

令和 2 年度環境省請負業務

令和 2 年度遺伝子組換え生物による影響監視調査

報 告 書

令和 3 年 3 月

国立研究開発法人 国立環境研究所

目次

概要	1
Abstract	3
1. 背景と目的	6
2. 調査体制	7
3. 内容と結果	9
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	10
3.1.1 母植物組織の除草剤耐性タンパク質の調査	16
3.1.2 種子の除草剤耐性タンパク質の調査	27
3.1.3 実生の除草剤耐性分析	39
3.1.4 除草剤耐性実生のタンパク質及び遺伝子分析	41
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	43
4. 考察	50
4.1 過去の調査結果との比較	50
4.2 在来ナタネ・カラシナその他の近縁種との交雑	53
4.3 分析手法等	55
4.4 展望	56
5. 引用文献	58

概要

【調査目的】

「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に図るため、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セイヨウナタネ（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、その使用等に当たっては、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。

【これまでの調査内容】

平成 15～20 年度の調査では、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。）を対象としているが、そのうち、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、四日市及び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、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が、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。

【今年度の調査結果】

鹿島、四日市及び博多の 3 つの地域の主として主要道沿いの河川敷周辺において、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、ハマダイコン（*Raphanus sativus var. raphanistroides*）、ノハラガラシ（*Sinapis arvensis*）から、試料として、母植物組織（葉）及び種子（一部は母植物組織のみ、または種子のみ）の採取を行った。

今年度の調査では、鹿島地域ではセイヨウナタネの生育が確認されなかったため、四日市、博多の 2 地域の合計 142 群落から採取された母植物組織（313 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）の分析を行った。その結果、四日市地域の試料（128 群落（291 試料））から除草剤耐性タンパク質が検出された（18 群落（32 試料））が、博多地域の試料（14 群落（22 試料））からは検出されなかった。なお、平成 23～31 年度の調査において、鹿島地域では平成 27 年度のみに、博多地域では平成 23～24 年度、平成 26～27 年度、平成 29 年度及び平成 31 年度に、四日市地域では毎年度に、それぞれ採取試料から除草剤耐性タンパク質が検出されている。

四日市地域の河川敷における今年度の調査では、外見からは在来ナタネと思われる母植物 1 群落（2 試料）の組織を対象にフローサイトメトリー及び DNA マーカー解析を行い、種の同定を試みたところ、結果的にこれらの個体は雑種と推定されなかった。なお、平成 24～25 年度及び平成 29～31 年度に雑種と推定される個体は確認されなかったが、平成 21～23 年度及び 26～28 年度には雑種と推定される個体の生育が確認されている。これらの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周辺に集中していた。

また、四日市地域の道路沿いで 1 群落（1 試料）のカラシナの生育が確認されたが、この種子試料では除草剤耐性タンパク質は確認されなかった。なお、道路沿いにおけるカラシナの生育に関しては、博多地域では平成 24～25 年度、27～29 年度及び 31 年度、四日市地域では平成 26～31 年度にそれぞれ確認されているが、いずれの採取試料からも、除草剤耐性タンパク質は確認されなかった。

今年度の調査結果を過年度の調査結果と合わせて評価した結果、これまでに、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との交配や、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、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たものであり、拡大の傾向も見られず、確認されている地点も毎年異なっており定着は確認されていないことから、生物多様性影響が生ずるおそれはないと考えられた。

Abstract

Purpose of this survey

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 on 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.

Herbicide-tolerant *B. napus*, which is presently used in Japan, has been assessed and confirmed as not being harmful to biodiversity in its “use for the provision of food, animal feed or other purposes, cultivation and other growing activities, processing, storage, transportation, disposal, and other acts attendant with these applications” based on the Cartagena Law. Although estimation of the effect of spillage of seeds during transportation is included in the above activities, the present survey examined situations involving the growth of herbicide-tolerant *B. napus* to verify that there is no risk of biodiversity being affected by spilled seeds.

Contents of previous surveys

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. In surveys from 2003 to 2008, the presence of herbicide-tolerant *B. napus* was confirmed in and around eight of these ports, namely, Kashima, Chiba, Shimizu, Nagoya, Yokkaichi, Kobe, Mizushima, and Hakata, as well as along the roadsides of major roadways for transporting oilseed rape. In three of the eight areas, Kashima, Yokkaichi, and Hakata, the following two points have 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 collected samples was very small in Kashima but comparatively large in Yokkaichi and Hakata. Seeds of possible hybrids between herbicide-tolerant and non-transgenic *B. napus*, between two different types of herbicide-tolerant *B. napus*, and between herbicide-tolerant *B. napus* and *Brassica rapa* (an alien species derived from cultivation) were collected at riverbanks near the junction of a bridge on the main roadway and a river in Yokkaichi.

Therefore, the survey has been conducted since 2009 in the Kashima, Yokkaichi, and Hakata areas, with relatively large numbers of *B. napus* possibly derived from spilled seeds. A follow-up survey was conducted along the main roadway near the ports in Kashima and Hakata, and was completed in 2010. In Yokkaichi, also ending in 2010, the distribution of herbicide-tolerant *B. napus* and the gene flow to related species (*B. rapa* and *Brassica juncea*) were investigated in detail around the banks of three rivers under the bridges of the main roadway where the growth of herbicide-tolerant *B. napus* was confirmed. The survey area was extended along the riverbanks to the upstream and downstream areas of the rivers from the bridges. Since 2011, surveys have mainly been conducted in riverbanks along the roadsides of major roadways for all the port areas.

Results of 2020 survey

In 2020, samples of maternal tissues (leaves) and/or seeds were collected from *Raphanus sativus* var. *raphanistroides*, *Sinapis arvensis*, *B. rapa*, and *B. juncea* (all as related crossable species of *B. napus*). The samples were collected mainly around riverbanks along the main roadways in three port areas: Kashima, Yokkaichi, and Hakata.

In 2020, from 142 colonies in the two port areas, Yokkaichi and Hakata, 313 samples of maternal tissue were collected and analyzed using immunochromatography for two proteins, CP4 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) and phosphinothricin-N-acetyltransferase (PAT), which confer herbicide tolerance. As a result, these herbicide-tolerant proteins were detected in the samples of maternal tissue collected from the Yokkaichi port area (18 of the 128 colonies; 32 of 291 samples). No herbicide-tolerant proteins were detected in the Hakata port area, where 22 samples were collected from 14 colonies. The herbicide-tolerant protein was detected in the Kashima port area in 2015, in the Hakata port area in 2011, 2012, 2014, 2015, 2017, and 2019, and in the Yokkaichi port area each year during the period 2011–2019.

By flow cytometry and DNA marker analysis for identifying species, 2 samples from 1 colony of maternal plants on Yokkaichi riverbanks that were morphologically considered to be *B. rapa* were confirmed not to be hybrids. Although no possible hybrids were detected in 2012, 2013, 2017, 2018 or 2019, the presence of putative hybrids was confirmed in 2009, 2010, 2011, 2014, 2015, and 2016. Herbicide-tolerant *B. napus* were detected only near the bridges of the main roadway over the rivers, consistent with previous results obtained until 2019.

One seed sample from 1 colony along the roadsides of the Yokkaichi port area

was confirmed to be *B. juncea*, and no herbicide-tolerant proteins were detected in these seeds. The presence of *B. juncea* along the roadsides was confirmed in the Hakata port area in 2012, 2013, 2015, 2016, 2017, and 2019, and in the Yokkaichi port area in 2014–2019, and no herbicide-tolerant proteins were detected in these *B. juncea*.

The results based on the 2020 and previous surveys have confirmed the distribution of herbicide-tolerant plants, crossing between herbicide-tolerant *B. napus* and non-transgenic *B. napus*, and between two types of herbicide-tolerant *B. napus*, as well as gene flow between related species so far. However, these have been confirmed only along major transportation roadways. Furthermore, this phenomenon was confirmed to have a low expansion tendency. Since the confirmed points of presence are different every year and no establishment has been confirmed, it was considered that there is no risk of biodiversity impact.

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、適切なリスク評価及びリスク管理がなされることが求められている。

生物の多様性に関する条約のバイオセーフティに関するカルタヘナ議定書の国内担保法「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、その使用等に当たっては、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 15~20 年度の調査では、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。)を対象としているが、そのうち、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¹⁻¹⁰⁾。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、四日市及び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おり、そのことは日本の野外一般環境に自生しているセイヨウナタネの遺伝的多様性の解析結果からも示唆されている¹¹⁾。

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*)及びカラシナ(*B. juncea*)との間でも種間交雑を行うことが知られている。これら 3 種は、いずれも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及びカラシナについても港湾地域とその周辺地域で、種子サンプルの採取とそれらの遺伝子分析を実施してきた^{1), 2), 7-9), 12-22)}。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⁴⁾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^{1-3), 7), 8)}。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^{9), 10)}。

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¹²⁻²²⁾。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として主要道沿い（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¹⁴⁻²²⁾。今年度の試料は、「令和2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」という。）²³⁾において採取された、セイヨウナタネと交雑可能な近縁種である在来ナタネ、カラシナ、ハマダイコン (*Raphanus sativus* var. *raphanistroides*) 及びノハラガラシ (*Sinapis arvensis*) を対象とした。

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*)、ノハラガラシ (*Sinapis arvensis*)、クロガラシ (*B. nigra*)、イヌガラシ (*Rorippa indica*)、セイヨウノダイコン (*Raphanus raphanistrum*)、ハリゲナタネ (*B. tournefortii*) その他^{*2} の生育状況調査及び分析のための試料のサンプリング^{*3}

一般財団法人自然環境研究センター 大原 佑太他

^{*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²³⁾。

2) 除草剤耐性遺伝子の流動に関する解析

国立研究開発法人国立環境研究所 青野 光子他

研究協力（フローサイトメトリー、DNA マーカー解析）：

国立大学法人 筑波大学 津田 麻衣

3) 報告書の作成

国立研究開発法人国立環境研究所 青野 光子他

4) 検討会の開催

令和2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

令和3年 2月22日（ウェブ会議による開催（Webex 会議室 73））

学識経験者 検討委員

委員長 大澤 良（国立大学法人筑波大学生命環境系 教授）

委員 伊藤元己（国立大学法人東京大学大学院総合文化研究科 教授）

委員 田部井 豊（国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構
企画戦略本部新技術対策室 室長）

環境省 自然環境局 野生生物課 外来生物対策室

室長 北橋 義明

係長 内山 重輝

農林水産省 消費・安全局 農産安全管理課

分析官 春日 健二

技官 吉持 賛花

一般財団法人自然環境研究センター

研究員 大原 佑太

研究員 森脇 大樹

国立研究開発法人国立環境研究所

生物・生態系環境研究センター 環境ストレス機構研究室

室長 青野 光子

環境ゲノム科学研究推進室

室長 中嶋 信美

3. 内容と結果

(概 要)

セイヨウナタネの輸入港のうち 四日市、博多の 2 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、ハマダイコン及びノハラ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及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、及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母植物組織から抽出したゲノム DNA を用いた DNA マーカー解析（セイヨウナタネは有しており、在来ナタネは有していない C ゲノムに特有な配列を検出する DNA マーカーを用いて種を同定する²⁴⁾。）を行った。なお、鹿島港周辺地域ではセイヨウナタネの生育が確認されなかったため、試料採取は行わなかった。

合計 142 群落（313 試料）の母植物組織に対して、免疫クロマトグラフ法により除草剤（グリホサート及びグルホシネート）耐性タンパク質の有無を分析した結果、四日市地域で採取された試料 128 群落（291 試料）のうち 18 群落（32 試料）の母植物試料から除草剤耐性タンパク質が検出された。博多地域で採取された試料 14 群落（22 試料）では除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。なお、鹿島地域では平成 27 年度のみに、博多地域では平成 23～24 年度、平成 26～27 年度、平成 29 年度及び平成 31 年度に、四日市地域では毎年度に、それぞれ採取試料から除草剤タンパク質が検出されている。

四日市地域の河川敷における今年度の調査では、外見からは在来ナタネと思われる母植物 1 群落（2 試料）の組織を対象にフローサイトメトリー及び DNA マーカー解析を行い、種の同定を試みたところ、結果的にこれらの個体は雑種と推定されなかった。なお、平成 24～25 年度及び 29～31 年度に雑種と推定される個体は確認されなかったが、平成 21～23 年度及び 26～28 年度には雑種と推定される個体の生育が確認されている。平成 31 年度には、除草剤耐性タンパク質が検出されなかった母植物由来の種子及び種子由来の実生から除草剤耐性タンパク質が検出されたセイヨウナタネの個体が確認され、さらに、1 種類の除草剤耐性タンパク質のみが検出された母植物由来の種子及び、または種子由来の実生から 2 種類の除草剤耐性タンパク質が検出されたセイヨウナタネの個体が確認された。こうした過去の結果から、母植物が生育していた場所において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示唆された。なお、今年度に同地域で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。

また、四日市地域の道路沿いでは 1 群落（1 試料）のカラシナの生育が確認されたが、この試料から除草剤タンパク質は確認されなかった。なお、道路沿いにおけるカラシナの

生育に関しては、博多地域では平成 24～25 年度、27～29 年度及び 31 年度に、四日市地域では平成 26～31 年度にそれぞれ確認されているが、いずれの採取試料からも除草剤耐性タンパク質は確認されなかった。

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

別途実施されたサンプリング業務²³⁾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、セイヨウノダイコン、ハリゲナタネ、キャベツ、シロガラシ、ダイコンモドキ、ロボウガラシ、オハツキガラシ及びハタザオガラシの生育状況が調査され、博多地域と四日市地域でナタネ類、カラシナ、ハマダイコン及びノハラ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、さらに一部の植物からは種子も採取された。

種の同定は、サンプリング業務において母植物の形態に基づいて行い、その上で、採取された試料の一部を対象に、母植物組織を用いた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。）及び母植物組織から抽出したゲノム DNA を用いた DNA マーカー解析を実施することで行った^{24), 25)}。過去の事例では、形態から在来ナタネとして同定された植物において、除草剤耐性タンパク質が検出されたうえ、FCM 解析や DNA マーカー解析を通じて最終的に雑種と推定された試料があったことから、今年度の調査では、サンプリング業務において種の同定が困難な試料は認められなかったものの、形態上、在来ナタネとして同定された試料の一部を対象に FCM 解析及び DNA マーカー解析による確認を行った。

