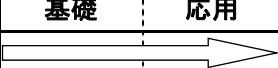
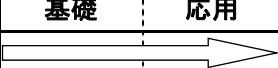
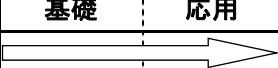


## 委託プロジェクト研究課題評価個票（終了時評価）

<b>研究課題名</b>	養殖ブリ類の輸出促進のための低コスト・安定生産技術の開発	<b>担当開発官等名</b>	研究開発官(基礎・基盤、環境)						
		<b>連携する行政部局</b>	水産庁増殖推進部 研究指導課 栽培養殖課						
<b>研究期間</b>	H26～H30（5年間）	<b>総事業費（億円）</b>	3億円（見込）						
<b>研究開発の段階</b>	<table style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="border: 1px solid black; padding: 2px;">基礎</td> <td style="border: 1px solid black; padding: 2px;">応用</td> <td style="border: 1px solid black; padding: 2px;">開発</td> </tr> <tr> <td colspan="3" style="text-align: center;">  </td> </tr> </table>	基礎	応用	開発				<b>関連する研究基本計画の重点目標</b>	重点目標 15、17、31
	基礎	応用	開発						
									

### 研究課題の概要

＜養殖ブリ類の輸出促進のための低コスト・安定生産技術の開発（平成26～30年度）＞  
我が国の農林水産物の需要を拡大するため、水産物の輸出重点化品目である養殖ブリ類の低コスト・安定生産技術を開発する。具体的には、養殖ブリ類の支出や被害の軽減により所得を5%以上改善するため、ゲノム情報(※1)を利用してブリ類の病害虫耐性品種等を短期間で育成する技術を開発する。

#### 1. 委託プロジェクト研究課題の主な目標

養殖ブリ類の病害虫耐性品種（家系）を作出する。

#### 2. 事後に測定可能な委託プロジェクト研究課題としてのアウトカム目標（H32年～）

本技術の導入により、養殖ブリ類の所得を5%以上改善する（平成32年～）。

### 【項目別評価】

#### 1. 研究成果の意義

ランク：A

##### ①研究成果の科学的・技術的な意義、社会・経済等に及ぼす効果の面での重要性

- ・ 今までブリ類の養殖はほとんど天然種苗に依存した形態であった。本研究はゲノム情報を利用したブリ類の短期育種の技術を開発するという、今までにない先導的な研究である。
- ・ 我が国ではブリ類に対する需要が高く、平成27年の養殖生産額は1,201億円であり、流通・販売段階の乗数効果を考慮すると、6,000億円以上の波及効果を持つと推定される。国内市場への供給を確保しつつ、輸出に積極的に取り組むことにより、さらに大きな経済効果を発揮すると期待される。農林水産省では、ブリを「農林水産物の輸出戦略」の重点品目に掲げており、平成28年の輸出額は北米向けを中心に約135億円（財務省貿易統計）であった。また、TPP農林水産物市場アクセス交渉の結果、ベトナム向けの全ての生鮮魚・冷凍魚について、協定発効後、即時の関税撤廃を獲得しており、今後、周年出荷体制の確立及び輸出先の多角化による成長産業化が期待される。
- ・ しかし、農畜産物と大きく異なり、我が国の水産物における品種改良は、一部の観賞魚やノリ類を除き、ほとんど進められておらず、ブリ類でも、養殖する稚魚の調達を野生の稚魚の採捕に頼ってきた。一方、海外ではサーモンの品種改良が進み、より少ない飼料で早く育つなど生産性の高い家系が作出されたことにより、水産物の国際市場における高い競争力をもたらしめている。我が国ではブリ全ゲノム解析を行い、遺伝子連鎖地図を平成26年に作成しており、これらの知見を活用し、養殖業の国際競争力を高めるため、飼育下で高いパフォーマンスを発揮する養殖魚の品種開発が必要である。
- ・ 野生の稚魚を養殖に使用することは、魚の成長における生産性が劣るだけでなく、感染症の原因生物を養殖場に持ち込む危険を常に伴う。ブリ類に寄生する代表的な原虫であるハダムシ(※2)が付着すると、魚が体を生け簀の網にこすりつけることで表皮が傷つき、致死的な細菌等が体内に侵入する二次感染によって、養殖ブリ類が大量に死亡し、多大な漁業被害を発生させている。細菌やウイルスとは異なり、原虫類にはワクチンが効かないため、ハダムシの寄生を予防するには、魚の淡水浴処理を頻繁に行ったり、ハダムシの卵が付着することで常在的な寄生源になる生け簀の網を定期的に交換したりする以外に効果的な対策が無く、多くの費用と人手を要している。このため、ハダムシが寄生しにくい養殖ブリ類の育種が強く求められている。

以上のことから、研究成果の科学的・技術的な意義及び水産行政、漁業従事者及び社会経済的ニーズ上の重要性は極めて高い。

## 2. 研究目標（アウトプット目標）の達成度及び今後の達成可能性

ランク：A

### ①最終の到達目標に対する達成度

以下のとおり、ハダムシが寄生しにくいブリの品種（家系）の作出、ハダムシが寄生しにくいカンパチを選抜するためのDNAマーカー（※3）の開発が順調に行われてきた。

- ハダムシの寄生に対する抵抗性を持つブリ品種（家系）の作出に向けては、天然ブリ新魚から選抜育種・交配を重ね第二世代の抵抗性家系候補を作出するとともに、天然ブリから選抜したハダムシの寄生が少ない個体を親にして平成29年度に次世代を作出し、さらなる選抜用の親魚候補を特定した。また、ハダムシ抵抗性と機能的な関連があると予想される遺伝子に、アミノ酸（ロイシンとプロリン）の置換を伴う多型性が見られることを明らかにした。ハダムシ抵抗性に関するDNAマーカーの候補として、約1,000個のSNPを特定しており、研究終了時まで抵抗性マーカーを5個以上開発できる見込みである。以上のように、ハダムシ抵抗性品種（家系）の候補が作出される見通しである。また、開発された品種（家系）の保護や、育種された個体が洋上飼育における偶発的な逃避によって生態系への影響を少なくすることを目的とした不妊化技術の開発にも成功している。
- ハダムシが寄生しにくいカンパチを選抜するDNAマーカーの開発については、雌雄を一对一で交配させる技術を確認して解析用家系を作出した。また、生け簀で3歳魚のハダムシ寄生数の変化を追跡し、ブリの場合と同様に、カンパチでもハダムシの寄生に個体差が見られることを明らかにした。さらに、上記の解析用家系のハダムシ抵抗性家系を用いた人為寄生実験の結果等をもとに、マーカー候補となる複数のSNPが選定され、これらの中から抵抗性マーカーが開発できる見込みであるなど、研究は着実に進んでいる。

以上のことから、ハダムシ抵抗性品種（家系）の候補が作出されており、最終年度の養殖適正試験の結果を受けて品種（家系）が作出され、抵抗性マーカーも開発される見込みであり、計画通り進捗し、順調に成果をあげており、達成度は非常に高い。

### ②最終の到達目標に対する今後の達成可能性とその具体的な根拠

- ハダムシ抵抗性品種（家系）の候補の作出、ハダムシの寄生が少ない選抜用のブリ親魚候補の特定、ハダムシ抵抗性に関するDNAマーカー候補の特定など、ブリの品種（家系）の作出、カンパチのDNAマーカーの開発は計画通り進捗しており、最終的に養殖適正の結果によりハダムシ抵抗性品種（家系）が作出されるため、到達目標の達成は確実である。

