

Broad bean stain virus に関する
病害虫リスクアナリシス報告書

令和３年２月３日 改訂

農林水産省
横浜植物防疫所

主な改訂履歴及び内容

平成 31 年 3 月 25 日

令和 3 年 2 月 3 日

作成

宿主植物の追加(エンドウ)、検疫措置に精密検定を追加

目次

はじめに.....	1
I リスクアナリシス対象の病害虫の生物学的情報(有害植物).....	1
1. 学名及び分類.....	1
2. 地理的分布.....	1
3. 宿主植物及びその日本国内での分布.....	2
4. 感染部位及びその症状.....	2
5. 移動分散方法.....	2
6. 生態.....	2
7. 媒介性又は被媒介性.....	2
8. 被害の程度.....	3
9. 防除.....	3
10. 診断、検出及び同定.....	3
11. 日本における輸入検疫措置.....	4
12. 諸外国における輸入検疫措置.....	4
II 病害虫リスクアナリシスの結果.....	5
第1 開始(ステージ1).....	5
1. 開始.....	5
2. 対象となる有害動植物.....	5
3. 対象となる経路.....	5
4. 対象となる地域.....	5
5. 開始の結論.....	5
第2 病害虫リスク評価(ステージ2).....	6
1. 有害動植物の類別.....	6
2. 農業生産等への影響の評価.....	6
3. 入り込みの可能性の評価.....	8
4. BBSV の病害虫リスク評価の結論.....	9
第3 病害虫リスク管理(ステージ3).....	11
1. BBSV に対するリスク管理措置の選択肢の検討.....	11
2. 経路ごとの BBSV に対するリスク管理措置の選択肢の検討.....	13
3. BBSV の病害虫リスク管理の結論.....	14
別紙1 <i>Broad bean stain virus</i> の発生国等の根拠.....	16
別紙2 <i>Broad bean stain virus</i> の宿主植物の根拠.....	17
別紙3 <i>Broad bean stain virus</i> の宿主植物に関連する経路の年間輸入検査量 (貨物、郵便物及び携帯品).....	18
参考.....	19
引用文献.....	21

はじめに

Broad bean stain virus (BBSV) は、アジア、中東、欧州及びアフリカで発生し、ソラマメの葉に退緑斑紋やモザイクを生じ、ゾウムシ科等のベクターにより伝搬することが知られている。また、BBSV は種子伝搬することが報告されており、虫媒伝搬と種子伝搬により大きな被害を生じると報告されている (Kumari and Makkouk, 2007)。

このため、日本では BBSV を植物防疫法施行規則 (農林省, 1950) 別表1の2で規定し、BBSV の発生国から輸入される種子については、栽培地検査が必要としている。

今般、BBSV に関する新たな宿主植物の報告があったことから、改めて BBSV に対するリスク評価を実施し、現行の検疫措置の有効性を評価するため、病害虫リスクアナリシスを実施した。

I リスクアナリシス対象の病害虫の生物学的情報(有害植物)

1. 学名及び分類

(1) 学名 (ICTV, 2017)

Broad bean stain virus (BBSV)

(2) 英名、和名等

ソラメステインウイルス

(3) 分類 (ICTV, 2017)

種類: ウイルス

科: Comoviridae

属: *Comovirus*

BBSV は症状の重篤性や種子伝搬率が異なる若干の系統が存在する (PaDIL, 2018; Kumari et al. 1996)。

また、BBSV には、宿主植物の違いにより異なる血清型 (ソラマメを宿主とする serotype 1、エンドウを宿主植物とする serotype 2 及びヒラマメを宿主植物とする serotype 1, 2 以外の血清型) が存在する (PaDIL, 2018)。

(4) シノニム (CABI, 2018a; PaDIL, 2018)

Broad bean (Evesham) stain virus

Broad bean F1 virus

Broad bean stain comovirus

virus de la mosaïque de la fève (MF virus)

Broad bean Evesham stain virus

pea seedborne symptomless virus

pea green mottle virus

2. 地理的分布

(1) 国又は地域 (詳細は別紙1参照)

アジア: 中華人民共和国

中東: イラン、シリア、トルコ、ヨルダン、レバノン

欧州: イタリア、英国、オーストリア、スロバキア、ドイツ、ハンガリー、ポーランド

アフリカ: エジプト、エチオピア、スーダン、チュニジア、南スーダン、モロッコ、リビア

(2) 生物地理区

旧北区、東洋区及びエチオピア区の3区に分布する。

3. 宿主植物及びその日本国内での分布

(1) 宿主植物(詳細は別紙2参照。下線部は令和3年2月3日改訂時に追加。)

マメ科: エンドウ (*Pisum sativum*)、ソラマメ (*Vicia faba*)、ヒラマメ (*Lens culinaris*)

(2) 日本国内における宿主植物の分布及び栽培状況

ソラマメ属: 山形県及び富山県を除く45都道府県で栽培されている。

エンドウ属: 47都道府県で栽培されている。

4. 感染部位及びその症状

BBSVは冷涼な気候(約25℃以下)で症状が激しくなり、暑い気候では症状は弱まり、時に消失する(PaDIL, 2018)。一般に、BBSVが感染した種子は目視で判断できる症状をほとんど現さず、健全種子と見分けがつかない(Kumari and Makkouk, 2007)。

ソラマメ種子において特徴的な斑点模様又は褐色の壊死斑と種皮の萎縮を引き起こす可能性がある。また、ソラマメの葉にモザイク、えそ斑点、奇形を生じ、生長阻害、果実の減少、さやの奇形等も引き起こすことが知られている(PaDIL, 2018)。

エンドウの症状は一般的に株全体の軽度な斑点と壊死とされる(PaDIL, 2018)。

ヒラマメでは、植物体の黄化、萎縮が生じる(PaDIL, 2018)。また、発育不良となり、種子に斑点が現れる(Chen *et al.*, 2011; PaDIL, 2018)。

5. 移動分散方法

(1) 自然分散

ベクターによる伝搬及び種子伝搬が知られている(Kumari and Makkouk, 2007; PaDIL, 2018)。

種子伝搬の伝搬率は非常に高く、ソラマメで最大20%、エンドウで50%、ヒラマメで27%に達する(PaDIL, 2018)。

(2) 人為分散

汁液で伝染する(Kumari and Makkouk, 2007)。また、種子伝搬する(Kumari and Makkouk, 2007; PaDIL, 2018)ことから、感染種子の移動により分散すると考えられる。

