

平成24年度環境省請負業務

平成24年度遺伝子組換え生物による影響監視調査

報告書

平成25年3月

独立行政法人 国立環境研究所

目次

概要	1
Abstract	3
1. 背景と目的	5
2. 調査体制	6
3. 内容と結果	7
3.1 ナタネ類とカラシナその他の近縁種における除草剤耐性遺伝子の流動に関する分析	7
3.1.1 母植物組織の除草剤耐性タンパク質の調査	13
3.1.2 種子の除草剤耐性タンパク質の調査	31
3.1.3 実生の除草剤耐性分析	40
3.1.4 除草剤耐性実生のタンパク質、遺伝子分析	44
3.2 ナタネ類とカラシナその他の近縁種採取地点と遺伝子組換え体の分布	48
4. 考察	57
4.1 過去の調査結果との比較	57
4.2 在来ナタネ・カラシナその他の近縁種との交雑	59
4.3 分析手法等	60
4.4 展望	61
5. 引用文献	62

概要

「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」（以下、「カルタヘナ法」という。）第34条において、「国は、遺伝子組換え生物等及びそ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、これらに関する情報の収集、整理及び分析並びに研究の推進その他必要な措置を講ずるよう努めなければならない」とされている。環境省では、セイヨウナタネ *Brassica napus* に除草剤耐性が付与された遺伝子組換えナタネ（以下、「除草剤耐性ナタネ」という。）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。現在、我が国で使用等されている除草剤耐性ナタネについては、その使用等に先立ち、カルタヘナ法に基づき、「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」について生物多様性影響が生じるおそれがないものと評価され、承認されている。その際、輸送中に種子がこぼれ落ちることによる影響も含め評価がなされているが、実際にこぼれ落ちた種子により生物多様性影響が生じるおそれがないことを確認するため、本調査により除草剤耐性ナタネの生育状況の把握を行っている。

平成20年度までの調査で、除草剤耐性ナタネを含むセイヨウナタネの主要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、北九州及び博多並びにそれらの周辺地域を含む）のうち、鹿島、千葉、清水、名古屋、四日市、神戸、水島及び博多の8地域の港湾並びにその後背地にある輸送経路と考えられる主要道路沿いで除草剤耐性ナタネの生育が確認されている。その中で、鹿島、四日市、博多の3地域には、こぼれ落ち由来と考えられるセイヨウナタネが比較的多く生育しているが、鹿島地域では採取試料内における除草剤耐性ナタネの割合が非常に少ない一方で、四日市・博多の両地域では除草剤耐性ナタネの割合が比較的多いことが確認されている。特に、四日市地域では輸送経路と考えられる主要道路の橋梁付近の河川敷において、除草剤耐性ナタネと非遺伝子組換え個体や他の除草剤耐性を有する個体との交配が生じていることを示唆する種子や、除草剤耐性を持ったセイヨウナタネと在来ナタネ (*B. rapa*:栽培由来の外来種) の交配が生じていることを示唆する種子が確認されている。このようなことから、平成21年度からはこぼれ落ち由来と考えられるセイヨウナタネが比較的多く生育している鹿島、四日市及び博多の3つの地域において調査を実施している。平成22年度までは、この中で、鹿島地域と博多地域については主要道路沿いにおいて調査を行うとともに、四日市地域については、除草剤耐性ナタネの生育が確認されていた主要道路沿いの3河川敷周辺において、橋梁の上下流の河川敷に調査範囲を広げ、除草剤耐性ナタネの分布と近縁種（在来ナタネ、カラシナ (*B. juncea*)）への遺伝子流動の状況を重点的に調査した。

平成23年度からは、いずれの地域においても主として主要道沿いの河川敷周辺に注目して調査を行っている。また、セイヨウナタネと交雑可能な近縁種として、在来ナタネとカラシナに加え、ハマダイコン (*Raphanus sativus* var. *raphanistroides*)、クロガラシ (*B. nigra*)、ノハラガラシ (*Sinapis arvensis*) に加え、平成24年度はイヌガラシ (*Rorippa indica*) からも試料を採取した。試料として、セイヨウナタネと近縁種の母植物組織（葉）及び種子（一部は母植物組織のみ）の採取を行った。

3つの地域の合計235群落から採取された母植物組織（600試料）に対して、免疫クロマトグラフ法により2種類の除草剤耐性タンパク質 (CP4 EPSPS 及び PAT) の解析を行った結果、

四日市及び博多地域のセイヨウナタネからはそれらのタンパク質が検出された。除草剤耐性ナタネが確認された群落の割合は二つの地域で異なっていた。博多地域で除草剤耐性タンパク質が検出されたのは、20群落（50試料）のうち主要道沿いの2群落（2試料）であったが、四日市地域では、採取された188群落（503試料）のうち71群落（170試料）でセイヨウナタネから除草剤耐性タンパク質が検出された。鹿島地域のセイヨウナタネからは除草剤タンパク質が検出されなかった。同地域の試料採取群落数は27群落（47試料）であった。同様の地域差は平成20～23年度の調査でも確認されている。

四日市地域の河川敷における調査では、母植物組織ではPATタンパク質のみが検出された母植物由来の種子から、両方のタンパク質が検出された試料が5群落（5試料）で確認され、それらの母植物が生育していた場所で異なる除草剤耐性を持った遺伝子組換え植物間の交配が生じたことが過去の結果と同様に示唆された。また、確認された除草剤耐性ナタネの生育地点は、昨年度までと同様に主要道路が河川と交差する橋梁の近辺に集中していた。

植物の形態及び母植物組織のフローサイトメトリー解析では、21～23年度には四日市地域の河川敷でセイヨウナタネと在来ナタネの雑種と思われる個体の生育が確認されたが、今年度は雑種と思われる個体は確認されなかった。

また、今年度は道路沿いにおいて初めてカラシナの生育が確認された。これら博多地域の2群落（3試料）のカラシナからは、除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。

以上のように、これまでの調査により、除草剤耐性ナタネ等の分布に加え、除草剤耐性ナタネとセイヨウナタネの交配や、除草剤耐性ナタネ間での交配、近縁種への遺伝子流動等が確認されてきたが、これらはいずれも輸送経路と考えられる主要道路沿線で確認されているものである。今後もこれらの地域において、除草剤耐性ナタネ及び交雑個体が定着し、主要道路沿線を離れて分布が拡大していく可能性の有無等に注目して、モニタリングを継続していく予定である。

Abstract

In Article 34 of “Act on the Conservation and Sustainable Use of Biological Diversity through Regulations on the Use of Living Modified Organisms (Cartagena Law)”, it is mentioned “The government must endeavor to collect, arrange and analyze information on living modified organisms and promote research and devise other necessary measures concerning living modified organisms and the Adverse Effect on Biological Diversity arising from use thereof, in order to amplify scientific knowledge concerning the same”. Data regarding the growth of genetically modified herbicide-tolerant oilseed rape *Brassica napus* (herbicide-tolerant *B. napus*) have been collected since 2003 in Japan by the Ministry of the Environment, Japan. The herbicide-tolerant *B. napus* which is used in Japan at present has been assessed and confirmed as not harmful to biodiversity in the cases of “use for provision as food, animal feed or other purposes, cultivation and other growing, processing, storage, transportation and disposal, and other acts attendant with these” based on the Cartagena Law. Although estimation of the effect of spillage of seeds during transportation is included in the above, the present survey has examined the situations of growth of herbicide-tolerant *B. napus* in order to verify that there is no risk of biodiversity being affected by spilled seeds.

Oilseed rape including herbicide-tolerant *B. napus* is imported into Japan through 12 major ports—Kashima, Chiba, Yokohama, Shimizu, Nagoya, Yokkaichi, Sakai-Senboku, Kobe, Uno, Mizushima, Kitakyushu, and Hakata. By 2009, the presence of herbicide-tolerant *B. napus* was confirmed in and around eight of these ports—Kashima, Chiba, Shimizu, Nagoya, Yokkaichi, Kobe, Mizushima, and Hakata—in the port areas and along the roadsides of major transportation roadways of oilseed rape. In three of the eight areas, Kashima, Yokkaichi and Hakata, the following two points were confirmed: 1) there are relatively large numbers of *B. napus* which are thought to be derived from spilled seeds, and 2) the proportion of herbicide-tolerant *B. napus* in the number of collected samples was very small in Kashima but comparatively large in Yokkaichi and Hakata. Moreover, seeds of possible hybrids between a herbicide-tolerant *B. napus* and non-transgenic *B. napus*, between one type of herbicide-tolerant *B. napus* and another type of herbicide-tolerant *B. napus*, and between herbicide-tolerant *B. napus* and *B. rapa* (an alien species derived from cultivation) were collected at riverbanks near the junction of a bridge of a main roadway and a river in Yokkaichi. Therefore, the survey has been performed since 2009 in the Kashima, Yokkaichi and Hakata areas where relatively large numbers of *B. napus* possibly derived from spilled seeds are present. Among these three areas, a follow-up survey was being conducted on the roadsides near the ports in Kashima and in Hakata until 2010. In Yokkaichi, around the riverbanks of three rivers under the bridges of a main roadway where growth of herbicide-tolerant *B. napus* was confirmed, the distribution of the herbicide-tolerant *B. napus* and gene flow to the related species (*B. rapa* and *B. juncea*) were being investigated in detail, expanding the survey area along the riverbanks to upstream and downstream of the rivers from the bridges.

Since 2011, a survey has been mainly conducted in river reservations. Samples were collected from *Raphanus sativus* var. *raphanistroides*, *B. nigra*, and *Sinapis arvensis* in 2011 and 2012, and *Rorippa indica* in 2012, in addition to *B. rapa* and *B. juncea*, as the related crossable species of *B. napus*.

Maternal tissues (leaves) and seeds were collected from *B. napus* and its related species as samples,

although not all samples included the seeds. Six hundred samples from a total of 235 sites in the three port areas were analyzed, and the protein that confers the herbicide (glyphosate and/or glufosinate)-tolerant trait was detected in maternal-tissue samples collected from the Yokkaichi and Hakata port areas. These two areas differed with regard to the ratio of the number of sites where herbicide-tolerant *B. napus* plants were detected to the total number of sites where plants were collected. The herbicide-tolerant protein was detected at only two of the 20 roadside sites (two of 50 samples) in the Hakata port area, whereas it was detected at 71 of the 188 sites (170 of 503 samples) in the Yokkaichi port area. No herbicide-tolerant protein was detected in the Kashima port area where 47 samples were collected from 27 sites. Such differences among the three areas were also revealed during the investigations in 2008 to 2011.

In Yokkaichi riverbanks, seed samples that have two kinds of herbicide-tolerant proteins have been detected from maternal plants that have only PAT protein at five sites in five samples; this finding suggests, together with the previous results, the possibility of crossing between two types of herbicide-tolerant *B. napus* populations at the sites where the maternal plants were present. Herbicide-tolerant *B. napus* was detected only near the bridges of a main roadway over the rivers, consistent with the previous results until 2011.

In this year, no possible hybrid between *B. napus* and *B. rapa* was confirmed to be present in Yokkaichi riverbanks by morphology and flow-cytometric analysis of maternal tissue, different to the previous results from 2009 to 2011.

The presence of *B. juncea* was confirmed along the roadsides for the first time in this year. No herbicide-tolerant protein was detected in these *B. juncea*, three samples from two sites in the Hakata port area.

As mentioned above, to date, the distribution of herbicide-tolerant plants has been confirmed and crossing between herbicide-tolerant *B. napus* and non-transgenic *B. napus*, crossing between two types of herbicide-tolerant *B. napus*, and gene flow to related species have been suggested only along a major transportation roadway. We will continue monitoring these areas with a focus on the possibility of persistence of these herbicide-tolerant *B. napus* and hybrid, and expansion of distribution away from a main roadway.

1. 背景と目的

近年、遺伝子組換え生物の利用が広がる一方、遺伝子組換え生物が環境に与える影響についての懸念も根強くあり、遺伝子組換え生物の利用にあたっては、適切なリスク評価およびリスク管理がなされることが求められている。

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)」(以下、「カルタヘナ法」という。)第34条において、「国は、遺伝子組換え生物等及びそ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、これらに関する情報の収集、整理及び分析並びに研究の推進その他必要な措置を講ずるよう努めなければならない」とされている。環境省では、セイヨウナタネ *Brassica napus* に除草剤耐性が付与された遺伝子組換えナタネ(以下、「除草剤耐性ナタネ」という。)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。現在、我が国で使用等されている除草剤耐性ナタネについては、その使用等に先立ち、カルタヘナ法に基づき、「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」について生物多様性影響が生じるおそれがないものと評価され、承認されている。その際、輸送中に種子がこぼれ落ちることによる影響も含め評価がなされているが、実際にこぼれ落ちた種子により生物多様性影響が生ずるおそれがないことを確認することを目的として、本調査により除草剤耐性ナタネの生育状況の把握を行っている。

平成20年度までの調査で、除草剤耐性ナタネを含むセイヨウナタネの主要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、北九州及び博多並びにそれらの周辺地域を含む)のうち、鹿島、千葉、清水、名古屋、四日市、神戸、水島及び博多の8地域の港湾並びにその後背地にある輸送経路と考えられる主要道路沿いで除草剤耐性ナタネの生育が確認されている¹⁾⁻¹¹⁾。その中で、鹿島、四日市、博多の3地域には、こぼれ落ち由来と考えられるセイヨウナタネが比較的多く生育していることや、鹿島地域では採取試料内における除草剤耐性ナタネの割合が非常に少ない一方で、四日市・博多の両地域では除草剤耐性ナタネの割合が比較的多いことが確認されている。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まだなされていないことから、加工用に輸入された種子の運搬等に伴うこぼれ落ちであると考えられている。

セイヨウナタネは同種個体間で交配を行うと同時に、近縁種である在来ナタネ(*B. rapa*)およびカラシナ(*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、いずれも栽培由来の外来種ではあるが、現在は国内の河川敷等(堤防や周辺の水田等を含む)や主要道路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、これまでの調査で在来ナタネおよびカラシナについても港湾地域とその周辺地域で、種子サンプルの採取とそれらの遺伝子分析を実施してきた。また、四日市地域では、輸送経路と考えられる主要道路の橋梁付近の河川敷において、除草剤耐性ナタネと非遺伝子組換え個体や他の除草剤耐性を有する個体との交配が生じていることを示唆する種子が確認されている⁵⁾が、平成19年度までの調査では除草剤耐性遺伝子をもつ在来ナタネやカラシナは確認されなかった^{2)-4), 8), 9)}。しかし、平成20年度には、四日市港周辺の河川敷で除草剤耐性ナタネと在来ナタネの雑種と示唆される種子が見つかった^{10), 11)}。

このようなことから、平成 21 年度よりこぼれ落ち由来と考えられるセイヨウナタネが比較的多く生育している鹿島、四日市及び博多の 3 つの地域において調査を実施している¹²⁾⁻¹⁴⁾。平成 22 年度までは、この中で、鹿島地域と博多地域については主要道路沿いにおいて調査を行うとともに、四日市地域については、除草剤耐性ナタネの生育が確認されていた主要道路沿いの 3 河川敷周辺において、橋梁の上下流の河川敷に調査範囲を広げ、除草剤耐性ナタネの分布と近縁種（在来ナタネ、カラシナ）への遺伝子流動の状況を重点的に調査した^{12),13)}。

平成 23 年度からは、いずれの地域においても主に主要道沿い（橋梁下付近）の河川敷周辺で採取されたセイヨウナタネとその近縁種の母植物組織（葉）及び種子の試料を用い、除草剤耐性遺伝子の有無等の分析を実施している¹⁴⁾。今年度の試料は、「平成 24 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等のサンプリング業務」¹⁵⁾において採取された。セイヨウナタネの近縁種として、在来ナタネとカラシナに加え、ハマダイコン (*Raphanus sativus var. raphanistroides*)、クロガラシ (*B. nigra*)、ノハラガラシ (*Sinapis arvensis*)、イヌガラシ (*Rorippa indica*) から試料を採取した。

2. 調査体制

- 1) ナタネ類^{*1} とカラシナ (*Brassica juncea*)、ハマダイコン (*Raphanus sativus var. raphanistroides*)、クロガラシ (*B. nigra*)、ノハラガラシ (*Sinapis arvensis*)、イヌガラシ (*Rorippa indica*)、その他^{*2}の生育状況調査および分析のための試料のサンプリング^{*3}

財団法人自然環境研究センター 脇山成二他

^{*1}セイヨウナタネ (*B. napus*) と在来ナタネ (*B. rapa*) を指す。

^{*2}ナタネ類とカラシナの種間雑種を指す。

^{*3}別途、環境省の請負業務として自然環境研究センターが実施したものである。

- 2) 除草剤耐性遺伝子の流動に関する解析

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) 検討会への出席

独立行政法人国立環境研究所 青野光子

平成 24 年度除草剤耐性遺伝子の流動に関する調査・研究業務検討会に出席

平成 25 年 2 月 13 日（於 環境省）

3. 内容と結果

(概 要)

ナタネの輸入港のうち鹿島、四日市、博多の3港湾周辺地域の主要道下河川敷を中心に採取されたナタネ類（セイヨウナタネと在来ナタネ）とカラシナ、ハマダイコン、クロガラシ、ノハラガラシ、イヌガラシに対して各種分析を行い、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。具体的には、これらの地域から採取された母植物組織および種子に対する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、種子試料由来の実生への除草剤散布による除草剤耐性分析、および除草剤耐性実生のタンパク質と遺伝子の分析を行った。あわせて、母植物組織の一部試料についてはフローサイトメトリー解析（染色体数を反映する細胞核内の相対DNA量を調べ、種を同定する）を行った。

合計 235 群落（600 試料）の母植物組織が採取され、それらに対して免疫クロマトグラフ法により除草剤耐性タンパク質（CP4 EPSPS 及び PAT）の有無を解析した結果、四日市港および博多港の周辺地域からこれらのタンパク質を持ったセイヨウナタネが検出された。除草剤耐性ナタネが確認された群落の割合は2つの地域で大きく異なっていた。博多地域で除草剤耐性タンパク質が検出されたのは、20 群落（50 試料）のうち主要道路沿いの2 群落（2 試料）のみであったが、四日市地域では、採取された 188 群落（503 試料）のうち河川敷を含む 71 群落（170 試料）でセイヨウナタネから除草剤耐性タンパク質が検出された。鹿島港周辺地域のセイヨウナタネからは除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。同地域の試料採取群落数は 27 群落（47 試料）であった。同様の地域差は平成 20～23 年度の調査でも確認されている。

四日市地域の河川敷における調査では、母植物組織では PAT のみが検出された母植物由来の種子に両方のタンパク質を含むものが検出された試料が 5 群落（5 試料）で確認され、これらの母植物が生育していた場所で異なる除草剤耐性を持った遺伝子組換え植物間の交雑が起こったことが過去の結果と同様に示唆された。また、確認された除草剤耐性ナタネの生育地点は、昨年度と同様に主要道路が河川と交差する橋梁の近辺に集中していた。

植物の形態及び母植物組織のフローサイトメトリー解析では、21～23 年度には、四日市地域の河川敷でセイヨウナタネと在来ナタネの雑種と示唆される個体の生育が確認されたが、今年度は雑種と思われる個体は確認されなかった。

また、今年度は道路沿いにおいて初めてカラシナの生育が確認された。これら博多地域の 2 群落（3 試料）のカラシナからは、除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。

