

平成 25 年度環境省請負業務

平成 25 年度遺伝子組換え生物による影響監視調査

報 告 書

平成 26 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	8
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	9
3.1.1 母植物組織の除草剤耐性タンパク質の調査	15
3.1.2 種子の除草剤耐性タンパク質の調査	32
3.1.3 実生の除草剤耐性分析	41
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	46
4. 考察	56
4.1 過去の調査結果との比較	56
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	63

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た。当時の調査では、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たことや、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かった一方で、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かったことが確認されている。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異なる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た。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*)、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。

今年度の調査では、3つの地域の合計215群落から採取された母植物組織（573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、四日市地域のセイヨウナタネからのみ、それらのタンパク質が検出された。四日市地域では、採取された150群落（428試料）のうち25群落（53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。鹿島地域及び博多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。同地域の試料採取地点数は各々25群落（44試料）、40群落（101試料）であった。平成20～24年度の調査では、博多地域で除草剤耐性タンパク質が検出されたが、今年度は検出されなかった。四日市地域、鹿島地域では、平成20～24年度の調査と同様の結果であった。

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タンパク質またはCP4 EPSPSタンパク質のどちらか一方のみが検出された母植物由来の種子（実生）から、両方のタンパク質が検出された試料が4群落（6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（FCM）解析では、平成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、今年度は昨年度と同様、雑種と思われる個体は確認されなかった。一方、在来ナタネの母植物由来の種子から除草剤耐性タンパク質が検出された。FCM解析により、除草剤耐性タンパク質を持つ種子は在来ナタネとセイヨウナタネとの雑種であることが示唆された。これにより、除草剤耐性ナタネと在来ナタネの交配が生じたことが過去（平成20年度）の結果と同様に示唆された。また、免疫クロマトグラフによる種子試料の解析では、2群落（2試料）のハマダイコンに除草剤耐性タンパク質が検出された。しかし、PCRによる除草剤耐性遺伝子の確認は実施できなかった。

また、昨年度は初めて道路沿いにおけるカラシナの生育が確認されたが、今年度も昨年度と同じ博多地域で、3群落（3試料）のカラシナの生育が確認された。これらの試料からは、除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。

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。今回の調査で、ハマダイコンの種子に除草剤耐性タンパク質が検出された。既往の文献によると、ハマダイコンとセイヨウナタネに雑種が形成される可能性は少ないとされており、次世代のできる確率は低いと考えられるが、今後のモニタリングにより確認していく必要がある。

今後もこれらの地域において、ハマダイコンへの遺伝子流動の可能性の有無、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着目して、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 had been 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 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*) was 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*, *Sinapis arvensis*, and *Rorippa indica*, in addition to *B. rapa* and *B. juncea*, as 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.

In 2013, 573 samples from a total of 215 colonies in the three port areas were analyzed, and the two types of protein, CP4 EPSPS and PAT, that confer the herbicide-tolerant trait were detected in maternal-tissue samples collected only from the Yokkaichi port area. The herbicide-tolerant protein was detected at 25 of the 150 colonies (53 of 428 samples) in the Yokkaichi port area. No herbicide-tolerant protein was detected in the Kashima or Hakata port area where 44 and 101 samples were collected from 25 and 40 colonies, respectively. Although the herbicide-tolerant protein was detected in the Hakata port area in 2008 to 2012, it was not detected in 2013. The results from the Yokkaichi and Kashima areas were similar to those of the investigations in 2008 to 2012.

In Yokkaichi riverbanks, seed samples that have two kinds of herbicide-tolerant proteins, PAT and CP4 EPSPS, have been detected from maternal plants that have only one protein from six samples in four colonies; 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 2012.

Similar to the result in 2012, no possible hybrid between *B. napus* and *B. rapa* was confirmed to be present in Yokkaichi riverbanks by morphology and flow-cytometric (FCM) analysis of maternal tissue in 2013, different to the previous results from 2009 to 2011. In contrast, a herbicide-tolerant protein was detected in the seeds collected from *B. rapa* maternal plant. Through FCM analysis, the seeds which had a herbicide-tolerant protein were suggested to be a hybrid between *B. napus* and *B. rapa*. This result indicates the occurrence of crossing between herbicide-tolerant *B. napus* and *B. rapa*, the same as the previous result in 2008. Moreover, by immunochromatographic analysis, a herbicide-tolerant protein was detected in two samples of seeds collected from two colonies of *R. sativus* var. *raphanistroides* maternal plants, although the herbicide-tolerant gene could not be confirmed by PCR.

The presence of *B. juncea* was confirmed along the roadsides for the first time in 2012 in the Hakata port area. Three samples from three colonies were confirmed in 2013 in the same area, and no herbicide-tolerant protein was detected in these *B. juncea*.

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. In this survey, a herbicide-tolerant protein was detected in the seeds collected from *R. sativus* var. *raphanistroides*. However, since the previous studies indicated a low possibility of hybrid formation between *R. sativus* var. *raphanistroides* and *B. napus*, and low probability of production of the next generation, further monitoring is required to confirm these low possibilities.

We will continue monitoring these areas, focusing on the possibility of gene flow to *R. sativus* var. *raphanistroides*, 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⁾。当時の調査では、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かった一方で、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かった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異なる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⁾⁻¹⁵⁾。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),15)}。今年度の試料は、「平成 25 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」¹⁶⁾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及び近縁種との種間雑種を指す。

^{*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¹⁶⁾。

- 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) 検討会の開催

平成 25 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

平成 26 年 2 月 12 日（於 環境省）

学識経験者 検討委員

大澤 良（国立大学法人筑波大学 生命環境系 教授）

嶋田正和（国立大学法人東京大学大学院 情報学環／総合文化研究科 教授）

松尾和人（独立行政法人農業環境技術研究所 生物多様性研究領域 遺伝子組換え生物・外来生物影響評価 R P 上席研究員）

環境省 自然環境局 野生生物課 外来生物対策室 室長 関根達郎

室長補佐 東岡礼治

主査 岡部佳容

農林水産省 消費・安全局 農産安全管理課 勝田健介

一般財団法人自然環境研究センター 上席研究員 脇山成二
主任研究員 三村昌史

独立行政法人国立環境研究所 生物・生態系環境研究センター
環境ストレス機構解明研究室 主任研究員 青野光子
生態遺伝情報解析研究室 室長 中嶋信美

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、種子、種子試料由来の実生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。以下、「FCM 解析」とする。）を行った。

合計 215 群落（573 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、四日市地域のセイヨウナタネからのみ、それらのタンパク質が検出された。四日市地域では、採取された 150 群落（428 試料）のうち 25 群落（53 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。鹿島地域及び博多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。同地域の試料採取地点数は各々 25 群落（44 試料）、40 群落（101 試料）であった。平成 20～24 年度の調査では、博多地域で除草剤耐性タンパク質が検出されたが、今年度は検出されなかった。四日市地域、鹿島地域では、平成 20～24 年度の調査と同様の結果であった。

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 タンパク質または CP4 EPSPS タンパク質のどちらか一方のみが検出された母植物由来の種子（実生）から、両方のタンパク質が検出された試料が 4 群落（6 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 FCM 解析では、平成 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、今年度は昨年度と同様、雑種と思われる個体は確認されなかった。一方、在来ナタネの母植物由来の種子から除草剤耐性タンパク質が検出された。FCM 解析により、除草剤耐性タンパク質を持つ種子は在来ナタネとセイヨウナタネとの雑種であることが示唆された。これにより、除草剤耐性ナタネと在来ナタネの交配が生じたことが過去（平成 20 年度）の結果と同様に示唆された。また、免疫クロマトグラフによる種子試料の解析では、2 群落（2 試料）のハマダイコンに除草剤耐性タンパク質が検出された。しかし、PCR による除草剤耐性遺伝子の確認は実施できなかった。

また、昨年度は初めて道路沿いにおけるカラシナの生育が確認されたが、今年度も昨年度と同じ博多地域で、3 群落（3 試料）のカラシナの生育が確認された。これらの試料からは、除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。

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 25 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」(以下、「サンプリング業務」とする。)¹⁶⁾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、クロガラシ、ハリゲナタネ、キャベツ、セイヨウダイコン、ハマダイコン、ダイコンモドキ、ノハラガラシ、ロボウガラシ、オハツキガラシ、イヌガラシ及びハタザオガラシの生育状況が調査され、ナタネ類、カラシナ、クロガラシ、ハマダイコン、ノハラガラシ及びイヌガラシの試料が採取された。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 FCM 解析によって同定した。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。

FCM 解析による核内の相対 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) 中で、葉(約 5 × 5 mm)、または種子(1 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 (FACSCanto II、Becton Dickinson、NJ、USA) にて DNA の蛍光強度を測定した。

母植物の葉 2 試料を用いた FCM 解析の結果、外見からはセイヨウナタネに似るとされた試料の中に、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)、新規の試料番号を付けた(表 1-2、1-3)。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。葉が得られなかった 5 個体を含む 7 個体の母植物については、母植物の採取時に結実していた種子 7 試料を用いて測定を行ったところ、これらは全て在来ナタネと同定された(図 1-2)。

種の同定が不確かな試料のうち、FCM 解析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。

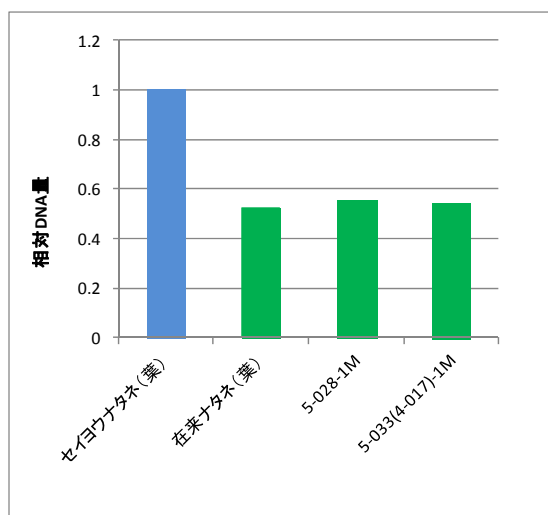


図 1-1 母植物葉を用いたフローサイトメリーによる種の同定

縦軸は粒子(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 4-017-1 の葉(母植物組織、M)の相対 DNA 量は、在来ナタネ(*B. rapa*, 2n=20)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 5-033-1 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。

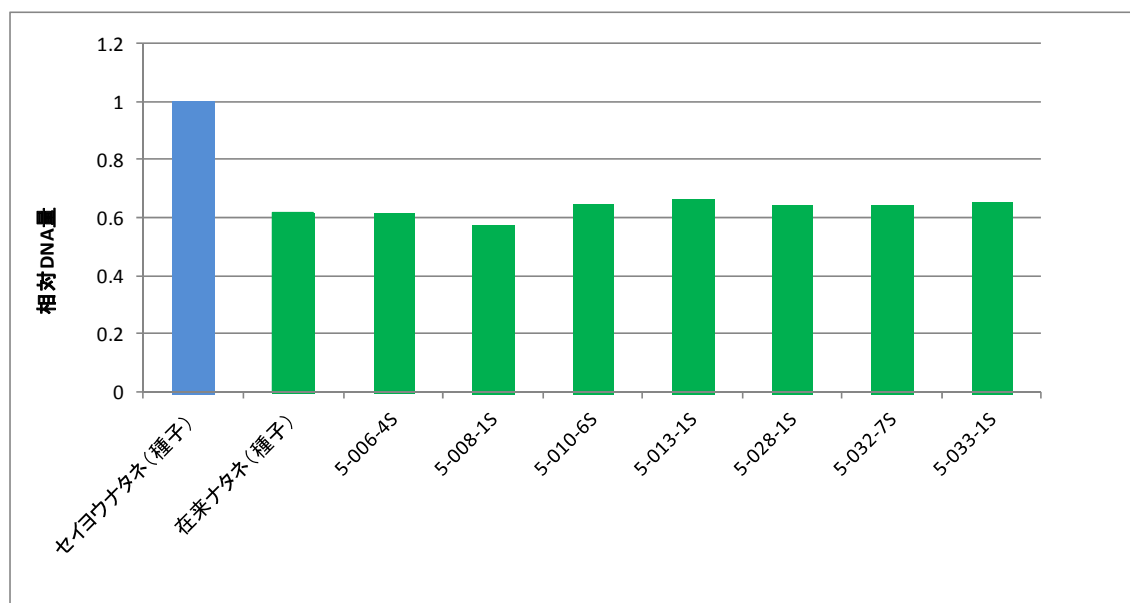


図 1-2 種子を用いたフローサイトメリーによる種の同定

縦軸は粒子(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。各種子試料から 1 粒の種子を用いた。5-033-1S は、外見はセイヨウナタネに似るとされていた母植物から採取されたが、在来ナタネ(*B. rapa*, 2n=20)と同定された。

