

光照射による収穫後ウンシュウミカン果実の
腐敗軽減と着色促進に関する研究*

Studies on Control of Postharvest Decay and Rind Color Development
in Satsuma Mandarin Fruit by Light Irradiation

山家一哲
Ittetsu Yamaga

*岐阜大学大学院連合農学研究科審査論文 2017年（平成29年）

目 次

第1章 緒言	1
第2章 青色LED照射による収穫後ウンシュウミカン果実の青かび病抑制効果	3
2-1 青色LED光による青かび病菌生育阻害効果 (<i>in vitro</i>)	3
2-2 青色LED照射による収穫後ウンシュウミカン果実の青かび病抑制効果	3
2-3 青色LED照射が収穫後ウンシュウミカンの果実品質に及ぼす影響	7
2-4 考察	7
2-5 摘要	8
第3章 プロヒドロジャスモン加用ジベレリンの秋季散布と収穫後青色LED照射が ウンシュウミカン果実の腐敗と果実品質に及ぼす影響	10
3-1 プロヒドロジャスモン加用ジベレリンの秋季散布と収穫後青色LED照射が 貯蔵中の果実腐敗に及ぼす影響	10
3-2 プロヒドロジャスモン加用ジベレリンの秋季散布と収穫後青色LED照射が 貯蔵後の果実品質に及ぼす影響	11
3-3 考察	13
3-4 摘要	14
第4章 UV-B照射による収穫後ウンシュウミカン果実の腐敗軽減と抵抗性物質の生成	15
4-1 UV-B照射による青かび病菌生育阻害効果 (<i>in vitro</i>)	15
4-2 UV-B照射による収穫後ウンシュウミカン果実の青かび病斑拡大抑制	15
4-3 UV-B照射が収穫後ウンシュウミカンの果実品質に及ぼす影響	17
4-4 UV-B照射量と果皮フラバドにおけるスコパロン生成量との関係	18
4-5 UV-B照射が果実の腐敗果率とスコパロン生成に及ぼす影響	18
4-6 考察	19
4-7 摘要	20
第5章 低照度赤色LED照射による収穫後ウンシュウミカン果実の着色促進と β-クリプトキサンチンの増加	21
5-1 低照度赤色LED照射が果実の着色に及ぼす影響	21
5-2 低照度赤色LED照射が果実品質とβ-クリプトキサンチン含量に及ぼす影響	21
5-3 考察	22
5-4 摘要	24
第6章 総合考察	25
総合摘要	28
謝 辞	30
引用文献	31
Summary	35

第1章 緒言

ウンシュウミカン (*Citrus unshiu* Marc.) は、西日本を中心に栽培されている我が国の果樹産業を担う主要な農産物であり、国内果樹の栽培面積、生産量とも第1位を誇っている (農林水産省, 2016)。ウンシュウミカンは、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’、‘寿太郎温州’が栽培されており、12~3月までの貯蔵期間中の果実腐敗等による損失量は、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 (Shiraishi ら, 1999) や、貯蔵庫内の温度上昇等の現象が起り、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、腐敗軽減に関しては、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 (久保・萩沼, 1980; 郭ら, 1990; 泉, 1999; 池田ら, 2004)、栽培と貯蔵の両面から腐敗抑制について研究されるとともに (Kinay ら, 2005)、予措処理の改善等 (長谷川・伊庭, 1984; 邸田・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等に果実を浸漬させる技術 (Arimoto ら, 1977; Cerioni ら, 2012; Cerioni ら, 2013) は効果があるものの、手間がかかることもあり、未だ実用化には至っていない。

青かび病菌 (*Penicillium italicum*)、緑かび病菌 (*Penicillium digitatum*) 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。現在、栽培期間中に殺菌剤 (イミノクタジン酢酸塩、ベンズイミダゾール系薬剤等) を散布する方法 (北川・谷, 1983) で、貯蔵中の腐敗を軽減させる体系をとっているが、薬剤耐性菌の出現や消費者の食品に対する安心安全思考の高まりから、できる限り農薬散布回数を減らす試みが必要であり、それに替わる新しい腐敗軽減技術が求められている。また、カンキツへの使用が認められている防カビ剤のチアベンダゾールもやはり消費者から敬遠される傾向にあり、国内の現場では使用されていない。

光を用いたカンキツ類の貯蔵技術に関しては、収穫後の紫外線 (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マリン類 (スコパロン、スコポレチン、ウンベリフェロン等) 生成との関連については、多くの研究が行われている (Rodov ら, 1992; Kuniga ら, 2006)。また、いくつかのモデル植物において、活性酸素や病害菌に対する防御反応を UV-B が誘導することが明らかとなっており (Green・Fluhr, 1995; Demkura・Ballare, 2012; Costa ら, 2013)、有元ら (2014) は、栽培期間中のイチゴにおいて夜中3時間の UV-B 照射 ($10 \mu\text{W cm}^{-2}$) がうどんこ病の発生を軽減することを報告している。しかしながら、UV-B や UV-A、さらに波長の長い可視光をカンキツ類、特に寛皮性果実であるウンシュウミカンの腐敗抑制に利用した研究事例は極めて少ない。

また近年、初秋の高温や収穫前の急激な気温低下等、不安定な気候により、ウンシュウミカン果実の着色遅延が生じ、生産現場で問題となっている (杉浦・横沢, 2004; 杉浦ら, 2007)。早期に出荷されるウンシュウミカンでは、近年では従来よりも着色度合いの低い果実が出荷されるようになってきている。それは秋の気温が高いため、果肉が先に熟すものの、果皮では緑色が残るといった、果肉と果皮の成熟度合いの違いが主な要因である。また、上述したように地球温暖化がウンシュウミカン栽培に及ぼす影響の1つとして、浮皮の発生がある。近年、生産現場においてプロヒドロジャスモン加用ジベレリン (以下、GP) を収穫3ヶ月前に散布する方法が、浮皮を軽減する方法として普及し始めている (Makita・Yamaga, 2006; Nakatani ら, 2014)。GP 散布はジベレリンの作用により着色が遅れる場合もあり (Porat ら, 2001)、浮皮の発生と着色遅延を同時に解決する方法が望まれている。着色の遅れた果実に対して、何らかの処理を行い着色改善できれば、商品価値を高めることにつながる。日本のカンキツ産地では、栽培期間中に、光を反射する不織布シートを地面に被覆する技術が、着色や糖度を向上させる手段として広まっている (森永ら, 2004; 村松ら, 2005)。果実収穫後においても、貯蔵中に着色を改善する方法は過去に多く研究されてきた。収穫後の果実を一週間程度 $15\sim 20^{\circ}\text{C}$ の状態に保つ高温予措処理 (邸田・山脇, 1992) が実用化されているが、加温機を長時間使用しなければならず、コスト削減のための技術改良が求められている。また、収穫後果実にエチレン処理を行うことで着色を進行させる研究も行われてきた。エチレンは、果実の追熟促進やカンキツ類のクロロフィル分解などの品質向上のために用いられる

(Kitagawa ら, 1971 ; Kitagawa, 1973 ; Houck ら, 1978 ; Mayuoni・Porat, 2011) . しかし, カンキツへのエチレン処理の場合, 果実が未熟であったり, エチレン濃度が高すぎたりすると, 果皮やヘタが褐変する等の障害が起こることがあり, エチレン処理により果実の貯蔵性を低下させてしまうことも懸念材料となっている. 一方, LED などの特定波長を照射することで, カンキツ類のカロテノイド含量が増加することが認められている. Ma ら (2012) は, ミカンの培養砂じょうを用いた実験において, 青色 LED 光, 赤色 LED 光によりカロテノイド生成遺伝子の発現が増加することを報告している. さらに彼らは, 早生ウンシュウミカン果実を用いて, エチレンと赤色 LED 光の相乗効果によりカロテノイド生成遺伝子の発現が増加し, フラベドにカロテノイドが蓄積することを示している (Ma ら, 2015) . LED は, 植物の生育調整への利用 (Yorio ら, 2001 ; Hidaka ら, 2013) や栽培期間中の害虫防除への利用 (Kudo, 2011) が普及しつつあるが, ミカン果実の貯蔵に関連する利用は, 上記に述べた他は研究事例が少なく, 導入コストを考慮すると, より実用的な低い照射強度での研究と販売上で有利に働く着色の見極めが必要となっている.

本研究では, 先行している研究事例 (Alferez ら, 2012 ; Ma ら, 2012) を踏まえて, 低照度の光照射技術を活用することで, 収穫後のウンシュウミカン果実における腐敗 (貯蔵病害) の軽減を主目的とし, 着色促進や機能性成分増加についても検討を行った. 第 2 章では, 青色 LED 光 (ピーク波長 465nm) による収穫後ウンシュウミカンの青かび病抑制効果について検証した. その検証結果をもとに, 第 3 章では, 栽培期間中の既存技術 (浮皮軽減のための植物成長調整剤散布) と LED 光照射技術の組み合わせによる腐敗軽減効果を, 実際のカンキツ低温貯蔵庫において約 3 か月間調査した. 第 4 章では, UV-B (280nm~320nm) 照射による青かび病斑抑制効果と腐敗抑制効果, UV-B 照射による抵抗性物質の生成について調査した. 第 5 章では, 収穫後ウンシュウミカン果実の赤色 LED 光 (ピーク波長 660nm) による着色改善の可能性を探るため, コストの面から普及性が高いと考えられる低照度の赤色 LED 光照射が果皮の着色と果実品質に及ぼす影響を調査した. また, 未熟で果皮にカロテノイドが少ないウンシュウミカンに対してエチレンによる着色処理を行うと, 葉緑素は分解するが黄色の果実にしかならないという報告 (Kitagawa・Tarutani, 1973) もあり, 本研究では 2 つの異なる収穫ステージにおいて, 収穫後の果皮色推移を調査した. なお本論文に用いた実験結果の一部は山家ら (2015a) , Yamaga ら (2015b) , Yamaga ら (2016a) ,

Yamaga ら (2016b) , Yamaga ら (2016c) , 山家・古屋 (2017) として公表している.

第2章 青色LED光照射による収穫後ウンシュウミカン果実の青かび病抑制効果

青色LED光（最大波長 465 nm）照射による、収穫後ウンシュウミカン果実の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た。最初に、*in vitro*において青色LED光による青かび病菌生育阻害効果を確認した上で、晩生ウンシュウミカンの代表的な品種である‘青島温州’果実を用い、青色LED光照射量と青かび病斑拡大抑制との関係、連続または断続LED光照射が病斑形成率等に及ぼす影響、菌接種前の青色LED光照射が病斑拡大抑制に及ぼす影響について調査した。さらに、恒温機内における6日間の青色LED光連続照射が果実品質に及ぼす影響を調査した。

2-1 青色LED光による青かび病菌生育阻害効果 (*in vitro*)

2-1-1 材料および方法

青かび病菌は静岡県農林技術研究所果樹研究センターほ場（静岡市清水区）の果実より採取し、25℃暗所にてポテトデキストロース（PDA; 39 g L⁻¹）培地上で培養された。培養7日目における胞子を0.1% Triton X-100を含む脱塩水の中でかく拌し、胞子懸濁液を準備した。胞子懸濁液濃度は、血球計算盤を使用し1×10³個・mL⁻¹に調整した。懸濁液30 μLをシャーレ上のPDA培地に塗布し、25℃暗所にて48時間培養した。48時間後に発生したコロニー（2.25 mm²）を新しいPDA培地上に移し、高照度青色LED光照射下（LED-80；ピーク波長、465 nm；放射照度、

80 μmol m⁻² s⁻¹、やまと興業（株））と低照度青色LED光照射下（LED-8；ピーク波長、465 nm；放射照度、8 μmol m⁻² s⁻¹、東京理化器械（株））に置き、25℃環境で48時間培養した（第1図左）。対照として無照射区を用意した。菌糸部（菌糸を伸ばしている部分）と孢子形成部（胞子を形成している部分）の直径を、デジタルノギスを使用して培養3日目まで経時的に調査した。1処理区5反復（シャーレ）とした。LEDの分光放射照度はCL-500（コニカミノルタ）により計測した（第2図）。

2-1-2 結果

培養3日間でのLED-80区、LED-8区における菌糸部の生育は、それぞれ無照射区の47%、81%であった（第3図）。また、LED-80区、LED-8区における孢子形成部は、それぞれ無照射区の6%、68%であった。孢子形成部における平均生育速度は、LED-80区、LED-8区、無照射区でそれぞれ0.3、3.0、4.4 mm d⁻¹であった。

2-2 青色LED光照射による収穫後ウンシュウミカン果実の青かび病抑制効果

2-2-1 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

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、20

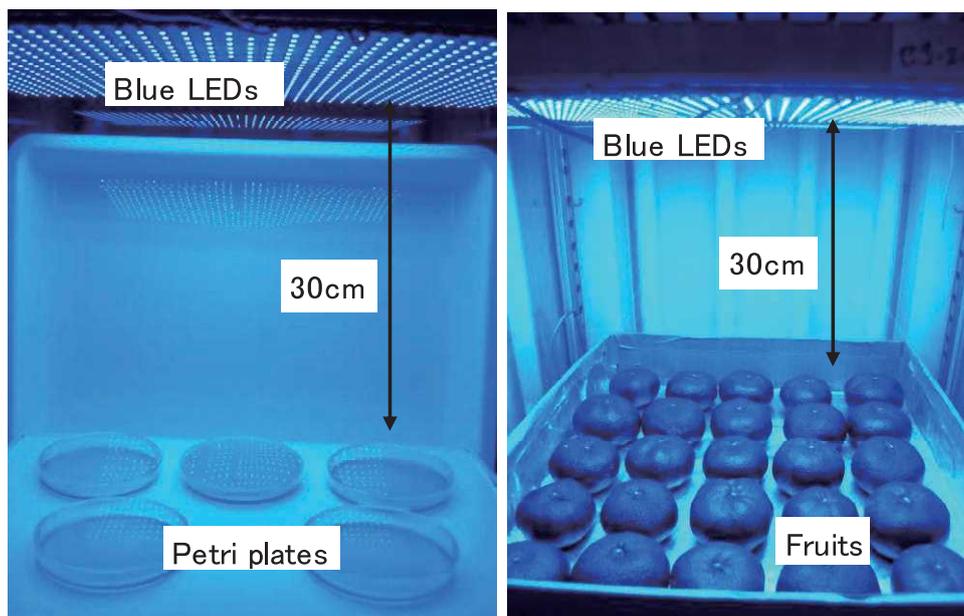


Fig. 1. Experimental setup of blue LED irradiation *in vitro* (left) and *in vivo* (right).

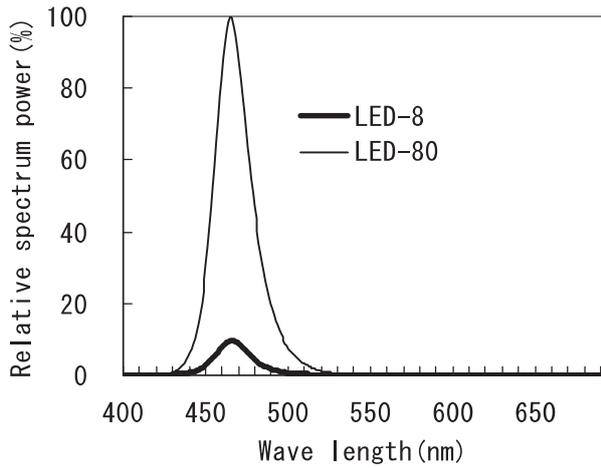


Fig.2. Relative power distribution of blue LED.

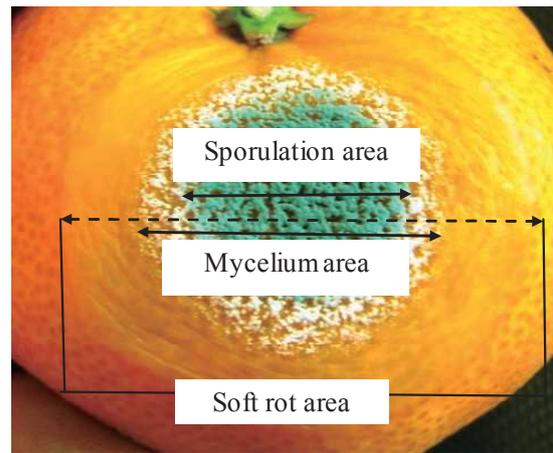


Fig.4. Measurement of fungal area diameter.

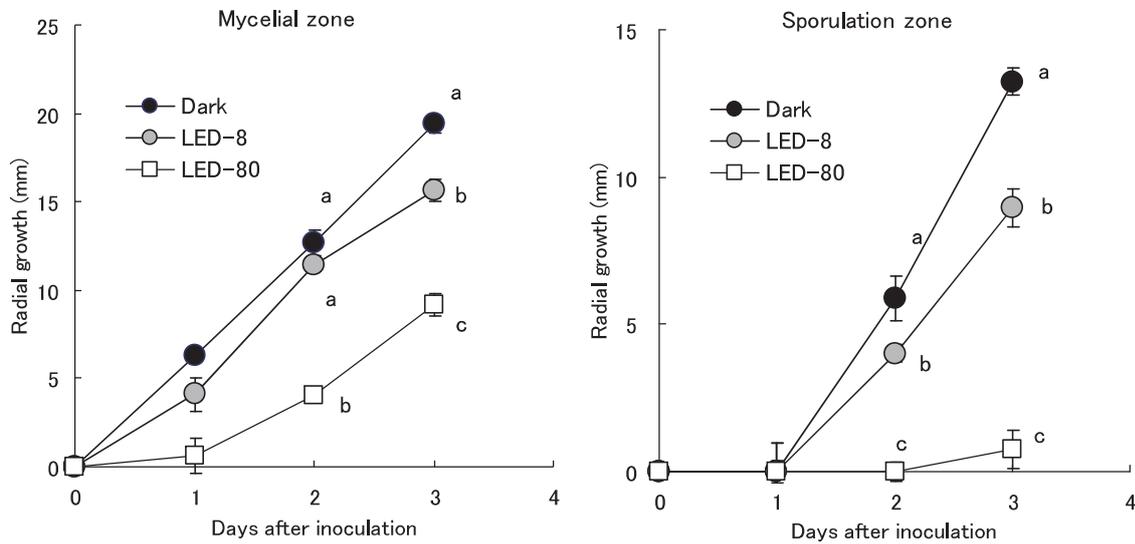


Fig.3 Effect of blue light-emitting diode (LED) irradiation on blue mold symptom development *in vitro*. Vertical bars indicate standard error (SE) (n = 5).

Different letters indicate significant differences between the treatments; $P < 0.05$ by the Tukey's multiple range test.

