

生物多様性影響評価検討会における検討の結果

名称：半矮性トウモロコシ

(*GA20ox_SUP*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)

(MON94804, OECD UI: MON-94804-4)

第一種使用等の内容：食用又は飼料用に供するための使用、栽培、加工、保管、運搬
及び廃棄並びにこれらに付随する行為

申請者：バイエルクロップサイエンス株式会社

生物多様性影響評価検討会は、申請者から提出された生物多様性影響評価書に基づき、第一種使用規程に従って本組換えトウモロコシの第一種使用等をする場合の生物多様性影響に関する申請者による評価の内容について検討を行った。主に確認した事項は以下のとおりである。

1 生物多様性影響評価の結果について

本組換えトウモロコシは、複数の段階を経て目的の遺伝子が導入されている。最初に、大腸菌 (*Escherichia coli*) 由来のプラスミド pBR322 等を基に構築された PV-ZMAP527892 の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により導入した中間系統が作出されている。次に、Cre リコンビナーゼ発現カセットを持つ組換えトウモロコシ系統と交配させた後、Cre/lox 法により、T-DNA 領域から選抜マーカーカセット及び loxP 配列の 1 つが除去された領域（導入遺伝子）のみを有する個体が選抜されている。その後、選抜された個体を自殖して得られた世代において、Cre リコンビナーゼ発現カセットを持たない個体が選抜されている。

本組換えトウモロコシは、トウモロコシ内在性のジベレリン (GA) 20 酸化酵素 3 及び同 5 をそれぞれコードする *ZmGA20ox3* 遺伝子及び *ZmGA20ox5* 遺伝子の配列に由来する 21 塩基長配列並びにその逆方向反復配列、イネ (*Oryza sativa*) 由来の 3 つの Osa-miR1425 フラグメント等により構成される *GA20ox_SUP* 抑制カセットを含む導入遺伝子が、染色体上に 1 コピー組み込まれ、複数世代にわたり安定して伝達していることが、バイオインフォマティクス解析、次世代シーケンシング並びに導入遺伝子領域の PCR 及び塩基配列解析により確認されている。また、*GA20ox_SUP* 抑制カセットの転写産物である *GA20ox_SUP* の pri-miRNA 及び *GA20ox_SUP* の成熟 miRNA が、複数世代にわたり安定して産生されていることが、ノーザンブロッティングにより確認されている。

(1) 競合における優位性

トウモロコシは、栽培化の過程で雑草性や自生能力を失っており、我が国においても、自然環境下で自生した例は報告されていない。栽培作物であるトウモロコシが自生能力を獲得するには、自生能力に不可欠な特性である種子の脱粒性及び休眠性の変化が必要と考えられている。

本組換えトウモロコシには、*GA20ox_SUP* 抑制カセットから産生される *GA20ox_SUP* の成熟 miRNA により半矮性（短稈）が付与されているが、半矮性は上記特性に関与す

る形質ではない。このことから、この半矮性を付与されたことのみが要因で、これまで栽培作物として品種改良されてきたトウモロコシが、我が国の自然環境下で複数世代にわたり安定して自生することが可能になるとは考えにくい。

実際に、競合における優位性に関わる諸形質として、本組換えトウモロコシの形態及び生育の特性、成体の越冬性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率を我が国の隔離ほ場において調査した結果、本組換えトウモロコシへの付与を意図した形質である短稈及びそれに伴う着雌穂高の低下が認められた。一方で、意図した形質に関連しないそれ以外の項目に関して本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差や違いは認められなかった。また、生育初期における低温耐性を人工気象室にて調査した結果、処理前、低温処理後 11 日目及び低温処理後 19 日目の草丈は、いずれも本組換えトウモロコシの方が低かったものの、導入した *GA20ox_SUP* 抑制カセットの発現による栄養組織での活性型 GA 含有量の低下に起因すると考えられた。加えて、乾燥重においては本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差は認められなかった。

よって、本隔離ほ場試験及び人工気象室での調査においては、本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの間に、本組換えトウモロコシの競合における優位性が高まっていることを示す差異は確認されなかった。

以上のことから、本組換えトウモロコシは、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

(2) 有害物質の産生性

トウモロコシは、我が国において長期にわたる使用等の実績があるが、野生動植物等に対して影響を及ぼす有害物質の産生性は報告されていない。

GA20ox_SUP 抑制カセットから産生される *GA20ox_SUP* の成熟 miRNA は、RNAi 機構を通じて、標的遺伝子であるトウモロコシ内在性の *ZmGA20ox3* 遺伝子及び *ZmGA20ox5* 遺伝子の発現を特異的に抑制するように設計されているため、標的となる代謝系は、両遺伝子が関与する内在性の GA 生合成経路であると考えられた。

また、本組換えトウモロコシにおいて産生される *GA20ox_SUP* の成熟 miRNA については、上記標的遺伝子の転写産物を除き、トウモロコシ内在性転写産物の配列との間に相同性が認められなかったことから、宿主であるトウモロコシにおいて、標的遺伝子以外の遺伝子の発現を抑制して標的以外の代謝系を変化させることはないと考えられた。

以上のことから、*GA20ox_SUP* の成熟 miRNA の産生により、新規の代謝産物が生じるものではないと考えられた。

よって、導入した *GA20ox_SUP* 抑制カセットから産生される *GA20ox_SUP* の成熟 miRNA が原因で、本組換えトウモロコシ中に有害物質が産生されるとは考えにくい。

実際に、本組換えトウモロコシ及び対照の非組換えトウモロコシについて、有害物質の産生性の有無を比較検討するため、土壌微生物相試験、鋤込み試験及び後作試験を行った結果、鋤込み試験におけるハツカダイコンの発芽率を除く全ての項目において、本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差は認められず、加えて、鋤込み試験で認められた統計学的有意差についても、本組換え

トウモロコシの地上部を鋤き込んだ土壌の方が、対照の非組換えトウモロコシを鋤き込んだ土壌に比べて高い発芽率を示したことから、本組換えトウモロコシの有害物質の産生性が高まっていることを示すものではないと考えられた。

以上のことから、本組換えトウモロコシは、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

(3) 交雑性

我が国において、トウモロコシと交雑可能な近縁野生種の自生について報告はないため、交雑性に起因して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。

以上のことから、本組換えトウモロコシは、交雑性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

2 生物多様性影響評価検討会の結論

以上より、本組換えトウモロコシを第一種使用規程に従って使用した場合に、我が国における生物多様性影響を生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価書の結論は妥当であると判断した。