6. 生態

(1) 中間宿主及びその必要性

情報なし。

(2) 伝染環

ベクターによる伝搬と種子伝搬、汁液による伝染と、複数の経路が知られている。

(3) 植物残渣中での生存

情報なし。

(4) 耐久生存態

情報なし。

7. 媒介性又は被媒介性

以下の昆虫がベクターとして知られている。

ホソクチゾウムシ科: *Apion aestivum* (Kumari and Makkouk, 2007)、*Apion aethiops* (Kumari and Makkouk, 2007)、*Apion arrogans* (Kumari and Makkouk, 2007; PaDIL, 2018)、*Apion vorax* (Kumari and Makkouk, 2007; PaDIL, 2018)

ゾウムシ科: *Sitona* sp. (PaDIL, 2018)、*Sitona crinita* (= *Sitona macularius*) (Chen *et al.*, 2011; Kumari and Makkouk, 2007; PaDIL, 2018)、*Sitona limosus* (Kumari and Makkouk, 2007; PaDIL, 2018)、アカアシチビコフキゾウムシ (*Sitona lineatus*: 日本既発生 (日本応用動物昆虫学会, 2006)) (Kumari and Makkouk, 2007; PaDIL, 2018)

これらベクターはウイルスを獲得して4日後から最大 12 日間伝搬させることができる (PaDIL, 2018)。

また、これらのうち *Apion vorax*、*Sitona lineatus* は飛翔するとの報告があり (Cockbain *et al.*, 1982)、飛翔距離は *Sitona lineatus* で 12.2m との情報がある (CABI, 2018b)。

8. 被害の程度

ソラマメにおいて種子伝搬した植物体はさやの収穫量が1植物体当たり 11.9 個から 1.0 個に減少し、種子収量が1植物体当たり 14.6gから 0.8gに減少したとの報告がある (PaDIL, 2018)。

また、試験において、開花期前、開花期、開花期後に BBSV を接種したソラマメは、種子の産出減収量がそれぞれ 77.4%、67.7%、32.2%と報告されており、別の実験では収量減収率が 24%、31%、25%との報告もある (PaDIL, 2018)。

9. 防除

乾熱処理: 感染種子に対して 80°C、8日間の乾熱処理を実施したところ、未処理区では 14.81%であった BBSV の感染率が0に低減したという報告がある。しかし、処理後の育苗箱内での発芽試験では、発芽率が未処理区の 98%に対して 48%に低下したため、本処理は、遺伝資源のような少量種子には有効であるが、商業用種子には適さないとされている (Kumari and Makkouk, 1996; PaDIL, 2018)。

耕種的防除: 健全種子の使用、雑草管理、宿主植物同士の近距離での栽培を避ける、ベクターの防除 (PaDIL, 2018)。BBSV 罹病植物から 250~500m 離れている場所では、感染が確認されなかったという報告がある (Cockbain *et al.*, 1975)。

10. 診断、検出及び同定

(1) 診断

葉等に生じた症状を観察する。

(2) 検出及び同定

ELISA 法や TBIA (tissue blot immunoassay) 法といった血清学的診断法が知られている (PaDIL, 2018)。

シリアでの粉砕したソラマメ種子を使用した ELISA 法による BBSV 検出試験では、シリアで分離した BBSV の抗血清について ELISA 検定を行った結果、400 粒中1粒の感染種子の検出が可能であり、低濃度感染時に検出されないことを避けるため、1サブサンプルは種子 50 粒又は 100 粒が好ましいとしている (Makkouk *et al.*, 1987)。

serotype にかかわらず、あらゆる宿主植物において使用可能である ELISA 法診断キットがアメリカ合衆国で販売され、検定には葉に加え、茎、芽、種子、根等の BBSV の症状のある又は BBSV に感染した組織が供試可能である。また、ELISA プレート1穴当たりの検定には、検出感度の点から葉組織片1~10 枚までが好ましいとしている (Creative Diagnostics, 2018)。

遺伝学的手法では、ソラマメの葉から BBSV が属する Comoviridae (コモウイルス科) を検出する RT-PCR 法の報告がある (Kewey *et al.*, 2007) なお、BBSV の一部 (segment RNA2) の塩基配列は、アメリカ合衆国生物学情報センター NCBI (National Center for Biotechnology Information) の GenBank に登録されている (NCBI, 2018)。また、GenBank

に登録されている RNA2 の配列を基に作出した BBSV 特異的プライマーを用いた RT-PCR 法による市販の BBSV ポジティブコントロール検出の報告がある (Perez-Egusquiza *et al.*, 2014)。

1 1. 日本における輸入検疫措置

BBSV を植物防疫法施行規則 (農林省, 1950) 別表 1 の 2 に規定しており、BBSV が発生している国又は地域からの該当する宿主植物の採種用親植物について、ベクターの防除が十分に行われたほ場で栽培され、生育最盛期に栽培地検査を行って BBSV の発生がないことを確認し、その旨を検査証明書に追記することを要求している。

1 2. 諸外国における輸入検疫措置

(1) ニュージーランド

エンドウ属 (*Pisum*) 及びソラマメ属 (*Vicia*) の栽植用種子に対して BBSV を含む以下のウイルスを対象とした無発生の地域又は生産地の設定を要求している (MPI, 2018)。

エンドウ属: BBSV、Broad bean mottle virus、Pea early-browning virus、Pea enation mosaic virus、Peanut mottle virus 及び Peanut stunt virus

ソラマメ属: BBSV、Artichoke yellow ringspot virus、Broad bean mottle virus、Broad bean true mosaic virus、Pea early-browning virus、Pea enation mosaic virus 及び Peanut stunt virus

(2) オーストラリア

エンドウ属、ソラマメ属及びヒラマメ属 (*Lens*) の栽植用種子を隔離栽培中の検査対象としており、当該検査において BBSV を含む以下のウイルスを対象とした ELISA 法、PCR 法、TBIA 法のいずれかによる検定を実施している (BICON, 2018a; BICON, 2018b; BICON, 2018c; PaDIL, 2018)。