3.1 ナタネ類とカラシナその他の近縁種における除草剤耐性遺伝子の流動に関する分析

別途実施された「平成 24 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等のサンプリング業務」¹⁵⁾により、鹿島港、博多港、四日市港周辺の各地点でナタネ類とカラシナ、ハマダイコン、クロガラシ、ノハラガラシ、イヌガラシの生育状況が調査され、試料が採取された。まずこれらの地域に生育しているナタネ類等の母植物組織（葉）が採取され、これらの一部からは種子も採取された。種の同定は、まずサンプリング業務において母植物の形態に基づいて行われた。母植物の形態が異なる種の中間の特徴を示すなど、形態からは同定が困難なものについては、本調査において新鮮葉組織と種子のフローサイトメトリ

一によって同定した。母植物試料、及び種子試料の採取群落数と試料数を表 1-1、1-2 に示す。また、試料番号の付け方を表 1-3 に示す。

フローサイトメトリーによる核内の相対 DNA 量の測定は、蛍光色素 propidium iodide を含む Chopping buffer 約 0.8ml (1.0% Triton X-100、140 mM 2-mercaptoethanol、50 mM Na₂SO₃、50 mM Tris-HCl (pH 7.5)、25 ug/ml propidium iodide、40 mg/ml polyvinyl-pyrrolidone-40、0.1 mg/ml ribonuclease) 中で、採取された母植物の葉 (約 5 X 5 mm) 及び種子 (1/2 粒) をカミソリで細かく切り、メッシュ蓋付試験管で濾過後、フローサイトメーター (FACSCalibur 3S、Becton Dickinson、NJ、USA) にて DNA の蛍光強度を測定した。その結果、外見からはセイヨウナタネとされた 2 群落 2 試料の中に、フローサイトメトリー解析の結果、在来ナタネと思われるものが 1 群落 1 個体あることがわかり (図 1-1)、それらに新規の試料番号を付けた (表 1-4)。この試料は四日市地域の河川敷で採取された試料であった。また、種の同定が不確かな試料のうち、フローサイトメトリーによる同定を行なわなかったものは「セイヨウナタネ？」のように種名の後に？をつけた。

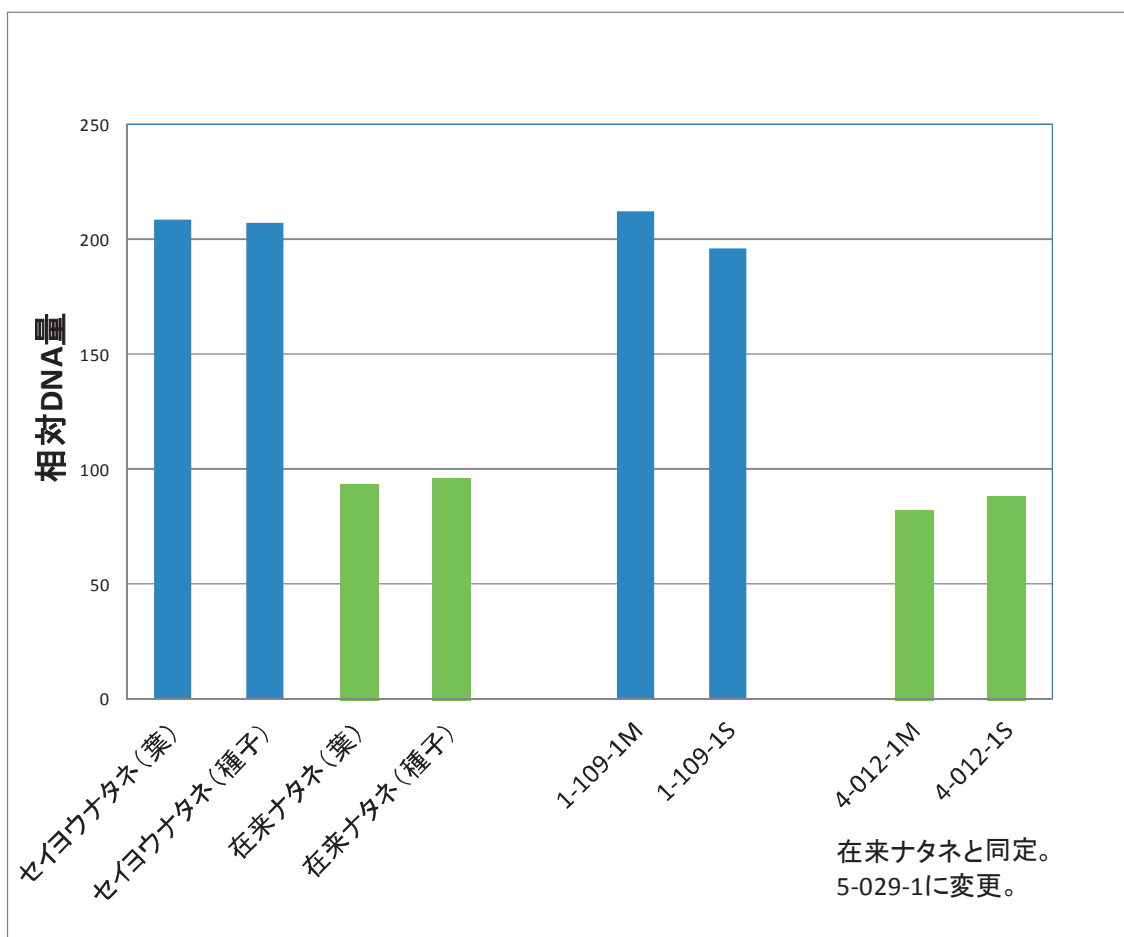


図 1-1 フローサイトメトリーによる種の同定

縦軸が細胞当たりの相対 DNA 量を示しており、染色体数を反映している。当初「セイヨウナタネ」とされた個体 4-012-1 の相対 DNA 量は、葉 (母植物組織、M)、種子 (S) とともに在来ナタネの値とほぼ一致したことから、この試料は在来ナタネと同定され、個体番号が 5-029-1 に変更された。試料番号の説明については表 1-1,1-2 を参照。

表 1-1 ナタネ類とカラシナ、ハマダイコン、クロガラシ、ノハラガラシ、イヌガラシの各調査地域における母植物採取群落数と試料数

地域	河川	橋・道路	採取場所	セイウナタネ		在来ナタネ		カラシナ		ハマダイコン		クロガラシ		ノハラガラシ		イヌガラシ		合計						
				群落数	試料数	群落数	試料数	群落数	試料数	群落数	試料数	群落数	試料数	群落数	試料数	群落数	試料数	群落数	試料数	群落数	試料数			
鹿島	利根川	利根川大橋	道路沿い																0	0				
			河川敷																	0	0			
	利根川	小見川大橋	道路沿い	18	32														18	32				
			河川敷	4	4			3	7										2	4	9	15		
	内部川	塩浜大橋	道路沿い	6	7														2	5	8	12		
			河川敷	(3)	(4)																(3)	(4)	60	170
	四日市	錦鹿川	道路沿い	7	13	19	66	21	63												(1)	(2)	7	9
			河川敷	(1)	(2)																	(7)	(8)	24
	雲出川	雲出大橋	道路沿い	43	99																43	99		
			河川敷	(3)	(4)	5	8	11	32	4	8										(3)	(4)	46	157
博多	須恵川	ハイバス	道路沿い	3	3			2	3												5	6		
			河川敷	(2)	(2)																	(2)	(2)	13
	御笠川	国道3号線	道路沿い	1	2	3	14	5	11	4	7											0	0	
			河川敷																				2	10
	合計		道路沿い	77	150	0	0	2	3	0	0	2	5	0	0	0	0	0	0	0	81	158		
			河川敷	(49)	(87)																	(49)	(87)	154
	全体の合計		道路沿い	39	128	29	98	56	154	22	45	0	0	1	3	7	14				235	600		
			河川敷	(24)	(85)																	(24)	(85)	73

種名は、同定の不確かなものを含む。()内青字は除草剤耐性タンパク質が検出された試料数と採取群落数。

表 1-2 ナタネ類とカラシナ、ハマダイコン、クロガラシ、ノハラガラシ、イヌガラシの各調査地域における種子採取群落数と試料数

地域	河川	橋・道路	採取場所	セイウナタネ		在来ナタネ		カラシナ		ハマダイコン		クロガラシ		ノハラガラシ		イヌガラシ		合計		
				群落数	試料数	群落数	試料数	群落数	試料数	群落数	試料数	群落数	試料数	群落数	試料数	群落数	試料数	群落数	試料数	群落数
鹿島	利根川	利根川大橋	道路沿い															0	0	
			河川敷																0	0
	利根川	小見川大橋	道路沿い	15	23												1	1	15	23
			河川敷	2	2	3	7													6
内都川		塩浜大橋	道路沿い	5	5							1	2						6	7
			河川敷	(3)	(3)														(3)	(3)
四日市	鈴鹿川	錦唐大橋	道路沿い	6	8	19	62	21	60	3	5								49	135
			河川敷	(1)	(1)															(1)
雲出川	雲出大橋		道路沿い	1	1														1	1
			河川敷	(1)	(1)	5	7	11	25	1	2								(1)	(1)
博多	須恵川	ハイパス	道路沿い	3	3	5	7	11	25	1	2								20	37
			河川敷	(3)	(3)															(3)
御笠川	国道3号線		道路沿い	1	1														1	1
			河川敷	(1)	(1)	12	27	1	12	26								3	3	28
博多	須恵川	ハイパス	道路沿い	(10)	(24)														(10)	(24)
			河川敷	2	2			1	1										3	3
博多	御笠川	国道3号線	道路沿い	(1)	(1)														(1)	(1)
			河川敷	1	2	2	12	3	5										6	19
博多	御笠川	国道3号線	道路沿い			1	3												0	0
			河川敷								1	2							2	5
博多	御笠川	国道3号線	道路沿い	24	32	0	0	1	1	0	0	1	2	0	0	0	0	0	26	35
			河川敷	(6)	(6)														(6)	(6)
博多	御笠川	国道3号線	道路沿い	24	42	28	85	50	123	5	9	0	0	0	0	4	4	4	111	263
			河川敷	(14)	(28)														(14)	(28)
合計				48	74	28	85	51	124	5	9	1	2	0	0	4	4	137	298	
全体の合計				(20)	(34)													(20)	(34)	

種名は母植物に拠る。()内青字は除草剤耐性タンパク質が検出された試料数と採取群落数。

表 1-3 試料番号の説明

試料番号(例:1-002-3S)						
個体番号(例:1-002-3)						
採取群落番号(例:1-002)						
種と採取場所 を示す数字	種	採取場所	採取群落ご との番号	個体ごと の番号	試料の種類	
1	セイヨウナタネ	道路沿い*	北から南へ 昇順	同一採取 群落内の 個体ごと	M:母植物組織	
2	在来ナタネ					
3	カラシナ					
4	セイヨウナタネ	河川敷等				S:種子
5	在来ナタネ					
6	カラシナ					
11	ハマダイコン	道路沿い			L:種子由来の実生	
12		河川敷等				
13	クログラシ	道路沿い				
14		河川敷等				
15	ノハラガラシ	道路沿い				
16		河川敷等				
17	イヌガラシ	道路沿い				
18		河川敷等				

*橋梁上など、河川敷周辺の主要道路沿い。

試料の種類は、M(Maternal plant)が母植物試料(母植物から採取した組織、主に葉)、S(Seed)が種子試料(1個体の母植物から採取した一群の種子)、L(seedLing)が実生試料(種子試料由来の実生)を示す。

表 1-4 フローサイトメトリーにより在来ナタネと判定された試料に付けた新たな個体番号と環境省請負業務「平成 24 年自然環境下におけるナタネ類等の生育状況調査および遺伝子分析のための種子等のサンプリング業務」報告書¹⁵⁾における旧試料番号の対応

本報告書における個体番号	採取地域	環境省請負業務「平成 24 年度自然環境下におけるナタネ類等の生育状況調査および遺伝子分析のための種子等のサンプリング業務」報告書 ¹⁵⁾ における試料番号
5-029-1	四日市	4-012 試料番号 1

採取された各試料を用いて、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」)およ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」)の検出を行なった。母植物試料(葉の一部)、あるいは種子試料(1

試料あたり20粒の種子)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。CP4 EPSPSタンパク質検出用テスト紙Reveal® for CP4 (Roundup Ready®) (Neogen, Lansing, MI, USA)とPATタンパク質検出用テスト紙 (TraitCheck™ LL Test Strip、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1-2)。

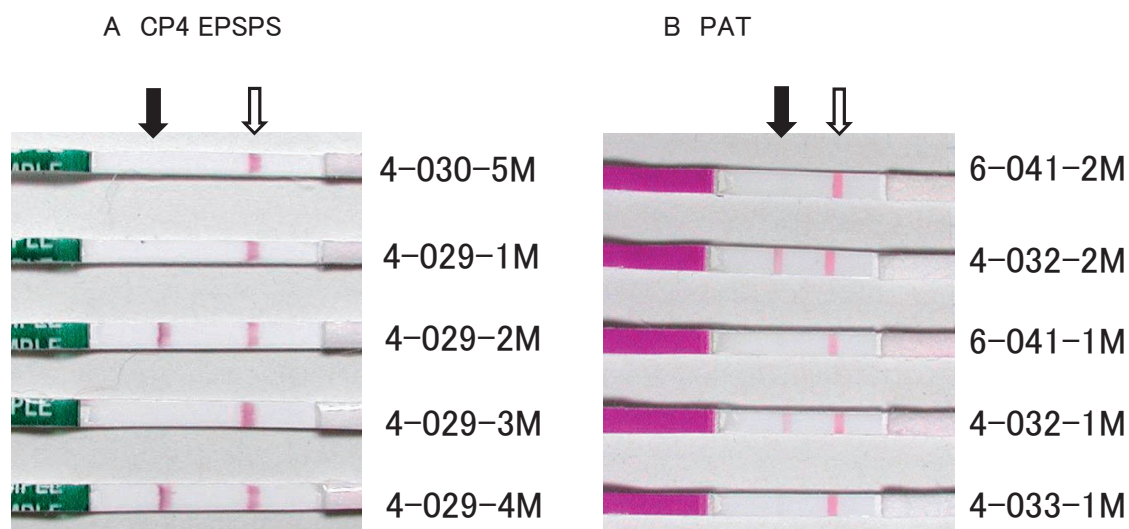


図 1-2 免疫クロマトグラフ法によるグリホサート耐性タンパク質 CP4 EPSPS(A)およびグルホシネート耐性タンパク質 PAT(B)の検出の例

母植物試料から粗抽出液を調整し、CP4 EPSPS 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 4-029-2M と 1-029-4M、B では 4-032-1Mと4-032-2M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。

3.1.1 母植物組織の除草剤耐性タンパク質の調査

表 1-1 にナタネ類とカラシナ、その他の種の各調査地域における母植物試料数と採取群落数、及び除草剤耐性タンパク質が検出された試料数とその採取群落数を示す。母植物組織（葉）を用いた免疫クロマトグラフ法による CP4 EPSPS タンパク質および PAT タンパク質の調査結果を表 1-5 に示す。表 1-6～1-8 に種名、試料番号、採取地点近傍の河川名、検出結果、および種子試料採取の有無を示す。

セイヨウナタネ母植物の解析結果

3つの港周辺の116群落から278試料（表1-6～1-8中に「セイヨウナタネ?」と記載した、種の同定が不確かなものも含む）の母植物組織が採取され、免疫クロマトグラフ法により除草剤耐性タンパク質（CP4 EPSPS 及び PAT）の解析を行った。その結果、それらのタンパク質を持ったセイヨウナタネが確認された群落の割合は地域により大きく異なっていた。鹿島港周辺では、採取された22群落からの36試料のセイヨウナタネ試料で除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。それに対し、四日市港周辺では、採取された90群落（主要道路沿い56群落、河川敷34群落）の237試料（主要道路沿い115試料、河川敷122試料）のセイヨウナタネのうち71群落（主要道路沿い47群落、河川敷24群落）の170試料（主要道路沿い85試料、河川敷85試料）に、また博多港周辺では、4群落の5試料のセイヨウナタネのうち主要道路沿いの2群落の2試料に除草剤耐性タンパク質が検出された。また、今年度は2種の除草剤耐性タンパク質を有する母植物は四日市港周辺の道路沿いの1群落1試料で確認された。この母植物由来の種子試料は得られなかった。他の調査地においては、どちらか一方の除草剤耐性タンパク質を有する母植物のみが確認された。

在来ナタネ母植物の解析結果

3つの港周辺の29群落から98試料（表1-6～1-8中に「在来ナタネ?」と記載した、種の同定が不確かなものも含む）の母植物組織が採取され、いずれの試料からも除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。

カラシナ母植物の解析結果

3つの港周辺の58群落から157試料の母植物組織が採取され、いずれの試料からも除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。

ハマダイコン、クロガラシ、ノハラガラシ、イヌガラシ母植物の解析結果

ハマダイコンが四日市港周辺地域河川敷等の17群落で36試料、博多港周辺地域の河川敷等の5群落で9試料、クロガラシが四日市港周辺地域道路沿いの2群落で5試料、ノハラガラシが四日市港周辺地域河川敷等の1群落で3試料、イヌガラシが鹿島港周辺地域河川敷等の2群落で4試料、四日市港周辺地域の河川敷等の5群落で10試料生育していたが（いずれも種は外見より推定）、いずれの試料からも除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。

表 1-5 母植物試料についてナタネ類とカラシナ及び雑種の各調査地域における試料数と採取群落数及び各除草剤耐性タンパク質が検出された試料数とその採取群落数

地域	河川	橋・道路	採取場所	グリホサート耐性		グルホシネート耐性		両耐性		合計	
				群落数	試料数	群落数	試料数	群落数	試料数	群落数	試料数
鹿島	利根川	利根川大橋	道路沿い							0	0
			河川敷							0	0
		小見川大橋	道路沿い							0	0
			河川敷							0	0
四日市	内部川	塩浜大橋	道路沿い	2	2	2	2			3	4
			河川敷			1	2			1	2
	鈴鹿川	鈴鹿大橋	道路沿い	4	4	4	4			7	8
			河川敷			3	4			3	4
	雲出川	雲出大橋	道路沿い	18	26	26	46	1	1	37	73
			河川敷	16	27	19	52			20	79
博多	須恵川	博多バイパス	道路沿い			2	2			2	2
			河川敷							0	0
	御笠川	国道3号線	道路沿い							0	0
			河川敷							0	0
合計			道路沿い	24	32	34	54	1	1	49	87
			河川敷	16	27	23	58	0	0	24	85
全体の合計				40	59	57	112	1	1	73	172

