青色 LED 光照射によるウンシュウミカン果実の青かび病抑制効果

山家一哲*・高橋哲也^a・石井香奈子^b・加藤光弘・小林康志

静岡県農林技術研究所果樹研究センター 424-0905 静岡市清水区駒越西

Antifungal Effect of Blue LED Irradiation on the Blue Mold, *Penicillium italicum*, in Satsuma Mandarin Fruits

Ittetsu Yamaga*, Tetsuya Takahashi^a, Kanako Ishii^b, Mitsuhiro Kato and Yasushi Kobayashi

Shizuoka Prefectural Agriculture and Forestry Research Institute Fruit Tree Research Center, Shimizu-ku, Shizuoka 424-0905

Abstract

The antifungal effect of blue LED (light emitting diode: maximum emission wavelength 465 nm, 80 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) irradiation on the blue mold, *Penicillium italicum*, in satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) fruits after harvesting was investigated. Blue LED irradiation for 6 days after inoculation with *Penicillium italicum* significantly reduced symptom development in the fruits compared to that observed with dark treatment. The sporulation and mycelium area were markedly reduced by blue LED irradiation. On the other hand, blue LED irradiation for 6 days before inoculation reduced symptom development when the inoculum dose was low. Blue LED irradiation did not affect the fruit quality, except for the citric acid concentration and moisture loss. These results indicate that blue light irradiation could directly inhibit fungal growth in satsuma mandarin fruits and induce an antifungal response against the blue mold.

Key Words : blue light, citrus, fruit decay, sporulation

キーワード : 青色光, 孢子形成, 果実腐敗, カンキツ

緒 言

青かび病菌 (*Penicillium italicum* Wehmer) は, カンキツ類における主要な貯蔵病害菌の一種で, 主に収穫, 運搬, 貯蔵または出荷の作業時, 果実に生じた傷に侵入して, 腐敗を引き起こす。

ウンシュウミカン (*Citrus unshiu* Marc.) は, 主に 10 ~ 12 月に収穫されるが, 一部の晩生品種は冬季から春季にかけて常温または低温で貯蔵され, 市場に供給されている (農林省食品総合研究所, 1977)。静岡県は, ウンシュウミカン生産が盛んな地域であり, 県内各地で貯蔵ミカンの主要品種である「青島温州」が栽培されている。12 ~ 3 月までの貯蔵期間中の果実腐敗などによる損失量は, 生産量のおよそ 20% と推定されている。近年では, 地球温暖化の影響によって, 果実の浮皮助長や貯蔵庫内の温度上昇などの現象が起こり, ウンシュウミカンの長期貯蔵が困難な環境になってきている (農林水産省農林水産技術会議, 2007)。長期貯蔵や腐敗軽減の技術に関しては, 貯蔵環境

やカンキツの生理学的観点からこれまでに様々な研究が行われ (郭ら, 1990; 久保・萩沼, 1980), 予措処理の改善など (長谷川・伊庭, 1984; 邨田・山脇, 1992) により成果を挙げてきた。一方で, 収穫後に炭酸水素ナトリウムに果実を浸漬させる技術 (Arimoto ら, 1977) は腐敗抑制に効果があるものの, 手間がかかることもあり, 未だ実用化には至っていない。

現在の栽培体系では, 収穫前に殺菌剤 (イミノクタジン酢酸塩, ベンズイミダゾール系薬剤など) を散布し, 貯蔵中の腐敗を軽減させる方法をとっているが, 薬剤耐性菌の出現や消費者の食品に対する安心安全志向の高まりから, カンキツ栽培においても他作物と同様に薬剤散布回数を減らす試みが行われ, 将来を見据えたうえで可能な範囲で薬剤に依存しない総合的な貯蔵技術が求められている。

光を用いたカンキツ類の貯蔵技術に関しては, 収穫後の UV-C 照射により病害抵抗性が付与されることが知られている。UV-C 照射とファイトアレキシンの一種であり強い抗菌活性を持つクマリン類 (スコパロン, ウンベリフェロンなど) 生成との関連性については, 多くの研究が行われている (國賀ら, 2005; Kuniga ら, 2006; Ortuno ら, 2011; Rodov ら, 1992)。UV-C 照射によりカンキツ類果皮にスコパロンが生成され, 果実腐敗が抑制される (Rodov ら, 1992) ことが明らかとなっている反面, UV-C 照射によっ

2014 年 7 月 30 日 受付. 2014 年 10 月 3 日 受理.