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 1 ml (D-PBS (8 g / 1 NaCl, 1.15 g / 1 Na₂HPO₄, 0.2 g / 1 KCl, 0.2 g / 1 KH₂PO₄), 0.1% Triton X-100, 0.1 % Tali® Viability kit Dead Cell Red (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) 溶液中で、液体窒素で凍結させた葉（約 5 × 5 mm）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 (CyFlow Ploidy Analyser, Sysmex Partec GmbH, Görlitz, Germany) にて DNA の蛍光強度を測定した。

採取した母植物組織（葉）2 試料を用いた FCM 解析及び DNA マーカー解析の結果、2 試料においてそれぞれ種が同定され、いずれも雑種と推定されないことが確認された。これらの結果を図 1、表 1 に示す。

母植物試料及び種子試料のそれぞれにおける採取群落数と試料数について、表 2、3 に示す。また、試料番号の付け方を表 4 に示す。

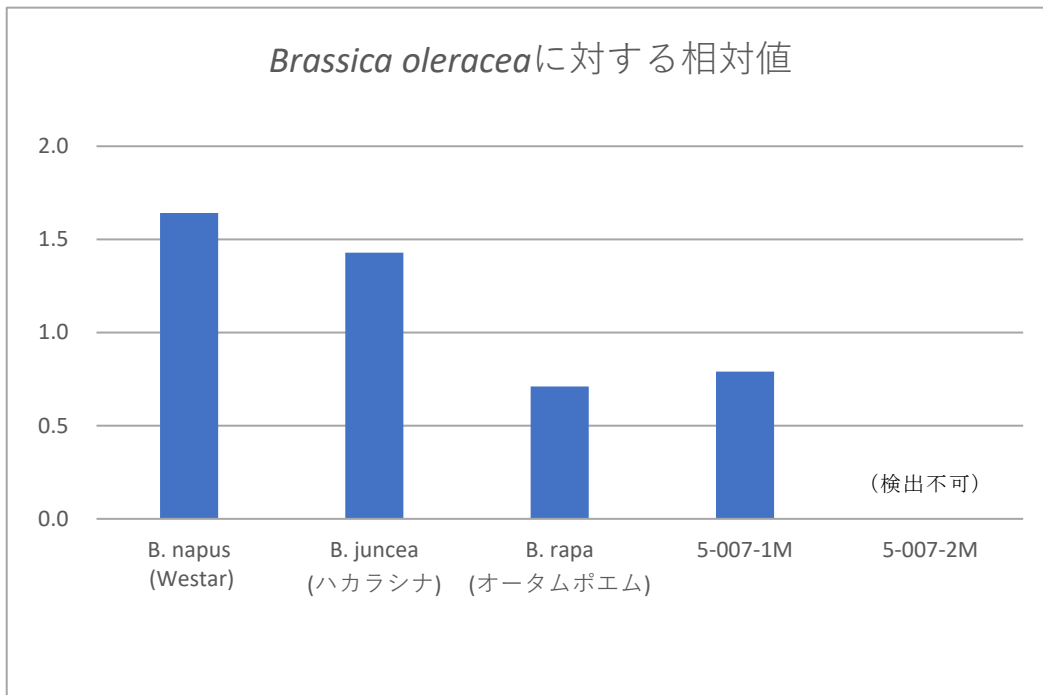


図1 母植物葉を用いた FCM 解析

縦軸は粒子(細胞)当たりの相対 DNA 量をキャベツ(*Brassica oleracea*)で得られた値に対する相対値として示しており、染色体数を反映している。試料番号の説明については表4を参照。

表 2 ナタネ類とカラシナ、ハマダイコン、ノハラ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		ノハラガラシ		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	
鹿島	利根川	小見川大橋	道路沿い	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			河川敷	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
四日市	内部川	塩浜大橋	道路沿い	0	0	0	0	0	0	3	4	0	0	3	4	
			河川敷	2	13	1	2	11	29	23	50	0	0	37	94	
	鈴鹿川	鈴鹿大橋	道路沿い	6	8	0	0	0	0	0	0	0	0	6	8	
			河川敷	3	3	0	0	54	140	9	17	0	0	66	160	
	雲出川	雲出大橋	道路沿い	6	9	0	0	0	0	0	0	1	3	7	12	
			河川敷	4	6	0	0	4	6	1	1	0	0	9	13	
	博多	須恵川	博多バイパス	道路沿い	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				河川敷	1	1	3	8	2	4	3	4	0	0	9	17
御笠川		国道3号線	道路沿い	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
			河川敷	0	0	0	0	0	0	4	4	0	0	4	4	
合計			道路沿い	13	18	0	0	0	0	3	4	1	3	17	25	
			河川敷	10	23	4	10	71	179	40	76	0	0	125	288	
全体の合計					23	41	4	10	71	179	43	80	1	3	142	313
					18	32	0	0	0	0	0	0	18	32		

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 3 ナタネ類とカラシナ、ハマダイコン、ノハラ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	セイヨウナタネ		在来ナタネ		カラシナ		ハマダイコン		ノハラガラシ		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	
鹿島	利根川	小見川大橋	道路沿い	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			河川敷	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
四日市	内部川	塩浜大橋	道路沿い	0	0	0	0	0	0	2	5	0	0	2	5	
			河川敷	2	2	9	11	42	97	33	76	0	0	86	186	
	鈴鹿川	鈴鹿大橋	道路沿い	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	
			河川敷	1	2	0	0	47	132	4	6	0	0	52	140	
	雲出川	雲出大橋	道路沿い	3	5	0	0	1	1	0	0	1	3	5	9	
			河川敷	2	3	0	0	10	20	0	0	0	0	12	23	
	博多	須恵川	博多バイパス	道路沿い	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				河川敷	1	1	3	16	4	12	1	1	0	0	9	30
御笠川		国道3号線	道路沿い	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
			河川敷	0	0	4	4	1	3	11	26	0	0	16	33	
合計			道路沿い	6	9	0	0	1	1	2	5	1	3	10	18	
			河川敷	6	8	16	31	104	264	49	109	0	0	175	412	
全体の合計				12	17	16	31	105	265	51	114	1	3	185	430	

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 4 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 S: 種子 L: 種子由来の実生
2	在来ナタネ				
3	カラシナ				
4	セイヨウナタネ	河川敷等			
5	在来ナタネ				
6	カラシナ				
11	ハマダイコン	道路沿い			
12		河川敷等			
15	ノハラガラシ	道路沿い			
16		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。

3.1.1 母植物組織の除草剤耐性タンパク質の調査

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CP4 EPSPSタンパク質及びPATタンパク質の検出を行った。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（0.5～1ml）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2）。

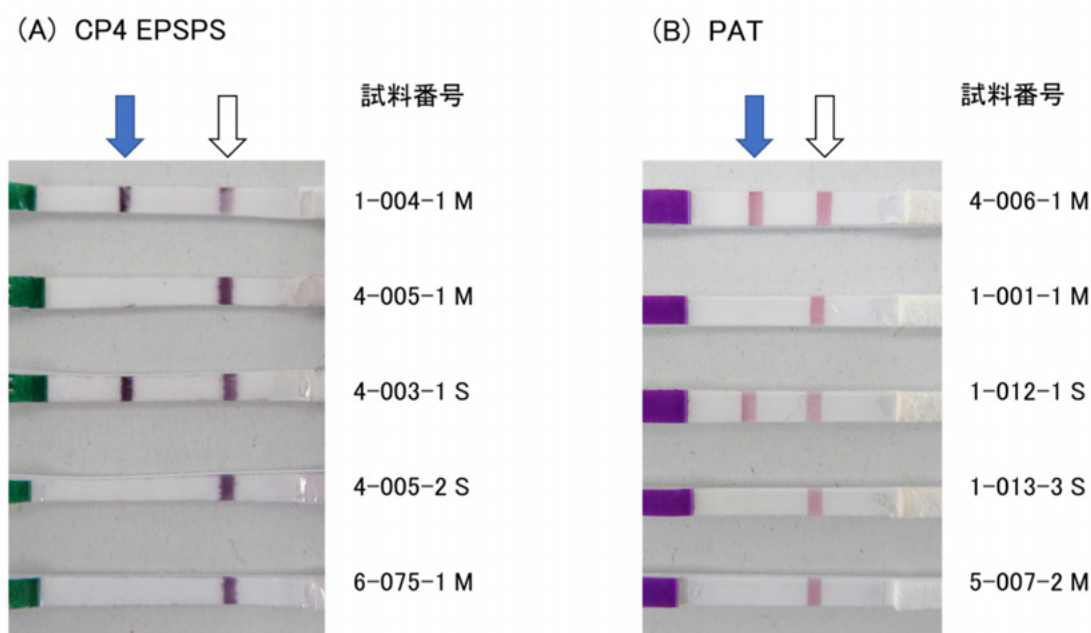


図2 免疫クロマトグラフ法によるグリホサート耐性タンパク質CP4 EPSPS(A)及びグリホシネート耐性タンパク質PAT(B)の検出の例

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(A)または PAT タンパク質(B)を検出した。

青矢印:CP 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1-004-1Mと4-003-1S、B では4-006-1Mと1-012-1S 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。

表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母植物採取群落数及び試料数、並びに除草剤耐性タンパク質が検出された採取群落数及び試料数を示す。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 タンパク質及びPAT タンパク質の調査結果を表5に示す。表6～7に試料ごとの種名、試料番号、採取地点近傍の河川名、検出結果、及び種子試料採取の有無を示す。

セイヨウナタネ母植物の分析結果

2つの港湾周辺の地域の23群落から41試料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）の分析を行った。その結果、四日市地域で採取された21群落（道路沿い12群落、河川敷等9群落）の39試料（道路沿い17試料、河川敷等22試料）のセイヨウナタネのうち18群落（道路沿い11群落、河川敷等7群落）の32試料（道路沿い15試料、河川敷等17試料）に除草剤耐性タンパク質が検出された。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。博多地域では、採取された2群落（道路沿い1群落、河川敷1群落）2試料（道路沿い1試料、河川敷等1試料）のセイヨウナタネの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。

在来ナタネ母植物の分析結果

2つの港湾周辺の地域の河川敷の4群落（いずれも河川敷等）から10試料（いずれも河川敷等）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）の分析を行った結果、除草剤タンパク質を持った在来ナタネは確認されなかった。

カラシナ母植物の分析結果

2つの港湾周辺の地域の71群落（いずれも河川敷等）から179試料（いずれも河川敷等）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。

ハマダイコン母植物及びノハラガラシ母植物の分析結果

ハマダイコンが四日市地域の道路沿いの3群落で4試料、河川敷等の33群落で68試料、博多地域の河川敷等の7群落で8試料、ノハラガラシが四日市地域の道路沿いの1群落で3試料採取されたが、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 5 母植物試料について各調査地域における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
四日市	内部川	塩浜大橋	道路沿い	0	0	0	0	0	0	0	0
			河川敷	1	5	2	5	0	0	2	10
	鈴鹿川	鈴鹿大橋	道路沿い	1	1	4	5	0	0	5	6
			河川敷	0	0	1	1	0	0	1	1
	雲出川	雲出大橋	道路沿い	3	5	3	4	0	0	6	9
			河川敷	1	1	4	5	0	0	4	6
博多	須恵川	博多バイパス	道路沿い	0	0	0	0	0	0	0	0
			河川敷	0	0	0	0	0	0	0	0
	御笠川	国道3号線	道路沿い	0	0	0	0	0	0	0	0
			河川敷	0	0	0	0	0	0	0	0
合計			道路沿い	4	6	7	9	0	0	11	15
			河川敷	2	6	7	11	0	0	7	17
全体の合計				6	12	14	20	0	0	20	32

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 6 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				
1-001 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
1-002 - 1 M	鈴鹿川	-	+	
1-002 - 2 M	鈴鹿川	-	-	
1-002 - 3 M	鈴鹿川	-	+	
1-003 - 1 M	鈴鹿川	-	+	
1-004 - 1 M	鈴鹿川	+	-	
1-005 - 1 M	鈴鹿川	-	+	
1-006 - 1 M	鈴鹿川	-	+	○
1-008 - 1 M	雲出川	+	-	
1-009 - 1 M	雲出川	+	-	
1-009 - 2 M	雲出川	+	-	
1-009 - 3 M	雲出川	+	-	
1-010 - 1 M	雲出川	-	+	
1-010 - 2 M	雲出川	-	+	
1-011 - 1 M	雲出川	+	-	
1-014 - 1 M	雲出川	-	+	
1-015 - 1 M	雲出川	-	+	
4-002 - 1 M	内部川	-	-	
4-002 - 2 M	内部川	-	+	
4-002 - 3 M	内部川	-	+	
4-004 - 1 M	内部川	+	-	
4-004 - 2 M	内部川	+	-	
4-004 - 3 M	内部川	+	-	
4-004 - 4 M	内部川	+	-	
4-004 - 5 M	内部川	-	+	
4-004 - 6 M	内部川	-	-	
4-004 - 7 M	内部川	+	-	
4-004 - 8 M	内部川	-	+	
4-004 - 9 M	内部川	-	+	
4-004 - 10 M	内部川	-	-	
4-005 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
4-006 - 1 M	鈴鹿川	-	+	
4-007 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
4-008 - 1 M	雲出川	-	+	
4-008 - 2 M	雲出川	+	-	
4-009 - 1 M	雲出川	-	+	
4-009 - 2 M	雲出川	-	+	
4-011 - 1 M	雲出川	-	+	○
4-012 - 1 M	雲出川	-	+	
在来ナタネ				
5-007 - 1 M	内部川	-	-	
5-007 - 2 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○。空欄は試料のないもの。

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
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	-	-	
6-021 - 4 M	内部川	-	-	
6-021 - 5 M	内部川	-	-	
6-021 - 6 M	内部川	-	-	
6-027 - 1 M	内部川	-	-	
6-027 - 2 M	内部川	-	-	
6-027 - 3 M	内部川	-	-	
6-029 - 1 M	内部川	-	-	
6-029 - 2 M	内部川	-	-	
6-029 - 3 M	内部川	-	-	
6-032 - 1 M	内部川	-	-	
6-032 - 2 M	内部川	-	-	
6-032 - 3 M	内部川	-	-	
6-033 - 1 M	内部川	-	-	○
6-040 - 1 M	内部川	-	-	
6-040 - 2 M	内部川	-	-	
6-040 - 3 M	内部川	-	-	
6-047 - 1 M	内部川	-	-	
6-047 - 2 M	内部川	-	-	
6-047 - 3 M	内部川	-	-	
6-048 - 1 M	内部川	-	-	
6-048 - 2 M	内部川	-	-	
6-048 - 3 M	内部川	-	-	
6-049 - 1 M	内部川	-	-	
6-050 - 1 M	内部川	-	-	
6-050 - 2 M	内部川	-	-	
6-050 - 3 M	内部川	-	-	
6-052 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-052 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-052 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-055 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-055 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-056 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-056 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-056 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-058 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-058 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-060 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-060 - 5 M	鈴鹿川	-	-	
6-060 - 6 M	鈴鹿川	-	-	
6-061 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-062 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-063 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-063 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○

