可視・近赤外分光法によるダイコンバーティシリウム黒点病症状の非破壊計測

小宮山誠一^{1*}・相馬ちひろ¹・鳥越昌隆²・五十嵐正和³¹ 北海道立中央農業試験場 069-1395 北海道夕張郡長沼町² 北海道立十勝農業試験場 082-0081 北海道河西郡芽室町³ 三菱農機株式会社札幌施設部 066-0077 北海道千歳市Nondestructive Determination of the Symptom of *Verticillium* Black Spot in Japanese Radish Using Visible and Near-infrared SpectoroscopySeiichi Komiyama^{1*}, Chihiro Souma¹, Masataka Torikoshi² and Masakazu Igarashi³¹Hokkaido Central Agricultural Experiment Station, Naganuma, Hokkaido 069-1395²Hokkaido Tokachi Agricultural Experiment Station, Memuro, Hokkaido 082-0081³Mitsubishi Agricultural Machinery Co., Ltd., Chitose, Hokkaido 066-0077

Abstract

The symptom of *Verticillium* black spot in Japanese radish (*Raphanus sativus* L.) is black discoloration at the vascular bundle of the root: However, it is difficult to detect the symptom by visual inspection. Thus diseased roots are often mixed with normal roots after inspection in packinghouses. So we attempted to develop a nondestructive determination method using visible (VIS) and near-infrared (NIR) spectroscopy under practical conditions. The spectra of radish roots were continuously measured by transmittance mode: the scanning range was 450–1,000 nm. Measured roots were then cut and the degree of symptom was converted to an index of 0 (no symptom) to 3 (severely affected) by visual inspection of the cut root. Partial least squares regression was carried out relative to the indices to the second derivative spectra. In a validation set, the standard error of prediction for the index was 0.299 ($R = 0.958$, $n = 70$). For each root without the symptom, the predicted indices were less than one, and for 91% of the roots with the symptom, the predicted indices were more than one. Using this method, the roots with an index of 0 could be completely separated from those with an index 2 or higher. It is suggested that VIS/NIR spectroscopy is an effective tool for accurate and rapid elimination of radish roots with the internal symptom of *Verticillium* black spot.

Key Words : PLSR, rapid evaluation, second derivative spectra, transmittance**キーワード :** 迅速評価, 2次微分スペクトル, PLS 回帰分析, 透過光

緒 言

ダイコンの難防除病害であるバーティシリウム黒点病は, *Verticillium dahliae* (北沢・鈴木, 1980) および *V. albo-atrum* (角野ら, 1997) の感染により発生し, 根部には維管束の黒変症状が発現する (第1図). 本病は北海道内で広く発生し, 生産現場で適用可能な防除技術が開発されてきたが (角野ら, 2001a, b; 小松ら, 2001a, b), 根絶には至らず, 今なお各地で発生がみられる. 根部に発生する黒変症状は外観で判別することが困難なため, 選果受け入れ時に各ロット (搬入用コンテナ約 500 本入り) から 5 ~ 15 本を抜き取り, 根部を切断して内部検査を実施している. しかしながら, 全量検査ではないため本症状のあるダイコンを含むロットが選果場での検査を通過して流通され, クレーム

が発生する事例がある. 一方, 抜き取り検査で不合格となり, 全量廃棄となるロットにも健全なダイコンが含まれ,

第1図 ダイコンのバーティシリウム黒点病症状

A : 首~胴部の縦断面

表皮内側の維管束に黒変症状が見られる (指数 3 の試料)

B : 首部の横断面

維管束にリング状の黒変症状が見られる (指数 2 の試料)

2009年6月25日 受付. 2009年9月10日 受理.

* Corresponding author. E-mail: komiyasi@agri.pref.hokkaido.jp

生産物の損失につながる。

その対策として、内部障害が検出できる非破壊計測装置を選果ラインに組み込み、全量検査を行うのが有効と考えられる。青果物の光学的手法による内部障害の非破壊計測については、ジャガイモの内部障害(澤山ら, 2001), メロンの水浸状果(伊藤, 2007), バイナップルの熟度と内部罹病果(大森, 2003), ナツダイダイのす上がり果(鈴木・石田, 1979), ナシのみつ症(猪俣, 1989), リンゴの密入り果(Tsuchikawa ら, 2002)および褐変果肉果(Clark ら, 2003)などの報告がある。ダイコンについては、赤心症および黒心症を透過光のRGB分析により判別する方法(谷本ら, 2003), および黒斑細菌症を近赤外分光法により判別する方法(中野, 2007)が報告されている。しかしながら、いずれの報告においても、本研究で対象とするパーティシリウム黒点病の判別については未検討である。