* Corresponding author. E-mail: ittetsu1_yamaga@pref.shizuoka.lg.jp

^a 現在: 静岡県農林大学校

^b 現在: 静岡県西部農林事務所

て果皮障害が起こることも報告されている (D'hallewin ら, 1999). また, UV-C は人体に悪影響を及ぼす可能性もあることから, 取り扱いが難しく使用環境が限られている. 一方で, 可視領域の特定波長をカンキツ類の腐敗軽減に利用した研究事例は少ない. 既往の報告では青色光によるスイートオレンジでの青かび病・緑かび病抑制効果の検証 (Alferez ら, 2012; Liao ら, 2013) に限られており, 寛皮性果実であるウンシュウミカンにおける研究事例は極めて少ない. 本研究では, 収穫後のウンシュウミカン果実に対して青色 LED 光 (最大波長 465 nm) を照射することによる青かび病の軽減効果について, 青かび病菌の生育抑制と果皮の抵抗性付与の観点から検討し, 一定の知見が得られたので報告する.

材料および方法

1. 青かび病菌接種後の青色 LED 光照射が果実の腐敗程度に及ぼす影響 (試験 1)

静岡県農林技術研究所果樹研究センター内 (静岡市清水区) で栽培された '青島温州' (カラタチ台, 24 年生) 果実を 2013 年 11 月 26 日に収穫し, 7 日間通常予措 (果実重 3 ~ 5% 減量) を行った後, 実験に供試した. 果実の赤道部と果こう部の間 1 か所に針で深さ 2 mm の傷を付け, 10^5 個 $\cdot$ mL $^{-1}$ に調整した青かび病菌の孢子懸濁液 2 μ L をマイクロピッターで傷に接種した. 接種した果実は, 恒温器内 (25°C, 相対湿度 85% 以上) にて果こう部を上にして並べ, 果実果こう部の上 30 cm から最大波長 465 nm 青色 LED 光 (80 μ mol $\cdot$ m $^{-2}$ $\cdot$ s $^{-1}$) を照射した (第 1 図). LED 区は青色 LED 光を 6 日間連続照射し, LED/Dark 区は, 照射時間を 1 日 12 時間 (9:00 ~ 21:00) として 6 日間照射を行った. 無照射 (Dark) 区の果実は, 恒温器内に青色 LED 光を照射せず暗黒下で静置した. 接種 6 日後, 病斑 (軟化部, 菌糸部, 孢子形成部) 形成の有無と病斑部の直径を計測した. 病斑部の計測方法は第 2 図のとおり. 試験は 1 区 10 果 3 反復とした.

2. 青色 LED 光照射後の青かび病菌接種が果実の腐敗程度に及ぼす影響 (試験 2)

試験 1 と同じ '青島温州' 果実を使用した. 果実を恒温器内 (15°C, 相対湿度 85% 以上) にて果こう部を上にして並べた果実に対して, 前記方法により青色 LED 光を 6 日間照射した. 照射 6 日目の果実に 1 か所, 試験 1 と同じ方法で傷を付け, 青かび病菌の孢子懸濁液を接種した. 接種は低菌濃度 (懸濁液菌濃度: 5×10^4 個 $\cdot$ mL $^{-1}$, 接種量: 2 μ L, 接種菌数: 100 個), 高菌濃度 (懸濁液菌濃度: 5×10^5 個 $\cdot$ mL $^{-1}$, 接種量: 5 μ L, 接種菌数: 2500 個) とし, 接種濃度を変えて試験を行った. 菌接種した果実は, 暗室恒温器内 (25°C, 相対湿度 85% 以上) に保存し, 対照として無照射の果実も同様に保存した. 菌接種 6 日後に形成された病斑部 (軟化部, 菌糸部) の直径を計測した. 試験は 1 区 10 果 4 反復とした.