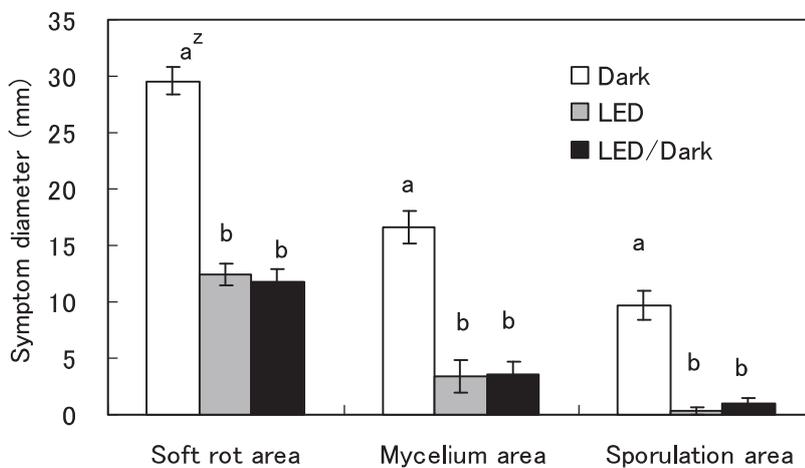


Fig.5. Effect of blue LED irradiation on satsuma mandarin fungal area diameter caused by *Penicillium italicum*. Vertical bars indicate S.E.. (n = 3).

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

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

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

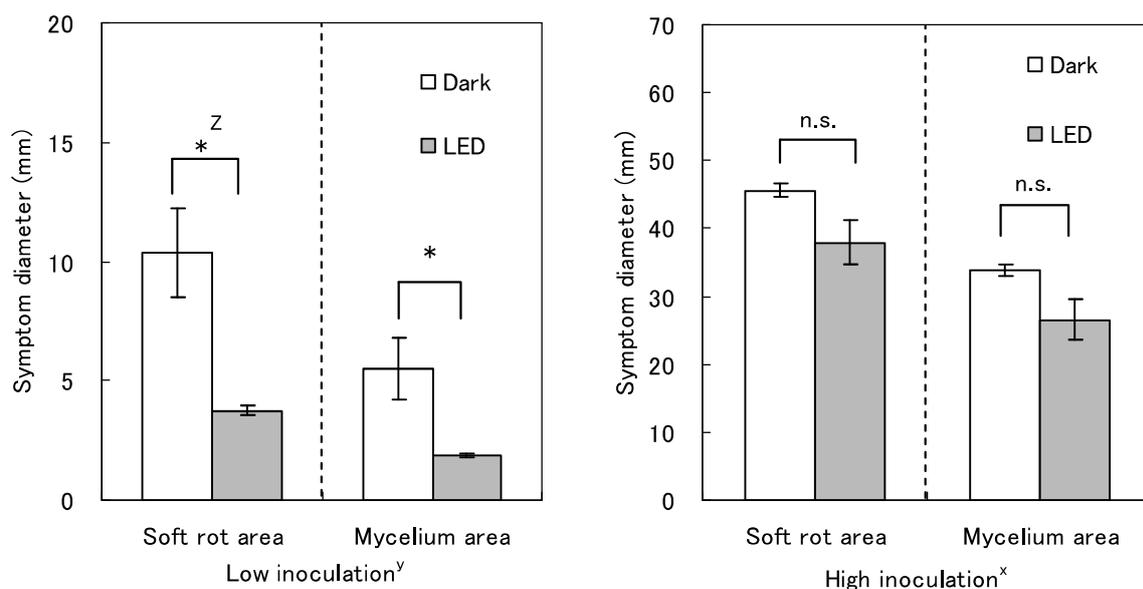


Fig.6. Effect of blue LED irradiation before inoculation on satsuma mandarin fungal area diameter caused by *Penicillium italicum*. Data are expressed as the mean \pm S.E.(n = 4).

^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.

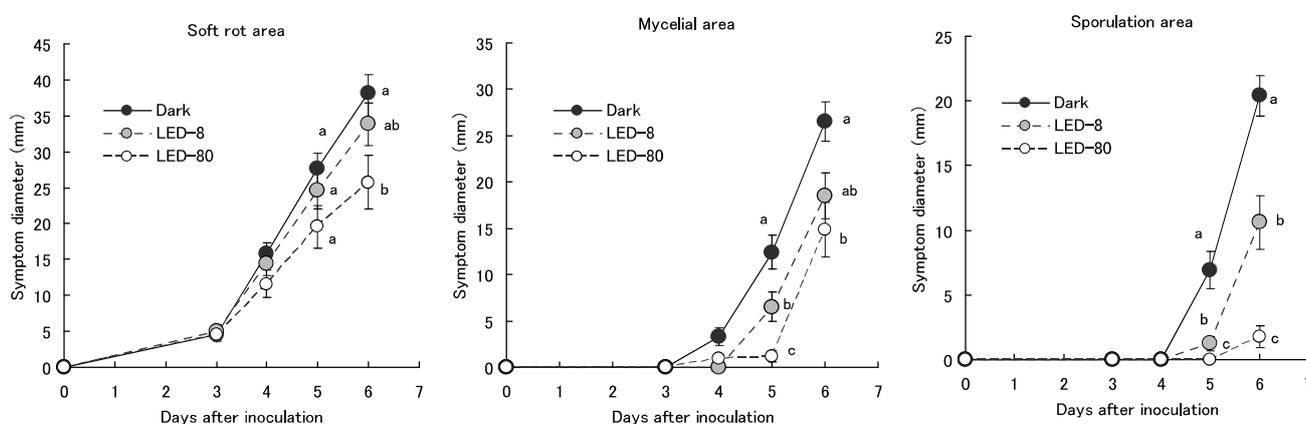


Fig.7 Effect of blue LED irradiation on blue mold symptom development in satsuma mandarin fruits.

Vertical bars indicate the standard error (SE) (n = 25).

Different letters indicate the significant differences between the treatments.

$P < 0.05$ by the Tukey's multiple range test.

13 年 11 月 26 日収穫) 果実を供試した (収穫後 7 日間, 通常予措を行った果実を供試). 果実の赤道部と果こう部の間, 1 か所に針で深さ 2 mm, 直径 1 mm の傷を付け, 1×10^5 個 mL^{-1} に調整した青かび病菌 (静岡県農林技術研究所果樹研究センター分離株) の孢子懸濁液 2 μL を注入した. 接種した果実は恒温器内 (25°C, 相対湿度 85%以上) にて果実果こう部を上にして並べ, 果こう部の上 30 cm から 465nm 青色 LED 光 ($80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) を照射した (第 1 図右). LED 区は, 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, 同恒温器内に LED 光を照射せずに静置した. 接種 6 日後, 軟化部 (水浸状で柔らかくなっている部分), 菌糸部, 孢子形成部の各病斑部形成の有無と各病斑部の直径を計測した. 病斑部の計測方法は第 4 図のとおり. 試験は各処理区 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 1 と同じ ‘青島温州’ 果実を使用した. 果実を恒温器内 (25°C, 相対湿度 85%以上) にて, 試験 1 と同じ青色 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注入した. 懸濁液濃度と注入量を変えて 2 回試験を行い, 接種は条件 1 (菌濃度: 5×10^4 個 mL^{-1} , 注入量: 2 μL), 条件 2 (菌濃度: 5×10^5 個 mL^{-1} , 注入量: 5 μL) とした. 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. 試験は各処理区 10 果 4 反復とした.

3) 低照度青色 LED 光照射が果実の青かび病斑の経時的変化に及ぼす影響

試験 1 と同じ ‘青島温州’ 果実を使用した. 果実に 1 か所, 試験 1 と同じ方法で傷を付け, 接種した果実は恒温器内 (25°C, 相対湿度 85%以上) に静置した. 465nm 青色 LED 光 ($80 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) を果実に連続照射する LED-80 区, 放射照度を $8 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ とした LED-8 区, LED 光を照射しない無照射 (Dark) 区を設けた. 試験は各処理区 1 果 25 反復とした.

2-2-2 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 日後における軟化部の直径は, 無照射区が最も大きくなった. 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

さくなった (第 5 図). 菌糸部, 孢子形成部の直径においても, LED 区, LED/Dark 区は, 無照射区と比較して有意に小さくなった. 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な差は認められなかった. 各病斑発生率は, LED 区が無照射区と比較して有意に低くなった (第 1 表).

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

接種条件 1 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, 有意に小さくなった (第 6 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なり, LED 区の直径は, 無照射区の 33%であった. 接種条件 2 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) 低照度青色 LED 光照射が果実の青かび病斑の経時的変化に及ぼす影響

軟化部直径は菌接種 5 日目まで処理区間で有意差がみられなかった (第 7 図). 菌接種 6 日目で LED-80 区の軟化部拡大が有意に抑制されたが, 無照射区と LED-8 区では有意差はみられなかった. 菌糸部については, 菌接種 3 日目まで現れず, 4 日目を以降に処理区間で有意差がみられた. 菌接種 5 日目における LED-80 区 LED-8 区の菌糸部はそれぞれ対照区の 10%, 53%に, 菌接種 6 日目で無照射区の 56%, 70%に抑えられた. 孢子形成部は菌接種 4 日目まで現れず, 5 日目を以降で各処理区間に差がみられた. 菌接種 6 日目における LED-80 区 LED-8 区の菌糸部はそれぞれ無照射区の 9%, 52%に抑えられた. 菌接種 6 日目における無照射区, LED-8, LED-80 の病斑発生率はそれぞれ 92%, 88%, 72% (軟化部), 92%, 76%, 64% (菌糸部), 92%, 56%, 16% (孢子形成部) であった (第 8 図).

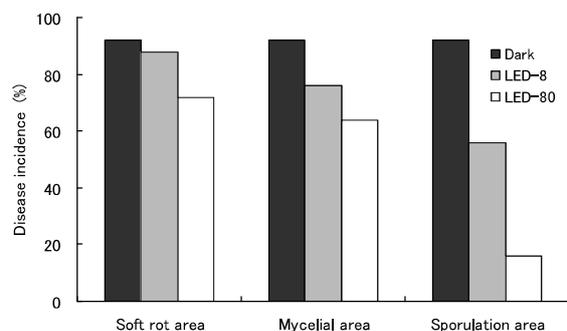


Fig.8 Effect of blue LED irradiation on the incidence of satsuma mandarin fruit disease caused by *Penicillium italicum* (day 6 after inoculation).

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 (%)	SSC (°Brix)	TA (g · 100mL ⁻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.

2-3 青色 LED 光照射が収穫後ウンシュウミカンの果実品質に及ぼす影響

2-3-1 材料および方法

第2項と同じ「青島温州」果実を使用した。果実を恒温器内（15℃、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 0.156mol · 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} × 100 とした。果実比重は、果実を水に沈めて果実体積を測定し、果実重を果実体積で除して算出した。浮皮度は、農林水産省果樹試験場興津支場（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} × 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。

2-3-2 結果

LED 区の果肉歩合、果実比重、浮皮度、果皮水分、Brix は無照射区と比較して有意な差が認められなかった（第 2 表）。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。果皮色については、L*値を除いて両処理区間で有意な差が認められなかった（第 3 表）。

2-4 考察

シャーレ試験においては、青色 LED 光照射が果実の貯蔵病害を引き起こす青かび病菌の生育を阻害することを確認した。*in vitro*で、*P. italicum*、*P. citri*の生育が青色光（放射照度、40 μmol m⁻² s⁻¹）の連続または断続照射により阻害されたことが既往の報告（Liao ら、2013）により明らかになっており、本結果と一致する。さらに本研究結果は、8 μmol m⁻² s⁻¹という低い放射照度でも青かび病菌の生育を抑えることを示した。

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、スイートオレンジへの青色光（410nm-540nm）照射により、青かび病菌、緑かび病菌が引き起こす腐敗を抑制することを明らかにするとともに、青色光が *in vitro*における緑かび病菌のポリガラクトナーゼ活性を抑制することを示している。さらに彼らは、青色光照射により菌糸部、孢子形成部が顕著に小さくなったことも報告しており、本研究も概ねその結果と一致する。

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部を抑制し、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を明らかにしており、断続照射でも連続照射と同程度の腐敗抑制効果がみられた本研究の結果を支持するものである。

照射後の菌接種が腐敗部の進行に及ぼす影響について、菌接種量を低くした場合、LED 光を事前照射した果実の軟化部、菌糸部が小さくなる傾向にあった。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。菌接種量の低い条件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（2-2 における試験 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。

また、果実を用いた接種試験においてもシャーレ試験と同様に、 $8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ という低い放射照度であっても青かび病による孢子形成部の拡大を抑制することを示した。 $2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であっても青色光によってホスホリパーゼ関連遺伝子の発現が高められる（Liao and Burns, 2010）ことから、抵抗性を高める上では有効な放射照度であると考えられる。

恒温機内（20℃）での青色 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みられた。一方、その他の果実品質については差がみられなかった。果実付近の平均相対湿度は LED 区で 88.2%、無照射区で 88.9% であり、LED 区の相対湿度が若干低く推移していたことも減量歩合に影響を与えていると考えられる。青色 LED 光照射によって収穫後の酸含量の減少度合が小さくなる傾向にあったが、その要因は明らかではない。収穫後日数や貯蔵の温度・湿度条件等により、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必要とする（対照的に、後述する長期貯蔵の試験においては、青色 LED 光照射のみではクエン酸含量に違いがみられなかった）。青色 LED 光照射の有無により果皮色の L*値に差がみられたが、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の場合、青色 LED 光照射によって a*値に変化がみられた（データ未出）。Ma ら（2012）は、青色光によって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、照射時間や品種によって果皮の褐変を生じやすい UV-C 照射（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、可視光に優位性があると考えられる。Vianova 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等課題が多い。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上で青色 LED 光による病斑抑制効果を検証した。今後は、貯蔵コンテナに入った果実に対して効率良く光照射するような、実際の現場での活用を考慮した実験体系を組むことが必須である。また、今回使用した 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。

2-5 摘要

青色 LED 光照射が、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室内試験を行うとともに、実際のカンキツ貯蔵庫内における青色 LED 光（465nm）照射が、貯蔵中累積腐敗果率の推移と貯蔵後の果実品質に及ぼす影響を調査した。最初に、2 つの異なる照度における青色 LED 光（ $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、 $8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）が青かび病菌の生育に及ぼす影響を *in vitro* において調査した結果、高照度、低照度 LED 光ともに青かび病菌の生育が抑制された。次に、‘青島温州’果実に青かび病菌を接種後、6 日間青色 LED 光照射（ $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）を行った結果、照射果は無照射果と比較して、病斑部（軟化部、菌糸部、孢子形成部）が有意に小さくなった。続いて、果実に青色 LED 光を 6 日間照射した後、青かび病菌を付傷接種し、腐敗部の広がり調査した。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推測された。また、低照度 ($8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) の青色 LED 光照射でも無照射の場合と比較し、胞子形成部の拡大が 48%抑制されたことから、高照度だけでなく低照度の青色 LED 光照射も果実腐敗抑制に有効である可能性が示唆された。恒温機内における試験において、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みられたが、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。このことから青色 LED 光は、貯蔵庫内における照射方法に課題が残るものの、貯蔵中のウンシュウミカン果実の腐敗抑制に有効な技術であることが示された。

第3章 プロヒドロジャスモン加用ジベレリンの秋季散布と収穫後青色 LED 光照射がウンシュウミカン果実の腐敗と果実品質に及ぼす影響

生産現場における果実の貯蔵性向上を目指すには、実際の貯蔵庫において技術を実証するとともに、現在適用されている栽培面での技術と、貯蔵中における新たな光照射技術の組合せによる効果を明らかにすることが重要であると考えられる。プロヒドロジャスモン加用ジベレリン（以下、GP）は、浮皮軽減効果が先立って検証され（牧田・山家，2004；山家・牧田，2004），植物成長調整剤として確立されたが、晩生ウンシュウミカンにおける貯蔵病害や低温障害など長期貯蔵中の腐敗に及ぼす影響については、未解明な部分が多い。本研究では、ウンシュウミカン'青島温州'果実を対象として、浮皮軽減作用のある GP（収穫 3 か月前散布）と貯蔵中（温度 8℃，相対湿度 85%以上で収穫後 3 か月間貯蔵）の青色 LED 光（最大波長 465 nm，照射強度 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ）照射が貯蔵病害に起因する果実腐敗に及ぼす影響について検証するとともに、あわせてこれらの技術の組み合わせが果実品質に与える影響についても調査した。

3-1 プロヒドロジャスモン加用ジベレリンの秋季散布と収穫後青色 LED 光照射が貯蔵中の果実腐敗に及ぼす影響

3-1-1 材料および方法

1) 供試果実

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）で栽培されている'青島温州'（ヒリュウ台，20 年生）5 樹に対して，2014 年 9 月 19 日に GP（ジベレリン（GA）溶液にプロヒドロジャスモン（PDJ）を加えて，GA 濃度 3.3 ppm，PDJ 濃度 25 ppm となるように調整した薬液）を散布した。対照として無散布樹を 5 樹設定した。12 月 2 日に上記の樹から果実を収穫後，L，2L 果（横径

67 mm～80 mm）を中心に GP 散布果実と無散布果実をサンプリングした。

2) 貯蔵方法・青色 LED 光照射方法

上記の果実について，通常予措（果実重 3～5%減量）を行ってから，8℃に設定した貯蔵庫に入庫した。その後，1 月 5 日に青色 LED 光照射を開始した。浅型木箱（L43 cm×W93 cm×H8 cm）に果実の果梗部を上にして並べ，2 本の直管型青色 LED 光（ピーク波長 465 nm， $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ，（株）やまと興業）を上（光源距離 20 cm）に設置し，照射時間 12 時間/日として，92 日間照射を行った（第 9 図）。処理区は 2 要因（GP 散布，青色 LED 光照射）とし，GP+LED 区（GP 散布+青色 LED 光照射），LED 区（GP 無散布+青色 LED 光照射），GP 区（GP 散布+無照射），対照区（GP 無散布+無照射）とした。1 区 60 果 3 反復とした。

3) 貯蔵庫内の気温，相対湿度の測定

貯蔵期間中における LED 区，対照区の気温と相対湿度は，THERMO RECORDER RS-13（ESPEC）を貯蔵木箱の中に入れて，1 時間ごと計測した。

4) 累積腐敗果率の測定

貯蔵期間中 10～16 日間ごとに果実腐敗調査を行い，病斑の症状によりそれぞれの貯蔵病害（①青かび病・緑かび病，②黒腐病，③軸腐病）（大久保ら，1992）と低温障害（果皮の変色，果皮表面の窪んだ褐色のピッチェング）（長谷川，2000）に分類し，照射開始時からの累積発生率を算出した。腐敗果は，調査日ごとに貯蔵庫から除去した。

3-1-2 結果

LED 区における果実付近の気温は，照射されている時

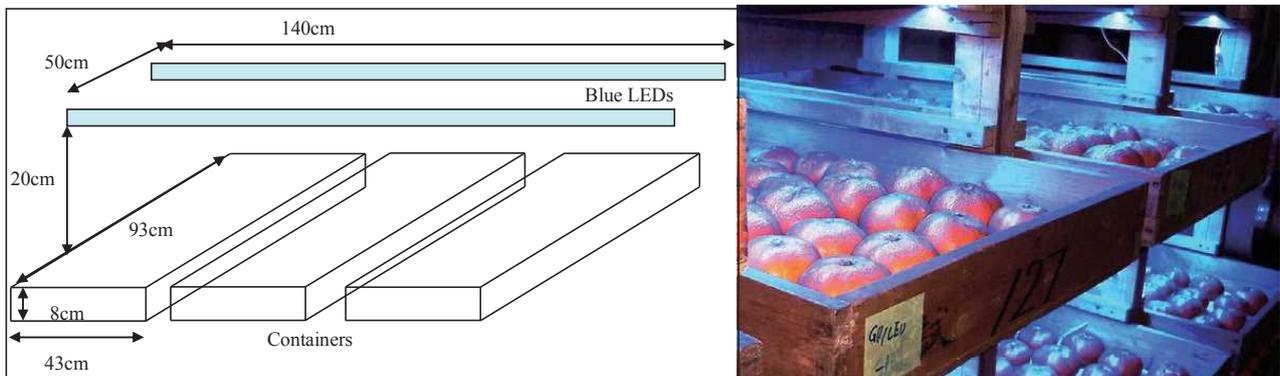


Fig.9. Experimental setup of blue LEDs (left) and situation of blue LED irradiation on the fruits during storage (right).

