

平成 19 年度環境省請負業務

遺伝子組換え生物による影響監視調査

報 告 書

平成 20 年 3 月

独立行政法人 国立環境研究所

# 遺伝子組換え生物による影響監視調査報告書

## 目次

概要	1
Abstract	1
背景と目的	3
調査体制	4
内容と結果	5
1. ナタネ類とカラシナにおける除草剤耐性遺伝子の流動に関する分析	6
1.1 種子を用いた免疫クロマトグラフ法による除草剤耐性タンパク質の検出	6
1.2 実生の除草剤耐性分析	23
1.3 除草剤耐性実生のタンパク質、遺伝子分析	26
2. ナタネ類とカラシナ採集地点図	30
3. 考察	44
3.1 過去の調査結果との比較	44
3.2 2種類の除草剤耐性を有する除草剤耐性ナタネ	45
3.3 在来ナタネ・カラシナとの交雑	46
3.4 分析手法等	47
4. ダイズとツルマメの生育状況調査	48
5. ダイズとツルマメ調査地点図	50
6. 引用文献	68



## 概要

近年、遺伝子組換え生物の利用が行われる一方、遺伝子組換え生物が環境に与える悪影響についての懸念も高まっている。そこで、遺伝子組換え生物の使用等により生ずる生物多様性影響に関する科学的知見の充実を図るために、除草剤耐性をもつ遺伝子組換えナタネ（以後、除草剤耐性ナタネと呼ぶ；西洋ナタネ *Brassica napus* に由来）の生育等に関するデータの収集を平成 15 年度以来継続的に行っている。主要な西洋ナタネ輸入港である国内の 12 港湾（鹿島、千葉、横浜、清水、名古屋、四日市、堺泉北、神戸、宇野、水島、北九州及び博多。その周辺地域を含む）のうち、平成 18 年度までに環境省の行った調査により、除草剤耐性ナタネの生育が確認されたのは鹿島、千葉、清水、名古屋、四日市、神戸及び博多の 7 港湾である。

平成 19 年度は、名古屋、四日市、堺泉北、神戸、宇野、水島の 6 つの港湾周辺地域の主要道沿い及び港湾周辺地域の河川敷等で採集された西洋ナタネと近縁種（在来ナタネ、カラシナ）の種子または葉を用い、除草剤耐性ナタネの分布と近縁種への遺伝子流動の状況を調査した。その結果、四日市港周辺地域の主要道沿いと河川敷等の計 44 地点から採集した 64 試料（種子）のうち、22 地点の 29 試料に除草剤（グリホサート、グルホシネート）耐性をもつものが確認された。

四日市港周辺地域では、平成 17、18 年度に引き続き、国道 23 号沿いで 2 種類の除草剤耐性を持つナタネが見つかったことから、2 種類の除草剤耐性ナタネ間で交雑が起こっている可能性が考えられた。また、四日市港周辺地域の河川敷等で確認された除草剤耐性ナタネの生育地点は、平成 17、18 年度と同様、主要道路が河川と交差する場所にあったことから、河川敷等の西洋ナタネと近縁種の生育地が西洋ナタネの輸送経路に存在する場合には、こぼれ落ちた除草剤耐性ナタネが定着し、同種あるいは近縁種への遺伝子流動が生じる可能性に留意すべきと考えられた。

## Abstract

With the increase in the use of genetically modified organisms in the last decade, their influence on the environment has been receiving more attention. In order to collect scientific information regarding the effects of the use of genetically modified organisms on biodiversity, data concerned with the presence of herbicide-tolerant genetically modified oilseed rape *Brassica napus* (herbicide-tolerant *B. napus*) have been continuously collected since 2003. Among the 12 major oilseed rape import port areas in Japan, i.e., Kashima, Chiba, Yokohama, Shimizu, Nagoya, Yokkaichi, Sakai-Senboku, Kobe, Uno, Mizushima, Kita-Kyushu, and Hakata, the presence of herbicide-tolerant *B. napus* has been confirmed in 7 areas—Kashima, Chiba, Shimizu, Nagoya, Yokkaichi, Kobe, and Hakata—by investigations of the Ministry of the Environment by 2006.

In 2007, the distribution of herbicide-tolerant *B. napus* and gene flow to relative species (*B. rapa* and *B. juncea*) were investigated using seeds and/or leaves collected from *B. napus*, *B. rapa*, and *B. juncea* grown along roadsides and riverbanks in the Nagoya, Yokkaichi, Sakai-Senboku, Kobe, Uno, and Mizushima port areas. Among the 64 samples of seeds collected from a total of 44 sites along roadsides

and riverbanks in the Yokkaichi area, 29 samples from 22 sites were confirmed to be that of herbicide-tolerant (glyphosate and/or glufosinate) *B. napus*.

In the Yokkaichi area, samples of herbicide-tolerant *B. napus* that were simultaneously tolerant to 2 herbicides were detected along route 23 for 3 continuous years—2005, 2006, and 2007—suggesting the possibility of outcrossing between 2 kinds of herbicide-tolerant *B. napus* populations. Moreover, the sites where herbicide-tolerant *B. napus* was detected along the riverbanks in the Yokkaichi port area in 2007, as well as in 2005 and in 2006, exist at the crossing point of a main road and a river. Hence, the possibility of the persistence of spilled herbicide-tolerant *B. napus* seeds and the possibility of gene flow from herbicide-tolerant *B. napus* to non-transgenic feral *B. napus* or relative species should be investigated when the transportation route for imported oilseed rape passes over the habitat of feral *Brassica* species, such as riverbanks.

## 背景と目的

近年、遺伝子組換え生物の利用が行われる一方、遺伝子組換え生物が環境に与える悪影響についての懸念も高まっており、遺伝子組換え生物の利用にあたっては、適切なリスク評価及びリスク管理がなされることが求められている。

このため、生物多様性条約カルタヘナ議定書に基づく国内法「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（平成15年法律第97号）」においては、「遺伝子組換え生物の使用等により生ずる生物多様性影響に関する科学的知見の充実に資する」ことが謳われている。そのため、使用されている遺伝子組換え生物の環境中での生育状況の実態及び生物多様性影響が生ずるおそれについて、データの収集を継続的に行っていくことが必要とされる。

平成18年度までの調査によって、いくつかの主要なナタネの輸入港の港湾地域（概ね、都市計画法又は港湾法に基づく臨港地区に相当する）及びその周辺地域（ここでは、港の背後にある近隣の陸地を意味する）の主要道沿いと河川敷で、除草剤耐性をもつ遺伝子組換えナタネ（以後、除草剤耐性ナタネと呼ぶ；西洋ナタネ *Brassica napus* に由来）が生育していることが確認された。これまでにナタネの種子が入国していた国内の12港湾（周辺地域を含む）の中で、農林水産省<sup>1)</sup>及び環境省<sup>2)~5)</sup>の行った調査により、除草剤耐性ナタネの生育が確認されたのは鹿島港、千葉港、清水港、名古屋港、四日市港、神戸港及び博多港の7港湾である。平成16年度に実施された環境省の調査では、千葉港、名古屋港、四日市港及び神戸港の港湾地域と鹿島港の周辺地域の主要道沿いで除草剤耐性ナタネの生育が確認され<sup>2)</sup>、平成17年度と18年度の調査では、周辺地域の主要道沿い及び河川敷に除草剤耐性ナタネが生育していることが明らかになった<sup>3)~6)</sup>。この両年度の調査で千葉港、清水港、四日市港及び博多港の周辺地域にある4つの主要道（うち3つは国道）沿いから除草剤耐性ナタネの種子が発見され、四日市港近くでは1つの国道の2つの橋梁下の河川敷で除草剤耐性ナタネが確認された。これら除草剤耐性ナタネの国内への侵入経路は、国内において商業的な栽培がされていないことから、運搬等に伴うこぼれ落ちである可能性が高いと考えられている。さらに、四日市港周辺地域の国道沿いから2種類（グリホサートとグルホシネート）の除草剤に耐性をもつ除草剤耐性ナタネが発見され、それぞれの除草剤耐性をもつナタネの間で交雑が起きている可能性が考えられた。

西洋ナタネは同種個体間で外部交配を行うと同時に、近縁種である在来ナタネ (*B. rapa*) 及びカラシナ (*B. juncea*) との間でも種間交雑を行うことが知られている。これら3種は、いずれも外来種ではあるが、現在は国内の河川敷等（堤防や周辺の水田等を含む）や主要道沿いに広く分布しており、除草剤耐性ナタネとの間で遺伝子交流を行う可能性も考えられる。そのため、過去の調査でも在来ナタネ及びカラシナについても港湾地域とその周辺地域で、種子サンプルの採集とそれらの遺伝子分析を実施しているが、現在までに除草剤耐性遺伝子をもつ在来ナタネ及びカラシナは確認されていない<sup>2)~6)</sup>。

そこで、昨年度までの調査に引き続き、ナタネ類等を対象として、生物多様性への影響が生じていないかどうかを監視するため、別途実施された「平成19年度自然環境下におけるナタネ類等の生育状況調査及び遺伝子分析のための種子のサンプリング業務」で調査されたナタネ類等の生育状況、及び採集された遺伝子分析用サンプルを元に<sup>7)</sup>、それらの導入遺伝子の有無を