Fig. 1. Relative power distribution of LED.

Fig. 2. Measurement of fungal area diameter.

3. 青色 LED 光照射が果実品質に及ぼす影響 (試験 3)

試験 1, 2 と同じ '青島温州' 果実を使用した. 果実を恒温器内 (15°C, 相対湿度 85% 以上) にて前記青色 LED 光を 6 日間照射した. 照射終了後, 果実の果皮色, 糖度, クエン酸含量, 果肉歩合, 果実比重, 浮皮度, 減量歩合を調査した. 糖度はデジタル糖度計 (PAL-1, (株) アタゴ) で測定し, クエン酸含量は 0.156 mol $\cdot$ L $^{-1}$ NaOH 中和滴定により算出した. 果皮色は果こう部と赤道部の間 1 か所を測色色差計 (TC-1500MC88, (有) 東京電色) で測定した. 果肉歩合の算出方法は, {(果実重 - 果皮重) / 果実重} $\times$ 100 とした. 浮皮度は, 農水省果樹試 (1987) の方法に基づき 4 段階評価 (0: 無, 1: 軽度, 2: 中程度, 3: 甚大) とした. 減量歩合の算出方法は, {(照射前果実重 - 照射後果実重) / 照射前果実重} $\times$ 100 とした. 果皮色の測定は 1 区 10 果 4 反復とし, それ以外の項目の測定は 1 区 5 果 4 反復とした.

結 果

1. 青かび病菌接種後の青色 LED 光照射が果実の腐敗程度に及ぼす影響

菌接種 6 日後における病斑発生率は, 軟化部, 菌糸部, 孢子形成部ともに LED 区, LED/Dark 区が無照射区と比較

して有意に低かった (第1表). 病斑の発生しない健全果の割合は, 無照射区 27% に対して, LED 区 60%, LED/Dark 区 63% であった. 軟化部の直径は, 無照射区が最も大きかった (第3図). LED 区, LED/Dark 区における軟化部直径は, それぞれ無照射区の 42%, 40% となり, 有意に小さかった. 菌糸部と孢子形成部の直径も, LED 区, LED/Dark 区は, 無照射区と比較して有意に小さかった. LED 区, LED/Dark 区における菌糸部直径は, それぞれ無照射区の 20%, 22%, LED 区, LED/Dark 区の孢子形成部直径は, それぞれ無照射区の 3%, 9% であった. LED 区

Table 1. Effect of blue LED irradiation on satsuma mandarin fruit disease incidence caused by *Penicillium italicum*.

Treatment	Disease incidence (%)		
	Soft rot area	Mycelium area	Sporulation area
Dark	73.3 a ^z	63.3 a	46.7 a
LED	40.0 b	16.7 b	3.3 b
LED/Dark	36.7 b	16.7 b	10.0 b

Data are expressed as the means (n = 3).

^z Different letters indicate the significant differences at $P < 0.05$ by Tukey's multiple range test.

Data were transformed to the arcsine of the square root before analysis.

Fig. 4. Effect of blue LED irradiation before inoculation on satsuma mandarin fungal area diameter caused by *Penicillium italicum*.

Data are expressed as the mean $\pm$ S.E. (n = 4).

^z n.s.: not significant, *: significant difference at $P < 0.05$ by t-test.

^y 2 μ L of 5×10^4 spores $\cdot$ mL⁻¹ suspension.

^x 5 μ L of 5×10^5 spores $\cdot$ mL⁻¹ suspension.

と LED/Dark 区の間では, 軟化部, 菌糸部, 孢子形成部のいずれにおいても有意差は認められなかった.

2. 青色 LED 光照射後の青かび病菌接種が果実の腐敗程度に及ぼす影響

低菌濃度接種において, LED 区における軟化部直径は, 無照射区の 37% となり, 有意に小さかった (第4図). 菌糸部直径も同様に LED 区が無照射区よりも有意に小さく, LED 区の直径は, 無照射区の 33% であった. 高菌濃度接

Fig. 3. Effect of blue LED irradiation on satsuma mandarin fungal area diameter caused by *Penicillium italicum*.

Vertical bars indicate S.E. (n = 3).