種名は、同定の不確かなものを含む。

除草剤耐性は、除草剤耐性タンパク質が検出されたことを示す。

空欄は、試料がないことを示す。

1群落から複数の除草剤耐性試料が検出されることがあるため、合計の群落数は各除草剤耐性の群落数の合計と一致しない場合(青数字)がある。

表 1-6 鹿島港(茨城県)周辺地域で採取した母植物組織に対する免疫クロマトグラフ法による CP4 EPSPS タンパク質および PAT タンパク質の調査結果

試料番号	河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
セイヨウナタネ				
1-001 -1 M	利根川	-	-	
1-002 -1 M	利根川	-	-	○
1-002 -2 M	利根川	-	-	○
1-002 -3 M	利根川	-	-	
1-003 -1 M	利根川	-	-	○
1-003 -2 M	利根川	-	-	○
1-003 -3 M	利根川	-	-	○
1-004 -1 M	利根川	-	-	○
1-005 -1 M	利根川	-	-	○
1-006 -1 M	利根川	-	-	○
1-007 -1 M	利根川	-	-	○
1-008 -1 M	利根川	-	-	
1-008 -2 M	利根川	-	-	
1-008 -3 M	利根川	-	-	○
1-009 -1 M	利根川	-	-	○
1-010 -1 M	利根川	-	-	○
1-011 -1 M	利根川	-	-	
1-011 -2 M	利根川	-	-	
1-012 -1 M	利根川	-	-	○
1-013 -1 M	利根川	-	-	○
1-013 -2 M	利根川	-	-	○
1-014 -1 M	利根川	-	-	○
1-015 -1 M	利根川	-	-	
1-016 -1 M	利根川	-	-	○
1-016 -2 M	利根川	-	-	○
1-016 -3 M	利根川	-	-	
1-017 -1 M	利根川	-	-	○
1-017 -2 M	利根川	-	-	○
1-017 -3 M	利根川	-	-	○
1-018 -1 M	利根川	-	-	○
1-018 -2 M	利根川	-	-	
1-018 -3 M	利根川	-	-	○
4-001 -1 M	利根川	-	-	○
4-002 -1 M	利根川	-	-	○
4-003 -1 M	利根川	-	-	
4-004 -1 M	利根川	-	-	
カラシナ				
6-001 -1 M	利根川	-	-	○
6-001 -2 M	利根川	-	-	○
6-001 -3 M	利根川	-	-	○

一: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。

母植物から種子試料を採取したものは○。

試料番号			河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
6-002	- 1	M	利根川	-	-	○
6-002	- 2	M	利根川	-	-	○
6-002	- 3	M	利根川	-	-	○
6-003	- 1	M	利根川	-	-	○
イヌガラシ						
18-001	- 1	M	利根川	-	-	
18-002	- 1	M	利根川	-	-	
18-002	- 2	M	利根川	-	-	
18-002	- 3	M	利根川	-	-	○

—: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。

母植物から種子試料を採取したものは○。

表 1-7 四日市港(三重県)周辺地域で採取した母植物組織に対する免疫クロマトグラフ法によるCP4 EPSPS タンパク質および PAT タンパク質の調査結果

試料番号			河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
セイヨウナタネ						
1-019	- 1	M	内部川	+	-	○
1-020	- 1	M	内部川	-	-	○
1-021	- 1	M	内部川	-	-	
1-022	- 1	M	内部川	-	-	○
1-023	- 1	M	内部川	-	+	○
1-023	- 2	M	内部川	+	-	
1-024	- 1	M	内部川	-	+	○
1-025	- 1	M	鈴鹿川	+	-	
1-025	- 2	M	鈴鹿川	-	+	
1-025	- 3	M	鈴鹿川	-	-	
1-026	- 1	M	鈴鹿川	-	+	
1-027	- 1	M	鈴鹿川	-	+	
1-028	- 1	M	鈴鹿川	+	-	
1-029	- 1	M	鈴鹿川	+	-	
1-030	- 1	M	鈴鹿川	+	-	○
1-031	- 1	M	鈴鹿川	-	+	
1-032	- 1	M	雲出川	-	+	
1-032	- 2	M	雲出川	+	-	
1-032	- 3	M	雲出川	+	-	
1-033	- 1	M	雲出川	-	+	
1-034	- 1	M	雲出川	-	-	
1-035	- 1	M	雲出川	-	+	
1-035	- 2	M	雲出川	-	+	

—: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。母植物から種子試料を採取したものは○。

青色の行:CP4 EPSPS タンパク質が検出された試料。黄色の行: PAT タンパク質が検出された試料。

試料番号	河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
1-035 - 3 M	雲出川	-	+	
1-036 - 1 M	雲出川	-	+	
1-036 - 2 M	雲出川	-	+	
1-036 - 3 M	雲出川	-	+	
1-037 - 1 M	雲出川	-	+	
1-037 - 2 M	雲出川	-	+	
1-037 - 3 M	雲出川	-	+	
1-038 - 1 M	雲出川	-	+	
1-038 - 2 M	雲出川	-	+	
1-038 - 3 M	雲出川	-	+	
1-039 - 1 M	雲出川	+	+	
1-039 - 2 M	雲出川	-	+	
1-039 - 3 M	雲出川	-	+	
1-040 - 1 M	雲出川	+	-	○
1-040 - 2 M	雲出川	-	+	
1-040 - 3 M	雲出川	+	-	
1-041 - 1 M	雲出川	-	+	
1-041 - 2 M	雲出川	-	+	
1-041 - 3 M	雲出川	-	-	
1-042 - 1 M	雲出川	+	-	
1-043 - 1 M	雲出川	-	-	
1-044 - 1 M	雲出川	-	-	
1-044 - 2 M	雲出川	+	-	
1-044 - 3 M	雲出川	+	-	
1-045 - 1 M	雲出川	-	+	
1-046 - 1 M	雲出川	+	-	
1-046 - 2 M	雲出川	-	-	
1-047 - 1 M	雲出川	-	-	
1-048 - 1 M	雲出川	-	-	
1-048 - 2 M	雲出川	-	-	
1-049 - 1 M	雲出川	+	-	
1-049 - 2 M	雲出川	-	+	
1-049 - 3 M	雲出川	-	+	
1-050 - 1 M	雲出川	-	-	
1-051 - 1 M	雲出川	-	-	
1-051 - 2 M	雲出川	-	+	
1-051 - 3 M	雲出川	-	+	
1-052 - 1 M	雲出川	-	-	
1-052 - 2 M	雲出川	-	+	
1-052 - 3 M	雲出川	-	+	
1-053 - 1 M	雲出川	+	-	

－: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。母植物から種子試料を採取したものは○。

水色の行:CP4 EPSPS タンパク質が検出された試料。黄色の行: PAT タンパク質が検出された試料。

緑色の行:CP4 EPSPS タンパク質と PAT タンパク質が検出された試料。

試料番号	河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
1-054 - 1 M	雲出川	+	-	
1-055 - 1 M	雲出川	-	+	
1-055 - 2 M	雲出川	-	+	
1-055 - 3 M	雲出川	-	+	
1-056 - 1 M	雲出川	+	-	
1-056 - 2 M	雲出川	+	-	
1-057 - 1 M	雲出川	-	+	
1-057 - 2 M	雲出川	-	-	
1-058 - 1 M	雲出川	-	-	
1-058 - 2 M	雲出川	+	-	
1-058 - 3 M	雲出川	+	-	
1-059 - 1 M	雲出川	-	+	
1-060 - 1 M	雲出川	-	+	
1-061 - 1 M	雲出川	+	-	
1-061 - 2 M	雲出川	-	-	
1-061 - 3 M	雲出川	-	-	
1-062 - 1 M	雲出川	+	-	
1-062 - 2 M	雲出川	-	+	
1-062 - 3 M	雲出川	-	+	
1-063 - 1 M	雲出川	-	+	
1-063 - 2 M	雲出川	-	-	
1-063 - 3 M	雲出川	-	+	
1-064 - 1 M	雲出川	-	+	
1-064 - 2 M	雲出川	-	+	
1-064 - 3 M	雲出川	-	-	
1-065 - 1 M	雲出川	-	+	
1-065 - 2 M	雲出川	+	-	
1-065 - 3 M	雲出川	-	+	
1-066 - 1 M	雲出川	-	+	
1-066 - 2 M	雲出川	-	-	
1-066 - 3 M	雲出川	-	-	
1-067 - 1 M	雲出川	-	+	
1-067 - 2 M	雲出川	-	+	
1-067 - 3 M	雲出川	-	-	
1-068 - 1 M	雲出川	-	+	
1-069 - 1 M	雲出川	+	-	
1-069 - 2 M	雲出川	-	+	
1-069 - 3 M	雲出川	+	-	
1-070 - 1 M	雲出川	+	-	
1-071 - 1 M	雲出川	+	-	
1-071 - 2 M	雲出川	-	+	

—: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。母植物から種子試料を採取したものは○。

水色の行:CP4 EPSPS タンパク質が検出された試料。黄色の行: PAT タンパク質が検出された試料。

試料番号			河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
1-071	-3	M	雲出川	-	-	
1-072	-1	M	雲出川	-	-	
1-072	-2	M	雲出川	+	-	
1-072	-3	M	雲出川	+	-	
1-073	-1	M	雲出川	+	-	
1-073	-2	M	雲出川	+	-	
1-073	-3	M	雲出川	-	-	
1-074	-1	M	雲出川	-	-	
1-074	-2	M	雲出川	-	-	
1-074	-3	M	雲出川	-	-	
4-005	-1	M	内部川	-	-	○
4-005	-2	M	内部川	-	-	
4-006	-1	M	内部川	-	-	○
4-006	-2	M	内部川	-	-	○
4-006	-3	M	内部川	-	-	○
4-006	-4	M	内部川	-	-	
4-007	-1	M	内部川	-	-	○
4-009	-1	M	内部川	-	-	
4-010	-1	M	内部川	-	-	○
4-011	-1	M	内部川	-	+	○
4-011	-2	M	内部川	-	+	
4-013	-1	M	鈴鹿川	-	-	○
4-014	-1	M	鈴鹿川	-	+	
4-014	-2	M	鈴鹿川	-	+	
4-015	-1	M	鈴鹿川	-	-	
4-015	-2	M	鈴鹿川	-	+	○
4-015	-3	M	鈴鹿川	-	-	
4-016	-1	M	鈴鹿川	-	-	○
4-016	-2	M	鈴鹿川	-	+	
4-017	-1	M	雲出川	+	-	
4-018	-1	M	雲出川	-	+	
4-018	-2	M	雲出川	+	-	
4-019	-1	M	雲出川	-	+	
4-020	-1	M	雲出川	-	-	○
4-020	-2	M	雲出川	-	-	
4-021	-1	M	雲出川	-	-	
4-021	-2	M	雲出川	-	+	
4-021	-3	M	雲出川	-	+	
4-021	-4	M	雲出川	+	-	○
4-021	-5	M	雲出川	-	+	○
4-022	-1	M	雲出川	+	-	

－: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。母植物から種子試料を採取したものは○。

青色の行:CP4 EPSPS タンパク質が検出された試料。黄色の行: PAT タンパク質が検出された試料。

試料番号	河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
4-022 - 2 M	雲出川	+	-	
4-022 - 3 M	雲出川	-	+	
4-022 - 4 M	雲出川	-	+	
4-022 - 5 M	雲出川	-	+	○
4-022 - 6 M	雲出川	-	-	
4-023 - 1 M	雲出川	-	-	
4-024 - 1 M	雲出川	-	+	
4-024 - 2 M	雲出川	-	+	
4-024 - 3 M	雲出川	-	-	
4-024 - 4 M	雲出川	-	+	
4-024 - 5 M	雲出川	+	-	
4-024 - 6 M	雲出川	-	+	
4-025 - 1 M	雲出川	-	+	
4-025 - 2 M	雲出川	-	+	
4-025 - 3 M	雲出川	-	-	
4-025 - 4 M	雲出川	+	-	
4-025 - 5 M	雲出川	-	-	
4-025 - 6 M	雲出川	+	-	
4-025 - 7 M	雲出川	+	-	
4-026 - 1 M	雲出川	-	+	
4-026 - 2 M	雲出川	-	-	
4-026 - 3 M	雲出川	+	-	
4-027 - 1 M	雲出川	-	-	
4-027 - 2 M	雲出川	-	+	
4-027 - 3 M	雲出川	+	-	
4-027 - 4 M	雲出川	-	+	
4-027 - 5 M	雲出川	-	+	
4-027 - 6 M	雲出川	-	+	
4-027 - 7 M	雲出川	-	+	
4-028 - 1 M	雲出川	+	-	
4-028 - 2 M	雲出川	+	-	
4-028 - 3 M	雲出川	-	+	
4-028 - 4 M	雲出川	-	+	
4-028 - 5 M	雲出川	-	-	
4-028 - 6 M	雲出川	+	-	
4-028 - 7 M	雲出川	-	+	
4-029 - 1 M	雲出川	-	-	
4-029 - 2 M	雲出川	+	-	
4-029 - 3 M	雲出川	-	+	
4-029 - 4 M	雲出川	+	-	
4-029 - 5 M	雲出川	-	+	

—: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。母植物から種子試料を採取したものは○。

水色の行:CP4 EPSPS タンパク質が検出された試料。黄色の行: PAT タンパク質が検出された試料。

試料番号	河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
4-029 - 6 M	雲出川	-	+	○
4-029 - 7 M	雲出川	+	-	○
4-030 - 1 M	雲出川	+	-	
4-030 - 2 M	雲出川	-	+	
4-030 - 3 M	雲出川	-	-	
4-030 - 4 M	雲出川	-	-	○
4-030 - 5 M	雲出川	-	+	○
4-031 - 1 M	雲出川	-	+	○
4-031 - 2 M	雲出川	-	-	
4-031 - 3 M	雲出川	-	+	○
4-031 - 4 M	雲出川	+	-	○
4-031 - 5 M	雲出川	+	-	
4-032 - 1 M	雲出川	-	+	○
4-032 - 2 M	雲出川	-	+	○
4-033 - 1 M	雲出川	-	-	
4-034 - 1 M	雲出川	-	+	○
4-034 - 2 M	雲出川	-	+	
4-034 - 3 M	雲出川	-	+	
4-034 - 4 M	雲出川	+	-	
4-034 - 5 M	雲出川	-	-	
4-034 - 6 M	雲出川	+	-	
4-034 - 7 M	雲出川	-	+	
4-035 - 1 M	雲出川	+	-	
4-035 - 2 M	雲出川	-	+	○
4-035 - 3 M	雲出川	-	-	
4-035 - 4 M	雲出川	-	+	
4-035 - 5 M	雲出川	-	+	○
4-035 - 6 M	雲出川	-	+	○
4-035 - 7 M	雲出川	+	-	
4-036 - 1 M	雲出川	-	+	
4-036 - 2 M	雲出川	-	-	
4-036 - 3 M	雲出川	-	+	
4-037 - 1 M	雲出川	-	+	
4-038 - 1 M	雲出川	-	+	○
4-038 - 2 M	雲出川	-	+	○
4-038 - 3 M	雲出川	-	-	
4-038 - 4 M	雲出川	-	+	
4-038 - 5 M	雲出川	-	+	○
4-038 - 6 M	雲出川	-	+	○
4-038 - 7 M	雲出川	+	-	○
4-039 - 1 M	雲出川	-	+	○

—: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。母植物から種子試料を採取したものは○。

青色の行:CP4 EPSPS タンパク質が検出された試料。黄色の行: PAT タンパク質が検出された試料。

試料番号	河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
4-039 - 2 M	雲出川	-	+	○
4-039 - 3 M	雲出川	-	+	
4-039 - 4 M	雲出川	-	+	○
4-039 - 5 M	雲出川	+	-	
4-039 - 6 M	雲出川	+	-	○
4-039 - 7 M	雲出川	-	-	
セイヨウナタネ?				
4-006 - 5 M	内部川	-	-	
4-008 - 1 M	内部川	-	-	○
4-019 - 2 M	雲出川	-	-	○
在来ナタネ				
5-001 - 1 M	内部川	-	-	○
5-001 - 2 M	内部川	-	-	○
5-002 - 1 M	内部川	-	-	○
5-002 - 2 M	内部川	-	-	○
5-003 - 1 M	内部川	-	-	○
5-003 - 2 M	内部川	-	-	○
5-004 - 1 M	内部川	-	-	○
5-004 - 2 M	内部川	-	-	○
5-005 - 1 M	内部川	-	-	○
5-006 - 2 M	内部川	-	-	○
5-006 - 3 M	内部川	-	-	
5-006 - 4 M	内部川	-	-	○
5-006 - 7 M	内部川	-	-	○
5-008 - 4 M	内部川	-	-	○
5-008 - 5 M	内部川	-	-	○
5-010 - 1 M	内部川	-	-	○
5-010 - 2 M	内部川	-	-	○
5-010 - 3 M	内部川	-	-	○
5-010 - 4 M	内部川	-	-	○
5-010 - 5 M	内部川	-	-	○
5-010 - 6 M	内部川	-	-	○
5-010 - 7 M	内部川	-	-	○
5-011 - 1 M	内部川	-	-	○
5-011 - 2 M	内部川	-	-	○
5-011 - 3 M	内部川	-	-	○
5-011 - 4 M	内部川	-	-	○
5-011 - 5 M	内部川	-	-	○
5-011 - 6 M	内部川	-	-	○
5-011 - 7 M	内部川	-	-	○

—: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。母植物から種子試料を採取したものは○。

青色の行:CP4 EPSPS タンパク質が検出された試料。黄色の行:PAT タンパク質が検出された試料。

種名の後の?は、種の同定が不確かな試料であることを示す。

試料番号	河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
5-012 - 1 M	内部川	-	-	
5-012 - 2 M	内部川	-	-	○
5-012 - 3 M	内部川	-	-	○
5-012 - 5 M	内部川	-	-	○
5-012 - 6 M	内部川	-	-	○
5-012 - 7 M	内部川	-	-	○
5-013 - 1 M	内部川	-	-	○
5-015 - 1 M	内部川	-	-	○
5-015 - 2 M	内部川	-	-	○
5-015 - 3 M	内部川	-	-	○
5-015 - 4 M	内部川	-	-	○
5-015 - 5 M	内部川	-	-	○
5-015 - 6 M	内部川	-	-	○
5-015 - 7 M	内部川	-	-	○
5-017 - 1 M	内部川	-	-	○
5-017 - 2 M	内部川	-	-	○
5-018 - 1 M	内部川	-	-	○
5-018 - 2 M	内部川	-	-	
5-018 - 3 M	内部川	-	-	
5-018 - 4 M	内部川	-	-	○
5-018 - 5 M	内部川	-	-	○
5-018 - 6 M	内部川	-	-	○
5-022 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
5-022 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
5-024 - 1 M	雲出川	-	-	○
5-024 - 2 M	雲出川	-	-	
5-029 - 1 M	内部川	-	-	○
在来ナタネ?				
5-006 - 1 M	内部川	-	-	○
5-006 - 5 M	内部川	-	-	○
5-006 - 6 M	内部川	-	-	○
5-007 - 1 M	内部川	-	-	○
5-008 - 1 M	内部川	-	-	○
5-008 - 2 M	内部川	-	-	○
5-008 - 3 M	内部川	-	-	○
5-008 - 6 M	内部川	-	-	○
5-009 - 1 M	内部川	-	-	○
5-012 - 4 M	内部川	-	-	○
5-014 - 1 M	内部川	-	-	○
5-016 - 1 M	内部川	-	-	○
5-018 - 7 M	内部川	-	-	○
5-018 - 8 M	内部川	-	-	○

