

자연생태계 모니터링을 통한 glyphosate와 glufosinate-ammonium에 저항성을 가지는 유전자변형 캐놀라의 발견

신수영 · 조범호 · 문정찬 · 이종로 · 최원균 · 설민아 · 김미정 · 송해룡

Detection of LM canola with tolerance to glyphosate and glufosinate-ammonium via the Environmental monitoring in South Korea

Su Young Shin · Beom-Ho Jo · Jeong Chan Moon · Jung Ro Lee · Wonkyun Choi · Min-A Seol · Mi-Jeong Kim · Hae-Ryong Song

Received: 9 November 2016 / Revised: 15 December 2016 / Accepted: 21 December 2016
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract Living modified (LM) crops are imported each year to South Korea as food and feeds, LM canola being one of the imported crops. The cultivation of LM crops is not permitted in South Korea but the import of these crops is increasing. In this study, we surveyed the environmental risk of imported LM canola at 9 provinces, from March 2009 to June 2013. Monitoring of canola was conducted around feed factories, roadsides, harbors, farmhouses, and flower festival regions. From the total of 595 canola samples collected from 1850 monitoring sites, we identified 6 LM canola samples. The LM canola samples were subjected to protein and DNA based analysis. PCR analyses using approved 5 single event primers (T45, MS8, RT73, Rf3 and Topas 19-2) revealed that two crops were glyphosate-resistant LM canolas, and four were glufosinate-resistant LM canolas. This study suggested that environmental monitoring is a useful research tool to manage LM crops unintentionally introduced into the environment in South Korea. This result can be used as a basis for future post-management of canola crops.

Keywords Events, Genetically modified organisms (GMOs), Lateral flow strip, biosafety, canola

서론

세계인구가 70억명을 돌파한 2012년 이후, 식량문제, 자원 고갈에 따른 에너지문제, 환경오염 문제는 심각한 사회문제로 대두되고 있다. 이러한 사회문제에 대한 해결책으로 수많은 과학자들은 식량 생산성 증대를 위한 작물개발, 식물체를 이용한 차세대 바이오 에너지 생산 및 식물대사작용에 의한 대기, 수질, 토양 등 환경오염 저감(phytoremediation)의 방법이 이러한 사회적 이슈를 극복하기 위한 대안이 될 수 있다고 주장하고 있다(Sole R, 2015; Susarla et al. 2002). 생명공학기술(Biotechnology & bio-engineering)을 이용한 우수형질의 식물을 개발하기 위한 노력은 지금까지도 활발히 진행되고 있으며, 1996년 유전자변형작물이 최초로 상업화된 이후, LM 작물의 재배면적은 해마다 꾸준히 증가하고 있다(James, 2014). 하지만, 국내에서는 제한적인 공간에서의 시험연구용 LMO를 제외한 식품, 사료용 및 농업용, 상업용 LMO의 재배는 현재까지 이루어지고 있지는 않다.

캐놀라(Canola; *Brassica napus*)는 식용유를 만드는데 이용할 수 있도록 유채(oilseed rape)를 품종 개량하여 재배되는 유지작물로서, LM 캐놀라 재배면적은 전세계 캐놀라 총 재배면적의 24%(850만 ha)의 비중을 차지하고 있으며 캐나다, 미국, 호주, 칠레에서 재배되고 있다. 캐놀라의 국내 총 수입량은 2012년 100%, 2013년 67% 정도로 매우 높은 비중을 차지하고 있다(KBCH, 2015; ISAAA, 2015). 또한, LM 캐놀라의 경우 같은 십자화과 주요작물인 토착 유채, 배추, 무, 갯 등

S. Y. Shin · J. C. Moon · J. R. Lee · W. K. Choi · M. A. Seol · M. -J. Kim · H. -R. Song (✉)
국립생태원 생태보전연구실
(Division of Ecological Conservation, National Institute of Ecology (NIE), Seocheon 33657, Korea)
e-mail: wpixh@nie.re.kr

B.-H. Jo
충남테크노파크 바이오센터 생물산업팀
(Bio-industrial Team, Bio Center, Chungnam Techno Park, Yesan, 32415, Korea)

야생 근연종과의 자연교잡율이 높아 유전자이동 가능성이 농후하기 때문에 자연생태계에 비의도적으로 노출되어 잡초화 되거나 확산 되지 않도록 주의해야 한다(Hoyle et al. 2007; Baek et al. 2008; Lim et al. 2015).