^z Different letters indicate significant differences at $P < 0.05$ by Tukey's multiple range test.

Table 2. Influence of blue LED irradiation on fruit quality in satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc. 'Aoshima unshu').

Treatment	Avg. fruit wt. (g)	Specific gravity	Percentage of flesh (%)	Degree of peel puffing	Moisture loss (%)	Soluble Solids (°Brix)	Titrateable acidity (g $\cdot$ 100 mL ⁻¹ as citric acid)
Dark	131	0.89	80.6	0.0	1.1	11.4	0.61
LED	128	0.89	80.0	0.1	2.3	11.0	0.69
Significance ^z	—	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	*

Data are expressed as the means of 4 replications.

^z n.s.: not significant; *: significant difference at $P < 0.05$ by t-test.; —: not done.

Table 3. Influence of blue LED irradiation on rind color in satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc. 'Aoshima unshu').

Treatment	Rind color			
	L*	a*	b*	a*/b* × 100
Dark	64.1	28.8	65.4	44.1
LED	65.2	28.8	66.4	43.3
Significance ^z	*	n.s.	n.s.	n.s.

Data are expressed as the means of 4 replications.

^z n.s.: not significant, *: significant difference at $P < 0.05$ by t-test.

種において LED 区の軟化部、菌糸部直径は、無照射区と比較して、有意差は認められなかった。

3. 青色 LED 光照射が果実品質に及ぼす影響

青色 LED 光照射後の果実品質を第 2 表と第 3 表に示す。LED 区の果肉歩合、果実比重、浮皮度、果皮水分、糖度は無照射区と比較して有意な差が認められなかった。クエン酸含量は、LED 区が無照射区と比較して有意に高かった (第 2 表)。果皮色については、L* 値を除いて有意な差が認められなかった (第 3 表)。

考 察

収穫後に青かび病菌を付傷接種したウンシュウミカン果実に青色 LED 光を 6 日間照射することで、青かび病菌による腐敗部の拡大が抑制されることが示された。特に軟化部よりも菌糸部、孢子形成部の拡大抑制に顕著な効果を示した。Liao ら (2013) は、*in vitro* において、果皮の細胞壁を分解し腐敗要因となる緑かび病菌のポリガラクトナーゼ活性を青色光が抑制することを報告している。また、スイートオレンジへの青色光 (410–540 nm) 照射により青かび病菌、緑かび病菌 (*Penicillium digitatum*) が引き起こす病斑部が顕著に小さくなったことも報告しており、本研究はこれらの結果を支持するものである。

青色 LED 光の照射時間を 1 日 12 時間とした場合でも、無照射区と比較して有意に果実の腐敗を抑制し、連続照射と同程度の効果を示した。Alferez ら (2012) は、カンキツ果皮において、リン脂質から遊離脂肪酸を生成する酵素であるホスホリパーゼ関連遺伝子 (以下、PLA2) の発現が、青色光照射により増加することを報告している。そして、ホスホリパーゼ活性が増加することでオキシリピン経路が誘導され、オクタナールの蓄積によって病害抵抗性が高まることを示唆している。また、連続光照射よりも 1 日 12 時間の断続照射の方が、PLA2 遺伝子の発現を増加させることも明らかにしており、断続照射でも連続照射と同程度の腐敗抑制効果が見られた本研究の結果については、彼らが示した周日リズムによる植物体の耐病性強化が起因している可能性も考えられる。

青色 LED 光照射後の菌接種が病斑部の進行に及ぼす影響について、低菌濃度接種の場合、果実の軟化部、菌糸部が小さくなった。接種前照射により果皮の病害抵抗性が高

まり、感染発病が遅れたものと考えられる。低菌濃度接種における菌糸部と軟化部の比 (菌糸部/軟化部) は、無照射区が 0.53、LED 区が 0.49 であった。接種後の照射実験 (試験 1) における LED 区の同比率 0.28 と比較すると、軟化部に対する菌糸部の割合が大きい。よって接種前照射により初期の腐敗進行を遅らせることはできるが、青かび病菌の菌糸部の拡大を持続的に抑える効果は低いと考えられた。