－: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○。空欄は試料のないもの。

試料番号	河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
6-063 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-064 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
6-064 - 2 M	鈴鹿川	-	-	
6-064 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
6-065 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-065 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-065 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-066 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
6-066 - 4 M	鈴鹿川	-	-	
6-066 - 5 M	鈴鹿川	-	-	
6-067 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-068 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
6-068 - 2 M	鈴鹿川	-	-	
6-068 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
6-069 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
6-069 - 2 M	鈴鹿川	-	-	
6-069 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-070 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
6-070 - 2 M	鈴鹿川	-	-	
6-070 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
6-071 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-071 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-072 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-072 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-072 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-074 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
6-075 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
6-075 - 2 M	鈴鹿川	-	-	
6-075 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
6-076 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
6-076 - 2 M	鈴鹿川	-	-	
6-076 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
6-077 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
6-077 - 2 M	鈴鹿川	-	-	
6-077 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
6-078 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-078 - 4 M	鈴鹿川	-	-	
6-078 - 5 M	鈴鹿川	-	-	
6-079 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-079 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-079 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-080 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
6-080 - 2 M	鈴鹿川	-	-	
6-080 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
6-081 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-082 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
6-082 - 2 M	鈴鹿川	-	-	

－: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○。空欄は試料のないもの。

試料番号	河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
6-082 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
6-083 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
6-083 - 2 M	鈴鹿川	-	-	
6-083 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
6-084 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-084 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-084 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-085 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-085 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-085 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-086 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
6-086 - 2 M	鈴鹿川	-	-	
6-086 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
6-087 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-087 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-087 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-088 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-088 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-089 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-089 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-089 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-092 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-092 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-092 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-093 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-093 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-093 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-094 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-094 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-094 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-095 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-095 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-095 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-097 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-097 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-097 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-098 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-098 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-098 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-100 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○
6-101 - 2 M	鈴鹿川	-	-	○
6-101 - 3 M	鈴鹿川	-	-	○
6-104 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
6-105 - 1 M	鈴鹿川	-	-	
6-105 - 2 M	鈴鹿川	-	-	
6-105 - 3 M	鈴鹿川	-	-	
6-107 - 1 M	鈴鹿川	-	-	○

－: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○。空欄は試料のないもの。

試料番号	河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
6-107 - 2 M	鈴鹿川	—	—	○
6-107 - 3 M	鈴鹿川	—	—	
6-108 - 1 M	鈴鹿川	—	—	
6-108 - 2 M	鈴鹿川	—	—	
6-108 - 3 M	鈴鹿川	—	—	
6-109 - 1 M	鈴鹿川	—	—	
6-109 - 2 M	鈴鹿川	—	—	
6-109 - 3 M	鈴鹿川	—	—	
6-110 - 1 M	鈴鹿川	—	—	
6-111 - 1 M	鈴鹿川	—	—	
6-111 - 2 M	鈴鹿川	—	—	
6-111 - 3 M	鈴鹿川	—	—	
6-112 - 1 M	鈴鹿川	—	—	
6-112 - 2 M	鈴鹿川	—	—	
6-112 - 3 M	鈴鹿川	—	—	
6-113 - 1 M	鈴鹿川	—	—	
6-113 - 2 M	鈴鹿川	—	—	
6-113 - 3 M	鈴鹿川	—	—	
6-114 - 1 M	鈴鹿川	—	—	○
6-114 - 2 M	鈴鹿川	—	—	○
6-114 - 3 M	鈴鹿川	—	—	○
6-115 - 1 M	鈴鹿川	—	—	
6-115 - 2 M	鈴鹿川	—	—	
6-116 - 1 M	鈴鹿川	—	—	
6-116 - 2 M	鈴鹿川	—	—	
6-116 - 3 M	鈴鹿川	—	—	
6-117 - 1 M	鈴鹿川	—	—	
6-117 - 2 M	鈴鹿川	—	—	
6-117 - 3 M	鈴鹿川	—	—	
6-119 - 1 M	雲出川	—	—	○
6-120 - 1 M	雲出川	—	—	○
6-122 - 1 M	雲出川	—	—	○
6-122 - 2 M	雲出川	—	—	
6-127 - 1 M	雲出川	—	—	○
6-127 - 2 M	雲出川	—	—	○

ハマダイコン

11-001 - 1 M	内部川	—	—	
11-002 - 2 M	内部川	—	—	○
11-003 - 2 M	内部川	—	—	○
11-003 - 3 M	内部川	—	—	○
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	—	—	
12-004 - 1 M	内部川	—	—	○
12-004 - 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。

母植物から種子試料を採取したものは○。空欄は試料のないもの。

試料番号	河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
12-004 - 3 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 - 2 M	内部川	—	—	○
12-007 - 1 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	—	—	○
12-015 - 1 M	内部川	—	—	○
12-015 - 2 M	内部川	—	—	○
12-015 - 3 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	—	—	○
12-021 - 1 M	内部川	—	—	○
12-023 - 1 M	内部川	—	—	○
12-025 - 1 M	内部川	—	—	○
12-025 - 2 M	内部川	—	—	○
12-027 - 2 M	内部川	—	—	○
12-027 - 3 M	内部川	—	—	○
12-028 - 1 M	内部川	—	—	○
12-029 - 1 M	内部川	—	—	○
12-029 - 2 M	内部川	—	—	○
12-030 - 1 M	内部川	—	—	○
12-030 - 2 M	内部川	—	—	○
12-030 - 3 M	内部川	—	—	○
12-031 - 1 M	内部川	—	—	
12-031 - 2 M	内部川	—	—	○
12-032 - 1 M	内部川	—	—	○
12-032 - 2 M	内部川	—	—	○
12-032 - 3 M	内部川	—	—	○
12-033 - 1 M	内部川	—	—	○
12-033 - 2 M	内部川	—	—	○
12-033 - 3 M	内部川	—	—	○
12-034 - 1 M	内部川	—	—	
12-036 - 1 M	内部川	—	—	
12-036 - 2 M	内部川	—	—	
12-036 - 3 M	内部川	—	—	
12-037 - 1 M	内部川	—	—	○
12-037 - 2 M	内部川	—	—	○
12-037 - 3 M	内部川	—	—	
12-039 - 1 M	鈴鹿川	—	—	
12-039 - 2 M	鈴鹿川	—	—	○
12-039 - 3 M	鈴鹿川	—	—	
12-040 - 1 M	鈴鹿川	—	—	

—: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○。空欄は試料のないもの。

試料番号	河川名	CP4 EPSPS	PAT	種子試料
12-041 - 1 M	鈴鹿川	—	—	
12-041 - 2 M	鈴鹿川	—	—	
12-041 - 3 M	鈴鹿川	—	—	
12-042 - 1 M	鈴鹿川	—	—	
12-043 - 1 M	鈴鹿川	—	—	○
12-043 - 2 M	鈴鹿川	—	—	○
12-043 - 3 M	鈴鹿川	—	—	○
12-044 - 1 M	鈴鹿川	—	—	○
12-045 - 1 M	鈴鹿川	—	—	
12-045 - 2 M	鈴鹿川	—	—	
12-045 - 3 M	鈴鹿川	—	—	
12-046 - 1 M	鈴鹿川	—	—	
12-047 - 1 M	鈴鹿川	—	—	
12-048 - 1 M	雲出川	—	—	
ノハラガラシ				
15-001 - 1 M	雲出川	—	—	○
15-001 - 2 M	雲出川	—	—	○
15-001 - 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○。空欄は試料のないもの。

表 7 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				
1-017 - 1 M	御笠川	—	—	
4-013 - 1 M	須恵川	—	—	○
在来ナタネ				
5-012 - 1 M	須恵川	—	—	
5-012 - 2 M	須恵川	—	—	
5-012 - 3 M	須恵川	—	—	
5-012 - 4 M	須恵川	—	—	
5-012 - 5 M	須恵川	—	—	
5-013 - 12 M	須恵川	—	—	○
5-013 - 14 M	須恵川	—	—	○
5-014 - 1 M	須恵川	—	—	○
カラシナ				
6-129 - 1 M	須恵川	—	—	
6-129 - 2 M	須恵川	—	—	○
6-129 - 3 M	須恵川	—	—	○
6-130 - 4 M	須恵川	—	—	○
ハマダイコン				
12-049 - 1 M	須恵川	—	—	
12-049 - 2 M	須恵川	—	—	
12-050 - 1 M	須恵川	—	—	
12-051 - 2 M	須恵川	—	—	
12-053 - 1 M	御笠川	—	—	
12-057 - 1 M	御笠川	—	—	
12-059 - 1 M	御笠川	—	—	
12-061 - 1 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。+: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○。空欄は試料のないもの。

3.1.2 種子の除草剤耐性タンパク質の調査

表 3 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採取群落数及び試料数、並びに除草剤耐性タンパク質が検出された採取群落数及び試料数を示す。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 8 に示す。表 9~10 の各表に試料ごとの種名、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、検出結果及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分析結果

四日市港周辺地域から採取された 10 群落の 15 試料のうち、8 群落の 12 試料(CP4 EPSPS タンパク質が 3 群落の 5 試料、PAT タンパク質が 6 群落の 7 試料)で除草剤耐性タンパク質が検出された。博多港周辺地域から採取された 2 群落 2 試料から除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。

在来ナタネ種子の分析結果

四日市港周辺地域から採取された 9 群落の 11 試料及び博多港周辺地域から採取された 7 群落の 20 試料が分析され、除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。

カラシナ種子の分析結果

四日市港周辺地域から採取された 100 群落の 250 試料及び博多港周辺地域から採取された 5 群落の 15 試料が分析され、除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。

ハマダイコン種子及びノハラガラシ種子の分析結果

四日市港周辺地域から採取された 39 群落 87 試料及び博多港周辺地域から採取された 12 群落 27 試料のハマダイコン、並びに四日市地域から採取された 1 群落 3 試料のノハラガラシが分析され、除草剤耐性タンパク質は検出されなかった。

表8 種子試料について各調査地域におけるセイヨウナタネの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
四日市	内部川	塩浜大橋	道路沿い	0	0	0	0	0	0	0	0
			河川敷	1	1	0	0	0	0	1	1
	鈴鹿川	鈴鹿大橋	道路沿い	1	1	2	2	0	0	2	3
			河川敷	0	0	0	0	0	0	0	0
	雲出川	雲出大橋	道路沿い	1	3	2	2	0	0	3	5
			河川敷	0	0	2	3	0	0	2	3
博多	須恵川	博多バイパス	道路沿い	0	0	0	0	0	0	0	0
			河川敷	0	0	0	0	0	0	0	0
	御笠川	国道3号線	道路沿い	0	0	0	0	0	0	0	0
			河川敷	0	0	0	0	0	0	0	0
合計			道路沿い	2	4	4	4	0	0	5	8
			河川敷	1	1	2	3	0	0	3	4
全体の合計				3	5	6	7	0	0	8	12

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 9 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 タンパク質及び 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					
1-006 - 1 S	鈴鹿川	682	-	+	PAT
1-006 - 2 S	鈴鹿川	260	+	-	母植物試料無し
1-007 - 1 S	鈴鹿川	336	-	+	母植物試料無し
1-012 - 1 S	雲出川	31	-	+	母植物試料無し
1-013 - 1 S	雲出川	449	+	-	母植物試料無し
1-013 - 2 S	雲出川	180	+	-	母植物試料無し
1-013 - 3 S	雲出川	78	+	-	母植物試料無し
1-014 - 2 S	雲出川	82	-	+	母植物試料無し
4-001 - 1 S	内部川	315	-	-	母植物試料無し
4-003 - 1 S	内部川	138	+	-	母植物試料無し
4-005 - 1 S	鈴鹿川	231	-	-	-
4-005 - 2 S	鈴鹿川	283	-	-	母植物試料無し
4-010 - 1 S	雲出川	229	-	+	母植物試料無し
4-010 - 2 S	雲出川	216	-	+	母植物試料無し
4-011 - 1 S	雲出川	185	-	+	PAT
在来ナタネ					
5-001 - 1 S	内部川	153	-	-	母植物試料無し
5-002 - 1 S	内部川	254	-	-	母植物試料無し
5-003 - 1 S	内部川	50	-	-	母植物試料無し
5-004 - 1 S	内部川	190	-	-	母植物試料無し
5-005 - 1 S	内部川	165	-	-	母植物試料無し
5-006 - 1 S	内部川	213	-	-	母植物試料無し
5-008 - 1 S	内部川	105	-	-	母植物試料無し
5-008 - 2 S	内部川	182	-	-	母植物試料無し
5-009 - 1 S	内部川	534	-	-	母植物試料無し
5-009 - 2 S	内部川	331	-	-	母植物試料無し
5-010 - 1 S	内部川	322	-	-	母植物試料無し
カラシナ					
3-001 - 1 S	雲出川	188	-	-	母植物試料無し
6-001 - 1 S	内部川	441	-	-	母植物試料無し
6-001 - 2 S	内部川	278	-	-	母植物試料無し
6-001 - 3 S	内部川	204	-	-	母植物試料無し
6-002 - 1 S	内部川	287	-	-	母植物試料無し
6-002 - 2 S	内部川	419	-	-	母植物試料無し
6-003 - 1 S	内部川	416	-	-	母植物試料無し
6-004 - 1 S	内部川	668	-	-	母植物試料無し
6-004 - 2 S	内部川	545	-	-	母植物試料無し
6-005 - 1 S	内部川	835	-	-	母植物試料無し
6-005 - 2 S	内部川	649	-	-	母植物試料無し
6-005 - 3 S	内部川	860	-	-	母植物試料無し
6-006 - 1 S	内部川	204	-	-	母植物試料無し