一: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。母植物から種子試料を採取したものは○。

種名の後の?は、種の同定が不確かな試料であることを示す。

試料番号			河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
5-019	-1	M	鈴鹿川	-	-	○
5-019	-2	M	鈴鹿川	-	-	
5-020	-1	M	鈴鹿川	-	-	○
5-021	-1	M	鈴鹿川	-	-	○
5-022	-3	M	鈴鹿川	-	-	○
5-023	-1	M	鈴鹿川	-	-	○
カラシナ						
6-004	-1	M	内部川	-	-	○
6-004	-2	M	内部川	-	-	○
6-004	-3	M	内部川	-	-	○
6-005	-1	M	内部川	-	-	○
6-005	-2	M	内部川	-	-	○
6-005	-3	M	内部川	-	-	○
6-006	-1	M	内部川	-	-	○
6-006	-2	M	内部川	-	-	○
6-006	-3	M	内部川	-	-	○
6-007	-1	M	内部川	-	-	○
6-007	-2	M	内部川	-	-	○
6-007	-3	M	内部川	-	-	○
6-008	-1	M	内部川	-	-	○
6-008	-2	M	内部川	-	-	○
6-008	-3	M	内部川	-	-	○
6-009	-1	M	内部川	-	-	○
6-009	-2	M	内部川	-	-	○
6-009	-3	M	内部川	-	-	
6-009	-4	M	内部川	-	-	○
6-010	-1	M	内部川	-	-	○
6-010	-2	M	内部川	-	-	○
6-010	-3	M	内部川	-	-	○
6-011	-1	M	内部川	-	-	○
6-011	-2	M	内部川	-	-	○
6-011	-3	M	内部川	-	-	○
6-012	-1	M	内部川	-	-	○
6-012	-2	M	内部川	-	-	○
6-012	-3	M	内部川	-	-	○
6-013	-1	M	内部川	-	-	○
6-013	-2	M	内部川	-	-	○
6-013	-3	M	内部川	-	-	○
6-014	-1	M	内部川	-	-	○
6-014	-2	M	内部川	-	-	○
6-014	-3	M	内部川	-	-	○
6-015	-1	M	内部川	-	-	○
6-015	-2	M	内部川	-	-	○
6-015	-3	M	内部川	-	-	○

一: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。

母植物から種子試料を採取したものは○。

試料番号			河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
6-016	-1	M	内部川	-	-	○
6-016	-2	M	内部川	-	-	○
6-016	-3	M	内部川	-	-	○
6-017	-1	M	内部川	-	-	
6-017	-2	M	内部川	-	-	○
6-017	-3	M	内部川	-	-	
6-018	-1	M	内部川	-	-	○
6-018	-2	M	内部川	-	-	○
6-018	-3	M	内部川	-	-	○
6-019	-1	M	内部川	-	-	○
6-019	-2	M	内部川	-	-	○
6-019	-3	M	内部川	-	-	○
6-020	-1	M	内部川	-	-	○
6-020	-2	M	内部川	-	-	○
6-020	-3	M	内部川	-	-	○
6-021	-1	M	内部川	-	-	○
6-021	-2	M	内部川	-	-	○
6-022	-1	M	内部川	-	-	○
6-022	-2	M	内部川	-	-	○
6-022	-3	M	内部川	-	-	○
6-023	-1	M	内部川	-	-	○
6-023	-2	M	内部川	-	-	○
6-023	-3	M	内部川	-	-	○
6-024	-1	M	内部川	-	-	○
6-024	-2	M	内部川	-	-	○
6-024	-3	M	内部川	-	-	○
6-025	-1	M	鈴鹿川	-	-	○
6-025	-2	M	鈴鹿川	-	-	○
6-025	-3	M	鈴鹿川	-	-	
6-026	-1	M	鈴鹿川	-	-	○
6-026	-2	M	鈴鹿川	-	-	○
6-026	-3	M	鈴鹿川	-	-	
6-026	-4	M	鈴鹿川	-	-	
6-026	-5	M	鈴鹿川	-	-	
6-026	-6	M	鈴鹿川	-	-	
6-027	-1	M	鈴鹿川	-	-	○
6-027	-2	M	鈴鹿川	-	-	○
6-027	-3	M	鈴鹿川	-	-	○
6-028	-1	M	鈴鹿川	-	-	○
6-028	-2	M	鈴鹿川	-	-	○
6-028	-3	M	鈴鹿川	-	-	
6-029	-1	M	鈴鹿川	-	-	○
6-029	-2	M	鈴鹿川	-	-	○
6-029	-3	M	鈴鹿川	-	-	○

一: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。

母植物から種子試料を採取したものは○。

試料番号			河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
6-030	-1	M	鈴鹿川	-	-	○
6-031	-1	M	鈴鹿川	-	-	○
6-031	-2	M	鈴鹿川	-	-	○
6-031	-3	M	鈴鹿川	-	-	
6-032	-1	M	鈴鹿川	-	-	○
6-032	-2	M	鈴鹿川	-	-	○
6-032	-3	M	鈴鹿川	-	-	○
6-033	-1	M	鈴鹿川	-	-	○
6-033	-2	M	鈴鹿川	-	-	○
6-033	-3	M	鈴鹿川	-	-	○
6-034	-1	M	鈴鹿川	-	-	○
6-034	-2	M	鈴鹿川	-	-	○
6-034	-3	M	鈴鹿川	-	-	○
6-035	-1	M	鈴鹿川	-	-	○
6-036	-1	M	雲出川	-	-	○
6-036	-2	M	雲出川	-	-	○
6-036	-3	M	雲出川	-	-	○
6-037	-1	M	雲出川	-	-	
6-037	-2	M	雲出川	-	-	
6-038	-1	M	雲出川	-	-	
6-039	-1	M	雲出川	-	-	
6-039	-2	M	雲出川	-	-	
6-039	-3	M	雲出川	-	-	○
6-040	-1	M	雲出川	-	-	○
6-040	-2	M	雲出川	-	-	○
6-040	-3	M	雲出川	-	-	
6-041	-1	M	雲出川	-	-	○
6-041	-2	M	雲出川	-	-	
6-041	-3	M	雲出川	-	-	○
6-042	-1	M	雲出川	-	-	○
6-042	-2	M	雲出川	-	-	○
6-042	-3	M	雲出川	-	-	○
6-043	-1	M	雲出川	-	-	○
6-043	-2	M	雲出川	-	-	○
6-043	-3	M	雲出川	-	-	○
6-044	-1	M	雲出川	-	-	○
6-044	-2	M	雲出川	-	-	
6-044	-3	M	雲出川	-	-	
6-045	-1	M	雲出川	-	-	○
6-045	-2	M	雲出川	-	-	○
6-045	-3	M	雲出川	-	-	○
6-046	-1	M	雲出川	-	-	
6-046	-2	M	雲出川	-	-	
6-046	-3	M	雲出川	-	-	

一: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。

母植物から種子試料を採取したものは○。

試料番号	河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
6-047 - 1 M	雲出川	-	-	○
6-047 - 2 M	雲出川	-	-	○
6-048 - 1 M	雲出川	-	-	○
6-048 - 2 M	雲出川	-	-	○
6-049 - 1 M	雲出川	-	-	
6-049 - 2 M	雲出川	-	-	
6-050 - 1 M	雲出川	-	-	○
6-050 - 2 M	雲出川	-	-	○
6-050 - 3 M	雲出川	-	-	
6-051 - 1 M	雲出川	-	-	○
6-051 - 2 M	雲出川	-	-	○
ハマダイコン				
12-001 - 1 M	内部川	-	-	
12-001 - 2 M	内部川	-	-	
12-001 - 3 M	内部川	-	-	
12-002 - 1 M	内部川	-	-	
12-003 - 1 M	内部川	-	-	
12-004 - 1 M	内部川	-	-	
12-004 - 2 M	内部川	-	-	
12-005 - 1 M	内部川	-	-	○
12-005 - 2 M	内部川	-	-	
12-005 - 3 M	内部川	-	-	
12-006 - 1 M	内部川	-	-	
12-007 - 1 M	内部川	-	-	○
12-007 - 2 M	内部川	-	-	○
12-007 - 3 M	内部川	-	-	
12-008 - 1 M	内部川	-	-	
12-008 - 2 M	内部川	-	-	
12-008 - 3 M	内部川	-	-	
12-009 - 1 M	内部川	-	-	
12-010 - 1 M	内部川	-	-	
12-011 - 1 M	内部川	-	-	
12-011 - 2 M	内部川	-	-	
12-011 - 3 M	内部川	-	-	
12-012 - 1 M	内部川	-	-	○
12-012 - 2 M	内部川	-	-	○
12-012 - 3 M	内部川	-	-	
12-013 - 1 M	内部川	-	-	
12-013 - 2 M	内部川	-	-	
12-013 - 3 M	内部川	-	-	
12-014 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
12-015 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
12-016 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
12-016 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○

一: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。

母植物から種子試料を採取したものは○。

試料番号	河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
12-016 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
12-017 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
12-017 - 2 M	鈴鹿川	-	-	
12-017 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
クロガラシ				
13-001 - 1 M	内部川	-	-	
13-001 - 2 M	内部川	-	-	
13-002 - 1 M	内部川	-	-	○
13-002 - 2 M	内部川	-	-	○
13-002 - 3 M	内部川	-	-	
ノハラガラシ				
16-001 - 1 M	雲出川	-	-	
16-001 - 2 M	雲出川	-	-	
16-001 - 3 M	雲出川	-	-	
イヌガラシ				
18-003 - 1 M	雲出川	-	-	○
18-004 - 1 M	雲出川	-	-	
18-004 - 2 M	雲出川	-	-	
18-004 - 3 M	雲出川	-	-	
18-005 - 1 M	雲出川	-	-	○
18-006 - 1 M	雲出川	-	-	
18-006 - 2 M	雲出川	-	-	
18-006 - 3 M	雲出川	-	-	
18-007 - 1 M	雲出川	-	-	○
18-007 - 2 M	雲出川	-	-	

—: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。

母植物から種子試料を採取したものは○。

表 1-8 博多港(福岡県)周辺地域から採取した母植物組織に対する免疫クロマトグラフ法による CP4 EPSPS タンパク質および PAT タンパク質の調査結果

試料番号	河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
セイヨウナタネ				
1-075 -1 M	須恵川	-	-	○
1-076 -1 M	須恵川	-	+	○
1-077 -1 M	須恵川	-	+	
4-040 -1 M	須恵川	-	-	○
4-040 -2 M	須恵川	-	-	○
在来ナタネ				
5-025 -1 M	須恵川	-	-	
5-026 -1 M	須恵川	-	-	○
5-026 -2 M	須恵川	-	-	○
5-026 -3 M	須恵川	-	-	
5-026 -4 M	須恵川	-	-	○
5-026 -5 M	須恵川	-	-	○
5-026 -6 M	須恵川	-	-	○
5-026 -7 M	須恵川	-	-	○
5-027 -1 M	須恵川	-	-	○
5-027 -2 M	須恵川	-	-	○
5-027 -3 M	須恵川	-	-	○
5-027 -4 M	須恵川	-	-	○
5-027 -5 M	須恵川	-	-	○
5-027 -6 M	須恵川	-	-	○
5-028 -1 M	三笠川	-	-	
5-028 -2 M	三笠川	-	-	
5-028 -3 M	三笠川	-	-	
5-028 -4 M	三笠川	-	-	○
5-028 -5 M	三笠川	-	-	
5-028 -6 M	三笠川	-	-	
5-028 -7 M	三笠川	-	-	○
5-028 -8 M	三笠川	-	-	○
カラシナ				
3-001 -1 M	須恵川	-	-	○
3-001 -2 M	須恵川	-	-	
3-002 -1 M	須恵川	-	-	
6-052 -1 M	須恵川	-	-	○
6-052 -2 M	須恵川	-	-	○
6-053 -1 M	須恵川	-	-	
6-053 -2 M	須恵川	-	-	
6-054 -1 M	須恵川	-	-	
6-054 -2 M	須恵川	-	-	
6-054 -3 M	須恵川	-	-	

ー: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。母植物から種子試料を採取したものは○。

黄色の行: PAT タンパク質が検出された試料。

試料番号			河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
6-055	- 1	M	須恵川	-	-	○
6-055	- 2	M	須恵川	-	-	○
6-055	- 3	M	須恵川	-	-	
6-056	- 1	M	須恵川	-	-	○
ハマダイコン						
12-018	- 1	M	須恵川	-	-	
12-019	- 1	M	須恵川	-	-	
12-019	- 2	M	須恵川	-	-	
12-020	- 1	M	須恵川	-	-	
12-021	- 1	M	須恵川	-	-	
12-021	- 2	M	須恵川	-	-	
12-021	- 3	M	須恵川	-	-	
12-022	- 1	M	三笠川	-	-	○
12-022	- 2	M	三笠川	-	-	○

—: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。

母植物から種子試料を採取したものは○。

3.1.2 種子の除草剤耐性タンパク質の調査

表 1-2 にナタネ類とカラシナ、その他の種の各調査地域における種子試料数と採取群落数、及び除草剤耐性タンパク質が検出された試料数とその採取群落数を示す。母植物から採取した種子(母植物当たり 20 粒を 1 試料とする)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調査結果を表 1-9~1-11 に示す。表 1-9~1-11 の各表に種名、試料番号(个体番号+S)、採取地点近傍の河川名、各試料の採取種子数、検出結果および母植物組織での結果を示す。種の同定、除草剤耐性タンパク質(CP4EPSPS、PAT)の検出結果の表記は母植物組織の場合と同様である。なお、各試料の採取種子数は、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採取数を推定した。

セイヨウナタネ種子の解析結果

鹿島港周辺地域から採取された 17 群落の 25 試料からは、除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。

四日市港周辺地域から採取された 28 群落の 45 試料中、19 群落の 29 試料に(CP4 EPSPS タンパク質が 8 群落の 8 試料、PAT タンパク質が 15 群落の 20 試料、CP4 EPSPS タンパク質と PAT タンパク質の両方が 5 群落の 5 試料)除草剤耐性タンパク質が検出された。母植物組織では PAT のみしか検出されなかった植物由来の種子に両方のタンパク質を含むものが検出された試料が 5 群落の 5 試料(4-029-6S、4-032-1S、4-035-6S、4-038-5S、4-039-1S)あり、異なる除草剤耐性を持った遺伝子組換え植物間で交雑が起こったことが示唆された。

博多港周辺地域から採取された 3 群落の 4 試料中、1 群落の 1 試料に除草剤耐性タンパク質 PAT が検出された。

在来ナタネ種子の解析結果

四日市港周辺地域から採取された 25 群落の 70 試料および博多港周辺地域から採取された 3 群落の 15 試料が解析され、除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。

カラシナ種子の解析結果

鹿島港周辺地域から採取された 3 群落の 7 試料、四日市港周辺地域から採取された 44 群落の 111 試料および博多港周辺地域から採取された 4 群落の 6 試料が解析され、除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。

ハマダイコン、クロガラシ、ノハラガラシ、イヌガラシ種子の解析結果

鹿島港周辺地域から採取された 1 群落 1 試料のイヌガラシ、四日市港周辺地域から採取された 4 群落 7 試料のハマダイコン、1 群落 2 試料のクロガラシ、3 群落 3 試料のイヌガラシおよび博多港周辺地域から採取された 1 群落 2 試料のハマダイコンが解析され、除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。

表 1-9 鹿島港(茨城県)周辺地域から採取した種子に対する免疫クロマトグラフ法による CP4 EPSPS タンパク質および PAT タンパク質の調査結果

試料番号	河川名	採取種子数(推定)	CP4 EPSPS	PAT	母植物の結果
セイヨウナタネ					
1-002 - 1 S	利根川	110	-	-	-
1-002 - 2 S	利根川	18	-	-	-
1-003 - 1 S	利根川	157	-	-	-
1-003 - 2 S	利根川	293	-	-	-
1-003 - 3 S	利根川	122	-	-	-
1-004 - 1 S	利根川	21	-	-	-
1-005 - 1 S	利根川	557	-	-	-
1-006 - 1 S	利根川	60	-	-	-
1-007 - 1 S	利根川	180	-	-	-
1-008 - 3 S	利根川	37	-	-	-
1-009 - 1 S	利根川	615	-	-	-
1-010 - 1 S	利根川	88	-	-	-
1-012 - 1 S	利根川	93	-	-	-
1-013 - 1 S	利根川	94	-	-	-
1-013 - 2 S	利根川	205	-	-	-
1-014 - 1 S	利根川	477	-	-	-
1-016 - 1 S	利根川	242	-	-	-
1-016 - 2 S	利根川	24	-	-	-
1-017 - 1 S	利根川	467	-	-	-
1-017 - 2 S	利根川	114	-	-	-
1-017 - 3 S	利根川	150	-	-	-
1-018 - 1 S	利根川	39	-	-	-
1-018 - 3 S	利根川	90	-	-	-
4-001 - 1 S	利根川	103	-	-	-
4-002 - 1 S	利根川	79	-	-	-
カラシナ					
6-001 - 1 S	利根川	555	-	-	-
6-001 - 2 S	利根川	411	-	-	-
6-001 - 3 S	利根川	566	-	-	-
6-002 - 1 S	利根川	323	-	-	-
6-002 - 2 S	利根川	280	-	-	-
6-002 - 3 S	利根川	448	-	-	-
6-003 - 1 S	利根川	549	-	-	-
イヌガラシ					
18-002 - 3 S	利根川	926	-	-	-

-: 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(母植物では除草剤耐性タンパク質が検出されなかった試料)。

表 1-10 四日市港(三重県)周辺地域から採取した種子に対する免疫クロマトグラフ法による CP4 EPSPS タンパク質および PAT タンパク質の調査結果

試料番号	河川名	採取種子数(推定)	CP4 EPSPS	PAT	母植物の結果
セイヨウナタネ					
1-019 - 1 S	内部川	5	+	-	CP4 EPSPS
1-020 - 1 S	内部川	40	-	-	-
1-022 - 1 S	内部川	817	-	-	-
1-023 - 1 S	内部川	274	-	+	PAT
1-024 - 1 S	内部川	14	-	+	PAT
1-030 - 1 S	鈴鹿川	80	+	-	CP4 EPSPS
1-040 - 1 S	雲出川	60	+	-	CP4 EPSPS
4-005 - 1 S	内部川	243	-	-	-
4-006 - 1 S	内部川	340	-	-	-
4-006 - 2 S	内部川	376	-	-	-
4-006 - 3 S	内部川	119	-	-	-
4-007 - 1 S	内部川	209	-	-	-
4-010 - 1 S	内部川	145	-	-	-
4-011 - 1 S	内部川	154	-	+	PAT
4-013 - 1 S	鈴鹿川	139	-	+	-
4-015 - 2 S	鈴鹿川	104	-	+	PAT
4-016 - 1 S	鈴鹿川	79	-	+	-
4-020 - 1 S	雲出川	88	-	-	-
4-021 - 4 S	雲出川	15	+	-	CP4 EPSPS
4-021 - 5 S	雲出川	18	-	+	PAT
4-022 - 5 S	雲出川	143	-	+	PAT
4-029 - 6 S	雲出川	45	+	+	PAT
4-029 - 7 S	雲出川	293	+	-	CP4 EPSPS
4-030 - 4 S	雲出川	93	-	-	-
4-030 - 5 S	雲出川	46	-	+	PAT
4-031 - 1 S	雲出川	128	-	+	PAT
4-031 - 3 S	雲出川	154	-	+	PAT
4-031 - 4 S	雲出川	299	+	-	CP4 EPSPS
4-032 - 1 S	雲出川	21	+	+	PAT
4-032 - 2 S	雲出川	169	-	+	PAT
4-034 - 1 S	雲出川	85	-	+	PAT
4-035 - 2 S	雲出川	47	-	+	PAT
4-035 - 5 S	雲出川	74	-	+	PAT
4-035 - 6 S	雲出川	78	+	+	PAT
4-038 - 1 S	雲出川	439	-	+	PAT
4-038 - 2 S	雲出川	113	-	+	PAT
4-038 - 5 S	雲出川	15	+	+	PAT

-: 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(母植物では除草剤耐性タンパク質が検出されなかった試料)。+: 該当するタンパク質が検出された試料。CP4 EPSPS: 母植物で CP4 EPSPS タンパク質が検出された試料。PAT: 母植物で PAT タンパク質が検出された試料。セルの色は、次の種子の場合と同様。**水色**: CP4 EPSPS タンパク質が検出された試料。**黄色**: PAT タンパク質が検出された試料。**緑色**: CP4 EPSPS タンパク質と PAT タンパク質が検出された試料。