## 3. 研究が社会・経済等に及ぼす効果（アウトカム）の目標の今後の達成可能性とその実現に向けた研究成果の普及・実用化の道筋（ロードマップ）の妥当性

ランク：A

### ①アウトカム目標の今後の達成の可能性とその具体的な根拠

- ブリ養殖業では、近年の飼料価格の高騰により支出と収入が拮抗する状態が続いており、所得の数の改善が経営の安定性にとって大きな意義を持つ養殖現場では、養殖ブリ類の突発的な大量死亡を回避するためのハダムシ予防対策として、魚の淡水浴処理を頻繁に行ったり、生け簀の網を定期的に変換したりしている。このため、ハダムシ抵抗性を持つ養殖品種（家系）を作出し、その種苗（稚魚）を養殖現場に普及させることにより、ハダムシ付着が要因となるブリ類の死亡を削減するとともに、予防対策の必要頻度を軽減することで、平成32年から養殖ブリ類の所得を5%以上改善させることに取り組むことをアウトカム目標としている。
- この目標の達成に向けて、研究コンソーシアムには種苗生産施設を有する養殖民間企業が参画し、また、研究機関や民間企業による育種プログラムも予定しており、平成30年度に作出されたブリの病害虫耐性品種（家系）が生産現場へ広く普及することが見込まれている。病害虫耐性品種（家系）はハダムシ付着数が30%軽減することを目標としているが、普及によってハダムシによる死亡の被害額約9,300万円の30%減少（約2,800万円）、ハダムシを起因とする成長阻害等によるその他疾病による死亡の被害額約60億円の3%減少（約1億8,000万円）、雇用労賃・油代約21億6,000万円の1%削減（約2,100万円）と推定される。これにより、養殖ブリ類の過去10年の平均所得約17億円のうち約2億3,000万円が軽減されることになる。これは所得13.5%に相当し、当初目標の所得5%以上改善が達成される見込みが大きいと見られ、アウトカム目標達成は可能である。

## ②アウトカム目標達成に向け研究成果の活用のために実施した具体的な取組内容の妥当性

研究成果の活用については、養殖を主業とする民間企業が当初より研究コンソーシアムに参画しており、また、平成29年度からは人工種苗を生産販売している県との情報共有を実施し、本課題で開発した品種（家系）を速やかに生産現場で利用できる体制としているため、取組内容の妥当性は高い。

## ③他の研究や他分野の技術の確立への具体的貢献度

本課題で取り組んでいる広汎な遺伝子の解析、ブリのゲノム編集技術、ブリの不妊化技術等はブリ類以外の魚類にも応用可能であり、魚類の育種技術等の研究に広く波及する可能性が高い。

## 4. 研究推進方法の妥当性

ランク：A

### ①研究計画（的確な見直しが行われてきたか等）の妥当性

当初、本事業は3つの中課題で構成されていたが、高成長のブリを選抜するDNAマーカーの開発に係る中課題については、高成長という優良形質は水産動物全般に関わるテーマであり、魚種横断的な育種技術開発に活用することが適切と判断した。このため、この中課題を平成27年度末で中止し、平成28年度から「革新的技術開発・緊急展開事業」において、これまでの当該プロジェクト研究の成果を活用し取り組んでいる。

一方、ブリ類特有の形質に係る育種として、ハダムシ抵抗性品種（家系）に係る2課題に重点化することにより、中課題を3課題から2課題に整理し、研究開発の効率化をはかった。研究は順調に進捗しており、平成30年度も研究計画通り実施し、最終目標を達成できる見込みである。

### ②研究推進体制の妥当性

学識経験者と産業界の代表者を含む外部有識者4名及び関係する行政部局で構成する「委託プロジェクト研究運営委員会」を年2～3回開催し、研究の進捗状況を踏まえた適切な進行管理を行った。さらに、本プロジェクト研究を含む水産関係のプロジェクト研究においては、年1回合同運営委員会を開催し、研究成果と行政・産業界からのニーズを幅広く共有することに努めた。最終の到達目標の達成の可能性も高いことから、研究推進体制は妥当である。

### ③研究の進捗状況を踏まえた重点配分等、予算配分の妥当性

予算配分に当たっては、当初の年度計画と研究成果、次年度の研究計画を精査し、研究の進捗状況と次年度計画の内容を反映した予算の選択と集中に努めた。

## 【総括評価】

ランク：A

### 1. 委託プロジェクト研究課題全体の実績に関する所見

・養殖業の国際競争力を強化するため、養殖ブリ類の病害虫耐性品種（家系）の作出について、非常に優れた研究成果が得られていることを評価する。

### 2. 今後検討を要する事項に関する所見

・本研究で得られた研究成果を基に、他魚種の病害虫耐性品種（家系）の作出技術について開発を進めるよう期待する。

[研究課題名] 養殖ブリ類の輸出促進のための低コスト・安定生産技術の開発

用語	用語の意味	※ 番号
ゲノム情報	ある生物のDNA全ての遺伝情報のこと。対象とする生物の全ての遺伝子配列を解読し、その機能を明らかにすることによって、その情報が対象生物の育種改良などに利用されている。	1
病害虫 (ハダムシ)	ハダムシ ( <i>Benedenia seriolae</i> , <i>Neobenedenia girellae</i> ) とは、養殖のブリなどの体表面に付着する体長1cm弱の寄生虫のこと。ハダムシの寄生は養殖魚の成長不良や細菌感染症を引き起こす原因になっている。ハダムシの駆除対策として過酸化水素水製剤による薬浴や淡水浴が行われているが、養殖業者にとって大きな負担となっている。	2
DNAマーカー	ゲノムDNA上で位置が特定された特別な塩基配列を持つDNA領域のこと。品種識別などに利用されている。	3

# 養殖ブリ類の輸出促進のための低コスト・安定生産技術の開発

## 背景

- 「水産物輸出戦略」において、ブリ類は重点品目として位置づけられている
- 養殖ブリ類の輸出を促進するためには、生産コスト(病害虫対策費)の削減による生産基盤の強化が必要

## 研究内容

### これまでの成果

- ブリ類の完全養殖技術を開発  
→人工種苗による生産時期の調整が可能に
- 育種の基盤となる技術シーズの蓄積  
→病害虫耐性形質のDNAマーカーを開発

### ゲノム情報を利用した ブリ類の短期育種技術の開発

- (1)ブリの病害虫耐性品種(家系)の作出と養殖適性の実証
- (2)ブリのゲノム情報を応用した、カンパチの病害虫耐性品種(家系)作出技術の開発



### 達成目標 (H30)

- 養殖ブリ類の病害虫耐性品種(家系)を作出

## アウトカム目標

養殖ブリ類の生産コストを5%以上削減(H32)