青色 LED 光照射の有無により、果実の減量歩合とクエン酸含量に有意な差が見られた。一方、その他の果実品質については差が見られなかった。果実付近の平均相対湿度は青色 LED 光、無照射区ともに 85 ~ 90% の範囲であったが、果実の上半分に青色 LED 光が直接当たっていることが減量歩合に何らかの影響を与えている可能性がある。また、青色 LED 光照射による果実水分の減少は、腐敗抑制に寄与していることも考えられるが、本研究では、試験 1 において 1 日の照射時間を半分にした場合でも連続照射と同等の腐敗抑制効果を示したことから、青色 LED 光照射による果実水分の減少や果皮乾燥が腐敗抑制の主要因である可能性は低い。

青色 LED 光照射によって収穫後のクエン酸含量の減少度合が小さくなったが、その要因は明らかではない。収穫後日数や貯蔵の温度・湿度条件などにより、糖度、クエン酸含量も変化すると考えられるため、今後は異なる条件において更なる調査を行うとともに青色 LED 光が果実の呼吸に及ぼす影響についても検証する必要がある。

青色 LED 光照射の有無により果皮色の L* 値に差が見られたが、a* 値、b* 値については有意差が認められなかった。今回は 9 ~ 10 分着色の果実を使った実験結果であるが、一方で着色程度が低い果実 (5 分着色) の場合、青色 LED 光を照射した果実は無照射果実と比較し a* 値が有意に高くなった (データ未出)。Ma ら (2012) は、青色光によって着色前ウンシュウミカンのカロテノイド生合成遺伝子の発現が高まり、フラベドのカロテノイド含量が高くなることを報告している。よって照射の影響は、着色程度や放射照度により異なると考えられるが、完全着色に近い果実においては、青色 LED 光照射が果皮色に及ぼす影響は小さいと考えられた。

青色 LED 光は、紫外線 (UV-C) と比較して長時間照射を行わないと果実の腐敗抑制、果皮の病害抵抗性強化につながりにくいと考えられる。しかし、前述のとおり照射時間や品種によって果皮の褐変を生じやすい UV-C (D'hallewin ら, 1999) と異なり、青色 LED 光は長時間照射しても果皮の褐変やその他の障害が現れないため、その点においては優位性があると考えられる。

Vilanova ら (2013) は、オレンジ果実に付傷してから、緑かび病菌を接種するまでの時間が長いほど腐敗果率が低くなることを報告している。傷口が癒合するまで菌の感染を防ぐ、もしくは菌生育を遅らせることができれば、貯蔵中の腐敗果は減少することが考えられる。そのための方法

として、青色光照射技術は1つの候補に挙げられる。導入に当たっては、照射時間や照射方法など課題が多い。現在のカンキツ類の貯蔵庫は、木箱や平コンテナ、プラスチックコンテナが主流であり、縦に数段積み上げて貯蔵する体系のため、貯蔵中の果実に光を照射するには、貯蔵方法に工夫を施さなければならない。本研究では、果実に青かび病菌の付傷接種を行ったうえで青色LED光による病斑抑制効果を検証したが、今後は果実に付傷や菌接種を行わない条件での腐敗抑制効果を検証するとともに、実際の現場における貯蔵庫での活用を考慮した実験体系の下で効果を検証することが重要である。また、LEDの導入コストを考慮すると単位面積に照射する光源数は、少ない方が望ましく、今回使用した青色LED光よりも弱い放射照度での効果も確認し、活用のための判断材料を積み重ねていく必要があると考えられる。

摘 要

青色LED光（最大波長465 nm, 80 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ）照射が、収穫後のウンシュウミカンの青かび病抑制と果実品質に及ぼす影響について検討した。果実に青かび病菌を接種後、6日間青色LED光照射を行った結果、照射果は無照射果と比較して、腐敗部（軟化部、菌糸部、孢子形成部）が有意に小さくなった。続いて、最初に青色LED光を6日間果実に照射した後、果実に青かび病菌を付傷接種し、腐敗部の広がり方を調査した。その結果、接種菌濃度が低い場合において、照射果は無照射果と比較して腐敗部が有意に小さくなった。このことから、青色LED光は青かび病菌の生育抑制と果皮の病害抵抗性を高める可能性が示唆された。青色LED光照射の有無により、果実の減量歩合とクエン酸含量に差が見られたが、その他の果実品質については照射の影響は認められなかった。