試料番号	河川名	採取種子数(推定)	CP4 EPSPS	PAT	母植物の結果
4-038 - 6 S	雲出川	69	-	+	PAT
4-038 - 7 S	雲出川	86	+	-	CP4 EPSPS
4-039 - 1 S	雲出川	48	+	+	PAT
4-039 - 2 S	雲出川	38	-	+	PAT
4-039 - 4 S	雲出川	50	-	+	PAT
4-039 - 6 S	雲出川	46	+	-	CP4 EPSPS
セイヨウナタネ?					
4-008 - 1 S	内部川	324	-	-	-
4-019 - 2 S	雲出川	272	-	-	-
在来ナタネ					
5-001 - 1 S	内部川	584	-	-	-
5-001 - 2 S	内部川	812	-	-	-
5-002 - 1 S	内部川	1096	-	-	-
5-002 - 2 S	内部川	380	-	-	-
5-003 - 1 S	内部川	352	-	-	-
5-003 - 2 S	内部川	366	-	-	-
5-004 - 1 S	内部川	409	-	-	-
5-004 - 2 S	内部川	258	-	-	-
5-005 - 1 S	内部川	39	-	-	-
5-006 - 2 S	内部川	433	-	-	-
5-006 - 4 S	内部川	184	-	-	-
5-006 - 7 S	内部川	413	-	-	-
5-008 - 4 S	内部川	276	-	-	-
5-008 - 5 S	内部川	259	-	-	-
5-010 - 1 S	内部川	459	-	-	-
5-010 - 2 S	内部川	373	-	-	-
5-010 - 3 S	内部川	502	-	-	-
5-010 - 4 S	内部川	648	-	-	-
5-010 - 5 S	内部川	582	-	-	-
5-010 - 6 S	内部川	289	-	-	-
5-010 - 7 S	内部川	592	-	-	-
5-011 - 1 S	内部川	266	-	-	-
5-011 - 2 S	内部川	481	-	-	-
5-011 - 3 S	内部川	674	-	-	-
5-011 - 4 S	内部川	533	-	-	-
5-011 - 5 S	内部川	472	-	-	-
5-011 - 6 S	内部川	604	-	-	-
5-011 - 7 S	内部川	440	-	-	-
5-012 - 2 S	内部川	593	-	-	-

-: 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(母植物では除草剤耐性タンパク質が検出されなかった試料)。+: 該当するタンパク質が検出された試料。CP4 EPSPS: 母植物で CP4 EPSPS タンパク質が検出された試料。PAT: 母植物で PAT タンパク質が検出された試料。セルの色は、次の種子の場合と同様。**水色**: CP4 EPSPS タンパク質が検出された試料。**黄色**: PAT タンパク質が検出された試料。**緑色**: CP4 EPSPS タンパク質と PAT タンパク質が検出された試料。
種名の後の?は、種の同定が不確かな試料であることを示す。

試料番号	河川名	採取種子数(推定)	CP4 EPSPS	PAT	母植物の結果
5-012 - 3 S	内部川	282	-	-	-
5-012 - 5 S	内部川	303	-	-	-
5-012 - 6 S	内部川	687	-	-	-
5-012 - 7 S	内部川	750	-	-	-
5-013 - 1 S	内部川	267	-	-	-
5-015 - 1 S	内部川	218	-	-	-
5-015 - 2 S	内部川	1005	-	-	-
5-015 - 3 S	内部川	599	-	-	-
5-015 - 4 S	内部川	376	-	-	-
5-015 - 5 S	内部川	329	-	-	-
5-015 - 6 S	内部川	450	-	-	-
5-015 - 7 S	内部川	331	-	-	-
5-017 - 1 S	内部川	228	-	-	-
5-017 - 2 S	内部川	375	-	-	-
5-018 - 1 S	内部川	352	-	-	-
5-018 - 4 S	内部川	239	-	-	-
5-018 - 5 S	内部川	455	-	-	-
5-018 - 6 S	内部川	839	-	-	-
5-022 - 1 S	鈴鹿川	121	-	-	-
5-022 - 2 S	鈴鹿川	230	-	-	-
5-024 - 1 S	雲出川	654	-	-	-
5-029 - 1 S	内部川	303	-	-	-
在来ナタネ?					
5-006 - 1 S	内部川	576	-	-	-
5-006 - 5 S	内部川	370	-	-	-
5-006 - 6 S	内部川	131	-	-	-
5-007 - 1 S	内部川	82	-	-	-
5-008 - 1 S	内部川	149	-	-	-
5-008 - 2 S	内部川	47	-	-	-
5-008 - 3 S	内部川	161	-	-	-
5-008 - 6 S	内部川	268	-	-	-
5-009 - 1 S	内部川	502	-	-	-
5-012 - 4 S	内部川	315	-	-	-
5-014 - 1 S	内部川	158	-	-	-
5-016 - 1 S	内部川	622	-	-	-
5-018 - 7 S	内部川	753	-	-	-
5-018 - 8 S	内部川	150	-	-	-
5-019 - 1 S	鈴鹿川	326	-	-	-
5-020 - 1 S	鈴鹿川	59	-	-	-
5-021 - 1 S	鈴鹿川	289	-	-	-
5-022 - 3 S	鈴鹿川	232	-	-	-
5-023 - 1 S	鈴鹿川	54	-	-	-
カラシナ					
6-004 - 1 S	内部川	524	-	-	-
6-004 - 2 S	内部川	1048	-	-	-
6-004 - 3 S	内部川	896	-	-	-

-: 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(母植物では除草剤耐性タンパク質が検出されなかった試料)。

種名の後の?は、種の同定が不確かな試料であることを示す。

試料番号	河川名	採取種子数(推定)	CP4 EPSPS	PAT	母植物の結果
6-005 - 1 S	内部川	826	-	-	-
6-005 - 2 S	内部川	954	-	-	-
6-005 - 3 S	内部川	930	-	-	-
6-006 - 1 S	内部川	800	-	-	-
6-006 - 2 S	内部川	1001	-	-	-
6-006 - 3 S	内部川	1370	-	-	-
6-007 - 1 S	内部川	149	-	-	-
6-007 - 2 S	内部川	41	-	-	-
6-007 - 3 S	内部川	284	-	-	-
6-008 - 1 S	内部川	1068	-	-	-
6-008 - 2 S	内部川	902	-	-	-
6-008 - 3 S	内部川	866	-	-	-
6-009 - 1 S	内部川	1147	-	-	-
6-009 - 2 S	内部川	1141	-	-	-
6-009 - 4 S	内部川	1742	-	-	-
6-010 - 1 S	内部川	1022	-	-	-
6-010 - 2 S	内部川	631	-	-	-
6-010 - 3 S	内部川	1139	-	-	-
6-011 - 1 S	内部川	545	-	-	-
6-011 - 2 S	内部川	897	-	-	-
6-011 - 3 S	内部川	476	-	-	-
6-012 - 1 S	内部川	819	-	-	-
6-012 - 2 S	内部川	814	-	-	-
6-012 - 3 S	内部川	904	-	-	-
6-013 - 1 S	内部川	1226	-	-	-
6-013 - 2 S	内部川	820	-	-	-
6-013 - 3 S	内部川	762	-	-	-
6-014 - 1 S	内部川	657	-	-	-
6-014 - 2 S	内部川	335	-	-	-
6-014 - 3 S	内部川	730	-	-	-
6-015 - 1 S	内部川	133	-	-	-
6-015 - 2 S	内部川	44	-	-	-
6-015 - 3 S	内部川	494	-	-	-
6-016 - 1 S	内部川	289	-	-	-
6-016 - 2 S	内部川	326	-	-	-
6-016 - 3 S	内部川	408	-	-	-
6-017 - 2 S	内部川	239	-	-	-
6-018 - 1 S	内部川	1431	-	-	-
6-018 - 2 S	内部川	870	-	-	-
6-018 - 3 S	内部川	1236	-	-	-
6-019 - 1 S	内部川	629	-	-	-
6-019 - 2 S	内部川	709	-	-	-
6-019 - 3 S	内部川	1058	-	-	-
6-020 - 1 S	内部川	575	-	-	-
6-020 - 2 S	内部川	662	-	-	-
6-020 - 3 S	内部川	752	-	-	-
6-021 - 1 S	内部川	662	-	-	-

-: 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(母植物では除草剤耐性タンパク質が検出されなかった試料)。

試料番号	河川名	採取種子数(推定)	CP4 EPSPS	PAT	母植物の結果
6-021 - 2 S	内部川	856	-	-	-
6-022 - 1 S	内部川	392	-	-	-
6-022 - 2 S	内部川	397	-	-	-
6-022 - 3 S	内部川	407	-	-	-
6-023 - 1 S	内部川	544	-	-	-
6-023 - 2 S	内部川	169	-	-	-
6-023 - 3 S	内部川	454	-	-	-
6-024 - 1 S	内部川	568	-	-	-
6-024 - 2 S	内部川	553	-	-	-
6-024 - 3 S	内部川	990	-	-	-
6-025 - 1 S	鈴鹿川	573	-	-	-
6-025 - 2 S	鈴鹿川	866	-	-	-
6-026 - 1 S	鈴鹿川	489	-	-	-
6-026 - 2 S	鈴鹿川	770	-	-	-
6-027 - 1 S	鈴鹿川	827	-	-	-
6-027 - 2 S	鈴鹿川	761	-	-	-
6-027 - 3 S	鈴鹿川	796	-	-	-
6-028 - 1 S	鈴鹿川	1055	-	-	-
6-028 - 2 S	鈴鹿川	853	-	-	-
6-029 - 1 S	鈴鹿川	1226	-	-	-
6-029 - 2 S	鈴鹿川	1018	-	-	-
6-029 - 3 S	鈴鹿川	341	-	-	-
6-030 - 1 S	鈴鹿川	1119	-	-	-
6-031 - 1 S	鈴鹿川	707	-	-	-
6-031 - 2 S	鈴鹿川	549	-	-	-
6-032 - 1 S	鈴鹿川	372	-	-	-
6-032 - 2 S	鈴鹿川	316	-	-	-
6-032 - 3 S	鈴鹿川	249	-	-	-
6-033 - 1 S	鈴鹿川	781	-	-	-
6-033 - 2 S	鈴鹿川	970	-	-	-
6-033 - 3 S	鈴鹿川	319	-	-	-
6-034 - 1 S	鈴鹿川	1083	-	-	-
6-034 - 2 S	鈴鹿川	1083	-	-	-
6-034 - 3 S	鈴鹿川	1062	-	-	-
6-035 - 1 S	鈴鹿川	880	-	-	-
6-036 - 1 S	雲出川	658	-	-	-
6-036 - 2 S	雲出川	568	-	-	-
6-036 - 3 S	雲出川	968	-	-	-
6-039 - 3 S	雲出川	698	-	-	-
6-040 - 1 S	雲出川	913	-	-	-
6-040 - 2 S	雲出川	485	-	-	-
6-041 - 1 S	雲出川	306	-	-	-
6-041 - 3 S	雲出川	719	-	-	-
6-042 - 1 S	雲出川	927	-	-	-
6-042 - 2 S	雲出川	656	-	-	-
6-042 - 3 S	雲出川	985	-	-	-
6-043 - 1 S	雲出川	799	-	-	-

-: 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(母植物では除草剤耐性タンパク質が検出されなかった試料)。

試料番号	河川名	採取種子数(推定)	CP4 EPSPS	PAT	母植物の結果
6-043 - 2 S	雲出川	277	-	-	-
6-043 - 3 S	雲出川	555	-	-	-
6-044 - 1 S	雲出川	160	-	-	-
6-045 - 1 S	雲出川	86	-	-	-
6-045 - 2 S	雲出川	522	-	-	-
6-045 - 3 S	雲出川	1135	-	-	-
6-047 - 1 S	雲出川	371	-	-	-
6-047 - 2 S	雲出川	338	-	-	-
6-048 - 1 S	雲出川	223	-	-	-
6-048 - 2 S	雲出川	430	-	-	-
6-050 - 1 S	雲出川	544	-	-	-
6-050 - 2 S	雲出川	735	-	-	-
6-051 - 1 S	雲出川	1121	-	-	-
6-051 - 2 S	雲出川	631	-	-	-
ハマダイコン					
12-005 - 1 S	内部川	29	-	-	-
12-007 - 1 S	内部川	184	-	-	-
12-007 - 2 S	内部川	134	-	-	-
12-012 - 1 S	内部川	116	-	-	-
12-012 - 2 S	内部川	125	-	-	-
12-016 - 1 S	鈴鹿川	140	-	-	-
12-016 - 2 S	鈴鹿川	110	-	-	-
クロガラシ					
13-002 - 1 S	内部川	83	-	-	-
13-002 - 2 S	内部川	497	-	-	-
イヌガラシ					
18-003 - 1 S	雲出川	385	-	-	-
18-005 - 1 S	雲出川	4462	-	-	-
18-007 - 1 S	雲出川	2308	-	-	-

-: 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(母植物では除草剤耐性タンパク質が検出されなかった試料)。

表 1-11 博多港(福岡県)周辺地域から採取した種子に対する免疫クロマトグラフ法による CP4 EPSPS タンパク質および PAT タンパク質の調査結果

試料番号	河川名	採取種子数(推定)	CP4 EPSPS	PAT	母植物の結果
セイヨウナタネ					
1-075 - 1 S	須恵川	235	-	-	-
1-076 - 1 S	須恵川	113	-	+	PAT
4-040 - 1 S	須恵川	348	-	-	-
4-040 - 2 S	須恵川	114	-	-	-

-: 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(母植物では除草剤耐性タンパク質が検出されなかった試料)。+: 該当するタンパク質が検出された試料。PAT: 母植物で PAT タンパク質が検出された試料。セルの色は、次の種子の場合と同様。**黄色**: PAT タンパク質が検出された試料。

試料番号			河川名	採取種子数(推定)	CP4 EPSPS	PAT	母植物の結果
在来ナタネ							
5-026	- 1	S	須恵川	443	-	-	-
5-026	- 2	S	須恵川	424	-	-	-
5-026	- 4	S	須恵川	645	-	-	-
5-026	- 5	S	須恵川	683	-	-	-
5-026	- 6	S	須恵川	551	-	-	-
5-026	- 7	S	須恵川	875	-	-	-
5-027	- 1	S	須恵川	253	-	-	-
5-027	- 2	S	須恵川	38	-	-	-
5-027	- 3	S	須恵川	271	-	-	-
5-027	- 4	S	須恵川	721	-	-	-
5-027	- 5	S	須恵川	951	-	-	-
5-027	- 6	S	須恵川	156	-	-	-
5-028	- 4	S	三笠川	40	-	-	-
5-028	- 7	S	三笠川	572	-	-	-
5-028	- 8	S	三笠川	271	-	-	-
カラシナ							
3-001	- 1	S	須恵川	1030	-	-	-
6-052	- 1	S	須恵川	857	-	-	-
6-052	- 2	S	須恵川	1106	-	-	-
6-055	- 1	S	須恵川	243	-	-	-
6-055	- 2	S	須恵川	208	-	-	-
6-056	- 1	S	須恵川	1129	-	-	-
ハマダイコン							
12-022	- 1	S	三笠川	26	-	-	-
12-022	- 2	S	三笠川	106	-	-	-

-: 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(母植物では除草剤耐性タンパク質が検出されなかった試料)。

3.1.3 実生の除草剤耐性分析

採取したナタネ類とカラシナ及び雑種の種子における除草剤耐性タンパク質の有無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 タンパク質が検出されたセイヨウナタネ（「セイヨウナタネ？」の試料を含む）、20 群落からの 34 試料の種子を、新たに 1 区画当たり数〜20 粒（3.1.2. で種子数の推定に用いた 20 粒を除いたものから抽出。20 粒は重量で推定）取り、これをガラス温室（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、6 区画に分割した 1 区画）に 1 試料あたり 2 区画に播種し、実生を栽培した。

CP4 EPSPS タンパク質が検出された種子の播種後 22 日目と 29 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®マックスロード、Monsanto、Antwerp、Belgium）水溶液（最終濃度約 1.2 g/ℓのグリホサートカリウム塩）を、910 X 1350 mm のプラスチックケース 1 ケースあたり約 4 ℓ（40.1 kg 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、PAT タンパク質が検出された種子の播種後 22 日目と 25 日目に水道水で 800 倍に希釈したグルホシネート（バスタ®、Bayer CropScience、Frankfurt、Germany）水溶液（最終濃度約 0.23 g/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）を、910 X 1350 mm のプラスチックケース 1 ケースあたり約 4 ℓ（7.5 kg 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。

さらに、グリホサート耐性を示した実生にはグルホシネートを散布し、グルホシネート耐性を示した実生にはグリホサートを散布して、各区画において 2 種類の除草剤耐性をあわせ持つ実生の有無を調査した。

結果を表 1-12、1-13 に示す。表中には種名、試料番号（個体番号+L）、採取地点近傍の河川名、各試料全体の採取種子数、各除草剤の分析につき播種数・発芽数・耐性個体数、母植物組織および種子の除草剤耐性タンパク質分析結果を示した。

まず、四日市港周辺地域の母植物 19 群落からの 33 試料、博多港周辺地域の母植物 1 群落からの 1 試料中から採取した種子試料は、全てが発芽し実生が得られた。得られた実生の解析の結果、四日市港周辺地域では 17 群落の 31 試料に、博多港周辺地域では 1 群落の 1 試料に除草剤耐性を有するものが確認された。これらは全てセイヨウナタネであった。

除草剤耐性タンパク質が検出されなかった母植物のうち、その種子から除草剤耐性タンパク質が検出されたものが 2 群落の 2 試料あったが、実生は除草剤耐性を示さなかった（4-013-1L、

4-016-1L)。これは、当該除草剤耐性タンパク質を持つ種子の割合が少なく、実生の調査に用いた種子中には含まれなかったためと思われる。

四日市港周辺地域の河川敷等 5 群落からの 5 試料(4-029-6L、4-034-1L、4-035-6L、4-038-5L、4-039-1L) には、2 種類の除草剤耐性実生個体が含まれていた(表 1-12)。5 試料全てに 2 種類の除草剤に同時に耐性を示す実生が含まれていた。これらの由来する種子試料では、4 試料で 2 種類の除草剤耐性タンパク質が検出されたが、1 試料では PAT のみが検出された(4-034-1S)。また、これらの由来する母植物からは PAT のみが検出された。3.1.2 の種子の解析と合わせ、このことから異なる除草剤耐性を持った遺伝子組換え植物間で交雑が起こったことが示唆された。