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	セイヨウナタネ 群落数 試料数	在来ナタネ 群落数 試料数	カラシナ 群落数 試料数	ハマダイコン 群落数 試料数	クロガラシ 群落数 試料数	ノハラガラシ 群落数 試料数	イヌガラシ 群落数 試料数	合計 群落数 試料数											
鹿島	利根川	利根川 大橋	道路沿い	1	2					4	1											
			河川敷		2					11	6	13										
	利根川	小見川 大橋	道路沿い	6	3	6	14			1	2	8										
			河川敷	2	4						2	12	22									
	内田川	塩浜大橋	道路沿い	3				1	3		4	8										
			河川敷	(1)	(2)							(1)	(2)									
	四日市	鈴鹿大橋	河川敷	2	19	17	41	20	54	1	3	59	192									
				(2)	(2)							(2)	(2)									
	鈴鹿川	鈴鹿大橋	道路沿い	3	4							3	4									
			河川敷	(2)	(2)							(2)	(2)									
	雲出川	雲出大橋	河川敷	2	6	14	20	54	6	17	2	2	36	93								
				(2)	(6)							(2)	(6)									
	博多	博多 バイパス	道路沿い	8	11							8	11									
			河川敷	(7)	(9)							(7)	(9)									
	御笠川	国道 3号線	河川敷	14	54	4	13	19	47	1	2	40	120									
				(11)	(32)							(11)	(32)									
	博多	博多 バイパス	道路沿い	2	2	2	2					4	4									
			河川敷	1	1	6	30	8	21	9	18	24	70									
	博多	博多 バイパス	道路沿い	1	1	1	1					2	2									
			河川敷			5	11	1	3	4	11	10	25									
	博多	博多 バイパス	道路沿い	24	32	0	0	3	3	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	28	38
			河川敷	(10)	(13)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	(10)	(13)
	博多	博多 バイパス	道路沿い	21	66	45	165	71	180	39	100	0	0	1	2	10	22	187	535			
			河川敷	(15)	(40)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	(15)	(40)		
	博多	博多 バイパス	道路沿い	45	98	45	165	74	183	39	100	1	3	1	2	10	22	215	573			
			河川敷	(25)	(53)								(25)	(53)								
全体の合計																						

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	試料数
鹿島	利根川	利根川大橋	道路沿い	1	1		2	2									3	6	1	1	
			河川敷																		5
内都川	利根川	小見川大橋	道路沿い	5	5		1	2	3	7										5	5
			河川敷	2	2	1	2	3	7												6
四日市	内都川	塩浜大橋	道路沿い	1	1							1	3				1	2	3	6	
			河川敷	2	2	16	48	12	23	7	12	(2)	(2)							37	85
鈴鹿川	鈴鹿川	鈴鹿大橋	道路沿い	3	3														3	3	
			河川敷	2	3	5	10	12	32	4	7							1	1	24	53
雲出川	雲出川	雲出大橋	道路沿い	2	3														2	3	
			河川敷	13	39	4	11	12	26					1	1	1	2			31	79
博多	須恵川	博多ハイパス	道路沿い	1	1			2	2										3	3	
			河川敷			6	24	6	15	2	2									14	41
御笠川	御笠川	国道3号線	道路沿い	1	1			1	1										2	2	
			河川敷			2	7	1	1	1	3									4	11
合計	合計	合計	道路沿い	14	15	0	0	3	3	0	0	1	3	0	0	1	2	1	2	19	23
			河川敷	19	46	36	104	46	104	14	24	(2)	(2)	0	0	1	1	5	9	121	288
全体の合計	全体の合計	全体の合計	道路沿い	33	61	36	104	49	107	14	24	(2)	(2)	1	3	1	1	6	11	140	311
			河川敷	(17)	(32)	(1)	(1)	(1)	(1)	(2)	(2)	(10)	(23)	(4)	(5)	(16)	(30)	(20)	(35)		

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同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 25 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¹⁶⁾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 25 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 ¹⁶⁾ における試料番号
5-033-1	四日市	4-017 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1-3)。

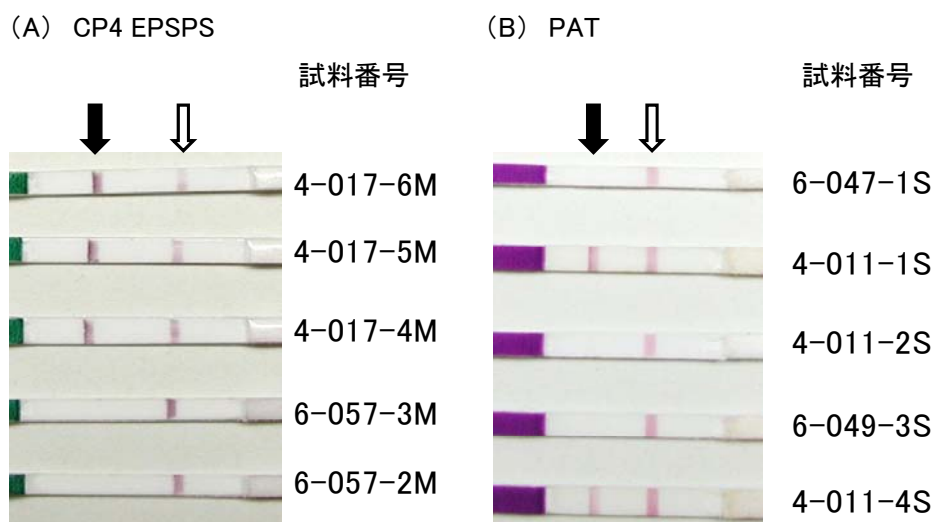


図 1-3 免疫クロマトグラフ法によるグリホサート耐性タンパク質 CP4 EPSPS(A)およびグルホシネート耐性タンパク質 PAT(B)の検出の例

母植物試料(試料番号末尾 M)または種子試料(試料番号末尾 S)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 4-017-4M、4-017-5M と 4-017-6M、B では 4-011-1S と 4-011-4S 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45群落から98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のは四日市港周辺のみであった。四日市港周辺では、採取された32群落（主要道路沿い14群落、河川敷18群落）の83試料（主要道路沿い20試料、河川敷63試料）のセイヨウナタネのうち25群落（主要道路沿い10群落、河川敷15群落）の53試料（主要道路沿い13試料、河川敷40試料）に除草剤耐性タンパク質が検出された。それに対し、鹿島港周辺で採取された9群落（主要道路沿い7群落、河川敷2群落）からの11試料（主要道路沿い9試料、河川敷2試料）、博多港周辺で採取された4群落（主要道路沿い3群落、河川敷1群落）からの4試料（主要道路沿い3試料、河川敷2試料）のセイヨウナタネ試料に除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。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確認されなかった。

在来ナタネ母植物の解析結果

3つの港周辺の45群落から165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74群落から183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26群落で71試料、博多港周辺地域の河川敷等の13群落で29試料、クロガラシが四日市港周辺地域道路沿いの1群落で3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2試料、イヌガラシが鹿島港周辺地域河川敷等の5群落で13試料、四日市港周辺地域の河川敷等の5群落で9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	1	1	1	1			1	2
			河川敷			2	2			2	2
	鈴鹿川	鈴鹿大橋	道路沿い			2	2			2	2
			河川敷	2	2	2	4			2	6
	雲出川	雲出大橋	道路沿い	1	1	6	8			7	9
			河川敷	3	10	11	22			11	32
博多	須恵川	博多バイパス	道路沿い							0	0
			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	2	2	9	11	0	0	10	13
			河川敷	5	12	15	28	0	0	15	40
全体の合計				7	14	24	39	0	0	25	53

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	小見川	-	-	
1-002 - 2 M	小見川	-	-	
1-003 - 1 M	小見川	-	-	○
1-004 - 1 M	小見川	-	-	○
1-005 - 1 M	小見川	-	-	○
1-006 - 1 M	小見川	-	-	○
1-006 - 2 M	小見川	-	-	
1-007 - 1 M	小見川	-	-	○
4-002 - 1 M	小見川	-	-	○
セイヨウナタネ?				
4-001 - 1 M	小見川	-	-	○
在来ナタネ				
5-001 - 1 M	利根川	-	-	○
5-002 - 1 M	利根川	-	-	○
5-003 - 1 M	小見川	-	-	
5-004 - 1 M	小見川	-	-	○
5-004 - 2 M	小見川	-	-	○
5-005 - 1 M	小見川	-	-	
カラシナ				
6-001 - 1 M	小見川	-	-	
6-001 - 2 M	小見川	-	-	
6-001 - 3 M	小見川	-	-	
6-002 - 1 M	小見川	-	-	
6-003 - 1 M	小見川	-	-	○
6-003 - 2 M	小見川	-	-	○
6-003 - 3 M	小見川	-	-	○
6-004 - 1 M	小見川	-	-	○
6-004 - 2 M	小見川	-	-	○
6-004 - 3 M	小見川	-	-	○
6-005 - 1 M	小見川	-	-	
6-005 - 2 M	小見川	-	-	
6-005 - 3 M	小見川	-	-	
6-006 - 1 M	小見川	-	-	○
イヌガラシ				
18-001 - 1 M	利根川	-	-	
18-001 - 2 M	利根川	-	-	
18-001 - 3 M	利根川	-	-	
18-002 - 1 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○。

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
18-002 - 2 M	利根川	-	-	○
18-003 - 1 M	利根川	-	-	○
18-003 - 2 M	利根川	-	-	○
18-003 - 3 M	利根川	-	-	
18-004 - 1 M	利根川	-	-	○
18-004 - 2 M	利根川	-	-	○
18-004 - 3 M	利根川	-	-	○
18-005 - 1 M	小見川	-	-	
18-005 - 2 M	小見川	-	-	

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。

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				
1-008 - 1 M	内部川	+	-	
1-008 - 2 M	内部川	-	+	
1-009 - 1 M	内部川	-	-	○
1-010 - 1 M	内部川	-	-	
1-010 - 2 M	内部川	-	-	
1-011 - 1 M	鈴鹿川	-	+	○
1-012 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
1-012 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
1-013 - 1 M	鈴鹿川	-	+	○
1-014 - 1 M	雲出川	-	+	
1-015 - 1 M	雲出川	-	-	
1-016 - 1 M	雲出川	-	+	○
1-017 - 1 M	雲出川	-	+	○
1-017 - 2 M	雲出川	-	+	○
1-018 - 1 M	雲出川	-	+	
1-019 - 1 M	雲出川	-	+	
1-019 - 2 M	雲出川	-	-	
1-019 - 3 M	雲出川	-	+	
1-020 - 1 M	雲出川	+	-	
1-021 - 1 M	雲出川	-	+	
4-003 - 1 M	内部川	-	+	○

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○。

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
4-004 - 1 M	内部川	-	+	○
4-004 - 2 M	内部川	-	-	
4-005 - 1 M	鈴鹿川	-	+	○
4-005 - 2 M	鈴鹿川	+	-	
4-005 - 3 M	鈴鹿川	-	+	
4-005 - 4 M	鈴鹿川	-	+	○
4-006 - 1 M	鈴鹿川	-	+	○
4-006 - 2 M	鈴鹿川	+	-	
4-007 - 1 M	雲出川	-	+	
4-007 - 2 M	雲出川	-	+	
4-008 - 1 M	雲出川	-	-	○
4-008 - 2 M	雲出川	-	+	○
4-008 - 3 M	雲出川	-	+	○
4-008 - 4 M	雲出川	-	-	
4-008 - 5 M	雲出川	-	+	○
4-008 - 6 M	雲出川	-	-	○
4-008 - 7 M	雲出川	-	+	○
4-009 - 1 M	雲出川	-	+	
4-009 - 2 M	雲出川	-	+	○
4-009 - 3 M	雲出川	-	+	○
4-010 - 1 M	雲出川	-	+	
4-011 - 1 M	雲出川	-	+	○
4-011 - 2 M	雲出川	-	+	○
4-011 - 3 M	雲出川	-	-	
4-011 - 4 M	雲出川	-	+	○
4-012 - 1 M	雲出川	-	-	○
4-012 - 2 M	雲出川	-	-	○
4-012 - 3 M	雲出川	-	+	
4-012 - 4 M	雲出川	-	+	○
4-012 - 5 M	雲出川	-	-	
4-013 - 1 M	雲出川	-	+	○
4-014 - 1 M	雲出川	-	-	○
4-014 - 2 M	雲出川	-	-	○
4-014 - 3 M	雲出川	-	-	○
4-014 - 4 M	雲出川	-	-	○
4-014 - 5 M	雲出川	-	-	○
4-015 - 1 M	雲出川	+	-	○
4-015 - 2 M	雲出川	+	-	
4-015 - 3 M	雲出川	+	-	
4-015 - 4 M	雲出川	-	+	
4-016 - 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
4-016 - 2 M	雲出川	-	+	○
4-016 - 3 M	雲出川	-	-	○
4-016 - 4 M	雲出川	-	-	○
4-016 - 5 M	雲出川	-	-	○
4-017 - 1 M	雲出川	-	+	
4-017 - 2 M	雲出川	-	+	○
4-017 - 3 M	雲出川	-	+	
4-017 - 4 M	雲出川	+	-	○
4-017 - 5 M	雲出川	+	-	○
4-017 - 6 M	雲出川	+	-	○
4-017 - 7 M	雲出川	+	-	
4-018 - 1 M	雲出川	-	-	○
4-019 - 1 M	雲出川	-	+	○
4-019 - 2 M	雲出川	-	-	○
4-019 - 3 M	雲出川	-	-	○
4-019 - 4 M	雲出川	+	-	○
4-019 - 5 M	雲出川	+	-	○
4-019 - 6 M	雲出川	-	-	○
4-019 - 7 M	雲出川	+	-	○
4-020 - 1 M	雲出川	-	-	
セイヨウナタネ?				
4-018 - 2 M	雲出川	-	-	○
在来ナタネ				
5-007 - 1 M	内部川	-	-	○
5-007 - 2 M	内部川	-	-	○
5-007 - 3 M	内部川	-	-	○
5-007 - 4 M	内部川	-	-	○
5-007 - 5 M	内部川	-	-	○
5-007 - 6 M	内部川	-	-	○
5-007 - 7 M	内部川	-	-	○
5-009 - 1 M	内部川	-	-	○
5-009 - 2 M	内部川	-	-	
5-009 - 3 M	内部川	-	-	○
5-009 - 4 M	内部川	-	-	○
5-009 - 5 M	内部川	-	-	○
5-009 - 6 M	内部川	-	-	○
5-009 - 7 M	内部川	-	-	○
5-010 - 1 M	内部川	-	-	○
5-010 - 2 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
5-010 - 3 M	内部川	-	-	○
5-010 - 4 M	内部川	-	-	○
5-010 - 5 M	内部川	-	-	○
5-011 - 1 M	内部川	-	-	○
5-012 - 1 M	内部川	-	-	○
5-012 - 2 M	内部川	-	-	○
5-012 - 3 M	内部川	-	-	
5-012 - 4 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	-	-	○
5-014 - 1 M	内部川	-	-	○
5-014 - 2 M	内部川	-	-	
5-014 - 3 M	内部川	-	-	
5-014 - 4 M	内部川	-	-	
5-014 - 5 M	内部川	-	-	
5-014 - 6 M	内部川	-	-	
5-014 - 7 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	-	-	○
5-016 - 1 M	内部川	-	-	○
5-016 - 2 M	内部川	-	-	○
5-016 - 3 M	内部川	-	-	
5-016 - 4 M	内部川	-	-	
5-016 - 5 M	内部川	-	-	
5-016 - 6 M	内部川	-	-	
5-016 - 7 M	内部川	-	-	
5-017 - 1 M	内部川	-	-	
5-017 - 2 M	内部川	-	-	○
5-017 - 3 M	内部川	-	-	
5-018 - 1 M	内部川	-	-	○
5-019 - 1 M	内部川	-	-	
5-019 - 2 M	内部川	-	-	
5-019 - 3 M	内部川	-	-	
5-019 - 4 M	内部川	-	-	
5-019 - 5 M	内部川	-	-	
5-019 - 6 M	内部川	-	-	
5-020 - 1 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
5-021	- 1	M	内部川	-	-	
5-021	- 2	M	内部川	-	-	
5-021	- 3	M	内部川	-	-	
5-021	- 4	M	内部川	-	-	○
5-022	- 1	M	内部川	-	-	
5-022	- 2	M	内部川	-	-	
5-022	- 3	M	内部川	-	-	
5-022	- 4	M	内部川	-	-	
5-022	- 5	M	内部川	-	-	
5-023	- 1	M	内部川	-	-	
5-023	- 2	M	内部川	-	-	
5-024	- 1	M	内部川	-	-	
5-024	- 2	M	内部川	-	-	
5-024	- 3	M	内部川	-	-	
5-024	- 4	M	内部川	-	-	
5-025	- 1	M	鈴鹿川	-	-	○
5-025	- 2	M	鈴鹿川	-	-	
5-025	- 3	M	鈴鹿川	-	-	
5-026	- 1	M	鈴鹿川	-	-	○
5-027	- 1	M	鈴鹿川	-	-	○
5-029	- 1	M	鈴鹿川	-	-	○
5-029	- 2	M	鈴鹿川	-	-	○
5-030	- 1	M	鈴鹿川	-	-	
5-031	- 1	M	雲出川	-	-	○
5-031	- 2	M	雲出川	-	-	○
5-032	- 1	M	雲出川	-	-	○
5-032	- 2	M	雲出川	-	-	○
5-032	- 3	M	雲出川	-	-	○
5-032	- 4	M	雲出川	-	-	○
5-032	- 5	M	雲出川	-	-	○
5-032	- 6	M	雲出川	-	-	○
5-033	- 1	M	雲出川	-	-	○
5-033	- 2	M	雲出川	-	-	
5-033	- 3	M	雲出川	-	-	
5-034	- 1	M	雲出川	-	-	○
在来ナタネ？						
5-006	- 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	- 5	M	内部川	-	-	○
5-006	- 6	M	内部川	-	-	○

