

栽培実験計画書

栽培実験名	低リグニンアルファルファ（ <i>CCOMT, Medicago sativa</i> L.）（KK179, OECD UI: MON-00179-5）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 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） 栽培実験責任者 草地研究監 梨木 守
公表年月日	平成 24 年 10 月 1 日
1. 栽培実験の目的、概要 1) 目的 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（<i>CCOMT, Medicago sativa</i> L.）（KK179, OECD UI: MON-00179-5）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かを検討する。 2) 概要 本栽培実験では、植物体中のリグニン含量を低下させたアルファルファを用い、平成 24 年 9 月から平成 26 年 3 月まで、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）の隔離ほ場で栽培実験を行う。具体的には、本組換えアルファルファ、対照品種及び市販品種を隔離ほ場で栽培し、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、組換えアルファルファと非組換えアルファルファの間に栽培による影響を比較検討する。	
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 低リグニンアルファルファ（<i>CCOMT, Medicago sativa</i> L.）（KK179, OECD UI: MON-00179-5） 2) 第 1 種使用規程承認取得年月日等 平成 24 年 9 月 4 日に第 1 種使用規程承認（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）を取得している。 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 食品及び飼料安全性承認作物に該当しない（申請を予定している）。	
3. 栽培実験の全体実施予定期間等 1) 全体実施予定期間 平成 24 年 9 月～平成 26 年 3 月 2) 各年度毎の栽培開始予定時期と栽培終了予定時期 平成 24 年 11 月上旬 隔離ほ場実験区画内に幼苗を移植 平成 24 年 11 月～平成 25 年 7 月 生育特性、花粉の稔性・サイズ、越冬性、有害物質の産生性等の調査 平成 25 年 8 月～9 月 収穫時調査 平成 26 年 3 月 栽培の終了	

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2(図1～図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 1) 交雑防止措置の内容 栽培実験する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 隔離ほ場周辺には防風林を設置している。 ② 昆虫の侵入の防止のため、開花期には試験区をネットで覆う。
6. 研究所内での収穫物、実験材料への混入防止措置 1) 組換えアルファルファの苗を研究所内の閉鎖系(PIP)温室から隔離ほ場内の栽培実験区画内に搬出する際には、密閉容器に入れたのち自動車で搬出する。 2) 成熟期にも引き続きネットをかけて鳥害を防止する。 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、並びに着用する衣服及び靴等は、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、組換えアルファルファが隔離ほ場外に持ち出されることを防止する。 4) 収穫物は他の収穫物と区分して袋に入れ、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処理方法 1) 収穫した種子及び茎葉は分析に供試し、全ての分析終了後不活化処理して処分する。 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にすき込み堆肥化することにより完全に不活化する。
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24年10月1日(月):栽培実験計画書の公表 平成24年10月30日(火):栽培実験に係る説明会 時間:13:30～15:00 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 栽培実験実施中は、随時見学を受け入れることも可能。 2) 栽培実験の実施状況、栽培終了後の状況及び実験結果 当研究所ホームページ(http://www.naro.affrc.go.jp/nilgs/)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 小林 誠 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
特になし

10. 参考情報

1) 試験に供試する組換えアルファルファについて

今回栽培するアルファルファには *CCOMT* 遺伝子断片が逆方向反復の形で導入されている。導入遺伝子による RNAi によりアルファルファ内在性のリグニン生合成経路の主要な酵素であるカフェオイル CoA 3-*O*-メチルトランスフェラーゼ (*CCOMT*) を抑制することにより植物体中のリグニン含量が低下している。

2) これまでの栽培実験の経緯及び結果について

2007～2011 年の間に米国及びカナダにおいて延べ 79 カ所のほ場で試験が行われているが、非組換えアルファルファ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。