--: 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
6-008 - 1 S	内部川	201	—	—	母植物試料無し
6-008 - 2 S	内部川	187	—	—	母植物試料無し
6-009 - 1 S	内部川	584	—	—	母植物試料無し
6-009 - 2 S	内部川	555	—	—	母植物試料無し
6-009 - 3 S	内部川	622	—	—	母植物試料無し
6-010 - 1 S	内部川	178	—	—	母植物試料無し
6-011 - 1 S	内部川	363	—	—	母植物試料無し
6-011 - 2 S	内部川	454	—	—	母植物試料無し
6-011 - 3 S	内部川	470	—	—	母植物試料無し
6-012 - 1 S	内部川	278	—	—	母植物試料無し
6-012 - 2 S	内部川	225	—	—	母植物試料無し
6-013 - 1 S	内部川	704	—	—	母植物試料無し
6-013 - 2 S	内部川	788	—	—	母植物試料無し
6-013 - 3 S	内部川	588	—	—	母植物試料無し
6-014 - 1 S	内部川	330	—	—	母植物試料無し
6-014 - 2 S	内部川	690	—	—	母植物試料無し
6-014 - 3 S	内部川	399	—	—	母植物試料無し
6-015 - 1 S	内部川	524	—	—	母植物試料無し
6-015 - 2 S	内部川	397	—	—	母植物試料無し
6-015 - 3 S	内部川	510	—	—	母植物試料無し
6-016 - 1 S	内部川	394	—	—	母植物試料無し
6-016 - 2 S	内部川	667	—	—	母植物試料無し
6-016 - 3 S	内部川	621	—	—	母植物試料無し
6-017 - 1 S	内部川	421	—	—	母植物試料無し
6-017 - 2 S	内部川	572	—	—	母植物試料無し
6-017 - 3 S	内部川	461	—	—	母植物試料無し
6-018 - 1 S	内部川	469	—	—	母植物試料無し
6-018 - 2 S	内部川	474	—	—	母植物試料無し
6-018 - 3 S	内部川	672	—	—	母植物試料無し
6-019 - 1 S	内部川	740	—	—	母植物試料無し
6-019 - 2 S	内部川	638	—	—	母植物試料無し
6-020 - 1 S	内部川	636	—	—	母植物試料無し
6-020 - 2 S	内部川	682	—	—	母植物試料無し
6-020 - 3 S	内部川	498	—	—	母植物試料無し
6-021 - 1 S	内部川	318	—	—	母植物試料無し
6-021 - 2 S	内部川	927	—	—	母植物試料無し
6-021 - 3 S	内部川	378	—	—	母植物試料無し
6-022 - 1 S	内部川	263	—	—	母植物試料無し
6-022 - 2 S	内部川	354	—	—	母植物試料無し
6-023 - 1 S	内部川	466	—	—	母植物試料無し
6-023 - 2 S	内部川	753	—	—	母植物試料無し
6-023 - 3 S	内部川	767	—	—	母植物試料無し
6-024 - 1 S	内部川	486	—	—	母植物試料無し
6-024 - 2 S	内部川	616	—	—	母植物試料無し
6-024 - 3 S	内部川	357	—	—	母植物試料無し
6-025 - 1 S	内部川	714	—	—	母植物試料無し
6-025 - 2 S	内部川	554	—	—	母植物試料無し
6-025 - 3 S	内部川	542	—	—	母植物試料無し
6-026 - 1 S	内部川	832	—	—	母植物試料無し

—: 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
6-026 - 2 S	内部川	406	—	—	母植物試料無し
6-026 - 3 S	内部川	310	—	—	母植物試料無し
6-028 - 1 S	内部川	577	—	—	母植物試料無し
6-028 - 2 S	内部川	676	—	—	母植物試料無し
6-028 - 3 S	内部川	544	—	—	母植物試料無し
6-030 - 1 S	内部川	772	—	—	母植物試料無し
6-030 - 2 S	内部川	696	—	—	母植物試料無し
6-030 - 3 S	内部川	591	—	—	母植物試料無し
6-031 - 1 S	内部川	941	—	—	母植物試料無し
6-033 - 1 S	内部川	500	—	—	—
6-033 - 2 S	内部川	433	—	—	母植物試料無し
6-033 - 3 S	内部川	402	—	—	母植物試料無し
6-034 - 1 S	内部川	735	—	—	母植物試料無し
6-034 - 2 S	内部川	436	—	—	母植物試料無し
6-034 - 3 S	内部川	1076	—	—	母植物試料無し
6-035 - 1 S	内部川	594	—	—	母植物試料無し
6-035 - 2 S	内部川	780	—	—	母植物試料無し
6-035 - 3 S	内部川	748	—	—	母植物試料無し
6-036 - 1 S	内部川	575	—	—	母植物試料無し
6-036 - 2 S	内部川	463	—	—	母植物試料無し
6-036 - 3 S	内部川	590	—	—	母植物試料無し
6-037 - 1 S	内部川	707	—	—	母植物試料無し
6-038 - 1 S	内部川	1062	—	—	母植物試料無し
6-038 - 2 S	内部川	322	—	—	母植物試料無し
6-038 - 3 S	内部川	602	—	—	母植物試料無し
6-039 - 1 S	内部川	555	—	—	母植物試料無し
6-041 - 1 S	内部川	488	—	—	母植物試料無し
6-042 - 1 S	内部川	846	—	—	母植物試料無し
6-043 - 1 S	内部川	877	—	—	母植物試料無し
6-044 - 1 S	内部川	727	—	—	母植物試料無し
6-044 - 2 S	内部川	262	—	—	母植物試料無し
6-044 - 3 S	内部川	519	—	—	母植物試料無し
6-045 - 1 S	内部川	508	—	—	母植物試料無し
6-046 - 1 S	内部川	776	—	—	母植物試料無し
6-046 - 2 S	内部川	711	—	—	母植物試料無し
6-051 - 1 S	内部川	886	—	—	母植物試料無し
6-052 - 1 S	鈴鹿川	674	—	—	—
6-052 - 2 S	鈴鹿川	437	—	—	—
6-052 - 3 S	鈴鹿川	527	—	—	—
6-053 - 1 S	鈴鹿川	327	—	—	母植物試料無し
6-053 - 2 S	鈴鹿川	460	—	—	母植物試料無し
6-053 - 3 S	鈴鹿川	545	—	—	母植物試料無し
6-053 - 4 S	鈴鹿川	539	—	—	母植物試料無し
6-053 - 5 S	鈴鹿川	1315	—	—	母植物試料無し
6-054 - 1 S	鈴鹿川	458	—	—	母植物試料無し
6-054 - 2 S	鈴鹿川	555	—	—	母植物試料無し
6-054 - 3 S	鈴鹿川	443	—	—	母植物試料無し
6-055 - 1 S	鈴鹿川	424	—	—	—
6-055 - 2 S	鈴鹿川	403	—	—	—

-: 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
6-055 - 3 S	鈴鹿川	617	—	—	母植物試料無し
6-056 - 1 S	鈴鹿川	681	—	—	—
6-056 - 2 S	鈴鹿川	644	—	—	—
6-056 - 3 S	鈴鹿川	633	—	—	—
6-057 - 1 S	鈴鹿川	170	—	—	母植物試料無し
6-057 - 2 S	鈴鹿川	248	—	—	母植物試料無し
6-057 - 3 S	鈴鹿川	220	—	—	母植物試料無し
6-058 - 1 S	鈴鹿川	349	—	—	—
6-058 - 2 S	鈴鹿川	554	—	—	—
6-058 - 3 S	鈴鹿川	514	—	—	母植物試料無し
6-059 - 1 S	鈴鹿川	977	—	—	母植物試料無し
6-059 - 2 S	鈴鹿川	738	—	—	母植物試料無し
6-059 - 3 S	鈴鹿川	487	—	—	母植物試料無し
6-059 - 4 S	鈴鹿川	409	—	—	母植物試料無し
6-060 - 1 S	鈴鹿川	500	—	—	—
6-060 - 2 S	鈴鹿川	478	—	—	母植物試料無し
6-060 - 3 S	鈴鹿川	652	—	—	母植物試料無し
6-060 - 4 S	鈴鹿川	406	—	—	母植物試料無し
6-061 - 1 S	鈴鹿川	271	—	—	—
6-061 - 2 S	鈴鹿川	561	—	—	母植物試料無し
6-061 - 3 S	鈴鹿川	477	—	—	母植物試料無し
6-062 - 1 S	鈴鹿川	825	—	—	—
6-062 - 2 S	鈴鹿川	476	—	—	母植物試料無し
6-062 - 3 S	鈴鹿川	423	—	—	母植物試料無し
6-063 - 1 S	鈴鹿川	129	—	—	—
6-063 - 2 S	鈴鹿川	275	—	—	—
6-063 - 3 S	鈴鹿川	556	—	—	—
6-065 - 1 S	鈴鹿川	195	—	—	—
6-065 - 2 S	鈴鹿川	559	—	—	—
6-065 - 3 S	鈴鹿川	448	—	—	—
6-066 - 1 S	鈴鹿川	542	—	—	母植物試料無し
6-066 - 2 S	鈴鹿川	517	—	—	母植物試料無し
6-067 - 1 S	鈴鹿川	657	—	—	母植物試料無し
6-067 - 2 S	鈴鹿川	291	—	—	—
6-069 - 3 S	鈴鹿川	396	—	—	—
6-071 - 1 S	鈴鹿川	449	—	—	—
6-071 - 2 S	鈴鹿川	263	—	—	—
6-071 - 3 S	鈴鹿川	303	—	—	母植物試料無し
6-072 - 1 S	鈴鹿川	306	—	—	—
6-072 - 2 S	鈴鹿川	154	—	—	—
6-072 - 3 S	鈴鹿川	289	—	—	—
6-073 - 1 S	鈴鹿川	272	—	—	母植物試料無し
6-074 - 2 S	鈴鹿川	309	—	—	母植物試料無し
6-078 - 1 S	鈴鹿川	472	—	—	—
6-078 - 2 S	鈴鹿川	270	—	—	母植物試料無し
6-078 - 3 S	鈴鹿川	424	—	—	母植物試料無し
6-079 - 1 S	鈴鹿川	445	—	—	—
6-079 - 2 S	鈴鹿川	325	—	—	—
6-079 - 3 S	鈴鹿川	277	—	—	—

-: 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
6-081 - 1 S	鈴鹿川	690	—	—	—
6-081 - 2 S	鈴鹿川	360	—	—	母植物試料無し
6-081 - 3 S	鈴鹿川	223	—	—	母植物試料無し
6-084 - 1 S	鈴鹿川	279	—	—	—
6-084 - 2 S	鈴鹿川	174	—	—	—
6-084 - 3 S	鈴鹿川	153	—	—	—
6-085 - 1 S	鈴鹿川	234	—	—	—
6-085 - 2 S	鈴鹿川	209	—	—	—
6-085 - 3 S	鈴鹿川	351	—	—	—
6-086 - 4 S	鈴鹿川	144	—	—	母植物試料無し
6-086 - 5 S	鈴鹿川	175	—	—	母植物試料無し
6-086 - 6 S	鈴鹿川	114	—	—	母植物試料無し
6-087 - 1 S	鈴鹿川	468	—	—	—
6-087 - 2 S	鈴鹿川	364	—	—	—
6-087 - 3 S	鈴鹿川	386	—	—	—
6-088 - 1 S	鈴鹿川	364	—	—	—
6-088 - 2 S	鈴鹿川	599	—	—	—
6-088 - 3 S	鈴鹿川	320	—	—	母植物試料無し
6-089 - 1 S	鈴鹿川	213	—	—	—
6-089 - 2 S	鈴鹿川	208	—	—	—
6-089 - 3 S	鈴鹿川	344	—	—	—
6-090 - 1 S	鈴鹿川	189	—	—	母植物試料無し
6-090 - 2 S	鈴鹿川	315	—	—	母植物試料無し
6-090 - 3 S	鈴鹿川	384	—	—	母植物試料無し
6-091 - 1 S	鈴鹿川	551	—	—	母植物試料無し
6-091 - 2 S	鈴鹿川	334	—	—	母植物試料無し
6-091 - 3 S	鈴鹿川	325	—	—	母植物試料無し
6-092 - 1 S	鈴鹿川	450	—	—	—
6-092 - 2 S	鈴鹿川	508	—	—	—
6-092 - 3 S	鈴鹿川	400	—	—	—
6-093 - 1 S	鈴鹿川	541	—	—	—
6-093 - 2 S	鈴鹿川	429	—	—	—
6-093 - 3 S	鈴鹿川	683	—	—	—
6-094 - 1 S	鈴鹿川	178	—	—	—
6-094 - 2 S	鈴鹿川	292	—	—	—
6-094 - 3 S	鈴鹿川	186	—	—	—
6-095 - 1 S	鈴鹿川	694	—	—	—
6-095 - 2 S	鈴鹿川	394	—	—	—
6-095 - 3 S	鈴鹿川	462	—	—	—
6-096 - 1 S	鈴鹿川	382	—	—	母植物試料無し
6-096 - 2 S	鈴鹿川	152	—	—	母植物試料無し
6-096 - 3 S	鈴鹿川	306	—	—	母植物試料無し
6-097 - 1 S	鈴鹿川	357	—	—	—
6-097 - 2 S	鈴鹿川	393	—	—	—
6-097 - 3 S	鈴鹿川	714	—	—	—
6-098 - 1 S	鈴鹿川	694	—	—	—
6-098 - 2 S	鈴鹿川	294	—	—	—
6-098 - 3 S	鈴鹿川	518	—	—	—
6-099 - 1 S	鈴鹿川	580	—	—	母植物試料無し