환경부에서는 「환경부 제1·2차 유전자변형생물체 안전관리계획」에 따라 국내 승인 유통 LMO의 자연생태계 내 비의도적 환경방출 현황 파악 및 과학적 사후관리를 위해 2009년부터 매해 「LMO 자연환경 모니터링 및 사후관리 연구」를 진행하고 있다. 2003년부터 2013년까지 수입 승인된 LM 캐놀라의 단일이벤트는 RT73, T45, Topas 19-2, RF3, MS8 5개이며 후대교배종은 MS1/RF1, MS1/RF2, MS8/RF3 3개이다(KBCH. 2016; Jo et al. 2015).

본 연구에서는 2009년부터 2013년까지 실시한 국내 자연환경 모니터링을 통해 LM 캐놀라의 의심시료 채집 및 검출 현황을 분석하고자 하였으며 LM 캐놀라의 비의도적 유출의 원인, 월동 및 자연교잡(잡초화 가능성)과 이로 인한 확산 가능성 등을 예측, 대응하기 위한 기초 데이터를 확보하고, 이를 통해 LMO 안전관리 및 사후관리 체계를 강화하고자 하였다.

재료 및 방법

유전자변형 캐놀라 의심시료 채집

국내 자연생태계 내의 유전자변형 캐놀라 의심시료를 채집하기 위해 GPS수신기, 지퍼백, 라텍스 장갑, 가위, 카메라, 네임펜, 조사기록지, 라벨지 등을 준비하여 모니터링을 수행하였으며 의심시료 발견 시에는 GPS좌표, 사진촬영, 조사기록지를 작성하였다. 의심시료 채집 시에는 라텍스 장갑을 착용하고 소독된 가위를 이용하였으며 식물체는 어린 잎을 위주로 2~3장의 잎을 채취하여 지퍼백에 담고 식별을 위해 샘플 번호를 작성한 뒤에 냉장 보관하였다.

단백질 검정 분석(Lateral flow strip)

Lateral flow strip 분석은 유전자변형생물체 내에 도입된 유전자가 생산하는 재조합 단백질을 strip에 포함하고 있어 시료와 반응을 시킬 경우 항원 항체 반응 원리에 따라 LMO 여부를 검증하는 방법 중의 하나이다(Kim et al. 2011). 본 연구에서는 1차 선별 방법으로 의심시료 채집 시에 현장에서 실시하거나 실험실 내에서 단백질 검정 분석을 실시하였으며 CP4-5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (CP4EPSPS)와 phosphinotricin-N-acetyltransferase (PAT)를 검출할 수 있는 검정 분석은 Envirologix (USA)사의 매뉴얼에 따라 수행하였다.

프라이머 제작 및 유전자 분석

유전자변형 캐놀라를 검출하기 위한 프라이머는 Table 1에 나타내었다. 내재유전자는 NCBI GenBank 유전자 정보와 유럽위원회 공동연구센터(Joint Research Centre-European Commission, JRC-EC)에서 확인한 *CruA* (GenBank Accession no. X59294)의 primer를 제작하였고 이벤트 특이적 primer는 JRC-EC에서 공인된 보고서에 따라 도입된 유전자 염기서열 위치와 식물 유전체 염기서열 위치가 포함된 이벤트 특이적 primer를 제작하였다. 유전자 분석을 위해서 채집된 유전자변형 캐놀라 의심시료의 genomic DNA를 DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, German)의 방법으로 추출하였으며 1.0% agarose gel 전기영동과 Nano-drop 2000 (Thermo scientific, USA)으로 DNA를 확인하고 정량을 실시한 후 중합효소연쇄반응(PCR)의 주형(100 ng/ul)으로 사용하였다. 먼저 내재 유전자 *CruA* primer (10 uM)를 사용하여 캐놀라 여부를 확인하였으며 이벤트 특이적 프라이머 5종(T45, MS8, RT73, Rf3, Topas 19-2, 10 uM)을 각 의심시료 1개마다 5종 세트의 PCR 반응을 실시하여 수입 승인된 단일이벤트의 정확한 유출