【ロードマップ（終了時評価段階）】

養殖ブリ類の輸出促進のための低コスト・安定生産技術の開発

～H28	H29	H30	H31	H32～
委託プロジェクト研究			実証・普及、産業利用	
1. ブリの病害虫耐性品種（家系）の作出と養殖適性の実証			産業的規模での生産による実証 ・成果のPR（広報誌、研究会等の活用） ・実証に必要な枠組みの構築（新たなブリ育種プログラム（仮称）の創設を検討中）	民間企業や公的機関で種苗生産～民間養殖場で生産の全工程を実証 ・トータルコスト・品質・生産能力の評価 ・評価結果に基づくさらなる育種目標の設定等
	<ul style="list-style-type: none"> <li>DNA マーカーの候補となる SNP の同定</li> <li>選抜家系 F2 の作出</li> <li>養殖適正試験に着手</li> <li>三倍体化させる不妊化技術開発</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>抵抗性責任遺伝子候補の推定</li> <li>DNA マーカーの特定</li> <li>選抜家系 F2 の養殖適性の評価</li> <li>次世代作出用親魚候補の保有</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>全国のブリ類生産 19 県のうち主要 3 県以上で生産</li> <li>年間生産尾数 200 万尾以上（天然種苗由来の約 1 割に相当）</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>三倍体の不妊性と養殖特性の確認</li> </ul>		
		水産庁と連携した普及計画の検討・策定		
2. ブリのゲノム情報を応用したカンパチの病害虫耐性品種（家系）作出技術の開発			家系作出、実証	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>DNA マーカーの候補となる SNP の同定</li> <li>解析家系 F1 のハダムシ寄生数確認</li> <li>新魚選抜に着手</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>優良家系作出用親魚の選抜</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>民間企業や公的機関で優良家系を作出</li> <li>養殖適性を評価</li> <li>遺伝的側面からの裏付け</li> </ul>	産業的規模での生産による実証 ・成果のPR（広報誌、研究会等の活用）
		民間企業等と連携した家系作出のための枠組みの構築と計画の策定構築		

アウトカム  
【H32～】

養殖ブリ類の所得を5%以上改善

輸出額を当初より約7割増加させ、ブリ類の輸出拡大で百億円規模の市場を創出

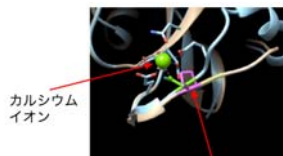
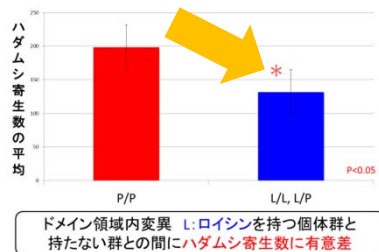
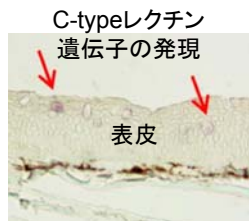
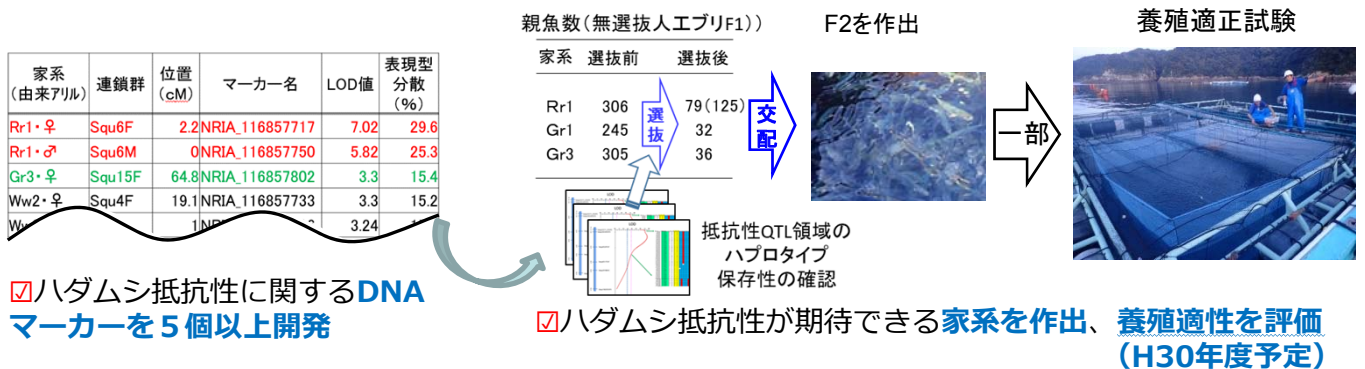
# 中課題1. ブリの病害虫耐性品種（家系）の作出と 養殖適性の実証

## 研究概要

ハダムシ抵抗性DNAマーカを開発して抵抗性家系を作出し、養殖適性を評価、抵抗性関連遺伝子の機能を解明。また、知財保護の観点や育種家系を海域で安心して養殖するために不妊化技術を開発。

## 主要成果

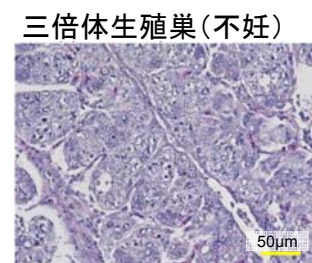
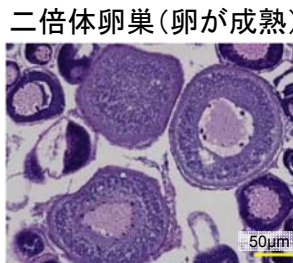
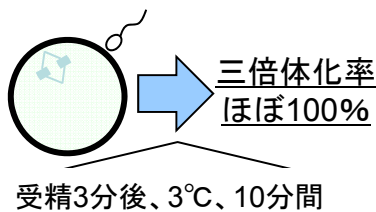
**DNAマーカを5個以上開発し、抵抗性が期待できる家系を作出して養殖適性を評価。表皮で発現するC-typeレクチン遺伝子が抵抗性と関連していることを解明。三倍体を作成し不妊であることを確認。**



ハダムシ寄生数と相関がみられたアミノ酸残基



- ☑抵抗性関連遺伝子を推定し、それが表皮で発現され、アミノ酸置換が抵抗性機能を左右することを解明
- ☑受精卵への人工ヌクレアーゼの顕微注入により抵抗性関連遺伝子が編集された試験魚を作出



- ☑低温処理による受精卵の倍数化条件を特定し、三倍体(2歳魚)が不妊であることを確認

## 今後の方針

- ・さらなる抵抗性が期待できるDNAマーカの開発 (実施期間内)
- ・民間企業等参加の育種プログラムによる作出家系の社会実装
- ・三倍体の養殖特性の評価と実用化



# 中課題2. ブリのゲノム情報を応用したカンパチの病害虫耐性品種(家系) 作出技術の開発

## 研究概要

カンパチの育種に必要な交配技術を開発するとともにハダムシ寄生実態調査から親魚を選定して解析家系を作出。これとブリの遺伝子情報を活用して抵抗性家系作出のためのDNAマーカーを開発。