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。

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
5-006 - 7 M	内部川	-	-	
5-008 - 1 M	内部川	-	-	○
5-008 - 2 M	内部川	-	-	○
5-010 - 6 M	内部川	-	-	○
5-010 - 7 M	内部川	-	-	
5-013 - 1 M	内部川	-	-	○
5-019 - 7 M	内部川	-	-	
5-021 - 5 M	内部川	-	-	○
5-024 - 5 M	内部川	-	-	
5-024 - 6 M	内部川	-	-	○
5-024 - 7 M	内部川	-	-	○
5-028 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
5-029 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
5-029 - 4 M	鈴鹿川	-	-	○
5-029 - 5 M	鈴鹿川	-	-	○
5-029 - 6 M	鈴鹿川	-	-	○
5-029 - 7 M	鈴鹿川	-	-	○
5-032 - 7 M	雲出川	-	-	○
カラシナ				
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	-	-	○
6-010 - 1 M	内部川	-	-	○
6-011 - 1 M	内部川	-	-	○
6-012 - 1 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	-	-	○
6-016 - 1 M	内部川	-	-	○
6-016 - 2 M	内部川	-	-	○
6-016 - 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
6-017 - 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	-	-	
6-020 - 1 M	内部川	-	-	○
6-021 - 1 M	内部川	-	-	
6-021 - 2 M	内部川	-	-	
6-021 - 3 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	鈴鹿川	-	-	○
6-024 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-024 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
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	-	-	○
6-027 - 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	-	-	○
6-030 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-030 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-030 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
6-031 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-031 - 2 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	-	-	○

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
6-033 - 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	鈴鹿川	-	-	
6-037 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
6-037 - 2 M	鈴鹿川	-	-	
6-037 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
6-038 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-038 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-038 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-039 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
6-039 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-039 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-040 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
6-040 - 2 M	鈴鹿川	-	-	
6-040 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
6-041 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-041 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-041 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-042 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-042 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-042 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-043 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
6-043 - 2 M	鈴鹿川	-	-	
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	-	-	
6-047 - 1 M	雲出川	-	-	○
6-048 - 1 M	雲出川	-	-	
6-049 - 1 M	雲出川	-	-	
6-049 - 2 M	雲出川	-	-	
6-049 - 3 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	-	-	○

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
6-051 - 1 M	雲出川	-	-	○
6-051 - 2 M	雲出川	-	-	○
6-051 - 3 M	雲出川	-	-	○
6-052 - 1 M	雲出川	-	-	○
6-052 - 2 M	雲出川	-	-	○
6-052 - 3 M	雲出川	-	-	○
6-053 - 1 M	雲出川	-	-	
6-053 - 2 M	雲出川	-	-	
6-053 - 3 M	雲出川	-	-	
6-054 - 1 M	雲出川	-	-	
6-054 - 2 M	雲出川	-	-	
6-054 - 3 M	雲出川	-	-	
6-055 - 1 M	雲出川	-	-	○
6-055 - 2 M	雲出川	-	-	○
6-055 - 3 M	雲出川	-	-	○
6-056 - 1 M	雲出川	-	-	○
6-056 - 2 M	雲出川	-	-	○
6-056 - 3 M	雲出川	-	-	○
6-057 - 1 M	雲出川	-	-	○
6-057 - 2 M	雲出川	-	-	
6-057 - 3 M	雲出川	-	-	
6-058 - 1 M	雲出川	-	-	○
6-058 - 2 M	雲出川	-	-	
6-058 - 3 M	雲出川	-	-	○
6-059 - 1 M	雲出川	-	-	
6-059 - 2 M	雲出川	-	-	○
6-059 - 3 M	雲出川	-	-	○
6-060 - 1 M	雲出川	-	-	○
6-060 - 2 M	雲出川	-	-	○
6-061 - 1 M	雲出川	-	-	○
6-061 - 2 M	雲出川	-	-	○
6-062 - 1 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	-	-	
12-002 - 2 M	内部川	-	-	
12-002 - 3 M	内部川	-	-	
12-003 - 1 M	内部川	-	-	○
12-003 - 2 M	内部川	-	-	
12-004 - 1 M	内部川	-	-	
12-004 - 2 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
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	-	-	○
12-006 - 2 M	内部川	-	-	
12-006 - 3 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	内部川	-	-	○
12-014 - 2 M	内部川	-	-	
12-014 - 3 M	内部川	-	-	
12-015 - 1 M	内部川	-	-	○
12-015 - 2 M	内部川	-	-	○
12-015 - 3 M	内部川	-	-	○
12-015 - 4 M	内部川	-	-	○
12-016 - 1 M	内部川	-	-	
12-016 - 2 M	内部川	-	-	○
12-016 - 3 M	内部川	-	-	
12-017 - 1 M	内部川	-	-	○
12-017 - 2 M	内部川	-	-	○
12-018 - 1 M	内部川	-	-	
12-018 - 2 M	内部川	-	-	
12-018 - 3 M	内部川	-	-	
12-019 - 1 M	内部川	-	-	
12-019 - 2 M	内部川	-	-	
12-019 - 3 M	内部川	-	-	
12-020 - 1 M	内部川	-	-	
12-020 - 2 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
12-020 - 3 M	内部川	-	-	
12-021 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
12-021 - 2 M	鈴鹿川	-	-	
12-022 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
12-022 - 2 M	鈴鹿川	-	-	
12-022 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
12-023 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
12-023 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
12-023 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
12-024 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
12-024 - 2 M	鈴鹿川	-	-	
12-024 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
12-025 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
12-025 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
12-025 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
12-026 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
12-026 - 2 M	鈴鹿川	-	-	
12-026 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
クロガラシ				
13-001 - 1 M	内部川	-	-	○
13-001 - 2 M	内部川	-	-	○
13-001 - 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	-	-	
イヌガラシ				
18-006 - 1 M	内部川	-	-	
18-006 - 2 M	内部川	-	-	○
18-006 - 3 M	内部川	-	-	○
18-007 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
18-008 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
18-009 - 1 M	雲出川	-	-	
18-010 - 1 M	雲出川	-	-	○
18-010 - 2 M	雲出川	-	-	○
18-010 - 3 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				
1-022 - 1 M	須恵川	-	-	○
1-023 - 1 M	須恵川	-	-	
1-024 - 1 M	御笠川	-	-	○
セイヨウナタネ?				
4-021 - 1 M	須恵川	-	-	
在来ナタネ				
5-035 - 1 M	須恵川	-	-	
5-035 - 2 M	須恵川	-	-	
5-035 - 3 M	須恵川	-	-	○
5-037 - 1 M	須恵川	-	-	○
5-037 - 2 M	須恵川	-	-	○
5-037 - 3 M	須恵川	-	-	○
5-037 - 4 M	須恵川	-	-	○
5-037 - 5 M	須恵川	-	-	○
5-037 - 6 M	須恵川	-	-	○
5-038 - 1 M	須恵川	-	-	○
5-038 - 2 M	須恵川	-	-	○
5-038 - 3 M	須恵川	-	-	
5-038 - 4 M	須恵川	-	-	○
5-038 - 5 M	須恵川	-	-	
5-038 - 6 M	須恵川	-	-	○
5-039 - 1 M	須恵川	-	-	○
5-039 - 2 M	須恵川	-	-	○
5-039 - 3 M	須恵川	-	-	○
5-039 - 4 M	須恵川	-	-	○
5-039 - 5 M	須恵川	-	-	○
5-039 - 6 M	須恵川	-	-	○
5-040 - 1 M	須恵川	-	-	○
5-040 - 2 M	須恵川	-	-	○
5-040 - 3 M	須恵川	-	-	
5-040 - 4 M	須恵川	-	-	○
5-040 - 5 M	須恵川	-	-	
5-040 - 6 M	須恵川	-	-	○
5-042 - 1 M	御笠川	-	-	○
5-042 - 2 M	御笠川	-	-	
5-042 - 3 M	御笠川	-	-	○
5-042 - 4 M	御笠川	-	-	○
5-042 - 5 M	御笠川	-	-	○
5-042 - 6 M	御笠川	-	-	○
5-042 - 7 M	御笠川	-	-	○

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
5-043 - 1 M	御笠川	-	-	
5-044 - 1 M	御笠川	-	-	
5-045 - 1 M	御笠川	-	-	
在来ナタネ?				
5-041 - 1 M	御笠川	-	-	○
5-036 - 1 M	須恵川	-	-	○
5-036 - 2 M	須恵川			○
5-039 - 7 M	須恵川	-	-	○
カラシナ				
3-001 - 1 M	須恵川	-	-	○
3-002 - 1 M	須恵川	-	-	○
3-003 - 1 M	御笠川	-	-	○
6-063 - 1 M	須恵川	-	-	○
6-063 - 2 M	須恵川	-	-	○
6-063 - 3 M	須恵川	-	-	
6-064 - 1 M	須恵川	-	-	
6-064 - 2 M	須恵川	-	-	
6-064 - 3 M	須恵川	-	-	
6-065 - 1 M	須恵川	-	-	○
6-065 - 2 M	須恵川	-	-	○
6-065 - 3 M	須恵川	-	-	○
6-066 - 1 M	須恵川	-	-	○
6-066 - 2 M	須恵川	-	-	○
6-066 - 3 M	須恵川	-	-	○
6-067 - 1 M	須恵川	-	-	○
6-067 - 2 M	須恵川	-	-	○
6-067 - 3 M	須恵川	-	-	○
6-068 - 1 M	須恵川	-	-	
6-069 - 1 M	須恵川	-	-	○
6-069 - 2 M	須恵川	-	-	
6-070 - 1 M	須恵川	-	-	○
6-070 - 2 M	須恵川	-	-	○
6-070 - 3 M	須恵川	-	-	○
6-071 - 1 M	御笠川	-	-	
6-071 - 2 M	御笠川	-	-	○
6-071 - 3 M	御笠川	-	-	
ハマダイコン				
12-027 - 1 M	須恵川	-	-	
12-028 - 1 M	須恵川	-	-	
12-029 - 1 M	須恵川	-	-	
12-030 - 1 M	須恵川	-	-	
12-030 - 2 M	須恵川	-	-	