3) 目的遺伝子の機能

組換えアルファルファに導入された *CCOMT* 遺伝子断片の逆方向反復配列は二本鎖 RNA (dsRNA) を形成し、RNAi によりカフェオイル CoA 3-*O*-メチルトランスフェラーゼ (*CCOMT*) をコードする *CCOMT* 遺伝子の転写を抑制する。*CCOMT* 遺伝子の転写が抑制されることにより植物体中のリグニン含量が減少する(図 4)。



図 1 畜産草地研究所隔離ほ場周辺図

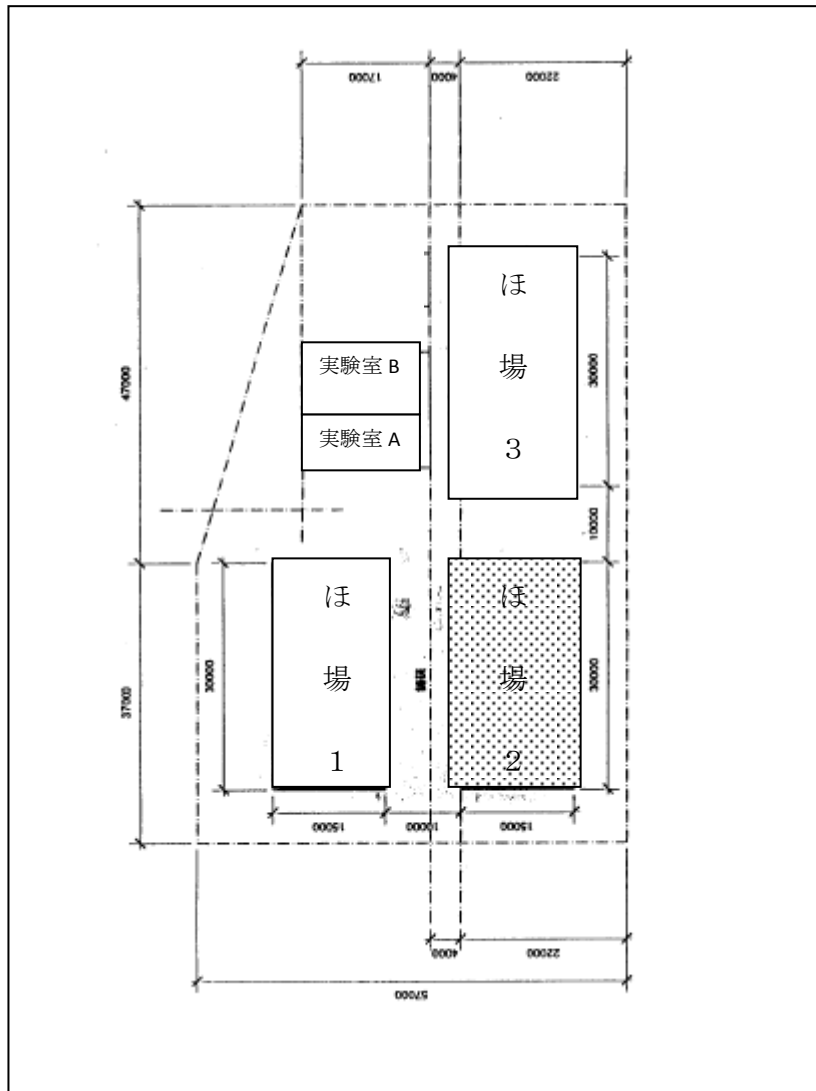


図 2 隔離ほ場配置図(ほ場 2 を使用)