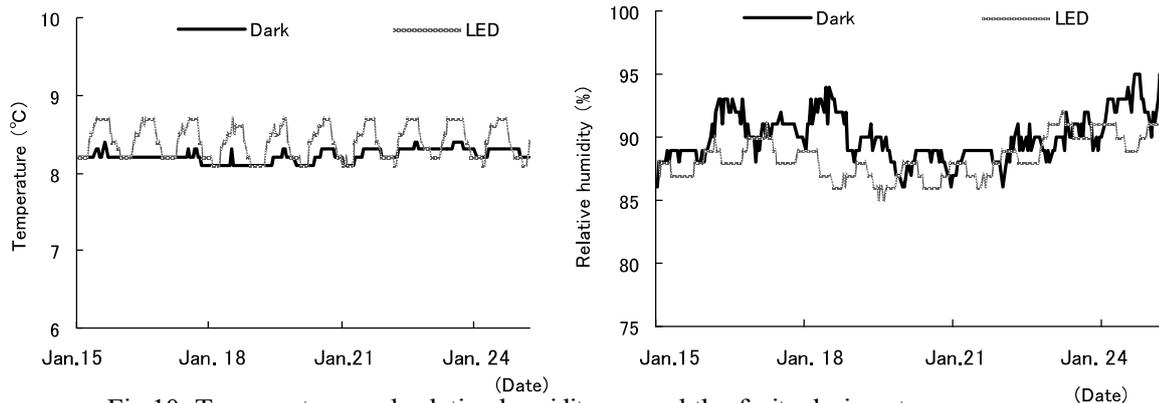


Fig.10. Temperature and relative humidity around the fruits during storage.

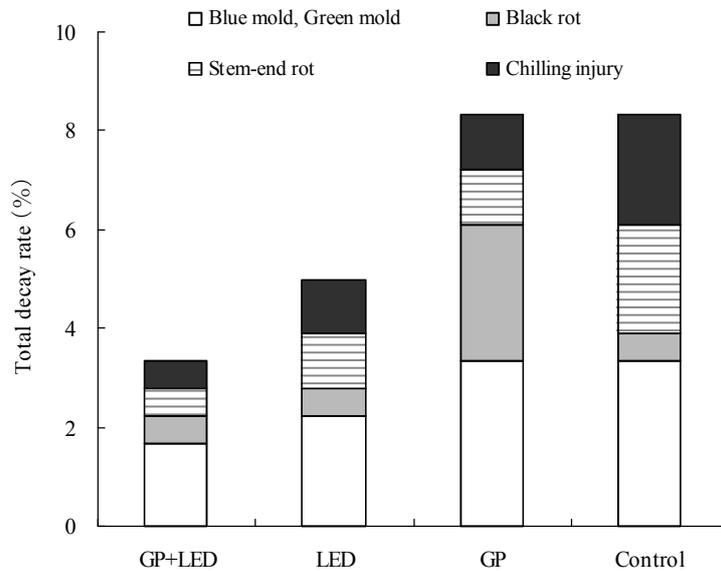


Fig.11. Effect of autumn treatments of a mixture of gibberellin and prohydrojasmon (GP) spray and postharvest blue light-emitting diode (LED) irradiation on blue/green mold, stem-end rot, black rot and chilling injury after storage (Apr. 07) in satsuma mandarin fruit. Data are expressed as the means (n=3).

間に対照区よりも 0.3~0.5℃高く推移していた（第 10 図）。相対湿度は、青色 LED 光が照射されている間、一時的に低くなる場合があった。試験期間中（1 月 5 日~4 月 7 日）の平均気温は、LED 区 8.3℃、対照区 8.1℃、平均相対湿度は LED 区 89.7%、対照区 90.6%だった。

貯蔵病害の累積発生率と累積腐敗果率に対しては、3 月 9 日~4 月 7 日（試験開始 63 日目~試験終了）において、有意な LED 光照射の効果が認められ、LED 光照射した果実ではこれらの値が低い傾向にあった（第 4 表）。また、低温障害の累積発生率に対しても、3 月 9 日~3 月 25 日（試験開始 63 日目~79 日目）において、有意な LED 光照射の効果が認められ、LED 光照射した果実では発生率が低い傾向にあった。一方、GP 散布の有無によって、試験期間中の貯蔵病害の累積発生率および累積腐敗果率に有意な差はみられなかった。3 月 9 日時点のみ、低温障害

累積発生率に対して、有意な GP 散布効果が認められ、GP 散布果実で発生率が低い傾向にあった。貯蔵後における貯蔵病害ごとの累積発生率については、有意差はみられなかった（第 11 図）。

3-2 プロヒドロジャスモン加用ジベレリンの秋季散布と収穫後青色 LED 光照射が貯蔵後の果実品質に及ぼす影響

3-2-1 材料および方法

1) 供試果実・貯蔵方法・青色 LED 光照射方法

3-1 と同じ。

2) 果実品質の測定

収穫直後と貯蔵後における果実の果肉歩合、果実比重、糖度、クエン酸含量を調査した。果肉歩合の算出方法は、 $\{ (果実重 - 果皮重) / 果実重 \} \times 100$ とした。果実比重は、

Table 4. Effect of autumn treatments of a mixture of gibberellin and prohydrojasmon (GP) spray and postharvest blue light-emitting diode (LED) irradiation on storage diseases, chilling injury and total decay rate during storage in satsuma mandarin fruit.

Date	Jan.15			Jan.31			Feb.13			Feb.25		
	Storage diseases	Chilling injury	Total decay (%)	Storage diseases	Chilling injury	Total decay (%)	Storage diseases	Chilling injury	Total decay (%)	Storage diseases	Chilling injury	Total decay (%)
GP+LED	0.6	0.0	0.6	0.6	0.0	0.6	0.6	0.0	0.6	0.6	0.0	0.6
LED	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.6	0.0	0.6	0.6	0.0	0.6
GP	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.6	0.0	0.6	2.2	0.0	2.2
Control	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.1	1.1	2.2	2.2	1.7	3.9
LED irradiation (A)	NS ^z	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Source GP treatment (B)	NS	NS	NS									
A × B	NS	NS	NS									

Date	Mar.09			Mar.25			Apr.07		
	Storage diseases	Chilling injury	Total decay (%)	Storage diseases	Chilling injury	Total decay (%)	Storage diseases	Chilling injury	Total decay (%)
GP+LED	1.1	0.0	1.1	1.7	0.0	1.7	2.8	0.6	3.3
LED	1.1	0.6	1.7	1.1	0.6	1.7	3.9	1.1	5.0
GP	4.4	0.6	5.0	5.0	1.1	6.1	7.2	1.1	8.3
Control	3.9	2.2	6.1	5.6	2.2	7.8	6.1	2.2	8.3
LED irradiation (A)	*	*	**	*	*	***	*	NS	**
Source GP treatment (B)	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
A × B	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

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

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

^zNS, *, **, *** indicate nonsignificant and significant difference at $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$, respectively, by two-way ANOVA.

果実を水に沈めて果実体積を測定し、果実重を果実体積で除して算出した。糖度 (Brix) 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 $0.156 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 中和滴定により算出した。果実品質の測定は、収穫直後 1 区 5 果 5 樹反復、貯蔵後 1 区 5 果 3 反復とした。

3-2-2 結果

収穫直後 (貯蔵前) の果実品質は、第 5 表のとおりであった。GP 散布の有無により糖度、クエン酸含量に違いはみられなかった。GP 散布果実は果実比重が高かった。貯蔵後の果実品質を第 6 表に示す。クエン酸含量では、GP 散布及び GP 散布と LED 光照射の交互作用において有意な効果が認められ、GP+LED 区でクエン酸含量が高い傾向にあった。果実比重においても、GP 散布及び GP 散布と LED 光照射の交互作用において有意な効果が認められ、GP 散布果実で果実比重が高く維持される傾向にあった。果肉歩合と糖度においては、処理による有意な効果が認められなかった。

3-3 考察

第 2 章において、青色 LED 光照射が青かび病菌の菌糸伸長を抑制し、ウンシュウミカンの病斑拡大抑制効果を示したこと、また低照度 ($8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) の青色 LED 光照射でもそれらの効果がみられたことから (Yamaga ら, 2015), 第 3 章では、実際のカンキツ貯蔵庫内で貯蔵する '青島温州' に対して $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 青色 LED 光照射を行い、貯蔵病害を中心とした果実腐敗の抑制効果を調査するとともに、GP 散布と貯蔵中の青色 LED 光による果実腐敗抑制の交互作用についても検証した。青色 LED 光照射による果実腐敗抑制については、第 2 章で述べたように、青色 LED 光が病原菌の生育を阻害すること、青色 LED 光が果皮のホスホリパーゼ A_2 活性を増加させ、オキシリピン類の蓄積によって病害抵抗性を高めること (Alferez ら, 2012) が主要因であると推測されている。短期間における特定の菌接種試験のみならず、果実への菌接種を行わない長期貯蔵環境においても青色 LED 光の果実腐敗に対する有効性が今回の調査で明らかになるとともに、低照度 ($10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) の間断照射 (1 日 12 時間) であっても果実に対する貯蔵病害や低温障害の軽減が確認

Table 5. Influence of autumn treatments of a mixture of gibberellin and prohydrojasmon (GP) spray on the fruit quality of satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc. 'Aoshima unshu') fruits at harvest.

Treatment	Avg. fruit wt. (g)	Percentage of flesh (%)	Specific gravity	SSC (°Brix)	TA (g · 100mL ⁻¹ as citric acid)	SSC/TA
GP	136	77.6	0.87	10.5	0.75	13.9
Control	134	76.0	0.85	10.3	0.74	13.9
Significance ^z	-	NS	*	NS	NS	NS

Data are expressed as the means (n = 5).

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

Table 6. Influence of autumn treatments of a mixture of gibberellin and prohydrojasmon (GP) spray and postharvest blue light-emitting diode (LED) irradiation on the fruit quality of satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc. 'Aoshima unshu') after storage (Apr. 07).

Treatment	Avg. fruit wt. (g)	Percentage of flesh (%)	Specific gravity	SSC (°Brix)	TA (g · 100mL ⁻¹ as citric acid)	SSC/TA
GP+LED	126	74.9	0.81	10.9	0.50	22.0
LED	108	75.2	0.76	11.3	0.36	31.3
GP	121	74.3	0.80	10.8	0.40	26.8
Control	113	73.9	0.78	11.4	0.41	28.0
LED irradiation (A)	-	NS	NS	NS	NS	NS
GP treatment (B)	-	NS	**	NS	**	**
A × B	-	NS	*	NS	**	**

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

^z NS, *, ** indicate nonsignificant and significant difference at $P < 0.05$, $P < 0.01$, respectively, by two-way ANOVA; -: not analyzed.

された。低温障害の抑制については、青色 LED 光照射を行った環境で照射時のみ 0.3~0.5°C 高く推移していたことが影響を与えたことも考えられる。今後は、青色 LED 光照射が果実の蒸散量に及ぼす影響を調査することによって、青色 LED 光照射が貯蔵病害や低温障害を抑える要因の解明につながることを期待される。

一方、秋季（9月）の GP（GA 濃度 3.3 ppm, PDJ 濃度 25 ppm）散布のみでは、果実腐敗抑制効果はみられなかった。上記で述べたとおり、‘はるみ’や‘不知火’においては、収穫前の高濃度（25~50 ppm）GA 処理により腐敗が軽減されることが明らかになっているが（牧田ら、2000）、本研究とは品種、GA 濃度、散布時期が異なる。ウンシュウミカンの果実腐敗に対して、本実験条件での GP 散布の効果は低いと考えられる。しかし、GP 散布濃度と貯蔵中の腐敗発生との関係について、未だ現地データが少なく、本実験の濃度設定による処理結果だけでは、腐敗抑制効果がないと断定することは難しいと考える。

貯蔵後のクエン酸含量については、GP 散布及び GP 散布と LED 光照射の交互作用において有意な効果が認められ、GP 散布と LED 光照射を組み合わせた処理区で高い傾向にあったが、LED 光単独処理では、対照区と有意な差はみられなかった。また、糖度については、GP 散布と LED 光照射の効果が認められなかった。恒温機内の実験

（第2章）において、80 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の青色 LED 光を温度 15°C 環境下で 6 日間連続照射した果実は、無照射果と比較してクエン酸含量が高くなる結果を得たが、本章における実験は、放射照度 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、8°C という異なる環境であり、低温において緩やかにクエン酸が減少する環境では、青色 LED 光のみが果実のクエン酸含量に与える影響は小さいと考えられる。GP を散布すると収穫時および貯蔵後における果実の酸含量が高くなる傾向があることが報告されている（藤原、2005；北園・藤田、2006）。一方で、酸含量に差がみられない場合もある（岡崎・池田、2005）。ウンシュウミカン果実の有機酸は、果皮の粗さと相関があることが示されており（久保・平塚、1998）、果皮の老化、クロロフィルの分解を抑制する GA の作用（Porat ら、2001）が果実の酸含量にも何らかの影響を与えている可能性がある。一方、Kaewsuksaeng ら（2011）は、収穫後のライム果実に対して、UV-B 照射（19.0 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ ）を行うと、無照射の場合と比較して果実のクエン酸含量は高くなり、糖度（スクロース・フルクトース・グルコース含量）は低くなる結果を示しており、UV-B 照射による呼吸と老化の抑制がその要因であると報告している。また、渡部・門屋（1991）は、イヨカン果実に対して、1月から3月までの貯蔵期間中に赤色光（セロハ

ン加工した水銀灯）を照射すると、無照射の場合と比較して、果皮と果汁の有機酸（クエン酸・リンゴ酸）含量が高くなったことを述べている。しかしながら、これらの研究と本研究とは、光波長領域や照射装置、貯蔵温度、品種が異なり、LED と蛍光灯では植物の成長や代謝に及ぼす影響が異なる（清水ら、2008）ことも報告されている。クエン酸含量について、青色 LED 光と GP 散布による交互作用がみられた要因についても明らかにできないため、今後は、これらの技術が果実品質に及ぼす影響について継続調査するとともに、本研究において調査できなかった LED 光照射と貯蔵中の果実減量歩合、しなび程度との関係についても明らかにする必要がある。

貯蔵中の青色 LED 光照射については、晩生ウンシュウミカンの貯蔵中における腐敗を軽減する方法として、引き続き効果の検証と改良を重ねていくべき技術であると考えられる。LED 光の現地導入に向けては、照射装置や貯蔵コンテナの刷新について検討していく必要がある。

3-4 摘要

ウンシュウミカン’青島温州’果実において、秋季のプロヒドロジャスモン加用ジベレリン（以下、GP）散布と収穫後の青色 LED 光照射が貯蔵中の腐敗と貯蔵後の果実品質に及ぼす影響について調査した。ジベレリン 3.3 ppm とプロヒドロジャスモン 25 ppm を混合して、9月に散布し、12月に果実を収穫し、予措を行った後に 8°C 貯蔵庫にて 92 日間貯蔵した。貯蔵中、青色 LED 光（ピーク波長 465 nm, 放射照度 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ）を果実に照射した（照射時間：1日当たり 12 時間）。その結果、青色 LED 光照射により試験開始 63~92 日目の累積腐敗果率が、低く推移することが明らかとなった。また、GP 散布のみでは、累積腐敗果率に対する抑制効果が、認められなかった。GP 散布と収穫後青色 LED 光照射の両方を行った果実は、収穫後のクエン酸含量が高い傾向にあったが、糖度についてはこれらの処理による差は認められなかった。以上の結果から、カンキツ貯蔵庫内の果実に対する青色 LED 光照射は、貯蔵後期のウンシュウミカン果実の貯蔵病害を中心とした腐敗を抑制するが、上記条件における GP 散布のみでは腐敗抑制効果は小さく、青色 LED 光との交互作用も小さいことが示唆された。

第4章 UV-B 照射による収穫後ウンシュウミカン果実の腐敗軽減と抵抗性物質の生成

収穫後のウンシュウミカン果実に UV-B 光 (280~320 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するとともに、無付傷、無接種の状態でウンシュウミカンの腐敗軽減効果の検証を行った。最初に、*in vitro* において UV-B 照射による青かび病菌生育阻害効果を確認した上で、収穫期の異なる‘青島温州’果実に菌接種を行い、UV-B 照射量と青かび病斑発生および病斑拡大抑制との関係、UV-B 照射がウンシュウミカンの果実品質に及ぼす影響について調査した。さらに UV-C 照射や熱処理によって生成されることが明らかとなっている抵抗性物質であるスコパロンについて、UV-B 照射によっても誘導されるかどうか調査した。最後に、出荷時における UV-B 照射による流通時の腐敗抑制を想定して、‘青島温州’果実に対して、付傷無し・菌接種無しの状態で UV-B 照射を行い、その後の腐敗果率とスコパロン含量を調査した。

4-1 UV-B 照射による青かび病菌生育阻害効果 (*in vitro*)

4-1-1 材料および方法

青かび病菌と緑かび病菌は、静岡県農林技術研究所果樹研究センター内ほ場 (静岡市清水区) の果実より採取し、25°C 暗所にてポテトデキストロース (PDA: 39 g/L) 培地上で培養された。培養 7 日目における胞子を 0.1% Triton X-100 を含む脱塩水の中でかく拌し、胞子懸濁液を準備した。胞子懸濁液濃度は、血球計算盤を使用し 1×10^3 個/mL に調整した。そして懸濁液 20 μ L を PDA 培地入シャーレ上に塗布した。菌を塗布したシャーレに対して、UV-B ランプ (波長領域 280~320 nm, YGRFX21711GL: パナソニック) により UV-B 照射を行った (光源距離 15cm)。UV 照射量は、デジタルレディオメーター (UV-340C, カスタム) により計測した。UV 照射量は、0, 15, 30, 60, 120 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ とした。その後、照射したシャーレは、25°C 暗所にて 48 時間培養し、発生したコロニー数を計数した。

4-1-2 結果

試験したすべての照射区 (15, 30, 60, 120 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$) において、無照射区と比較して発生コロニー数が減少した (第 12 図)。UV-B (15 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$) 照射は、コロニーの発生を 99% 以上阻害した。UV-B (30 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$, 60 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$,

120 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$) ではコロニーの発生がみられなかった。また、UV-B 照射は緑かび病菌に対しても強い生育阻害効果を示した。

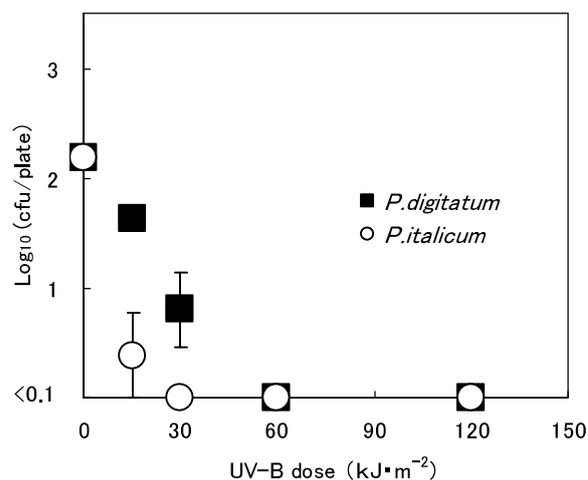


Fig. 12. Effect of UV-B irradiation on the spore germination of *P. italicum* and *P. digitatum* *in vitro*.