エンドウ属: BBSV、Broad bean mottle *bromovirus* 及び Pea early browning *tobravirus*

ソラマメ属: BBSV、Broad bean mottle *bromovirus*、Broad bean true mosaic *comovirus*、Pea early browning *tobravirus* 及び Red clover vein mosaic virus

ヒラマメ属: BBSV 及び Pea seed borne mosaic virus

Ⅱ 病害虫リスクアナリシスの結果

第1 開始(ステージ1)

1. 開始

Broad bean stain virus(BBSV)に対するリスク評価を行い、現行の検疫措置の有効性を評価するため、病害虫リスクアナリシスを実施する。

2. 対象となる有害動植物

BBSV を対象とする。

3. 対象となる経路

リスクアナリシス対象の病害虫の生物学的情報の「2. 地理的分布」に示す「国又は地域」からの「3. 宿主植物及び日本国内での分布」に示す「宿主植物」であって、「4. 感染部位及びその症状」に示す「感染部位」を含む植物を対象とする。

4. 対象となる地域

日本全域を対象とする。

5. 開始の結論

BBSV を開始点とし、その発生地域から輸入される植物を経路とした日本全域を対象とする病害虫リスクアナリシスを開始する。

第2 病害虫リスク評価(ステージ2)

1. 有害動植物の類別

ステージ1で特定された有害動植物について、国内における発生及び公的防除の有無、定着及びまん延の可能性並びに経済的影響を及ぼす可能性について調査し、検疫有害動植物の定義内の要件を満たしているかどうかを検討する。なお、検疫有害動植物の基準を満たしていない場合は評価を中止し病害虫のリスクは「無視できる」とする。

(1) 有害動植物の国内での発生の有無、公的防除の有無等

Broad bean stain virus(BBSV)は国内未発生である。

(2) 定着及びまん延の可能性の評価

BBSV の宿主植物は、47 都道府県で栽培されていることから、国内に定着及びまん延する可能性がある判断する。

(3) 経済的影響を及ぼす可能性

BBSV の感染により、宿主植物において種子の斑点症状、果実の減少、さやの奇形、植物体の壊死等を引き起こす。ソラマメにおいて種子伝搬した植物体はさやの収穫量が1植物体当たり11.9個から1.0個に減少し、種子収量が1植物体当たり14.6gから0.8gに減少したとの報告がある。

したがって、現在、BBSV は国内未発生であるが、もし、BBSV が国内に入り込み、定着及びまん延した場合、経済的影響を及ぼす可能性がある。

(4) 評価にあたっての不確実性

特になし。

(5) 有害動植物の類別の結論

BBSV は国内未発生であるが、宿主植物は 47 都道府県で栽培されていることから、BBSV が国内に定着及びまん延する可能性がある。また、BBSV による経済的被害の報告があることから、国内でも経済的影響を及ぼす可能性は否定できない。

したがって、植物検疫措置に関する国際基準(以下「国際基準」という。)No. 11「検疫有害動植物に関する病害虫リスクアナリシス」を実施するため、引き続き「2. 農業生産等への影響の評価」で評価を行う。

2. 農業生産等への影響の評価

(1) 定着の可能性

ア リスクアナリシスを実施する地域における潜在的検疫有害動植物の生存の可能性

(ア) 潜在的検疫有害動植物の生存の可能性

BBSV は種子伝搬することから、感染部位が周年で存在する。

(イ) リスクアナリシスを実施する地域における中間宿主の利用可能性

中間宿主の存在は必須ではない。よって、本項目は評価しない。

(ウ) 潜在的検疫有害動植物の繁殖戦略

対象となる検疫有害動植物はウイルスである。よって、評価基準に基づき5点と評価した。

イ リスクアナリシスを実施する地域における寄主又は宿主植物の利用可能性及び環境の好適性

(ア) 寄主又は寄主植物の利用可能性及び環境の好適性

宿主植物が属するエンドウ属は 47 都道府県で栽培されていることから、評価基準に基づき5点と評価した。

(イ) 潜在的検疫有害動植物の寄主又は宿主範囲の広さ

BBSV が宿主とする植物の科は、マメ科のみが知られている。

(ウ) 有害動植物の侵入歴

旧北区、東洋区、エチオピア区の 3 区に分布する。よって、評価基準に基づき3点と評価した。

ウ 定着の可能性の評価結果

評価した項目の平均から、定着の可能性の評価点は5点満点中の 4.3 点となった。

(2) まん延の可能性の評価

ア 自然分散(自然条件における潜在的検疫有害動植物の分散)

ここでは、a ベクター以外による伝搬と、b ベクターによる伝搬とに分けて評価を行い、それぞれにおける項目の得点の合計値が高い方を採用する。

(ア) 有害植物の自然分散

a ベクター以外による伝搬

(a) 移動距離

BBSV は種子伝搬することが知られており、評価基準に基づき2点と評価した。

(b) 伝染環数

BBSV は種子伝搬とベクターによる伝搬が知られており、年に複数回の伝染環を持つと考えられることから、評価基準に基づき5点と評価した。

b ベクターによる伝搬

(a) ベクターによる移動距離

BBSV のベクターは短距離飛翔することから、評価基準に基づき3点と評価した。

(b) 伝搬様式

BBSV のベクターの伝搬様式に関して情報はないが、最大 12 日間媒介できるとのことから、評価基準に基づき3点と評価した。

イ 人為分散

(ア) 農作物を介した分散

BBSV の宿主植物が属するエンドウ属は、47 都道府県で栽培されていることから、評価基準に基づき5点と評価した。

(イ) 非農作物を介した分散

汁液伝染が知られていることから、評価基準に基づき5点と評価した。

ウ まん延の可能性の評価結果

評価した項目の平均から、まん延の可能性の評価点は5点満点中の 4.3 点となった。

(3) 経済的重要性の評価

ア 直接的影響

(ア) 影響を受ける農作物又は森林資源

BBSV の宿主植物であるエンドウとソラマメの農産物産出額は合計 241.2 億円であることから、評価基準に基づき2点と評価した。

(イ) 生産への影響

宿主植物であるエンドウとソラマメは付録2に記載されており、商品部位であるさやや種子に症状が現れ、時に 70%を超える減収が報告されていることから、評価基準に基づき4点と評価した。