Table 1 Oligonucleotide primers to detection of LM canola

Event name	Orientations	Sequence	Product size (bp)	Reference
T45	sense	CAATGGACACATGAATTATGC	123	Charles et.al. 2006
	antisense	GACTCTGTATGAACTGTTTCGCA		
Ms8	sense	GTTAGAAAAAGTAAACAATTAATATAGCCGG	130	Mazzara et al. 2007
	antisense	GGAGGGTGTTTTTGGTTATC		
Rf3	sense	AGCATTTAGCATGTACCATCAGACA	139	Savini et al. 2013
	antisense	CATAAAGGAAGATGGAGACTTGAG		
GT73	sense	CCATATTGACCATCATACTCATTGTC	108	Mazzara et al. 2007
	antisense	GCTTATACGAAAGGCAAGAAAAGGA		
Topas19-2	sense	GTTGCGGTTCTGTCAGTTC	95	Mazzara et al. 2011
	antisense	CGACCGGCGCTGATATATGA		

정보를 확인하고자 하였다. PCR 반응조건은 95°C에서 5분간 변성 후, 95°C 15초, 60°C 20초간 결합 및 신장 반응 시킨 뒤 4°C에서 PCR 반응을 중지시켰으며 총 40 cycle 을 수행하였다. PCR 반응용액은 Solg™ 2X EF-Taq PCR pre-Mix (SolGent, Korea)를 사용하여 1개의 tube마다 총 30 ul로 반응하였다.

결과 및 고찰

LM 캐놀라 의심시료 샘플링

전국에 비의도적으로 유출된 LM 캐놀라 모니터링을 수행하기 위해 2009년부터 2013년까지 캐놀라의 생활주기(3월~6월)에 따라 총 5년동안 경기도, 강원도, 충청북도, 충청남도, 전라북도, 전라남도, 경상북도, 경상남도, 제주도의 총 9 개 지역을 대상으로 LM 캐놀라 의심시료를 조사 및 기록하였다. LM캐놀라 의심시료 모니터링 결과 동·리 기준으로 2009년 159개, 2010년 169개, 2011년 177개, 2012년 698개, 2013년 647개 지역을 조사하였고 LM 캐놀라로 의심되는 자생개체를 2009년 48개, 2010년 82개, 2011년 65개, 2012년 387개, 2013년 13개 확보하였다(Fig. 1). 조사지역 수는 2012년 이후 전년도(2009년~2011년) 대비 3배이상 증가하였다. 이는 LM 작물 수입의존도가 매년 증가함에 따라 조사 지역수 확대가 절대적으로 필요하였기 때문에 나타난 결과이며 이에 따라 LM 캐놀라 의심시료 채집 수도 2012년에 4배이상 증가하였다. 하지만 2013년도 LM 캐놀라 의심시료 채집 수가 갑자기 줄어들었는데 이는 모니터링 조사 착수가 지연되어 경상북도와 경상남도 일부에서만 LM 캐놀라 모니터링을 수행하였기 때문이다. LMO 모니터링 조사 시기가 작물의 생육시기에 따라 얼마나 중요한지를 보여주는 예가

될 것이다. 이는 곧 LMO 유출예방과 사후관리를 위한 중요한 지표 중의 하나이다. 결과적으로 총 5년의 모니터링 기간 동안 1850개 지역을 조사하였고 595개의 LM 캐놀라 의심시료 자생개체를 발견하고 샘플링 하였다.

