

様式4（公表用）

氏名	森 大輔
博士の専攻分野の名称	博士（農学）
学位記番号	医工農甲 第117号
学位授与年月日	令和5年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
専攻名	統合応用生命科学専攻
学位論文題目	電気刺激によるブドウ果実品質の改質に関する研究
論文審査委員	主査 教授 鈴木 俊 二 教授 柳 田 藤 寿 准教授 岸 本 宗 和 准教授 乙 黒 美 彩

学位論文内容の要旨

ブドウは、形、色、味などの評価による等級格付と大きさによる階級格付から総合的に果実品質が決定されるため、果実の形態および品質は極めて重要な要素である。近年、醸造用ブドウ品種や生食用ブドウ品種に関わらず温暖化の影響を受けて果皮の着色が不十分になり、成熟しても品種本来の色調にならない着色不良が問題となっている。温暖化による果実への影響は大きく2タイプに分類され、果実生育期前進タイプと果実生育期延長タイプがあり、ブドウは後者に分類される。これらの問題に対処する既存技術として、環状剥皮処理による着色促進技術があるが、樹勢の低下により顆粒肥大や果実糖度の減少など、果実品質に影響が生じる場合がある。他にも果房部を直接冷却することで着色促進を行う技術があるが、これらの技術はコスト面などの問題もあり普及の妨げとなっている。このような状況から、温暖化対策として既存技術との併用効果やより生産性の高い新技術への転換に強い関心が集まっている。このような背景から、本学位論文ではブドウ樹に直接電気刺激を与えることによる果実品質の影響調査およびその原理解明を目的とした。

ソーラーパネルを用いた電気刺激システムを構築した後、露地栽培の醸造用ブドウ品種メルローを供試し2015年および2016年の萌芽期から果実収穫期までブドウ樹に電気刺激を施した。電気刺激はブドウ樹の成育および光合成能に対し負の影響を及ぼさなかった。

様式 4 (公表用)

また、電気刺激による果粒重、総酸含有量および総フェノール含有量の変化は認められなかった。一方、電気刺激を施したブドウ樹の果実糖度は増加した。電気刺激を施したブドウ樹の果実では、果皮のアントシアニン含有量および果汁中のレスベラトロール含有量も無処理および電極のみを施したブドウ樹よりも有意に多かった。ブドウ培養細胞を用いたマイクロアレイ分析から、電気刺激はスクロース代謝並びにフェニルプロパノイド、フラボノイド、スチルベノイドおよびアントシアニン合成に関与する遺伝子群の遺伝子発現量を増加させ、関連物質の蓄積量を増強することが示された。

次に、電気刺激が生食用ブドウの果実品質を向上させるか検討するために、山梨県で商業的に栽培されるシャインマスカット（ハウス栽培）とピオーネ（露地栽培）を供試し、2018年および2019年の萌芽期から果実収穫期までブドウ樹に電気刺激を施した。電気刺激を施したブドウ樹では果実糖度および総酸含有量は無処理のブドウ樹と同程度であったが、いずれの品種でも果粒サイズが肥大した。ブドウ果皮の顕微鏡分析から、電気刺激を施したブドウ樹の果実では果皮表皮の単位面積あたりの細胞数が無処理のブドウ樹よりも多いことが示された。ブドウ培養細胞を用いたマイクロアレイ解析から、電気刺激は細胞周期および細胞質分裂をそれぞれ調節する *kinesin-like protein KIN-5C* および *nuclear pore complex protein NUP88* をコードする遺伝子の発現を上昇したが、植物の細胞伸長に関与するエクспанシンの遺伝子発現には影響しないことが明らかになった。これらのデータから、電気刺激を施したブドウ樹における果粒肥大は細胞伸長ではなく細胞分裂の促進を介した結果であることが示唆された。生食用ブドウの食感を左右する果粒サイズは、日本を含め東アジアの消費者にとって重要な購入動機であり、商業的価値に大きく影響する。電気刺激の優位性は、果粒肥大を促進する他の栽培技術と比較して労働時間および労働負荷を減らすことができる点である。

先の研究成果においてブドウ樹への電気刺激はブドウのファイトアレキシンであるレスベラトロールの合成を促進したことから、電気刺激は植物防御反応を誘導することができると考えられた。これを受け、電気刺激が植物防御反応の非生物のエリシターとして作用するか調査した。露地栽培の醸造用ブドウ品種メルローを供試し2016年および2020年の萌芽期から果実収穫期までブドウ樹に電気刺激を施した。電気刺激は房ではブドウ灰色かび病およびブドウ晩腐病を、葉ではブドウベと病の発病率を減少させた。ブドウ苗を用いた解析では電気刺激により β -1,3-グルカナーゼをコードする遺伝子の発現が誘導されることが確認され、シロイヌナズナを用いた解析では電気刺激はサリチル酸依存性防御経路を介して植物防御反応を誘導することが明らかとなった。植物はストレス条件下で電気シグナルを利用し種々の生理学的変化を誘発することが知られているが、これらの結果は電気刺