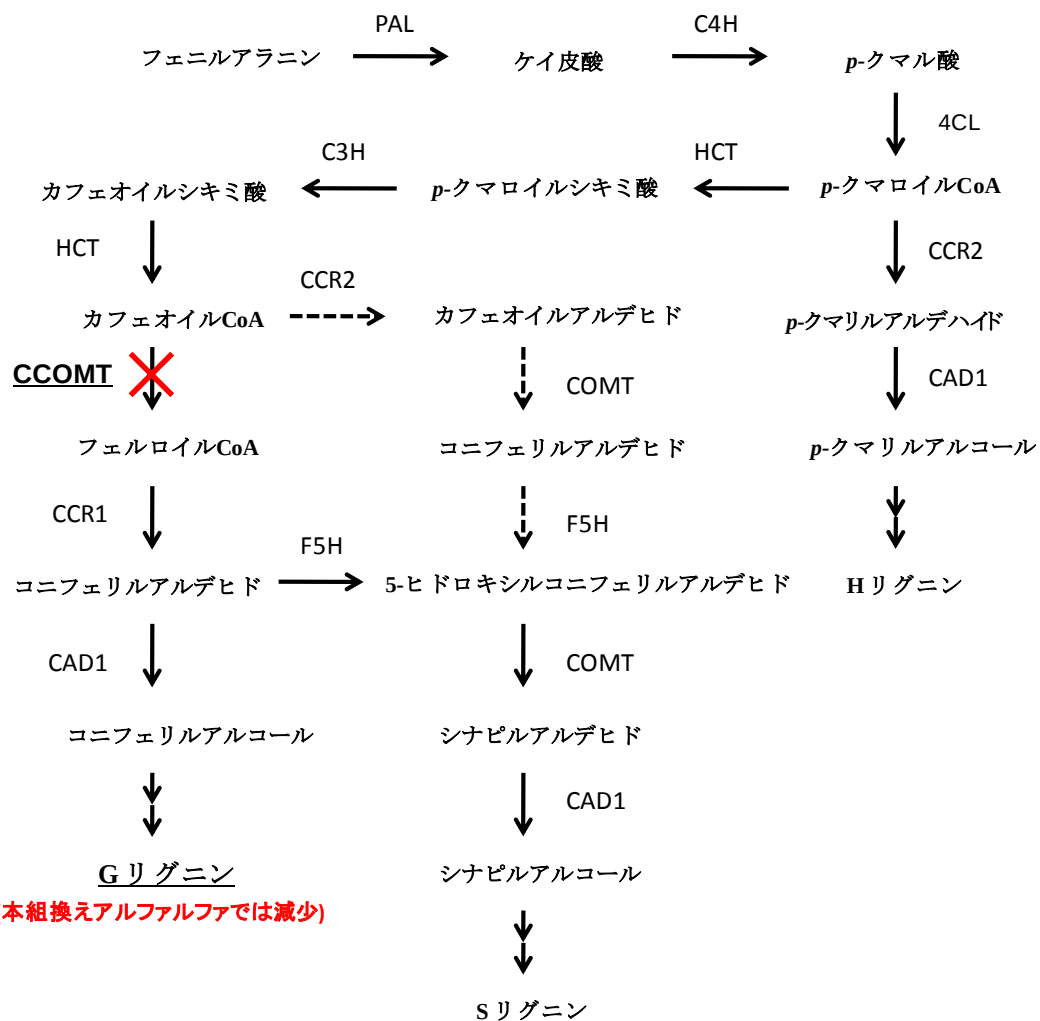


図4 アルファルファにおけるリグニンの生合成経路

× は、本組換えアルファルファにおいて内在性酵素(CCOMT) RNA の翻訳が抑制されることを示す。
 -> は、酵素及び基質から、生合成経路として働いている可能性が考えられるが、実際に確認されていない経路を示す。

CAD: シンナミルアルコールデヒドロゲナーゼ

4CL: 4 クマロイル CoA リガーゼ

C3H: p-クマロイル 3-ヒドロキシラーゼ

C4H: p-クマロイル 4-ヒドロキシラーゼ

CCOMT: カフェオイル-CoA-3-O-メチルトランスフェラーゼ

CCR: シンナモイル CoA レダクターゼ

COMT: カフェイン酸-O-メチルトランスフェラーゼ

HCT: p-ヒドロキシシンナモイル, キナ酸シキミ酸 p-ヒドロキシシンナモイルトランスフェラーゼ

F5H: フェルラ酸 5-ヒドロキシラーゼ

PAL: フェニルアラニンアンモニアリアーゼ