調べることで自然環境中における導入遺伝子の拡散状況を調査した。また、除草剤耐性ナタネの拡散状況等の生物多様性影響について継続的に監視するため、全国のナタネ輸入港を2つのグループに分け、それらのうち昨年度調査しなかった方のグループ及び四日市港の周辺地域を今年度調査対象の港湾とした。

## 調査体制

1) ナタネ類<sup>\*1</sup>とカラシナ (*Brassica juncea*) その他<sup>\*2</sup>の生育状況調査及び遺伝子分析のための種子のサンプリング<sup>\*3</sup>

財団法人自然環境研究センター 永津雅人・脇山成二

<sup>\*1</sup> 西洋ナタネ (*B. napus*) と在来ナタネ (*B. rapa*) を指す。

<sup>\*2</sup> ナタネ類・カラシナ間の雑種を指す。

<sup>\*3</sup> 別途、環境省が自然環境研究センターに請負業務を出したものである。

2) 除草剤耐性遺伝子の流動に関する分析

独立行政法人国立環境研究所 青野光子

3) 報告書の作成

独立行政法人国立環境研究所 青野光子

4) 検討会の開催

第1回検討会 平成19年11月16日 (於 財団法人自然環境研究センター)

検討委員 国立大学法人東京大学大学院 嶋田正和

国立大学法人筑波大学大学院 大澤良

独立行政法人農業環境技術研究所 松尾和人

環境省自然環境局 水谷知生・堀内洋・櫻又涼子

農林水産省消費・安全局 加藤文男・鳥取寛

同省農林水産技術会議事務局 田中淳一

財団法人自然環境研究センター 永津雅人

独立行政法人国立環境研究所 佐治光・久保明弘・青野光子・中嶋信美

第1回個別ヒアリング 平成20年3月4日 (於 独立行政法人農業環境技術研究所)

検討委員 国立大学法人筑波大学大学院 大澤良

独立行政法人農業環境技術研究所 松尾和人

環境省自然環境局 水谷知生・櫻又涼子

独立行政法人国立環境研究所 佐治光・青野光子

第2回個別ヒアリング 平成20年3月5日 (於 国立大学法人東京大学大学院)

検討委員 国立大学法人東京大学大学院 嶋田正和

環境省自然環境局 水谷知生・櫻又涼子

独立行政法人国立環境研究所 佐治光

## 内容と結果

除草剤耐性ナタネ（除草剤グリホサート耐性、除草剤グルホシネート耐性）の種子は主に食用油加工用に日本に輸入されている。昨年度までの本調査等により7箇所のナタネの輸入港とその周辺地域で運搬途中にこぼれ落ちた種子に由来すると考えられる除草剤耐性ナタネが確認されている。本年度はナタネの輸入港のうち名古屋、四日市、堺泉北、神戸、宇野、水島の6つの港湾周辺地域の主要道沿い及び港湾周辺地域の河川敷等で採集された西洋ナタネと在来ナタネ、カラシナの種子を用い、除草剤耐性ナタネの分布と遺伝子流動の状況を調査した。本調査では、運搬に伴い除草剤耐性ナタネの種子がこぼれ落ちる可能性が高い港湾周辺地域の主要道沿いと、従来からナタネ類とカラシナが多く生育している河川敷等に分けて現地調査を行った。結果として、ナタネ類とカラシナの種子について主要道沿いの88地点から225試料を、河川敷等の44地点から151試料を採集した。また、西洋ナタネの葉について主要道沿いの2地点から5試料を採集した。サンプル採取を行った6地域において、西洋ナタネの個体密度は地域間や地域内での差が大きいことがわかっている。

また、ナタネ類とカラシナの種子に対する免疫クロマトグラフ法による検出、実生への除草剤耐性分析、および耐性実生のタンパク質と遺伝子分析の結果、四日市港周辺地域の主要道沿い、及び四日市港周辺地域の河川敷等の計44地点から採集した64試料（種子）のうち、22地点の29試料（種子）に2種類の除草剤のどちらか、あるいは両方への耐性をもつ除草剤耐性ナタネが含まれていることを確認した。さらに、四日市港周辺地域の主要道沿い1地点から採集した4試料（母植物）の葉のうち3試料がグリホサート耐性、水島港周辺地域の主要道沿い1地点から採集した1試料（母植物）の葉のうち1試料が2種類の除草剤両方への耐性をもつ個体であることを確認した。

また、平成17、18年度とは別地点であるが、同じ国道23号沿いで引き続き2種類の除草剤耐性を併せ持つナタネが見つかった。河川敷等で発見した除草剤耐性ナタネの生育地点は、平成17、18年度と同様、主要道路が河川と交差する場所にあった（平成17、18年度とは別地点）ことから、河川敷等のナタネ類とカラシナの生育地が貨物輸送の経路にあたる場合には、こぼれ落ちた除草剤耐性ナタネから近縁種への遺伝子流動が生じる可能性に留意すべきと考えられるが、カラシナ、在来ナタネから除草剤耐性遺伝子は検出されていない。今年度は河川敷における2種類の除草剤耐性を持つ除草剤耐性ナタネの分析結果から、河川敷において除草剤耐性ナタネ間で交雑が起こっている可能性も考えられた。

ダイズ (*Glycine max*) 及びダイズと交雑可能な我が国在来の野生種であるツルマメ (*Glycine soja*) について生育調査を行った。主要なダイズ輸入港である鹿島、千葉、横浜、清水、名古屋、神戸、水島の7箇所の港湾地域、及び周辺地域のダイズ畑またはダイズ加工品工場付近の主要道沿いのうち、鹿島港地域からはダイズとツルマメ、水島港地域からはダイズ、名古屋港地域からはツルマメについて合計26地点で35個体の生育が確認された。これらのうちダイズについては成熟した種子をつけていなかった。また、この他の港からはダイズ、ツルマメ共に生育が確認されなかった。



## 1. ナタネ類とカラシナにおける除草剤耐性遺伝子の流動に関する分析

### 1.1 種子を用いた免疫クロマトグラフ法による除草剤耐性タンパク質の検出

各地点（表 1-1 及び図 2-1 ~ 2-16）よりナタネ類とカラシナの試料を採集した。種子及び母植物組織（サヤ、葉）を採集し、1個体から採集した種子、母植物組織に各々試料番号を付けた（表 1-2）。

各試料を用いて、免疫クロマトグラフ法によるグリホサート耐性タンパク質（*Agrobacterium* sp. CP4由来 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase、以下「CP4 EPSPSタンパク質」）及びグルホシネート耐性タンパク質（phosphinothricin-N-acetyltransferase、以下、「PATタンパク質」）の検出を試みた。本手法は、試料からのタンパク質の精製などの作業が不要であり、粗抽出液を用いた簡単に迅速な検査が可能である。1試料あたり20粒の種子、あるいは葉の一部に適当量（3~4ml）の蒸留水を加え、乳鉢内で磨砕し、粗抽出液を得た。ただし、既存の調査結果より、河川敷等から採集した在来ナタネ・カラシナの種子試料の場合には、除草剤耐性試料が含まれている可能性は低いことが予測されたため、効率的に調査を行なうために3~6試料分をまとめて粗抽出液を調整した（表 1-3）。まとめて検査した場合でも、CP4 EPSPSタンパク質またはPATタンパク質が検出された場合は、残りの種子を使って各試料を再検査すれば、同タンパク質を含む試料を特定することが出来る。CP4 EPSPSタンパク質検出用テスト紙 Reveal<sup>®</sup> (Neogen, MI, USA) とPATタンパク質検出用テスト紙 (TraitCheck<sup>™</sup>、LL Test Kit、Strategic Diagnostic Inc、Newark、DE、USA) を粗抽出液に浸し、約5分後に反応バンドの出現の有無により粗抽出液中のCP4 EPSPSタンパク質またはPATタンパク質の有無を確認した（図 1-1）。

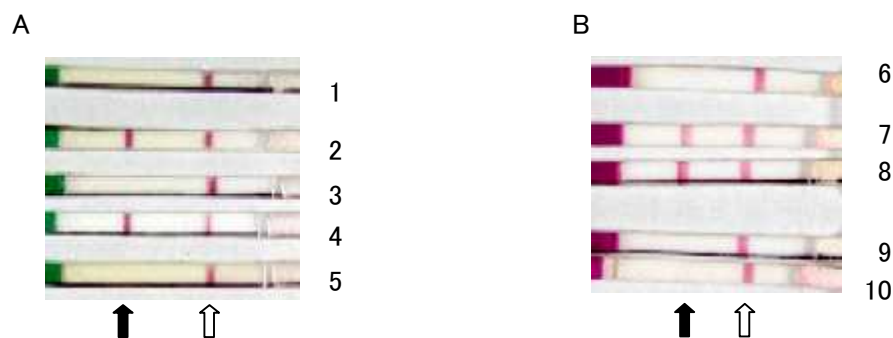


図1-1 免疫クロマトグラフ法によるグリホサート耐性タンパク質 CP4 EPSPS(A)及びグルホシネート耐性タンパク質 PAT(B)の検出の例。

採集した種子から粗抽出液を調整し、CP4 EPSPS 特異抗体または PAT 特異抗体を用いた免疫クロマトグラフ法により CP4 EPSPS タンパク質または PAT タンパク質を検出した。黒矢印:CP4 EPSPS タンパク質または PAT タンパク質と反応した特異抗体のバンドの位置(A では2と4、B では7と8にバンドが認められる)。白矢印:抽出液の移動(図の左から右へ)が完了したことを示すコントロールのバンドの位置。