(ウ) 防除の困難さ

海外での公的防除の実施事例に関する情報はない。

(エ) 直接的影響の評価結果

上記2項目の評価点の積は8点となり、評価基準に基づき直接的影響の評価点は2点となった。

イ 間接的影響

(ア) 農作物の政策上の重要性

BBSV の宿主は、政策上重要とされる品目に該当しない。よって評価しない。

(イ) 輸出への影響

ニュージーランドがソラマメ種子に対して BBSV を対象として、無発生地域又は無発生生産地の設定を要求していることから、輸出の制限を受ける可能性があるため、評価基準に基づき1点と評価した。

ウ 経済的重要性の評価結果

直接的影響の評価結果の得点と間接的影響の得点の和から、経済的重要性の評価点は3点となった。

評価における不確実性

特になし。

農業生産等への影響評価の結論(病虫害固有のリスク)

3項目の評価点の積は 55.5 点となり、BBSV の農業生産等への影響の評価を「中程度」と結論付けた。

3. 入り込みの可能性の評価

(1) 感染部位	葉に斑点、成長阻害、果実の減少とさやの奇形が知られている。また、植物全体に斑点と壊死、発育不良も引き起こす。		
(2) 国内に入り込む可能性のある経路	経路として考えられるものは「栽植用植物」、「栽植用種子」、「消費生植物」及び「消費乾燥植物」である。なお、ソラマメ、エンドウは苗を輸入して栽培することは考えがたく、輸入実績もないことから、「栽植用植物」は入り込みの検討対象の経路から外した。		
	用途	部位	経路となる可能性
	ア 栽植用種子	種子	○
	イ 消費生植物	果実	○
	ウ 消費乾燥植物	種子	○
(3) 宿主植物の輸入検査量	別紙3参照		

(4) 入り込みの可能性の評価

ア 栽植用種子

(ア) 輸送中の生き残りの可能性(加工処理に耐えて生き残る可能性)

BBSV は有害植物である。よって、評価基準に基づき5点と評価した。

(イ) 潜在的検疫有害動植物の個体の見えにくさ

BBSV は有害植物である。よって、評価基準に基づき5点と評価した。

(ウ) 輸入品目からの人為的な移動による分散の可能性

BBSV は有害植物である。よって、評価基準に基づき5点と評価した。

(エ) 輸入品目からの自然分散の可能性

BBSV は有害植物である。よって、評価基準に基づき5点と評価した。

(オ)評価における不確実性
特になし。

栽植用種子の入り込みの可能性の評価の結論

評価を行った項目の得点から平均値は5点であり、BBSV の栽植用種子を経路とした場合の入り込みの可能性の評価を「高い」と結論付けた。

イ 消費生植物

(ア)輸送中の生き残りの可能性(加工処理に耐えて生き残る可能性)

原産地で潜在的検疫有害動植物の生存率に影響を与える加工処理等は実施されていない。

よって、評価基準に基づき5点と評価した。

(イ)潜在的検疫有害動植物の個体の見えにくさ

BBSV は有害植物である。よって、評価基準に基づき5点と評価した。

(ウ)輸入品目からの人為的な移動による分散の可能性

消費豆類である。よって、消費植物の評価基準に基づき1点と評価した。

(エ)輸入品目からの自然分散の可能性

BBSV のベクターが日本に存在することから、評価基準に基づき1点と評価した。

(オ)評価における不確実性
特になし。

消費生植物の入り込みの可能性の評価の結論

評価を行った項目の得点から平均値は3点であり、BBSV の消費生植物を経路とした場合の入り込みの可能性の評価を「無視できる」と結論付けた。

ウ 消費乾燥植物

(ア)輸送中の生き残りの可能性(加工処理に耐えて生き残る可能性)

乾燥植物であり、原産地で潜在的検疫有害動植物の生存率に影響を与える加工処理等がなされているといえる。また、BBSV が乾燥に強いなどの情報はない。よって、本項目は評価しない。

(イ)潜在的検疫有害動植物の個体の見えにくさ

BBSV は有害植物である。よって、評価基準に基づき5点と評価した。

(ウ)輸入品目からの人為的な移動による分散の可能性

消費豆類である。よって、消費植物の評価基準に基づき1点と評価した。

(エ)輸入品目からの自然分散の可能性

BBSV のベクターが日本に存在することから、評価基準に基づき1点と評価した。

(オ)評価における不確実性
特になし。

消費乾燥植物の入り込みの可能性の評価の結論

評価を行った項目の得点から平均値は 2.3 点であり、BBSV の消費乾燥植物を経路とした場合の入り込みの可能性の評価を「無視できる」と結論付けた。

4. BBSV の病害虫リスク評価の結論

BBSV は検疫有害植物であり、栽植用種子を経路として入り込む可能性がある」と評価した。

農業生産等への影響評価の結論(病害)	入り込みのリスク		病害虫リスク評価の結論
	用途	入り込みの可能	

虫固有のリスク)		性の評価の結論	
中程度	ア 栽植用種子	高い	中程度 (入り込みの可能性が高い)
	イ 消費生植物	無視できる	無視できる
	ウ 消費乾燥植物	無視できる	無視できる

第3 病害虫リスク管理(ステージ3)

病害虫リスク評価の結果、*Broad bean stain virus* (BBSV) はリスク管理措置が必要な検疫有害植物であると判断されたことから、ステージ3において、発生国からの宿主植物の輸入に伴う BBSV の入り込みリスクを低減するための適切な管理措置について検討する。