## 主要成果

**1対1交配を成功させて5家系の解析家系を作出し、ハダムシ抵抗性に個体差があることを確認。ハダムシ付着数と関連する一塩基多型が連鎖群19に集中することを解明し、DNAマーカーを開発。**

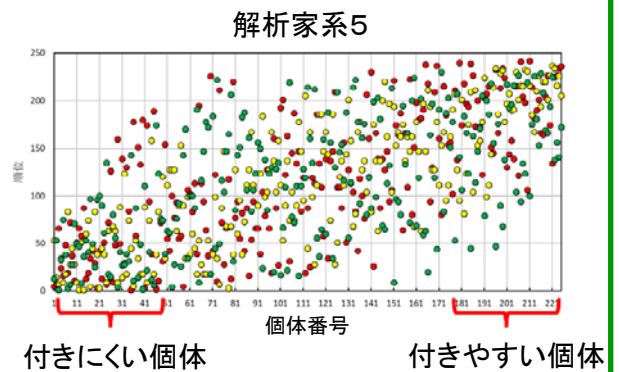


HCG投与時卵母細胞径(μm)	採卵数(万粒)	受精率(%)	ふ化率(%)
>650	25.5	83.4	78.3
>700	59.3	87.5	92.4

☑ホルモン投与タイミングの改善により**1kl水槽での産卵成績を向上、大量採卵**

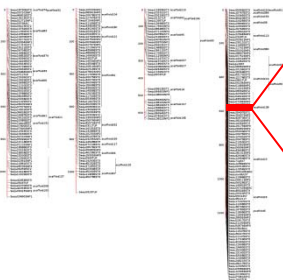


☑抵抗性2家系、感受性3家系の**解析家系を作出**



☑解析家系内でハダムシの付きやすさに**個体差があることを確認**

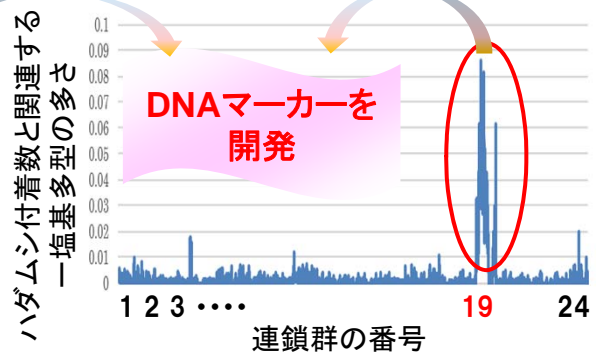
### 遺伝子地図



### 一塩基多型の位置情報

chrom	pos	ref	alt	upstream_sequence	downstream_sequence
1	5962015	GG	C	CGTTTACAGAGCATCTCTTCCGAA	GACTTTGACAAATTTTCTCCGAC
		GGAGGCACTTAAAGCTTCCGGCT		GGAGGCTTGGAGCACTTTAGAGAG	AGGCGGCTGGAGCACTTTAGAGAG
		SAGATCTTACTAGAGCTAGAGAG		GCATCTTCCGAGAGGAGCACTTACT	GCATCTTCCGAGAGGAGCACTTACT
		CCGATCTGTAGACAGCAATTTCT		AGCTTGGAGCTAGCACTA	

☑染色体の約92%をカバーする**遺伝子地図を作成し、マーカー候補として利用可能な一塩基多型を各連鎖群で約8,000座特定**



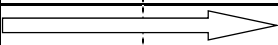
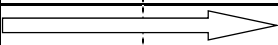
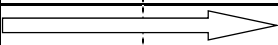
☑ハダムシ付着数と**関連する一塩基多型が連鎖群19に集中**することを解明し、**DNAマーカーを開発** (H30年度予定)

## 今後の方針

- ・特定した抵抗性DNAマーカーに基づく親魚候補の選定 (実施期間内)
- ・抵抗性家系の作出と養殖適正評価



## 委託プロジェクト研究課題評価個票（終了時評価）

<b>研究課題名</b>	ゲノム情報を活用した農産物の次世代生産基盤技術の開発プロジェクトのうち、ゲノム情報等を活用した薬剤抵抗性管理技術の開発	<b>担当開発官等名</b>	研究開発官(基礎・基盤、環境)						
		<b>連携する行政部局</b>	消費・安全局植物防疫課						
<b>研究期間</b>	H26～H30（5年間）	<b>総事業費（億円）</b>	3.35億円（見込）						
<b>研究開発の段階</b>	<table style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="border: 1px solid black; padding: 2px;">基礎</td> <td style="border: 1px solid black; padding: 2px;">応用</td> <td style="border: 1px solid black; padding: 2px;">開発</td> </tr> <tr> <td colspan="3" style="text-align: center;">  </td> </tr> </table>	基礎	応用	開発				<b>関連する研究基本計画の重点目標</b>	重点目標 28
	基礎	応用	開発						
									

### 研究課題の概要

<委託プロジェクト研究課題全体>

薬剤抵抗性病害虫の常発化、広域化、多様化が農業生産現場において進行し、現行の防除対策の見直しが強く求められているなか、薬剤抵抗性病害虫の発達を事前に予測し、適時・的確な対策を行うための技術開発が求められている。このため、主要病害虫の薬剤抵抗性を診断する技術及び薬剤抵抗性の発達や薬剤抵抗性病害虫の拡散を予測するためのシミュレーションモデルの開発に向けた研究を実施し、地域の病害虫防除指導者（公設農業試験場・病害虫防除所）が地域の栽培体系に応じた薬剤の使用基準や防除体系の策定を行うためのガイドライン案の作成に向けた研究開発を実施する。

<課題①：主要害虫類の薬剤抵抗性機構の解明と管理技術の開発（継続：平成26～30年度）>

- ・ 薬剤抵抗性の発達が問題となっている以下の害虫－薬剤の組み合わせにおいて、薬剤抵抗性発達の原因となる遺伝子変異を同定し、それらを検出する診断技術を開発するとともに、簡易生物検定（※1）診断法を開発する。また、各害虫－薬剤の組合せに対する適切な薬剤施用法等の戦略をシミュレーションにより構築する。これらの成果を薬剤抵抗性管理ガイドライン案として整理・公開する。

害虫の種類	薬剤名
コナガ	ジアミド剤
チャノコカクモンハマキ	ジアシルヒドラジン系成長制御剤 ジアミド剤
ワタアブラムシ	ネオニコチノイド剤
ネギアザミウマ	ピレスロイド剤 ネオニコチノイド剤 スピノシン剤
ナミハダニ	キチン生合成阻害剤
トビイロウンカ	ネオニコチノイド剤

<課題②：薬剤抵抗性水稻病原菌の発生・伝搬抑制技術の高度化（終了：平成26～28年度）>

- ・ イネの重要病害であるいもち病防除の基幹剤であるストロビルリン系殺菌剤（QoI剤）抵抗性いもち病菌の蔓延防止のため、原因遺伝子の変異を検出する遺伝子診断法、簡易生物検定法を確立するとともに、有効な管理対策策定のためのガイドライン案を策定する。

### 1. 委託プロジェクト研究課題の主な目標

- ①対象とする害虫（上記対象害虫6種類）が抵抗性を発達させている薬剤のうち、最低各1種類については遺伝子診断技術を確立して早期発見のためのモニタリングに活用し薬剤抵抗性管理ガイドライン（薬剤の使用基準）案を策定し公開する。（H30年度）
- ②QoI剤抵抗性いもち病菌の蔓延防止のための早期診断技術と管理技術をガイドライン案（抵抗性管理の手引き）として公開する。（H28年度）

## 2. 事後に測定可能な委託プロジェクト研究課題としてのアウトカム目標（H40年）

薬剤抵抗性管理ガイドライン案の普及・活用により、薬剤抵抗性病害虫による農作物の被害額が平成25年度との比較で半減する(1,000億円以上の経済効果)。

### <参考>

平成25年にネオニコチノイド剤抵抗性トビイロウンカの拡大が主因と考えられる水稻被害が発生した。大臣官房統計部生産流通消費統計課による平成25年産水稻におけるトビイロウンカ被害は西日本11県で105億円、被害量4万6千トンと算出されている。平成25年の水稻収穫量は5.2 t/haであり被害量は361kg/haと推計され約7%の被害率となる。薬剤抵抗性の発達により、適切な防除手段を講じることができなくなった時の減収による経済的被害を収穫量の7%と仮定して被害額を推定すると本プロジェクト研究で対象としている7種類の病害虫だけでも2,289億円（コナガ 135億円、チャノコカクモンハマキ 23億円、アブラムシ類922億円、アザミウマ類770億円、ハダニ類252億円、トビイロウンカ 105億円、いもち病 82億円）の被害となる。