種子または葉を用いた免疫クロマトグラフ法による CP4 EPSPS タンパク質及び PAT タンパク質の検出結果を表 1-4 ~ 1-8 に示す。各表に試料番号、種名、調査地域、採集地点の所在地、各地点での生育個体数（概数）、各試料全体の採集種子数及び検出結果を示す。種の同定は母植物の形態によって行なった。カラシナで 5 個体、在来ナタネで 1 個体の母植物は、形態による種の同定が不確かであった（表 1-5 及び表 1-7）。CP4 EPSPS タンパク質または PAT タンパク質が検出された試料の結果の欄に+印を記してある。なお、各試料全体の種子数は、試料から 20 粒を取り出して重さを測定し、1 粒あたりの重さを求め、試料全体の重さから推定した数である。

表1-1 ナタネ類とカラシナの各調査地域における採集地点数と試料数。

道路・河川別	地域	道路名・河川名	西洋ナタネ		在来ナタネ		カラシナ		
			地点数	試料数	地点数	試料数	地点数	試料数	
道路	名古屋港	県道 55 号線					1	5	
		県道 55/225 号線	8	14					
		県道 225 号線	1	1					
		国道 23 号線	1	1					
		国道 247 号線					6	15	
		その他の道路	1	1					
	四日市港	国道 1 号線	1	1					
		国道 23 号線	30(1)	45(4)			1	3	
		県道 10 号線	1	1			1	1	
		県道 502 号線	1	6					
		その他の道路	1	1					
	堺泉北港	国道 26 号線					2	6	
		国道 479 号線	1	3			3	6	
		その他の道路	4	10			8	37	
	神戸港	国道 43 号線	1	1					
		県道 722 号線	1	2					
		その他の道路	2	5			3	14	
	宇野港	国道 30 号線					3	15	
		県道 22 号線					2	10	
		その他の道路					1	5	
	水島港	国道 2/430 号線					1	5	
国道 430 号線						1	5		
その他の道路		1(1)	1(1)			2	10		
	小計			55(2)	93(5)	0	0	35	137
河川	名古屋港	庄内川	1	1			4	10	
	四日市港	内部川	2	2			3	11	
		鈴鹿川	6	9			5	24	
		雲出川	2	2			2	10	
		その他の水路	1	2					
	堺泉北港	大和川					4	20	
	神戸港	芦屋川					1	3	
	宇野港	その他の水路					3	15	
	水島港	高梁川	2		3	11	5	25	
		小計			14	22	3	11	27
	総計			69(2)	115(5)	3	11	62	255

種の同定が不確かなものも含む。空欄は試料を採集できなかったことを示す。( )内はうち母植物の葉のみの試料数。

表1-2 試料番号の詳細。

試料番号(例:1-2-3S)						
個体番号(例:1-2-3)						
採集地点番号(例:1-2)						
種と採集場所 を示す数字	種	採集場所	採集地点 ごとの番号	個体ごとの 番号	試料の種類	
1	西洋ナタネ	主要道沿い	北から南へ昇順	同一採集 地点内の 個体ごと	M	母植物組織 (サヤ・葉)
2*	在来ナタネ					
3	カラシナ					
4	西洋ナタネ	河川敷等			S	種子
5	在来ナタネ					
6	カラシナ				L	種子由来の 実生

\*該当する試料は得られなかった。

試料の種類は、M(Maternal plant)が母植物組織、S(Seed)が種子、L(seedLing)が種子由来の実生を示す。

表1-3 まとめて免疫クロマトグラフ調査を行なった、河川敷で採集した在来ナタネとカラシナの種子試料。

5-2-1S	6-5-1S	6-10-8S	6-14-1S	6-18-1S	6-22-1S	6-25-1S
5-2-2S	6-5-2S	6-10-9S	6-14-2S	6-18-2S	6-22-2S	6-25-2S
5-2-3S	6-5-3S	6-10-10S	6-14-3S	6-18-3S	6-22-3S	6-25-3S
5-2-4S	6-5-4S	6-10-11S	6-14-4S	6-18-4S	6-22-4S	6-25-4S
5-2-5S	6-5-5S	6-10-12S	6-14-5S	6-18-5S	6-22-5S	6-25-5S
5-3-1S	6-6-1S	6-10-13S	6-15-1S	6-19-1S	6-23-1S	6-26-1S
5-3-2S	6-6-2S	6-10-4S	6-15-2S	6-19-2S	6-23-2S	6-26-2S
5-3-3S	6-6-3S	6-10-5S	6-15-3S	6-19-3S	6-23-3S	6-26-3S
5-3-4S	6-6-4S	6-10-6S	6-15-4S	6-20-1S	6-23-4S	6-26-4S
5-3-5S	6-6-5S	6-10-7S	6-15-5S	6-20-2S	6-23-5S	6-26-5S
6-1-1S	6-7-1S	6-11-1S	6-16-1S	6-20-3S	6-24-1S	6-27-1S
6-1-2S	6-8-1S	6-11-2S	6-16-2S	6-20-4S	6-24-2S	6-27-2S
6-1-3S	6-8-2S	6-13-1S	6-16-3S	6-20-5S	6-24-3S	6-27-3S
6-2-1S	6-8-3S	6-13-2S	6-16-4S	6-21-1S	6-24-4S	6-27-4S
6-2-2S	6-8-4S	6-13-3S	6-16-5S	6-21-2S	6-24-5S	6-27-5S
6-2-3S	6-8-5S	6-13-4S	6-17-1S	6-21-3S		
6-3-1S	6-9-1S	6-13-5S	6-17-2S	6-21-4S		
6-3-2S	6-9-2S		6-17-3S	6-21-5S		
6-4-1S	6-10-1S		6-17-4S			
6-4-2S	6-10-2S		6-17-5S			
	6-10-3S					

種子は各試料番号を枠で囲んだ単位(3~6 試料)で粗抽出液を調整し、除草剤耐性タンパク質の有無を調べた。

表1-4 主要道沿いから採集した西洋ナタネに対する免疫クロマトグラフ法による CP4 EPSPS タンパク質及び PAT タンパク質の分析結果。

試料番号	種名	地域	所在地	地点生育 個体概数	採集種子 数	CP4 EPSPS*	PAT*
1-1-1S	西洋ナタネ	名古屋	名古屋市港区	1	132	-	-
1-2-1S	西洋ナタネ	名古屋	名古屋市港区	1	137	-	-
1-3-1S	西洋ナタネ	名古屋	名古屋市港区	1	449	-	-
1-4-1S	西洋ナタネ	名古屋	名古屋市港区	3	335	-	-
1-4-2S	西洋ナタネ	名古屋	名古屋市港区		405	-	-
1-4-3S	西洋ナタネ	名古屋	名古屋市港区		329	-	-
1-5-1S	西洋ナタネ	名古屋	名古屋市港区	1	668	-	-
1-6-1S	西洋ナタネ	名古屋	名古屋市港区	5	1072	-	-

1-6-2S	西洋ナタネ	名古屋	名古屋市港区		324	-	-
1-7-1S	西洋ナタネ	名古屋	名古屋市港区	20	861	-	-
1-8-1S	西洋ナタネ	名古屋	名古屋市港区	15	920	-	-
1-8-2S	西洋ナタネ	名古屋	名古屋市港区		1678	-	-
1-8-3S	西洋ナタネ	名古屋	名古屋市港区		1507	-	-
1-8-4S	西洋ナタネ	名古屋	名古屋市港区		1240	-	-
1-9-1S	西洋ナタネ	名古屋	名古屋市港区		1	706	-
1-10-1S	西洋ナタネ	名古屋	名古屋市港区	1	1484	-	-
1-11-1S	西洋ナタネ	名古屋	名古屋市港区	1	521	-	-
1-12-1S	西洋ナタネ	四日市	桑名市	1	826	-	-
1-13-1S	西洋ナタネ	四日市	桑名市	4	629	-	-
1-13-2S	西洋ナタネ	四日市	桑名市		599	-	-
1-14-1S	西洋ナタネ	四日市	桑名市	1	506	-	-
1-15-1S	西洋ナタネ	四日市	桑名市	1	603	-	-
<u>1-16-1S</u>	西洋ナタネ	四日市	三重郡川越町	1	1230	+	-
<u>1-17-1S</u>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	2	102	+	-
1-17-2S	西洋ナタネ	四日市	四日市市		223	-	-
<b>1-18-1S</b>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	1	165	-	+
1-19-1S	西洋ナタネ	四日市	四日市市	1	129	-	-
<u>1-20-1S</u>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	1	226	+	-
1-21-1S	西洋ナタネ	四日市	四日市市	3	52	-	-
1-21-2S	西洋ナタネ	四日市	四日市市		546	-	-
<b>1-21-3S</b>	西洋ナタネ	四日市	四日市市		293	-	+
<b>1-22-1S</b>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	2	197	-	+
<b>1-22-2S</b>	西洋ナタネ	四日市	四日市市		161	-	+
<b>1-23-1S</b>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	1	184	-	+
1-24-1S	西洋ナタネ	四日市	四日市市	2	101	-	-
1-24-2S	西洋ナタネ	四日市	四日市市		60	-	-
1-25-1S	西洋ナタネ	四日市	四日市市	20	37	-	-
1-25-2S	西洋ナタネ	四日市	四日市市		871	-	-
1-25-3S	西洋ナタネ	四日市	四日市市		876	-	-
1-25-4S	西洋ナタネ	四日市	四日市市		1166	-	-
1-25-5S	西洋ナタネ	四日市	四日市市		758	-	-
1-25-6S	西洋ナタネ	四日市	四日市市		584	-	-
1-26-1S	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	1	972	-	-
1-27-1S	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	1	319	-	-
<u>1-28-1S</u>	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	20	90	+	-
<u>1-28-2S</u>	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市		130	+	-