—: 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
6-099 - 2 S	鈴鹿川	301	—	—	母植物試料無し
6-099 - 3 S	鈴鹿川	301	—	—	母植物試料無し
6-100 - 1 S	鈴鹿川	479	—	—	—
6-101 - 1 S	鈴鹿川	241	—	—	母植物試料無し
6-101 - 2 S	鈴鹿川	223	—	—	—
6-101 - 3 S	鈴鹿川	372	—	—	—
6-102 - 1 S	鈴鹿川	419	—	—	母植物試料無し
6-102 - 2 S	鈴鹿川	317	—	—	母植物試料無し
6-103 - 1 S	鈴鹿川	374	—	—	母植物試料無し
6-103 - 2 S	鈴鹿川	213	—	—	母植物試料無し
6-103 - 3 S	鈴鹿川	530	—	—	母植物試料無し
6-106 - 1 S	鈴鹿川	145	—	—	母植物試料無し
6-106 - 2 S	鈴鹿川	202	—	—	母植物試料無し
6-106 - 3 S	鈴鹿川	280	—	—	母植物試料無し
6-107 - 1 S	鈴鹿川	218	—	—	—
6-107 - 2 S	鈴鹿川	181	—	—	—
6-114 - 1 S	鈴鹿川	561	—	—	—
6-114 - 2 S	鈴鹿川	261	—	—	—
6-114 - 3 S	鈴鹿川	250	—	—	—
6-118 - 1 S	鈴鹿川	418	—	—	母植物試料無し
6-118 - 2 S	鈴鹿川	256	—	—	母植物試料無し
6-119 - 1 S	雲出川	123	—	—	—
6-119 - 2 S	雲出川	202	—	—	母植物試料無し
6-120 - 1 S	雲出川	642	—	—	—
6-121 - 1 S	雲出川	421	—	—	母植物試料無し
6-121 - 2 S	雲出川	258	—	—	母植物試料無し
6-122 - 1 S	雲出川	305	—	—	—
6-123 - 1 S	雲出川	332	—	—	母植物試料無し
6-123 - 2 S	雲出川	230	—	—	母植物試料無し
6-123 - 3 S	雲出川	353	—	—	母植物試料無し
6-124 - 1 S	雲出川	236	—	—	母植物試料無し
6-125 - 1 S	雲出川	314	—	—	母植物試料無し
6-125 - 2 S	雲出川	304	—	—	母植物試料無し
6-125 - 3 S	雲出川	220	—	—	母植物試料無し
6-126 - 1 S	雲出川	235	—	—	母植物試料無し
6-126 - 2 S	雲出川	425	—	—	母植物試料無し
6-127 - 1 S	雲出川	187	—	—	—
6-127 - 2 S	雲出川	240	—	—	—
6-127 - 3 S	雲出川	204	—	—	母植物試料無し
6-128 - 1 S	雲出川	337	—	—	母植物試料無し
6-128 - 2 S	雲出川	340	—	—	母植物試料無し

ハマダイコン

11-002 - 1 S	内部川	74	—	—	母植物試料無し
11-002 - 2 S	内部川	64	—	—	—
11-003 - 1 S	内部川	102	—	—	母植物試料無し
11-003 - 2 S	内部川	83	—	—	—
11-003 - 3 S	内部川	91	—	—	—
12-001 - 2 S	内部川	47	—	—	—
12-003 - 1 S	内部川	75	—	—	母植物試料無し

-: 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
12-003 - 2 S	内部川	53	—	—	母植物試料無し
12-003 - 3 S	内部川	71	—	—	母植物試料無し
12-004 - 1 S	内部川	101	—	—	—
12-004 - 2 S	内部川	89	—	—	—
12-004 - 3 S	内部川	60	—	—	—
12-006 - 1 S	内部川	59	—	—	母植物試料無し
12-006 - 2 S	内部川	68	—	—	—
12-007 - 1 S	内部川	84	—	—	—
12-008 - 1 S	内部川	75	—	—	母植物試料無し
12-008 - 2 S	内部川	88	—	—	母植物試料無し
12-008 - 3 S	内部川	79	—	—	母植物試料無し
12-009 - 1 S	内部川	62	—	—	母植物試料無し
12-009 - 2 S	内部川	56	—	—	母植物試料無し
12-010 - 1 S	内部川	57	—	—	母植物試料無し
12-010 - 2 S	内部川	86	—	—	母植物試料無し
12-011 - 1 S	内部川	64	—	—	母植物試料無し
12-011 - 2 S	内部川	59	—	—	母植物試料無し
12-011 - 3 S	内部川	61	—	—	母植物試料無し
12-012 - 1 S	内部川	75	—	—	母植物試料無し
12-012 - 2 S	内部川	71	—	—	母植物試料無し
12-012 - 3 S	内部川	64	—	—	母植物試料無し
12-013 - 1 S	内部川	47	—	—	—
12-013 - 2 S	内部川	65	—	—	—
12-013 - 3 S	内部川	63	—	—	—
12-013 - 4 S	内部川	61	—	—	母植物試料無し
12-013 - 5 S	内部川	58	—	—	母植物試料無し
12-014 - 1 S	内部川	81	—	—	母植物試料無し
12-014 - 2 S	内部川	67	—	—	母植物試料無し
12-015 - 1 S	内部川	82	—	—	—
12-015 - 2 S	内部川	90	—	—	—
12-015 - 3 S	内部川	76	—	—	—
12-016 - 1 S	内部川	69	—	—	母植物試料無し
12-016 - 2 S	内部川	62	—	—	母植物試料無し
12-017 - 1 S	内部川	51	—	—	母植物試料無し
12-017 - 2 S	内部川	68	—	—	母植物試料無し
12-018 - 1 S	内部川	104	—	—	—
12-018 - 2 S	内部川	96	—	—	—
12-018 - 3 S	内部川	86	—	—	—
12-019 - 1 S	内部川	59	—	—	—
12-019 - 2 S	内部川	85	—	—	母植物試料無し
12-019 - 3 S	内部川	86	—	—	母植物試料無し
12-020 - 1 S	内部川	72	—	—	母植物試料無し
12-021 - 1 S	内部川	63	—	—	—
12-021 - 2 S	内部川	101	—	—	母植物試料無し
12-022 - 1 S	内部川	62	—	—	母植物試料無し
12-023 - 1 S	内部川	101	—	—	—
12-024 - 1 S	内部川	47	—	—	母植物試料無し
12-024 - 2 S	内部川	63	—	—	母植物試料無し
12-024 - 3 S	内部川	77	—	—	母植物試料無し

—: 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
12-025 - 1 S	内部川	79	-	-	-
12-025 - 2 S	内部川	131	-	-	-
12-025 - 3 S	内部川	65	-	-	母植物試料無し
12-026 - 1 S	内部川	63	-	-	母植物試料無し
12-027 - 1 S	内部川	83	-	-	母植物試料無し
12-027 - 2 S	内部川	77	-	-	-
12-027 - 3 S	内部川	88	-	-	-
12-028 - 1 S	内部川	74	-	-	-
12-029 - 1 S	内部川	92	-	-	-
12-029 - 2 S	内部川	95	-	-	-
12-029 - 3 S	内部川	84	-	-	母植物試料無し
12-030 - 1 S	内部川	65	-	-	-
12-030 - 2 S	内部川	50	-	-	-
12-030 - 3 S	内部川	57	-	-	-
12-031 - 2 S	内部川	82	-	-	-
12-031 - 3 S	内部川	70	-	-	母植物試料無し
12-032 - 1 S	内部川	74	-	-	-
12-032 - 2 S	内部川	63	-	-	-
12-032 - 3 S	内部川	101	-	-	-
12-033 - 1 S	内部川	82	-	-	-
12-033 - 2 S	内部川	72	-	-	-
12-033 - 3 S	内部川	135	-	-	-
12-035 - 1 S	内部川	86	-	-	母植物試料無し
12-037 - 1 S	内部川	58	-	-	-
12-037 - 2 S	内部川	83	-	-	-
12-038 - 1 S	鈴鹿川	73	-	-	母植物試料無し
12-039 - 2 S	鈴鹿川	43	-	-	-
12-043 - 1 S	鈴鹿川	62	-	-	-
12-043 - 2 S	鈴鹿川	61	-	-	-
12-043 - 3 S	鈴鹿川	86	-	-	-
12-044 - 1 S	鈴鹿川	52	-	-	-

ノハラガラシ

15-001 - 1 S	雲出川	135	-	-	-
15-001 - 2 S	雲出川	169	-	-	-
15-001 - 3 S	雲出川	129	-	-	-

-: 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 10 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 タンパク質及び 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					
1-016 - 1 S	御笠川	187	—	—	母植物試料無し
4-013 - 1 S	須恵川	10	—	—	—
在来ナタネ					
5-011 - 1 S	須恵川	145	—	—	母植物試料無し
5-013 - 1 S	須恵川	93	—	—	母植物試料無し
5-013 - 2 S	須恵川	213	—	—	母植物試料無し
5-013 - 3 S	須恵川	181	—	—	母植物試料無し
5-013 - 4 S	須恵川	86	—	—	母植物試料無し
5-013 - 5 S	須恵川	237	—	—	母植物試料無し
5-013 - 6 S	須恵川	41	—	—	母植物試料無し
5-013 - 7 S	須恵川	93	—	—	母植物試料無し
5-013 - 8 S	須恵川	418	—	—	母植物試料無し
5-013 - 9 S	須恵川	132	—	—	母植物試料無し
5-013 - 10 S	須恵川	202	—	—	母植物試料無し
5-013 - 11 S	須恵川	201	—	—	母植物試料無し
5-013 - 12 S	須恵川	173	—	—	—
5-013 - 13 S	須恵川	317	—	—	母植物試料無し
5-013 - 14 S	須恵川	122	—	—	—
5-014 - 1 S	須恵川	87	—	—	—
5-015 - 1 S	御笠川	169	—	—	母植物試料無し
5-016 - 1 S	御笠川	551	—	—	母植物試料無し
5-017 - 1 S	御笠川	480	—	—	母植物試料無し
5-018 - 1 S	御笠川	188	—	—	母植物試料無し
カラシナ					
6-129 - 2 S	須恵川	723	—	—	—
6-129 - 3 S	須恵川	139	—	—	—
6-130 - 1 S	須恵川	301	—	—	母植物試料無し
6-130 - 2 S	須恵川	348	—	—	母植物試料無し
6-130 - 3 S	須恵川	339	—	—	母植物試料無し
6-130 - 4 S	須恵川	385	—	—	—
6-131 - 1 S	須恵川	255	—	—	母植物試料無し
6-131 - 2 S	須恵川	286	—	—	母植物試料無し
6-131 - 3 S	須恵川	172	—	—	母植物試料無し
6-132 - 1 S	須恵川	347	—	—	母植物試料無し
6-132 - 2 S	須恵川	225	—	—	母植物試料無し
6-132 - 3 S	須恵川	195	—	—	母植物試料無し
6-133 - 1 S	御笠川	248	—	—	母植物試料無し
6-133 - 2 S	御笠川	338	—	—	母植物試料無し
6-133 - 3 S	御笠川	350	—	—	母植物試料無し
ハマダイコン					
12-051 - 1 S	須恵川	19	—	—	母植物試料無し
12-052 - 1 S	御笠川	80	—	—	母植物試料無し
12-052 - 2 S	御笠川	68	—	—	母植物試料無し
12-052 - 3 S	御笠川	106	—	—	母植物試料無し

-: 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
12-054 - 1 S	御笠川	69	—	—	母植物試料無し
12-054 - 2 S	御笠川	74	—	—	母植物試料無し
12-054 - 3 S	御笠川	58	—	—	母植物試料無し
12-055 - 1 S	御笠川	89	—	—	母植物試料無し
12-056 - 1 S	御笠川	70	—	—	母植物試料無し
12-056 - 2 S	御笠川	71	—	—	母植物試料無し
12-056 - 3 S	御笠川	74	—	—	母植物試料無し
12-057 - 2 S	御笠川	79	—	—	母植物試料無し
12-057 - 3 S	御笠川	52	—	—	母植物試料無し
12-058 - 1 S	御笠川	55	—	—	母植物試料無し
12-058 - 2 S	御笠川	54	—	—	母植物試料無し
12-058 - 3 S	御笠川	51	—	—	母植物試料無し
12-060 - 1 S	御笠川	61	—	—	母植物試料無し
12-060 - 2 S	御笠川	83	—	—	母植物試料無し
12-060 - 3 S	御笠川	78	—	—	母植物試料無し
12-062 - 1 S	御笠川	77	—	—	母植物試料無し
12-063 - 1 S	御笠川	61	—	—	母植物試料無し
12-063 - 2 S	御笠川	87	—	—	母植物試料無し
12-063 - 3 S	御笠川	65	—	—	母植物試料無し
12-064 - 1 S	御笠川	68	—	—	母植物試料無し
12-064 - 2 S	御笠川	76	—	—	母植物試料無し
12-064 - 3 S	御笠川	92	—	—	母植物試料無し
12-065 - 1 S	御笠川	62	—	—	母植物試料無し

—: 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 8 群落からの 12 試料の種子を、新たに 1 区画当たり数粒～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 2 分の 1 ケース) 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 14 日目に発芽数を計数し、18 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 2 分の 1 ケースあたり約 2 l (40.1 kg ae/ha (ae は acid equivalent : 酸換算) に相当) 散布し、21 日目に同様に希釈したグリホサート水溶液をプラスチックケース 2 分の 1 ケースあたり約 4 l (80.2 kg ae/ha 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 14 日目に発芽数を計測し、18 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) ホスフィナート)) を、910 X 1350 mm のプラスチックケース 2 分の 1 ケースあたり約 2 l (7.5 kg ai/ha (ai は active ingredient: 有効成分) に相当) 散布し、21 日目に同様に希釈したグルホシネート水溶液をプラスチックケース 2 分の 1 ケースあたり約 4 l (15.0 kg ai/ha 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ルホシネート耐性個体、枯死しているものをグルホシネート感受性個体とした。観察時、生育している個体と枯死した個体の差は明らかで、識別が困難な個体はなかった。

結果を表 11 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、母植物組織及び種子の除草剤耐性タンパク質分析結果を示した。

表 11 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	推定種子数	播種数	発芽数	グリホサート耐性実生数	播種数	発芽数	グリホサート耐性実生数	グリホサート・グリホシネート両耐性実生数	母植物の結果	種子の結果
セイヨウナタネ											
1-006 - 1 L	鈴鹿川	682	20	20	0	20	20	20	0	PAT	PAT
1-006 - 2 L	鈴鹿川	260	20	20	18	20	20	0	0	母植物試料無し	CP4 EPSPS
1-007 - 1 L	鈴鹿川	336	20	20	0	20	20	14	0	母植物試料無し	PAT
1-012 - 1 L	雲出川	31	5	5	0	5	5	4	0	母植物試料無し	PAT
1-013 - 1 L	雲出川	449	20	1	1	20	8	0	0	母植物試料無し	CP4 EPSPS
1-013 - 2 L	雲出川	180	20	16	14	20	18	0	0	母植物試料無し	CP4 EPSPS
1-013 - 3 L	雲出川	78	20	7	4	20	10	0	0	母植物試料無し	CP4 EPSPS
1-014 - 2 L	雲出川	82	20	20	0	20	20	20	0	母植物試料無し	PAT
4-003 - 1 L	内部川	138	20	17	12	20	16	0	0	母植物試料無し	CP4 EPSPS
4-010 - 1 L	雲出川	229	20	20	0	20	18	17	0	母植物試料無し	PAT
4-010 - 2 L	雲出川	216	20	20	0	20	20	14	0	母植物試料無し	PAT
4-011 - 1 L	雲出川	185	20	2	0	20	4	4	0	PAT	PAT