조사장소에 따른 LM 캐놀라 의심시료 발견

국내에 수입 승인된 LM 작물은 항만을 거쳐 국내에 반입이 되므로 항만 주변 지역부터 모니터링을 실시하고 있으며 항만에서 사료공장으로 이어지는 경로와 사료공장에서 축산농가로 이어지는 경로를 대상으로 운송로 주변을 모니터링 하고 있다. 최종소비자인 사료공장 주변, 축산농가 주변 지역과 지방자치단체에서 추진하는 축제지 주변지역에서도 LMO 의심시료를 모니터링 하였다. 본 연구를 통해 사료 공장 주변 펜스 옆에서 LM 캐놀라로 의심되는 자생개체를 발견하였으며 운송로 주변 갯길에서 LM 캐놀라 의심시료가 다수 발견되기도 하였다. 또한 축산농가 옆이나 항만 근처 펜스 옆에서도 다수의 LM 캐놀라 의심시료가 발견되었고 유채 축제지에서 LM 캐놀라 의심시료를 발견하기도 하였다(Fig. 2). 조사장소에 따른 LM 캐놀라 분포결과 의심시료의 발견장소가 어떤 특정 지역에서만 국한 되는 것이 아니라 수입항만부터 최종소비지까지 발견되고 있는 것으로 보아 지속적인 자연환경 모니터링이 필요하다는 것을 알 수 있다.

유전자 분석을 통한 LM 이벤트 확인

LM 캐놀라의 모니터링 결과 채집된 595개의 의심시료 중에서 단백질 검정분석(lateral flow strip)을 통해 양성반응을 나타낸 의심시료는 2009년 2개, 2010년 0개, 2011년 12개, 2012

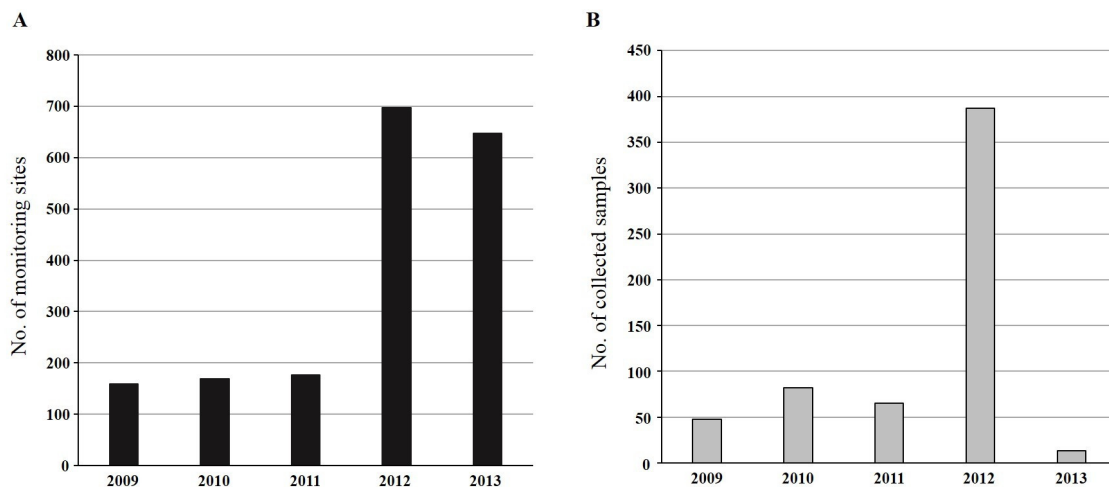


Fig. 1 The number of monitoring sites and the collected living modified canola samples from 2009 to 2013. The numbers of monitoring sites (A) and the collected samples (B) by LMO monitoring in each year are on the left



Fig. 2 Monitoring sites of living modified canola, according to places investigated (A) Mature plant around mixed feed factory area, (B-C) Mature plants around roadside area. (D) Mature plants around harbor areas. (E) Mature plants around stockbreeding farmhouse areas. (F) Mature plants around canola flower festival areas