表 1-12 四日市港(三重県)周辺地域から採取した種子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	河川名	採取種子数(推定)	播種数	発芽数	グリホサート耐性実生数	グリホサート+グリホシネート耐性実生数	播種数	発芽数	グリホシネート耐性実生数	グリホシネート+グリホサート耐性実生数	母植物の結果	種子の結果
セイヨウナタネ												
1-019 - 1 L	内部川	5	3	1	1	0	2	1	0	0	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS
1-023 - 1 L	内部川	274	20	18	0	0	20	19	19	0	PAT	PAT
1-024 - 1 L	内部川	14	4	4	0	0	4	4	3	0	PAT	PAT
1-030 - 1 L	鈴鹿川	80	20	19	18	0	20	17	0	0	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS
1-040 - 1 L	雲出川	60	20	17	14	0	20	17	0	0	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS
4-011 - 1 L	内部川	154	20	20	0	0	20	20	20	0	PAT	PAT
4-013 - 1 L	鈴鹿川	139	20	18	0	0	20	17	0	0	-	PAT
4-015 - 2 L	鈴鹿川	104	20	17	0	0	20	17	16	0	PAT	PAT
4-016 - 1 L	鈴鹿川	79	20	12	0	0	20	15	0	0	-	PAT
4-021 - 4 L	雲出川	15	4	4	4	0	4	3	0	0	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS
4-021 - 5 L	雲出川	18	4	1	0	0	5	1	1	0	PAT	PAT
4-022 - 5 L	雲出川	143	20	20	0	0	20	17	16	0	PAT	PAT
4-029 - 6 L	雲出川	45	14	11	0	0	13	10	10	1	PAT	CP4 EPSPS,PAT
4-029 - 7 L	雲出川	293	20	17	11	0	20	20	0	0	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS
4-030 - 5 L	雲出川	46	16	14	0	0	16	14	12	0	PAT	PAT
4-031 - 1 L	雲出川	128	20	19	0	0	20	15	15	0	PAT	PAT
4-031 - 3 L	雲出川	154	20	17	0	0	20	19	12	0	PAT	PAT
4-031 - 4 L	雲出川	299	20	18	18	0	20	16	0	0	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS
4-032 - 1 L	雲出川	21	6	1	0	0	6	1	1	0	PAT	CP4 EPSPS,PAT
4-032 - 2 L	雲出川	169	20	16	0	0	20	16	16	0	PAT	PAT
4-034 - 1 L	雲出川	85	20	16	0	0	20	18	13	1	PAT	PAT
4-035 - 2 L	雲出川	47	13	8	0	0	14	12	12	0	PAT	PAT
4-035 - 5 L	雲出川	74	20	20	0	0	20	19	18	0	PAT	PAT
4-035 - 6 L	雲出川	78	20	17	4	4	20	20	20	1	PAT	CP4 EPSPS,PAT
4-038 - 1 L	雲出川	439	20	14	0	0	20	19	18	0	PAT	PAT
4-038 - 2 L	雲出川	113	20	17	0	0	20	17	14	0	PAT	PAT
4-038 - 5 L	雲出川	15	4	4	0	0	4	4	2	2	PAT	CP4 EPSPS,PAT
4-038 - 6 L	雲出川	69	20	17	0	0	20	13	13	0	PAT	PAT
4-038 - 7 L	雲出川	86	20	13	6	0	20	18	0	0	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS
4-039 - 1 L	雲出川	48	14	10	1	1	15	5	5	0	PAT	CP4 EPSPS,PAT
4-039 - 2 L	雲出川	38	9	5	0	0	9	6	5	0	PAT	PAT
4-039 - 4 L	雲出川	50	15	9	0	0	15	7	7	0	PAT	PAT
4-039 - 6 L	雲出川	46	15	7	6	0	15	11	0	0	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS

CP4 EPSPS:母植物、種子で CP4 EPSPS タンパク質が検出された試料。PAT:母植物、種子で PAT タンパク質が検出された試料。 -: 母植物で除草剤耐性タンパク質が検出されなかった試料。セルの色は次のとおり。**水色**:グリホサート耐性を示した実生個体を含む試料、CP4 EPSPS タンパク質が検出された母植物・種子試料。**黄色**:グリホシネート耐性を示した実生個体を含む試料、PAT タンパク質が検出された母植物・種子試料。**緑色**:グリホサートとグリホシネートに耐性を示した実生個体を含む試料、CP4 EPSPS、PAT の両タンパク質が検出された母植物・種子試料。

表 1-13 博多港(福岡県)周辺地域から採取した種子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	河川名	採取種子数(推定)	播種数	発芽数	グリホサート耐性実生数	グリホサート+グリホシネート耐性実生数	播種数	発芽数	グリホシネート耐性実生数	グリホシネート+グリホサート耐性実生数	母植物の結果	種子の結果
セイヨウナタネ												
1-076 - 1 L	須恵川	113	20	15	0	0	20	10	10	0	PAT	PAT

PAT:母植物、種子でPAT タンパク質が検出された試料。**黄色**:グリホシネート耐性を示した実生個体を含む試料、PAT タンパク質が検出された母植物・種子試料。

3.1.4 除草剤耐性実生のタンパク質、遺伝子分析

各母植物試料の実生のうち除草剤耐性を示したものの2個体ずつから、葉の組織を適宜サンプリングしてグリホサート耐性タンパク質 (CP4 EPSPS) および遺伝子 (*cp4 epsps*)、グルホシネート耐性タンパク質 (PAT) および遺伝子 (*bar*) 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 1-3) 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') および EPSPS8 (5'-AGCCTTAGTGTCGGAGAGTTCGAT-3') と、*bar* 遺伝子の内部の配列 *bar7* (5'-ACAAGCACGGTCAACTTCCGTAC-3') および *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) をカラム精製 (LaboPass™ PCR CMR、Cosmo Genetech Co., Ltd.、Seoul、Korea) 後、EPSPS7 および *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。

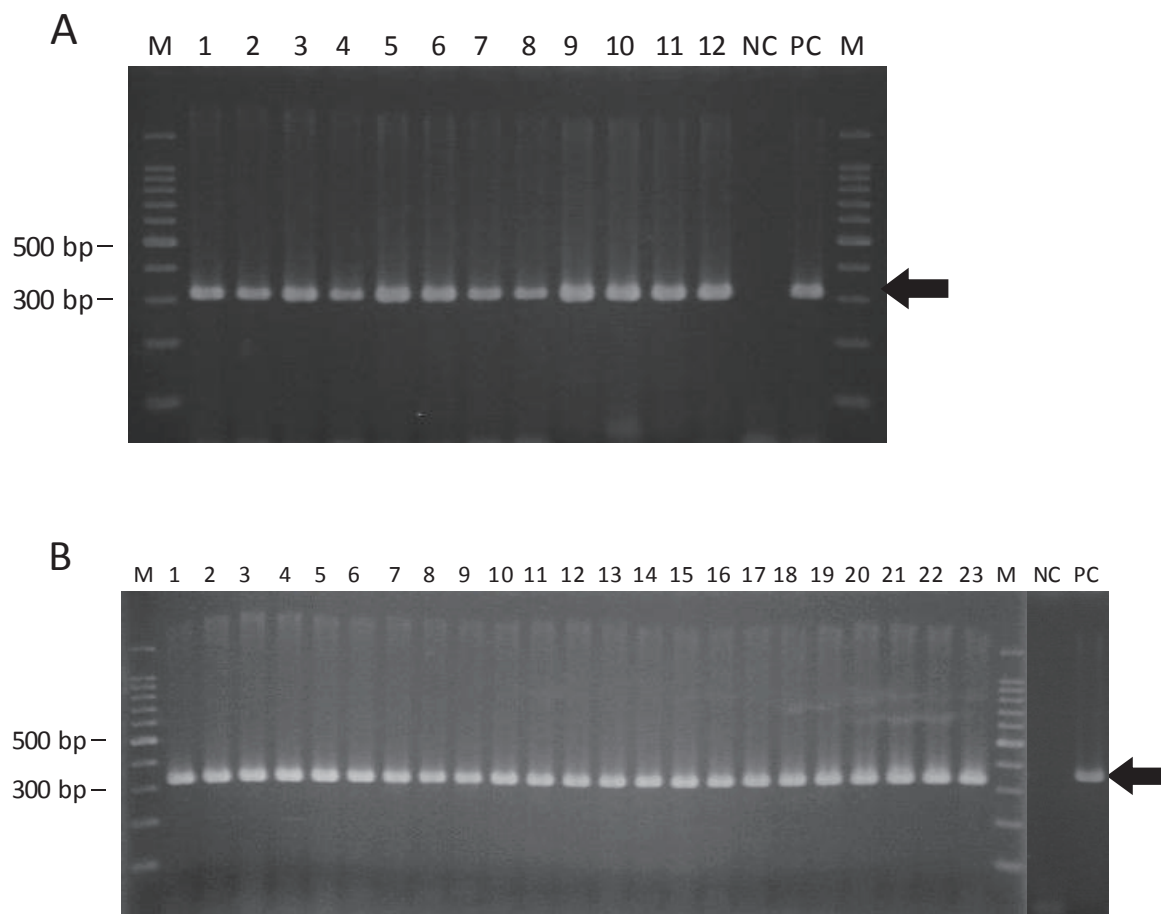


図 1-3 PCR による *cp4 epsps* 遺伝子(A)および *bar* 遺伝子(B)の検出の例

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セイヨウナタネゲノム DNA を用いたネガティブコントロール。PC: 除草剤耐性遺伝子を持つことが分かっているセイヨウナタネゲノムを用いたポジティブコントロール。1 から 12(A)および 1 から 23(B): 除草剤耐性遺伝子を持つ試料。矢印: *cp4 epsps* 遺伝子(A)および *bar* 遺伝子(B)由来の PCR 産物の位置。

分析した四日市港周辺地域の 17 群落の 31 試料、および博多港周辺地域の 1 群落の 1 試料全体的実生個体において、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 1-14、1-15)。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確認された。2 種類の除草剤に同時に耐性を示す実生個体では、CP4 EPSPS タンパク質・*cp4 epsps* 遺伝子および PAT タンパク質・*bar* 遺伝子の存在が確認された (表 1-15)。

表 1-14 四日市港(三重県)周辺地域から採取した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	河川名	CP4 EPSPS*	<i>cp4 epsps</i> **	PAT*	<i>bar</i> **
セイヨウナタネ					
1-019 - 1 L	内部川	+	+	-	-
1-023 - 1 L	内部川	-	-	+	+
1-024 - 1 L	内部川	-	-	+	+
1-030 - 1 L	鈴鹿川	+	+	-	-
1-040 - 1 L	雲出川	+	+	-	-
4-011 - 1 L	内部川	-	-	+	+
4-015 - 2 L	鈴鹿川	-	-	+	+
4-021 - 4 L	雲出川	+	+	-	-
4-021 - 5 L	雲出川	-	-	+	+
4-022 - 5 L	雲出川	-	-	+	+
4-029 - 6 L	雲出川	+	+	+	+
4-029 - 7 L	雲出川	+	+	-	-
4-030 - 5 L	雲出川	-	-	+	+
4-031 - 1 L	雲出川	-	-	+	+
4-031 - 3 L	雲出川	-	-	+	+
4-031 - 4 L	雲出川	+	+	-	-
4-032 - 1 L	雲出川	-	-	+	+
4-032 - 2 L	雲出川	-	-	+	+
4-034 - 1 L	雲出川	+	+	+	+
4-035 - 2 L	雲出川	-	-	+	+
4-035 - 5 L	雲出川	-	-	+	+
4-035 - 6 L	雲出川	+	+	+	+
4-038 - 1 L	雲出川	-	-	+	+
4-038 - 2 L	雲出川	-	-	+	+
4-038 - 5 L	雲出川	+	+	+	+
4-038 - 6 L	雲出川	-	-	+	+
4-038 - 7 L	雲出川	+	+	-	-
4-039 - 1 L	雲出川	+	+	+	+
4-039 - 2 L	雲出川	-	-	+	+

*-: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。

** -:該当する除草剤耐性遺伝子が検出されなかった試料。+:該当する除草剤耐性遺伝子が検出された試料。

水色: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: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:実生がグリホサートとグルホシネートに耐性を示すと共に、実生から CP4 EPSPS タンパク質と *cp4 epsps* 遺伝子ならびに PAT タンパク質と *bar* 遺伝子が検出された試料。

試料番号	河川名	CP4 EPSPS*	<i>cp4 epsps</i> **	PAT*	<i>bar</i> **
4-039 - 4 L	雲出川	-	-	+	+
4-039 - 6 L	雲出川	+	+	-	-

*-: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。

** -:該当する除草剤耐性遺伝子が検出されなかった試料。+:該当する除草剤耐性遺伝子が検出された試料。

水色: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: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。

表 1-15 博多港(福岡県)周辺地域から採取した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	河川名	CP4 EPSPS*	<i>cp4 epsps</i> **	PAT*	<i>bar</i> **
セイヨウナタネ					
1-076 - 1 L	須恵川	-	-	+	+

*-: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。

** -:該当する除草剤耐性遺伝子が検出されなかった試料。+:該当する除草剤耐性遺伝子が検出された試料。

黄色: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。

3.2 ナタネ類とカラシナその他の近縁種採取地点と遺伝子組換え体の分布
 地図中の番号は採取群落番号を示す（表 1-3 参照）。



図 2-1 鹿島港周辺にある河川敷等における調査範囲の広域図(1/20 万図)

※の調査範囲(利根川大橋付近)では、該当する植物の生育が確認されなかった(表 1-1、1-2 参照)。

この地図の作成にあたっては、国土地理院長の承認を得て、同院発行の数値地図 200000(地図画像)及び数値地図 25000(地図画像)を使用した。(承認番号 平 24 情使、第 769 号)

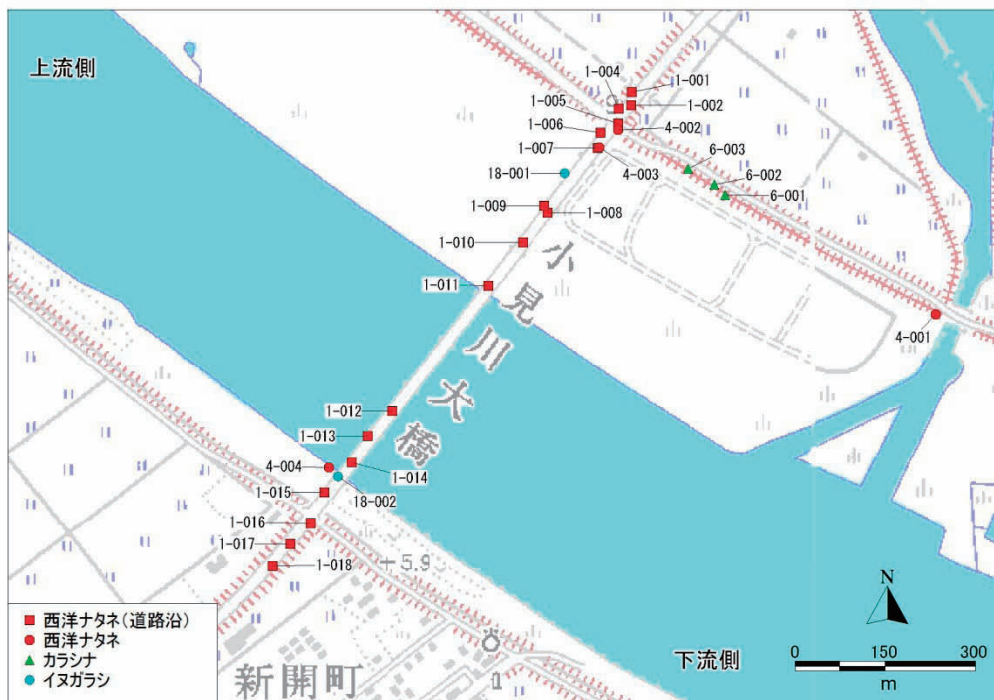


図 2-2 鹿島港周辺地域 小見川大橋付近(利根川)

この地図の作成にあたっては、国土地理院長の承認を得て、同院発行の数値地図 200000(地図画像)及び数値地図 25000(地図画像)を使用した。(承認番号 平 24 情使、第 769 号)

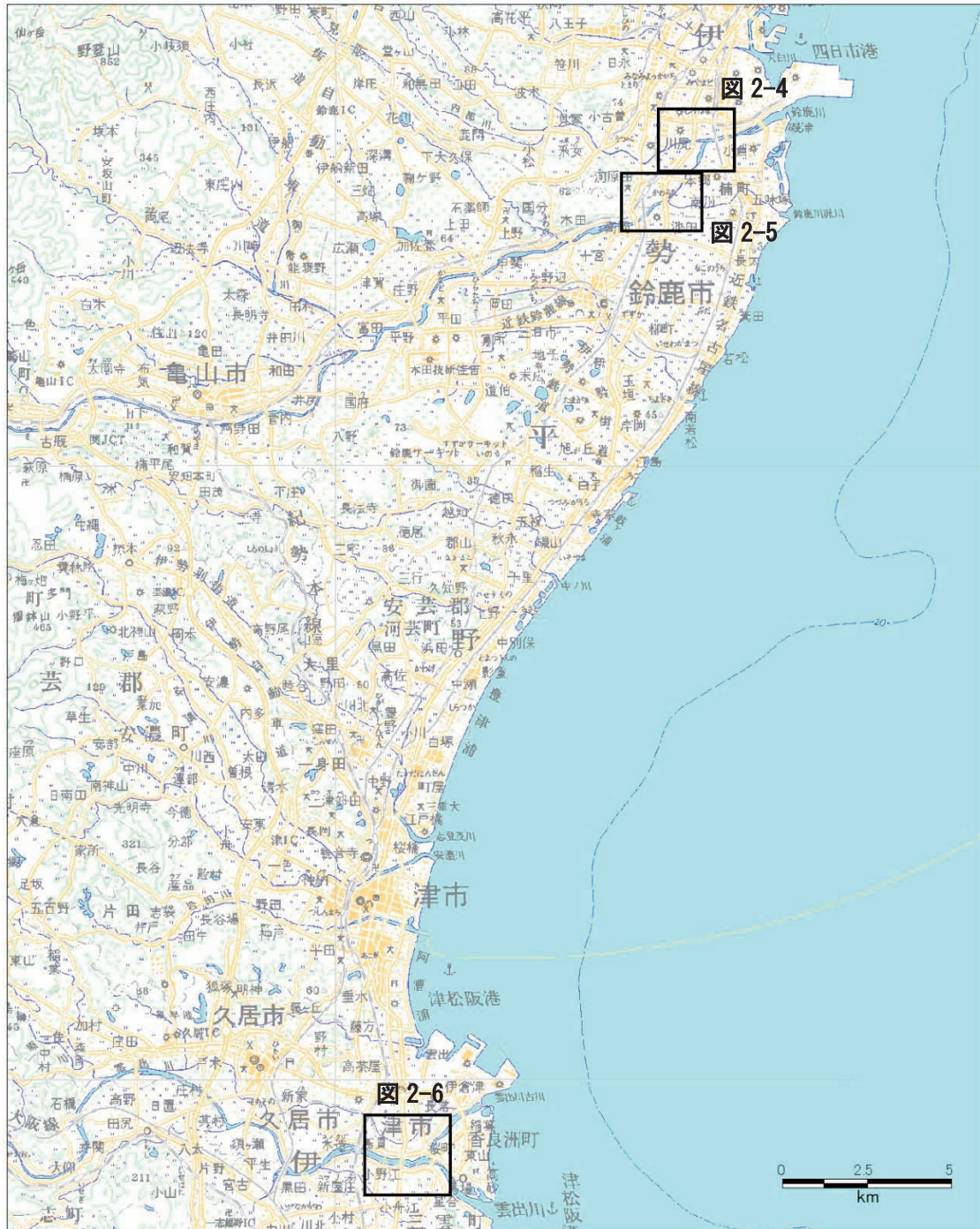


図 2-3 四日市港周辺にある河川敷等における調査範囲の広域図(1/20 万図)

この地図の作成にあたっては、国土地理院長の承認を得て、同院発行の数値地図 200000(地図画像)及び数値地図 25000(地図画像)を使用した。(承認番号 平 24 情使、第 769 号)