<u>1-28-3S</u>	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市		125	+	-
<u>1-28-4S</u>	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市		148	+	-
<u>1-28-5S</u>	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市		331	+	-
1-29-1S	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	1	363	-	-
1-30-1S	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	1	127	-	+
1-31-1S	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	1	121	-	+
1-32-1S	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	1	74	-	+
<u>1-33-1M</u>	西洋ナタネ	四日市	津市	6	葉のみ	+	-
<u>1-33-2M</u>	西洋ナタネ	四日市	津市		葉のみ	+	-
<u>1-33-3M</u>	西洋ナタネ	四日市	津市		葉のみ	+	-
1-33-4M	西洋ナタネ	四日市	津市		葉のみ	-	-
1-34-1S	西洋ナタネ	四日市	津市	1	2087	-	-
1-35-1S	西洋ナタネ	四日市	津市	1	1173	-	-
1-36-1S	西洋ナタネ	四日市	津市	1	269	-	-
1-37-1S	西洋ナタネ	四日市	津市	1	525	-	+
<u>1-38-1S</u>	西洋ナタネ	四日市	津市	1	720	+	+
<u>1-39-1S</u>	西洋ナタネ	四日市	津市	5	1163	+	-
<u>1-39-2S</u>	西洋ナタネ	四日市	津市		429	+	-
1-40-1S	西洋ナタネ	四日市	松坂市	3	329	-	-
1-40-2S	西洋ナタネ	四日市	松坂市		187	-	+
1-41-1S	西洋ナタネ	四日市	松坂市	2	107	-	-
1-42-1S	西洋ナタネ	四日市	松坂市	2	124	-	-
1-43-1S	西洋ナタネ	四日市	松坂市	1	262	-	+
<u>1-44-1S</u>	西洋ナタネ	四日市	松坂市	1	779	+	-
1-45-1S	西洋ナタネ	四日市	松坂市	1	324	-	-
1-46-1S	西洋ナタネ	堺泉北	八尾市	7	288	-	-
1-46-2S	西洋ナタネ	堺泉北	八尾市		285	-	-
1-46-3S	西洋ナタネ	堺泉北	八尾市		714	-	-
1-46-4S	西洋ナタネ	堺泉北	八尾市		667	-	-
1-46-5S	西洋ナタネ	堺泉北	八尾市		538	-	-
1-47-1S	西洋ナタネ	堺泉北	八尾市	1	464	-	-
1-48-1S	西洋ナタネ	堺泉北	八尾市	3	51	-	-
1-48-2S	西洋ナタネ	堺泉北	八尾市		91	-	-
1-48-3S	西洋ナタネ	堺泉北	八尾市		165	-	-
1-49-1S	西洋ナタネ	堺泉北	八尾市	1	404	-	-
1-50-1S	西洋ナタネ	堺泉北	大阪市東住吉区	3	75	-	-
1-50-2S	西洋ナタネ	堺泉北	大阪市東住吉区		106	-	-
1-50-3S	西洋ナタネ	堺泉北	大阪市東住吉区		63	-	-

1-51-1S	西洋ナタネ	神戸	神戸市東灘区	1	669	-	-
1-52-1S	西洋ナタネ	神戸	神戸市東灘区	4	70	-	-
1-52-2S	西洋ナタネ	神戸	神戸市東灘区		271	-	-
1-52-3S	西洋ナタネ	神戸	神戸市東灘区		539	-	-
1-52-4S	西洋ナタネ	神戸	神戸市東灘区		292	-	-
1-53-1S	西洋ナタネ	神戸	神戸市東灘区		2	315	-
1-53-2S	西洋ナタネ	神戸	神戸市東灘区	200		-	-
1-54-1S	西洋ナタネ	神戸	神戸市灘区	1	350	-	-
<b><i>1-55-1M</i></b>	西洋ナタネ	水島	倉敷市	1	葉のみ	+	+

\* -: 該当する除草剤耐性タンパク質が検出されなかった試料。+: 該当する除草剤耐性タンパク質が検出された試料。

水色・斜体の試料番号に下線: CP4 EPSPS タンパク質が検出された試料。

黄色・太字の試料番号: PAT タンパク質が検出された試料。

緑色・斜体で太字の試料番号に下線: CP4 EPSPS タンパク質と PAT タンパク質が検出された試料。

表1-5 主要道沿いから採種したカラシナに対する免疫クロマトグラフ法によるCP4 EPSPS タンパク質及びPAT タンパク質の分析結果。

試料番号	種名	地域	所在地	地点生育 個体概数	採集種子 数	CP4 EPSPS*	PAT*
3-1-1S	カラシナ	名古屋	東海市	30	1826	-	-
3-1-2S	カラシナ	名古屋	東海市		532	-	-
3-1-3S	カラシナ	名古屋	東海市		359	-	-
3-1-4S	カラシナ	名古屋	東海市		398	-	-
3-1-5S	カラシナ	名古屋	東海市		362	-	-
3-2-1S	カラシナ	名古屋	東海市	20	670	-	-
3-2-2S	カラシナ	名古屋	東海市		934	-	-
3-2-3S	カラシナ	名古屋	東海市		910	-	-
3-2-4S	カラシナ	名古屋	東海市		692	-	-
3-3-1S	カラシナ	名古屋	東海市	20	836	-	-
3-3-2S	カラシナ	名古屋	東海市		1738	-	-
3-4-1S	カラシナ	名古屋	東海市	50	1259	-	-
3-4-2S	カラシナ	名古屋	東海市		1507	-	-
3-4-3S	カラシナ	名古屋	東海市		2191	-	-
3-5-1S	カラシナ	名古屋	東海市	2	916	-	-
3-6-1S	カラシナ	名古屋	東海市	6	1349	-	-
3-6-2S	カラシナ	名古屋	東海市		1182	-	-
3-6-3S	カラシナ	名古屋	東海市		1353	-	-
3-6-4S	カラシナ	名古屋	東海市		1437	-	-



3-7-1S	カラシナ	名古屋	東海市	1	1099	-	-
3-8-1S	カラシナ	四日市	津市	1	1627	-	-
3-9-1S	カラシナ	四日市	津市	7	871	-	-
3-9-2S	カラシナ	四日市	津市		496	-	-
3-9-3S	カラシナ	四日市	津市		808	-	-
3-10-1S	カラシナ	堺泉北	八尾市	6	230	-	-
3-10-2S	カラシナ	堺泉北	八尾市		131	-	-
3-10-3S	カラシナ	堺泉北	八尾市		80	-	-
3-10-4S	カラシナ	堺泉北	八尾市		164	-	-
3-10-5S	カラシナ	堺泉北	八尾市		1070	-	-
3-10-6S	カラシナ	堺泉北	八尾市		930	-	-
3-11-1S	カラシナ	堺泉北	大阪市東住吉区	1	643	-	-
3-12-1S	カラシナ	堺泉北	大阪市住吉区	4	221	-	-
3-12-2S	カラシナ	堺泉北	大阪市住吉区		205	-	-
3-12-3S	カラシナ	堺泉北	大阪市住吉区		205	-	-
3-12-4S	カラシナ	堺泉北	大阪市住吉区		293	-	-
3-13-1S	カラシナ	堺泉北	大阪市住吉区	1	396	-	-
3-14-1S	カラシナ	堺泉北	堺市北区	20	916	-	-
3-14-2S	カラシナ	堺泉北	堺市北区		860	-	-
3-14-3S	カラシナ	堺泉北	堺市北区		1031	-	-
3-14-4S	カラシナ	堺泉北	堺市北区		819	-	-
3-14-5S	カラシナ	堺泉北	堺市北区		485	-	-
3-15-1S	カラシナ	堺泉北	堺市堺区	25	544	-	-
3-15-2S	カラシナ	堺泉北	堺市堺区		820	-	-
3-15-3S	カラシナ	堺泉北	堺市堺区		973	-	-
3-15-4S	カラシナ	堺泉北	堺市堺区		1004	-	-
3-15-5S	カラシナ	堺泉北	堺市堺区		669	-	-
3-16-1S	カラシナ	堺泉北	堺市西区	10	465	-	-
3-16-2S	カラシナ	堺泉北	堺市西区		1229	-	-
3-16-3S	カラシナ	堺泉北	堺市西区		432	-	-
3-16-4S	カラシナ	堺泉北	堺市西区		574	-	-
3-16-5S	カラシナ	堺泉北	堺市西区		478	-	-
3-17-1S	カラシナ	堺泉北	和泉市	1	155	-	-
3-18-1S	カラシナ	堺泉北	堺市西区	7	459	-	-
3-18-2S	カラシナ	堺泉北	堺市西区		477	-	-
3-18-3S	カラシナ	堺泉北	堺市西区		474	-	-
3-18-4S	カラシナ	堺泉北	堺市西区		886	-	-
3-18-5S	カラシナ	堺泉北	堺市西区		1092	-	-