現在、選果施設で受け入れられたダイコンは、水洗後コンベア上で人手および外観選別機により、曲がり、分岐根、表皮の傷などの外観および規格により選別されている。しかし、内部障害については外観による判別が困難なため、ライン上での全量選別は実施されていない。そこで本研究では、可視・近赤外分光法を用いて、ダイコンのパーティシリウム黒点病症状を選果ライン上で連続的に計測・選別する方法を検討した。

材料および方法

1. 供試試料

試料は2008年8月7日および12日に北海道内産地で収穫された「夏つかさ」で、選果場においてパーティシリウム黒点病症状が確認されたロットから採取し、140点を供試した。供試試料の重量は、平均 $1,219 \pm 167$ g(標準偏差)、最小906 gおよび最大1,598 gである。測定前処理は通常の選果行程と同様に、茎葉を長さ10 cmに切り揃え、根部を水洗した。その後、個々の供試試料が判別できるように、

あらかじめ茎葉部に識別番号を記入したラベルを装着した。スペクトルおよび発病程度の計測は収穫翌日に行った。

2. 計測機器およびスペクトル測定方法

試料搬送コンベア1系統・選別用コンベア2系統および光源と受光部からなるセンサーボックスで構成する計測機器を試作した(第2図)。コンベアは、ダイコン試料が安定するように中央に窪みを付けたV字型バケットを23 cmピッチで連結した構造であり、計測に際して、ダイコンは進行方向に対して横向き、すなわち、ダイコンの長軸方向とコンベア進行方向が直交するように置かれる(第2図B)。ダイコンを人手により各バケット上に置き、毎分11 mの搬送速度でセンサーボックスへ供給した。計測方式は、反射光では表皮直下のごく浅い部分の評価にとどまり内部症状計測の精度が劣ることが想定されたため、透過光を計測することとした。光源は50 Wハロゲンランプ2灯で、外部光を遮断したセンサーボックス内の上部に装着し、それぞれダイコン上面の首側と尻側から照射するように設置した。受光部は、ダイコン下面の中央部から透過光を受光できる位置のコンベア下部に設置した。分光器は、受光部から光ファイバーを経由した光をスリット通過させ、グレーティングにより分光した後、CCDで受光して光強度を計測する構造とした(第2図C)。スペクトル測定は、コンベア上で連続的に試料を搬送しながら、可視および近赤外領域(測定波長範囲450 ~ 1,000 nm)の透過光スペクトルを計測した。

3. 発病程度の指数化

スペクトル測定後のダイコンを切断して発病程度を目視により指数化した。すなわち、パーティシリウム黒点病症状は首部を中心に発現し、しだいに尻部へ拡大するため、首部を包丁で輪切りにし、切断面の黒点病症状を観察により指数化した(第3図)。指数は、無症状(0)、維管束の黒点がわずかで切断面の半周末満に発現(1)、維管束の黒点が半周以上に発現(2)、維管束の黒点が全周に明確に発現

第2図 ダイコン搬送用コンベアを装備した内部品質計測・選別機

A: 試料排出側からの機器外観

左側の白いボックスがセンサー部分

上部の搬送用コンベアに直交して、下部に2系統の排出ラインを付属

B: 試料搬入側の機器外観

C: センサー構造の模式図

第3図 パーティシリウム黒点病の発病指数
首部を切断し、断面の黒点症状を目視により指数化した

(3) の4段階とした。

4. 検量線作成および評価

試料を70個体ずつ2群に分け、一群を用いて2次微分スペクトルと発病指数からPLS回帰分析により検量線を作成した。その後、他群を検量線評価用として、その2次微分スペクトルから発病指数の推定値を算出し、相関係数(R)および予測標準誤差(SEP, 推定値と目視による評点の残差の標準偏差)から計測精度を評価した。

結果および考察

パーティシリウム黒点病症状は、主に維管束の黒変に加え、感染による水分およびその他の内部成分含量の変化も想定されたため、可視～近赤外領域の波長を計測することとした。パーティシリウム黒点病の発病指数が広く分布する試料群を供試し(第1表)、スペクトル計測を行った。その結果、透過光2次微分スペクトルの主な極小ピークは560, 740 および 840 nm 付近、極大ピークは580, 720 およ

第1表 供試試料における発病指数の分布

供試試料 の用途	発病指数				計
	0	1	2	3	
検量線作成用	18	13	28	11	70
検量線評価用	17	14	27	12	70

表中の数字は供試個体数

び 820 nm 付近に認められた(第4図)。この時、発病指数が0および3の試料間のスペクトルを比較すると、両者に明確な違いが認められた。すなわち、スペクトルの主要なピークにおける吸光度の絶対値は、発病指数が0のものに比べ3の試料で小さかった。