## 【項目別評価】

### 1. 研究成果の意義

ランク：A

#### ①研究成果の科学的・技術的な意義、社会・経済等に及ぼす効果の面での重要性

##### <科学的・技術的な意義>

本プロジェクト開始時からの4年間で、昆虫や農薬の生化学、ゲノム生物学等の幅広い分野の科学誌に合計34報の査読論文が発表された。また、本プロジェクトでは、抵抗性遺伝子を同定するために、次世代シーケンサー（※2）を活用し、多数の抵抗性/感受性虫の比較ゲノム解析（dd-RADseq（※3）、RNA-seq（※4））とともに、薬剤処理による生死判定も実施した。これにより、従前の遺伝学的手法では数年を要した抵抗性遺伝子の同定を、数ヶ月で行えるようにした（主要成果①）。さらに、生物検定においては、サンプリングする害虫の齢期（体重）や薬剤投与方法等の統一的な検定条件を定めマニュアル化した。これにより生物検定による薬剤抵抗性発達について地域間で情報共有し最適な防除対策につなげることが可能となった。以上のことから、研究成果の科学的・技術的な意義は高い。

##### <社会・経済等の及ぼす効果の面での重要性>

薬剤抵抗性病害虫の報告件数は平成25年度633件であったものが平成28年度1,285件（消費・安全局植物防疫課による全国調査）と認知件数が倍増しており、薬剤抵抗性病害虫の管理技術の社会・経済的重要性は増している。また、QoI剤抵抗性等のいもち病菌の分布域が拡大しており、平成28年度のいもち病による水稻被害は約130億円と推定される。本研究は、これらの薬剤抵抗性病害虫を診断し、適切な管理を実現するものであり、我が国の農業の病害虫被害の低減のため重要性が高い。

### 2. 研究目標（アウトプット目標）の達成度及び今後の達成可能性

ランク：A

#### ①最終の到達目標に対する達成度

##### <課題①>

これまでに、本プロジェクトで対象とする6種類の各害虫について以下の薬剤との組合せで薬剤抵抗性系統の存在を早期に検出できる遺伝子診断法を開発し、遺伝子診断技術の確立に関する目標を前倒しで達成した。

害虫の種類	薬剤名
コナガ	ジアミド剤
チャノコカクモンハマキ	ジアシルヒドラジン系成長制御剤
ワタアブラムシ	ネオニコチノイド剤
ネギアザミウマ	ピレスロイド剤
ナミハダニ	キチン生合成阻害剤
トビイロウンカ	ネオニコチノイド剤

これらの診断技術を利用し公設試や病害虫防除所の担当者が診断を実施できるマニュアルを作成し

た。また、害虫や薬剤のタイプ別に薬剤抵抗性の発達に関与するパラメーター（感受性個体群との遺伝子交雑頻度、抵抗性個体の残存率等）を変化させたシミュレーションにより、抵抗性発達遅延に有効であると見込める薬剤施用方法（主要成果②）を明らかにした。これらの成果を元にガイドライン案の策定を進めている（主要成果③）。

<課題②>

QoI剤抵抗性いもち病菌の蔓延防止のため、PCR法（※5）による遺伝子診断法や、病斑を用いた抵抗性系統の検出法等の技術を開発した。研究成果を元に、薬剤抵抗性管理の作業手順をフローチャートで示し、抵抗性菌の迅速遺伝子診断手法、モニタリング手法、代替防除技術等を詳細に説明した「殺菌剤耐性イネいもち病菌対策マニュアル<QoI剤>」を策定し、平成29年3月に発行した（主要成果④）。

**②最終の到達目標に対する今後の達成可能性とその具体的な根拠**

プロジェクト最終年度は、遺伝子診断技術の有効性や、現地でのガイドライン案の実効性の実証研究を進めることで、県の農業試験場、病害虫防除所において確実に遺伝子診断技術による早期診断が実施できるガイドライン案を策定し公開できる見込みである。また、既に対象とする全ての害虫について1種類の遺伝子診断法を確立したが、更に他の薬剤についても診断法の開発を進めている。チャノコカクモンハマキのジアミド剤については静岡県・京都府などで薬剤抵抗性の発達が報告されていることから抵抗性原因遺伝子の特定を進めており、複数の解毒分解酵素が関与する可能性が高いことを明らかにしている。また、ネギアザミウマのネオニコチノイド剤抵抗性、スピノシン抵抗性についても原因遺伝子の同定が完了している。今後、遺伝子診断用プライマー（※6）の設計ができ次第、新たな遺伝子診断マニュアルとして追加する予定である。以上のことから、最終の到達目標の達成は可能である。

**3. 研究が社会・経済等に及ぼす効果（アウトカム）の目標の今後の達成可能性とその実現に向けた研究成果の普及・実用化の道筋（ロードマップ）の妥当性**

**ランク：A**

**①アウトカム目標の今後の達成の可能性とその具体的な根拠**

本プロジェクトで対象とした6種類の害虫については、プロジェクト期間中に、薬剤抵抗性管理のガイドライン案を公開できる見込である。本ガイドライン案を活用することで、各都道府県において病害虫防除指導者（公設農業試験場・病害虫防除所）が地域の栽培体系に応じた薬剤抵抗性管理ガイドラインを策定し、適切な病害虫防除を実施することが可能である。また、QoI剤抵抗性いもち病菌については、本プロジェクトに参画した県において、平成28年度にガイドライン案に沿って抵抗性系統の侵入を早期発見し代替防除法等を実践することにより、抵抗性系統による被害度を平成27年の半分に抑えることに成功した。以上のことから、アウトカム目標の達成は可能である。

**②アウトカム目標達成に向け研究成果の活用のために実施した具体的な取組内容の妥当性**

都道府県の病害虫防除所職員は公設農業試験場の病害虫担当研究経験者が兼務することが多いため、公設試験場研究職員を主対象とした、遺伝子診断法の技術宣伝を目的としたシンポジウム（38都道府県参加）を2017年11月に開催した。このシンポジウムでは薬剤抵抗性管理の技術普及に中心的な役割を担う県職員等が加盟する農林害虫防除研究会と農研機構の共催により、研究開発内容の周知を図った。2018年2月には、遺伝子診断技術の実技講習会を開催した。実技講習会については次年度も継続して開催する。

**③他の研究や他分野の技術の確立への具体的貢献度**

本プロジェクトで開発した多数の試料個体を扱える次世代シーケンサーを利用した特定の形質に関わる昆虫遺伝子同定技術は、ゲノム（※7）サイズと原因遺伝子同定に必要な後代試料個体数の推定も可能であり、薬剤抵抗性遺伝子同定だけでなく、今後、天敵の有用遺伝子の同定等の研究開発が加速すると期待される。

**4. 研究推進方法の妥当性**

**ランク：A**

**①研究計画（的確な見直しが行われてきたか等）の妥当性**

アウトカム目標の達成に向けて研究資源を集中させるため、平成26年度末、27年度末に各研究課題の社会実装の可能性、研究の重要度・実現可能性に関する精査を実施課題レベルまで行い、36の小課題で構成されていた研究プロジェクトを、平成28年度からは、各病害虫につき1小課題と、シミュレーションによる抵抗性発達遅延戦略の構築の小課題の計8小課題に再編成し、ガイドライン案の核となる遺伝