3-19-1S	カラシナ	堺泉北	堺市西区	30	1202	-	-
3-19-2S	カラシナ	堺泉北	堺市西区		1336	-	-
3-19-3S	カラシナ	堺泉北	堺市西区		1159	-	-
3-19-4S	カラシナ	堺泉北	堺市西区		1319	-	-
3-19-5S	カラシナ	堺泉北	堺市西区		1058	-	-
3-20-1S	カラシナ	堺泉北	堺市西区	7	768	-	-
3-20-2S	カラシナ	堺泉北	堺市西区		1098	-	-
3-20-3S	カラシナ	堺泉北	堺市西区		1027	-	-
3-20-4S	カラシナ	堺泉北	堺市西区		627	-	-
3-20-5S	カラシナ	堺泉北	堺市西区		709	-	-
3-21-1S	カラシナ	堺泉北	堺市西区	9	1489	-	-
3-21-2S	カラシナ	堺泉北	堺市西区		1501	-	-
3-21-3S	カラシナ	堺泉北	堺市西区		1843	-	-
3-21-4S	カラシナ	堺泉北	堺市西区		865	-	-
3-21-5S	カラシナ	堺泉北	堺市西区		784	-	-
3-22-1S	カラシナ	堺泉北	堺市西区	1	596	-	-
3-23-1S	カラシナ	神戸	神戸市東灘区	7	1079	-	-
3-23-2S	カラシナ	神戸	神戸市東灘区		1181	-	-
3-23-3S	カラシナ	神戸	神戸市東灘区		1038	-	-
3-23-4S	カラシナ	神戸	神戸市東灘区		1292	-	-
3-23-5S	カラシナ	神戸	神戸市東灘区		1581	-	-
3-24-1S	カラシナ	神戸	神戸市東灘区	10	904	-	-
3-24-2S	カラシナ	神戸	神戸市東灘区		891	-	-
3-24-3S	カラシナ	神戸	神戸市東灘区		710	-	-
3-24-4S	カラシナ	神戸	神戸市東灘区		1074	-	-
3-25-1S	カラシナ?	神戸	神戸市中央区	15	210	-	-
3-25-2S	カラシナ?	神戸	神戸市中央区		209	-	-
3-25-3S	カラシナ?	神戸	神戸市中央区		487	-	-
3-25-4S	カラシナ?	神戸	神戸市中央区		147	-	-
3-25-5S	カラシナ?	神戸	神戸市中央区		570	-	-
3-26-1S	カラシナ	宇野	岡山市	50	1010	-	-
3-26-2S	カラシナ	宇野	岡山市		781	-	-
3-26-3S	カラシナ	宇野	岡山市		839	-	-
3-26-4S	カラシナ	宇野	岡山市		1197	-	-
3-26-5S	カラシナ	宇野	岡山市		1737	-	-
3-27-1S	カラシナ	宇野	岡山市	150	1437	-	-
3-27-2S	カラシナ	宇野	岡山市		1083	-	-
3-27-3S	カラシナ	宇野	岡山市		1316	-	-

3-27-4S	カラシナ	宇野	岡山市		1220	-	-
3-27-5S	カラシナ	宇野	岡山市		804	-	-
3-28-1S	カラシナ	宇野	玉野市	40	1400	-	-
3-28-2S	カラシナ	宇野	玉野市		926	-	-
3-28-3S	カラシナ	宇野	玉野市		1691	-	-
3-28-4S	カラシナ	宇野	玉野市		1061	-	-
3-28-5S	カラシナ	宇野	玉野市		938	-	-
3-29-1S	カラシナ	宇野	玉野市		20	880	-
3-29-2S	カラシナ	宇野	玉野市	352		-	-
3-29-3S	カラシナ	宇野	玉野市	798		-	-
3-29-4S	カラシナ	宇野	玉野市	696		-	-
3-29-5S	カラシナ	宇野	玉野市	776		-	-
3-30-1S	カラシナ	宇野	玉野市	400	522	-	-
3-30-2S	カラシナ	宇野	玉野市		696	-	-
3-30-3S	カラシナ	宇野	玉野市		568	-	-
3-30-4S	カラシナ	宇野	玉野市		1036	-	-
3-30-5S	カラシナ	宇野	玉野市		1254	-	-
3-31-1S	カラシナ	宇野	玉野市	20	590	-	-
3-31-2S	カラシナ	宇野	玉野市		526	-	-
3-31-3S	カラシナ	宇野	玉野市		705	-	-
3-31-4S	カラシナ	宇野	玉野市		767	-	-
3-31-5S	カラシナ	宇野	玉野市		826	-	-
3-32-1S	カラシナ	水島	倉敷市	80	701	-	-
3-32-2S	カラシナ	水島	倉敷市		837	-	-
3-32-3S	カラシナ	水島	倉敷市		852	-	-
3-32-4S	カラシナ	水島	倉敷市		347	-	-
3-32-5S	カラシナ	水島	倉敷市		1401	-	-
3-33-1S	カラシナ	水島	倉敷市	50	719	-	-
3-33-2S	カラシナ	水島	倉敷市		1359	-	-
3-33-3S	カラシナ	水島	倉敷市		849	-	-
3-33-4S	カラシナ	水島	倉敷市		2058	-	-
3-33-5S	カラシナ	水島	倉敷市		1319	-	-
3-34-1S	カラシナ	水島	倉敷市	20	1495	-	-
3-34-2S	カラシナ	水島	倉敷市		953	-	-
3-34-3S	カラシナ	水島	倉敷市		948	-	-
3-34-4S	カラシナ	水島	倉敷市		1165	-	-
3-34-5S	カラシナ	水島	倉敷市		1238	-	-
3-35-1S	カラシナ	水島	倉敷市	150	1063	-	-

3-35-2S	カラシナ	水島	倉敷市		977	-	-
3-35-3S	カラシナ	水島	倉敷市		933	-	-
3-35-4S	カラシナ	水島	倉敷市		943	-	-
3-35-5S	カラシナ	水島	倉敷市		855	-	-

種名に「？」を付したものは種の同定が不確かな試料であることを示す。\* -：該当する除草剤耐性タンパク質が検出されなかった試料。+：該当する除草剤耐性タンパク質が検出された試料。

表1-6 河川敷等から採種した西洋ナタネに対する免疫クロマトグラフ法による CP4 EPSPS タンパク質及び PAT タンパク質の分析結果。

試料番号	種名	地域	所在地	地点生育 個体概数	採集種子 数	CP4 EPSPS*	PAT*
4-1-1S	西洋ナタネ	名古屋	名古屋市港区	2	180	-	-
4-2-1S	西洋ナタネ	四日市	四日市市	1	707	-	-
<u>4-3-1S</u>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	7	406	+	+
<u>4-4-1S</u>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	10	269	+	+
<u>4-5-1S</u>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	40	58	+	+
4-5-2S	西洋ナタネ	四日市	四日市市		91	-	-
4-5-3S	西洋ナタネ	四日市	四日市市		98	-	+
<u>4-6-1S</u>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	2	242	+	+
4-7-1S	西洋ナタネ	四日市	四日市市	9	875	-	+
4-7-2S	西洋ナタネ	四日市	四日市市		589	-	-
4-8-1S	西洋ナタネ	四日市	四日市市	1	1236	-	-
4-9-1S	西洋ナタネ	四日市	四日市市	1	222	-	-
4-10-1S	西洋ナタネ	四日市	津市	20	320	-	-
4-10-2S	西洋ナタネ	四日市	津市		844	-	-
4-11-1S	西洋ナタネ	四日市	津市	1	489	-	-
4-12-1S	西洋ナタネ	四日市	松坂市	1	318	-	-
4-13-1S	西洋ナタネ	水島	倉敷市	10	182	-	-
4-13-2S	西洋ナタネ	水島	倉敷市		149	-	-
4-14-1S	西洋ナタネ	水島	倉敷市	11	512	-	-
4-14-2S	西洋ナタネ	水島	倉敷市		299	-	-
4-14-3S	西洋ナタネ	水島	倉敷市		349	-	-
4-14-4S	西洋ナタネ	水島	倉敷市		879	-	-

\* -：該当する除草剤耐性タンパク質が検出されなかった試料。+：該当する除草剤耐性タンパク質が検出された試料。

黄色・太字の試料番号：PAT タンパク質が検出された試料。

緑色・斜体で太字の試料番号に下線：CP4 EPSPS タンパク質と PAT タンパク質が検出された試料。

表1-7 河川敷等から採種した在来ナタネに対する免疫クロマトグラフ法による CP4 EPSPS タンパク質及び PAT タンパク質の分析結果。

試料番号	種名	地域	所在地	地点生育 個体概数	採集種子 数	CP4 EPSPS*	PAT*
5-1-1S	在来ナタネ?	水島	倉敷市	1	309	-	-
5-2-1S	在来ナタネ	水島	倉敷市	50	569	-	-
5-2-2S	在来ナタネ	水島	倉敷市		382	-	-
5-2-3S	在来ナタネ	水島	倉敷市		527	-	-
5-2-4S	在来ナタネ	水島	倉敷市		779	-	-
5-2-5S	在来ナタネ	水島	倉敷市		733	-	-
5-3-1S	在来ナタネ	水島	倉敷市	200	465	-	-
5-3-2S	在来ナタネ	水島	倉敷市		689	-	-
5-3-3S	在来ナタネ	水島	倉敷市		288	-	-
5-3-4S	在来ナタネ	水島	倉敷市		1023	-	-
5-3-5S	在来ナタネ	水島	倉敷市		486	-	-