1. BBSV に対するリスク管理措置の選択肢の検討

選択肢	方法	有効性及び実行可能性の検討	実施主体 (時期)	有効性	実行可能性
①病害虫無発生地域、生産地又は生産用地の設定及び維持	国際基準 No. 4 又は No. 10 の規定に基づき設定及び維持する。	[有効性] ● 国際基準に基づき輸出国植物防疫機関が設定、管理及び維持する病害虫無発生地域、生産地又は生産用地であって、BBSV の感染がないことを確認した種子を利用すること及びベクターの管理ができれば有効である。 [実行可能性] ● 輸出国において適切に管理(ベクターの管理を含む。)されることが必要であるが、実行可能と考えられる。	輸出国 (輸出前)	○	○
②システムズアプローチ	複数の管理措置を組み合わせる。	有効性及び実行可能性については、具体的に提案される管理措置の内容を検討する必要がある。	輸出国 (輸出前)	—	—
③栽培地検査	栽培期間中に生育場所において植物の症状を観察する。	[有効性] ● 栽培期間中に症状を明瞭に現す場合は有効である。 ● BBSV は、エンドウでは株全体の軽度な斑点及び壊死、ソラマメでは葉のモザイク、えそ斑点、奇形を生じ、成長阻害、果実の減少、さやの奇形等、ヒラマメでは植物体の黄化、萎縮を生じることから、栽培中の検査は有効である。なお、栽培地検査では、暑い気候では症状は弱まり、時に消失する場合があるので検査時期を考慮する必要がある。 [実行可能性] ● 輸出国においてベクターの適切な防除が実施されると	輸出国 (栽培中)	○	○

		ともに、適切な検査が行われることが必要であるが、実行可能と考えられる。			
④消毒	乾熱処理等による殺菌処理を実施する。	[有効性] ● BBSV の感染種子に対して 80℃、8 日間の乾熱処理を実施したところ、感染率が未処理区の 14.81% に対して 0% に低下したという報告があることから、有効である。 [実行可能性] ● 乾熱処理後の育苗箱内での発芽試験では、発芽率が未処理区の 98% に対して 48% に低下したため、商用種子には適さないという報告があることから、実行困難と考える。	輸出国 (輸出前) 輸入国 (輸入時)	○	×
⑤精密検定	血清学的診断法、遺伝子診断法等による精密検定を実施する。	[有効性] ● ELISA 法等の血清学的診断法により、植物体及び種子から特異的に BBSV を検出可能であり、また ELISA キットが市販されているため、有効である。 ● 特異的プライマーの報告があるが、ポジティブコントロールを検出した報告であり、実際に BBSV を検出できるかは不明である。 ● なお、検定では葉に加え、茎、芽、種子、根等の組織も供試可能である。 [実行可能性] ● 輸出入国において検定施設を有するとともに、ELISA キットが必要であるが、実行可能と考えられる。	輸出国 (輸出前) 輸入国 (輸入時)	○	○
⑥検査証明書への追記	輸出国での目視検査の結果、BBSV に感染していないことを確認し、その旨を検査証明書	[有効性] ● 輸出検査時に症状を明瞭に現す場合は有効である。 ● BBSV はソラマメ種子に特徴的な斑点模様、褐色の壊死斑、萎縮を生じさせる可能性があり、ヒラマメ種子に斑	輸出国 (輸出時)	×	○

	に追記する。	点を生じさせるとの報告もあるが、エンドウ種子に係る症状は報告されていない。 ● なお、一般に、BBSV が感染した種子は目視で判断できる症状をほとんど現さず、健全種子と見分けがつかないとされており、有効でない。 [実行可能性] ● 輸出国において適切な検査が行われることが必要であるが、実行可能と考えられる。			
⑦ 輸出入検査(目視検査)	植物の症状等を確認する。	[有効性] ● 輸出入検査時に病徴を明瞭に現す場合は有効である。 ● BBSV はソラマメ種子に特徴的な斑点模様、褐色の壊死斑、萎縮を生じさせる可能性があり、ヒラマメ種子に斑点を生じさせるとの報告もあるが、エンドウ種子に係る症状は報告されていない。 ● 一般に、BBSV が感染した種子は目視で判断できる症状をほとんど現さず、健全種子と見分けがつかないとされており、有効でない。 [実行可能性] ● 輸出入国において通常実施されている検査であり、実行可能である。	輸出国 (輸出時) 輸入国 (輸入時)	× ×	○ ○

有効性

○:効果が高い

▽:限定条件下で効果がある

×:効果なし

—:検討しない

実行可能性

○:実行可能

▽:限定条件下で実行可能

×:実行困難

—:検討しない

2. 経路ごとの BBSV に対するリスク管理措置の選択肢の検討

(1) 栽植用種子

ア 検討結果

病虫害無発生の地域、生産地又は生産用地の設定及び維持(選択肢①)は、BBSVの入

り込みのリスクに対して有効な管理措置である。しかしながら、病害虫無発生地域等の設定及び維持においては、BBSVのベクターであるホソクチゾウムシ科及びゾウムシ科に対する管理が必要である。また、病害虫無発生地域等の設定及び維持は、宿主植物の栽培環境、病害虫管理等を含む各種要因に影響を受けるため個別案件ごとに具体的な内容を輸出国植物防疫機関が示し、日本がその許諾を判断する必要がある。

栽培地検査(選択肢③)は、エンドウでは株全体の軽度な斑点及び壊死、ソラマメでは葉にモザイク、えそ斑点、奇形を生じ、成長阻害、果実の減少、さやの奇形等、ヒラマメでは植物体の黄化、萎縮を生じることから、有効な管理措置である。なお、BBSVは、暑い気候では症状は弱まり、時に消失する場合があるので検査時期を考慮する必要がある。また、BBSVはベクターであるホソクチゾウムシ科及びゾウムシ科が知られているため、栽培地において、これらベクターによる新たな侵入を防止するための防除も組み合わせる必要がある。

精密検定(選択肢⑤)は、葉に加え、茎、芽、種子、根等の組織も供試可能なELISAキットが販売されており、BBSV特異的プライマーの報告もあることから、栽培時の採種用親植物又は輸出前若しくは輸入時の種子の精密検定は有効な管理措置である。なお、ELISAキットは、serotypeにかかわらず、あらゆる宿主植物を侵すBBSVのタイプに使用可能である。ただし、BBSV特異的プライマーについてはGenBankに登録されているRNA2の配列を基に作出したプライマーで、検出実績は市販のポジティブコントロールのみであり、検出感度や特異性についての詳細な報告がないことから、BBSV全ての系統及び血清型を検出できるかは不明である。