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
12-031-1 M	須恵川	-	-	
12-031-2 M	須恵川	-	-	
12-031-3 M	須恵川	-	-	
12-032-1 M	須恵川	-	-	○
12-032-2 M	須恵川	-	-	
12-032-3 M	須恵川	-	-	
12-033-1 M	須恵川	-	-	○
12-033-2 M	須恵川	-	-	
12-033-3 M	須恵川	-	-	
12-034-1 M	須恵川	-	-	
12-035-1 M	須恵川	-	-	
12-035-2 M	須恵川	-	-	
12-035-3 M	須恵川	-	-	
12-036-1 M	御笠川	-	-	○
12-036-2 M	御笠川	-	-	○
12-036-3 M	御笠川	-	-	○
12-037-1 M	御笠川	-	-	
12-037-2 M	御笠川	-	-	
12-038-1 M	御笠川	-	-	
12-038-2 M	御笠川	-	-	
12-038-3 M	御笠川	-	-	
12-039-1 M	御笠川	-	-	
12-039-2 M	御笠川	-	-	
12-039-3 M	御笠川	-	-	

—: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(個体番号+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

四日市港周辺地域から採取された 23 群落の 51 試料中、17 群落の 32 試料に(CP4 EPSPS タンパク質が 3 群落の 7 試料、PAT タンパク質が 16 群落の 24 試料、CP4 EPSPS タンパク質と PAT タンパク質の両方が 1 群落の 1 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 CP4 EPSPS 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 1 群落の 1 試料(4-017-4S)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配が起こったことが示唆された。また、母植物組織では PAT が検出されたが、種子では除草剤耐性タンパク質が確認されなかったものが 1 群落の 1 試料(4-011-2S)あり、母植物においてグルホシネート耐性の遺伝子型が hemizygous(グルホシネート耐性タンパク質遺伝子を 1 対 2 本の染色体のうち 1 本のみを持つ)であったことが示唆された。

鹿島港周辺地域から採取された 8 群落の 8 試料、および博多港周辺地域から採取された 2 群落の 2 試料には、除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。

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 69 試料中、河川敷で採取された 1 群落の 1 試料(5-033-1S)に PAT タンパク質が検出され、除草剤耐性ナタネとの交雑の可能性が示唆された。鹿島港週県地域から採取された 3 群落の 4 試料、および博多港周辺地域から採取された 8 群落の 31 試料からは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 36 群落の 81 試料および博多港周辺地域から採取された 10 群落の 19 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

四日市港周辺地域から採取された 11 群落 19 試料のハマダイコンのうち、河川敷で採取された 2 群落の 2 試料(12-006-1S、12-007-3S)に CP4 EPSPS タンパク質が検出されたが、PCR による除草剤耐性遺伝子の確認はできなかった。同地域から採取された 1 群落 3 試料のクロガラシ、1 群落 1 試料のノハラガラシ、3 群落 5 試料のイヌガラシからは除草剤耐性タンパク質は検

出されなかった。鹿島港周辺地域から採取された3群落6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3群落5試料のハマダイコンからは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					
1-001 -1 S	利根川	789	-	-	-
1-003 -1 S	小見川	60	-	-	-
1-004 -1 S	小見川	534	-	-	-
1-005 -1 S	小見川	171	-	-	-
1-006 -1 S	小見川	390	-	-	-
1-007 -1 S	小見川	85	-	-	-
4-002 -1 S	小見川	912	-	-	-
セイヨウナタネ?					
4-001 -1 S	小見川	792	-	-	-
在来ナタネ					
5-001 -1 S	利根川	710	-	-	-
5-002 -1 S	利根川	622	-	-	-
5-004 -1 S	小見川	38	-	-	-
5-004 -2 S	小見川	112	-	-	-
カラシナ					
6-003 -1 S	小見川	880	-	-	-
6-003 -2 S	小見川	849	-	-	-
6-003 -3 S	小見川	1943	-	-	-
6-004 -1 S	小見川	739	-	-	-
6-004 -2 S	小見川	894	-	-	-
6-004 -3 S	小見川	1680	-	-	-
6-006 -1 S	小見川	1005	-	-	-
イヌガラシ					
18-002 -2 S	利根川	1858	-	-	-
18-003 -1 S	利根川	2467	-	-	-
18-003 -2 S	利根川	4715	-	-	-
18-004 -1 S	利根川	10420	-	-	-
18-004 -2 S	利根川	2225	-	-	-
18-004 -3 S	利根川	5803	-	-	-

-: 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。

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					
1-009 - 1 S	内部川	137	-	-	-
1-011 - 1 S	鈴鹿川	205	-	+	PAT
1-012 - 2 S	鈴鹿川	18	-	-	-
1-013 - 1 S	鈴鹿川	9	-	+	PAT
1-016 - 1 S	雲出川	105	-	+	PAT
1-017 - 1 S	雲出川	396	-	+	PAT
1-017 - 2 S	雲出川	219	-	+	PAT
4-003 - 1 S	内部川	75	-	+	PAT
4-004 - 1 S	内部川	143	-	+	PAT
4-005 - 1 S	鈴鹿川	72	-	+	PAT
4-005 - 4 S	鈴鹿川	122	-	+	PAT
4-006 - 1 S	鈴鹿川	151	-	+	PAT
4-008 - 1 S	雲出川	217	-	-	-
4-008 - 2 S	雲出川	238	-	+	PAT
4-008 - 3 S	雲出川	149	-	+	PAT
4-008 - 5 S	雲出川	170	-	+	PAT
4-008 - 6 S	雲出川	100	-	+	-
4-008 - 7 S	雲出川	137	-	+	PAT
4-009 - 2 S	雲出川	43	-	+	PAT
4-009 - 3 S	雲出川	7	-	+	PAT
4-011 - 1 S	雲出川	289	-	+	PAT
4-011 - 2 S	雲出川	10	-	-	PAT
4-011 - 4 S	雲出川	182	-	+	PAT
4-012 - 1 S	雲出川	97	-	-	-
4-012 - 2 S	雲出川	188	-	-	-
4-012 - 4 S	雲出川	74	-	+	PAT
4-013 - 1 S	雲出川	425	-	+	PAT
4-014 - 1 S	雲出川	442	-	-	-
4-014 - 2 S	雲出川	253	-	-	-
4-014 - 3 S	雲出川	431	-	-	-
4-014 - 4 S	雲出川	147	-	-	-
4-014 - 5 S	雲出川	290	-	-	-
4-015 - 1 S	雲出川	157	+	-	CP4 EPSPS
4-016 - 1 S	雲出川	308	-	-	-
4-016 - 2 S	雲出川	175	-	+	PAT
4-016 - 3 S	雲出川	222	-	-	-
4-016 - 4 S	雲出川	593	-	-	-
4-016 - 5 S	雲出川	638	-	-	-
4-017 - 2 S	雲出川	1037	-	+	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。

試料番号	河川名	採取種子数(推定)	CP4 EPSPS	PAT	母植物の結果
4-017 - 4 S	雲出川	905	+	+	CP4 EPSPS
4-017 - 5 S	雲出川	560	+	-	CP4 EPSPS
4-017 - 6 S	雲出川	177	+	-	CP4 EPSPS
4-018 - 1 S	雲出川	689	-	-	-
4-019 - 1 S	雲出川	82	-	+	PAT
4-019 - 2 S	雲出川	600	-	-	-
4-019 - 3 S	雲出川	351	+	-	-
4-019 - 4 S	雲出川	234	+	-	CP4 EPSPS
4-019 - 5 S	雲出川	749	+	-	CP4 EPSPS
4-019 - 6 S	雲出川	688	-	-	-
4-019 - 7 S	雲出川	291	+	-	CP4 EPSPS
セイヨウナタネ?					
4-018 - 2 S	雲出川	162	-	-	-
在来ナタネ					
5-007 - 1 S	内部川	567	-	-	-
5-007 - 2 S	内部川	542	-	-	-
5-007 - 3 S	内部川	712	-	-	-
5-007 - 4 S	内部川	358	-	-	-
5-007 - 5 S	内部川	234	-	-	-
5-007 - 6 S	内部川	321	-	-	-
5-007 - 7 S	内部川	632	-	-	-
5-009 - 1 S	内部川	692	-	-	-
5-009 - 3 S	内部川	644	-	-	-
5-009 - 4 S	内部川	340	-	-	-
5-009 - 5 S	内部川	640	-	-	-
5-009 - 6 S	内部川	725	-	-	-
5-009 - 7 S	内部川	548	-	-	-
5-010 - 1 S	内部川	239	-	-	-
5-010 - 2 S	内部川	233	-	-	-
5-010 - 3 S	内部川	199	-	-	-
5-010 - 4 S	内部川	119	-	-	-
5-010 - 5 S	内部川	215	-	-	-
5-011 - 1 S	内部川	44	-	-	-
5-012 - 1 S	内部川	228	-	-	-
5-012 - 2 S	内部川	480	-	-	-
5-012 - 4 S	内部川	163	-	-	-
5-012 - 5 S	内部川	514	-	-	-
5-012 - 6 S	内部川	373	-	-	-
5-012 - 7 S	内部川	463	-	-	-
5-014 - 1 S	内部川	537	-	-	-

-: 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
5-015 - 3 S	内部川	554	-	-	-
5-015 - 6 S	内部川	299	-	-	-
5-015 - 7 S	内部川	279	-	-	-
5-016 - 1 S	内部川	439	-	-	-
5-016 - 2 S	内部川	265	-	-	-
5-017 - 2 S	内部川	198	-	-	-
5-018 - 1 S	内部川	26	-	-	-
5-020 - 1 S	内部川	131	-	-	-
5-021 - 4 S	内部川	233	-	-	-
5-025 - 1 S	鈴鹿川	161	-	-	-
5-026 - 1 S	鈴鹿川	87	-	-	-
5-027 - 1 S	鈴鹿川	128	-	-	-
5-029 - 1 S	鈴鹿川	291	-	-	-
5-029 - 2 S	鈴鹿川	239	-	-	-
5-031 - 1 S	雲出川	690	-	-	-
5-031 - 2 S	雲出川	821	-	-	-
5-032 - 1 S	雲出川	476	-	-	-
5-032 - 2 S	雲出川	267	-	-	-
5-032 - 3 S	雲出川	642	-	-	-
5-032 - 4 S	雲出川	871	-	-	-
5-032 - 5 S	雲出川	624	-	-	-
5-032 - 6 S	雲出川	768	-	-	-
5-033 - 1 S	雲出川	2581	-	+	-
5-034 - 1 S	雲出川	283	-	-	-
在来ナタネ?					
5-006 - 1 S	内部川	241	-	-	-
5-006 - 2 S	内部川	60	-	-	-
5-006 - 3 S	内部川	494	-	-	-
5-006 - 4 S	内部川	311	-	-	-
5-006 - 5 S	内部川	307	-	-	-
5-006 - 6 S	内部川	247	-	-	-
5-008 - 1 S	内部川	46	-	-	-
5-008 - 2 S	内部川	732	-	-	-
5-010 - 6 S	内部川	181	-	-	-
5-013 - 1 S	内部川	17	-	-	-
5-021 - 5 S	内部川	182	-	-	-
5-024 - 6 S	内部川	507	-	-	-
5-024 - 7 S	内部川	11	-	-	-
5-028 - 1 S	鈴鹿川	47	-	-	-
5-029 - 4 S	鈴鹿川	384	-	-	-
5-029 - 5 S	鈴鹿川	8	-	-	-
5-029 - 6 S	鈴鹿川	190	-	-	-
5-029 - 7 S	鈴鹿川	471	-	-	-
5-032 - 7 S	雲出川	54	-	-	-

-: 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。黄色: 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
カラシナ					
6-008 - 1 S	内部川	933	-	-	-
6-008 - 2 S	内部川	801	-	-	-
6-008 - 3 S	内部川	777	-	-	-
6-009 - 1 S	内部川	845	-	-	-
6-009 - 2 S	内部川	1120	-	-	-
6-009 - 3 S	内部川	1296	-	-	-
6-010 - 1 S	内部川	231	-	-	-
6-011 - 1 S	内部川	413	-	-	-
6-012 - 1 S	内部川	1063	-	-	-
6-013 - 1 S	内部川	784	-	-	-
6-013 - 2 S	内部川	760	-	-	-
6-013 - 3 S	内部川	1453	-	-	-
6-014 - 1 S	内部川	568	-	-	-
6-014 - 2 S	内部川	829	-	-	-
6-015 - 2 S	内部川	574	-	-	-
6-015 - 3 S	内部川	583	-	-	-
6-016 - 1 S	内部川	826	-	-	-
6-016 - 2 S	内部川	1103	-	-	-
6-016 - 3 S	内部川	934	-	-	-
6-017 - 1 S	内部川	332	-	-	-
6-020 - 1 S	内部川	515	-	-	-
6-022 - 1 S	内部川	734	-	-	-
6-022 - 3 S	内部川	971	-	-	-
6-024 - 1 S	鈴鹿川	519	-	-	-
6-024 - 2 S	鈴鹿川	425	-	-	-
6-024 - 3 S	鈴鹿川	438	-	-	-
6-025 - 1 S	鈴鹿川	736	-	-	-
6-025 - 2 S	鈴鹿川	624	-	-	-
6-025 - 3 S	鈴鹿川	266	-	-	-
6-026 - 1 S	鈴鹿川	446	-	-	-
6-026 - 2 S	鈴鹿川	801	-	-	-
6-026 - 3 S	鈴鹿川	792	-	-	-
6-028 - 1 S	鈴鹿川	797	-	-	-
6-028 - 2 S	鈴鹿川	666	-	-	-
6-028 - 3 S	鈴鹿川	320	-	-	-
6-029 - 1 S	鈴鹿川	512	-	-	-
6-029 - 2 S	鈴鹿川	825	-	-	-
6-029 - 3 S	鈴鹿川	635	-	-	-
6-030 - 1 S	鈴鹿川	200	-	-	-
6-030 - 2 S	鈴鹿川	623	-	-	-
6-031 - 1 S	鈴鹿川	1441	-	-	-
6-032 - 1 S	鈴鹿川	670	-	-	-
6-032 - 2 S	鈴鹿川	974	-	-	-
6-032 - 3 S	鈴鹿川	694	-	-	-
6-038 - 1 S	鈴鹿川	1164	-	-	-