種名に?を付したものは種の同定が不確かな試料であることを示す。\* -: 該当する除草剤耐性タンパク質が検出されなかった試料。+: 該当する除草剤耐性タンパク質が検出された試料。

表1-8 河川敷等から採種したカラシナに対する免疫クロマトグラフ法による CP4 EPSPS タンパク質及び PAT タンパク質の分析結果。

試料番号	種名	地域	所在地	地点生育 個体概数	採集種子 数	CP4 EPSPS*	PAT*
6-1-1S	カラシナ	名古屋	名古屋市中川区	5	1095	-	-
6-1-2S	カラシナ	名古屋	名古屋市中川区		842	-	-
6-1-3S	カラシナ	名古屋	名古屋市中川区		614	-	-
6-2-1S	カラシナ	名古屋	名古屋市中川区	3	1311	-	-
6-2-2S	カラシナ	名古屋	名古屋市中川区		1072	-	-
6-2-3S	カラシナ	名古屋	名古屋市中川区		1100	-	-
6-3-1S	カラシナ	名古屋	名古屋市中川区	3	1218	-	-
6-3-2S	カラシナ	名古屋	名古屋市中川区		1222	-	-
6-4-1S	カラシナ	名古屋	名古屋市中川区	5	676	-	-
6-4-2S	カラシナ	名古屋	名古屋市中川区		588	-	-
6-5-1S	カラシナ	四日市	四日市市	50	1083	-	-
6-5-2S	カラシナ	四日市	四日市市		1751	-	-
6-5-3S	カラシナ	四日市	四日市市		1340	-	-
6-5-4S	カラシナ	四日市	四日市市		999	-	-
6-5-5S	カラシナ	四日市	四日市市		890	-	-

6-6-1S	カラシナ	四日市	四日市市	100	837	-	-
6-6-2S	カラシナ	四日市	四日市市		824	-	-
6-6-3S	カラシナ	四日市	四日市市		831	-	-
6-6-4S	カラシナ	四日市	四日市市		921	-	-
6-6-5S	カラシナ	四日市	四日市市		772	-	-
6-7-1S	カラシナ	四日市	四日市市	20	980	-	-
6-8-1S	カラシナ	四日市	四日市市	30	1225	-	-
6-8-2S	カラシナ	四日市	四日市市		1466	-	-
6-8-3S	カラシナ	四日市	四日市市		936	-	-
6-8-4S	カラシナ	四日市	四日市市		430	-	-
6-8-5S	カラシナ	四日市	四日市市		1440	-	-
6-9-1S	カラシナ	四日市	四日市市	20	1024	-	-
6-9-2S	カラシナ	四日市	四日市市		867	-	-
6-10-1S	カラシナ	四日市	四日市市	60	958	-	-
6-10-2S	カラシナ	四日市	四日市市		1910	-	-
6-10-3S	カラシナ	四日市	四日市市		739	-	-
6-10-4S	カラシナ	四日市	四日市市		1309	-	-
6-10-5S	カラシナ	四日市	四日市市		814	-	-
6-10-6S	カラシナ	四日市	四日市市		339	-	-
6-10-7S	カラシナ	四日市	四日市市		187	-	-
6-10-8S	カラシナ	四日市	四日市市		818	-	-
6-10-9S	カラシナ	四日市	四日市市		333	-	-
6-10-10S	カラシナ	四日市	四日市市		1314	-	-
6-10-11S	カラシナ	四日市	四日市市		1143	-	-
6-10-12S	カラシナ	四日市	四日市市		500	-	-
6-10-13S	カラシナ	四日市	四日市市		776	-	-
6-11-1S	カラシナ	四日市	四日市市	5	1269	-	-
6-11-2S	カラシナ	四日市	四日市市		510	-	-
6-12-1S	カラシナ	四日市	四日市市	2	1434	-	-
6-12-2S	カラシナ	四日市	四日市市		872	-	-
6-13-1S	カラシナ	四日市	松坂市	15	724	-	-
6-13-2S	カラシナ	四日市	松坂市		641	-	-
6-13-3S	カラシナ	四日市	松坂市		677	-	-
6-13-4S	カラシナ	四日市	松坂市		633	-	-
6-13-5S	カラシナ	四日市	松坂市		1016	-	-
6-14-1S	カラシナ	四日市	松坂市	10	1571	-	-
6-14-2S	カラシナ	四日市	松坂市		1179	-	-
6-14-3S	カラシナ	四日市	松坂市		1521	-	-

6-14-4S	カラシナ	四日市	松坂市		1479	-	-
6-14-5S	カラシナ	四日市	松坂市		1349	-	-
6-15-1S	カラシナ	堺泉北	大阪市平野区	400	1052	-	-
6-15-2S	カラシナ	堺泉北	大阪市平野区		1107	-	-
6-15-3S	カラシナ	堺泉北	大阪市平野区		651	-	-
6-15-4S	カラシナ	堺泉北	大阪市平野区		894	-	-
6-15-5S	カラシナ	堺泉北	大阪市平野区		588	-	-
6-16-1S	カラシナ	堺泉北	大阪市東住吉区		50	905	-
6-16-2S	カラシナ	堺泉北	大阪市東住吉区	2207		-	-
6-16-3S	カラシナ	堺泉北	大阪市東住吉区	1388		-	-
6-16-4S	カラシナ	堺泉北	大阪市東住吉区	1299		-	-
6-16-5S	カラシナ	堺泉北	大阪市東住吉区	252		-	-
6-17-1S	カラシナ	堺泉北	堺市堺区	50	764	-	-
6-17-2S	カラシナ	堺泉北	堺市堺区		861	-	-
6-17-3S	カラシナ	堺泉北	堺市堺区		640	-	-
6-17-4S	カラシナ	堺泉北	堺市堺区		863	-	-
6-17-5S	カラシナ	堺泉北	堺市堺区		1043	-	-
6-18-1S	カラシナ	堺泉北	堺市堺区	300	815	-	-
6-18-2S	カラシナ	堺泉北	堺市堺区		624	-	-
6-18-3S	カラシナ	堺泉北	堺市堺区		572	-	-
6-18-4S	カラシナ	堺泉北	堺市堺区		2476	-	-
6-18-5S	カラシナ	堺泉北	堺市堺区		1188	-	-
6-19-1S	カラシナ	神戸	芦屋市	10	153	-	-
6-19-2S	カラシナ	神戸	芦屋市		168	-	-
6-19-3S	カラシナ	神戸	芦屋市		110	-	-
6-20-1S	カラシナ	宇野	岡山市	300	966	-	-
6-20-2S	カラシナ	宇野	岡山市		1126	-	-
6-20-3S	カラシナ	宇野	岡山市		1759	-	-
6-20-4S	カラシナ	宇野	岡山市		1178	-	-
6-20-5S	カラシナ	宇野	岡山市		1817	-	-
6-21-1S	カラシナ	宇野	岡山市	12	657	-	-
6-21-2S	カラシナ	宇野	岡山市		700	-	-
6-21-3S	カラシナ	宇野	岡山市		562	-	-
6-21-4S	カラシナ	宇野	岡山市		945	-	-
6-21-5S	カラシナ	宇野	岡山市		539	-	-
6-22-1S	カラシナ	宇野	玉野市	30	975	-	-
6-22-2S	カラシナ	宇野	玉野市		1446	-	-
6-22-3S	カラシナ	宇野	玉野市		1068	-	-

6-22-4S	カラシナ	宇野	玉野市		1367	-	-
6-22-5S	カラシナ	宇野	玉野市		1073	-	-
6-23-1S	カラシナ	水島	倉敷市	6	461	-	-
6-23-2S	カラシナ	水島	倉敷市		560	-	-
6-23-3S	カラシナ	水島	倉敷市		981	-	-
6-23-4S	カラシナ	水島	倉敷市		972	-	-
6-23-5S	カラシナ	水島	倉敷市		808	-	-
6-24-1S	カラシナ	水島	倉敷市		30	879	-
6-24-2S	カラシナ	水島	倉敷市	537		-	-
6-24-3S	カラシナ	水島	倉敷市	725		-	-
6-24-4S	カラシナ	水島	倉敷市	594		-	-
6-24-5S	カラシナ	水島	倉敷市	608		-	-
6-25-1S	カラシナ	水島	倉敷市	300	500	-	-
6-25-2S	カラシナ	水島	倉敷市		121	-	-
6-25-3S	カラシナ	水島	倉敷市		1067	-	-
6-25-4S	カラシナ	水島	倉敷市		1231	-	-
6-25-5S	カラシナ	水島	倉敷市		1052	-	-
6-26-1S	カラシナ	水島	倉敷市	25	635	-	-
6-26-2S	カラシナ	水島	倉敷市		1210	-	-
6-26-3S	カラシナ	水島	倉敷市		355	-	-
6-26-4S	カラシナ	水島	倉敷市		603	-	-
6-26-5S	カラシナ	水島	倉敷市		1072	-	-
6-27-1S	カラシナ	水島	倉敷市	100	1985	-	-
6-27-2S	カラシナ	水島	倉敷市		1517	-	-
6-27-3S	カラシナ	水島	倉敷市		1893	-	-
6-27-4S	カラシナ	水島	倉敷市		910	-	-
6-27-5S	カラシナ	水島	倉敷市		912	-	-