イ リスク管理措置の特定

栽植用種子に対する管理措置として、BBSVの入り込みのリスクを低減させることが可能であり、かつ必要以上に貿易制限的でないことを考慮し、以下を特定した。なお、以下のいずれかの管理措置を実施する必要がある。

- 輸出国(栽培中)において、採種用親植物についてベクターの防除が十分に行われたほ場で栽培され、生育最盛期に栽培地検査を行い、BBSVの発生がないことを確認し、その旨を検査証明書に追記する。
- 輸出国(輸出前)において、採種用親植物又は種子について ELISA 法等の適切な血清学的診断法による検定を行い、BBSV に感染していないことを確認し、その旨を検査証明書に追記する。
- 輸入国(輸入時)において、種子について ELISA 法等の適切な血清学的診断法による検定を行い、BBSV に感染していないことを確認する。

なお、種子について検定を行う場合は、国際種子検査協会(ISTA)が定める国際種子検査規程(International Rules for Seed Testing)の抽出方法に準拠した方法で同一の荷口単位から無作為に抽出した規定の種子数について検定を行うこと。なお、規定の種子数とは、通常ロットの場合(同一の荷口当たりの種子数が46,000粒以上)は、ロット当たり一律4,600粒、小ロットの場合(同一の荷口当たりの種子数が46,000粒未満)は、その種子数の10%とする。なお、検定実施(血清学的診断法)におけるサブサンプルの最大値については、Makkouk *et al.* (1987)に基づき、100粒とする(種子検定に係る詳細は参考参照)。

3. BBSV の病害虫リスク管理の結論

経路ごとにリスク管理措置の選択肢を検討した結果、BBSV の入り込みのリスクを低減させる効果があり、かつ必要以上に貿易制限的でない判断した各経路の管理措置を以下にとりまとめた。

用途	対象植物	リスク管理措置
----	------	---------

栽植用種子	エンドウ、ソラマメ及びヒラマメの種子	以下のいずれかの管理措置を実施。 ○ 輸出国(栽培中)において、採種用親植物についてベクターの防除が十分に行われたほ場で栽培され、生育最盛期に栽培地検査を行い、BBSV の発生がないことを確認し、その旨を検査証明書に追記する。 ○ 輸出国(輸出前)において、採種親植物又は種子について ELISA 法等の適切な血清学的診断法による検定を行い、BBSV に感染していないことを確認し、その旨を検査証明書に追記する。 ○ 輸入国(輸入時)において、種子について ELISA 法等の適切な血清学的診断法による検定を行い、BBSV に感染していないことを確認する。 ※ 検定は、ISTA が定める国際種子検査規程の抽出方法に準拠した方法で同一の荷口単位から無作為に抽出した 4,600 粒について、最大 100 粒ずつ検定を実施する(同一の荷口単位から無作為に抽出された、信頼度 99%のサンプルサイズとすることが適当であると考える。)
-------	--------------------	--

なお、輸出国から上記に示す管理措置以外の提案があった場合は、その内容を検討し、上記に示す管理措置と同等のものであるかを判断する必要がある。

Broad bean stain virus の発生国等の根拠

国又は地域	ステータス	根拠論文及び備考
アジア		
中華人民共和国	発生	CABI, 2018a; EPPO, 2009; Kumari and Makkouk, 2007; PaDIL, 2018
中東		
イラン	発生	Chen <i>et al.</i> , 2011; Kumari and Makkouk, 2007; PaDIL, 2018
シリア	発生	CABI, 2018a; Chen <i>et al.</i> , 2011; Kumari and Makkouk, 2007; PaDIL, 2018
トルコ	発生	CABI, 2018a; Chen <i>et al.</i> , 2011; Kumari and Makkouk, 2007; PaDIL, 2018
ヨルダン	発生	Chen <i>et al.</i> , 2011; Kumari and Makkouk, 2007; PaDIL, 2018
レバノン	発生	Kumari and Makkouk, 2007
欧州		
イタリア	発生	PaDIL, 2018
英国	発生	PaDIL, 2018
オーストリア	発生	PaDIL, 2018
スロバキア	発生	PaDIL, 2018
ドイツ	発生	PaDIL, 2018
ハンガリー	発生	PaDIL, 2018
ポーランド	発生	PaDIL, 2018
アフリカ		
エジプト	発生	Kumari and Makkouk, 2007; PaDIL, 2018
エチオピア	発生	Chen <i>et al.</i> , 2011; Kumari and Makkouk, 2007; PaDIL, 2018
スーダン	発生	Kumari and Makkouk, 2007
チュニジア	発生	Kumari and Makkouk, 2007; PaDIL, 2018
南スーダン	発生	Kumari and Makkouk, 2007 (2011 年スーダンから独立)
モロッコ	発生	Kumari and Makkouk, 2007; PaDIL, 2018
リビア	発生	PaDIL, 2018

Broad bean stain virus の宿主植物の根拠

学名	科名	属名	和名	英名	根拠	備考
<i>Lens culinaris</i>	マメ科	レンズ属	ヒラマメ	lentil	CABI, 2018a; Chen <i>et al.</i> , 2011; Kumari and Makkouk, 2007; PaDIL, 2018	
<i>Vicia faba</i>	マメ科	ソラマメ属	ソラマメ	broad bean	CABI, 2018a; Kumari and Makkouk, 2007; PaDIL, 2018	
<u><i>Pisum sativum</i></u>	<u>マメ科</u>	<u>エンドウ属</u>	<u>エンドウ</u>	<u>pea</u>	<u>PaDIL, 2018</u>	<u>追加</u>

備考欄の追加は、文献情報に基づき宿主植物として令和3年2月3日改訂時に追加された種

Broad bean stain virus の宿主植物に関連する経路の年間輸入検査量
(貨物、郵便物及び携帯品)