謝 辞 本研究の遂行にあたり独立行政法人農研機構近畿中国四国農業研究センターの國賀 武博士、静岡県志太榛原農林事務所の牧田好高氏には貴重な助言を賜りました。ここに深く感謝の意を申し上げます。

引用文献

- Alferez, F., H.-L. Liao and J. K. Burns. 2012. Blue light alters infection by *Penicillium digitatum* in tangerines. *Postharvest Biol. Technol.* 63: 11–15.
- Arimoto, Y., Y. Homma and T. Misato. 1977. The effect of sodium hydrogencarbonate on the occurrence of citrus storage diseases. *J. Pesticide Sci.* 2: 163–167.
- D'hallewin, G., M. Schirra and E. Manueddu. 1999. Scoparone and scopoletin accumulation and ultraviolet-C induced resistance to postharvest decay in oranges as influenced by harvest date. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 124: 702–707.

- 長谷川美典・伊庭慶昭. 1984. カンキツ類の貯蔵に及ぼす温度の影響. II. 貯蔵前予措温度について. *果樹試報*. B11: 53–61.
- 郭 信子・上田悦範・黒岡 浩・山中博之. 1990. 温州ミカンの貯蔵中における異臭発生とイオウ化合物との関係. *日本食品工業学会誌*. 37: 799–804.
- 久保直哉・萩沼之孝. 1980. ウンシュウミカンの品質及び成分に及ぼす貯蔵条件の影響. *園学雑*. 49: 260–268.
- 國賀 武・松尾洋一・津村哲弘・児島清秀・松本亮司. 2005. 紫外線照射によるカンキツのファイトアレキシン、スコパロン生成量の品種間差異. *園学研*. 4: 99–103.
- Kuniga, T., T. Tsumura, Y. Matsuo and R. Matsumoto. 2006. Changes in scoparone concentration in citrus cultivars after ultraviolet radiation. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 75: 328–330.
- Liao, H.-L., F. Alferez and J. K. Burns. 2013. Assessment of blue light treatments on citrus postharvest diseases. *Postharvest Biol. Technol.* 81: 81–88.
- Ma, G., L. Zhang, M. Kato, K. Yamawaki, Y. Kiriiwa, M. Yahata, Y. Ikoma and H. Matsumoto. 2012. Effect of blue and red LED light irradiation on β -cryptoxanthin accumulation in the flavedo of citrus fruits. *J. Agric. Food Chem.* 60: 197–201.
- 邨田卓夫・山脇和樹. 1992. 異なった温湿度の予措処理が数種カンキツ果実の品質に及ぼす影響. *園学雑*. 61: 205–210.
- 農林省食品総合研究所. 1977. 温州ミカンの貯蔵と輸送. *食糧技術普及シリーズ*. 10: 1–19.
- 農林水産省果樹試験場興津支場. 1987. カンキツの調査方法. p. 12.
- 農林水産省農林水産技術会議. 2007. 地球温暖化が農林水産業に与える影響と対策. *農林水産研究開発レポート*. 23: 1–13.
- Ortuno, A., L. Diaz, N. Alvarez, I. Porras, A. Garcia-Lidon and J. A. DelRio. 2011. Comparative study of flavonoid and scoparone accumulation in different citrus species and their susceptibility to *penicillium digitatum*. *Food Chem.* 125: 232–239.
- Rodov, V., S. B. Yehoshua, J. J. Kim, B. Shapiro and Y. Ittah. 1992. Ultraviolet illumination induces scoparone production in kumquat and orange fruit and improves decay resistance. *J. Amer. Hort. Sci.* 117: 788–792.
- Vilanova, L., R. Torres, I. Vinas, L. G. Candelas, J. Usall, S. Fiori, C. Solaona and N. Teixido. 2013. Wound response in orange as a resistance mechanism against *Penicillium digitatum* (pathogen) and *P. expansum* (non-host pathogen). *Postharvest Biol. Technol.* 78: 113–122.