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
6-038 - 2 S	鈴鹿川	524	-	-	-
6-038 - 3 S	鈴鹿川	758	-	-	-
6-039 - 2 S	鈴鹿川	408	-	-	-
6-039 - 3 S	鈴鹿川	498	-	-	-
6-041 - 1 S	鈴鹿川	878	-	-	-
6-041 - 2 S	鈴鹿川	212	-	-	-
6-041 - 3 S	鈴鹿川	1005	-	-	-
6-042 - 1 S	鈴鹿川	630	-	-	-
6-042 - 2 S	鈴鹿川	271	-	-	-
6-042 - 3 S	鈴鹿川	497	-	-	-
6-047 - 1 S	雲出川	674	-	-	-
6-049 - 3 S	雲出川	768	-	-	-
6-050 - 1 S	雲出川	415	-	-	-
6-050 - 2 S	雲出川	593	-	-	-
6-050 - 3 S	雲出川	917	-	-	-
6-051 - 1 S	雲出川	715	-	-	-
6-051 - 2 S	雲出川	634	-	-	-
6-051 - 3 S	雲出川	721	-	-	-
6-052 - 1 S	雲出川	493	-	-	-
6-052 - 2 S	雲出川	1308	-	-	-
6-052 - 3 S	雲出川	1080	-	-	-
6-055 - 1 S	雲出川	403	-	-	-
6-055 - 2 S	雲出川	1065	-	-	-
6-055 - 3 S	雲出川	1251	-	-	-
6-056 - 1 S	雲出川	964	-	-	-
6-056 - 2 S	雲出川	914	-	-	-
6-056 - 3 S	雲出川	1114	-	-	-
6-057 - 1 S	雲出川	1063	-	-	-
6-058 - 1 S	雲出川	1311	-	-	-
6-058 - 3 S	雲出川	1090	-	-	-
6-059 - 2 S	雲出川	776	-	-	-
6-059 - 3 S	雲出川	86	-	-	-
6-060 - 1 S	雲出川	145	-	-	-
6-060 - 2 S	雲出川	133	-	-	-
6-061 - 1 S	雲出川	524	-	-	-
6-061 - 2 S	雲出川	803	-	-	-
ハマダイコン					
12-003 - 1 S	内部川	60	-	-	-
12-006 - 1 S	内部川	59	+	-	-
12-006 - 3 S	内部川	103	-	-	-
12-007 - 3 S	内部川	64	+	-	-
12-014 - 1 S	内部川	54	-	-	-
12-015 - 1 S	内部川	151	-	-	-
12-015 - 2 S	内部川	156	-	-	-
12-015 - 3 S	内部川	156	-	-	-

-: 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。水色: CP4 EPSPS 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
12-015 - 4 S	内部川	157	-	-	-
12-016 - 2 S	内部川	79	-	-	-
12-017 - 1 S	内部川	184	-	-	-
12-017 - 2 S	内部川	119	-	-	-
12-022 - 1 S	鈴鹿川	213	-	-	-
12-022 - 3 S	鈴鹿川	118	-	-	-
12-023 - 2 S	鈴鹿川	133	-	-	-
12-023 - 3 S	鈴鹿川	152	-	-	-
12-024 - 1 S	鈴鹿川	145	-	-	-
12-025 - 1 S	鈴鹿川	87	-	-	-
12-025 - 2 S	鈴鹿川	95	-	-	-
クロガラシ					
13-001 - 1 S	内部川	308	-	-	-
13-001 - 2 S	内部川	433	-	-	-
13-001 - 3 S	内部川	535	-	-	-
ノハラガラシ					
16-001 - 1 S	雲出川	48	-	-	-
イヌガラシ					
18-006 - 2 S	内部川	1091	-	-	-
18-006 - 3 S	内部川	7025	-	-	-
18-007 - 1 S	鈴鹿川	1253	-	-	-
18-010 - 1 S	雲出川	3492	-	-	-
18-010 - 2 S	雲出川	791	-	-	-

-: 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					
1-022 - 1 S	須恵川	399	-	-	-
1-024 - 1 S	御笠川	128	-	-	-
在来ナタネ					
5-035 - 3 S	須恵川	24	-	-	-
5-037 - 1 S	須恵川	493	-	-	-
5-037 - 2 S	須恵川	563	-	-	-
5-037 - 3 S	須恵川	504	-	-	-
5-037 - 4 S	須恵川	1273	-	-	-
5-037 - 5 S	須恵川	369	-	-	-
5-037 - 6 S	須恵川	329	-	-	-
5-038 - 1 S	須恵川	555	-	-	-
5-038 - 2 S	須恵川	481	-	-	-
5-038 - 4 S	須恵川	747	-	-	-
5-038 - 6 S	須恵川	308	-	-	-

-: 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
5-039 - 1 S	須恵川	507	-	-	-
5-039 - 2 S	須恵川	315	-	-	-
5-039 - 3 S	須恵川	199	-	-	-
5-039 - 4 S	須恵川	578	-	-	-
5-039 - 5 S	須恵川	397	-	-	-
5-039 - 6 S	須恵川	179	-	-	-
5-040 - 1 S	須恵川	95	-	-	-
5-040 - 2 S	須恵川	152	-	-	-
5-040 - 4 S	須恵川	171	-	-	-
5-040 - 6 S	須恵川	249	-	-	-
5-042 - 1 S	御笠川	995	-	-	-
5-042 - 3 S	御笠川	582	-	-	-
5-042 - 4 S	御笠川	379	-	-	-
5-042 - 5 S	御笠川	728	-	-	-
5-042 - 6 S	御笠川	896	-	-	-
5-042 - 7 S	御笠川	501	-	-	-
在来ナタネ?					
5-036 - 1 S	須恵川	123	-	-	-
5-036 - 2 S	須恵川	59	-	-	-
5-039 - 7 S	須恵川	466	-	-	-
5-041 - 1 S	御笠川	281	-	-	-
カラシナ					
3-001 - 1 S	須恵川	506	-	-	-
3-002 - 1 S	須恵川	777	-	-	-
3-003 - 1 S	御笠川	951	-	-	-
6-063 - 1 S	須恵川	126	-	-	-
6-063 - 2 S	須恵川	739	-	-	-
6-065 - 1 S	須恵川	346	-	-	-
6-065 - 2 S	須恵川	982	-	-	-
6-065 - 3 S	須恵川	1250	-	-	-
6-066 - 1 S	須恵川	599	-	-	-
6-066 - 2 S	須恵川	800	-	-	-
6-066 - 3 S	須恵川	521	-	-	-
6-067 - 1 S	須恵川	540	-	-	-
6-067 - 2 S	須恵川	496	-	-	-
6-067 - 3 S	須恵川	929	-	-	-
6-069 - 1 S	須恵川	304	-	-	-
6-070 - 1 S	須恵川	179	-	-	-
6-070 - 2 S	須恵川	604	-	-	-
6-070 - 3 S	須恵川	559	-	-	-
6-071 - 2 S	御笠川	491	-	-	-
ハマダイコン					
12-032 - 1 S	須恵川	37	-	-	-
12-033 - 1 S	須恵川	68	-	-	-
12-036 - 1 S	御笠川	160	-	-	-
12-036 - 2 S	御笠川	85	-	-	-
12-036 - 3 S	御笠川	162	-	-	-

-: 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。まず、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 17 群落からの 32 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、4 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。

1 区画では播種後 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。

もう 1 区画では播種後 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 (バスター®、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) ホスフィナート)) 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。

次に、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在来ナタネ種子 1 群落 1 試料、およびハマダイコン種子 2 群落 2 試料の種子 (免疫クロマトグラフ、FCM 解析に使用した残り全て) を温室 (遺伝子組換え実験 (PIP) 施設) 内に設置した 300 X 360 mm のプラスチックケースに試料ごとに播種し、実生を栽培した。実生の葉、ならびにハマダイコンにおいては発芽しなかった種子も用い、免疫クロマトグラフによる除草剤タンパク質の検出を行った。

結果を表 1-12 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。

四日市港周辺地域のセイヨウナタネ母植物 17 群落の 32 試料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、全ての試料に除草剤耐性を有するものが確認された。

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 試料あり、実生も除草剤耐性を示した (4-008-6L、4-019-3L)。

これは、非組換え体のセイヨウナタネ母植物が除草剤耐性ナタネと交配したためと思われる。

4 群落からの 6 試料 (4-009-3L、4-015-1L、4-017-2L、4-017-4L、4-017-5L、4-019-5L) 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)。6 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、1 試料で 2 種類の除草剤耐性タンパク質が検出された (4-017-4S) が、2 試料では PAT のみ (4-009-3S、4-017-2S)、4 試料では CP4 EPSPS が検出された (4-015-1S、4-017-5S、4-019-5S)。また、これらの由来する母植物からは 1 種類の除草剤耐性タンパク質のみが検出された。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配が起こったことが示唆された。

四日市港周辺地域の在来ナタネ母植物 1 群落の 1 試料 (5-033-1M)、およびハマダイコン母植物 2 群落の 2 試料 (12-006-1M、12-006-3M) から採取した種子試料も、発芽し実生が得られた (各々 5-033-1L、12-006-1L、12-006-3L)。在来ナタネ母植物からの種子試料由来の実生では、2 個体から PAT タンパク質が検出された。PAT タンパク質を持つ実生 2 個体、持たない実生 2 個体の葉を用いて FCM 解析を行ったところ、PAT タンパク質を持つ 2 個体はセイヨウナタネと在来ナタネの雑種、除草剤耐性タンパク質を持たない 2 個体は在来ナタネと判定された (図 1-4)。3.1 の図 1-2 で示した結果とあわせ、5-033-1M は在来ナタネであり、その生育場所においてグルホシネート耐性遺伝子を持つセイヨウナタネ (花粉親) と交配した結果、PAT タンパク質を持つ雑種種子が出来たと考えられた。また、当初 FCM 解析に用いた 5-033-1S 1 粒 (図 1-2) は、PAT タンパク質を持たない (セイヨウナタネと交配していない) 在来ナタネ種子だったと考えられた。一方、ハマダイコン母植物からの種子試料由来の実生および発芽しなかった種子からは除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。

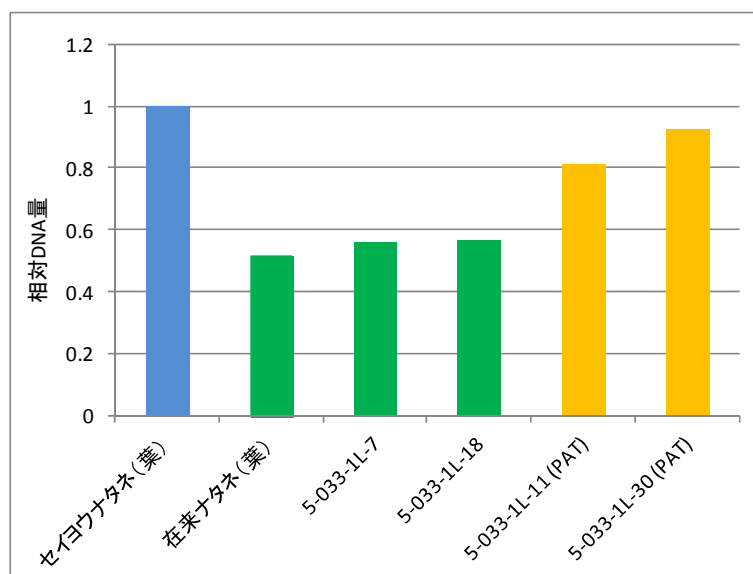


図 1-4 種子由来の実生のフローサイトメトリーによる雑種の検出

縦軸は粒子(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。5-033-1Sを播種し、得られた実生各個体の除草剤耐性タンパク質の有無を調査し、PAT タンパク質を持つもの (5-033-1L-11 と 30) と持たないもの (5-033-1L-7 と 18) 各々 2 個体を用いた。5-033-1L-11 と 30 は、セイヨウナタネ ($2n=38$) と在来ナタネ ($2n=20$) の中間の染色体数を持つと考えられる。