(1) 栽植用種子

単位(数量):kg

植物名	生産国	発生国	2017		2018		2019	
			件数	数量	件数	数量	件数	数量
Pisum sativum(エンドウ コーティング種子)	米国	×			4	6,002		
Pisum sativum(エンドウ)	イタリア	○	14	16,679	6	782	12	6,089
	インド	×	1	1,800	6	12,972		
	オーストリア	○	2	5			2	4
	スイス	×	1	1				
	スウェーデン	×	4	4	1	3		
	スペイン	×			1	1	2	11
	タイ	×	20	6,242	23	8,005	15	5,230
	デンマーク	×	4	5				
	ドイツ	○			2	4	4	12,009
	ニュージーランド	×	1	5,725				
	フランス	×	2	2,568	2	3,985	3	3,504
	ベトナム	×	2	132	4	4		
	ミャンマー	×	2	2	1	1	1	1
	英国	○	3	3	2	40		
	韓国	×	3	3	1	1	1	1
	香港	×	1	1	1	1	1	1
	中国	○	38	35,224	67	47,341	93	56,876
	日本	×	2	11	2	8		
	米国	×	66	193,202	76	139,392	95	139,500
Vicia faba(ソラマメ)	イタリア	○	5	54	6	761	2	151
	オーストラリア	×					2	2
	カナダ	×			1	1	1	2
	ギリシャ	×	1	1				
	スウェーデン	×	1	1				
	スペイン	×	1	2,000				
	チリ	×			3	12,647	4	2,804
	ニュージーランド	×			1	1		
	フランス	×	4	49	3	7	2	31
	ミャンマー	×	2	2			1	1
	英国	○	1	1				
	中国	○	12	11,076	7	11,891	7	11,884
	日本	×			1	1		
	米国	×	23	121,781	30	90,205	34	84,462

種子の検定を実施する場合の粒数の考え方について

1 検査用主試料の抽出方法(1次抽出)

ISTA が定める国際種子検査規程の抽出方法(ISTA Rules 2019 Chapter 2: Sampling) (ISTA, 2019)に準拠した方法で同一の荷口単位から無作為に検査用の主試料を抽出し、その中から、以下の検定用試料として規定の数量を抽出する。

2 検定用試料の抽出方法(2次抽出)

検定用試料については、ISTA の抽出方法に準拠した方法で、ISPM 31「Methodologies for sampling of consignments」(FAO, 2016)を根拠とした、以下のポアソン分布に基づく抽出量の計算式(山村, 2011)に基づいた抽出理論による検定数量について抽出する(小ロットについては下記(2)参照。)

$$n = - \frac{\log_e(1 - \beta)}{p}$$

n : 抽出量

β : 検出確率(信頼度)

p : 限界不良植物率(不良率の上限)

本式では、病害虫の付いた植物を不良植物とし、不良植物率が p 以上の荷口が国内へ入ってくるリスクを、 n 個検査することにより、 $1 - \beta$ 以下に制御する。

(1) 通常ロットの種子検定対象の2次抽出量(n)の基本的な考え方

個々の病原体の具体的な種子検定粒数の根拠とできる技術的情報がない場合は、国際種子連盟(International Seed Federation (ISF)) (ISF, 2019)等の検定プロトコル等の国内外の検定方法の諸情報等を総合的に考慮し、種子検定のための2次抽出量(n)は、ウイルス・ウイロイドについては、限界不良植物率(=ロットにおいて検出しようとする最低感染種子率)(p)の暫定値として0.001(=0.1%=荷口 1000 粒/ロット中、感染種子1粒)、検出確率(β)は99%を採用し、上記ポアソン分布の式を用いて4,606 粒/ロット要することとする。

なお、検出確率99%は、オーストラリアも採用している(Australian Government, 2017)。

	検出確率 (β)	限界不良植物率 (p) (暫定値)	2次抽出量(n)→検定用の 主試料/ロット当たり
ウイルス・ウイロイド	99%	0.001	約 4,600 粒

<Broad bean stain virus (BBSV) についての検定用抽出量の検討詳細>

BBSV の検定粒数や種子感染率(p)に係る情報を記載した文献はないことから、現時点では、上記で算出した検定粒数の約 4,600 粒/ロットは妥当と考える。

よって、BBSV の場合の検定のための数量は、下記(2)で示す同一の荷口当たりの種子数が少ない場合(小ロット)以外は、その同一の荷口当たりの種子数に関わりなく一律に約 4,600 粒/ロットとする。

(2) 小ロットの種子検定対象の抽出量の基本的な考え方

小ロット(同一の荷口当たりの種子数が少量の場合。例えば、規定の検定数量を確保する

場合が困難な場合)の2次抽出量については、次の考え方に基づくこととする。

なお、小ロットの範囲とは、上記(1)で計算した2次抽出量の値が、検出対象の同一の荷口当たりの種子の数量(検査荷口の大きさ(母集団))の10%となるまでの値の範囲とする。