년 29개 그리고 2013년 1개로 총 44개로 확인되었다(Supplemental table 1). 2012년에 LM 캐놀라 의심시료가 가장 많이 발견 되었으며 양성반응을 나타내는 의심시료 수도 가장 높게 나타났다. 양성반응으로 나타난 44개의 의심시료에 대한 정확한 이벤트 분석을 위해 국내 수입·승인된 이벤트 중에서 5개의 단일이벤트 T45, Ms8, Rf3, GT73 그리고

Topas19-2에 대해 의심시료 1개당 이벤트 특이적 프라이머 5개 세트를 사용하여 PCR분석을 실시하였다. 그 결과 2009년부터 2013년까지 채집한 양성반응 의심시료 44개중에서 LM 3개 시료를 제외하고 41개 시료는 모두 Non-LM으로 확인되었다. LM이벤트로 확인된 양성반응 의심시료는 2009년 채집한 의심시료 중 1개의 시료에서 GT73이 확인되었고, 2012년 채집한 의심시료 중 2개의 의심시료에서 GT73과 Topas19-2로 확인되었다(Figure 3A-C). 그리고 단백질검정 분석에서 음성반응 시료들의 LMO 재 검증을 위하여 모든 음성시료에 대해 PCR분석을 실시하였다. 단백질검정 음성반응을 나타낸 시료 중 2012년 3개의 시료가 PCR분석에서 Topas19-2 이벤트로 확인되었으며, 나머지 음성시료들은 모두 Non-LM으로 확인되었다(Fig. 3D). 캐놀라 Strip kit test의 경우 control line band보다 약하게 나타나는 band는 최종 PCR분석에서 음성으로 확인되었고, 동일하거나 강하게 나타나는 band의 시료는 LMO로 확인되었다. 본 결과는 향후 캐놀라 단백질검정 시 양성·음성 시료 구분에 Strip kit의 band 진하기 정도가 고려되어야 할 것으로 사료된다. 2009년과 2012년에 발견된 GT73은 2003년에 사료용, 2005년에 재배용으로 수입 승인된 이벤트로 CP4EPSPS와 Glyphosate oxidase(Gox) 단백질을 발현시킴으로써 제초제 glyphosate에 저항성을 가지도록 개발되었다. 또한 2012년에 발견된 Topas19-2는 2005년에 사료용, 2008년에 재배용으로 수입 승인된 이벤트로 phosphinothricin-N-acetyltransferase(PAT) 단백질을 발현시킴으로써 제초제 glufosinate-ammonium에 저항성을 가지도록 개발된 것으로 확인되었다.