子診断技術の開発と薬剤使用継続の判断基準策定に必要な研究内容（薬剤抵抗性害虫の野外分布状況調査、防除体系変更による抵抗性遺伝子頻度調査、代替防除技術開発等）に重点化した。これにより、プロジェクト開始から4年目で全ての害虫で1種類の遺伝子診断技術が開発されるとともに、抵抗性害虫頻度と実被害発生状況を効率的に把握し、薬剤使用継続可否判断の基準を設定することが可能になった。以上のことから研究計画は妥当である。

### ②研究推進体制の妥当性

外部専門委員（3名）と行政担当部局（消費・安全局植物防疫課）が参加する運営委員会をこれまでに11回開催し、上記の通り研究内容の重点化を行ったほか、シミュレーションによる抵抗性発達遅延戦略の構築とそれに基づく現地での実証を小課題間の連携により効率的に実施する等、柔軟な研究推進を図っており、研究推進体制は妥当である。

### ③研究の進捗状況を踏まえた重点配分等、予算配分の妥当性

限られた予算の中で研究目標を達成するため、36の小課題で構成されていた実施課題を平成28年度から8の小課題に集約して研究開発を実施した。この精査により、抵抗性原因変異の同定に到った場合には薬剤抵抗性機構の解明に関する研究課題は中止し、信頼性の高い遺伝子診断の開発や診断の実施に必要なサンプリングの戦略構築、また、遺伝子発現調節領域の抵抗性獲得原因変異を明らかにする目的で、対象害虫系統の全ゲノム解析に研究予算を重点配分した。最終年度は、遺伝子診断技術の有効性や、現地でのガイドライン案の実効性の実証研究に重点的に予算配分する。これにより研究目標を全て達成できる見込みである。以上のことから、予算配分は妥当である。

## 【総括評価】

ランク：A

### 1. 委託プロジェクト研究課題全体の実績に関する所見

・ゲノム情報等を活用した薬剤抵抗性管理技術について、非常に優れた研究成果が得られていることを評価する。

### 2. 今後検討を要する事項に関する所見

・薬剤抵抗性個体に適切に対応して研究を進めるよう期待する。  
・本研究で得られた成果について、ロードマップで長期的な道筋が示されているが、被害の軽減は現場で必要とされている技術であり、現場での利用が早期に実現されるよう普及を進めることを期待する。

[研究課題名] ゲノム情報を活用した農産物の次世代生産基盤技術の開発のうち、ゲノム情報等を活用した薬剤抵抗性管理技術の開発

用語	用語の意味	※番号
生物検定	病害虫等に薬剤を投与し、半数致死薬剤量等を測ることで、薬剤抵抗性の発達程度を検定すること。	1
次世代シーケンサー	DNA塩基配列を高速・高出力に解読する機器。	2
dd-RADseq	ゲノムDNAを制限酵素で切断・断片化し、次世代シーケンサーにより切断された箇所の周辺領域だけを解読する技術。	3
RNA-seq	次世代シーケンサーを利用して遺伝子発現解析を行う手法。	4
PCR	ポリメラーゼ連鎖反応 (polymerase chain reaction) と呼ばれる、特定のDNA断片を増幅するための原理またはそれをを用いた手法。	5
プライマー	PCRを行う際に用いられるDNA断片。	6
ゲノム	DNAとそれに書き込まれた遺伝情報のこと。細胞中の遺伝情報全体を指す。	7
DNA	デオキシリボ核酸と呼ばれる、生物の遺伝を司る化学物質。	-
塩基配列	DNAを構成する4種の塩基の並びをアルファベット4文字 (アデニン: A、グアニン: G、シトシン: C、チミン: T) で表現した文字列。	-
制限酵素	特定の塩基配列を認識しDNAを切断する酵素。	-

# ゲノム情報等を活用した薬剤抵抗性管理技術の開発(H26-H30)

## 【背景】

- 農作物生産の大きな減収要因となる病害虫への対策は、生物・物理・化学・耕種的防除の複数手段を適切に組み合わせた**総合的病害虫管理 (IPM)** が推奨されている。
- ところが近年、**薬剤抵抗性**を発達させた病害虫の出現、分布拡大により、害虫密度が増加してIPMそのものが成り立たなくなる事例が生じるようになった。
- 今後、気候変動等に伴う新たな侵入病害虫の増加も予想され、**薬剤抵抗性病害虫による被害の防止と薬剤抵抗性の発達を抑制・遅延させるための技術開発**が急務となっている。

## 【研究内容】

### 薬剤抵抗性遺伝子診断技術の開発

次世代型シーケンサー等の機器を使用して、主要な防除薬剤に対する病害虫の抵抗性遺伝子を同定し、公設試等で簡便に検出できる技術を開発。



### 薬剤抵抗性の現状把握と発達原因の調査解析 各種薬剤に使える標準生物検定法の開発

薬剤抵抗性の現状把握を各地の農業試験研究機関と農薬メーカーが実施して発達原因を解析。



コナガ、ワタアブラムシ、ナミハダニ等について、解析結果の比較が可能で各種薬剤に使用できる**標準生物検定法**を開発。



### 抵抗性の発達・拡大を予測する技術

数理モデルによりローテーション散布、混用散布等の手法が**抵抗性発達の遅延**に及ぼす影響を解析。

### 代替防除技術の開発

薬剤抵抗性個体にも有効な**生物農薬**や、特定波長(UV-B)照射・施設栽培短時間高温処理等の**物理的防除法**を検討。

## 薬剤抵抗性管理ガイドライン案の策定

## 【研究目標】

コナガ、ワタアブラムシ、ウンカ類、ネギアザミウマ、ナミハダニ、チャノコカクモンハマキを対象に、ゲノム情報等を活用した**薬剤抵抗性管理技術**を開発し、薬剤抵抗性病害虫を被害拡大前に検知し、**拡大防止する技術**を開発

