

# 植物検疫措置に関する国際基準(ISPM)案

## ファイトプラズマの 診断プロトコル (ISPM NO.27の付属書)

農林水産省

**MAFF**

Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries

# これまでの経緯

- 2006年 作業プログラムに追加
- 2013年4月 診断プロトコル原案がIPPの専門家協議へ提出
- 2013年6月 本付属書が診断手順テクニカルパネル(TPDP)に提示
- 2014年5月 SCが各国協議用診断プロトコル原案として承認

# 本付属書の構成

1. 病原体に関する情報
2. 分類学的な情報
3. 検出・同定
4. 記録
5. 詳細な情報の入手先
6. 謝辞
7. 参考文献

# ファイトプラズマとは？

病原体: *Candidatus Phytoplasma*

発見: 世界に先駆け東京大学グループの土居ら(1967年)により最初に発見された。動物のマイコプラズマに似た形態とテトラサイクリンへの感受性からMLOと呼称された。

主な病徴: 黄化、緑化、叢生、てんぐ巣、葉化、萎縮



グラジオラス写真(叢生症状)  
病原: **Aster yellows**



ニチニチソウ写真(黄化・叢生症状)  
病原: **Aster yellows**

# 本付属書の概要(1)

## 1. 病原体に関する情報

### ○ ファイトプラズマ形態情報

細胞壁を持たない原核生物。植物の師部に局在し、大きさ200～800nm、ゲノムサイズ550～2,000kb。

### ○宿主範囲

1,000種以上の植物感染例が報告されており、ほとんどの宿主が双子葉植物であるが、一部は単子葉植物(ヤシ科、アヤメ科等)に感染する。

### ○発生地域

世界的に広く分布する。ファイトプラズマが広い宿主範囲と広食性のベクターを持つか、あるいは狭い宿主範囲と狭食性か単食性のベクターを持つかによる。

### ○伝搬様式

虫媒伝染(ヨコバイ等)、ネナシカズラ属、接ぎ木

# 本付属書の概要(2)

## 2. 分類学的情報

- 本種の学名、シノニム、一般名、分類学的位置づけの情報

学名 : Phytoplasma

シノニム : Mycoplasma-like organism (MLO), mycoplasma

分類学的位置 : Bacteria, Firmicutes, Mollicutes,  
Acholeplasmatales, Acholeplasmataceae,  
“*Candidatus Phytoplasma*”

## 3. 検出・同定

本プロトコールの検定方法は検出と同定の2つの過程からなる。

### ○サンプリング

- ・ファイトプラズマは、植物体上で偏在し、特に木本植物では顯著。
- ・病徵をサンプリングするのが最適。
- ・無病徵感染が疑われる場合、検体の複数部位からサンプル採取することが重要。
- ・ファイトプラズマの濃度は、種や系統、植物種、感染時期、気候に影響を受ける。
- ・サンプル採取時のファイトプラズマの濃度が検出可否に大きく影響し、季節的濃度変化もあるが、一般的には晩夏が最適。

# 本付属書の概要(3)

## 3. 検出・同定(続き)

### ○核酸抽出法のレビュー

(市販キットから科学誌に掲載されている方法まで様々な抽出法の記載)

### ○各分子生物学的検出法の概要

### ○Nested-PCR及びrealtime-PCRの詳細

### ○各遺伝子診断に使用するプライマー等の情報

### ○遺伝子診断に使用するコントロールについて

(陽性核酸コントロール、内在性コントロール、陰性コントロール等の説明)

### ○遺伝子診断の結果の判断について

# ファイトプラズマの検出・同定に関するフローチャート(参考)

サンプリング: 病徵部位を含むように採取



核酸抽出: CTAB法等を使用

- Conventional nested-PCR



シーケンスにより塩基配列  
を決定し、BLAST

- Real-time PCR

- Conventional nested-PCR



シーケンスにより塩基配列  
を決定し、BLAST

# 本付属書の概要(4)

## 4. 記録

- 結果に関する記録と証拠をISPMNo.27の本体セクション2.5に基づいて保存

## 5. 詳細情報に関する入手先

- 専門知識を持つ施設の連絡先

## 6. 謝辞

- 初稿の著者への謝辞

## 7. 参考文献