LM 캐놀라의 발견 현황

이벤트 특이적 프라이머를 이용한 PCR반응에서 확인 된

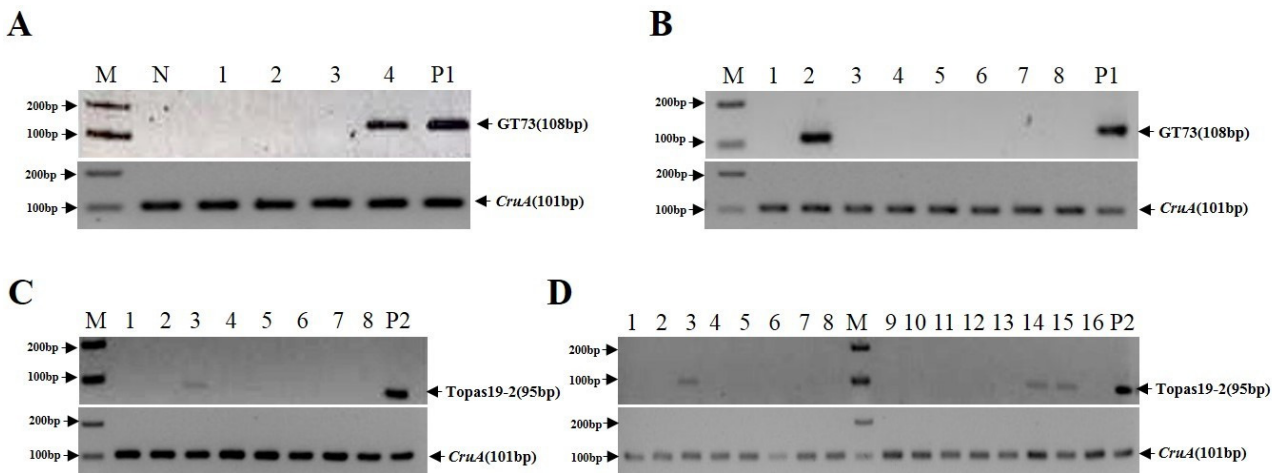


Fig. 3 PCR results from LM canola samples using event-specific primers. (A) Lane 1-4; LM canola samples from 2009, (B) Lane 1-8, (C) lane 1-8 and (D) lane 1-16; LM canola samples from 2012, M; 100bp DNA ladder, N; negative control, P1; positive control (GT73, 108bp), P2; positive control (Topas19-2, 95bp). Each PCR analysis was performed in duplicate and electrophoresed on 2.5% agarose gel

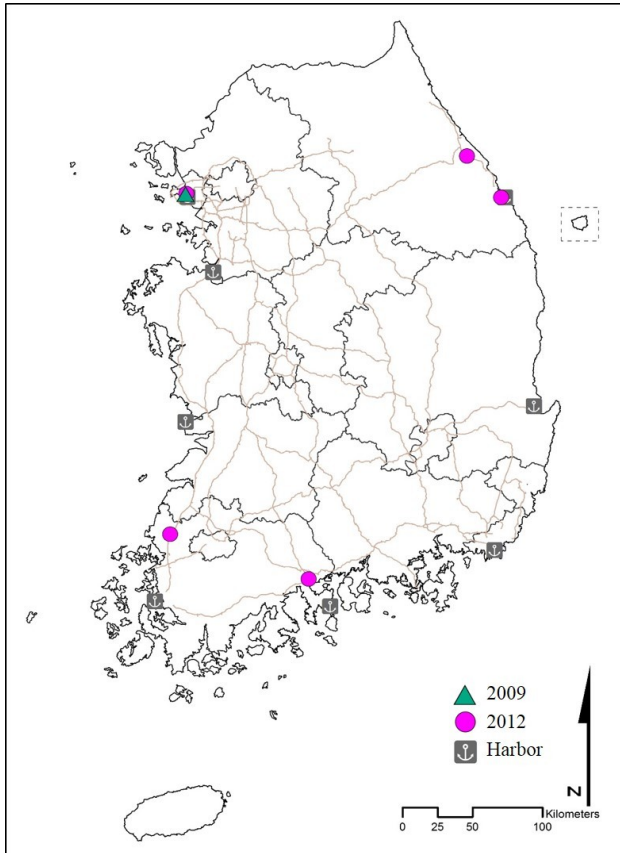


Fig. 4 Location of released living modified canola in South Korea from 2009 to 2013. Triangle; sample from the year 2009, circle; samples from the year 2012, brown line; main road, mark of Harbor; main ports of South Korea

LM 캐놀라의 발견지역을 살펴보면 2009년과 2012년에 인천광역시에서 각 1건, 2012년 강원도 강릉시와 삼척시에서 각 1건, 전라남도 광양시와 영광군에서 각 1건으로 총 6건이다(Fig. 4). 2009년 인천광역시에서 발견된 1건은 사료공장 주변에서 발견이 되었으며 2012년 인천광역시 중구 북성동 일대에서 발견된 1건은 항만주변 지역으로 인천항을 통해 반입된 LM 캐놀라가 운송로를 이동하는 중에 비의도적으로 유출이 된 것으로 사료된다. 2009년과 2012년에 발견된 LM 캐놀라는 동일한 이벤트인 GT73으로 확인되었다. 2012년 강릉시와 삼척시에서 발견된 LM 캐놀라의 경우는 삼척항에서 반입된 LM 캐놀라가 운송로를 이동하는 중에 비의도적으로 유출된 것으로 사료되며 2건 모두 동일한 이벤트인 Topas19-2로 확인되었다. 2012년 전라남도 광양시에서 발견된 1건은 축산농가 주변에서 발견이 되었으며 Topas19-2로 확인되었다. 전라남도 영광군의 축제지에서 채집한 12개 LM 의심시료 중 1개 의심시료에서 Topas19-2로 확인이 되었으며 LM 캐놀라 분포 및 유입경로 추적을 위해서 정밀 조사가 필요한 것으로 사료된다. Park et al. (2007)은 국내 경작지 및 유채 조성 하천 유역에서 시료를 채취한 후 단백질 검정분석 (lateral flow strip) 을 실시한 결과 LM 캐놀라가 발