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。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**:グリ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。*グリホサート・グリホシネート両方に耐性がある試料の有無は、除草剤耐性タンパク質の検出の有無のみで確認。

3.1.4 除草剤耐性実生のタンパク質及び遺伝子分析

各母植物試料に由来する実生のうち除草剤耐性を示したものの1個体または2個体から、葉の組織を適宜サンプリングし、グリホサート耐性タンパク質 (CP4 EPSPS) 及びその遺伝子 (*cp4 epsps*)、並びにグリホシネート耐性タンパク質 (PAT) 及びその遺伝子 (*bar*) の分析を行った。タンパク質の分析は、種子に対して行ったのと同様に、免疫クロマトグラフ法により行った。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 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った。PCR のプライマーは、実際に除草剤耐性ナタネに用いられていることが分かっている *cp4 epsps* 遺伝子の内部の配列、EPSPS7 (5'-AAGAACTCCGTGTTAAGGAAAGCGA-3') 及び EPSPS8 (5'-AGCCTTAGTGTGCGAGAGTTCGAT-3') と、*bar* 遺伝子の内部の配列 bar7 (5'-ACAAGCACGGTCAACTTCCGTAC-3') 及び bar8 (5'-GAGCGCCTCGTGCATGCGCACG-3') を用いた。PCR 反応は 94°C 3 分、(94°C 1 分、60°C 1 分、72°C 2 分) を 35 サイクル、72°C 10 分で行った。DNA 塩基配列の決定は、PCR による増幅産物 (*cp4 epsps* 320bp、*bar* 330bp) を ExoSAP (Applied Biosystems™ ExoSAP-IT™ Express PCR Product Cleanup Reagents, Thermo Fisher Scientific) 処理後、EPSPS8 及び bar7 をプライマーとして用い、DNA シーケンサー (3730DNA Analyser, Thermo Fisher Scientific) を用いて行った。

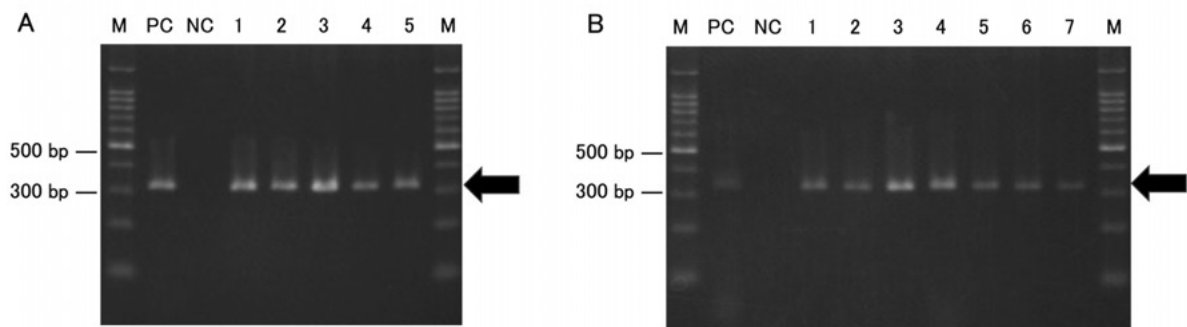


図 3 PCR による *cp4 epsps* 遺伝子(A)および *bar* 遺伝子(B)の検出の例

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 を行った。M: 分子量マーカー。PC:除草剤耐性遺伝子を持つことがわかっている遺伝子組み換えナタネ(平成 31 年試料 4-025-3L:両耐性)ゲノムを用いたポジティブコントロール。NC: 非組み換え西洋ナタネゲノム DNA を用いたネガティブコントロール。1 から 5(A)および 1 から 7(B): 除草剤耐性遺伝子を持つ試料(1: 4-003-1L; 2: 1-006-2L; 3: 1-013-1L; 4: 1-013-2L; 5: 1-013-3L (A)、1: 1-006-1L; 2: 1-007-1L; 3: 4-011-1L; 4: 4-010-1L; 5: 4-010-2L; 6: 1-014-2L; 7: 1-012-1L (B))。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。

四日市港周辺地域のセイヨウナタネの母植物より採集された種子由来で、除草剤耐性を示した8群落の12試料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、除草剤耐性を示した試料が、それぞれに対応する除草剤耐性遺伝子を有することが確認された。結果を表12に示す。

表 12 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							
1-006 - 1 L	鈴鹿川	-	-	+	+	PAT	PAT
1-006 - 2 L	鈴鹿川	+	+	-	-	母植物試料無し	CP4 EPSPS
1-007 - 1 L	鈴鹿川	-	-	+	+	母植物試料無し	PAT
1-012 - 1 L	雲出川	-	-	+	+	母植物試料無し	PAT
1-013 - 1 L	雲出川	+	+	-	-	母植物試料無し	CP4 EPSPS
1-013 - 2 L	雲出川	+	+	-	-	母植物試料無し	CP4 EPSPS
1-013 - 3 L	雲出川	+	+	-	-	母植物試料無し	CP4 EPSPS
1-014 - 2 L	雲出川	-	-	+	+	母植物試料無し	PAT
4-003 - 1 L	内部川	+	+	-	-	母植物試料無し	CP4 EPSPS
4-010 - 1 L	雲出川	-	-	+	+	母植物試料無し	PAT
4-010 - 2 L	雲出川	-	-	+	+	母植物試料無し	PAT
4-011 - 1 L	雲出川	-	-	+	+	PAT	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。+: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:母植物、種子から CP4 EPSPS タンパク質が検出された試料、及び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**:母植物、種子から PAT タンパク質が検出された試料、及び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 4 参照）。



図 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

地理院地図(電子地形図(タイル)標準地図)使用。

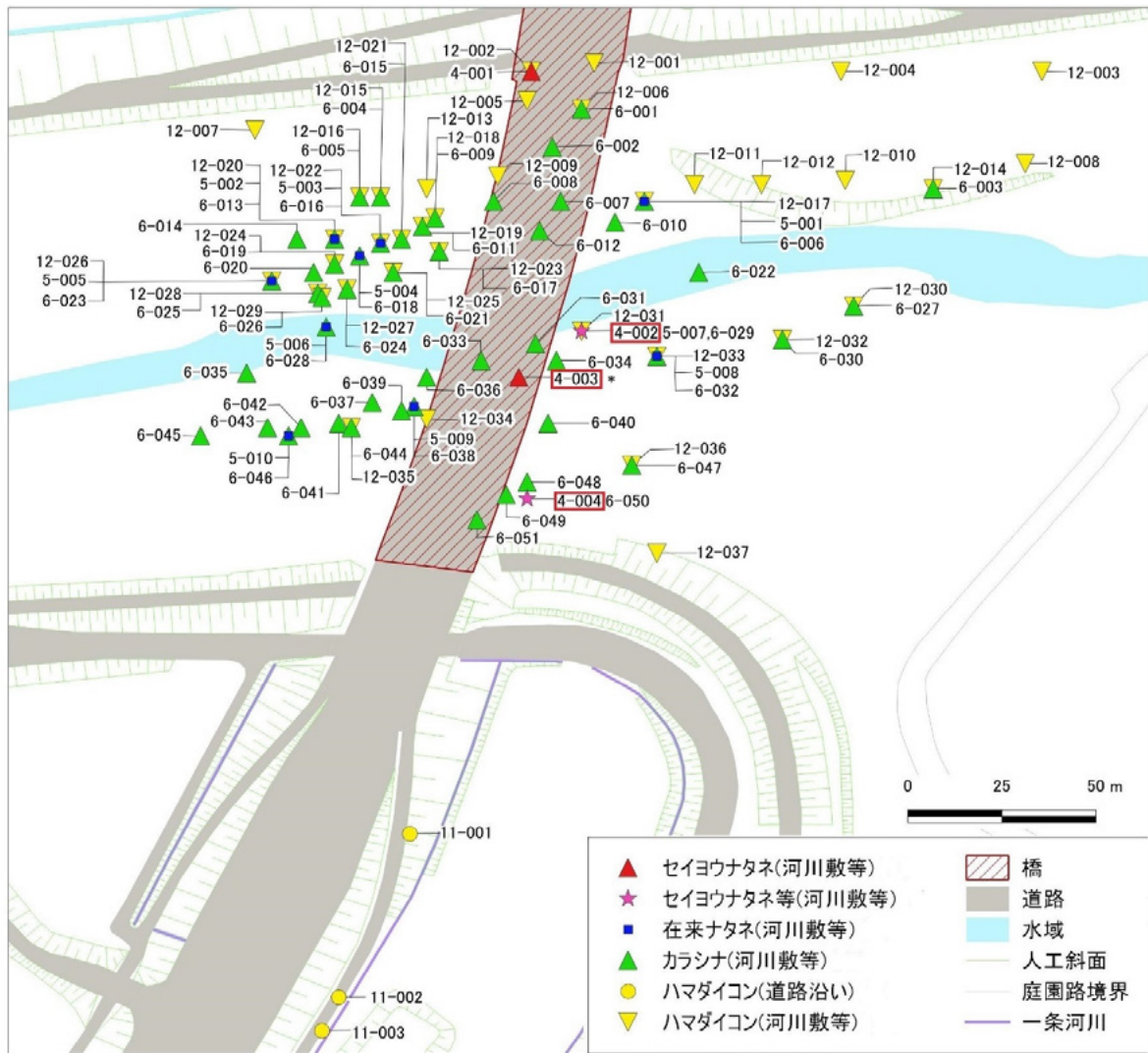


図5 四日市港周辺地域① 塩浜大橋付近(内部川)

(は除草剤耐性ナタネが確認された群落。* は、うち種子試料のみが採取された群落)

三重県市町総合事務組合「2006 三重県共有デジタル地図(数値地形図 2,500(道路縁 1,000))」使用。



図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。* は、うち種子試料のみが採取された群落

三重県市町総合事務組合「2006 三重県共有デジタル地図(数値地形図 2,500(道路縁 1,000))」使用。



図7 四日市港周辺地域③ 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。* は、うち種子試料のみが採取された群落)

三重県市町総合事務組合「2006 三重県共有デジタル地図(数値地形図 2,500(道路縁 1,000))」使用。



図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地理院地図
 地理院地図(電子地形図(タイル)標準地図)使用。