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												
1-011 - 1 L	鈴鹿川	205	20	20	0	0	20	20	19	0	PAT	PAT
1-013 - 1 L	鈴鹿川	9	2	2	0	0	3	3	3	0	PAT	PAT
1-016 - 1 L	雲出川	105	20	20	0	0	20	18	17	0	PAT	PAT
1-017 - 1 L	雲出川	396	20	19	0	0	20	18	16	0	PAT	PAT
1-017 - 2 L	雲出川	219	20	13	0	0	20	17	17	0	PAT	PAT
4-003 - 1 L	内部川	75	20	18	0	0	20	17	16	0	PAT	PAT
4-004 - 1 L	内部川	143	20	18	0	0	20	20	20	0	PAT	PAT
4-005 - 1 L	鈴鹿川	72	20	20	0	0	20	14	11	0	PAT	PAT
4-005 - 4 L	鈴鹿川	122	20	17	0	0	20	18	18	0	PAT	PAT
4-006 - 1 L	鈴鹿川	151	20	18	0	0	20	17	17	0	PAT	PAT
4-008 - 2 L	雲出川	238	20	16	0	0	20	16	16	0	PAT	PAT
4-008 - 3 L	雲出川	149	20	19	0	0	20	18	18	0	PAT	PAT
4-008 - 5 L	雲出川	170	20	14	0	0	20	17	13	0	PAT	PAT
4-008 - 6 L	雲出川	100	20	16	0	0	20	16	2	0	-	PAT
4-008 - 7 L	雲出川	137	20	19	0	0	20	17	17	0	PAT	PAT
4-009 - 2 L	雲出川	43	11	8	0	0	12	8	5	0	PAT	PAT
4-009 - 3 L	雲出川	7	2	1	0	1	2	2	2	0	PAT	PAT
4-011 - 1 L	雲出川	289	20	15	0	0	20	17	17	0	PAT	PAT
4-011 - 4 L	雲出川	182	20	19	0	0	20	14	14	0	PAT	PAT
4-012 - 4 L	雲出川	74	20	14	0	0	20	14	10	0	PAT	PAT
4-013 - 1 L	雲出川	425	20	16	0	0	20	17	9	0	PAT	PAT
4-015 - 1 L	雲出川	157	20	14	13	1	20	17	0	0	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS
4-016 - 2 L	雲出川	175	20	20	0	0	20	19	12	0	PAT	PAT
4-017 - 2 L	雲出川	1037	20	20	0	0	20	16	15	1	PAT	PAT
4-017 - 4 L	雲出川	905	20	17	10	0	20	12	1	1	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS, PAT
4-017 - 5 L	雲出川	560	20	18	11	0	20	19	0	1	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS
4-017 - 6 L	雲出川	177	20	18	18	0	20	19	0	0	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS
4-019 - 1 L	雲出川	82	20	19	0	0	20	20	16	0	PAT	PAT
4-019 - 3 L	雲出川	351	20	15	7	0	20	14	0	0	-	CP4 EPSPS
4-019 - 4 L	雲出川	234	20	20	20	0	20	17	0	0	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS
4-019 - 5 L	雲出川	749	20	17	10	0	20	15	0	1	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS
4-019 - 7 L	雲出川	291	20	15	9	0	20	19	0	0	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS
在来ナタネ												
5-033 - 1 L	雲出川	2581	20	14	0	0	54	47	2	0	-	PAT
ハマダイコン												
12-006 - 1 L	内部川	59	41	39	0	0	0	0	0	0	-	CP4 EPSPS
12-007 - 3 L	内部川	64	48	47	0	0	0	0	0	0	-	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**: グリホサート耐性のみ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**: グルホシネート耐性のみ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**: グリホサートとグル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。

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 1-5) 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、EPSPS8 および bar8 をプライマーとして用い、DNA シーケンサー (PRISM3130, Life Technologies, CA, USA) を用いて行なった。結果を図 1-5 に示す。

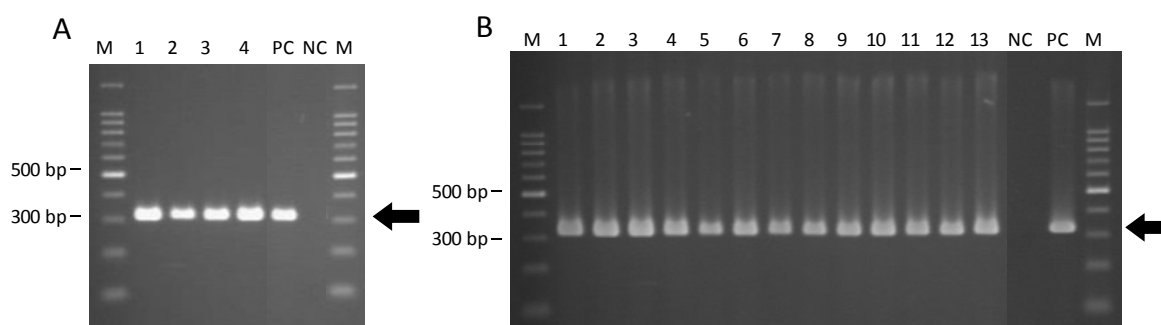


図 1-5 PCR による *cp4 epsps* 遺伝子(A)および *bar* 遺伝子(B)の検出の例

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* 遺伝子の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 4 (A) および 1 から 13 (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 32 試料のセイヨウナタネ種子、および 1 群落 1 試料の在来ナタネ母植物より採集された雑種種子由来の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。PCR 産物の塩基配列は、DNA Data Bank of Japan (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。一方、2 群

落2 試料のハマダイコン母植物より採集された種子由来の実生では除草剤耐性タンパク質は確認されなかった。結果を表 1-13 に示す。

表 1-13 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> **	母植物の結果	種子の結果
セイヨウナタネ							
1-011 - 1 L	鈴鹿川	-	-	+	+	PAT	PAT
1-013 - 1 L	鈴鹿川	-	-	+	+	PAT	PAT
1-016 - 1 L	雲出川	-	-	+	+	PAT	PAT
1-017 - 1 L	雲出川	-	-	+	+	PAT	PAT
1-017 - 2 L	雲出川	-	-	+	+	PAT	PAT
4-003 - 1 L	内部川	-	-	+	+	PAT	PAT
4-004 - 1 L	内部川	-	-	+	+	PAT	PAT
4-005 - 1 L	鈴鹿川	-	-	+	+	PAT	PAT
4-005 - 4 L	鈴鹿川	-	-	+	+	PAT	PAT
4-006 - 1 L	鈴鹿川	-	-	+	+	PAT	PAT
4-008 - 2 L	雲出川	-	-	+	+	PAT	PAT
4-008 - 3 L	雲出川	-	-	+	+	PAT	PAT
4-008 - 5 L	雲出川	-	-	+	+	PAT	PAT
4-008 - 6 L	雲出川	-	-	+	+	-	PAT
4-008 - 7 L	雲出川	-	-	+	+	PAT	PAT
4-009 - 2 L	雲出川	-	-	+	+	PAT	PAT
4-009 - 3 L	雲出川	+	+	+	+	PAT	PAT
4-011 - 1 L	雲出川	-	-	+	+	PAT	PAT
4-011 - 4 L	雲出川	-	-	+	+	PAT	PAT
4-012 - 4 L	雲出川	-	-	+	+	PAT	PAT
4-013 - 1 L	雲出川	-	-	+	+	PAT	PAT
4-015 - 1 L	雲出川	+	+	+	+	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS
4-016 - 2 L	雲出川	-	-	+	+	PAT	PAT
4-017 - 2 L	雲出川	+	+	+	+	PAT	PAT
4-017 - 4 L	雲出川	+	+	+	+	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS, PAT
4-017 - 5 L	雲出川	+	+	+	+	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS
4-017 - 6 L	雲出川	+	+	-	-	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS
4-019 - 1 L	雲出川	-	-	+	+	PAT	PAT
4-019 - 3 L	雲出川	+	+	-	-	-	CP4 EPSPS
4-019 - 4 L	雲出川	+	+	-	-	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS
4-019 - 5 L	雲出川	+	+	+	+	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS
4-019 - 7 L	雲出川	+	+	-	-	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS
在来ナタネ							
5-033 - 1 L	雲出川	-	-	+	+	-	PAT
ハマダイコン							
12-006 - 1 L	内部川	-	-	-	-	-	CP4 EPSPS
12-007 - 3 L	内部川	-	-	-	-	-	CP4 EPSPS

*-: 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。ただし、在来ナタネ試料(5-033-1L)では、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。空欄は分析せず。

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）。

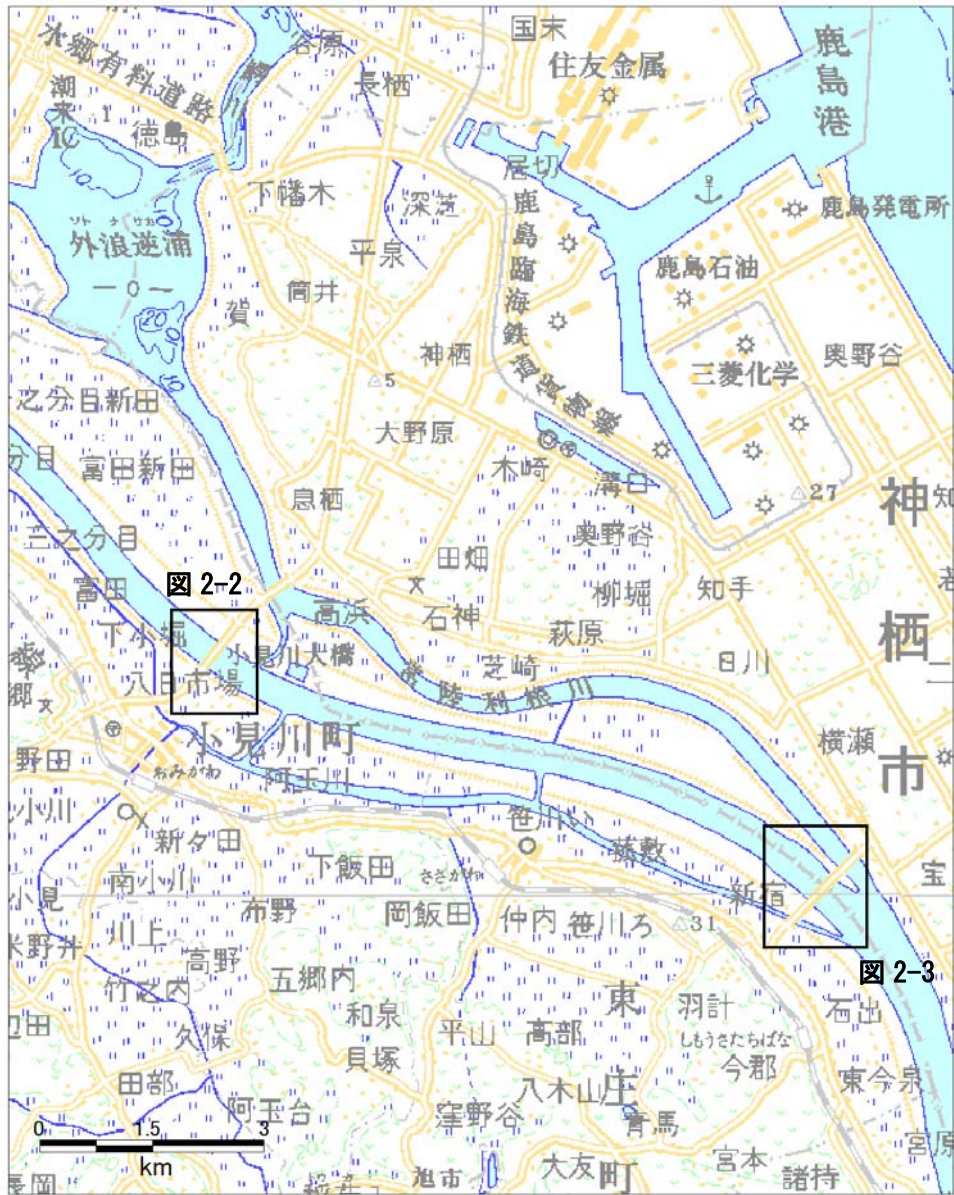


図 2-1 鹿島港周辺にある河川敷等における調査範囲の広域図(1/20 万図)

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 20000(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 25 情使、第 731 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 25 情使、第 731 号)



図 2-3 鹿島港周辺地域 利根川大橋付近(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 20000(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 25 情使、第 731 号)

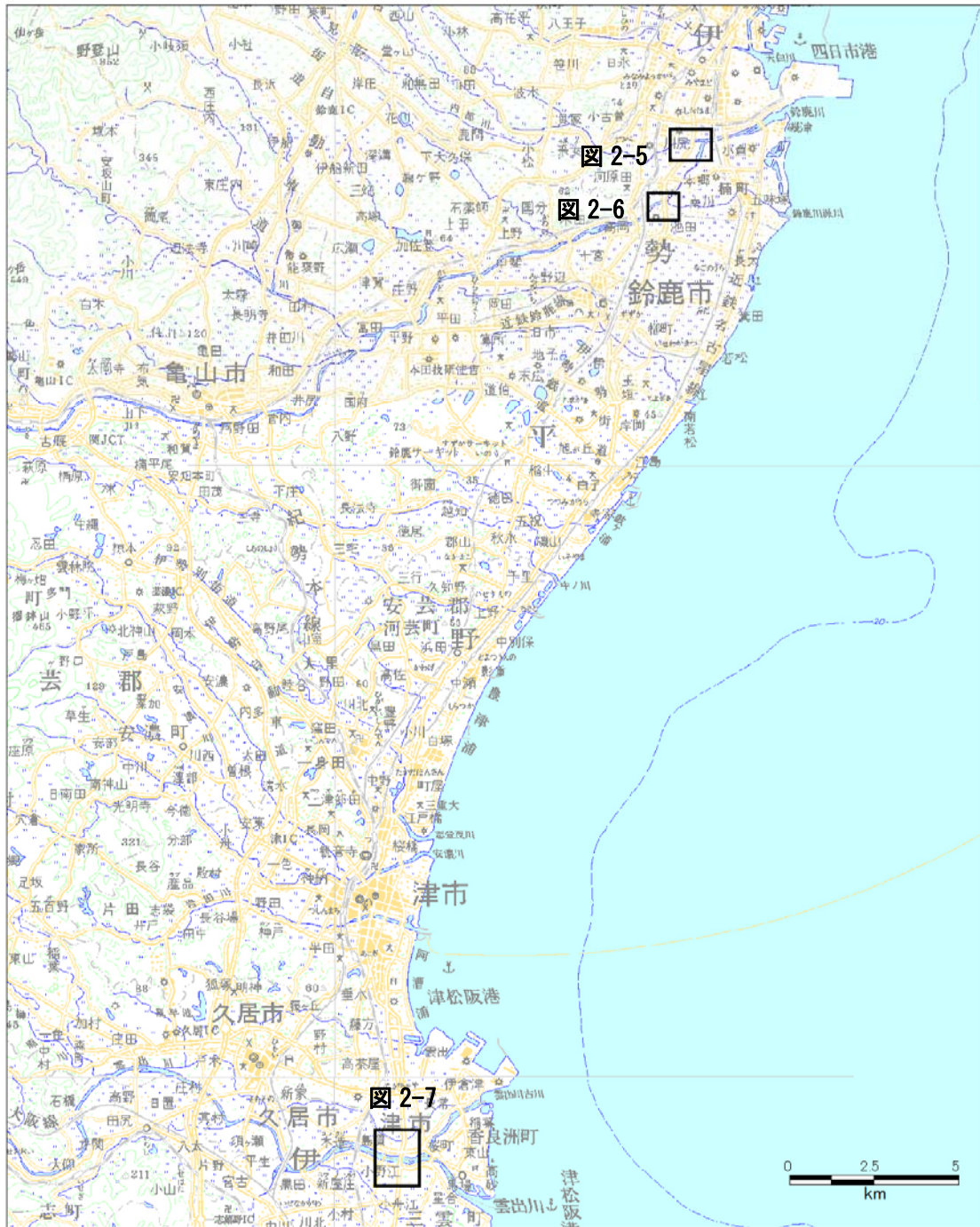


図 2-4 四日市港周辺にある河川敷等における調査範囲の広域図(1/20 万図)