## 【社会実装への道筋】

現場において**薬剤抵抗性管理ガイドライン**の活用を図り、薬剤抵抗性害虫の**発生を抑制**

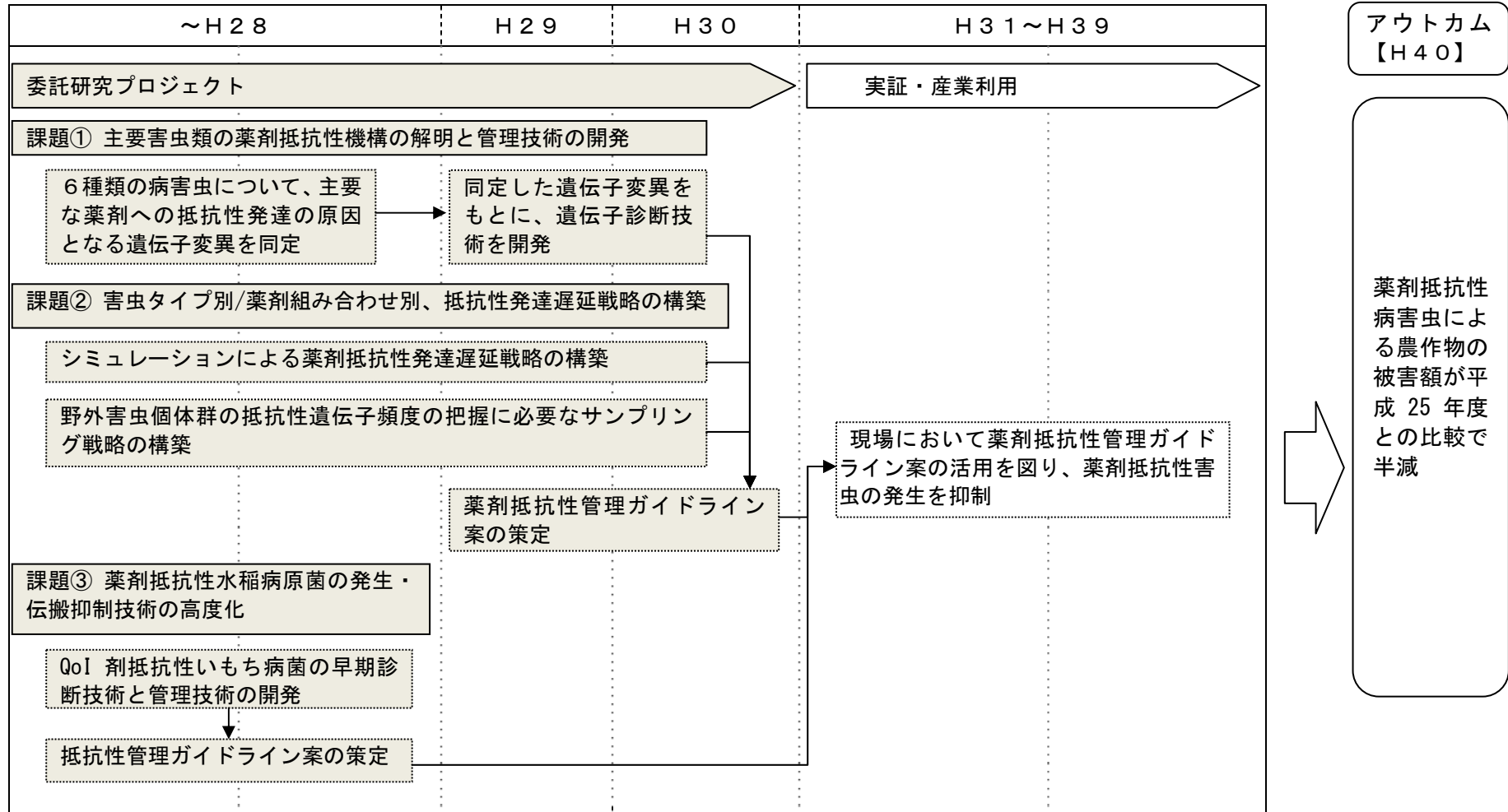


**農作物**を安定的に生産して消費者に届ける**持続的農業**の推進に貢献



【ロードマップ（終了時評価段階）】

「ゲノム情報を活用した農産物の次世代生産基盤技術の開発」うち「ゲノム情報等を活用した薬剤抵抗性管理技術の開発」



# ゲノム情報等を活用した薬剤抵抗性管理技術の開発(PRM)

## 主要成果①

### 重要害虫の薬剤抵抗性原因遺伝子の特定

#### 研究概要

コナガ、アザミウマ等の重要害虫の薬剤抵抗性発達が国内で問題化しています。抵抗性の原因となる遺伝子変異を次世代シーケンサーで特定し、迅速にDNAマーカーを開発・利用することにより、適切に抵抗性モニタリングを実施して被害拡大を防ぐ防除体系の構築を目指します。

#### 主要成果

**次世代シーケンス解析を用いて、重要害虫の薬剤抵抗性原因遺伝子を特定しDNAマーカーを開発しました。**

重要害虫の基幹薬剤に対する抵抗性発達が国内外で問題となっています。同じ害虫でも国内外で薬剤抵抗性の原因が異なる場合もあり、国内の害虫における抵抗性の主要因となる遺伝子を迅速に特定することが重要となります。

##### RNA-seq 解析

発現遺伝子の網羅的な比較解析を行い原因候補遺伝子を特定



次世代シーケンサー

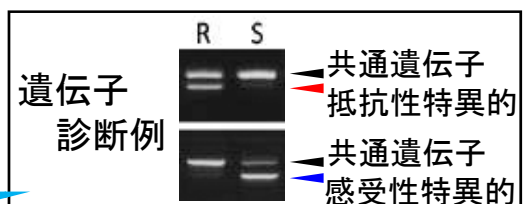
##### ddRAD-seq 解析

薬剤検定結果を活用した連鎖解析を行い原因遺伝子のゲノム上の候補領域を特定

・生物検定供試虫の生死判定と次世代シーケンサを用いた供試虫解析とを併用して、従来は数年間を要していた抵抗性原因遺伝子同定を数ヶ月で行えるようにしました。

・右表の原因遺伝子のDNAマーカーを設計し、抵抗性害虫の遺伝子診断を可能にしました。従来法で数週間を要する判定を数時間で行えます。

害虫種	対象薬剤	主な抵抗性原因遺伝子
コナガ	ジアミド	リアノジン受容体
ネギアザミウマ	合成ピレスロイド	ナトリウムチャネル
チャノコカクモンハマキ	DAH系IGR (テブフェノジド)	エクダイソン受容体
ワタアブラムシ	ネオニコチノイド	ニコチン性アセチルコリン受容体 $\beta 1$ サブユニット
ナミハダニ	キチン合成阻害剤	キチン合成酵素
トビイロウンカ	ネオニコチノイド (イミダクロプリド)	チトクロームP450 (CYP6ER1)



**抵抗性遺伝子診断技術の活用により、薬剤抵抗性害虫の早期発見が可能**

#### 今後の研究推進方向

早期遺伝子診断技術の普及を進めると共に、新規の薬剤抵抗性が確認された場合に、抵抗性原因遺伝子の特定およびDNAマーカーの開発をより迅速に行い、抵抗性拡大の早期抑制を可能にする。

# ゲノム情報等を活用した薬剤抵抗性管理技術の開発(PRM)

## 主要成果②

### シミュレーションによる害虫薬剤抵抗性発達予測技術

#### 研究概要

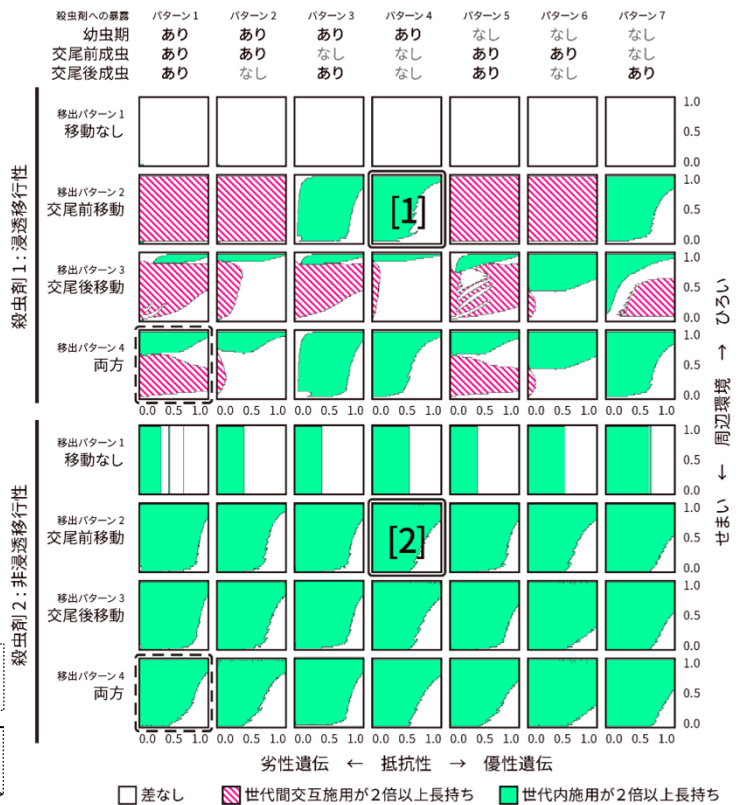
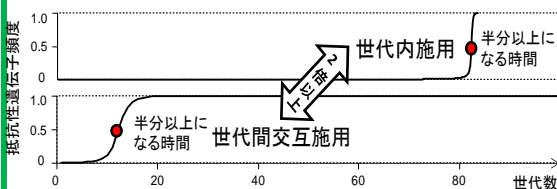
殺虫剤の施用時期、植物浸透移行性の有無、害虫移動パターンの違いを考慮した薬剤抵抗性の発達が進みにくい農薬の使用法を明らかにして、薬剤抵抗性管理に役立てます。