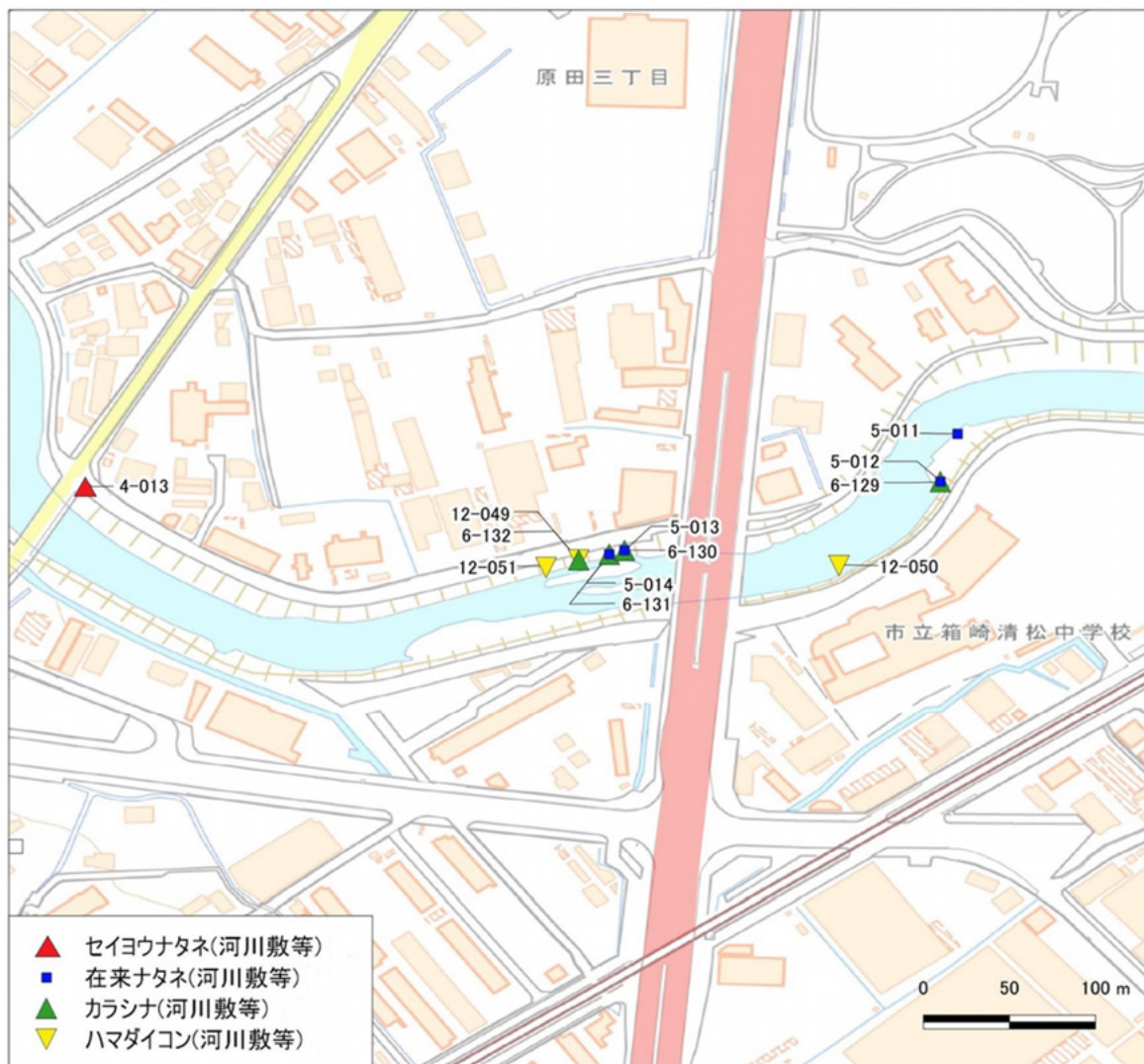


図 9 博多港周辺地域①（須恵川）
 地理院地図(電子地形図(タイル)標準地図)使用。

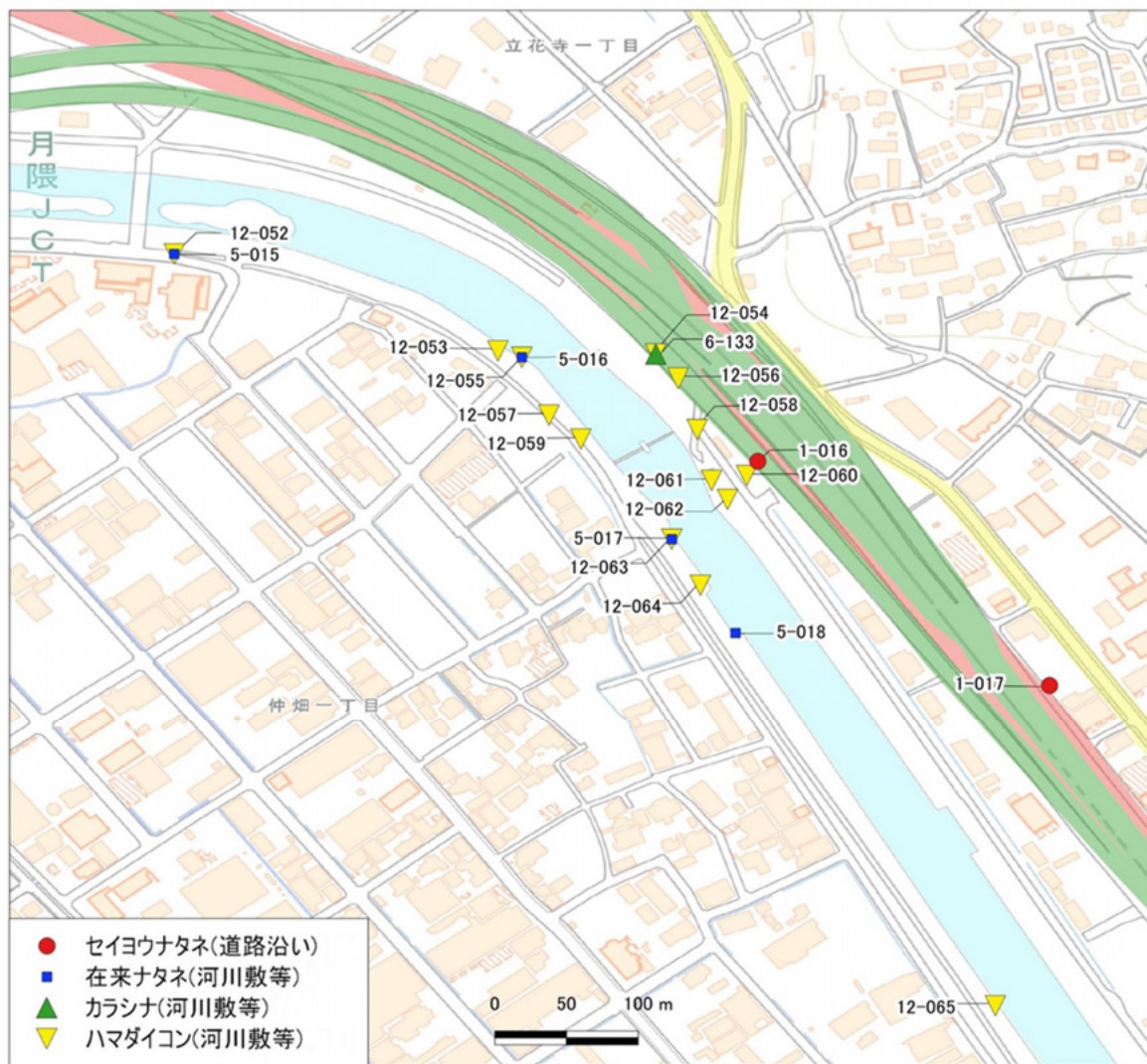


図 10 博多港周辺地域② (三笠川)
 地理院地図(電子地形図(タイル)標準地図)使用。

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、27 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～令和 2 年度）、神戸港（平成 16 年度）、水島港（平成 19 年度）、博多港（平成 17、18、20～24、26、27、29、31 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 13）。なお、港湾地域における除草剤耐性ナタネの生育は農林水産省のこれまでの調査でも確認されている²⁷⁻²⁹⁾。

表 13 平成 16～令和 2 年度の各港湾とその周辺地域におけるナタネ類及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, 26, <u>27</u> , 28, 29, 30*, 31, R2*	16, 18, 20, 21, 22, 23*, 24, 25, 26, <u>27</u> , 28*, 29*, 30*, 31*, R2*
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>26</u> , <u>27</u> , <u>28</u> , <u>29</u> , <u>30</u> , <u>31</u> , <u>R2</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> , <u>26</u> , <u>27</u> , <u>28</u> , <u>29</u> , <u>30</u> , <u>31</u> , <u>R2</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, <u>26</u> , <u>27</u> , 28, <u>29</u> , 30, <u>31</u> , R2	17*, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26*, 27, 28, 29*, 30*, 31, R2

数字は調査年度。数字のみは平成、R を付した数字は令和。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 つの港湾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、2 地域の 142 群落から採取された 313 試料の母植物組織について分析を行った。その結果、四日市地域で採取された試料から除草剤耐性タンパク質

が検出された。四日市地域で採取された 128 群落 291 試料（うちセイヨウナタネ 21 群落 39 試料、在来ナタネ 1 群落 2 試料）のうち、18 群落 32 試料（全てセイヨウナタネ）で除草剤耐性タンパク質が検出された。

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った一方で、博多地域及び四日市地域ではその割合が高いという傾向が確認されていた。平成 25～29 年度の調査では、四日市地域では毎年高い割合で母植物から除草剤耐性タンパク質が検出されたが、鹿島地域では平成 27 年度を除き除草剤耐性タンパク質が検出されておらず、博多地域では平成 26、27、29 年度に検出された。今年度の結果を見ると、四日市地域では年度によって変動が認められるものの、変わらず高い割合で除草剤耐性タンパク質が検出された一方、鹿島地域、博多地域では検出されなかった。平成 20 年度から今年度までの 13 年間における、河川敷で採取されたセイヨウナタネの母植物中に占める除草剤耐性ナタネの群落数、試料数の推移を図 11、12 にそれぞれ示す。

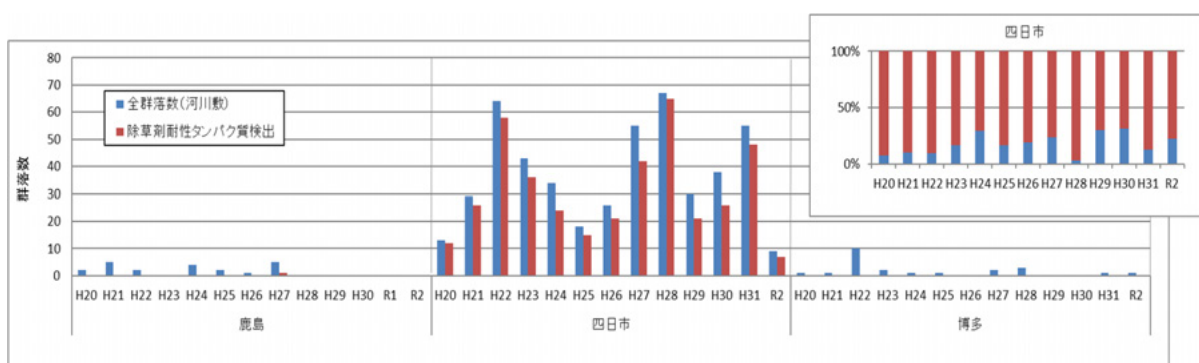


図 11 平成 20～令和 2 年度の鹿島、四日市、博多各港湾地域の河川敷におけるセイヨウナタネの母植物採取群落数と除草剤耐性ナタネ採取群落数の推移

H23、H28、H29、H30、H31、R2 の鹿島地域および H26、H29、H30 の博多地域では、河川敷でセイヨウナタネ試料は採取されなかった。右上は四日市地域河川敷で採取した全母植物群落における除草剤耐性タンパク質を持つ試料が検出された群落の割合(%)。

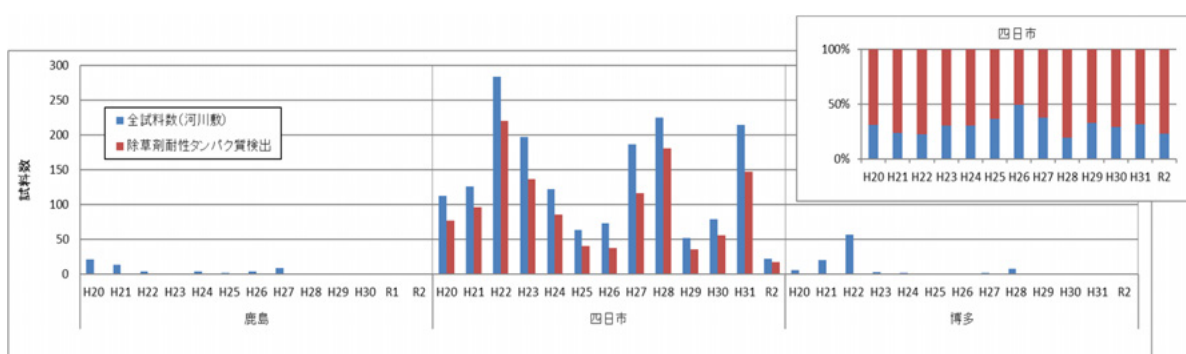


図 12 平成 20～令和 2 年度の鹿島、四日市、博多各港湾地域の河川敷におけるセイヨウナタネの母植物試料数と除草剤耐性ナタネ試料数の推移

H23、H28、H29、H30、H31、R2 の鹿島地域および H26、H29、H30 の博多地域では、河川敷でセイヨウナタネ試料は採取されなかった。右上は四日市地域河川敷で採取した全母植物群落における除草剤耐性タンパク質を持つ試料の割合(%)。

上記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未だ不明であるが、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、四日市地域におけるセイヨウナタネの群落数及び母植物試料数（道路沿いを含む）では、平成 25 年度までの調査では減少傾向がみられたが、平成 26～28 年度において増加する結果となり¹⁷⁻¹⁹⁾、平成 29 年度は再び減少し²⁰⁾、平成 30～31 年度は再度増加に転じた^{21), 22)}。群落数及び母植物試料数が増減した明確な理由は不明だが、河川の流量の増加による樹木の流出や河川敷の土地整備等、自然現象による影響及び人為的な影響のあった可能性が考えられる。

四日市港周辺地域の河川敷等を見ると、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 19～31、令和 2 年度）、鈴鹿大橋（平成 17、19～31、令和 2 年度）、雲出大橋（平成 18、20～31、令和 2 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、遺伝子組換えであるか否かに関わりなく、セイヨウナタネと在来ナタネとの雑種が確認されている。平成 20 年度、平成 25 年度、平成 27 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、また、平成 21 年度から 23 年度及び平成 26 年度には、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それぞれ確認された。さらに、平成 28 年度には C ゲノム不検出ナタネ母植物が確認された。これらの母植物のうち、平成 22 年度の調査では、塩浜大橋と雲出大橋の直下や近傍の地点に生育していた個体から除草剤耐性タンパク質が検出され、平成 28 年度の調査では C ゲノム不検出ナタネから除草剤耐性タンパク質が検出された。また、平成 30 年度は、形態から在来ナタネと推定された母植物において除草剤耐性タンパク質が検出された。これらの C ゲノム不検出ナタネや形態上在来ナタネと推定された母植物は、除草剤耐性タンパク質を持っていたことから、除草剤耐性ナタネとの雑種後代と考えられた。他年度の調査では、雑種の可能性のある母植物において除草剤耐性タンパク質が検出されることはなかった。すなわち、これらの試料が採取された河川敷においては、除草剤耐性遺伝子の有無に関わらず、セイヨウナタネと在来ナタネとの間で交雑が起こっ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 年度の調査では調査範囲を橋梁直下から 2 km 程度河川の上下流側に沿って広げ、より集中的に調べた。当調査期間の 3 年間に於いて、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、除草剤耐性ナタネが確認された場所は、3 か年のいずれも、橋から最も遠いところで数 10 m 程度の近辺域に限られていた。この結果から、除草剤耐性ナタネがより離れた場所に分布を広げていく可能性は低いと考え、平成 24 年度からは橋梁直下近辺 150 m 程度を中心に調査を行った。

四日市地域の河川敷における今年度の調査結果では、除草剤耐性タンパク質が検出されなかった母植物において、これに由来する種子及びその実生から除草剤耐性タンパク質が検出された試料は確認されなかった。また、2 種類の除草剤耐性タンパク質のうちいずれか 1 種類のみが検出された母植物において、これに由来する種子及びその実生から他方の除草剤耐性タンパク質が検出された試料も確認されなかった。母植物とその種子あるいは実生との間で、除草剤

耐性タンパク質の検出結果が異なる場合、非組換え体またはいずれか1種類の除草剤耐性タンパク質遺伝子を持つ遺伝子組換え母植物の雌しべに別の除草剤耐性タンパク質遺伝子を持った遺伝子組換えセイヨウナタネ由来の花粉が付着したと予想され、非組換え体と遺伝子組換えセイヨウナタネの間で、あるいは、異なる除草剤耐性を持った遺伝子組換えセイヨウナタネ間で交配が起こったことが示唆されるが、このような同種のセイヨウナタネ間での交配を示唆する結果は、平成17～31年度において毎回確認されている。2種類の除草剤耐性タンパク質を持つセイヨウナタネ母植物は、水島、博多、四日市地域の道路沿いにおいて平成19、20、24年度の調査で確認されており、四日市地域の河川敷では平成28、29、31年度に確認されている。

今年度の試料採取は例年より遅い時期となった²³⁾が、母植物試料313試料(860試料を予定)、種子試料430試料(430試料を予定)を採取することができたため、その後の解析に影響を与えることなく十分なデータを得ることができた。母植物試料及び種子試料の採取範囲は、四日市地域、博多地域の予定通りの河川敷すべてを網羅しており、除草剤耐性ナタネの分布結果から生物多様性影響につながる現象が生じていないかどうかの監視、並びに自然環境中における導入遺伝子の拡散状況の調査ができており、その生育状況も明らかにできたと考えられる。また、セイヨウナタネと在来ナタネの雑種可能性が考えられた2試料を対象に、FCM解析(1試料)とDNAマーカー解析(2試料)を行ったところ、いずれも除草剤耐性を持たない在来ナタネであることが判明したことから、Brassica属への除草剤耐性遺伝子の移行確認という観点からも、除草剤耐性ナタネの影響の程度を明らかにできたと考えられる。