\* -: 該当する除草剤耐性タンパク質が検出されなかった試料。+: 該当する除草剤耐性タンパク質が検出された試料。

全体で 376 試料の種子（主要道沿い 225 試料、河川敷等 151 試料）と 5 試料の母植物（全て主要道沿い）について検査を行なった。四日市港周辺地域の主要道沿い 33 地点で採集された西洋ナタネ 50 試料（種子）と 1 地点で採集された 4 試料（母植物）のうち、6 地点の 11 試料（種子）から CP4 EPSPS タンパク質が、10 地点の 11 試料（種子）から PAT タンパク質が、1 地点の 1 試料（種子）から CP4 EPSPS タンパク質と PAT タンパク質の両方が検出され、1 地点の 3 試料（母植物）から CP4 EPSPS タンパク質が検出された。また、四日市港周辺地域の河川敷等 11 地点で採集された西洋ナタネ 15 試料中 2 地点の 2 試料（種子）から PAT タンパク質が、4 地点の 4 試料（種子）から CP4 EPSPS タンパク質と PAT タンパク質の両方が検出された。さらに、水島



港周辺地域の主要道沿い1地点で採集された1試料（母植物）から、CP4 EPSPS タンパク質とPAT タンパク質の両方が検出された。これ以外の地域の主要道沿い及び河川敷等から採集した西洋ナタネと、全ての在来ナタネ及びカラシナの種子からは、除草剤耐性タンパク質は全く検出されなかった。

## 1.2 実生の除草剤耐性分析

採集したナタネ類とカラシナの種子における遺伝子組換え体の混入率や導入された遺伝子の同定等の詳細な解析を行うため、種子から発芽させて栽培した実生の除草剤耐性を調べた。種子の分析においてCP4 EPSPS タンパク質またはPAT タンパク質のどちらかのみが種子から検出された24試料について、種子をガラス温室（特定網室）内に設置した910 X 1350 mmのプラスチックケース（1試料・1種類の除草剤あたり、2区画に分割した1区画）に播種し、栽培した。

播種後21日目と28日目に水道水で400倍に希釈したグリホサート（ラウンドアップハイロード<sup>®</sup>、Monsanto、Antwerp、Belgium）水溶液（最終濃度約1g/ℓのグリホサートアンモニウム塩）を、910 X 1350 mmのプラスチックケース1ケースあたり約4ℓ（33.4kg ae/ha（aeはacid equivalent：酸換算）に相当）散布した。2回目の除草剤処理後7日目に実生の生育状況を観察し、生育しているものをグリホサート耐性個体、枯死しているものをグリホサート感受性個体とした。観察時、健全に生育している個体と枯死した個体の差は明らかで、識別が困難な個体はなかった。

また、グリホサートを散布した実生とは別区画で栽培した実生を用い、播種後21日目と24日目に水道水で800倍に希釈したグルホシネート（バスタ<sup>®</sup>、Bayer CropScience、Frankfurt、Germany）水溶液（最終濃度約0.23g/ℓのグルホシネート（アンモニウム-DL-ホモアラニン-イル（メチル）ホスフィナート））を、910 X 1350 mmのプラスチックケース1ケースあたり約4ℓ（7.5kg ai/ha（aiはactive ingredient：有効成分）に相当）散布した。2回目の除草剤処理後3日目に実生の生育状況を観察し、生育しているものをグルホシネート耐性個体、枯死しているものをグルホシネート感受性個体とした。観察時、生育している個体と枯死した個体の差は明らかで、識別が困難な個体はなかった。

結果を表1-9～1-10に示す。表中には試料番号、種名、調査地域名、採集地点の所在地、播種数と発芽数及び除草剤耐性個体数を示した。播種数よりも発芽数が多い例があるが、これは重量から推定した播種数を記載しているため、種子の大きさが一定でない等の場合に実際の播種数が推定数よりも多くなっていたためである。

さらに、除草剤処理に先立ってCP4 EPSPS タンパク質とPAT タンパク質の両方を有することが種子の免疫クロマトグラフによって予想されていた試料でも、種子をガラス温室内に設置した910 X 1350 mmのプラスチックケース（1試料あたり1ケース）に播種し、実生を栽培した（1-38-1L、4-3-1L、4-4-1L、4-5-1L、4-6-1L）。

表1-9 主要道沿いから採種した西洋ナタネのうち除草剤耐性タンパク質が検出されたものの実生の除草剤耐性の分析結果。

試料番号	種名	地域	所在地	播種数	発芽数	グリホサート耐性 個体数	播種数	発芽数	グルホシ ネート耐 性個体数
<u>1-16-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	三重郡川 越町	20	14	14	20	18	0
<u>1-17-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	50	44	44	20	20	0
1-18-1L	西洋ナタネ	四日市	四日市市	20	19	0	20	20	14
<u>1-20-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	50	48	48	20	5	0
1-21-3L	西洋ナタネ	四日市	四日市市	20	19	0	20	20	8
1-22-1L	西洋ナタネ	四日市	四日市市	20	18	0	20	16	16
1-22-2L	西洋ナタネ	四日市	四日市市	20	20	0	20	19	19
1-23-1L	西洋ナタネ	四日市	四日市市	20	19	0	20	24	15
<u>1-28-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	20	1	1	20	2	0
<u>1-28-2L</u>	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	20	8	8	20	7	0
<u>1-28-3L</u>	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	20	8	7	20	9	0
<u>1-28-4L</u>	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	20	17	17	20	19	0
<u>1-28-5L</u>	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	20	19	19	20	20	0
1-30-1L	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	20	14	0	20	17	13
1-31-1L	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	20	17	0	20	20	20
1-32-1L	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	20	3	0	20	14	8
1-37-1L	西洋ナタネ	四日市	津市	20	19	0	20	20	20
<u>1-39-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	津市	20	20	20	20	18	0
<u>1-39-2L</u>	西洋ナタネ	四日市	津市	20	18	18	20	19	0
1-40-2L	西洋ナタネ	四日市	松坂市	20	20	0	20	20	20
1-43-1L	西洋ナタネ	四日市	松坂市	20	18	0	20	21	14
<u>1-44-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	松坂市	20	10	10	20	7	0

播種数は重量からの推定。

水色・斜体の試料番号に下線:グリホサート耐性を示した実生個体を含む試料。

黄色・太字の試料番号:グルホシネート耐性を示した実生個体を含む試料。

表1-10 河川敷等から採種した西洋ナタネのうち除草剤耐性タンパク質が検出されたものの実生の除草剤耐性の分析結果。

試料番号	種名	地域	所在地	播種数	発芽数	グリホサート耐性 個体数	播種数	発芽数	グルホシ ネート耐 性個体数
<b>4-5-3L</b>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	20	4	0	20	6	5
<b>4-7-1L</b>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	20	18	0	20	17	15

播種数は重量からの推定。

黄色・太字の試料番号: グルホシネート耐性を示した実生個体を含む試料。

全体で 24 試料 (母植物) (主要道沿い 22 試料、河川敷等 2 試料) に由来する実生について検査を行なったところ、四日市港周辺地域の主要道沿い 6 地点で採集された西洋ナタネ 11 試料 (種子) に由来する実生がグリホサート耐性を示した。また、四日市港周辺地域の主要道沿い 10 地点で採集された西洋ナタネ 11 試料 (種子)、及び四日市港周辺地域の河川敷等 2 地点で採集された 2 試料 (種子) に由来する実生がグルホシネート耐性を示した。これらは、種子において CP4 EPSPS タンパク質及び PAT タンパク質が検出された試料と一致した。

### 1.3 除草剤耐性実生のタンパク質、遺伝子分析

除草剤耐性を示した各試料の実生 2 個体ずつから、葉の組織を適宜サンプリングして CP4 EPSPS タンパク質及びグリホサート耐性遺伝子 (*cp4 epsps* 遺伝子)、PAT タンパク質及びグルホシネート耐性遺伝子 (*bar* 遺伝子) の分析を行なった。各試料あたり 2 個体ずつ、2 種類の除草剤耐性タンパク質及び遺伝子の分析を行なった。タンパク質の分析は、種子に対して行なったのと同様に、免疫クロマトグラフ法により行なった。遺伝子の分析は、葉から調整したゲノム DNA に対して、PCR (ポリメラーゼ連鎖反応) 法による分析 (図 1-2) と、その際増幅された DNA の塩基配列を決定することにより行なった。PCR のプライマーは、実際に除草剤耐性ナタネに用いられていることが分かっている *cp4 epsps* 遺伝子の内部の配列、EPSPS7 (5'-AAGAACTCCGTGTTAAGGAAAGCGA-3') 及び EPSPS8 (5'-AGCCTTAGTGTCGGAGAGTTCGAT-3') と、*bar* 遺伝子の内部の配列 *bar7* (5'-ACAAGCACGGTCAACTTCCGTAC-3') 及び *bar8* (5'-GAGCGCCTCGTGCATGCGCACG-3') を用いた。PCR 反応は 94°C3 分、(94°C1 分、60°C1 分、72°C2 分) を 35 サイクル、72°C10 分で行なった。DNA 塩基配列の決定は、PCR による増幅産物 (*cp4 epsps* 320bp、*bar* 330bp) をゲルから精製後、EPSPS7 及び *bar7* をプライマーとして用い、DNA シーケンサー (PRISM3100、Applied Biosystems、CA、USA) を用いて行なった。

