないようにする。隔離圃場での播種・移植後は、防鳥網を設置して鳥の侵入による苗の混入・持ち出しを防止する。

(2) 栽培実験に用いた機械・施設等の洗浄

- ①組換えイネの栽培中または栽培後に隔離圃場内で使用した機械類は隔離圃場内の水田に隣接する作業場で清掃または洗浄を行ない、苗・種子が付着して隔離圃場外へ漏出することを防止する。
- ②収穫作業はバインダーと手刈りを併用する。バインダーは刈取り材料ごとに清掃を行ない、作業終了後は隔離圃場内の水田に隣接する作業場で清掃または洗浄することによって、種子が付着して隔離圃場外へ漏出することを防止する。

(3) 第 1 種使用規程承認作物の収穫物の管理等

- ① 隔離圃場内のイネは刈取り後、隔離圃場内の稲架に材料毎に仕切を設けて架けて自然乾燥させるか、または網袋等に穂を入れて隔離圃場内の乾燥機に収納し乾燥させる。鳥による種子の隔離圃場外への流出、食害を防止するため組換え体を架けた稲架には防鳥網を張る。脱穀は試験用採種脱穀機を用いて隔離圃場内で行なう。脱穀・種子調整作業はビニールシート上で行ない種子の拡散を防止する。使用後の脱穀機を隔離圃場外に持ち出すにあたっては十分な清掃または洗浄を行なう。
- ②種子用刎及び玄米は北陸研究センター内の P1 実験棟種子庫内または非閉鎖系温室（特定網室）種子庫内に一般品種とは明確に区分して厳重に保管する。

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 組換えイネの種子はP1 実験棟種子庫内または非閉鎖系温室（特定網室）種子庫内に保管する。
- ② 隔離圃場内で栽培したイネの収穫残渣である稲わら・籾殻等は隔離圃場内で裁断し鋤き込むかまたは密封して搬出し焼却する。
- ③ 本栽培実験に用いた圃場では、栽培試験終了次年度は畑作物を栽培するかまたは作物の栽培は行なわないこととする。いずれの場合でも前作イネの発生が見られた場合には隔離圃場内で鋤き込むなどして不活化する。なお、栽培試験終了次年度に畑作物を栽培した場合には、当該畑作物の収穫物についても隔離圃場内で裁断し鋤き込むことによって不活化する。

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 16 年 12 月～平成 17 年 4 月中旬：新潟県，上越市等地元関係者への説明

（別紙「地元説明 PA 活動の概要」）

平成 17 年 4 月 15 日：プレスリリース，研究所ホームページで公表開始

平成 17 年 4 月 29 日：栽培実験計画説明会の開催

（於中央農業総合研究センター北陸研究センター講堂，13 時 30 分～15 時 30 分）

平成 17 年 5 月下旬：田植え作業公開

平成 17 年 7 月中旬：栽培実験圃場観察会

平成 17 年 9 月中旬又は下旬：栽培実験圃場観察会

② その他情報提供

栽培実験に関する情報は，中央農研・北陸研究センターのホームページで常時公開するほか，実験データは調査・分析終了後早期の公開に努める。

③ 本栽培実験に係る連絡先

（独）農業・生物系特定産業技術研究機構中央農業総合研究センター

北陸研究センター 企画調整部北陸分室

電話番号：025-526-8310（直通）

FAX 番号：025-526-8330

E メール：kumikaeh@naro.affrc.go.jp

中央農研・北陸研究センターのホームページ：

<http://narc.naro.affrc.go.jp/inada/index.html>

9. その他必要な事項

中央農業総合研究センター及び中央農研・北陸研究センターのホームページでこの複合病害抵抗性イネの研究の概要を紹介しているほか，農林水産省ホームページで遺伝子組換えに関する情報を提供している。

<http://www.s.affrc.go.jp/docs/anzenka/index.htm>

（参考情報）