Vertical bars indicate S.E. (n = 4).

4-2 UV-B 照射による収穫後ウンシュウミカン果実の青かび病斑拡大抑制

4-2-1 材料および方法

同センター内ほ場で栽培された‘青島温州’ (ヒリュウ台 20 年生) 果実を、2014 年 10 月 30 日 (早期収穫) と 11 月 20 日 (通常収穫) の 2 回に分けて収穫した。果実の赤道部と果こう部の間 1 か所に、針で深さ 2 mm, 直径 1 mm の傷を付け、上記の方法により菌濃度を 1×10^5 個/mL に調整した青かび病菌の胞子懸濁液 3 μ L を注入した。上記と同じ UV-B ランプを用い、光源から 15 cm の距離に果実を置いて UV-B 照射を行った。照射量は、30 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ と 60 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ の 2 種類とし、菌接種 24 時間前あるいは菌接種直後に照射を行った。対照として無照射果実を用意した。菌接種された果実は、恒温器内 (25°C, 相対湿度 85% 以上) にて 5 日間保存した。接種 4 日後と 5 日後の病斑 (軟化部, 菌糸部) 形成の有無と各病斑部の直径を計測した。腐敗部の計測方法は第 2 章と同じ (胞子形成部を除く)。試験は各処理区 10 果 6 反復とした。

4-2-2 結果

UV-B 照射が果実の病斑発生率に及ぼす影響を第 7 表に示す。早期収穫果において、菌接種前に UV-B 照射 (30

Table 7. Effect of UV-B irradiation on disease incidence caused by *P. italicum* infections of satsuma mandarin fruit.

UV-B dose	Disease incidence (%)							
	Early harvest				Commercial harvest			
	Soft rot area		Mycelium area		Soft rot area		Mycelium area	
	4 day	5 day	4 day	5 day	4 day	5 day	4 day	5 day
30kJ·m ⁻² + Inoculation	8.9 b	20.0 a ^z	0.0	6.7 b	27.1 a	45.0 a	0.0	25.6 a
60kJ·m ⁻² + Inoculation	8.9 b	30.0 a	0.0	0.0 b	25.1 a	45.0 a	0.0	27.8 a
Inoculation + 30kJ·m ⁻²	20.5 a	33.3 a	0.0	6.7 b	33.7 a	43.8 a	0.0	32.8 a
Inoculation + 60kJ·m ⁻²	10.0 a	23.3 a	0.0	3.3 b	25.4 a	48.8 a	0.0	25.1 a
Control (Inoculated)	31.5 a	40.0 a	0.0	23.3 a	35.1 a	46.7 a	0.0	36.1 a

Data are expressed as the means (n = 6).

^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.

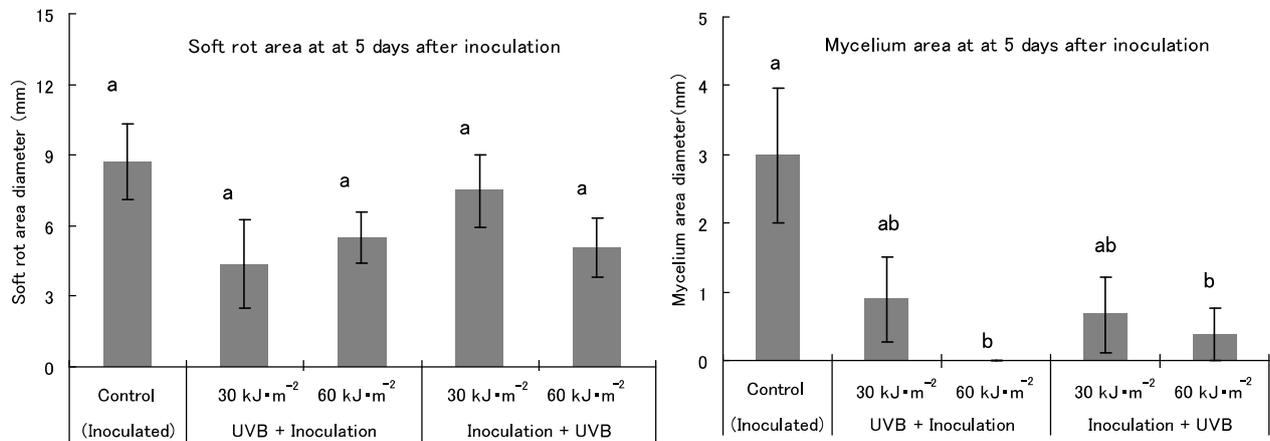


Fig. 13. Effect of UV-B irradiation on fruit fungal diameter caused by *P. italicum* in satsuma mandarin at early harvest (October). Vertical bars indicate S.E. (n = 6).

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

UVB + Inoculation: UV-B irradiation at 24h before wounding and inoculation.

Inoculation+ UVB: UV-B irradiation at immediately after wounding and inoculation.

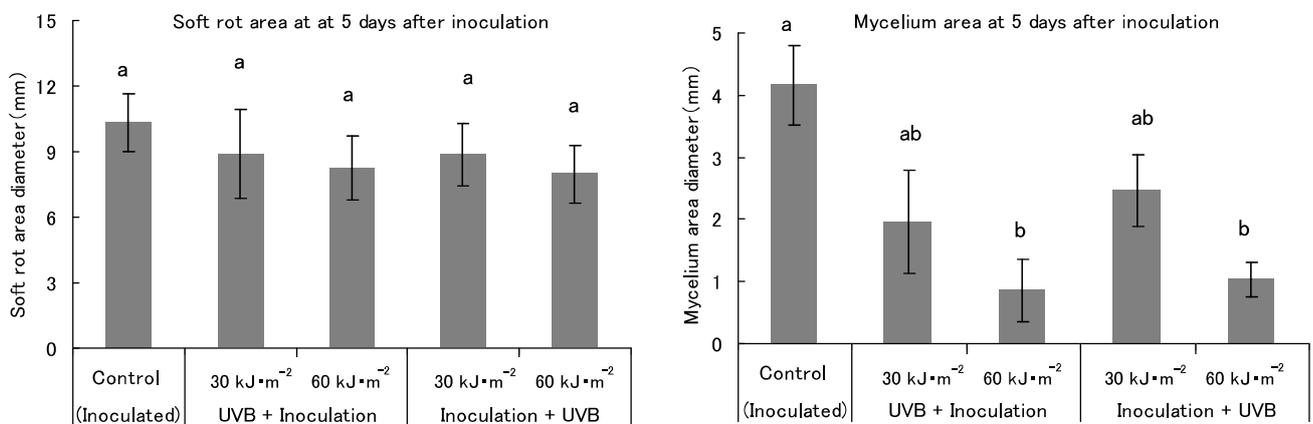


Fig. 14. Effect of UV-B irradiation on fruit fungal diameter caused by *P. italicum* infection of satsuma mandarin at commercial harvest (November). Vertical bars indicate S.E. (n = 6).

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

UVB + Inoculation: UV-B irradiation at 24h before wounding and inoculation.

Inoculation+ UVB: UV-B irradiation at immediately after wounding and inoculation.

kJ・m²と 60 kJ・m²) を行った果実は、菌接種 4 日目における軟化部発生率が減少した。菌接種 4 日目では、各処理区とも菌糸部の発生はみられなかった。菌接種 5 日目において、UV-B 照射により軟化部発生率は減少しなかった。しかし、菌糸部発生率は菌接種前、接種後に関わらず、30 kJ・m²と 60 kJ・m²の UV-B 照射により減少した。一方、通常収穫果では、軟化部、菌糸部ともに UV-B 照射による発生率の減少はみられなかった。

早期収穫果の菌接種 5 日目における軟化部直径は、UV-B 照射による有意な差はみられなかった(第 13 図)。菌糸部については、菌接種前、接種後の UV-B 照射に関わらず、60 kJ・m²照射区で有意に直径が小さくなった。菌糸部直径は、菌接種前 60 kJ・m²照射区がもっとも小さく、次いで菌接種後 60 kJ・m²照射区、菌接種後 30 kJ・m²照射区、菌接種前 30 kJ・m²照射区、無照射区の順であった。菌接種 5 日目における、菌接種前 60 kJ・m²照射区と菌接種後 60 kJ・m²照射区の菌糸部直径は、無照射区のそれぞれ 80%、75%であった。通常収穫果の軟化部直径は、処理区間で有意な差がみられなかった(第 14 図)。菌糸部直径は、菌接種前 60 kJ・m²照射区が最も小さく、次いで菌接種後 60 kJ・m²照射区、菌接種前 30 kJ・m²照射区、菌接種後 30 kJ・m²照射区、無照射区の順であった。早期収穫果と同様に、60 kJ・m²照射区では菌接種前、接種後に関わらず菌糸部が有意に小さくなった。

4-3 UV-B 照射が収穫後ウンシュウミカンの果実品質に及ぼす影響

4-3-1 材料および方法

同センター内で栽培された‘青島温州’ (ヒリュウ台 20 年生) 果実を 2014 年 12 月 1 日に収穫した。第 2 節と同じ方法で、60 kJ・m²UV-B を果実に照射し、その後無照射果とともに、温度 20℃の暗室に 10 日間保存した。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 0.156mol・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}×100 とした。果実比重は、果実を水に沈めて果実体積を測定し、果実重を果実体積で除して算出した。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。各項目の測定は 1 区 5 果 5 反復とした。

4-3-2 結果

UV-B 照射が収穫後‘青島温州’の果実品質と果皮色に及ぼす影響をそれぞれ第 8 表、第 9 表に示す。今回分析を行った果実品質のすべての項目 (果実比重、浮皮度、果肉歩合、Brix、クエン酸含量、果皮色 L*a*b*値) について、

Table 8. Influence of UV-B irradiation on the fruit quality of satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc. ‘Aoshima unshu’).

Treatment	Avg. fruit wt. (g)	Specific gravity	Percentage of flesh (%)	Degree of peel puffing	SSC (°Brix)	TA (g・100 mL ⁻¹ as citric acid)	SSC/TA
UVB	144	0.90	79.5	0.2	12.0	0.76	16.0
Control	136	0.89	78.5	0.2	12.0	0.79	15.3
Significance ^z	-	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Data are expressed as the means of 5 replicates.

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

Table 9 Influence of UV-B irradiation on the rind color of satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc. ‘Aoshima unshu’).

Treatment	Rind color			
	L*	a*	b*	C*
UVB	63.8	22.5	65.1	68.9
Control	63.8	22.2	64.2	68.1
Significance ^z	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Data are expressed as the means of 5 replicates.

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

UV-B 照射 (60 kJ m^{-2}) の有無による有意差はみられなかった。

4-4 UV-B 照射量と果皮フラベドにおけるスコパロン生成量との関係

4-4-1 材料および方法

同センター内（静岡市清水区）で栽培された‘日南1号’（カラタチ台）果実を2014年8月29日に収穫した。第2節と同じ方法で、0, 15, 30, 60 kJ m^{-2} UV-Bを果実の果こう部に照射した。果実を 20°C の恒温機内で保存し、48時間後に果皮フラベド部分を4反復ずつ採取した。スコパロンの抽出と分析は、國賀ら（2005）の方法に準じて行った。採取したフラベド 0.8g を 80% エタノール（ 5 mL ）で調整・抽出後、減圧濃縮を行った後、ジクロロメタンで分配した。ジクロロメタン層は乾固後に 25% メタノールに溶解し、C18 カラム（Inertsil ODS-2, $4.6 \times 150\text{mm}$, GLサイエンス）を装着した HPLC（Agilent1200, Agilent）により、カラム温度 40°C 、移動相には $0\sim 26$ 分までに $20\sim 70\%$ のグラジェントをかけたメタノール溶液を用い、流速 1.2 mL min^{-1} で分析を行った。注入量は $20 \mu\text{L}$ とした。検出は、 330nm 励起光、 400nm 放射光を蛍光検出器で測定した。スコパロンの標品はアルドリッチ社製を用いた。（なお本実験は第5節の実験の前に、UV-B 照射量とスコパロン含量の関係を調査する予備実験として行い、本実験のみ極早生温州を用いた。）

4-4-2 結果

60 kJ m^{-2} UV-B 照射の2日後、果皮に $15 \mu\text{g g}^{-1}$ F.W. のス

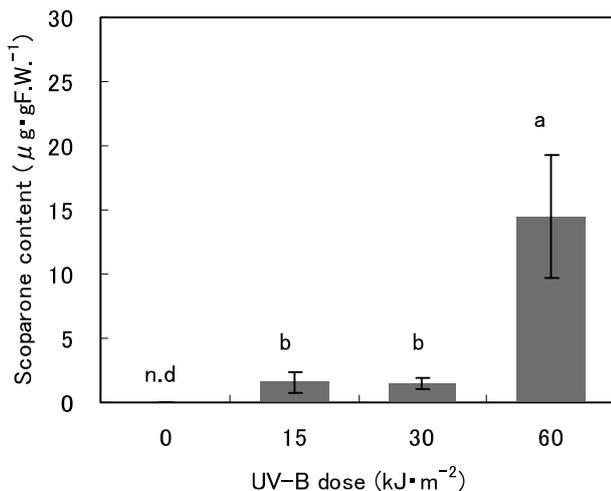


Fig.15. Relation between UV-B irradiation dose and scoparone content of flavedo tissue in satsuma mandarin fruit at 2 days after irradiation.

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

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

^y n.d.: not detected.

コパロンが生成されることを確認した（第15図）。その生成量は、 15 kJ m^{-2} あるいは 30 kJ m^{-2} UV-B照射による生成量のおよそ10倍であった。無照射区ではスコパロンは生成されなかった。

4-5 UV-B 照射が果実の腐敗果率とスコパロン生成に及ぼす影響

4-5-1 材料および方法

同センター内で栽培された‘青島温州’（ヒリュウ台20年生）果実を2014年12月1日に収穫した。第2節、第3節と同じ条件で 60 kJ m^{-2} UV-Bを収穫果実に照射したが、本実験では果実の果頂部と果こう部の両面に照射を行った。その後、照射果実は無照射果実とともに温度 20°C 、相対湿度 85% 以上の恒温機の中で20日間保管した。20日後、腐敗果実を計測するとともに病斑の症状により、「青かび病・緑かび病」、「黒腐病」、「軸腐病」に分類した。スコパロン含量は第4節の方法と同様に定量した。腐敗果率の測定は、各処理区20果7反復とし、スコパロン分析は各処理区1果7反復とした。

4-5-2 結果

UV-B (60 kJ m^{-2}) 照射果実は、無照射果実と比較して、保管20日後における全体の腐敗果率が低かった（第10表）。青かび病・緑かび病の発生率は、UV-B (60 kJ m^{-2}) 照射果実が無照射果実よりも低く、黒腐病と軸腐病の発生率は有意差がみられなかった。UV-B (60 kJ m^{-2}) 照射果実における果皮のスコパロン含量は $47 \mu\text{g g}^{-1}$ F.W.であった（第16図）。一方、無照射果実は、

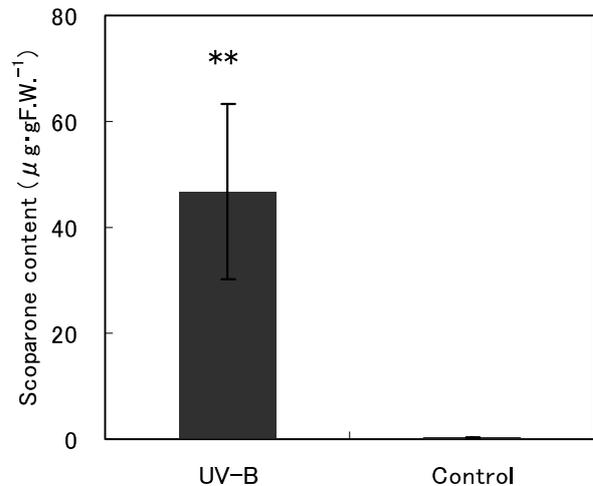


Fig.16. Comparison of scoparone content of flavedo in 60 kJ m^{-2} dose UV-B irradiated and non-irradiated fruit at 20 days after irradiation.

Data are expressed as the mean \pm S.E. (n = 7).

** : significant difference at $P < 0.01$ by *t*-test.

Table 10. Effect of UV-B irradiation on each disease incidence and total decay rate of satsuma mandarin.

Treatment	Disease incidence (%)			Total decay rate (%)
	Blue mold and green mold	Black rot	Stem-end rot	
UVB	0.7	0.0	0.6	1.3
Control	9.5	0.6	1.2	11.3
Significance ^z	**	n.s.	n.s.	**

Data are expressed as the means of 7 replicates.