견되지 않았으며 Lee et al. (2007) 은 인천항만 주변 하천과 하수부두에서 시료를 채취한 후 PCR 분석을 실시한 결과 LM 캐놀라가 검출되지 않았다고 보고하였다. 그러나 본 연구과제를 통해 2009년부터 2013년까지 실시한 모니터링 조사 및 유전자 분석 결과 국내 자연생태계 내에서 LM 캐놀라를 발견 하였으며 이는 자연생태계 내에 비의도적 유출 가능성과 전국을 대상으로 실시하는 LMO 자연환경 모니터링 연구가 필요하다는 것을 시사한다. 본 모니터링 연구를 통해 발견된 LM 캐놀라는 뿌리 채 제거하여 고압멸균을 통해 폐기 하였으며 LM 캐놀라 모니터링 연구 결과물은 과학적 사후관리 및 LMO 안전관리를 위한 기초자료로서 활용 할 수 있을 것으로 사료된다.

적요

식품용 및 사료용 유전자변형작물은 매년 국내에 수입이 되고 있으며 유전자변형 캐놀라는 중요한 수입 작물 중의 하나이다. 유전자변형작물의 국내 재배는 허용되고 있지 않지만 수입량은 매년 증가하고 있는 실정이다. 본 연구에서는 2009년부터 2013년까지 전국 9개 도를 대상으로 국내 수입된 유전자변형 캐놀라의 자연생태계 내 유출 정도를 파악하고자 모니터링을 실시하였다. 모니터링 조사는 항만, 사료공장, 축산농가, 운송로, 축제지 주변을 대상으로 실시하였다. 채집된 유전자변형 캐놀라 의심시료는 DNA 에 기반을 둔 방법과 단백질에 기반을 둔 방법으로 분석하였다. 총 1850개 지점 조사에서 총 595개의 의심시료를 발견 하였으며 6개의 유전자변형 캐놀라를 확인하였다. 국내 수입 승인된 단일이벤트 T45, MS8, RT73, Rf3, Topas 19-2의 primer를 사용한 PCR반응을 통해 2개의 glyphosate 저항성을 가지는 이벤트와 4 개의 glufosinate-ammonium에 저항성을 가지는 이벤트를 확인하였다. 본 연구를 통해 자연환경 모니터링 연구가 자연생태계 내의 유전자변형작물의 비의도적 유출을 예방하기 위해 매우 유용하다는 것을 알 수 있으며 사후관리를 수행하기 위한 기초자료를 구축하는데 활용 될 것으로 사료된다.

사사

본 연구는 2016년도 국립생태원 생태보전연구실(연구과제 2016-법정연구-07)의 지원으로 수행되었다.

Reference

Baek HJ, Won SY, Kim JK, Shon SI, Lee K, Cho MR, Song JK, Yoon MS, Lee J, Jin YM, Ryu TH. (2008) Study on the gene