検量線作成用試料を計測して得られた450～1,000 nmの吸光度を2次微分処理し、その波長範囲の1 nm ごとのすべての値と目視による発病指数をもとに、PLS回帰分析により検量線を作成した。その結果、検量線作成用試料において、相関係数 $R = 0.979$ (0.1%水準で有意差あり)、検量線標準誤差 $SEC = 0.211$ であった(第5図A)。この検量線を用いて、評価用試料の2次微分スペクトルから発病指数の推定値を算出した結果、 $R = 0.958$ (0.1%水準で有意差あり)、予測標準誤差 $SEP = 0.299$ であった(第5図B)。

本試作機では発病指数による選別、すなわち出荷用ラインと除外用ラインへの振り分け制御を任意の発病指数(推定値)で設定できる。そのため、評価用試料群を対象に、“推定値1”を閾値として症状の有無を判定すると、発病指数0(無症状)の試料は100%“症状なし”、発病指数1以上の試料は91%、発病指数2以上の試料は100%が“症状あり”と判定できる(第5図B)。また、発病指数0の試料の内、推定値が最高値を示した試料の“推定値0.72”に閾値を設定した場合、発病指数1以上の試料は98%が“症状あり”と判定できる。メロンにおける生理障害果の非破壊

第4図 パーティシリウム黒点病の発病指数の異なるダイオンの透過光2次微分スペクトル

第5図 検量線作成用試料および評価用試料の目視による発病指数と発病指数推定値との関係

***は0.1%水準で有意差あり

A: 検量線作成用試料, B: 検量線評価用試料

計測では正答率が83% (伊藤, 2007), ナツダイダイにおけるス上がり果では全階級対象で正答率が最高91% (鈴木・石田, 1979) であった。これら他品目で検討された知見と比較しても, 本報告での結果は同等以上の精度であると判断された。

現地の選果場では, 約500本のダイコンが入った大型コンテナからわずか5~15本の抜き取り検査により受け入れ可否を決定し, 基準以上の内部障害が認められたロットはすべて廃棄処分としている。しかしながら, 同一ロット内での内部障害発生はダイコン一本一本で必ずしも均一ではない。このため, 抜き取り検査で受け入れ基準を満たしたロットに, 内部障害のあるものが混入することも危惧される。一方, 抜き取り検査で廃棄処分となるロットにも健全なものが含まれることが想定され, これは生産物の損失につながる。本研究で開発した全量検査のシステムを利用できれば, パーティシリウム黒点病症状のあるダイコンは一本一本, わずかな症状でも検出, 除去が可能であり, とりわけ発病指数が2以上のものの混入はほとんど生じないと考えられる (第5図B)。

発病指数の計測にあたって, 2次微分スペクトルのどの波長の吸光度が推定値と相関が高いかを検討した。その結果, 最も正の相関が高かった波長帯は580~610 nm付近で, 最も負の相関が高かった波長帯は550~560 nm付近であり, いずれも可視光域であった (第6図)。本症状が肉眼で観察可能な維管束の黒変であることから, 可視光域の吸収と相関が高くなったと推定される。果実類の糖含量などの非破壊計測では近赤外領域の吸収スペクトルが利用される例が多いが (伊藤, 2007; 伊豫・河野, 2001; Kawanoら, 1992, 1993; 大場ら, 2001), ナツダイダイのス上がり果判定では可視および近赤外領域の吸光度が利用されており (鈴木・石田, 1979), バイナップルの熟度および内部罹病果の判定では透過光の輝度が利用されている (大森, 2003)。これらの知見と合わせ, 前述のとおりパーティシリウム黒点病の発病指数は可視光領域の吸光度と相関が高かったことから, 今後, 障害部位に着色を伴う内部障害の非破壊評価では可視光域での吸収スペクトル計測も重要になると推察される。一方, 可視光域の吸収と発病指数の相関が高かったことから, 根表面の付着土の影響も懸念され

るが, 通常のダイコン選果システムでは収穫物の受け入れ直後に水洗され, その後にラインへ搬送されるため, 発病指数の推定精度に大きな影響は及ぼさないと考えられる。

以上のように, 可視・近赤外分光法により, ダイコンのパーティシリウム黒点病症状を選果ライン上で連続的に精度良く非破壊計測および選別できることが示唆された。また, 供試試料の搬送に用いたコンベアの運転速度は, 既存のダイコン選果場のものに匹敵する分速11 mであることから選果効率上の問題もないと判断された。今後, 実用化に当たって品種, 作期および産地が異なる試料での評価精度の確認も必要と考えられる。また, 本症状以外に年次・収穫時期毎に時折発生する外観判別困難な内部障害についても非破壊計測法が検討され, 総合的な品質計測・選別システムとして確立されることが期待される。