#### 主要成果

異なる作用機構の殺虫剤の「世代内施用」が害虫の抵抗性発達遅延に効果的であると予測されました

殺虫剤の浸透移行性の有無や施用時期、害虫の生活史の違いの組み合わせ56通りを想定したシミュレーションの結果、非浸透移行性の殺虫剤を使う場合など、「世代内施用」の方が、現在普及している「世代間交互施用」よりも抵抗性の発達遅延に効果的である場合が多いことがわかりました。チョウ目害虫を想定した例（図中[1], [2]）では、「世代内施用」が数十～100倍も効果が高いと予測されました。

シミュレーションの例と効果判定方法



害虫が世代更新する前に作用機作の異なる剤で処理することが抵抗性発達遅延に有効な場合が多い。

#### 今後の研究推進方向

シミュレーション結果の有効性を実験で確認すると共に、世代内施用のアイデアをどのように既存の防除法の中に組み込んでゆくか検討します。

# ゲノム情報等を活用した薬剤抵抗性管理技術の開発(PRM)

## 主要成果③

### 現状 薬剤抵抗性害虫管理のためのガイドライン案を策定中

- ・被害が顕在化してから薬剤抵抗性病害虫の発生に気づき対策が後手に回る
- ・病害虫防除指導担当者が参考にできる対策・手法をまとめたものがない
- ・抵抗性害虫が広範囲に蔓延してしまう

薬剤抵抗性害虫  
国内発生報告  
797件  
(平成28年度)

### 今回公開するガイドライン案が浸透すれば

- ・高感度検出法（PCR法）で抵抗性系統の侵入を被害顕在化する前に検知
- ・病害虫防除担当者が担当地域の対策に役立つ情報（ガイドライン）をとりまとめ
- ・薬剤抵抗性害虫による被害を未然に防止

### ガイドライン案の特徴

#### 遺伝子診断法（PCR法）による薬剤抵抗性判定の長所

	生物検定法	遺伝子診断（PCR）法
供試虫採集	捕虫網による人力	フェロモントラップ（可能であれば）
害虫飼育	必要	不要
供試虫	生虫	死虫でも可能
期間	2～3ヶ月	約6時間
判定	統計解析	写真

#### 遺伝子診断法を開発した害虫と剤名

害虫の種類	薬剤名
コナガ	ジアミド剤
チャノコカクモン ハマキ	ジアシルヒドラジン系成長制御剤
ワタアブラムシ	ネオニコチノイド剤
ネギアザミウマ	ピレスロイド剤 スピノシン剤
ナミハダニ	キチン生合成阻害剤
トビイロウンカ	イミダクロプリド剤

#### PCR法の診断結果例

抵抗性 感受性



▲ 共通遺伝子  
▲ 抵抗性特異的



▲ 共通遺伝子  
▲ 感受性特異的

#### ガイドライン案の目次例：コナガのジアミド剤抵抗性

- 1) コナガ薬剤抵抗性の現状と対策の考え方
  - 2) 薬剤抵抗性管理の具体的手順
  - 3) 判断基準
  - 4) 代替防除手段について
  - 5) 地域特性に合わせた抵抗性管理のポイント
  - 6) 薬剤抵抗性管理に役立つ生物学的情報と事例集
- ・プロジェクト研究で先行的に実施した防除体系再構築等の事例解説

- ・害虫の効率的サンプリング法と遺伝子診断方法をマニュアル化
- ・遺伝子診断法未確立の剤の抵抗性をモニターするための生物検定法についても解説
- ・個体群中に占める抵抗性個体頻度による対象薬剤使用の可否判断について解説
- ・他剤効果、物理的防除、天敵利用等の情報
- ・害虫の越冬可否等の違いによる対策ポイント等を解説

## 地域の病害虫防除指導機関で生産者向けガイドライン作成・周知

Q：なぜ地域別ガイドラインが必要か？

A：国内各地で作目や使用剤が異なり、全国版ガイドラインでは対応できない

# ゲノム情報等を活用した薬剤抵抗性管理技術の開発(PRM)

## 主要成果④

### 薬剤抵抗性水稻病原菌の発生・伝搬抑制技術の高度化

#### 研究概要

ストロビルリン系殺菌剤（QoI剤）の抵抗性イネいもち病菌の発生が国内で確認され、その分布域が拡大しています。そこで、抵抗性菌の迅速遺伝子診断手法を開発すると共に、薬剤使用歴や種子流通などの情報を分析し、薬剤抵抗性菌の発生・伝搬を抑制するための管理法を明らかにします。

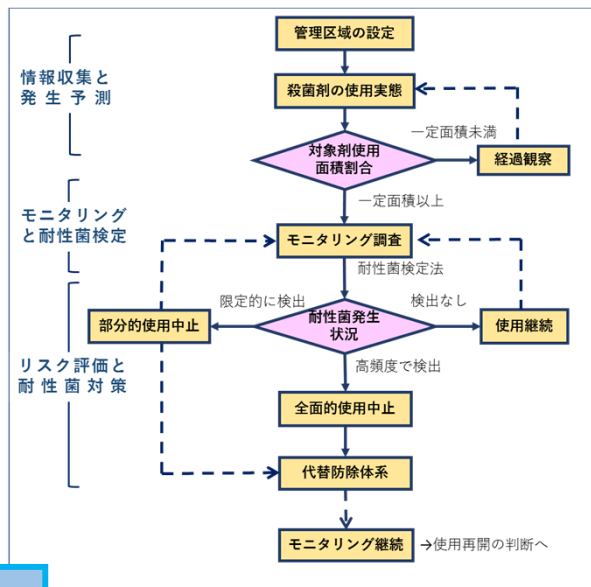
#### 主要成果

### 「殺菌剤耐性イネいもち病菌対策マニュアル<QoI剤>」を策定しました。

本マニュアルでは、薬剤抵抗性管理の作業手順をフローチャートで示し(右図)、抵抗性菌の迅速遺伝子診断手法、モニタリング手法、代替防除技術などの関連情報を詳しく紹介しています。抵抗性菌対策の実施では、左図に例示した①～③のような管理目標と管理区域（県や地域単位）を設定することが重要で、その上でフローチャートの手順を実行します。

#### 抵抗性菌対策の設定例

- ①管理区域を設定し、箱処理剤の使用面積率を10～30%に制限します。
- ②使用面積率に応じて連用年数を3～5年に制限します。
- ③採種圃場の防除対策を徹底し、種子保菌率の低減化を図ります。



抵抗性発達リスクのある殺菌剤に対しては、事前に設定した管理目標を実行することで、抵抗性菌のまん延を遅らせることが可能となります。

#### 今後の研究推進方向

採種圃場での防除対策、種子消毒法、種子の流通体制などの面からも薬剤抵抗性の発達を遅延させるための管理要点を提示する必要がある。また、使用中止地域での当該剤の再使用の可能性を検討する。