様式4（公表用）

激が植物防御反応の非生物のエリシターとして機能することを示した。化学農薬による環境汚染への懸念および化学農薬耐性植物病原菌の出現は、ブドウ栽培において新たな病害虫管理戦略を導入する必要性を暗示している。本研究結果は、ブドウ栽培における新たな病害虫管理戦略のひとつとして電気刺激が有効であることを示唆するものである。

本学位論文は、電気刺激が果実品質を改善・維持するブドウ栽培技術のひとつとして有用であることを示している。一方、本学位論文では、圃場試験レベルが小さいこと、電圧強度の検討および印加タイミングの検討を行っていない、という課題も残っている。これから課題が解決された際には、他の農作物への流用、特に病害防除技術としての適用も視野に入る。電気刺激の病害防除への適用性をさらに探求するには、様々な農作物を用いた圃場試験や農作物ごとに最適化された電圧条件および印加タイミングの調整を可能とする汎用的な電気刺激システムの開発も必要であろう。今日の日本農業では、農業従事者の減少および高齢化が特に深刻な問題である。対策として、日本政府はロボット技術や ICT を活用した超省力・高品質生産を可能とするスマート農業を推進している。本学位論文で構築した電気刺激システムは将来的にスマート農業への活用が可能であり、生産労力の省力化および収益力の向上に貢献できる技術であると考えられる。

論文審査結果の要旨

ブドウを含めた果樹の果実品質は、形、色、味などによって総合的に決定されるが、これらは気候条件によって大きく影響を受ける。例えば、ブドウ果実は温暖化の影響を受けやすく、我が国も含め世界的に果実の着色不良が深刻化している。また、温暖化によってこれまでかび病害の発生が少なかった冷涼なブドウ栽培地域でもかび病害の発生が増え、化学農薬の散布回数が増えている。本学位論文では、ソーラーパネルを用いた電気刺激システムを構築し、ブドウ樹へ直接電気刺激を施し、果実品質への影響を調査した。結果として、電気刺激により 1) 醸造用ブドウ果実の果皮アントシアニン含有量および果汁中のレスベラトロール含有量が増加すること、2) 生食用ブドウ果実の果粒サイズが大きくなることを明らかにした。本学位論文では電気刺激がなぜこれらの効果を発揮できるのか、その分子メカニズムを明らかにしている。ただ現象や効果を羅列したのみではなく、そこに到るまでの過程を分子のレベルで解明した点を論文審査委員会は高く評価した。

本学位論文では電気刺激がブドウ樹の植物防御反応を強化することも証明している。前述の圃場試験において電気刺激を施したブドウ樹では病気の発生が少ないことから、「電気刺激はブドウ樹の植物防御応答を強化している」という仮説を立て、複数年にわたる圃場

様式4（公表用）

試験での病害発生率の調査に加え、電気刺激が病害発生抑止に到るまでの分子メカニズムを証明した。化学農薬による環境汚染への懸念および化学農薬耐性植物病原菌の出現により、世界レベルで化学農薬散布に替わる新たな病害虫管理技術が求められている。本学位論文は、ブドウ栽培における病害虫管理戦略において電気刺激が有効であることを示唆した点も論文審査委員会は評価した。

一方、電気刺激をブドウ栽培に導入するにはまだ多くの実証、検討、改良事項が残されている。本学位論文では、圃場条件等により効果のバラツキが見込まれる点、間接的作用が故、即効性が見込めない点、日射や化学農薬飛散によりソーラーパネルの性能低下が起る点などが挙げられている。また、利用者に技術スキルがなくとも誰もが電気刺激システムを利用できるよう実用化に向けたソフト面（施術マニュアル配布など）の整備を進める必要性も説いている。論文審査委員会は、本学位論文においてこれらの課題について筋道を立てて考察されている点も高く評価した。

本学位論文の研究内容は、英文学術論文3報として国際学術誌に発表された（2報が第一著者、1報は第二著者）。特に *American Journal of Enology and Viticulture* 誌はアメリカブドウ・ワイン学会が発刊する学術雑誌であり、ブドウ栽培およびワイン醸造の専門誌として世界的に非常に高い評価を受けている。本学位論文の内容がこの雑誌に発表できたことは本学位論文の新規性の高さを意味している。なお、本学位論文で構築した電気刺激システムは学位申請者が所属する企業のシーズであり、今後の実用化も期待される。

以上のことから、本学位論文は博士（農学）の学位論文に値すると論文審査委員一同が認め、合格と判定した。