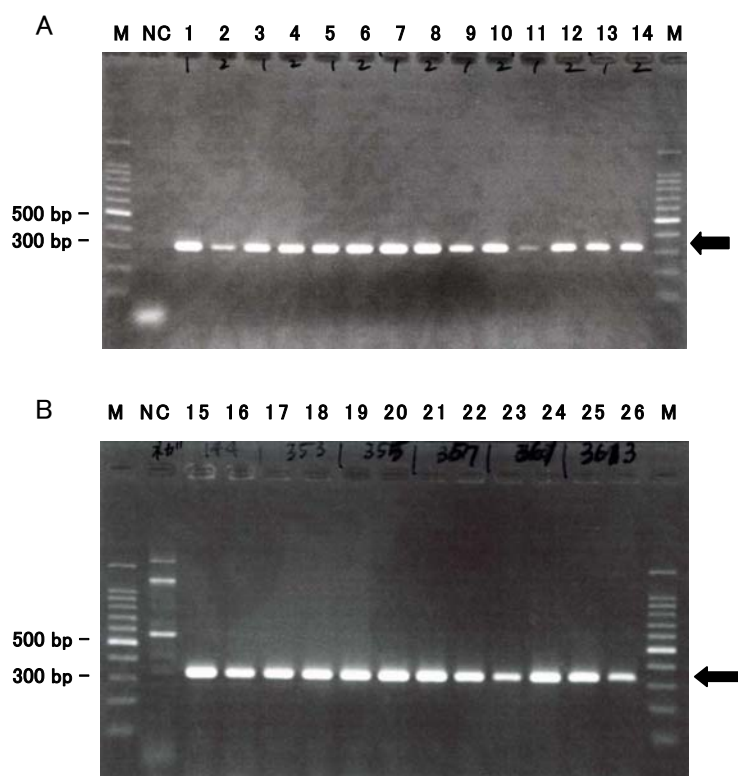


図1-2 PCRによる *cp4 epsps* 遺伝子(A)及び *bar* 遺伝子(B)の検出の例。

ナタネ実生の葉からゲノム DNA を抽出し、*cp4 epsps* 遺伝子または *bar* 遺伝子 を特異的に検出するプライマーを用いて PCR を行なった。M: 分子量マーカー。NC: 除草剤耐性遺伝子を持たない西洋ナタネゲノム DNA を用いたネガティブコントロール。1 から 14(A) 及び 15 から 26(B): 除草剤耐性遺伝

子を持つ試料。矢印: *cp4 epsps* 遺伝子(A)及び *bar* 遺伝子(B)由来の PCR 産物の位置。

29 試料の西洋ナタネのうち、分析に用いた全ての実生個体において、それぞれの除草剤耐性に対応する CP4 EPSPS タンパク質・*cp4 epsps* 遺伝子、または PAT タンパク質・*bar* 遺伝子の存在が確認された(表 1-11~1-12)。PCR 産物の塩基配列は、DDBJ に登録されている複数の *cp4 epsps* 遺伝子(例:登録番号 I44001)または *bar* 遺伝子(例:登録番号 X05822)の塩基配列の一部と完全に一致した。これにより、除草剤耐性ナタネが除草剤耐性遺伝子を持っていることが明らかになった。また、表 1-13 に種子試料から 2 種類の除草剤耐性タンパク質が検出された西洋ナタネの実生の除草剤耐性タンパク質の分析結果(各除草剤耐性タンパク質が検出された個体数)を示す。

表 1-11 主要道沿いから採種した西洋ナタネ試料(種子)由来の除草剤耐性実生の免疫クロマトグラフ法と PCR 法による分析結果

試料番号	種名	地域	所在地	CP4 EPSPS*1	<i>cp4 epsps</i> *2	PAT*1	<i>bar</i> *2
<u>1-16-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	三重郡川越町	+	+	NA	NA
<u>1-17-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	+	+	NA	NA
1-18-1L	西洋ナタネ	四日市	四日市市	NA	NA	+	+
<u>1-20-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	+	+	NA	NA
1-21-3L	西洋ナタネ	四日市	四日市市	NA	NA	+	+
1-22-1L	西洋ナタネ	四日市	四日市市	NA	NA	+	+
1-22-2L	西洋ナタネ	四日市	四日市市	NA	NA	+	+
1-23-1L	西洋ナタネ	四日市	四日市市	NA	NA	+	+
<u>1-28-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	+	+	NA	NA
<u>1-28-2L</u>	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	+	+	NA	NA
<u>1-28-3L</u>	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	+	+	NA	NA
<u>1-28-4L</u>	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	+	+	NA	NA
<u>1-28-5L</u>	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	+	+	NA	NA
1-30-1L	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	NA	NA	+	+
1-31-1L	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	NA	NA	+	+
1-32-1L	西洋ナタネ	四日市	鈴鹿市	NA	NA	+	+
1-37-1L	西洋ナタネ	四日市	津市	NA	NA	+	+
<u>1-38-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	津市	+	+	+	+
<u>1-39-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	津市	+	+	NA	NA
<u>1-39-2L</u>	西洋ナタネ	四日市	津市	+	+	NA	NA
1-40-2L	西洋ナタネ	四日市	松坂市	NA	NA	+	+
1-43-1L	西洋ナタネ	四日市	松坂市	NA	NA	+	+
<u>1-44-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	松坂市	+	+	NA	NA

\*1 +: 除草剤耐性タンパク質が検出された。\*2 +: 除草剤耐性遺伝子が検出された。NA: 試料無し (Not available)。

水色・斜体の試料番号に下線: 種子から CP4 EPSPS タンパク質が検出され、実生がグリホサート耐性を示すと共に、実生から CP4 EPSPS タンパク質と *cp4 epsps* 遺伝子が検出された試料。

黄色・太字の試料番号: 種子から PAT タンパク質が検出され、実生がグルホシネート耐性を示すと共に、実生から PAT タンパク質と *bar* 遺伝子が検出された試料。

緑色・斜体で太字の試料番号に下線: 種子から CP4 EPSPS タンパク質と PAT タンパク質が検出され、実生葉がグルホシネート耐性及びグリホサート耐性を示すと共に、実生から CP4 EPSPS タンパク質と *cp4 epsps* 遺伝子及び PAT タンパク質と *bar* 遺伝子が検出された試料。

表1-12 河川敷等から採種した西洋ナタネ試料(種子)由来の除草剤耐性実生の免疫クロマトグラフ法と PCR 法による分析結果

試料番号	種名	地域	所在地	CP4 EPSPS*1	<i>cp4 epsps</i> *2	PAT*1	<i>bar</i> *2
<u>4-3-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	+	+	+	+
<u>4-4-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	+	+	+	+
<u>4-5-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	+	+	+	+
<b>4-5-3L</b>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	NA	NA	+	+
<u>4-6-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	+	+	+	+
<b>4-7-1L</b>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	NA	NA	+	+

\*1 +: 除草剤耐性タンパク質が検出された。\*2 +: 除草剤耐性遺伝子が検出された。NA: 試料無し (Not available)。

黄色・太字の試料番号: 種子から PAT タンパク質が検出され、実生がグルホシネート耐性を示すと共に、実生から PAT タンパク質と *bar* 遺伝子が検出された試料。

緑色・斜体で太字の試料番号に下線: 種子から CP4 EPSPS タンパク質と PAT タンパク質が検出され、実生葉がグルホシネート耐性及びグリホサート耐性を示すと共に、実生から CP4 EPSPS タンパク質と *cp4 epsps* 遺伝子及び PAT タンパク質と *bar* 遺伝子が検出された試料。4-4-1L、4-5-1L、4-6-1L の 3 試料には、1 個体の実生で 2 種類の除草剤耐性を示すものが含まれており(表1-13)、それらの実生個体からは2種類の除草剤耐性タンパク質と遺伝子が検出された。

表1-13 種子試料から2種類の除草剤耐性タンパク質が検出された西洋ナタネ(種子)の実生の除草剤耐性タンパク質の分析結果。

試料 番号	種名	地域	所在地	播種 数	発芽 数	CP4 EPSPS のみ	PATのみ	CP4 EPSPS 及びPAT	除草剤耐 性タンパク 質なし
<u>1-38-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	津市	120	112	62	37	0	13
<u>4-3-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	120	74	2	48	0	24
<u>4-4-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	120	96	90	0	6	0
<u>4-5-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	20	18	0	12	6	0
<u>4-6-1L</u>	西洋ナタネ	四日市	四日市市	120	111	32	30	21	28