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³⁰⁾、日本産の野生植物ではない。そのため、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、セイヨウナタネの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、輸送中に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形態が似ているが、在来ナタネとは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ことが示唆された¹⁰⁾。さらにその個体を、免疫クロマトグラフ法により分析した結果ではCP4 EPSPSタンパク質が検出された。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つ

た。平成 22 年度の調査では、四日市港周辺の雲出大橋、鈴鹿大橋の橋梁下の河川敷等において、形態からは種の同定が困難な植物が見つかったが、採取された葉の FCM 解析を行ったところ、河川敷で見つかった母植物についてセイヨウナタネと在来ナタネの雑種と示唆された。それらの示唆された試料のうち、雲出大橋下の 1 群落 1 試料と鈴鹿大橋下の 1 群落 1 試料からは除草剤耐性タンパク質が検出された。この結果から、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 解析によってセイヨウナタネと在来ナタネの雑種である可能性が示唆されたが、母植物組織及び母植物から採取され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。平成 24、25 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、平成 25 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において PAT タンパク質が検出され、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について FCM 解析を行ったところ、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。平成 26 年度の調査では塩浜大橋下の 2 群落 2 試料、雲出大橋下の 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 27 年度の調査では雲出大橋下の 1 群落 1 試料がセイヨウナタネと在来ナタネの雑種である可能性が示唆され、PAT タンパク質が検出された。さらに除草剤耐性タンパク質を持たない在来ナタネ母植物に由来する種子試料で CP4 EPSPS タンパク質が検出され、在来ナタネと除草剤耐性セイヨウナタネの交雑が起こっている可能性が示唆された。

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、遺伝子組換え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³¹⁾。日本では除草剤耐性ナタネの商業栽培は行われていないため、それらの主な生育場所は、輸送時のこぼれ落ち由来の個体が生育している道路沿いや橋梁下の河川敷である。遺伝子組換えセイヨウナタネから交雑可能な近縁種への除草剤耐性遺伝子の流動は、このような場所で起きる可能性があると考えられる。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、26 年度は除草剤耐性を持つ雑種は見つかっていない。平成 24、25 年度は雑種と示唆される母植物は見つかっておらず、平成 27 年度は除草剤耐性タンパク質を持つ雑種と推定される母植物と除草剤耐性タンパク質を持たない在来ナタネ母植物由来の除草剤耐性タンパク質を持つ種子が見つかった。平成 28 年度は除草剤耐性タンパク質を持つ C ゲノム不検出ナタネが見つかった。除草剤耐性タンパク質を持つ C ゲノム不検出ナタネは、除草剤耐性ナタネと在来ナタネが交雑してできた雑種の後代であり、戻し交配などで世代を経るうちに C ゲノムの大半が欠失した個体である可能性が示唆された。平成 29 年度までの調査では、在来ナタネと判定した母植物において除草剤耐性タンパク質が検出されていなかったが、平成 30 年度は形態から在来ナタネと判定した母植物から PAT タンパク質が検出され、在来ナタネに除草剤耐性ナタネの遺伝子が流動している可能性が示唆された。この母植物試料を用いた DNA マーカー解析では、C ゲノム検出用の 17 のマーカーのうち最大 5 つのマーカーが検出されたが、これらが C ゲノムに相同な A ゲノムの領域を検出している可能性も排除しきれない。さらに、当該試料は乾燥葉であったため FCM 解析を行っておらず、また種子も採取されなかったため、雑種であることは確認されなかったが、種の同定ができなかったものとして「在来ナタネ？」としたが、除草剤耐性タ

ンパク質が検出されたことから、除草剤耐性ナタネと在来ナタネとの雑種後代である可能性が示唆される。今年度は、FCM 解析、DNA マーカー解析を行った試料では、雑種と示唆される母植物は見つからなかった。

これまでの調査では、異なる場所で断続的に数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。

ハマダイコン、ノハラガラシ、ハリゲナタネは、セイヨウナタネの近縁種であるが、ノハラ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³²⁾。ハマダイコンについては、これまでの研究において、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。ハリゲナタネでは、ハリゲナタネが花粉親の場合のセイヨウナタネとの交雑例が報告されている³³⁾が、今年度の調査では、ハマダイコン及びノハラガラシの試料からは、除草剤耐性タンパク質は検出されず、ハリゲナタネについては採取試料がなかった。

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 (*Raphanus sativus*) 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³⁴⁾。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^{35), 36)}。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。

平成 25~28 年度にハマダイコン母植物から採取された種子試料において免疫クロマトグラフ試験紙で CP4 EPSPS タンパク質の検出を示す反応が見られたが、PCR による精査を行っても *cp4 epsps* 遺伝子は検出されず、種子由来の実生でも除草剤耐性は確認されなかったことから、この検出反応は、免疫クロマトグラフ試験紙に使用された抗 CP4 EPSPS タンパク質モノクローナル抗体の交差反応性による偽陽性である可能性、すなわち CP4 EPSPS タンパク質以外のタンパク質で、当該モノクローナル抗体の結合する部位を持つようなタンパク質が一部のハマダイコン試料中に存在したことが強く示唆された。平成 31 年度に、ハリゲナタネ母植物試料において、免疫クロマトグラフ試験紙の CP4 EPSPS タンパク質の検出に相当する位置に薄いバンドが見られたが、PCR 分析により *cp4 epsps* 遺伝子は検出されず、種子試料の除草剤耐性タンパク質分析結果も陰性であったことから、当該バンドは上述のハマダイコンと同様に偽陽性である可能性が極めて高いと結論した。ハマダイコン、ハリゲナタネを含め、ナタネ近縁種における除草剤耐性タンパク質の検出結果の精度については免疫クロマトグラフ試験紙のメーカーにより保証されているわけではないため、ナタネ近縁種を対象とした免疫クロマトグラフ法の分析結果は、PCR による遺伝子の検出結果や植物個体の除草剤耐性解析結果と併せて解釈する必要があると考えられる。

4.3 分析手法等

平成 20～31 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法による除草剤耐性タンパク質の分析を行った。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法による分析を行い、その後、生育させた実生について除草剤耐性試験及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 年度から平成 27 年度まで、母植物の形態が異なる種の特徴を併せ持つなど、形態からは同定が困難な母植物の種の判定には、主として核の相対的 DNA 量を計測する方法であるフローサイトメトリー (FCM 解析) を用いてきた。平成 20 年度の調査において、FCM 解析のほか、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、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である。平成 28 年度には FCM 解析で良好な結果が得られなかったが、今年度は平成 29～31 年度と同様に、野外で採取し冷蔵保存した新鮮葉の試料を 2 日以内に液体窒素中で凍結保存して FCM 解析を行ったところ、2 試料中 1 試料で概ね良好な結果が得られた(表 1)。

今年度は、平成 28～31 年度に引き続き、DNA マーカー解析を行った^{24)、25)}。SSR(Simple Sequence Repeat) マーカーによる種の判別である。セイヨウナタネ(AACC ゲノム)、在来ナタネ(AA ゲノム)及びカラシナ(AABB ゲノム)における栽培品種のゲノム DNA を用いた解析で、セイヨウナタネでは検出されるが在来ナタネとカラシナでは検出されない C ゲノムを特異的に検出するマーカー 19 種類(表 1)により解析した。解析の結果、C ゲノムが検出されなかった 2 試料について在来ナタネと同定することができた。2 試料中 1 試料の DNA マーカー解析結果は FCM 解析による結果とも一致した。最終的に、FCM 解析結果と DNA マーカー解析結果とを総合的に併せ考えて、母植物 2 試料の種を判定した。(表 1、図 1)。

雑種の判定は基本的に FCM 解析によって可能であるが、FCM 解析では相対的な核の DNA 量を指標に用いているため、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 が類似した DNA 量となって明確な区別ができないためである。同様に、セイヨウナタネとカラシナの雑種(2n=37)も、セイヨウナタネ、カラシナと区別できない。今後は、A ゲノム、B ゲノムを特異的に検出するマーカーを用い、FCM 解析との併用等を行うことによって、セイヨウナタネと在来ナタネやカラシナ、それらの雑種の判別が可能となることが期待される。

4.4 展望

今年度及び過年度の調査により、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との交雑や、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)が示唆されてきた。これまでのところ、除草剤耐性ナタネや雑種個体の生育が確認されている範囲は限定的であって拡大の傾向は認められず、確認されている地点も毎年異なっており定着は確認されていないことから、生物多様性影響が生ずるおそれはないと考え

られた。

今後も、セイヨウナタネと近縁種の交雑可能性の大きさについて精査し、野外において交雑が起きた可能性に留意しながら、四日市地域を中心に、近縁種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の定着、並びに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科学的知見を蓄積することで、除草剤耐性ナタネの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が重要である。

5. 引用文献

- 1) 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.biodic.go.jp/bch/natane_16.html)
- 2) 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.biodic.go.jp/bch/natane_17.html)
- 3) 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
- 4) 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
- 5) 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
- 6) 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
- 7) 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.biodic.go.jp/bch/natane_18.html)
- 8) 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.biodic.go.jp/bch/natane_19.html)
- 9) 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.biodic.go.jp/bch/natane_20.html)
- 10) 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
- 11) Chen, R., Shimono, A., Aono, M., Nakajima, N., Ohsawa, R., Yoshioka, Y. (2020) Genetic diversity and population structure of feral rapeseed (*Brassica napus* L.) in Japan *PLoS ONE*, DOI: 10.1371/journal.pone.0227990
 - 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.biodic.go.jp/bch/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.biodic.go.jp/bch/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.biodic.go.jp/bch/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.biodic.go.jp/bch/natane_24.html)
 - 16) 独立行政法人国立環境研究所 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
(http://www.biodic.go.jp/bch/natane_25.html)
 - 17) 独立行政法人国立環境研究所 環境省請負業務「平成 26 年度遺伝子組換え生物による影響監視調査」報告書、平成 27 年 3 月
(http://www.biodic.go.jp/bch/natane_26.html)
 - 18) 国立研究開発法人国立環境研究所 環境省請負業務「平成 27 年度遺伝子組換え生物による影響監視調査」報告書、平成 28 年 3 月
(http://www.biodic.go.jp/bch/natane_27.html)
 - 19) 国立研究開発法人国立環境研究所 環境省請負業務「平成 28 年度遺伝子組換え生物による影響監視調査」報告書、平成 29 年 3 月
(http://www.biodic.go.jp/bch/natane_28.html)

- 20) 国立研究開発法人国立環境研究所 環境省請負業務「平成 29 年度遺伝子組換え生物による影響監視調査」報告書、平成 30 年 3 月
(https://www.biodic.go.jp/bch/natane_29.html)
- 21) 国立研究開発法人国立環境研究所 環境省請負業務「平成 30 年度遺伝子組換え生物による影響監視調査」報告書、平成 31 年 3 月
(https://www.biodic.go.jp/bch/natane_30.html)
- 22) 国立研究開発法人国立環境研究所 環境省請負業務「平成 31 年度遺伝子組換え生物による影響監視調査」報告書、令和 2 年 3 月
(https://www.biodic.go.jp/bch/natane_31.html)
- 23) 財団法人自然環境研究センター 環境省請負業務「令和 2 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」報告書、令和 3 年 3 月
- 24) Chen, R., Hara, T., Ohsawa, R. and Yoshioka, Y. (2017) Analysis of genetic diversity of rapeseed genetic resources in Japan and core collection construction. *Breeding Science* 67, 239-247
- 25) 小西あや子、大山暁男、柿崎智博、宮武宏治、山口博隆、布目司、福岡浩之 (2015) Bar-Code Split Tag (BStag) を用いた DNA マーカーのポストラベル条件の検討. 野菜茶業研究所研究報告 14, 15-22
- 26) 松尾和人、小林俊弘、田部井豊 (2005) 組換え体植物の開放系での利用に伴う遺伝子拡散のリスク評価のための基礎的研究. プロジェクト研究成果シリーズ (遺伝子組換え体の産業利用における安全性確保総合研究) 428, 161-168
- 27) 農林水産省消費・安全局農産安全管理課「遺伝子組換え植物実態調査結果 (平成 18 年～平成 27 年実施分)」平成 30 年 2 月
(<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/nouan/attach/pdf/180206-2.pdf>)
- 28) 農林水産省消費・安全局農産安全管理課「遺伝子組換え植物実態調査結果 (平成 28 年実施分)」平成 30 年 2 月
(<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/nouan/attach/pdf/180206-1.pdf>)
- 29) 農林水産省消費・安全局農産安全管理課「遺伝子組換え植物実態調査結果 (平成 29 年実施分)」平成 30 年 12 月

(<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/nouan/attach/pdf/181220-1.pdf>)

- 30) Consensus Document on the Biology of *Brassica napus* L. (Oilseed rape) No. 7, 1997, OCDE/GD(97)63
- 31) Warwick, S. I., Légère, A., Simard, M.-J. and James, T. (2008) 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
- 32) Warwick, S. I., Simard, M. J., Légère, A., Beckie, H. J., Braun, L., Zhu, B., Mason, P., Séguin-Swartz, G., Stewart, C.N. Jr. (2003) Hybridization between transgenic *Brassica napus* L. and its wild relatives: *Brassica rapa* L., *Raphanus raphanistrum* L., *Sinapis arvensis* L., and *Erucastrum gallicum* (Willd.) O.E. Schulz. *Theor Appl Genet.* 107(3), 528-539
- 33) 津田麻衣、田部井豊、大澤良、下野綾子、吉田康子、吉村泰幸 (2016) 遺伝子組換えセイヨウアブラナの生物多様性影響評価に必要なカラシナ (*Brassica juncea*)、アブラナ (*B. rapa*)、セイヨウアブラナ (*B. napus*) の生物情報集. 農業環境技術研究所報告 36, 1-45
- 34) 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
- 35) 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
- 36) Yarnell, S.H. (1956) Cytogenetics of the Vegetable Crops. II. Crucifers. *The Botanical Review* 22(2), 81-166

令和 2 年度環境省請負業務
令和 2 年度遺伝子組換え生物による影響監視調査報告書

2021 年（令和 3 年）3 月

国立研究開発法人 国立環境研究所

青野 光子

〒305-8506 茨城県つくば市小野川 16-2

電話： 029-850-2391 FAX：029-850-2585

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。