

(学位第 8 号様式)

No. 1

学位論文審査結果の要旨		1006
学位申請者 氏 名	OUSSOU-AZO Fifame Auriane (ウスアゾ フィファメ オリアン)	
審査委員	主査 鹿児島大学 准教授 フェスターガード, エム, シ, エム.	
	副査 鹿児島大学 准教授 二神 泰基	
	副査 佐賀大学 教授 小林 元太	
	副査 鹿児島大学 教授 イブラヒム ヒッシャム	
	副査 鹿児島大学 准教授 塩崎 一弘	
審査協力者		印
題 目	植物炭疽病菌の早期検出と防除に関する研究 Research and development of early detection and control methods for anthracnose agent	
<p>熱帯および亜熱帯地域において、植物炭疽病菌は、カシュー、マメ、チリ、パッションフルーツ、マンゴー、アボカド、コーヒー、イチゴ、紅茶、リンゴなど多種多様な作物に病害を引き起こし、深刻な問題を引き起こしている。そのため炭疽病菌を早期に検出して防除する技術の開発は、その感染拡大を抑制する上で重要な課題となっている。そこで本研究では、農業生産の現場において炭疽病菌 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> を迅速に検出する手法および防除法を開発することを目的とした。</p> <p>まず、<i>C. gloeosporioides</i> を簡易に検出するバイオセンサーを開発した。<i>C. gloeosporioides</i> の ITS (Internal Transcribed Spacer) 配列をビオチンと FITC で標識したプライマーを用いて増幅し、そのアンプリコンを抗 FITC 抗体と抗ビオチン抗体によるサンドイッチ法により検出する紙製の免疫センサーを作製した。作製した免疫センサーを、標的の <i>C. gloeosporioides</i> およびネガティブコントロールである <i>C. theobromicola</i>、<i>C. candidum</i>、<i>Aspergillus fumigatus</i> に対して試験した結果、<i>C. gloeosporioides</i> を特異的に検出できることが示唆された。ま</p>		

た、セルロース紙と DNA の相互作用を利用した簡易な DNA 抽出法と等温増幅法の LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) 法を免疫センサーと組み合わせることで、*C. gloeosporioides* を簡易に検出できることを実証した。

次に、多様な抗菌特性を示す銅による防除法に着目し、*C. gloeosporioides* の生育抑制に銅の形態が及ぼす影響を解析した。その結果、銅ナノ粒子が最も持続的な抗真菌活性を発揮し、その酸化的なフォーム (酸化銅ナノ粒子) よりも効果が高いことが示唆された。銅ナノ粒子で処理した *C. gloeosporioides* を走査型電子顕微鏡で観察した結果、菌糸が膨潤して糸状構造が失われており、細胞壁が破壊されたことが示唆された。また、X 線回折により解析した結果、銅ナノ粒子の物性は *C. gloeosporioides* との相互作用後に変化することが示唆された。

さらに、銅ナノ粒子の抗真菌作用機構について解析した。細胞を構成する膜タンパク質、糖質、キチン、脂質への銅ナノ粒子の作用をフーリエ変換赤外分光光度計により解析した結果、銅ナノ粒子は脂質に最も影響を及ぼすことが示唆された。そこで、細胞膜モデルとしてリポソームを用いて、細胞膜に銅ナノ粒子が及ぼす影響を経時的に観察した結果、銅ナノ粒子の凝集、膜揺らぎとして見られる膜流動性の上昇、およびエキソサイトーシスが観察された。この結果に基づいて、銅ナノ粒子は細胞膜の完全性と維持に負の影響を及ぼすことで抗真菌活性を発揮する可能性が示唆された。

本研究の成果は、炭疽病菌である *C. gloeosporioides* を検出するためのバイオセンサーを開発し、銅ナノ粒子による防除効果を明らかにしたことである。農業生産の現場での検出に利用できる免疫センサーと紙を用いた低コストの DNA 抽出法を開発し、LAMP 法による等温反応を組み合わせることで *C. gloeosporioides* を簡易に検出できることを実証した。さらに、銅の抗菌活性について解析し、銅ナノ粒子が *C. gloeosporioides* の生育を効率的に抑制することを明らかにした。したがって本成果は、*C. gloeosporioides* をはじめとする炭疽病菌の早期検出と防除法の開発に貢献するものである。

以上のことから、本論文は博士 (農学) の論文として十分に価値のあるものと判定した。