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

n.s.: not significant, **: significant difference at $P < 0.01$ by t -test.

0.2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ F.W.と極めて少なかった。

4-6 考察

試験結果により、15 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ という比較的低い照射量であっても、*in vitro* における青かび病菌、緑かび病菌の生育阻害に UV-B が有効であることが明らかとなった。Hamamoto ら (2007) は、UVA-LED (365nm) と UV-C (254nm) 照射では、バクテリア DNA 損傷メカニズムに違いがあることを報告している。彼らは、UV-C 照射によって直接的な DNA 損傷の指標となるシクロブテンピリミジンダイマーが生成されること、UVA-LED 照射による酸化的ダメージの指標である 8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノシンが生成されることを明らかにしている。糸状菌類は、バクテリアと比較して抵抗性が強いものの、UV-B 照射による糸状菌類の不活性化のメカニズムは DNA の酸化的もしくは直接損傷である可能性が高い。

UV-B 照射は、異なる 2 つの時期に収穫され、菌接種されたウンシュウミカンの軟化部発生率を抑えることはできなかった。UV-B 照射の効果は、菌糸部の拡大抑制と菌糸部発生率の低下 (早期収穫果のみ) にとどまったが、菌接種なしの条件では UV-B 照射によって腐敗が減少する結果となった。菌接種条件における UV-B 照射の病斑拡大の抑制効果が低かった要因としては、UV-B 照射から菌接種までの時間と青かび病菌の接種密度が考えられる。接種する菌濃度は、病斑発生率や病斑部の拡大と関係があるかもしれない。Mercier ら (2001) は、たとえ UV-C 照射によって有意に貯蔵病害菌が殺菌されたとしても、初期感染に十分な密度の菌数が残る場合があることを報告している。さらに彼らは、*in vitro* において、UV-C は灰色かび病菌に対して強い殺菌効果を示すものの、UV-C 照射 24 時間前に灰色かび病菌を接種された果実の感染は防ぐことができなかったと述べている。第 2 章の青色 LED 光照射に関する実験においても、菌濃度によって青色 LED 光照射の病斑

抑制効果が異なることが示されている。また、UV-C 照射の場合と同様に、UV-B 照射を行ってからの時間経過は、誘導抵抗性に影響を与えている可能性が高い。キンカンを対象とした研究でも、UV-C 照射後 11 日目にファイトアレキシンであるスコパロン含量が最大となり、照射 30 日目ではスコパロン生成が極めて低いレベルまで低下することが報告されている (Rodov ら, 1992)。本研究においては UV-B 照射 20 日後における「青島温州」のスコパロン分析を行ったが、47 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ F.W.のスコパロンが蓄積していることが明らかとなった。同じ糸状菌類である緑かび病菌では、スコパロンによる ED_{50} 値が 29 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ であったことから (Kim ら, 1991)、UV-B 照射後 20 日後の果実であっても十分な病害抵抗性を有しており、それが腐敗果率の低下につながった可能性が高い。また、菌接種を行った実験において、菌接種後の UV-B 照射よりも菌接種前の UV-B 照射の方が、軟化部と菌糸部の発生率と菌糸部の拡大が抑制されており、UV-B 照射後徐々に抵抗性が付与されるものと考えられる。また、既往の研究結果 (Kim ら, 1991; Ortuño ら, 2011) を考慮すると、UV 照射後およそ 10 日後までは継続的にスコパロンが蓄積するものと考えられる。

菌糸部発生率が早期収穫果で低くなるという結果は、UV-B 照射に対するウンシュウミカン果実の反応が収穫時期によって異なることを示している。同様に、D'hallewin ら (1999) は、「ワシントンネーブル」等の品種においても、早く収穫した果実より遅く収穫したものの方が高い腐敗果率を示したことを報告している。加えて彼らは、早期収穫果の方が、後期収穫果よりも UV-C によるスコパロン生成量が多いことを示している。これらの報告と本実験結果から、抵抗性誘導は腐敗抑制の重要な因子であると考えられる。一方、カンキツ類の中で、早生品種は晩生品種よりも病原菌に感染した時に生成されるスコパロン含量は低い (國賀ら, 2005)。また、カンキツ類から単

離したいくつかのフラボノイドは、シャーレ上で緑かび病菌の生育を阻害することから (Ortuño ら, 2006) , スコパロン以外のファイトアレキシンも UV-B 照射によって生成され、腐敗抑制に関係している可能性もある。

UV-B 照射は、果実の Brix, クエン酸含量, 浮皮度, 果実比重, 果肉歩合, 果皮色に有意な影響を及ぼさなかった。UV-C 照射をカンキツ類に行った場合、果実品質には影響を与えないが、UV-C 照射によって果皮が茶褐色に変化する等の障害が現れることがある (D'hallewin ら, 1999) 。本結果から UV-B 照射は、UV-C と異なりウンシュウミカンの果皮に障害を及ぼす可能性は、低いと考えられる。一方で、UV-B 照射により貯蔵中ライム果実の糖度上昇が抑制され、クエン酸含量が増加するという報告もある (Kaewsuksaeng ら, 2011) 。UV-B 照射が糖度やクエン酸含量に及ぼす影響は、品種や果実の成熟ステージによっても異なることが考えられる。

以上より、菌接種を行った条件では、UV-B 照射によって軟化部の病害発生率と病斑拡大を抑制することはできなかったものの、菌糸部の発生率と拡大を抑制し、さらに付傷無し・菌接種無しの条件では、UV-B 照射により累積腐敗果率が抑制される結果となった。しかしながら、本研究は、ウンシュウミカンの青かび病菌に対する抵抗性メカニズムの詳細を明らかにしたわけではない。UV-B 照射、果実の反応、菌の生育阻害の関係性を探るための分子生物学的アプローチが求められる。本技術はカンキツ類の選果場での活用を想定しているため、UV-B 照射装置を一部選果ラインへ導入する方法が考えられる。アプリコットを使用した試験において、選果ラインに設置した UV-C 照射装置の照射量が $1 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ であっても、果実への照射量は $0.2 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ に留まるとの報告 (Yan ら, 2014) もあり、均一に果実へ照射するには課題も多い。UV 照射のみではなく、いくつかの腐敗抑制技術の組み合わせにより、実用化に向けた実証試験が行われることも、普及を進展させるには重要であると考えられる。

4-7 摘要

収穫後ウンシュウミカン果実において、紫外線 (UV-B) 照射が青かび病の発生、病斑拡大と果実品質に及ぼす影響について調査するとともに、UV-B 照射による菌接種を行わない果実の腐敗軽減効果と誘導抵抗性物質であるスコパロン生成について検証を行った。in vitro において、試験を行ったすべての UV-B 照射 ($15, 30, 60, 120 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$) が、青かび病菌に対して 99%以上の高い生育阻害効果を示した。続いて、'青島温州'の早期収穫果 (収穫日: 10 月 30 日) と通常収穫果 (収穫日: 11 月 20 日) に対して、

菌接種前または接種後に UV-B 照射を行い、腐敗果率と軟化部、菌糸部の直径について調査した。菌接種後 5 日目における軟化部の直径と発生率は、UV-B 照射の有無により違いがみられなかった。しかし、早期、通常収穫果とも、 $60 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ UV-B 照射により青かび病菌接種後 5 日目の菌糸部直径が小さくなった。早期収穫果においては、菌接種前、接種後の UV-B 照射に関わらず $30 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ UV-B, $60 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ UV-B 照射により、菌糸部発生率が減少した。また、UV-B 照射によって、果実の糖度、クエン酸含量、果実比重、果肉歩合、果皮色 (L^* , a^* , b^*) 等に影響はみられなかった。最後に、出荷時の UV-B 照射による流通時の腐敗抑制を想定し、付傷無し・菌接種無しの果実に対して UV-B 照射を行った結果、照射果は無照射果と比較し、青かび病、緑かび病を中心とした腐敗が抑制されることが明らかとなり、UV-B 照射 20 日後の果皮にスコパロンが $47 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{F.W.}$ 生成されていることを確認した。このことから、出荷前のウンシュウミカンに UV-B 照射を行った場合、その後の流通過程における果実腐敗を抑制できる可能性が示された。

第5章 低照度赤色 LED 光照射による収穫後ウンシュウミカン果実の着色促進と β -クリプトキサンチンの増加

本章では、静岡県で最も多く生産されている晩生の青島温州を異なる 2 つの時期（早期収穫果：5 分着色収穫、通常収穫果：8 分着色果実）に収穫を行い、低照度（ $12 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ）の赤色 LED 光（660nm）照射による果実の着色促進について検証した。また、低照度の赤色 LED 光照射が糖度、クエン酸含量等の果実品質と、機能性成分であり骨密度保持効果（Yamaguchi ら, 2004 ; Yamaguchi ら, 2006）が明らかとなっている β -クリプトキサンチンの含量に及ぼす影響についても、同様に収穫された果実を用いて、果皮と果肉別に調査した。

5-1 低照度赤色 LED 光照射が果実の着色に及ぼす影響

5-1-1 材料および方法

静岡県農林技術研究所果樹研究センター内で栽培された青島温州（カラタチ台, 24 年生）を①2013 年 11 月 14 日、②11 月 25 日の 2 回に分けて収穫した。収穫された果実は、恒温機内（ 13°C 、相対湿度 85%以上）にて果実果こう部を上にして並べ、果こう部の上 30 cm から 660nm 赤色 LED 光（放射照度： $12 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、やまと興業（株））を 8 日間連続照射した（第 17 図）。分光放射照度は、分光放射照度計 CL-500A（コニカミノルタ）により計測した（第 18 図）。対照として無照射区を用意し、同恒温機内に 8 日間置いた。1 処理区 15 果 4 反復とし、照射 8 日後の果皮色（ L^* , a^* , b^* , C^* ）、着色歩合を測定した。果皮色は、果こう部と赤道部の間 1 ヶ所を測色色差計（TC-1500MC88,（有）東京電色）で測定した。着色歩合は、選果場で用いられている基準をもとに 1（緑色）～10（完

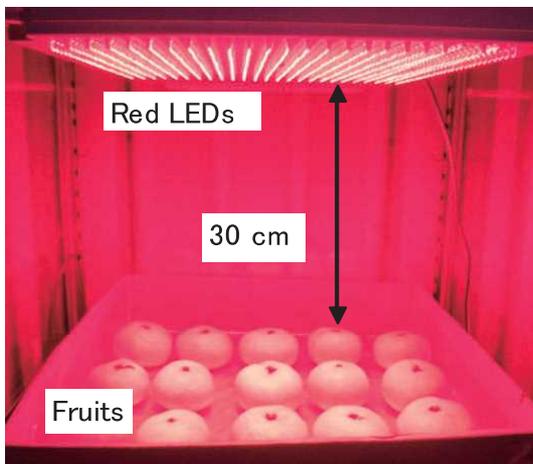


Fig.17. Experimental setup of red LED irradiation for satsuma mandarin fruits.

全着色）の 10 段階で判定した。

5-1-2 結果

早期収穫果、通常収穫果それぞれの果皮色変化をそれぞれ第 19 図に示す。早期収穫果における赤色 LED 光照射区の a^* 値は、照射 4 日目、8 日目でそれぞれ無照射区の 2.7 倍、2.4 倍となった。同様に、赤色 LED 光照射区の L^* 値、 b^* 値、 C^* 値も無照射区と比較して有意に高くなった。通常収穫果における赤色 LED 光照射区の a^* 値は、照射 4 日目、8 日目でそれぞれ無照射区の 1.2 倍、1.4 倍であった。赤色 LED 光照射区の C^* 値も、 a^* 値と同様に無照射区と比較して有意に高くなった。しかし、 L^* 値、 b^* 値は、赤色 LED 光照射の有無による有意差はみられず、 L^* 値、 b^* 値の変化に対する赤色 LED 光照射の影響は、収穫期によって異なることが示された。着色歩合の変化を第 20 図に示す。早期収穫果の場合、照射 4 日目、8 日目で無照射区と比較して有意に高くなった。照射 8 日目における赤色 LED 光照射区の着色歩合は 8.2 であったのに対して、無照射区は 7.2 にとどまった。同様に通常収穫果においても赤色 LED 光照射の有無により着色歩合に有意差がみられた。

5-2 低照度赤色 LED 光照射が果実品質と β -クリプトキサンチン含量に及ぼす影響

5-2-1 材料および方法

第 1 節と同じ果実を用いて、同条件で照射を 8 日間行った後、果実品質（糖度、クエン酸含量、糖酸比、減量歩合）、果皮と果肉の β -クリプトキサンチン含量を測定した。

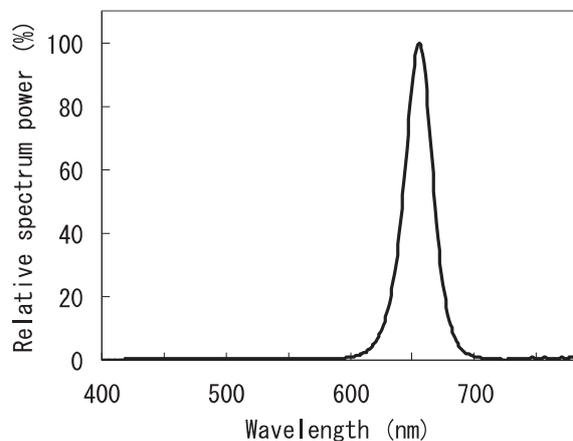


Fig.18. Relative power distribution of red LED.

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 $0.156\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 中和滴定により算出した. 減量歩合の算出方法は, $\{(\text{照射前果実重} - \text{照射後果実重}) / \text{照射前果実重}\} \times 100$ とした. 各項目の測定は 1 区 5 果 4 反復とした. β -クリプトキサンチンの抽出, 定量は, Kato ら (2004) の方法を改変して分析を行った. 果皮 (果肉) 1.5g にピロガロール 1.5g, エタノール 20mL を加えて粉砕し, 抽出液を KOH でけん化後, 酢酸エチル:ヘキサン (1:9) で分配した. 溶媒を乾固後に移動層溶媒 TBME:メタノール=1:1 (v/v) で 5 ml に定容した. そして C30 カラム (Carotenoid S-4, $4.6 \times 250\text{mm}$: YMC) を装着した HPLC (Agilent1200:アジレント) で定量した. カラム温度 30°C とし, 検出器は紫外可視分光光度計を用い, 検出波長 452 nm でグラジェント溶出を行った. グラジェントは直線的に行い, 溶離液組成は 0~30 分を 95% (v/v) メタノール・1%TBME・4% H_2O とし, 30~90 分の間に 6%メタノール・90%TBME・4% H_2O へと変化させ, 流速 $1.0\text{ml}/\text{min}$ で分析を行った.

5-2-2 結果

赤色 LED 光照射が, β -クリプトキサンチン含量を含む果実品質に及ぼす影響を第 11 表 (早期収穫果), 第 12 表 (通常収穫果) に示す. 早期収穫果, 通常収穫果ともに低照度 ($12\ \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) 赤色 LED 光照射の有無によって糖度, クエン酸含量, 糖酸比, 減量歩合に有意差はみられなかった. 一方, 果皮の β -クリプトキサンチン含量は早期収穫果, 通常収穫果ともに赤色 LED 光照射によって増加した. 通常収穫果の場合, 無照射果の果皮 β -クリプトキサンチン含量が $3.32\ \text{mg} \cdot 100\text{gF.W.}^{-1}$ であったのに対し, 赤色 LED 照射果は $4.65\ \text{mg} \cdot 100\text{gF.W.}^{-1}$ に増加した. しかし, 果肉の β -クリプトキサンチン含量は早期収穫果, 通常収穫果ともに赤色 LED 光照射による差はみられなかった.

5-3 考察

異なる 2 つの時期に収穫された青島温州果実において, 低照度の赤色 LED 光照射により, 果皮着色歩合が改善することが明らかとなった. 色差計による測定では, 主に果皮の a^* 値が高くなった. L^* 値, b^* 値の変化は, 収穫期によって赤色 LED 光照射が及ぼす影響に違いがみられた. カンキツ類の果皮が緑色から黄色に変化するに従って, 急激に L^* 値, b^* 値が増加する (近・棒葉, 1987). 本研究ではクロロフィル含量は計測しておらず, 今後は, 赤色 LED 光照射とクロロフィル分解の関係について明らかにすることが重要と考えられる. Ma ら (2012) は, $50\ \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ の赤色 LED 光を 6 日間照射することで, ウ

ンシュウミカンにおけるカロテノイド生成遺伝子の発現が高まり, 総カロテノイド含量も高くなることを示しており, さらに彼らは, $50\ \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 青色光を照射した場合には, 照射 3 日目で無照射区と比較してカロテノイド関連遺伝子の発現が高まるものの, 照射 6 日目では発現に差はみられなかったことを報告している. 本実験結果は, 低照度 ($12\ \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) の赤色 LED 光であっても, ウンシュウミカンの着色を向上させるには十分有効であることを示しており, 低照度での効果を確認できたことは低コスト・省エネルギーでの導入につながる可能性もある. さらなるコスト低減技術としては LED 光の間断照射技術が考えられる. 本研究の予備実験において, 収穫後の極早生温州 '日南 1 号' 果実に, 赤色 LED 光 ($12\ \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) の間断照射 (1 日 12 時間照射) を 8 日間行うと, 果皮の a^* 値が無照射区と比較して高くなり, 連続照射区と同程度の着色になることがわかっている (Yamaga ら, 2016b). 植物の周日リズムは, 環境ストレスに対する反応など多く二次代謝系に影響を与えている (Blasing ら, 2005; Liao・Burns, 2010). Simkin ら (2004) は, ペチュニアにおけるカロテノイド酸化開裂酵素 (CCD) が, 周日リズムにより制御されていることを報告している. カンキツ類でも周日リズムによってカロテノイド関連遺伝子の発現に影響を受ける可能性があり, 今後 LED 間断照射の実用面での効果と合わせて, 間断照射がカロテノイド代謝に及ぼす影響も探ることが重要である.

赤色 LED 光照射によって果皮の β -クリプトキサンチン含量は増加した一方で, 果肉の β -クリプトキサンチン含量やその他果実品質 (糖度, クエン酸含量) には違いがみられなかった. 第 3 章, 第 4 章で記述したとおり, 光照射により, 糖度やクエン酸含量に違いがみられる報告もあるが (Kaewsuksaeng ら, 2011; 渡部・門屋, 1991), UV や青色光よりも波長の長い赤色光では, 果肉への影響は小さいと考えられる.