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 20000(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 25 情使、第 731 号)

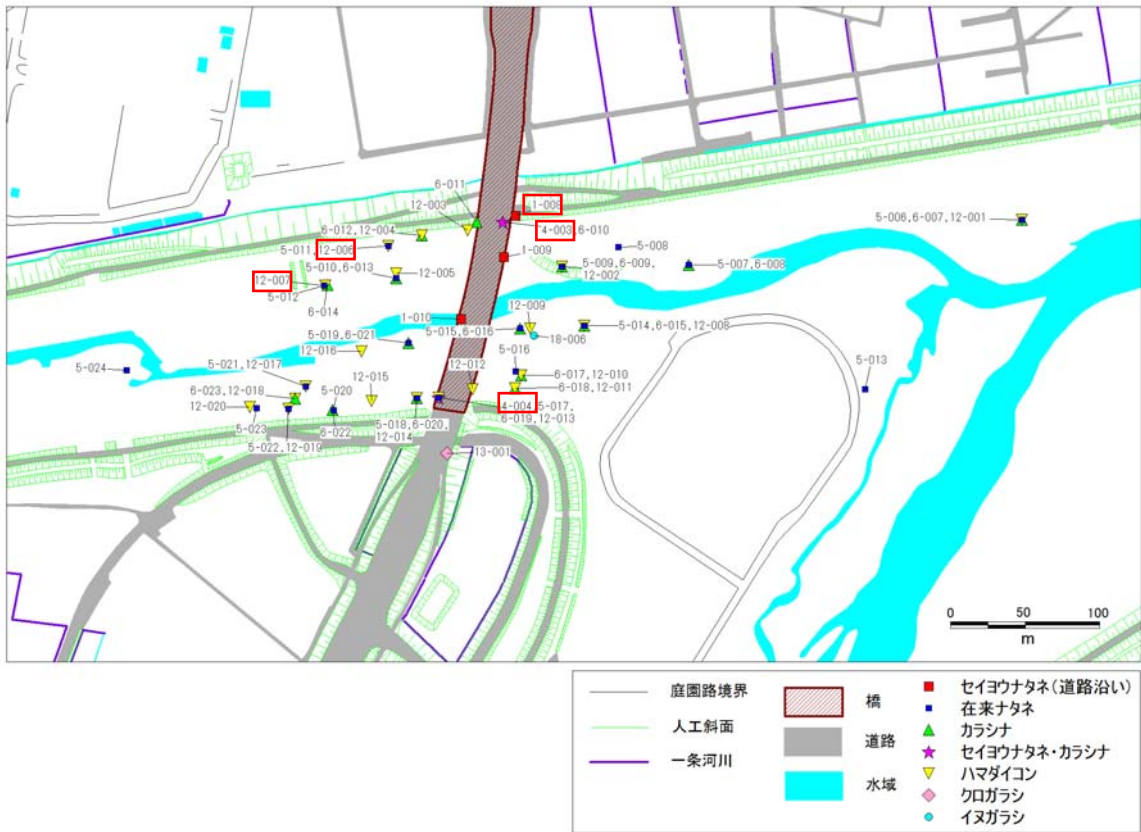


図 2-5 四日市港周辺地域① 塩浜大橋付近(内部川)

(12-006 は除草剤耐性ナタネが確認された群落)

12-006,12-007 は種子試料のみに除草剤耐性タンパク質(CP4 EPSPS)が検出された)

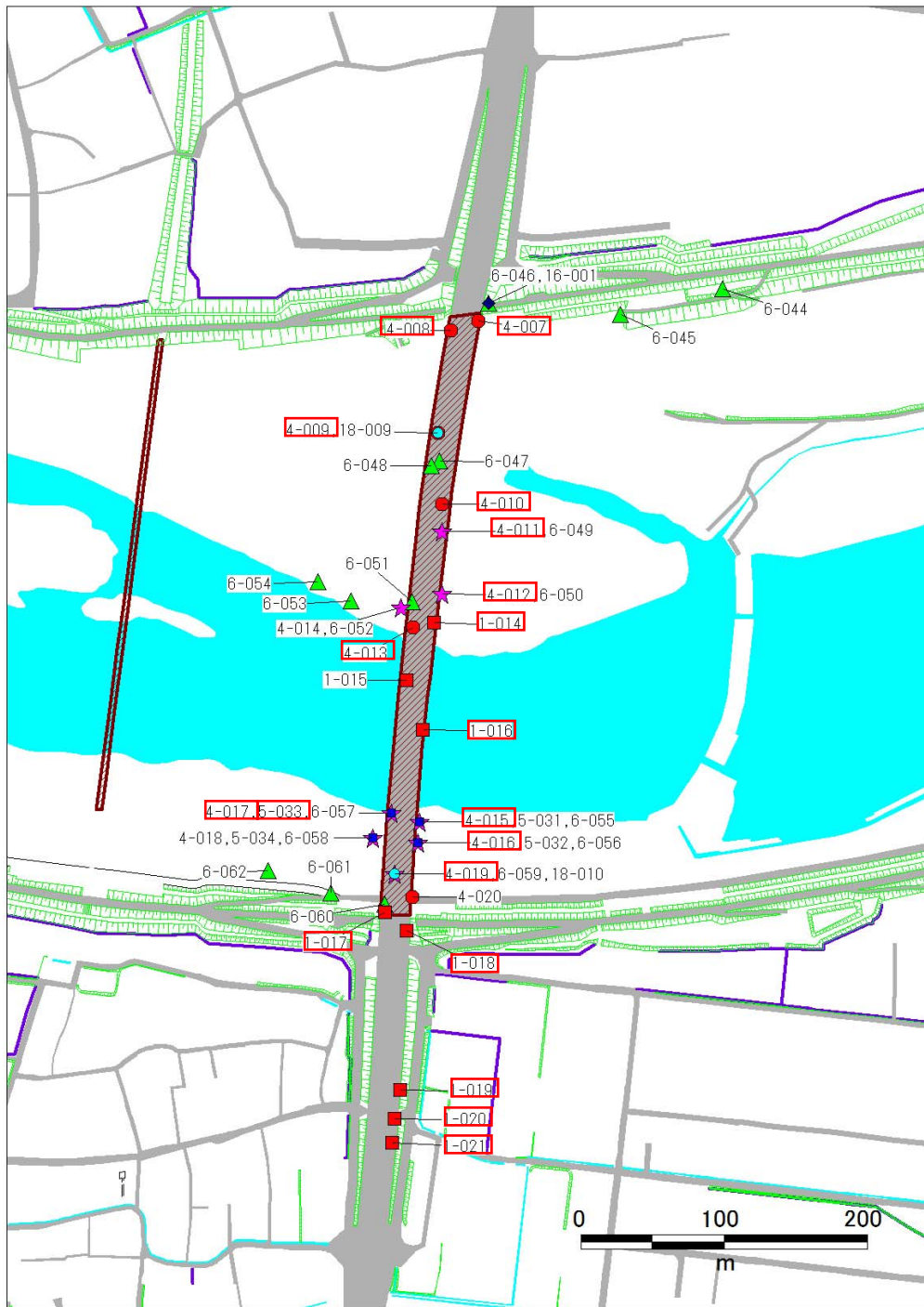
この地図は三重県市町総合事務組合管理者の承認を得て、同組合所管の「2006 三重県共有デジタル地図(数値地形図 2,500)」を使用し、調整したものである。(承認番号: 三総合地第 303 号)本成果を複製あるいは使用して地図を調整する場合は同組合の承認を必要とする。



図 2-6 四日市港周辺地域② 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)

この地図は三重県市町総合事務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 2,500)」を使用し、調整したものである。(承認番号:三総合地第 303 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。



—	庭園路境界	▨	橋	■	セイヨウナタネ(道路沿い)
—	人工斜面	■	道路	●	セイヨウナタネ
—	一条河川	■	水域	■	在来ナタネ
		■		▲	カラシナ
		■		★	セイヨウナタネ・カラシナ
		■		◆	ノハラガラシ
		■		●	イヌガラシ

図 2-7 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

5-033 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)

図2-7の地図は三重県市町総合事務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 2,500)」を使用し、調整したものである。(承認番号:三総合地第 303 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2-8 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 25 情使、第 731 号)

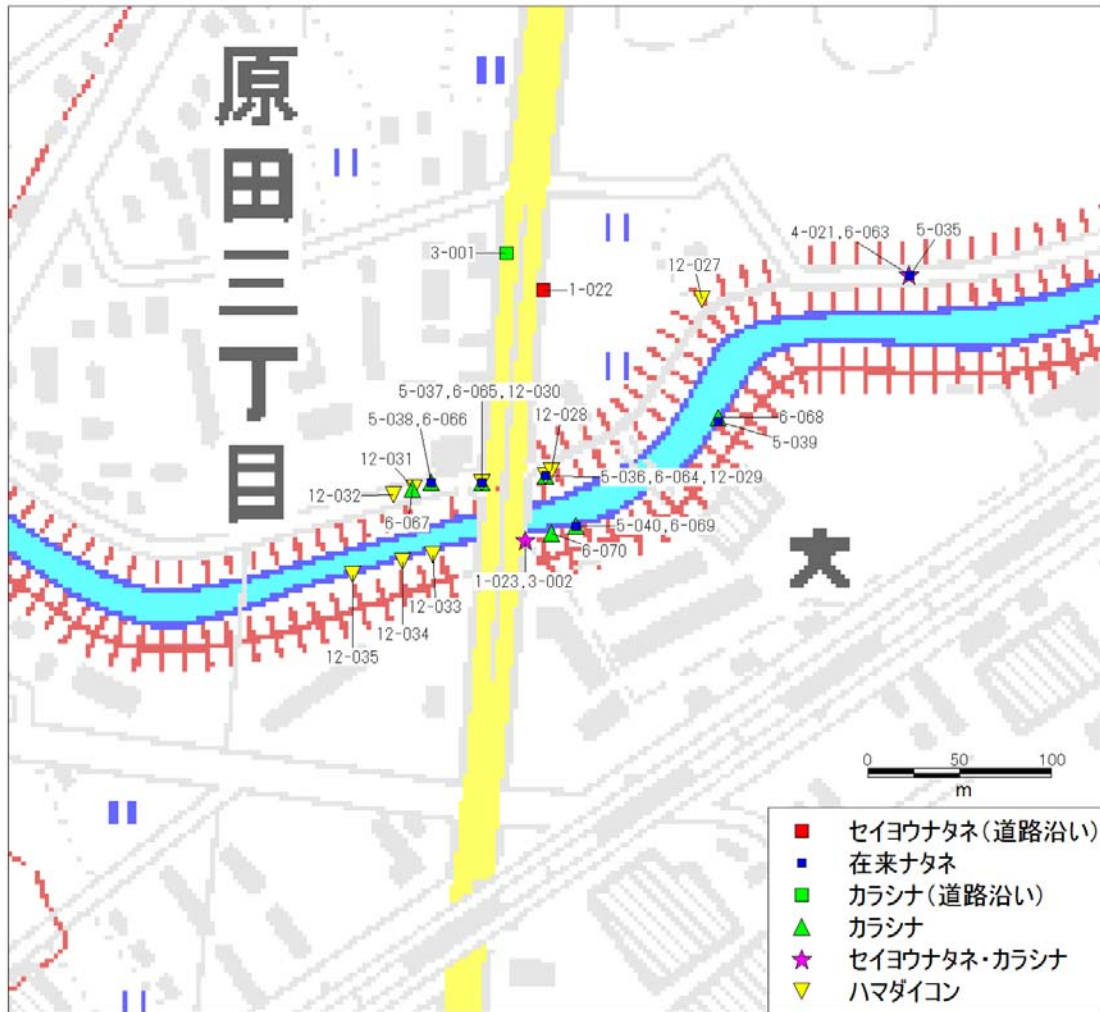


図 2-9 博多港周辺地域① (須恵川)

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 25 情使、第 731 号)