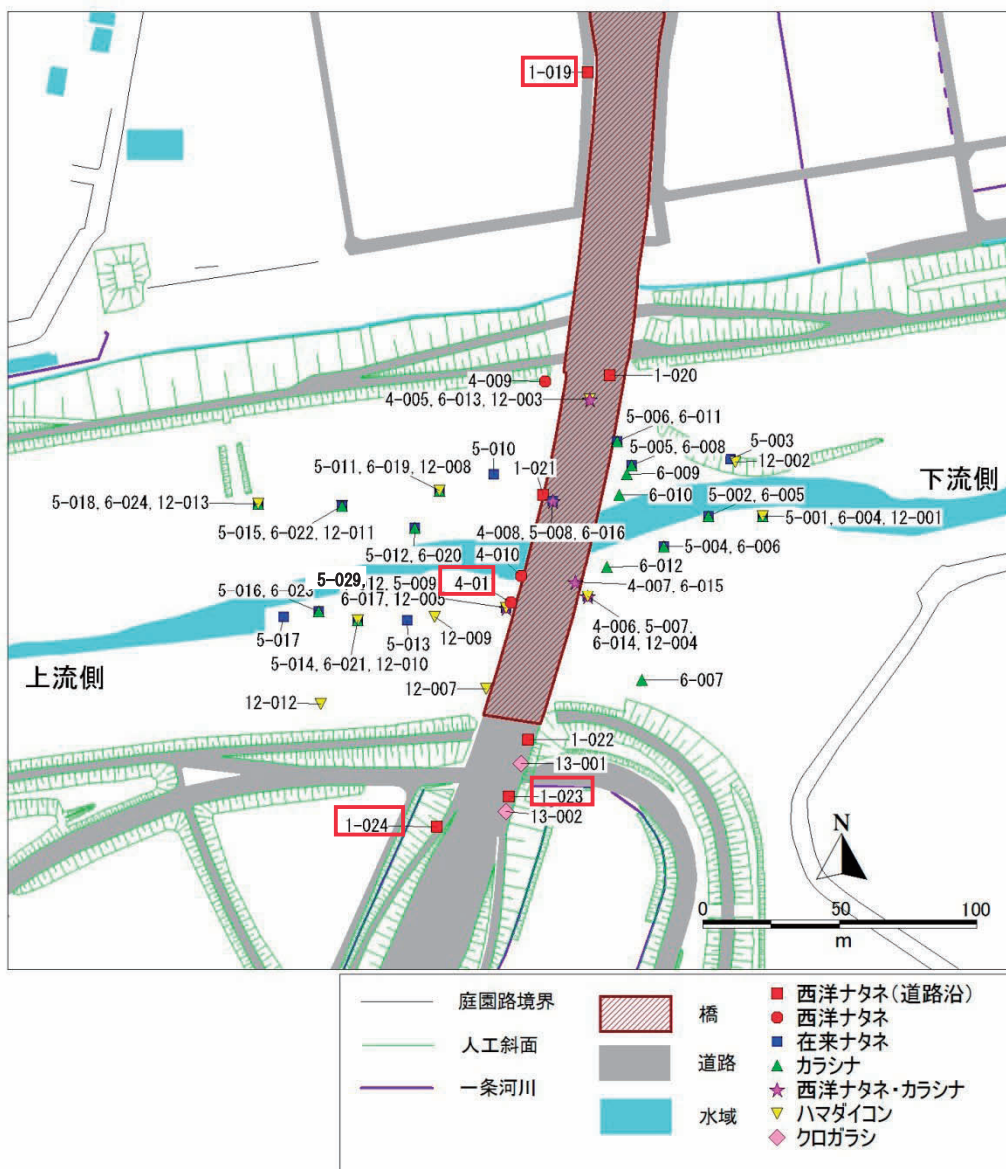


図 2-4 四日市港周辺地域① 塩浜大橋付近(内部川)

(は除草剤耐性ナタネが確認された群落)

この地図は三重県自治会館組合管理者の承認を得て、同組合所管の「2006 三重県共有デジタル地図(数値地形図縮図 10,000)」を使用し、調整したものである。(承認番号:三総合地第 307 号)本成果を複製あるいは使用して地図を調整する場合は同組合の承認を必要とする。

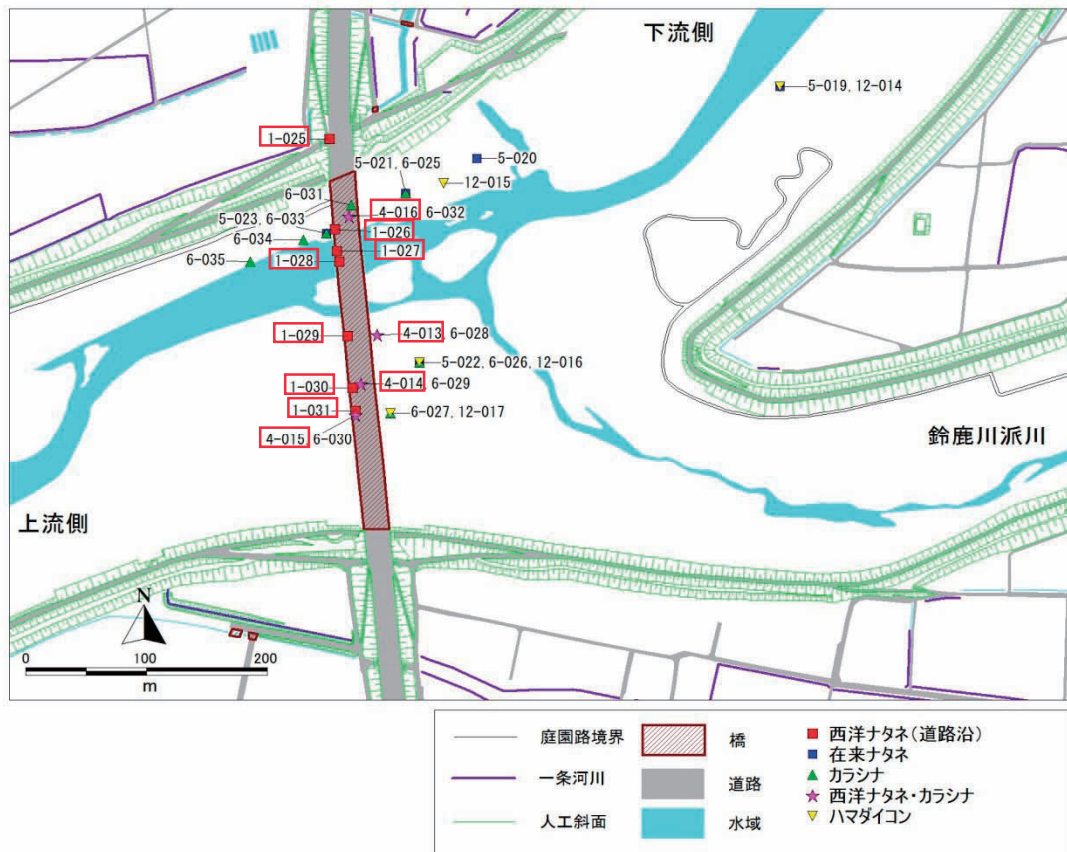


図 2-5 四日市港周辺地域② 鈴鹿大橋付近(鈴鹿川)

(は除草剤耐性ナタネが確認された群落

4-013 は種子試料のみに除草剤耐性タンパク質(PAT)が検出された)

この地図は三重県自治会館組合管理者の承認を得て、同組合所管の「2006 三重県共有デジタル地図(数値地形図縮図 10,000)」を使用し、調整したものである。(承認番号:三総合地第 307 号)本成果を複製あるいは使用して地図を調整する場合は同組合の承認を必要とする。

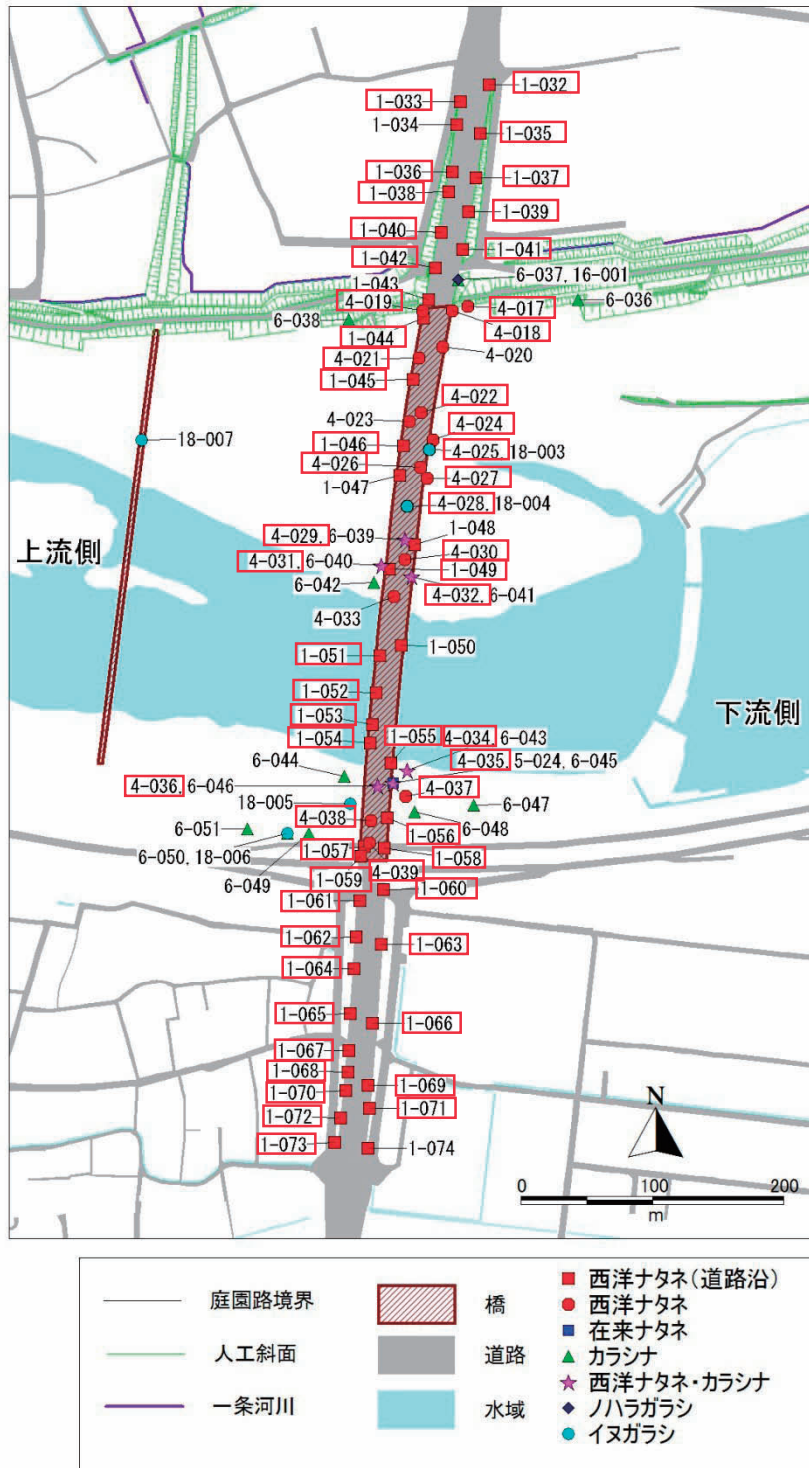


図 2-6 四日市港周辺地域② 雲出大橋付近(雲出川)

(は除草剤耐性ナタネが確認された群落)

この地図は三重県自治会館組合管理者の承認を得て、同組合所管の「2006 三重県共有デジタル地図(数値地形図縮図 10,000)」を使用し、調整したものである。(承認番号:三総合地第 307 号)本成果を複製あるいは使用して地図を調整する場合は同組合の承認を必要とする。



図 2-7 博多港周辺にある河川敷等における調査範囲の広域図(1/20 万図)

この地図の作成にあたっては、国土地理院長の承認を得て、同院発行の数値地図 200000(地図画像)及び数値地図 25000(地図画像)を使用した。(承認番号 平 24 情使、第 769 号)

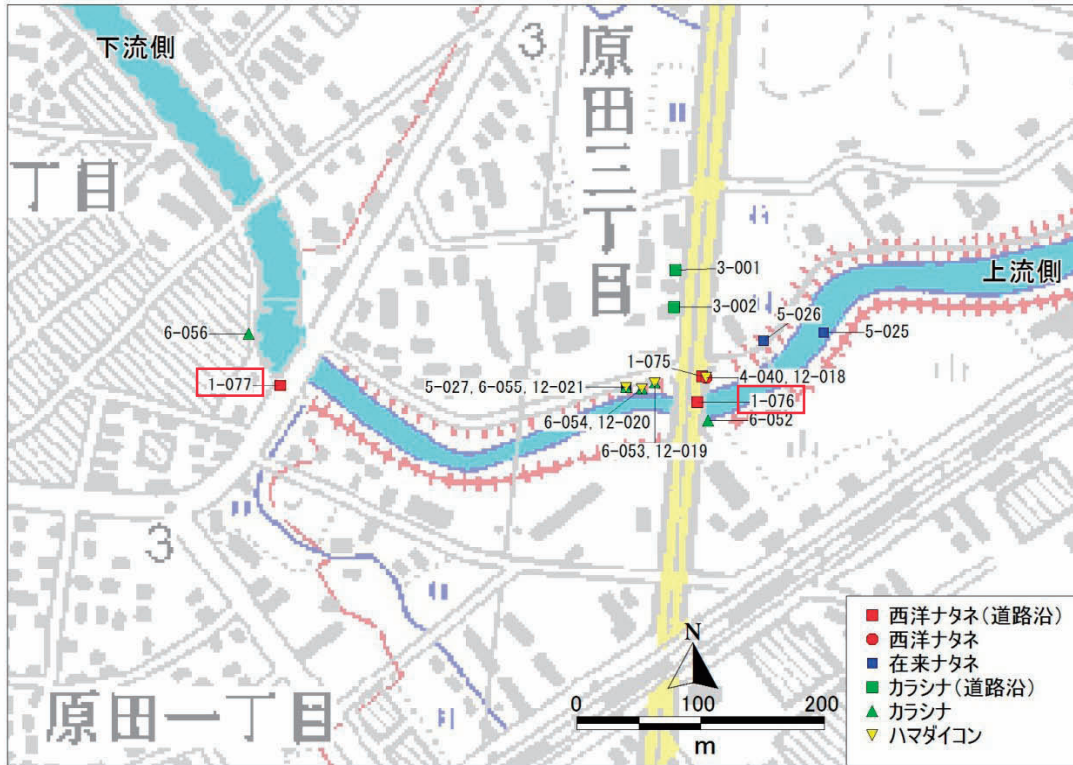


図 2-8 博多港周辺地域① (須恵川)

(は除草剤耐性ナタネが確認された群落)

この地図の作成にあたっては、国土地理院長の承認を得て、同院発行の数値地図 200000(地図画像)及び数値地図 25000(地図画像)を使用した。(承認番号 平 24 情使、第 769 号)



図 2-9 博多港周辺地域②（三笠川）

この地図の作成にあたっては、国土地理院長の承認を得て、同院発行の数値地図 200000(地図画像)及び数値地図 25000(地図画像)を使用した。(承認番号 平 24 情使、第 769 号)

4. 考察

4.1 過去の調査結果との比較

本調査は平成 15 年度に茨城県鹿島港近辺と関東地方の河川敷等を対象として予備的に開始され、平成 16 年度以降は、12 の主要なナタネ輸入港とその周辺地域のうち何箇所かを選んで行われてきた。これまでの調査において、鹿島港（平成 16、20～22 年度）、千葉港（平成 16、18 年度）、清水港（平成 18 年度）、名古屋港（平成 16、20 年度）、四日市港（平成 16～20、22～24 年度）、神戸港（平成 16 年度）、水島（平成 19 年度）、博多港（平成 17、18、20～24 年度）の 8 つの港湾地域や周辺地域の主要道路沿いで除草剤耐性ナタネが検出されている。また、平成 17 年度以降には四日市港周辺地域の主要道路と河川が交差する橋の直下の河川敷でも除草剤耐性ナタネが継続して確認されている（表 3-1）。

表 3-1 平成 16～24 年度の各港湾とその周辺地域におけるナタネ類およびカラシナの調査実施年度

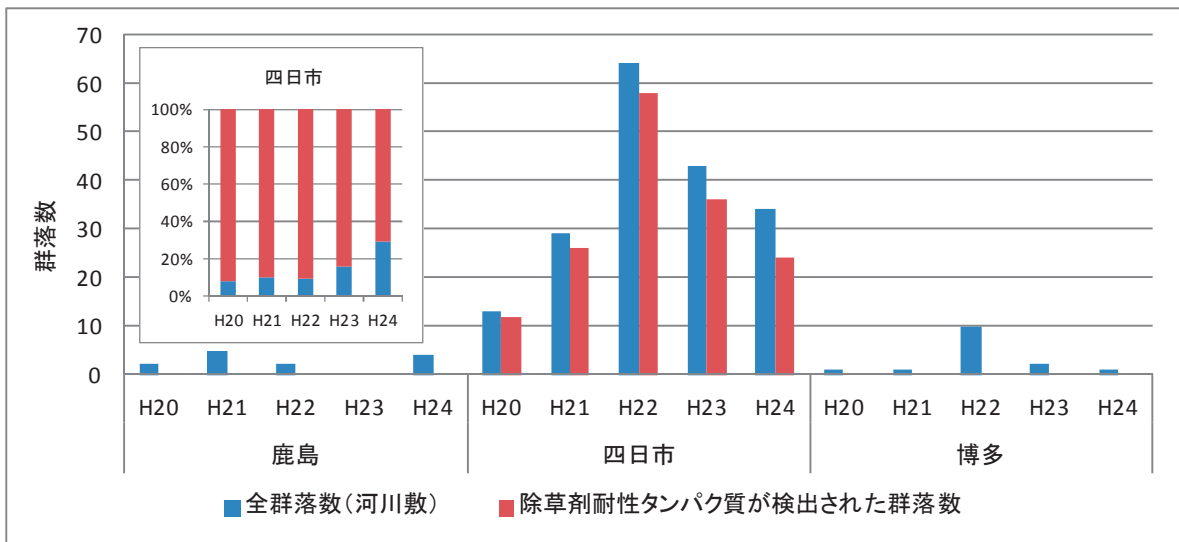
港湾名	港湾地域	周辺主要道路沿い	河川敷
鹿島		<u>16</u> , 18, <u>20</u> , <u>21</u> , <u>22</u> , 23, 24	16, 18, 20, 21, 22, 23, 24
千葉	<u>16</u>	<u>18</u>	18*
横浜	16	18	18*
清水		17, <u>18</u> , 20	17*, 18
名古屋	<u>16</u>	19, <u>20</u>	19
四日市	<u>16</u> , 17	<u>17</u> , <u>18</u> , <u>19</u> , <u>20</u> , <u>22</u> , <u>23</u> , <u>24</u>	<u>17</u> , <u>18</u> , <u>19</u> , <u>20</u> , <u>21</u> , <u>22</u> , <u>23</u> , <u>24</u>
堺泉北		17, 19	17*, 19*
神戸	<u>16</u>	19	19*
宇野		19*	17*, 19*
水島		<u>19</u>	17*, 19
北九州	17		17*, 18*
博多	<u>17</u>	<u>18</u> , <u>20</u> , <u>21</u> , <u>22</u> , <u>23</u> , <u>24</u>	17*, 18, 20, 21, 22, 23, 24