限界不良植物率 (p) (暫定値)	小ロットの範囲
ウイルス・ウイロイド (0.001)	約 46,000 粒未満

よって、BBSV の宿主植物の種子については、小ロットの場合、ロット当たりの数量が約 46,000 粒未満の場合、10%抽出することとする。

引用文献

- Australian Government Department of Agriculture and Water Resources (2017) Final pest risk analysis for *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV). (Online), available from <<http://www.agriculture.gov.au/SiteCollectionDocuments/biosecurity/risk-analysis/plant-reviews/final-pest-risk-analysis-cgmmv.pdf>>, (accessed 2018_12_04).
- BICON(2018a) Import Conditions Pea seed for sowing (Online), available from <<https://bicon.agriculture.gov.au/BiconWeb4.0/ImportConditions/Conditions?EvaluableElementId=478563&Path=UNDEFINED&UserContext=External&EvaluationStateId=ac6a7b17-abf3-4ae1-a96e-e28854539507&CaseElementPk=1344082&EvaluationPhase=ImportDefinition&HasAlerts=False&HasChangeNotices=False&IsAEP=False>>, (accessed 2018_08_22).
- BICON(2018b) Import Conditions *Vicia* spp. seed for sowing (Online), available from <<https://bicon.agriculture.gov.au/BiconWeb4.0/ImportConditions/Conditions?EvaluableElementId=478775&Path=UNDEFINED&UserContext=External&EvaluationStateId=0bd2e9a0-6355-4f5d-bd39-a15741f646b9&CaseElementPk=1344601&EvaluationPhase=ImportDefinition&HasAlerts=False&HasChangeNotices=False&IsAEP=False>>, (accessed 2018_08_22).
- BICON(2018c) Import Conditions *Lens* spp. seed for sowing (Online), available from <<https://bicon.agriculture.gov.au/BiconWeb4.0/ImportConditions/Conditions?EvaluableElementId=478763&Path=UNDEFINED&UserContext=External&EvaluationStateId=cb5f7cf7-98b9-4714-b8d8-0fd3c490067a&CaseElementPk=1344591&EvaluationPhase=ImportDefinition&HasAlerts=False&HasChangeNotices=False&IsAEP=False>>, (accessed 2018_08_22).
- CABI (2018a) *Broad bean stain virus*. Crop Protection Compendium, (Online), available from <<https://www.cabi.org/cpc/>>, (Last modified 2018_03_27).
- CABI (2018b) *Sitona lineatus* (pea leaf weevil). Crop Protection Compendium, (Online), available from <<https://www.cabi.org/cpc/>>, (Last modified 2018_03_29).
- Chen, W. Sharma, H. C. and F. J. Muehlbauer (2011) Compendium of Chickpea and Lentil diseases and pests. APS press.
- Cockbain, A. J., S. M. Cook & R. Bowen (1975) Transmission of broad bean stain virus and Echte Ackerbohnenmosaik - Virus to field beans (*Vicia faba*) by weevils. *Annals of Applied Biology* 81: 331-339.
- Creative Diagnostics (2018) Broad bean stain virus (BBSV) ELISA Kit (DEIAPV100) (Online), available from <<https://www.creative-diagnostics.com/pdf/DEIAPV100.pdf>>, (accessed 2018_09_13).
- Cockbain, A. J., R. Bowen and P. W. Bartlett (1982) Observations on the biology and ecology of *Apion vorax* (Coleoptera: Apionidae), a vector of broad bean stain and broad bean true mosaic viruses. *Annals of Applied Biology* 101: 449-457.
- EPPO (2009) *Broad bean stain virus*. EPPO Global Database, (Online), available from <<https://gd.eppo.int/>>, (accessed 2018_08_10).
- FAO (2016) ISPM 31 Methodologies for sampling of consignments. (Online), available from <<https://www.ippc.int/en/publications/588/>>, (accessed 2018_08_29).
- International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) (2017) (Online), available from <<https://talk.ictvonline.org/>>, (accessed 2018_08_10).
- ISF (2019) ISHI-Veg Protocols. (online), available from <<http://www.worldseed.org/our-work/phytosanitary-matters/seed-health/ishi-veg-protocols/>>, (Last accessed: 2020-04-10).
- ISTA (2019) ISTA Rules 2019 Chapter 2: Sampling. (online), available from <<https://www.seedtest.org/upload/cms/user/Rules2019Chapter2.pdf>>, (Last accessed: 2020-04-10).
- Kewey, E. I., S. A., S. A. Sidaros, H. S. Abdelkader and M. El-Sharkawy (2007). Molecular detection of Broad bean stain comovirus (BBSV) and Cowpea aphid-borne mosaic

- potyvirus (CABMV) in faba bean and cowpea plants. Journal of Applied Sciences Research, 3(12), 2013-2025. (Online), available from <https://www.researchgate.net/publication/216031298_Molecular_Detection_of_Broad_bean_stain_Comovirus_BBSV_and_Cowpea_aphid_borne_mosaic_Potyvirus_CABMV_in_Faba_Bean_and_Cowpea_Plants>, (accessed 2018_10_22).
- Kumari, S. G. and K. M. Makkouk (2007) Virus diseases of faba bean (*Vicia faba* L.) in Asia and Africa. Plant Viruses 1: 93-105. available from <[http://www.globalsciencebooks.info/Online/GSBOOnline/images/0706/PV_1\(1\)/PV_1\(1\)93-105o.pdf](http://www.globalsciencebooks.info/Online/GSBOOnline/images/0706/PV_1(1)/PV_1(1)93-105o.pdf)>.
- Kumari, S. G., Makkouk, K. M., and Ismail, I. D. (1996). Variation among isolates of two viruses affecting lentils: their effect on yield and seed transmissibility. Arab Journal of Plant Protection 14:81-85. available from <https://asplantprotection.org/wp-content/uploads/2018/07/V14-2_81-85.pdf>, (accessed 2018_09_19).
- Kumari, S. G., and K. M. Makkouk, (1996). Inactivation of broad bean stain comovirus in lentil seeds by dry heat treatment. Phytopathologia Mediterranea 35: 124-126.
- Makkouk, K. M., L. Bos, O. I. Azzam, L. Katul and A. Rizkallah (1987). *Broad bean stain virus*: identification, detectability with ELISA in faba bean leaves and seeds, occurrence in West Asia and North Africa, and possible wild hosts. Netherlands Journal of Plant Pathology 93: 97-106. Submitted version available from <<https://eprints.qut.edu.au/39787/>>, (accessed 2018_10_22).
- MPI (2018) Seeds for Sowing 155.02.05 (Online), available from <<https://www.mpi.govt.nz/dmsdocument/1151/loggedIn>>, (accessed 2018_08_29).
- NCBI (2018) Broad bean stain virus segment RNA2, complete sequence (Online), available from <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/FJ028650.2>>, (accessed 2018_10_15).
- 日本応用動物昆虫学会(2006)農林有害動物・昆虫名鑑増補改訂版.
- 農林省 (1950) 植物防疫法施行規則(昭和 25 年農林省令第 73 号).
- PaDIL (Pests and Diseases Image Library) (2018) Diagnostic methods for *Broad bean stain virus* BBSV. Plant biosecurity toolbox (Online), available from <<http://pbt.padil.gov.au/index.php?q=node/22&pbtID=154>>, (accessed 2018_08_13).
- Perez-Egusquiza, Z., Z. J. Tang, I. L. Ward and J. D. Fletcher (2014). The truth about Pea mild mosaic virus. Australasian Plant Pathology, 43: 193-196.
- 山村光司 (2011) 農学と統計学. 計量生物学 32, Special Issue, S 19-S 34. (Online), available from <https://www.jstage.jst.go.jp/article/jjb/32/Special_Issue/32_Special_Issue_S19/_pdf/-char/ja>, (accessed 2018_08_29).