本章では, 低照度の赤色 LED 光が, 晩生のウンシュウミカン品種である '青島温州' の着色向上と果皮・果肉の β -クリプトキサンチン含量, その他果実品質に及ぼす影響について調査した. しかしながら本研究は, 低照度 LED 光がカンキツ類でのカロテノイド類蓄積に関する生合成経路に及ぼす影響までは明らかにしていない. 赤色光の放射照度とカロテノイド生成との関係を分子生物学的に解明する研究が求められる. Ma ら (2015) は, エチレン処理と赤色 LED 光の組み合わせ処理が, エチレン単独処理よりもウンシュウミカンのカロテノイド代謝経路関連遺伝子の発現とカロテノイドの蓄積を増加させることを示している. ミカン果実について, 今まで以上の付加価値を得るには,

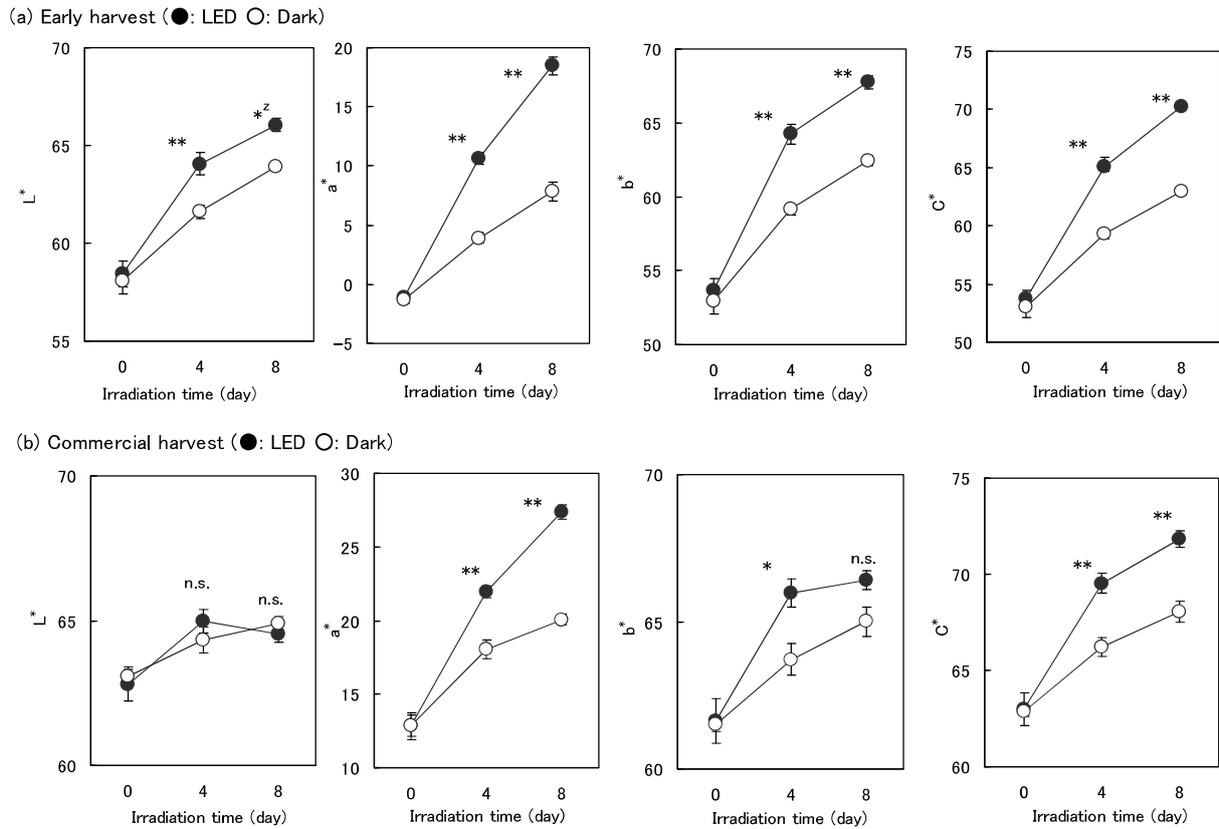


Fig.19. The effect of red LED irradiation on the change in L*, a*, b* and Chroma (C*) values in *Citrus unshiu* Marc. 'Aoshima unshu' harvested at early harvest (a) and commercial harvest (b). Vertical bars indicate standard error (SE) (n = 4). z **, * and n.s.: significant difference at P < 0.01, 0.05 and no significant difference by t-test.

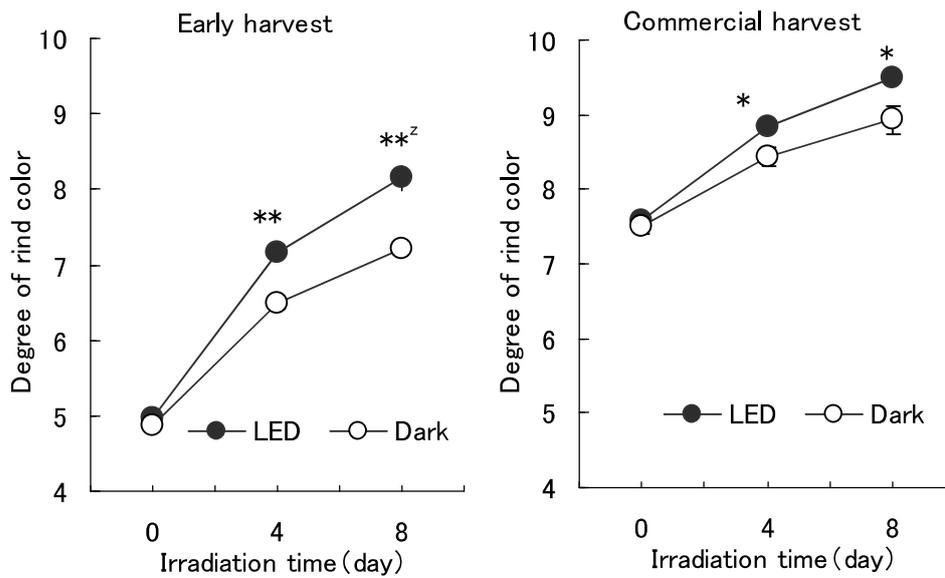


Fig.20. The effect of LED irradiation on degree of rind color in *Citrus unshiu* Marc. 'Aoshima unshu' harvested in two harvest periods. Vertical bars indicate standard error (SE) (n = 4). z **, * : significant difference at P < 0.01, 0.05 by t-test.

Table 11. Influence of red LED irradiation on fruit quality in satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc. 'Aoshima unshu') at early harvest

Treatment	Avg. fruit wt. (g)	SSC (°Brix)	TA (g · 100mL ⁻¹ as citric acid)	SSC/TA	β-cryptoxanthin		Moisture loss (%)
					flavedo	pulp	
LED	109	9.7	0.86	11.3	2.40	1.63	3.4
Dark	113	9.8	0.88	11.2	1.12	1.85	2.8
Significance ^z	-	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.

Data are expressed as the means of 4 replications.

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

Table 12. Influence of red LED irradiation on fruit quality in satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc. 'Aoshima unshu') at commercial

Treatment	Avg. fruit wt. (g)	SSC (°Brix)	TA (g · 100mL ⁻¹ as citric acid)	SSC/TA	β-cryptoxanthin		Moisture loss (%)
					flavedo	pulp	
LED	135	10.1	0.71	14.4	4.65	2.26	2.5
Dark	124	9.6	0.72	13.3	3.32	2.15	1.8
Significance ^z	-	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.

Data are expressed as the means of 4 replications.

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

貯蔵中の赤色 LED 光照射だけでなく他の技術を組み合わせることで、機能性成分増加や着色改善を増強させ、その効果を実用的な段階まで高めることが重要と考えられる。

5-4 摘要

低照度の赤色 LED 光照射 (660nm, 12 μmol · m⁻² · s⁻¹) による収穫後ウンシュウミカン果実の着色促進について、異なる 2 つの時期 (早期収穫 11 月 14 日, 通常収穫 11 月 25 日) に果実の収穫を行い、試験を行った。早期収穫果では、赤色 LED 光照射 4 日目, 8 日目における果皮の a* 値は、無照射果と比較して高く、無照射果のそれぞれ 2.7 倍, 2.4 倍であった。同様に、L*, b*, C* 値についても赤色 LED 光照射果は無照射果と比較して高くなった。通常収穫果でも、赤色 LED 光照射 4 日目, 8 日目における果皮の a* 値は、無照射果と比較して高く、無照射果のそれぞれ 1.2 倍, 1.4 倍であった。一方、L* 値と b* 値は赤色 LED 光照射の有無により、通常収穫果の場合は有意差がみられなかった。集出荷場での指標として使用されている「着色歩合」についても、早期収穫果, 通常収穫果ともに赤色 LED 照射によって改善することが確認された。また、低照度の赤色 LED 光照射が糖度, クエン酸含量等の果実品質と機能性成分である果実の β-クリプトキサンチンに及ぼす影響についても、同様に収穫された果実を用いて調査した。8 日間の低照度赤色 LED 光照射では、果実の糖度, クエン酸含量, 糖酸比, 減量歩合に影響はみられなかった。また、果肉の β-クリプトキサンチン含量については、赤色 LED 光照射の有無により有意差はみられなかったものの、果皮の β-クリプトキサンチン含量は、早期収

穫, 通常収穫とともに赤色 LED 光照射果で無照射果と比較して高くなることがわかった。このことから低照度の赤色 LED 光照射でも、糖度やクエン酸含量等の果実品質に影響を与えることなく、ウンシュウミカンの着色を改善することが明らかとなるとともに、収穫期に関わらず、赤色 LED 光照射により果皮の機能性成分 (β-クリプトキサンチン) を増加させることが示された。

第6章 総合考察

本研究では、我が国の果樹産業を担う主要な品種であるウンシュウミカンにおいて、近年農業分野での活用が広まっているLED光等の光技術を用いた貯蔵中の腐敗軽減と、着色向上効果について検討した。まず、第2章において、青色LED光(465nm)照射による青かび病抑制効果を検証し、第3章で実際の貯蔵庫における腐敗果率の軽減について調査した。次に第4章において、多くの植物で病害抑制効果が認められているUV-B照射による果実の青かび病抑制効果と、付傷・菌接種を行わない果実を用いた腐敗軽減について検証を行った。最後に第5章において、低照度の赤色LED照射による果実の着色促進について検証した。

青色LED光が青かび病を中心とするウンシュウミカンの貯蔵病害(腐敗)を軽減するメカニズムとしては、貯蔵病害菌の生育阻害と果皮の病害抵抗性を高める可能性が示唆された。カンキツ類のタンジェリンでは、青色LED光照射により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が果皮の病害抵抗性を高めていることが推察されている(Alferezら, 2012)。また、植物体が糸状菌や細菌類の感染に対する抵抗性反応の始動時に起こる反応としてオキシダティブーストがある(道家, 1999)。オキシダティブーストは、菌などの異物侵入後に起こる活性酸素生成現象であり、その後過敏感反応やファイトアレキシンが生成される。オキシダティブーストと連動してホスホリパーゼA₂やリポキシゲナーゼが活性化され、脂質過酸化反応が誘導されることが明らかとなっている(Dokeら, 1991)。オキシリピン類はリノール酸、リノレン酸由来の反応物であることから、青色LED光がエリシターとなり、オキシダティブーストによる一連の反応と類似した二次代謝が起こり、ファイトアレキシンの生成に繋がっていることも推測される。その他、フラボノイド類やテルペン類なども抵抗性に関与しているため、青色LED光によって果皮に生成される物質についても幅広く探っていく必要がある。筆者は、後述するUV-B照射によりファイトアレキシンであるクマリン類のスコパロン生成を確認しているが、果皮が無傷の状態では青色LED光によりスコパロンは誘導されていない(データ未出)。誘導抵抗は、多くの反応が複合的に進行しており、LED光のような波長領域の狭い光と動的抵抗性については、物理的な防御機構や全身獲得性(SAR)シグナル伝達の関連も含めた研究が総合的に遂行されるこ

とが望ましい。一方、青色光は孔辺細胞原形質膜のプロトンポンプを活性化して、気孔を開孔させる(島崎, 1994)。果皮組織の孔辺細胞においても、開孔により水分が蒸散し、キュアリングの効果により耐病性が高まった可能性もある。

室内実験(*in vitro*, *in vivo*)で青色LED光照射がウンシュウミカンの貯蔵病害の抑制効果を示したことから、次に実際の低温貯蔵庫において貯蔵されている‘青島温州’に対して10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 青色LED光照射を行い、貯蔵中の果実腐敗抑制効果を検証した。その際、浮皮軽減剤(GP)を散布した果実も同様に試験を行い、二元配置とした。最近、GPは、ウンシュウミカン果実の浮皮軽減のために、カルシウム剤に替わって普及し始めている。その作用メカニズムは果皮の老化抑制に働くジベレリンとそのジベレリンの加水分解を抑制するプロヒドロジャスモンによる効果と推測されている。果実の浮皮軽減効果により、果実腐敗も抑制されることが考えられたため、本研究では、栽培期間中のGP散布と貯蔵中の青色LED光による腐敗抑制の相乗効果についても検証した。その結果、青色LED光による果実腐敗抑制効果はみられたものの、栽培期間中(9月)のGP(ジベレリン3.3 ppm, プロヒドロジャスモン25 ppm)散布による果実腐敗抑制効果は、みられなかった。ジャスモン酸は、抵抗性誘導のシグナルとして働くことが、多くの研究により明らかにされているが(安田・仲下, 2009)、収穫3ヶ月前の低濃度プロヒドロジャスモン処理が収穫後の果実に影響を及ぼすことは考えにくい。GPは、浮皮軽減効果が先立って検証され、植物生育調節剤としての登録に至ったが、外生のジャスモン酸処理がウンシュウミカン果実の二次代謝に及ぼす影響については未解明であり、抵抗性誘導の観点からの研究が望まれる。一方、貯蔵後の果実品質については、GPと青色LED光の組み合わせ技術によりクエン酸含量が高くなる傾向がみられた。ウンシュウミカンのクエン酸含量が高い(1.0%以上)と消費者の評価は下がるが、低すぎても(0.59%以下)評価は下がるため(大石, 2003)、栽培期間中のGP処理と貯蔵中の青色LED光の組み合わせは、貯蔵ミカンの食味を保持する方法として改良を重ねていくべき技術であると考えられる。

UVによるカンキツの貯蔵病害抑制については、UV-Cを利用した研究はこれまでに数多くあったが、本研究では、UV-Cよりも波長の長いUV-B照射による貯蔵病害抑制と

腐敗の拡大防止の効果を示した。UV-B 照射が青かび病を中心とした貯蔵病害の軽減する要因は、直接的な菌の不活性化と抵抗性誘導（ファイトアレキシン生成）である可能性が高いことが示された。UV-B 照射は青かび病菌に対して、青色 LED 光による菌の生育抑制（菌糸の成長阻害）効果よりも強い作用を及ぼすことが考えられる。UV-B が活性酸素を発生させることで DNA の酸化もしくは直接損傷が起こったと推察され、その結果、UV-B は短時間照射により 99%以上の菌を不活性化させることが確認された。一方、果皮において UV-B がファイトアレキシンであるスコパロンを誘導することは UV-C 照射による抵抗性のメカニズムと一致していた。本研究において UV-B 照射 20 日後における「青島温州」のスコパロン分析を行った結果、およそ $50 \mu\text{g g}^{-1}$ F.W.のスコパロンが蓄積していることが明らかとなった。糸状菌類の緑かび病菌では、スコパロンによる ED_{50} 値が $29 \mu\text{g mL}^{-1}$ であり（Kim ら, 1991）、UV-B 照射後 20 日後の果実であっても十分な病害抵抗性を有しており、それが腐敗果率の低下につながった可能性が高い。また、菌接種を行った実験において、菌接種後の UV-B 照射よりも菌接種前の UV-B 照射の方が、軟化部と菌糸部の発生率と菌糸部の拡大が抑制されていることから、UV-B 照射後徐々に抵抗性が付与されるものと考えられた。カンキツ類において誘導されるファイトアレキシンは、スコパロンの他、同じクマリン類のウンベリフェロンやスコポレチンなどがあり、紫外線だけでなく、 γ 線や高温処理によっても生成される（Afek ら, 1999）。UV-B 照射によって、スコパロン以外の抵抗性物質が生成されていることも考えられ、その点について今後研究を進めていく必要がある。すでに、トマトやシロイヌナズナ等のモデル植物では、UV-B 照射が PR タンパク質に関連した遺伝子の発現を高め、サリチル酸やジャスモン酸などがシグナルとなり、病害抵抗性を高めることが明らかとなっている（Green・Fluhr, 1995）。また、収穫後ブロッコリーにおいては、UV-B 照射によりアスコルビン酸ペルオキシダーゼ（APX）やグルタチオンレダクターゼ（GR）の活性が高まることから（Yamauchi, 2013）、収穫後のウンシュウミカンにおいても、UV-B 照射によって同様の活性化が起こっている可能性もある。また UV-B 照射の効果については、*in vitro* や菌接種を行った条件だけでなく、付傷なし、菌接種なしの果実を使用した試験において、 $60\text{kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ UV-B 照射による果実腐敗抑制効果が明らかとなった。付傷なし、菌接種なしの条件は、実際の貯蔵・出荷現場に置かれた果実の状況に近く、現地実証の前段階の結果として、重要な意味を持つと考えられる。本来、貯蔵庫や出荷（選果）場は、糸状菌類を始め、様々な細菌類が浮遊して

おり、また果実の傷付き具合も様々な状態で運ばれる。直接の菌不活性化と果実への抵抗性付与、それぞれの寄与がどの程度か、現地実証に近い試験では明確にできないものの、UV-B 照射の果実腐敗抑制効果は有効であると考えられる。

赤色 LED 光によるカロテノイド蓄積については、先行研究があり（Ma ら, 2012）、本研究では実際の貯蔵庫における照射環境を考慮して、既往報告よりも低い照度での赤色 LED 光による着色向上に焦点を当てた。試験の結果、異なる 2 つの時期（早期収穫期、通常収穫期）に収穫された「青島温州」果実において、低照度の赤色 LED 光照射により、果皮着色歩合が改善することが明らかとなった。また、赤色 LED 光照射によって果皮の β -クリプトキサンチン含量は増加した一方で、果肉の β -クリプトキサンチン含量やその他果実品質（糖度、クエン酸含量）には違いがみられなかった。静岡県内におけるほとんどのカンキツ集出荷場（選果場）には、非破壊糖度センサー並びにカラーグレーダーが整備されており、果実品質（糖度）と外観により等級分けされている。今回、低照度の赤色 LED 光照射がもたらした効果で重要なのは、実際に選果で用いられている「着色歩合」で差がみられたことにあると考えられる。今回の試験では果実の上半分のみ照射であるため、限られた着色改善効果にとどまっている。実際には、青色 LED 光の課題と同様に、上下から効率的に照射できる工夫を施す必要があると考えられる。