摘 要

ダイコンのパーティシリウム黒点病は外観での判別が困難であるため, 選果後も一部が正常な出荷物に混入し, 流通上の問題となる場合がある。そこで, 我々は選果ライン上で, 可視・近赤外分光法により本症状を非破壊計測する方法を検討した。可視・近赤外分光法による2次微分スペクトルは, 発病指数に応じた明確な差が認められた。2次微分スペクトルと発病指数 (0~3の4段階) からPLS回帰分析により検量線を作成し, これを別の試料に適用して精度を評価した。その結果, 本法で推定した発病指数と実際の発病指数との間の相関は $R = 0.958$ (0.1%水準で有意差あり), $SEP = 0.299$ となり, 高精度な推定が可能と判断された。推定発病指数の1を閾値として症状の有無を判定すると, 実際の発病指数0 (無症状) の試料は100% “症状なし” と判定され, 指数1の試料は91%, 指数2以上の試料は100%が “症状あり” と判定された。推定発病指数と正の相関が高かった2次微分スペクトルの波長帯は580~610 nm付近で, 最も負の相関が高かった波長帯は550~560 nm付近であった。

引用文献

- Clark, C. J., V. A. McGlone and R. B. Jordan. 2003. Detection of brownheart in 'Braeburn' apple by transmission NIR spectroscopy. *Postharvest Biol. Technol.* 28: 87-96.
- 猪俣雄司. 1989. ニホンナシ「豊水」のみつ症の非破壊測定. *今月の農業*. 33: 94-97.
- 伊藤秀和. 2007. 近赤外分光法によるメロン品質の非破壊計測法の開発. *野菜茶研研報*. 6: 83-115.
- 伊豫知枝・河野澄夫. 2001. 貯蔵がリンゴ果実の近赤外スペクトルに及ぼす影響. *園学雑*. 70: 510-515.
- Kawano, S., T. Fujiwara and M. Iwamoto. 1993. Nondestructive Determination of sugar content in satsuma mandarin using near infrared (NIR) transmittance. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 62: 465-470.

第6図 発病指数推定値と各波長毎の吸光度の相関関係

- Kawano, S., H. Watanabe and M. Iwamoto. 1992. Determination of sugar content in intact peaches by near infrared spectroscopy with fiber optics in intertance mode. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 61: 445–451.
- 北沢健治・鈴木孝仁. 1980. ダイコンのパーティシリウム黒点病. 日植病報. 46: 271–273.
- 小松 勉・角野晶大・北畠国昭・柳山浩之. 2001a. ダイコンパーティシリウム黒点病に対するダゾメット粉粒剤の防除効果 (3) 根雪前無被覆処理の効果. 北日本病虫研報. 52: 53–55.
- 小松 勉・角野晶大・北畠国昭・柳山浩之. 2001b. ダイコンパーティシリウム黒点病に対するダゾメット粉粒剤の防除効果 (4) マルチ畦内処理と抵抗性品種の組み合わせ効果. 北日本病虫研報. 52: 56–58.
- 中野和弘. 2007. 内部障害を有する大根の非破壊判定方法及びその装置. 特許公開2007-71603.
- 大場聖司・荒川 博・松浦英之・中根 健・水野俊博. 2001. 近赤外分光法による温室メロン糖度非破壊測定機の開発. 静岡農試研報. 46: 11–22.
- 大森定夫. 2003. 食品の非破壊計測ハンドブック. p. 127–130. サイエンスフォーラム. 東京.
- 澤山一博・本間稔規・青山達仁. 2001. 光学的手法を用いた根菜類品質検査技術の開発. 北海道立工業試験場報告. 300: 155–158.
- 角野晶大・北畠国昭・佐々木高行・柳山浩之・小松 勉・田中民夫. 2001a. ダイコンパーティシリウム黒点病に対するダゾメット粉粒剤の防除効果 (2) 三重ポリエチレンフィルムを用いたマルチ畦内処理. 北日本病虫研報. 52: 49–52.
- 角野晶大・北畠国昭・柳山浩之・田中民夫・佐々木高行. 2001b. ダイコンパーティシリウム黒点病に対するダゾメット粉粒剤の防除効果 (1) 処理量と処理深度. 北日本病虫研報. 52: 45–48.
- 角野晶大・田中民夫・富沢雅代・鈴木清史. 1997. *Verticillium albo-atrum* によるダイコンパーティシリウム黒点病の発生 (病原の追加). 日植病報. 63 (講演要旨): 203.
- 鈴木晴夫・石田 隆. 1979. 透過光の利用による夏橙の「ス上がり果」の選別. 静岡柑試研報. 15: 23–28.
- 谷本政男・藤井 茂・田村 学. 2003. 根菜類の欠陥の非破壊検査装置. 特許3389098.
- Tsuchikawa, S., S. Kumada and K. Inoue. 2002. Application of time-of-frighit near-infrared spectroscopy for detecting water core in apples. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 127: 303–308.