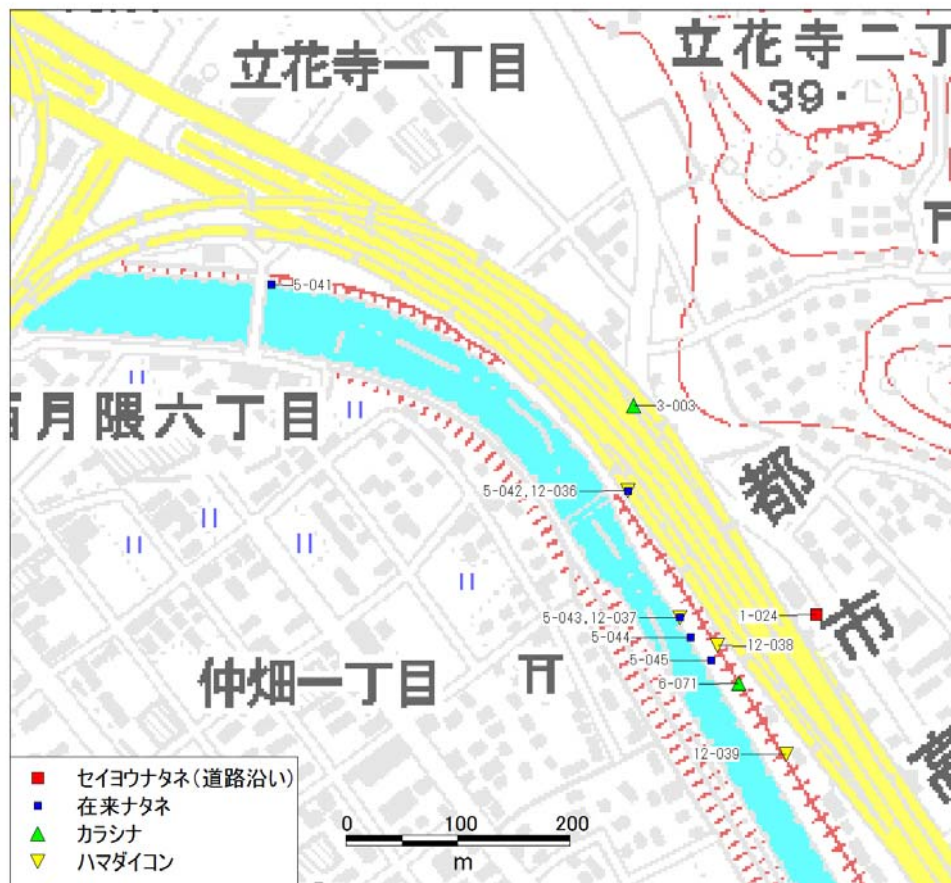


図 2-10 博多港周辺地域② (三笠川)

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 25 情使、第 731 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、22～25 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 16～25 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, 25	16, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25
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>25</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> , <u>25</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> , 25	17*, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25

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。今年度も昨年度同様、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 215 群落から採取された 573 試料の母植物組織について解析を行った。その結果、四日市地域においてのみ除草剤耐性タンパク質が検出された。四日市港周辺では、採取された 150 群落 428 試料（うちセイヨウナタネ 32 群落 83 試料）のうち 25 群落 53 試料のセイヨウナタネで除草剤耐性タンパク質が検出された。それに対し、鹿島港周辺の 25 群落の 44 試料（うちセイヨウナタネ 9 群落 11 試料）、博多港周辺の 40 群落の 101 試料（うちセイヨウナタネ 4 群落 4 試料）からは除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。

平成 20～24 年度の調査では、除草剤耐性タンパク質の検出された母植物の割合が鹿島地域で

は低く、平成 23 年度からは同地域で検出されなくなり、博多地域、四日市地域では高いという傾向が確認されていたが、今年度は博多地域では除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。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 6 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。

なお、四日市地域では、道路沿いを含め、セイヨウナタネの生育数が減る傾向にある。この理由は不明だが、道路改修工事や草刈りの状況等、人為的な影響のあった可能性が考えられる。

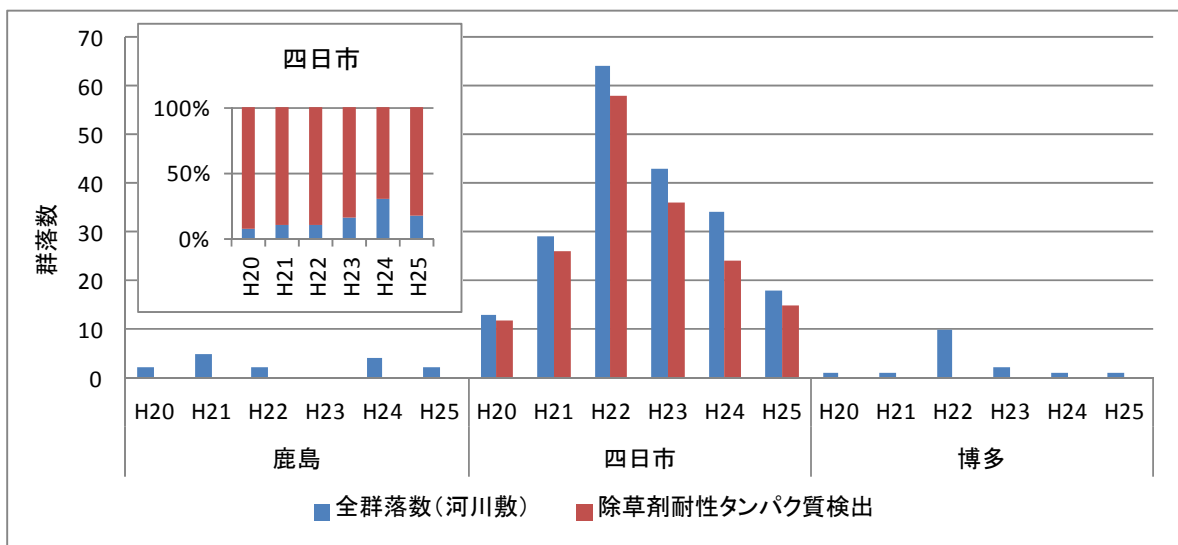


図 3-1 平成 20～25 年度の鹿島、四日市、博多各港湾地域の河川敷におけるセイヨウナタネ採取群落数と除草剤耐性ナタネ採取群落数の推移

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。

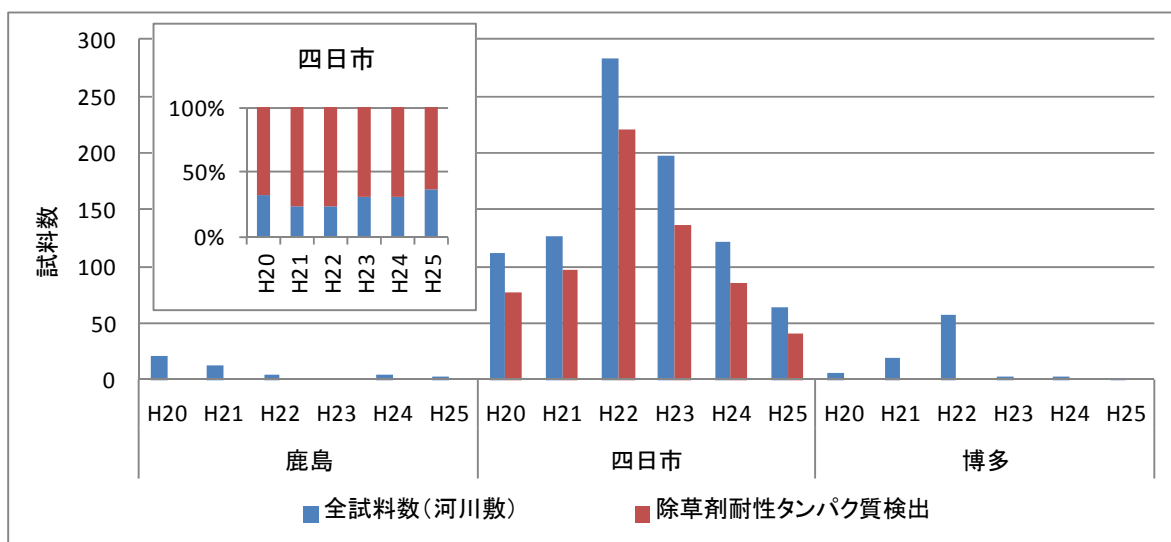


図 3-2 平成 20～25 年度の鹿島、四日市、博多各港湾地域の河川敷におけるセイヨウナタネ試料数と除草剤耐性ナタネ試料数の推移

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 19～25 年度）、鈴鹿大橋（平成 17、19～25 年度）、雲出大橋（平成 18、20～25 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。すなわち、これらの河川敷においては、セイヨウナタネの除草剤耐性遺伝子の有無にかかわらず、在来ナタネとの交雑が起きていることが示唆された。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、昨年度に引き続き今年度も橋梁直下近辺 150 m 程度を中心に調査を行った。また、今年度は昨年度同様、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）。今年度も昨年度に引き続き、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、前述のように今年度は鹿島港周辺地域と博多港周辺地域では除草剤耐性ナタネは確認されなかった。

また、四日市港周辺地域 23 群落で採取されたセイヨウナタネ種子 51 試料中、17 群落 32 試

料（うち河川敷等は 13 群落 27 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 6 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 CP4 EPSPS、あるいは 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、一つの耐性遺伝子を持つ遺伝子組換え母植物の雌しべに別の耐性遺伝子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¹⁷⁾、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、FCM 解析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 FCM 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、FCM 解析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 FCM 解析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。平成 24 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が、今年度の調査では、雲出大橋下の在来ナタネ母植物から採取された種子で PAT タンパク質が検出され、FCM 解析の結果、当該種子試料由来の実生のうち PAT タンパク質を持つ個体はセイヨウナタネと在来ナタネとの雑種であることが示唆された（図 1-4）。

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¹⁸⁾。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。昨年度同様、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。本調査でも、これら3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。

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。ハマダイコンは、従来は奈良時代頃に導入された栽培種のダイコンから派生した古い時代の外来種という扱いであったが、最近の研究の結果、我が国の栽培種のダイコンの祖先の一つとなった在来種である可能性が報告されている¹⁹⁾。ダイコンについては、セイヨウナタネとの人為的な交雑例がごく少数報告されているのみであり、雑種種子（交雑胚）が形成されたとしても、発芽能を持つ種子を得られる可能性は非常に低いと考えられる^{20), 21)}。ハマダイコンとセイヨウナタネにおいても、発芽能を持つ雑種種子ができる可能性は低く、生物多様性に影響する可能性は極めて低いと考えられる。

今回の調査で、塩浜大橋下のハマダイコン母植物2群落2試料から採取された種子試料においてCP4 EPSPS タンパク質が検出された。このことは、試料中に *cp4 epsps* 遺伝子を持つ除草剤耐性ナタネを花粉親としたハマダイコンとの雑種種子が含まれていた可能性を示唆している。雑種種子であることを確認するためには、タンパク質の検出だけではなく、除草剤耐性遺伝子の確認や、染色体数の確認等が必要である。しかし、タンパク質の分析に用いた種子は破碎して使いきってしまうため、同じ種子を用いたPCRによる *cp4 epsps* 遺伝子の確認は実施できなかった。また、残りの種子試料由来の実生や未発芽の種子からはCP4 EPSPS タンパク質は検出されなかった。そのため、今回CP4 EPSPS タンパク質が検出された種子試料に *cp4 epsps* 遺伝子を持つ雑種種子が含まれていることは確認できなかった。今後もナタネ類、カラシナと同様に、四日市地域の河川敷等を中心にハマダイコンと除草剤耐性ナタネとの交雑の実態を把握し、調査分析を継続していくべきである。

4.3 分析方法等

平成20～24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、FCM 解析による核内の相対 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、FCM 解析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 21～24 年度と同様に FCM 解析による試料の分析を行った。

FCM 解析を行う母植物試料として、平成 23 年度までは野外採取地で切り取った葉を用いていたが、今年度は昨年度同様、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、雑種と推定される母植物試料は確認されなかった。しかし、今年度は鉢植えにした 11 個体の母植物のうち 9 個体は葉が枯れてしまったため、野外で採集した植物体の輸送や栽培に当たっては温度や水等の注意深い管理が必要であると考えられた。なお、葉が採取できなかった母植物からも、母植物の採取時に結実していた種子を回収し、FCM 解析による解析を行って母植物の種の同定を行った。さらに、在来ナタネ母植物から採取された種子試料のうち 1 試料から除草剤耐性タンパク質が検出されたが、当該種子試料由来の実生個体の FCM 解析を行った結果、除草剤耐性タンパク質を持つ個体はセイヨウナタネと在来ナタネの雑種であり、除草剤耐性タンパク質を持たない個体は在来ナタネであると判定された。

FCM 解析による分析では、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。一方、 $2n=18$ のハマダイコンとセイヨウナタネとの雑種の判定には FCM 解析が有用であると考えられる。しかし、いずれも F_2 世代以降の雑種が生じた場合には、FCM 解析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雑や、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。また、今年度はハマダイコンの種子から除草剤耐性タンパク質が検出された。既往の文献では、ハマダイコンとセイヨウナタネに雑種が形成される可能性は低いとされており、仮に雑種種子が形成されたとしても、発芽能力を持つ種子が得られる可能性は非常に低いと考えられる。しかしながら、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ており、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、近縁種（ハ

マダイコン) への遺伝子流動の可能性の有無や、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注目して、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) 独立行政法人国立環境研究所 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 (http://www.bch.biodic.go.jp/natane_24.html)
- 16) 財団法人自然環境研究センター 環境省請負業務「平成 25 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 26 年 3 月
- 17) Consensus Document on the Biology of *Brassica napus* L. (Oilseed rape) No. 7, 1997, OCDE/GD(97)63
- 18) 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
- 19) 山岸 (2006) 栽培、野生ダイコンにおける系統分化とオグラ型雄性不稔細胞質の起源. *育種学研究* 8, 107-112
- 20) Scheffler, J.A. and Dale, P.J. (1994) Opportunities for gene transfer from transgenic oilseed rape (*Brassica napus*) to related species. *Transgenic Research* 3, 263-278
- 21) Yarnell, S.H. (1956) Cytogenetics of the Vegetable Crops. II. Crucifers. *The Botanical Review* 22(2), 81-166

平成 25 年度環境省請負業務
平成 25 年度遺伝子組換え生物による影響監視調査報告書

2014 年（平成 26 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。