静岡県では、長年に渡って全国のウンシュウミカン産地リレーの後半を担い、貯蔵性の高い晩生品種である「青島温州」、*「寿太郎温州」*を生産の主としており、他産地との差別化のためにも長期貯蔵の重要性は大きくなっている。県内では、一部の農家が貯蔵庫内に冷風を循環させる「冷風貯蔵」設備を導入している。それに加えて、本研究で検討した光技術を貯蔵中並びに出荷施設等に導入できれば、果実の鮮度保持と腐敗抑制に確かな効果を発揮できる可能性はある。本研究で検証した青色 LED 光、UV-B、赤色 LED 光は同時に使用することは想定しておらず、それぞれの特性と用途に見合った活用が成されるべきだと考える。青色 LED 光と UV-B は、ともに果実の腐敗軽減に有効であることが示されたが、青色 LED 光は消費電力が従来の光源より少なく、熱源になりにくいという長所がある一方で、継続して照射を行わないと腐敗抑制効果は見込めないことを考慮すると、農家の低温（冷風）貯蔵庫内での活用が適切だと考えられる。また UV-B は、青色 LED 光と異なり比較的短時間の照射で、殺菌効果と果実の抵抗性誘導が期待できることから、出荷時（選果場）における選果ライン等での活用が可能ではないかと考えられ、人体への影

響を考慮すると隔離された空間での照射が望ましい。赤色 LED 光は、主に果実の着色向上に活用できるが、貯蔵前期に出荷される果実や貯蔵しても着色が向上しない果実に対しての使用が想定される。赤色 LED 光照射は青色 LED 光と異なり、果皮におけるホスホリパーゼ関連遺伝子の発現が減少し、果実腐敗部が拡大することが明らかになっており (Alferez ら, 2012), 長期貯蔵には向いていないと考えられる。そこで貯蔵庫内での青色 LED 光と赤色 LED 光は、目的の出荷時期と用途により使い分けをすることが重要ではないかと思われる。また、果皮では赤色 LED 光により 6-クリプトキサンチンの増加がみられたが、果肉での同成分の増加はみられなかったため、果皮も含めての加工用果実であれば、機能的成分増加という目的に対して、赤色 LED 光照射が有効な手段となるかもしれない。2015 年に、食品の新たな機能的表示制度が開始され、科学的根拠に基づいた健康増進に寄与する機能を消費者庁に届出を行った上で、事業者の責任で商品に記載することができるようになった。同年 9 月には、JA みっかび (静岡県浜松市北区三ヶ日町) のウンシュウミカンが、生鮮食品で初めて機能的表示食品として受理され、多くの機能的成分を含むカンキツ類には注目が集まっている。果実においてカロテノイド以外の機能的成分増加を目的とする場合、UV-B 照射によってポンカン果皮にポリメトキシフラボノイドの増加が認められていることから (及川ら, 2015), 他波長の光による検証を行う余地はある。本研究において UV-B 照射により生成されたスコパロンは、クマリン類の一種であり、機能的成分としても活用が期待されている (Hoult・Paya, 1996)。果実貯蔵用の LED を実用化させるためには、LED を組み込んだ貯蔵ケースの製品化等も求められる。イチゴ、イチジクなどの果実も、腐敗しやすく長期の保存が難しいという課題があり (余・邨田, 1994), 生鮮品における着色の課題では、リンゴやパプリカでも光による着色向上の取り組みが行われている (吉田ら, 2014)。ウンシュウミカンだけでなく、その他の果実または野菜でも、LED を利用して貯蔵性や着色を向上させることができれば、汎用性が高まり製品化しやすくなると考えられる。

我が国は、めまぐるしく変化する国際情勢の中にあり、農業政策の根本的な転換を迫られている。その中で、国産ウンシュウミカンを始めとする高品質な果実の輸出を拡大させることが、重要な施策のひとつに掲げられている。現在も静岡県産のミカンは、カナダやニュージーランド等に輸出されており、今後は台湾やシンガポール等、東南アジアへの輸出を拡大させる方針である。輸出に際しては相手国の農薬使用基準に従わなければならない、防腐剤の使用を

控える必要があり、代替的な腐敗軽減技術の需要はますます高くなると思われる。本研究において明らかになった成果を技術として普及させるには、さらに効果を高める他技術の組み合わせや、貯蔵庫や出荷設備の改良など、多くの組織と研究機関の協力が今後必要である。果樹生産分野が次世代園芸の仲間入りを果たすために、光技術を応用した本研究が少しでも活かされるよう、これからも生産者や企業と連携しながら技術導入の取り組みを進めていく所存である。

総合摘要

近年、温暖化の影響によりウンシュウミカン果実の貯蔵性が低下し、貯蔵中の腐敗が増えるとともに、秋季や収穫前の不安定な気象により果実の着色遅れが懸念されている。本研究では、LED光等の照射技術を活用することによる収穫後のウンシュウミカン果実の腐敗（貯蔵病害）の軽減を主目的とし、着色促進や機能性成分増加についても検討を行った。

1. 青色LED照射による収穫後ウンシュウミカン果実の青かび病抑制効果

青色LED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室内試験を行った。最初に、2つの異なる照度における青色LED光（ $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、 $8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）が青かび病菌の生育に及ぼす影響を *in vitro* において調査した結果、両方の照度で青かび病菌の生育が抑制された。次に、「青島温州」果実に青かび病菌を接種後、6日間青色LED照射（ $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）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、胞子形成部）が有意に小さくなった。続いて、果実に青色LED光を6日間照射した後、青かび病菌を付傷接種し、腐敗部の広がり調査した。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推測された。また、低照度（ $8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）の青色LED照射でも無照射の場合と比較し、胞子形成部の拡大が48%抑制されたことから、高照度だけでなく低照度の青色LED照射も果実腐敗抑制に有効である可能性が示唆された。恒温機内における試験において、青色LED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みられたが、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。このことから青色LED光は、ウンシュウミカン果実の腐敗抑制に有効な技術であることが示された。

2. プロヒドロジャスモン加用ジベレリンの秋季散布と収穫後青色LED照射がウンシュウミカン果実の貯蔵中における腐敗と貯蔵後の果実品質に及ぼす影響

ウンシュウミカン「青島温州」果実において、秋季のプロヒドロジャスモン加用ジベレリン（以下、GP）散布と

収穫後の青色LED照射が貯蔵中の腐敗に及ぼす影響について調査した。ジベレリン3.3 ppmとプロヒドロジャスモン25 ppmを混合して、9月に散布し、12月に果実を収穫し、予措を行った後に8°C貯蔵庫にて92日間貯蔵した。貯蔵中、青色LED光（ピーク波長465 nm、放射照度 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ）を果実に照射した（照射時間：1日当たり12時間）。その結果、青色LED照射により試験開始63~92日目の累積腐敗果率が、低く推移することが明らかとなった。また、GP散布のみでは、累積腐敗果率に対する抑制効果が、認められなかった。GP散布と収穫後青色LED照射の両方を行った果実は、収穫後の滴定酸含量が高い傾向にあったが、糖度についてはこれらの処理による差は認められなかった。以上の結果から、カンキツ貯蔵庫における収穫後の青色LED照射は、貯蔵後期のウンシュウミカン果実の貯蔵病害を中心とした腐敗を抑制するが、上記条件におけるGP散布のみでは腐敗抑制効果は少なく、青色LED光との交互作用も小さいことが示唆された。

3. UV-B照射による収穫後温州ミカン果実の腐敗軽減と抵抗性物質の生成

収穫後ウンシュウミカン果実において、紫外線（UV-B）照射が青かび病の発生、病斑拡大、と果実品質に及ぼす影響について調査するとともに、UV-B照射による菌接種を行わない果実の腐敗軽減効果と抵抗性物質であるスコパロン生成について検証を行った。*in vitro* において、試験を行ったすべてのUV-B照射（15, 30, 60, 120 $\text{kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ ）が、青かび病菌に対して99%以上の高い殺菌効果を示した。続いて、「青島温州」の早期収穫果（収穫日：10月30日）と通常収穫果（収穫日：11月20日）に対して、菌接種前または接種後にUV-B照射を行い、腐敗果率と軟化部、菌糸部の直径について調査した。菌接種後5日目における軟化部の直径と発生率は、UV-B照射の有無により違いがみられなかった。しかし、早期、通常収穫果とも、 $60 \text{kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ UV-B照射により青かび病菌接種後5日目の菌糸部直径が小さくなった。早期収穫果においては、菌接種前、接種後のUV-B照射に関わらず $30 \text{kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ UV-B、 $60 \text{kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ UV-B照射により、菌糸部発生率が減少した。また、UV-B照射によって、果実の糖度、クエン酸含量、果実比重、果肉歩合、果皮色（ L^* 、 a^* 、 b^* ）等に影響はみられなかった。最後に、出荷時のUV-B照射による流通時の腐敗抑制

を想定し、付傷無し・菌接種無しの果実に対して UV-B 照射を行った結果、照射果は無照射果と比較し、青かび病、緑かび病を中心とした腐敗が抑制されることが明らかとなり、UV-B 照射 20 日後の果皮にスコパロンが $47 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{F.W.}$ 生成されていることを確認した。このことから、出荷前のウンシュウミカンに UV-B 照射を行った場合、その後の流通過程における果実腐敗を抑制できる可能性が示された。

4. 低照度赤色 LED 光照射による収穫後ウンシュウミカン果実の着色促進と β -クリプトキサンチンの増加

低照度の赤色 LED 光照射 (660nm , $12 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) による収穫後ウンシュウミカン果実の着色促進について、異なる 2 つの時期 (早期収穫 11 月 14 日, 通常収穫 11 月 25 日) に果実の収穫を行い、試験を行った。早期収穫果では、赤色 LED 光照射 4 日目, 8 日目における果皮の a^* 値は、無照射果と比較して高く、無照射果のそれぞれ 2.7 倍, 2.4 倍であった。同様に、 L^* , b^* , C^* 値についても赤色 LED 光照射果は無照射果と比較して高くなった。通常収穫果でも、赤色 LED 光照射 4 日目, 8 日目における果皮の a^* 値は、無照射果と比較して高く、無照射果のそれぞれ 1.2 倍, 1.4 倍であった。一方、 L^* 値と b^* 値は赤色 LED 光照射の有無により、通常収穫果の場合は有意差がみられなかった。集出荷場での指標として使用されている「着色歩合」についても、早期収穫果, 通常収穫果ともに赤色 LED 照射によって改善することが確認された。また、低照度の赤色 LED 光照射が糖度, クエン酸含量等の果実品質と機能性成分である果実の β -クリプトキサンチンに及ぼす影響についても、同様に収穫された果実を用いて調査した。8 日間の低照度赤色 LED 光照射では、果実の糖度, クエン酸含量, 糖酸比, 減量歩合に影響はみられなかった。また、果肉の β -クリプトキサンチン含量については、赤色 LED 光照射の有無により有意差はみられなかったものの、果皮の β -クリプトキサンチン含量は、早期収穫, 通常収穫ともに赤色 LED 光照射果で無照射果と比較して高くなることがわかった。このことから低照度の赤色 LED 光照射でも、糖度やクエン酸含量等の果実品質に影響を与えることなく、ウンシュウミカンの着色を改善することが明らかになるとともに、収穫期に関わらず、赤色 LED 光照射により果皮の機能性成分 (β -クリプトキサンチン) を増加させることが示された。

謝 辞

本論文の作成にあたり、静岡大学農学部教授加藤雅也博士には貴重なご助言、ご指導と校閲を賜りました。ここに謹んで感謝の意を申し上げます。さらに本論文の校閲を賜った岐阜大学農学部前澤重禮教授、静岡大学農学部山脇和樹准教授に深謝申し上げます。国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構西日本農業研究センター國賀 武博士には終始本研究の実施ならびに研究のとりまとめにおいて数々のご指導を賜り、心より感謝いたします。

また、本研究は、平成 25～27 年静岡県新成長戦略研究「ミカンの貯蔵性向上と切り花の新商品開発による静岡ブランドの強化」において実施した研究をとりまとめました。本研究を推進する上で、協力と励ましを頂いた吉川公規氏、小林康志氏、高橋哲也氏、中寫輝子氏、古屋雅司氏、中村茂和氏、加藤光弘氏、濱崎櫻氏、石井香奈子、渡村加奈子氏、白井由紀氏、菊池佑弥氏、永嶋友香氏ならびに関係研究職員各位に心より感謝の意を表します。さらに研究ほ場管理と実験において、非常勤職員、臨時職員の皆様、静岡県農林大学校果樹分校学生諸君にご協力いただきました。また、果実の貯蔵管理において、牧田好高氏には適切なご助言とご指導を賜りました。謹んで御礼申し上げます。実験における光照射装置を作製いただいた各メーカーの担当者の方々には大変お世話になりました。深く感謝いたします。

引用文献

- Afek, U., J. Orenstein, S. Carmeli, V. Rodov and M.B. Joseph. 1999. Umbeliferone, a phytoalexin associated with resistance of immature Marsh grapefruit to *Penicillium digitatum*. *Phytochemistry*. 50: 1129-1132
- 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.
- 有元倫子・長谷部匡昭・山田 真・青木慎一・江波義成. 2014. UV-B夜間照射によるイチゴうどんこ病防除効果—照度・照射時間の検討—関西病虫研報. 56: 75-76.
- Arimoto, Y., Y. Homma and T. Misato. 1977. The effect of sodium hydrogencarbonate on the occurrence of citrus storage diseases. *J. Pestic. Sci.* 2: 163-167.
- Blasing, O.E., Gibon, Y., Gunther, M., Hohne, M., Moruende, R., Osuna, D., Thimm, O., Usadel, B., Scheible, W.-R. and Stitt, M. 2005. Sugars and circadian regulation make major contributions to the global regulation of diurnal gene expression in *Arabidopsis*. *Plant Cell*. 17: 3257-3281.
- Cerioni, L., L. Rodriguez-Montelongo, J. Ramallo, F. E. Prado, V. A. Rapisarda and S. I. Volentini. 2012. Control of lemon green mold by a sequential oxidative treatment and sodium bicarbonate. *Postharvest Biol. Technol.* 63: 33-39.
- Cerioni, L., Sepulveda, M., Rubio-Ames, Z., Volentini, S. I., Rodríguez-Montelongo, L., Smilanick, J. L., Ramallo, J. and Rapisarda, V. A. 2013. Control of lemon postharvest diseases by low-toxicity salts combined with hydrogen peroxide and heat. *Postharvest Biol. Technol.* 83: 17-21.
- Costa, L., D. Rangel, M. Morandi and W. Bettiol. 2013. Effects of UV-B radiation on the antagonistic ability of *Clonostachys rosea* to *Botrytis cinerea* on strawberry leaves. *Biol. Control* 65: 95-100.
- Demkura P. V. and C. L. Ballare. 2012. UVR8 mediates UV-B-induced *Arabidopsis* defense responses against *Botrytis cinerea* by controlling sinapate accumulation. *Mol. Plant* 5: 642-652.
- 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.
- Doke, N., Y. Miura, H.B. Chai and K. Kawakita. 1991. Active Oxygen, Oxidative Stress and Plant Metabolism. *American Soc. Plant Physiol.* p. 84.
- 道家紀志. 1999. 植物の感染・ストレス応答におけるオキシダティブバースト防御応答のための緊急シグナル. *化学と生物*. 37: 800-806.
- 藤原文孝. 2005. 常緑果樹関係除草剤・生育調節剤試験成績集録. 日本植物調節剤研究協会. 264-265.
- Green, R. and R. Fluhr. 1995. UV-B-induced PR-1 accumulation is mediated by active oxygen species. *Plant Cell* 7: 203-212.
- Hamamoto, A., M. Mori, A. Takahashi, M. Nakano, N. Wakikawa, M. Akutagawa, T. Ikehara, Y. Nakaya and Y. Kinouchi. 2007. New water disinfection system using UVA light-emitting diodes. *J. Appl. Microbiol.* 103: 2291-2298.
- 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.
- 長谷川美典. 2000. 果実の鮮度保持技術. p. 45-46. 果実の鮮度保持マニュアル. (株) 流通システム研究センター. 東京.
- Hidaka, K., Dan, K., Imamura, H., Miyoshi, Y., Takayama, T., Sameshima, K., Kitano M. and Okimura, M. 2013. Effect of supplemental lighting from different light sources on growth and yield of strawberry. *Environ. Control Biol.* 51: 41-47.
- Houck, L.G., Aharoni, Y. and Fouse, D.C. 1978. Color changes in orange fruit stored in high concentrations of oxygen and in ethylene. *Proc. Fla. State Hort. Soc.*, 91: 136-139.
- Hoult, J. R. S. and M. Paya. 1996. Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: Natural products with therapeutic potential. *Gen. Pharmac.* 27: 713-722.
- 池田富喜夫・馬場 正・伊藤真悟. 2004. カンキツ‘清見’の低温貯蔵果実への中間温度処理が長期貯蔵性ならびに抗酸化性に及ぼす効果. *園芸学研究*. 3: 421-424.
- 泉 秀実. 1999. カンキツ果実の品質と貯蔵性に及ぼす栽培時の光環境の影響に関する研究. *日本食品保蔵学会誌*. 25: 69-80.