- introgression from GM chinese cabbage to major crops in cruciferae. *Korean J Int Agri* 20:124-129
- Charles DC, Bogni A, Mazzara M, Savini C, Van Den EG (2006) Event-specific method for the quantification of oilseed rape line T45 using real-time PCR - validation report and protocol - sampling and DNA extraction of oilseed rape. EUR 22357 EN. European Commission, Joint Research Centre (JRC). Available from: <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu>
- Hoyle M, Hayter K, Cresswell JE. (2007) Effect of pollinator abundance on self-fertilization and gene flow: application to GM canola. *Ecological Applications* 17:2123-2135
- James C (2015) Global status of commercialized biotech/GM crops: 2015. ISAAA Brief. No. 50.
- Jo BH, Lee JR, Choi W, Moon JC, Shin SY, Eum SJ, Seol MA, Kim IR, Song HR. (2015) Development of multiplex PCR-based detection method for five approved LM canola events in Korea *J Plant Biotechnol* 42:117-122
- Kim JH, Kim YR, Kim HY (2011) Current status on the development of detection methods for genetically modified plants *J Plant Biotechnol* 38:143-150
- KBCH: Korea Biosafety Clearing House. [Internet]. 2015. Status of risk assessment of GMO in korea. Available from: <http://www.biosafety.or.kr>.
- Lee BK, Kim CG, Park JY, Yi HB, Park KW, Jeong SC, Yoon WK, An JH, Cho KH, Kim HM (2007) Survey of herbicide resistant oilseed rapes around the basin of rivers in incheon harbor area. *Kor J Weed Sci* 27(1):29-35
- Lim Y, Yook MJ, Zhang CJ, Nah G, Park S, Kim DS. (2015) Dormancy associated weedy risk of the F1 hybrid resulted from gene flow from oilseed rape to mustard. *Weed Turf Sci* 4:35-43
- Mazzara M, Bogni A, Savini C, Van Den EG (2007) event-specific method for the quantification of oilseed rape line Ms8 using real-time PCR - validation report and protocol- seeds sampling and DNA extraction of oilseed rape. EUR 22917 EN.
- Mazzara M, Grazioli E, Savini C, Van Den EG (2007) Event-specific method for the quantification of oilseed rape Line RT73 using teal-time PCR - validation report and protocol - seeds sampling and DNA extraction of oilseed rape. EUR 22918 EN.
- Mazzara M (2011) In-house validation of an event-specific method for the quantification of oilseed rape Topas 19/2 using real-time PCR - validation report and protocol. CRLVL12/04VP
- Park KW, Kim CG, Lee BK, Kim DY, Park JY, Kim DI, Kwon MC, Yi HB, Kim HM (2007) Monitoring of imported genetically modified crops in the cultivated fields in korea. *Kor J Weed Sci* 27(4):318-324
- Savini C, Bogni A, Mazzara M, Van Den EG (2013) Event-specific method for the quantification of oilseed rape line Rf3 using real-time PCR(V.1.01) - validation report and protocol - seeds sampling and DNA extraction. EUR 26149 EN.
- Sole R (2015) Bioengineering the biosphere. *Ecol Complex* 22:40-49
- Susarla S, Medina VF, McCutcheon SC. (2002) Phytoremediation: an ecological solution to organic chemical contamination. *Ecol Eng* 18:647-65

Supplemental Table 1 LMO detection results of monitoring samples

Year	Sample No.	strip kit		PCR
		RR	LL	
2009	1	P	N	P
	2	P	N	N
2011	1	P	N	N
	2	P	N	N
	3	P	N	N
	4	P	N	N
	5	P	N	N
	6	P	N	N
	7	P	N	N
	8	P	N	N
	9	P	N	N
	10	P	N	N
	11	P	N	N
	12	P	N	N
2012	1	P	N	N
	2	P	P	N
	3	P	N	N
	4	P	N	N
	5	P	N	N
	6	P	P	N
	7	P	P	N
	8	P	N	N
	9	P	N	N
	10	P	N	P
	11	P	N	N
	12	P	N	N
	13	P	N	N
	14	P	N	N
	15	P	N	N
	16	P	N	N
	17	P	N	N
	18	P	N	N
	19	P	N	N
	20	P	N	N
	21	P	N	P
	22	P	N	N
	23	P	N	N
	24	P	N	N
	25	P	N	N
	26	P	N	N
	27	P	N	N
	28	P	N	N
	29	P	N	N
	30	N	N	P
	31	N	N	P
	32	N	N	P
2013	1	P	N	N

RR: Roundup Ready Canola Leaf and Seeds, LL: LibertyLink PAT/pat Canola Leaf and Seed, P: Positive, N: Negative