数字は調査年度。**太字に下線**は除草剤耐性ナタネの試料が確認された年度を示す。*セイヨウナタネの試料が見つからなかった年度を示す。

「1. 背景と目的」でも述べたように、平成 21 年度以降は、鹿島、四日市、博多の 3 つの港周辺地域において集中的に調査を行っている。今年度は、主要道の橋梁上（主要道路沿い）と橋梁下の河川敷等に注目し、3 地域の 235 群落から採取された 600 試料の母植物組織について解析を行った。その結果、四日市と博多の 2 地域においては除草剤耐性タンパク質が検出された。除草剤耐性タンパク質を持つ個体が確認された群落の割合は地域により大きく異なっていた。鹿島港周辺では 27 群落の 47 試料（うちセイヨウナタネ 22 群落 36 試料）で除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。それに対し、除草剤耐性タンパク質が検出された 2 地域のうち四日市港周辺では、採取された 188 群落 503 試料（うちセイヨウナタネ 90 群落 237 試料）のうち 71 群落 170 試料で、また博多港周辺では 20 群落 50 試料（うちセイヨウナタネ 4 群落 4 試料）のうち主要道路沿いの 2 群落 2 試料でセイヨウナタネに除草剤耐性タンパク質が検出された。

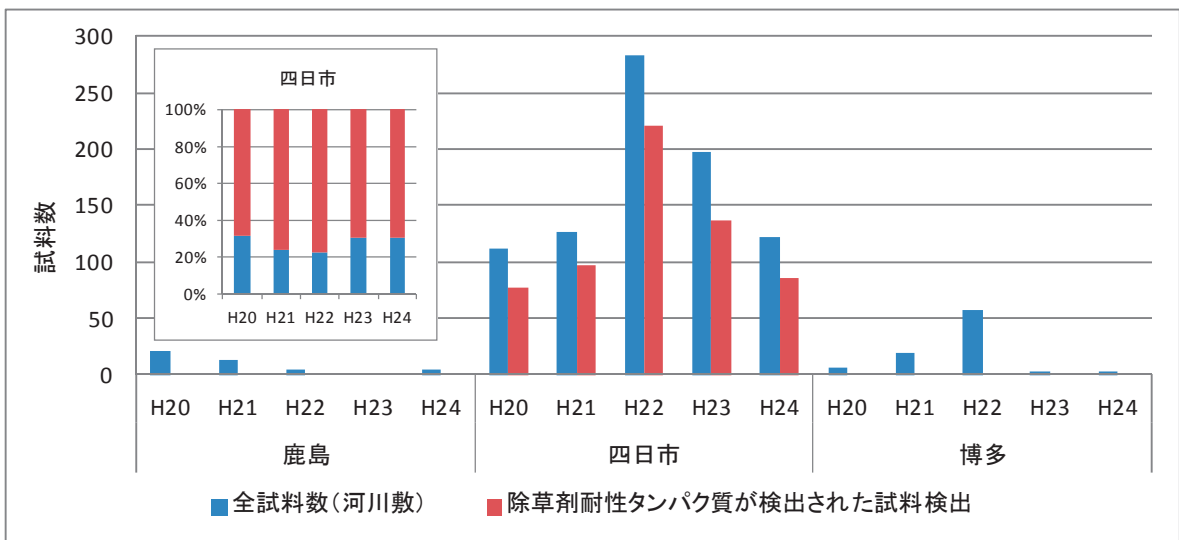
このような地域差は平成 20～23 年度の調査でも確認されている。平成 20 年度から今年度までの、河川敷のセイヨウナタネ中に占める除草剤耐性ナタネの5年間の推移を図3-1、3-2に示す。これらの港湾では食品加工用等にセイヨウナタネの種子が輸入されており、除草剤耐性ナタネの種子が港での搬入時や車両による輸送途中などにこぼれ落ち、発芽、生育、結実したものと考えられる。除草剤耐性タンパク質を持つ個体が確認された群落の割合に地域差が生じた理由については不明であるが、各港で輸入したセイヨウナタネ中の除草剤耐性ナタネの割合の違いが反映されている可能性が考えられる。

図 3-1 平成 20～24 年度の鹿島、四日市、博多各港湾地域の河川敷におけるセイヨウナタネ採取群落数と除草剤耐性ナタネ採取群落数の推移



H23 の鹿島地域の河川敷ではセイヨウナタネ試料は採取されなかった。

図 3-2 平成 20～24 年度の鹿島、四日市、博多各港湾地域の河川敷におけるセイヨウナタネ試料数と除草剤耐性ナタネ試料数の推移



H23 の鹿島地域の河川敷ではセイヨウナタネ試料は採取されなかった。

四日市港周辺地域の河川敷等では、平成 17 年度以来、セイヨウナタネの主要な輸送路である国道 23 号線の塩浜大橋（平成 19～24 年度）、鈴鹿大橋（平成 17、19～24 年度）、雲出大橋（平成 18、20～24 年度）の直下や近傍の群落で除草剤耐性ナタネが確認されている。これらの群落にはセイヨウナタネのほか、在来ナタネやカラシナその他の近縁種が近接して生育しており、平成 20 年度には除草剤耐性ナタネと在来ナタネの雑種と示唆される種子が、平成 21 年度から 23 年度はセイヨウナタネと在来ナタネの雑種と示唆される母植物が確認された。また、平成 21 年度及び 23 年度の調査では、雑種と示唆される個体から除草剤耐性タンパク質は検出されなかったが、平成 22 年度は除草剤耐性ナタネと在来ナタネの雑種と示唆される母植物が塩浜大橋と雲出大橋の直下や近傍の地点で確認された。これらの河川敷等の場所はナタネ類の生育適地と考えられ、除草剤耐性ナタネの拡散の可能性も考えられることから、平成 21～23 年度には調査範囲を橋梁直下に限らず 2 km 程度川の上下流側に沿って広げ、より集中的に調べた。平成 23 年度まで毎年、この 3 つの橋梁下の河川敷で除草剤耐性ナタネが確認されたが、その検出は 3 年度とも橋から最も遠くても数 10 m 程度の近辺域に限られていた。そこで、除草剤耐性ナタネがより離れた場所にも分布を広げていく可能性は高くないと考え、今年度は橋梁直下近辺 150 m 程度を中心に調査を行った。また、今年度は雑種と示唆される母植物は確認されなかった。一方、これまで鹿島および博多港周辺地域では、除草剤耐性ナタネは主要路道沿いのみで確認され、河川敷等においては確認されていない（表 3-1、図 3-1、3-2）。今年度は四日市地域と同様に、鹿島港と博多港の周辺地域でもセイヨウナタネの主要な輸送路の橋梁直下について実施したが、鹿島港周辺地域では前述のように除草剤耐性ナタネは確認されず、博多港周辺地域では、これまで同様に除草剤耐性ナタネは主要道路沿いのみで確認された。

また、四日市港周辺地域 28 群落で採取されたセイヨウナタネ種子 45 試料中、19 群落 33 試料（うち河川敷等は 14 群落 28 試料）に除草剤耐性タンパク質が検出されており、そのうち 4 群落 4 試料（全て河川敷等で採取された試料）では、母植物組織では PAT しか検出されなかった母植物由来の種子に、両方のタンパク質を含むものが検出された。この場合、グルホシネート耐性遺伝子を持つ遺伝子組換え母植物の雌しべにグリホサート耐性を持った遺伝子組換え植物由来の花粉が付着したと予想され、異なる除草剤耐性を持った遺伝子組換えナタネ間で交雑が起こったことが示唆された。このような遺伝子組換えナタネ間での交雑を示唆する結果は、平成 17 年度以来毎年得られている。

4.2 在来ナタネ・カラシナその他の近縁種との交雑

在来ナタネ・カラシナは、ヨーロッパ、ロシア、中央アジア及び中近東に自生し、ヨーロッパが起源の 1 つといわれ、セイヨウナタネより古くから日本で栽培されてきた外来植物であり¹⁶⁾、日本産の野生植物ではない。したがって、除草剤耐性ナタネとこれらの植物との交雑そのものは、生物多様性影響とはされない。また、我が国で使用等が承認されている除草剤耐性ナタネとこれら植物との雑種は、除草剤耐性という導入形質からは一般環境中での競合における優位性は獲得しないことなどから在来種との競合において、生物多様性影響が生ずる恐れはないものと評価されている。しかしながら、実際に一般環境中で交雑が起きた場合に、雑種が競

合による優位性を獲得していないこと等を確認するために本調査を実施しているところである。

4.1 で述べたように、同種や交雑可能な近縁種の生育地が貨物輸送の経路に近接している場合には、こぼれ落ちた種子から生育した除草剤耐性ナタネと近接して生育しているこれらの植物との交雑が生じる可能性がある。実際、平成 20 年度に雲出大橋下の河川敷に生育していた在来ナタネに外見が似ているが確定できなかった母植物から採取された種子由来の実生について、フローサイトメトリーや染色体計数を行った結果、セイヨウナタネと在来ナタネの雑種であると強く示唆され、さらにその後、免疫クロマトグラフ分析により、CP4 EPSPS タンパク質が検出された¹¹⁾。また、平成 21 年度はフローサイトメトリー解析によりセイヨウナタネと在来ナタネの雑種と推定された母植物が塩浜大橋、鈴鹿大橋、雲出大橋の橋梁下の河川敷で見つかったが、これらの雑種から除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。平成 22 年度の調査では、四日市港周辺の河川敷等で見つかった外見からは種の同定が困難な植物から採取された葉について、フローサイトメトリーによる解析を行ったところ、雲出大橋、鈴鹿大橋の橋梁下の河川敷で見つかった母植物について、雑種と示唆された。そのうち、雲出大橋下の 1 群落 1 試料と鈴鹿大橋下の 1 群落 1 試料から、除草剤耐性タンパク質が検出された。このことから、除草剤耐性ナタネを含むセイヨウナタネと在来ナタネとの交雑によると示唆される雑種が生育していたことが分かった。平成 23 年度の調査では、塩浜大橋下の 1 群落 1 試料がフローサイトメトリーによりセイヨウナタネと在来ナタネの雑種である可能性が示されたが、除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。今年度の調査では、雑種と示唆される母植物は確認されなかった。

なお、除草剤耐性ナタネの商業栽培が盛んなカナダでは、栽培地の周辺等において、セイヨウナタネ由来の除草剤耐性遺伝子が在来ナタネに流動していたことが既に報告されている¹⁷⁾。平成 22 年度の調査では、除草剤耐性ナタネと在来ナタネの雑種が 2 つの橋梁下の河川敷に生育していた可能性が示唆されたものの、平成 21、23 年度は除草剤耐性遺伝子を持つ雑種は見つかっていない。今年度も雑種と示唆される母植物は見つかっておらず、これまでの調査で断続的に 1、2 個体の雑種が確認されているという状況であり、現在のところ雑種の分布拡大の傾向を示す結果は得られていない。今後も、雑種の生じる頻度や雑種の定着可能性などにも留意して河川敷等を中心に調査・分析を継続していくことが重要である。

今年度採取したその他の近縁種（ハマダイコン、クロガラシ、ノハラガラシ、イヌガラシ）は、セイヨウナタネの近縁種であるが、クロガラシ、ノハラガラシ、イヌガラシについては自然条件下でセイヨウナタネを花粉親とした場合の交雑は報告されていない。また、ハマダイコンについては、人為的な交配も含め、セイヨウナタネとの交雑は報告されていない¹⁸⁾。本調査でも、これら 4 種の近縁種の試料からは、除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。

4.3 分析方法等

平成 20～23 年度の調査とほぼ同様に、今年度もまず各地域で母植物組織（葉）の採取を行い、免疫クロマトグラフィーによる除草剤耐性タンパク質の分析を行なった。次に、組織を採取した母植物の一部から種子の採取を行い、昨年度までと同様、採取された種子の一部（数粒～20 粒）を用いて、CP4 EPSPS タンパク質と PAT タンパク質の免疫クロマトグラフィーによる分析を行い、その後、生育させた実生について除草剤耐性試験およびタンパク質と遺伝子の分析を

行った。これらの母植物組織や種子、実生における各除草剤耐性タンパク質の分析結果の比較によって、異なる除草剤耐性ナタネ間の交雑が起きている可能性について情報が得られた。

また平成 20 年度の調査において、フローサイトメトリーによる核内の相対 DNA 量の計測のほか、染色体の計数や花粉染色による稔性調査といった異なる方法による分析も実施したところ、フローサイトメトリーにより得られた結果が上記の方法によっても裏付けられたため、今年度も平成 21～23 年度と同様にフローサイトメトリーによる分析を行った。フローサイトメトリーの試料として、昨年度までは野外採取地で切り取った葉を用いていたが、今年度は採取した植物体を鉢植えにし、その葉を用いたところ、良好な結果を得ることが出来た。分析の結果、外見からセイヨウナタネと同定された 1 試料が在来ナタネであるという結果が得られたが、雑種と推定される試料は確認されなかった。フローサイトメトリーによる分析では、相対的な核の DNA 量を指標に用いているため、雑種がセイヨウナタネと在来ナタネの雑種であるか、カラシナと在来ナタネの雑種であるかを区別できない。2n=38 のセイヨウナタネと 2n=20 の在来ナタネの雑種は 2n=29 となり、2n=36 のカラシナと在来ナタネの雑種 2n=28 との明確な区別ができないためである。また、F₂ 世代以降の雑種が生じた場合には、フローサイトメトリーによる分析だけでは雑種の判定が困難な場合も想定され、分析方法についても今後更なる検討が必要になると考えられる。平成 20 年度に実施した染色体の計数は技術的・時間的な負担が大きく、多数の試料への適用は困難である。この他、セイヨウナタネ・在来ナタネ・カラシナの三者を区別できる既存の分子マーカーについては、栽培品種には適用可能であるが、野外に生育している植物は DNA 配列の多様性がより高いことから依然として適用が困難である。今後、野外に生育するセイヨウナタネ、在来ナタネ及びカラシナの種（雑種を含む）を同定可能な分子マーカーの開発が待たれる。

4.4 展望

今年度ならびにこれまでの調査により、除草剤耐性ナタネ等の分布が確認され、除草剤耐性ナタネとセイヨウナタネの交配や、除草剤耐性ナタネ間での交配及び近縁種への遺伝子流動（在来ナタネとの交雑）が強く示唆されてきたが、これらはいずれも輸送経路と考えられる主要道路沿いで確認された個体であり、現時点では従来 of セイヨウナタネの分布範囲を超えるような分布拡大は確認されていない。今後も鹿島、四日市、博多の各地域において、除草剤耐性ナタネ及び交雑個体が定着し、主要道路沿いを離れて分布が拡大していく可能性の有無等に着目して、モニタリングを継続していくことが重要である。

5. 引用文献

- 1) 農林水産技術会議事務局技術安全課 「原料用輸入セイヨウナタネのこぼれ落ち実態調査」、平成 16 年 6 月 (<http://www.s.affrc.go.jp/docs/press/2004/0629/honbun.htm>)
- 2) 独立行政法人国立環境研究所 環境省請負業務「平成 16 年度遺伝子組換え生物（ナタネ）による影響監視調査」報告書、平成 17 年 2 月
(http://www.bch.biodic.go.jp/natane_16.html)
- 3) 財団法人自然環境研究センター 環境省請負業務「平成 17 年度遺伝子組換え生物による影響監視調査」報告書、平成 18 年 2 月 (http://www.bch.biodic.go.jp/natane_17.html)
- 4) Saji, H., Nakajima, N., Aono, M., Tamaoki, M., Kubo, A., Wakiyama, S., Hatase, Y. and Nagatsu, M. (2005) Monitoring the escape of transgenic oilseed rape around Japanese ports and roadsides, *Environ. Biosafety Res.*, 4(4), 217-222
- 5) Aono, M., Wakiyama, S., Nagatsu, M., Nakajima, N., Tamaoki, M., Kubo, A. and Saji, H. (2006) Detection of feral transgenic oilseed rape with multiple-herbicide resistance in Japan, *Environ. Biosafety Res.*, 5(2), 77-87
- 6) Nishizawa, T., Nakajima, N., Aono, M., Tamaoki, M., Kubo, A. and Saji, H. (2009) Monitoring the occurrence of genetically modified oilseed rape growing along a Japanese roadside: 3-year observations, *Environ. Biosafety Res.*, 8(1), 33-44
- 7) Nishizawa, T., Tamaoki, M., Aono, M., Kubo A., Saji, H. and Nakajima, N. (2010) Rapeseed species and environmental concerns related to loss of seeds of genetically modified oilseed rape in Japan, *GM Crops*, 1(3), 143-156
- 8) 独立行政法人国立環境研究所 環境省請負業務「平成 18 年度遺伝子組換え生物による影響監視調査」報告書、平成 19 年 3 月 (http://www.bch.biodic.go.jp/natane_18.html)
- 9) 独立行政法人国立環境研究所 環境省請負業務「平成 19 年度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 (http://www.bch.biodic.go.jp/natane_19.html)
- 10) 独立行政法人国立環境研究所 環境省請負業務「平成 20 年度遺伝子組換え生物による影響監視調査」報告書、平成 21 年 3 月 (http://www.bch.biodic.go.jp/natane_20.html)
- 11) Aono, M., Wakiyama, S., Nagatsu, M., Kaneko, Y., Nishizawa, T., Nakajima, N., Tamaoki, M., Kubo, A. and Saji, H. (2011) Seeds of a Possible Natural Hybrid between

Herbicide-Resistant *Brassica napus* and *Brassica rapa* Detected on a Riverbank in Japan,
GM Crops 2(3), 201-210

- 12) 独立行政法人国立環境研究所 環境省請負業務「平成 21 年度遺伝子組換え生物による影響監視調査」報告書、平成 22 年 3 月 (http://www.bch.biodic.go.jp/natane_21.html)
- 13) 独立行政法人国立環境研究所 環境省請負業務「平成 22 年度遺伝子組換え生物による影響監視調査」報告書、平成 23 年 3 月 (http://www.bch.biodic.go.jp/natane_22.html)
- 14) 独立行政法人国立環境研究所 環境省請負業務「平成 23 年度遺伝子組換え生物による影響監視調査」報告書、平成 24 年 3 月 (http://www.bch.biodic.go.jp/natane_23.html)
- 15) 財団法人自然環境研究センター 環境省請負業務「平成 24 年度自然環境下におけるナタネ類等の生育状況調査および遺伝子分析のための種子等のサンプリング業務」報告書、平成 25 年 3 月
- 16) Consensus Document on the Biology of *Brassica napus* L. (Oilseed rape) No. 7, 1997, OCDE/GD(97)63
- 17) Warwick, S. I., Légère, A., Simard, M.-J. and James, T. (2007) Do escaped transgenes persist in nature? The case of an herbicide resistance transgene in a weedy *Brassica rapa* population, Mol. Ecol., 17(5), 1387-1395
- 18) 農林水産省消費・安全局安全管理課 (2011) 遺伝子組換え生物等の第一種使用規程の承認申請に係る審査報告書 除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネ MON88302 系統 平成 23 年 5 月 23 日

平成 24 年度環境省請負業務
平成 24 年度遺伝子組み換え生物による影響監視調査報告書

2013 年（平成 25 年）3 月

独立行政法人 国立環境研究所
〒305-8506 茨城県つくば市小野川 16-2
電話： 029-850-2391 FAX：029-850-2391

リサイクル適性の表示：印刷用の紙にリサイクルできます
この印刷物は、グリーン購入法に基づく基本方針における「印刷」に係る判断の基準にしたがい、印刷用の紙へのリサイクルに適した材料〔Aランク〕のみを用いて作製しています。