- Kaewsuksaeng, S., Y. Urano, S. Aiamla-or, M. Shigyo and N. Yamauchi. 2011. Effect of UV-B irradiation on chlorophyll-degrading enzyme activities and postharvest quality in stored lime (*Citrus latifolia* Tan.) fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 61: 124-130.
- 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: 799-80.
- Kato, M., Y. Ikoma, H. Matsumoto, M. Sugiura, H. Hyodo and M. Yano. 2004. Accumulation of carotenoids and expression of carotenoid biosynthetic genes during maturation in citrus fruit. *Plant Physiol.* 134: 824-837.
- Kim, J. J., S. B. Yehoshua, B. Shapiro, Y. Henis, and S. Carmeli. 1991. Accumulation of scoparone in heat-treated lemon fruit inoculated with *Penicillium digitatum* Sacc. *Plant Physiol.* 97: 880-885.
- Kinay, P., F. Yildiz, F. Sen, M. Yildiz and I. Karacali. 2005. Integration of pre- and postharvest treatments to minimize *Penicillium* decay of satsuma mandarins. *Postharvest Biol. Technol.* 37: 31-36.
- Kitagawa, H., Adachi, S. and Tarutani, T. 1971. Studies on the Coloring of Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) I. The relation of a method of ethylene treatment and degreening. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 40: 190-194.
- Kitagawa, H. 1973. Coloring of Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) with ethylene. *Japan. Agr. Res. Quart.*, 7: 43-46.
- Kitagawa, H. and Tarutani, T. 1973. Studies on the Coloring of Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) III. The Relation of Fruit Condition and Coloring by the Treatment of Sealing with Ethylene for 15 hours. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 42: 65-69.
- 北川博敏・谷 利一. 1983. カンキツの緑かび病及び青かび病の発病防止に及ぼすソルビン酸カリとチアベンダゾール混用の効果. *園学雑*. 52: 464-468.
- 北園邦弥・藤田賢輔. 2006. 常緑果樹関係除草剤・生育調節剤試験成績集録. *日本植物調節剤研究協会*. 190-191.
- 近 雅代・榛葉良之助. 1987. ヌズ, レモン果皮の色調とカロチノイド組成の季節的变化. *日本食品工業学会誌*. 34: 28-35.
- 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.
- 久保達也・平塚 伸. 1998. ウンシュウミカン果実の着果角度が果皮表面形態, 着色および果汁成分含量に及ぼす影響. *園学雑*. 67: 51-58.
- Kudo, R., Ishida, Y. and Yamamoto, K. 2011. Effects of green light irradiation on induction of disease resistance in plants. *Acta Hort.* 907: 251-254.
- 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. and Burns, J.K. 2010. Light controls phospholipase A₂α and β gene expression in *Citrus sinensis*. *J. Exp. Bot.* 61: 2469-2478.
- Liao, H.-L., Alferez, F. and Burns, J. K. 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. Kiriwa, 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.
- Ma, G., Zhang, L., Kato, M., Yamawaki, K., Kiriwa, Y., Yahata, M., Ikoma, Y. and Matsumoto, H. 2015. Effect of the combination of ethylene and red LED light irradiation on carotenoid accumulation and carotenogenic gene expression in the flavedo of citrus fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 99: 99-104.
- 牧田好高・中村明弘・伏見典晃. 2000. 収穫前のジベレリン処理はカンキツ新品種‘不知火’と‘はるみ’貯蔵中の腐敗を減少させる. *園学雑*. 69 (別2) : 499.
- 牧田好高・山家一哲. 2004. プロヒドロジャスモンを添加したジベレリン水溶液の秋季散布はウンシュウミカンの浮皮を軽減する. *園学雑*. 73 (別2) : 106.
- Makita, Y. and Yamaga, I. 2006. Autumn sprays of gibberellic acid and prohydrojasmon mixtures reduce the incidence of rind puffing in Satsuma mandarin. *Proc. Intl. Hort. Congr.* 27: 455.
- Mayuoni, L. and Porat, R. 2011. Postharvest treatments for degreening of ‘Villa franca’ lemons. *Hort. Technol.* 21: 625-627.
- Mercier, J., M. Baka, B. Reddy, R. Corcuff and J. Arul. 2001. Shortwave ultraviolet irradiation for control of decay caused by *Botrytis cinerea* in bell pepper: induced resistance and germicidal effects. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 126: 128-133.

- 森永邦久・吉川弘恭・中尾誠司・村松 昇・長谷川美典. 2004. 露地栽培ウンシュウミカンにおける周年マルチ点滴かん水同時施肥法の開発. 園学研. 3: 45-49.
- 村松 昇・平岡潔志・瀧下文孝・森永邦久・星 典宏・草場新之助・島崎昌彦・中尾誠司. 2005. マルチ栽培におけるウンシュウミカン樹の水分動態. 園学研. 4: 291-295.
- 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.
- Nakatani A., Yamada, Y. and Hagihira, J. 2014. Reduction of fruit puffing in early ripening and medium ripening satsuma mandarin by gibberellin and prohydrojasmon mixtures. Bul. Wakayama Pref. Expt. Sta. Agr. For. Fis. 2: 63-74.
- 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.
- 農林水産省. 2016. 果樹をめぐる情勢. p. 2.
- 及川みちる・馬 剛・張 嵐翠・八幡昌紀・山脇和樹・太田 智・吉岡照高・加藤雅也. 2015. ポンカン果実におけるフラボノイド代謝に及ぼすUV-B照射の影響. 園芸学会東海支部研究発表要旨. p. 11
- 岡崎芳夫・池田行謙. 2005. 常緑果樹関係除草剤・生育調節剤試験成績集録. 日本植物調節剤研究協会. 262-263.
- 大石智弘. 2003. 都内消費者の青島温州に対するおいしさ評価の分布. 静岡県柑橘試験場. 果樹に関する試験成績書(栽培育種・栄養編). 209: 268-269.
- 大久保宣雄・森田 昭・禧久 保. 1992. ミカンの病害. p. 118-121. ひと目でわかる果樹の病害虫. 第1巻. 社団法人日本植物防疫協会. 東京.
- Ortuño, 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.
- Ortuño, A., A. Bañez, P. Gómez, M.C. Arcas, I. Porras, A. García-Lidón and J. A. DelRio. 2006. *Citrus paradisi* and *Citrus sinensis* flavonoids: their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*. Food Chem. 98: 351-358.
- Porat, R., Feng, X., Huberman, M., Galili, D., Goren, R. and Goldschmidt, E.E. 2001. Gibberellic acid slows postharvest degreening of 'Oroblanco' citrus fruits. Hort. Sci. 36: 937-940.
- 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.
- Shiraishi, M., P. Mohammad, Y. Makita, M. Fujibuchi and T. Manabe. 1999. Effects of calcium compounds on fruit puffing and the ultrastructural characteristics of the subepidermal cell walls of puffy and calcium-induced non-puffy satsuma mandarin fruits. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 68: 919-926.
- 島崎研一郎. 1994. 気孔の青色光効果と原形質膜のプロトンポンプ. 根の研究. 3: 14-17.
- 清水 浩・馬 稚昱・田澤信二. 2008. 青色蛍光灯と青色LEDではキクの茎伸長に与える影響が異なる. 植物環境工学. 20: 98-101.
- Simkin, A.J., Underwood, B.A., Auldrige, M., Loucas, H.M., Shibuya, K., Schmelz, E., Clark D.G. and Klee, H.J. 2004. Circadian regulation of the PhCCD1 carotenoid cleavage dioxygenase controls emission of beta-ionone, a fragrance volatile of petunia flowers. Plant Physiol. 136: 3504-3514.
- 杉浦俊彦・横沢正幸. 2004. 年平均気温の変動から推定したリンゴおよびウンシュウミカンの栽培環境に対する地球温暖化の影響. 園芸学会雑誌. 73: 72-78.
- 杉浦俊彦・黒田治之・杉浦裕義. 2007. 温暖化がわが国の果樹生育に及ぼしている影響の現状. 園芸学研究. 6: 257-263.
- Vilanova, L., Torres, R., Vinas, I., Candelas, L. G., Usall, J., Fiori, S., Solaona, C. and Teixido, N. 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.
- 山家一哲・牧田好高. 2004. プロヒドロジャスモンを添加したジベレリン水溶液の秋季散布は産地が異なってもウンシュウミカンの浮皮を軽減する. 園学雑. 73 (別2): 107.
- 山家一哲・高橋哲也・石井香奈子・加藤光弘・小林康志. 2015. 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. 園学研. 14: 83-87.
- Yamaga, I., T. Takahashi, K. Ishii, M. Kato and Y. Kobayashi. 2015. Suppression of blue mold symptom development in

- satsuma mandarin fruits treated by low-intensity blue LED irradiation. *Food Sci. Technol. Res.* 21: 347-351.
- Yamaga, I., T.Kuniga, S. Aoki, M. Kato and Y. Kobayashi. 2016. Effect of ultraviolet-B irradiation on disease development caused by *Penicillium italicum* in satsuma mandarin fruit. *Hort. J.* 85: 86-91.
- Yamaga, I., Y. Shirai, T. Nakajima and Y. Kobayashi. 2016. Rind color development in satsuma mandarin fruits treated by low-intensity red light-emitting diode (LED) irradiation. *Food Sci. Technol. Res.* 22: 59-64.
- Yamaga, I., T.Kuniga and S. Aoki. 2016. Effect of ultraviolet-B irradiation on control of postharvest decay and scoparone production in non-inoculated satsuma mandarin fruit. *Trop. Agr. Develop.* 60: 283-285.
- 山家一哲・古屋雅司. 2017. プロヒドロジャスモン加用ジベレリンの秋季散布と収穫後青色LED光照射がウンシュウミカンの腐敗に及ぼす影響. *日本食品科学工学会誌.* 64: 16-22.
- Yamaguchi, M., Igarashi, M., Uchiyama, S., Morita, S., Sugawara, K. and Sumida, T. 2004. Prolonged intake of juice (*Citrus unshiu*) reinforced with β cryptoxanthin has an effect on circulating bone biochemical markers in normal individuals. *J. Health Sci.* 50: 619-624.
- Yamaguchi, M., Igarashi, M., Uchiyama, S., Sugawara, K., Sumida, T., Morita, S., Ogawa, H., Nishitani, M. and Kajimoto, Y. 2006. Effect of β cryptoxanthin on circulating bone metabolic markers: Intake of juice (*Citrus Unshiu*) supplemented with β cryptoxanthin has an effect in menopausal women. *J. Health Sci.* 52: 758-768.
- Yamauchi, N. 2013. Quality maintenance of postharvest horticultural crops by stress treatments and approach for the elucidation of its mechanism. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 82: 1-10
- Yan, R., J. Mattheis, J. Gurtlera, J. Sitesa and X. Fan. 2014. UV-C inactivation of *Escherichia coli* and dose uniformity on apricotfruit in a commercial setting. *Postharvest Biol. Technol.* 95: 46-49.
- 安田美智子・仲下英雄. 2009. 植物の全身獲得抵抗性を制御する植物ホルモンネットワーク. *化学と生物.* 47: 553-559.
- Yorio, N.C., Goins, G.D., Kagie, H.R., Wheeler, R.M., and Sager, J.C. 2001. Improving spinach, radish, and lettuce growth under red light-emitting diodes (LEDs) with blue light supplementation. *HortScience.* 36: 380-383.
- 吉田千恵・高橋正明・岩崎泰永・古野伸典・松永 啓・永田雅靖. 2014. 催色期に収穫したカラーピーマン果実の着色促進に関する要因について. *園学研.* 13: 155-160.
- 余 小林・邨田卓夫. 1994. イチゴ果実貯蔵中の品質変化に及ぼす高温処理の影響. *日本食品低温保蔵学会誌.* 20: 169-174.
- 渡部潤一郎・門屋一臣. 1991. 光質の相違がイヨカン果実の品質に及ぼす影響. *園学雑.* 60: 55-60.

Summary

The postharvest decay of citrus fruit is caused by *Penicillium italicum*, *P. digitatum*, *Botrytis cinerea*, and other fungi, and is a source of economic loss for organizations involved in the cultivation, export, and sale of citrus fruit. In Japan, citrus fruit decay is controlled by the application of chemical fungicides to trees prior to harvesting. However, their use has gradually become more limited owing to rising public concerns over both health and environmental issues, including the development of fungal resistance. Alternative methods of postharvest disease management are expected to reduce the application of chemical fungicides. On the other hand, the delay of color development in harvested fruits has resulted in reduced market value. In recent years, there have been problems with delayed coloration of satsuma mandarins because of unstable weather conditions, including high temperatures in early fall because of global warming and sharp drops in temperature before harvesting. Therefore, the objective of this study is to investigate the possibility of controlling fruit decay in satsuma mandarin by blue LED (light-emitting diode) or UV-B irradiation. And another aim of this study is to investigate the effect of low-intensity red LED light irradiation on the coloration of satsuma mandarin fruit after harvesting.

1. Antifungal effect of blue LED irradiation on the blue mold, *Penicillium italicum*, and postharvest decay in satsuma mandarin fruits.

The antifungal effect of blue LED (light emitting diode: maximum emission wavelength 465 nm, $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) irradiation on the blue mold, *Penicillium italicum*, in satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) fruits after harvesting was investigated. First, I examined the growth and development of blue mold subjected to blue LED irradiation of two different intensities *in vitro*. High-intensity blue LED with an emission peak of 465 nm and fluency of $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, and low intensity blue LED with an emission peak of 465 nm and fluency of $8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ significantly reduced the growth of *P. italicum*. In addition, 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. 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. In the same way, wounded fruits inoculated with *P. italicum* were irradiated with low-intensity blue LED ($8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) for 6 days and changes in blue mold symptoms were monitored. The results indicate that not only high-intensity ($80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) but also low-intensity blue LED treatment significantly reduced blue mold symptoms in fruit; the most pronounced inhibitory effect was exerted on *P. italicum* sporulation. These results show that the treatment with low-intensity blue LED irradiation would be sufficient to reduce blue mold symptom development and present a promising safe approach to control postharvest spoilage in mandarin fruit. Prior to the implementation of LED treatment in the actual storage environment, it is important to develop the irradiation regime and resolve the main difficulty which is limited accessibility of mandarins to irradiation.

2. Effect of autumn treatments of a mixture of gibberellin and prohydrojasmon spray and postharvest blue LED irradiation on decay and fruit quality in satsuma mandarin fruit

I investigated the effect of autumn treatments of a mixture of gibberellin and prohydrojasmon (GP: 3.3:25 ppm) spray and postharvest blue light-emitting diode (LED) irradiation on storage diseases and chilling injury of satsuma mandarin fruits. The trees were treated with GP three months before harvest. Then, harvested

fruits were irradiated with blue LED at a maximum emission wavelength of 465 nm and photon flux of $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for 92 days at 8°C. The blue LED irradiation during storage significantly reduced storage diseases (blue mold, green mold, stem end rot, and black rot), chilling injury, and total decay rate from 63 until 92 days of storage. GP treatment alone did not inhibit the total fruit decay rate. Fruits treated with GP and postharvest blue LED irradiation had a higher titratable acid content than that in non-treated fruits after storage. In contrast, these treatments did not affect the sugar content of fruit. These results indicate that blue LED irradiation in actual storage environments could reduce the decay of mandarin fruit, with or without GP treatment.

3. Effect of ultraviolet-B irradiation on control of postharvest decay and scoparone production in satsuma mandarin fruit

The effect of ultraviolet (UV-B) irradiation on the blue mold, and influence of UV-B on the internal fruit quality and the peel color in satsuma mandarin were investigated. All UV-B doses examined (15, 30, 60, and 120 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$) had inhibitory effects on *P. italicum* growth *in vitro* (reduction of spore germination >99%). Additionally, we examined the disease incidence, the soft rot area diameter, and the mycelium area diameter of *Citrus unshiu* Marc. 'Aoshima unshu' which treated by UV-B irradiation 24h before inoculation or after inoculation at two different harvest periods. The diameter and incidence of soft rot areas were not significantly reduced by UV-B irradiation at 5 days after inoculation. However, a UV-B dose of 60 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ reduced the diameter of mycelial growth on fruits for 5 days after inoculation, both at early and commercial harvest. At early harvest, UV-B irradiation at doses of 30 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ and 60 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ was effective at reducing the incidence of mycelial growths, regardless of whether irradiation occurred 24 h before inoculation, or whether inoculation occurred immediately prior to UV-B irradiation. UV-B irradiation did not affect fruit quality with respect to soluble solid concentration, titratable acidity, or peel color. In addition, I investigated the use of ultraviolet (UV-B) irradiation to control the fruit decay and promote the accumulation of scoparone, which is associated with resistance to decay in satsuma mandarin fruit induced by post-harvest UV-B irradiation. At first, I investigated the effects of different doses (0, 15, 30 and 60 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$) of UV-B irradiation on the scoparone production of flavedo tissue. 60 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ UV-B irradiation induced the production of 15 $\mu\text{mol}\cdot\text{gF.W.}^{-1}$ scoparone content in flavedo tissue at 48 h after irradiation. In addition, I subsequently investigated effect of UV-B irradiation on fruit decay due to naturally occurring infections using non-inoculated mandarin fruits. The decay rate was reduced by UV-B irradiation at doses of 60 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ in 20 days after treatment. And, 47 $\mu\text{mol}\cdot\text{gF.W.}^{-1}$ scoparone content in flavedo tissue of UV-B treated fruits were accumulated. Non-irradiated fruits were induced little scoparone. Although UV-B irradiation did not significantly control disease development in inoculated fruits, Our results indicate that UV-B irradiation at doses of 60 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ was effective at reducing the decay rate, and UV-B irradiation induce an antifungal response, such as the production of scoparone as a defensive measure against fungal development in the flavedo of satsuma mandarin fruits as well as UV-C irradiation.

4. Rind color development in satsuma mandarin fruits treated by low-intensity red light-emitting diode (LED) irradiation

There have been problems with delayed coloration of satsuma mandarins because of unstable weather conditions. Here, it was investigated that the effect of irradiation from a low-intensity red light-emitting diode (LED) (fluency of 12 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) on the rind color development of satsuma mandarins after harvesting it in two different harvest periods. In the early harvest fruit, the a^* value for satsuma mandarin peel treated by red LED irradiation was 2.7 and 2.4 times higher than that for the dark treatment fruit at 4 and 8 days irradiation, respectively. Similarly, L^* , b^* and C^* value of the irradiated fruits were significantly

higher compared to that dark treatment. In the fruit from the commercial harvest, the a^* value of the peel treated by red LED irradiation was 1.2 and 1.4 times higher than with dark treatment at 4 and 8 days irradiation, respectively. L^* and b^* value of the irradiated fruits were not significantly different compared to that dark treatment in commercial harvest. Additionally, we examined the influence of red LED irradiation on the internal fruit quality of the satsuma mandarins from the two harvest periods. Low-intensity red LED irradiation did not affect fruit quality, however, β -cryptoxanthin of flavedo tissue was increased by low-intensity red LED. These results indicate that treatment with low-intensity red LED irradiation is sufficient to develop a degree of rind color of mandarins without affecting internal fruit quality.

5. Conclusion

In this study, it was clarified that the possibility of controlling fruit decay by blue LED (light-emitting diode) or UV-B irradiation, and rind color development by low-intensity red LED irradiation. Prior to the implementation of LED treatment in the actual storage environment, it is important to develop the irradiation regime. Then, this technology, i.e., decay control and rind color development by UV and visible light, can be combined with other preservation methods, such as temperature and moisture conditioning. Further research is required to develop alternative methods of postharvest management to enhance market value and mitigating fruit decay.

静岡県農林技術研究所 〒438-0803 静岡県磐田市富丘 678-1
電話(0538) 35-7211

茶業研究センター 〒439-0002 菊川市倉沢 1706-11
電話(0548) 27-2880

果樹研究センター 〒424-0101 静岡市清水区茂畑
電話(054) 376-6150

伊豆農業研究センター 〒413-0411 賀茂郡東伊豆町稲取 3012
電話(0557) 95-2341

森林・林業研究センター 〒434-0016 浜松市浜北区根堅 2542-8
電話(053) 583-3121

平成 30 年 3 月 23 日 印刷
平成 30 年 3 月 31 日 発行

〒438-0803 静岡県磐田市富丘 678-1

編集兼
発行者

静岡県農林技術研究所

電話(0538) 35-7211

印刷所 住所 静岡県袋井市新屋 4 丁目 5-2
名称 松本印刷株式会社
電話 (0538) 43-6300