肥料の違いが野菜の生育および生理活性に 及ぼす影響

福家洋子*・永田郁子*・丸田里江**・益永利久**
加藤哲郎**・上田浩史***

Effects of Vegetables Grown with Different Fertilizers on the Yield and Biological Activities

Yoko Fuke*, Ikuko Nagata*, Rie Maruta**, Toshihisa Masunaga**,
Tetsuo Kato** and Hiroshi Ueda***

* *Department of Food Science and Human Nutrition, Tokyo Metropolitan College,
Akishima-shi, Tokyo 196-8540*

** *Environmental Division, Tokyo Metropolitan Agricultural Experimental Station,
Tachikawa-shi, Tokyo 190-0013*

*** *Department of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Teikyo University, Sagamiko-cho, Kanagawa 199-0106*

The effects on biological activities of cabbages and Japanese radish grown with different fertilizers were investigated. Experimental fields were divided into three plots, which were respectively treated with chemical fertilizer only, chemical supplemented with organic (compost) fertilizer and nitrogen-free fertilizer. The growth conditions of the vegetables were assessed, with the yields of cabbage and radish root grown using chemical supplement with organic fertilizer found to be about 20% higher than those obtained with application of chemical fertilizer only. The endogenous production of tumor necrosis factor- α (TNF- α) was measured by the two-step stimulation method using vegetable juice as a priming substance and OK-432 as the triggering reagent. Each cabbage juice induced about 12-13 ng/ml of TNF- α , but there was no significant difference between the three experimental fertilizer applications. Then cabbage juice was assessed on the basis of the induction of quinone reductase (QR) that was one of detoxification phase-II enzymes in the liver on murine hepatoma cell line, Hepa1c1c7 cells. All sample of cabbage juice stimulated the induction of QR, but the juice from cabbage grown with the chemical supplemented with organic fertilizer and with the chemical-only fertilizer displayed similar activities.

(Received Jan. 21, 2000 ; Accepted Jun. 15, 2000)

近年植物性食品に由来する成分の生理活性や機能が注目されている。ある種の野菜の成分が免疫反応やガン細胞の分化を誘導し、ガンを予防することが報告されている^{1)~5)}。また、淡黄色野菜の摂取により白血球の機能が活性化され、ガンや感染症の予防に効果があると報告さ

れている⁶⁾⁷⁾。

一方、消費者の健康志向とともに、有機栽培の農産物が好まれる傾向にあるが、それを科学的に検討した報告は少ない⁸⁾⁹⁾。東京都農業試験場では、肥料施用条件と野菜の収穫量・味・市場性に及ぼす影響などの研究を進め

* 東京都立短期大学 (〒196-8540 東京都昭島市東町 3-6-33)

** 東京都農業試験場 (〒190-0013 東京都立川市富士見町 3-8-1)

*** 帝京大学薬学部 (〒199-0106 神奈川県津久井郡相模湖町寸沢嵐 1091)

ている。本実験では施肥条件を化学肥料区、化学+有機肥料(堆肥)区、窒素成分を除いた無窒素肥料区の3群に設定し、各実験区で栽培された野菜を試料として、その生理活性に及ぼす影響を検討した。

本研究では、まずキャベツとダイコンを試料として Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) の産生プライミング効果について検討した。TNF- α は、主に白血球により産生されるサイトカインの一種であり、生体防御に関わるサイトカインネットワークの上部に位置するものであり、生体機能に大きな影響を与える成分である。山崎らによって野菜や果物がその産生を誘導する BRM (Biological Response Modifiers) 的な働きをすることが報告されている⁷⁾。またブロッコリー、カリフラワー、沢ワサビなどのアブラナ科植物に由来する成分は肝解毒酵素の1つであるキノレンダクターゼ (QR) 誘導活性をもつことが報告されている³⁾¹⁰⁾。肝臓における生体異物代謝は、第1相の酸化・還元反応・加水分解などによる不活化、さらに第2相での様々な抱合反応により無毒化される。QRはこの第2相酵素であり、QR誘導作用は発癌抑制作用の指標の1つとして研究されている。また培養細胞を用いて各種生理活性物質の細胞毒性が調べられている。そこで本研究では異なる施肥条件で栽培されたキャベツ・ダイコンを試料として、TNF- α 産生プライミング効果および QR 誘導活性、培養細胞を用いた細胞増殖抑制活性について検討した。

実験方法

1. 実験試料

(1) 品種

供試野菜のキャベツおよびダイコンは、東京都農業試験場で栽培された。キャベツの品種は「YR 錦秋 152」(1997 年産)、「しずはま 2 号」(1998 年産)であり、前者は中玉種で輸送性・加工性に優れ、後者は甲高扁円球で鮮緑色、葉質は柔らかく生食に適した品種である。

ダイコンの品種は「都大根」(1997 年産)で先端が太く、加工性に優れ、煮物に適するという特色をもっている。

(2) 施肥および栽培条件

施肥条件は化学肥料区、化学+有機肥料区、無窒素肥料区の3種類である。各実験区には基肥として過リン酸石灰、硫酸カリウムを 10a あたりリン酸成分 (P_2O_5) として 17kg、カリ成分 (K_2O) として 13kg 施用した。化学肥料区はさらに硫酸アンモニウム (硫安) を基肥として 10a あたり窒素成分として 14kg、追肥として同成分

を 10kg 施用した。化学+有機肥料区は、定植の1ヶ月前に堆肥を 10a あたり 3000kg (水分 50% 換算) 施用し、他は化学肥料区と同条件とした。堆肥は IC パーク (牛フンと樹皮を混合して1年間堆積発酵させたもの) を用いた。なお無窒素肥料区は窒素成分を施用しなかった。キャベツの栽培区は、基肥を4月下旬から5月上旬の定植直前に、追肥を5月下旬に施用した。キャベツの栽植密度は 10a あたり 2800 株とし、収穫は7月上旬から中旬にかけて行った。ダイコン栽培区の施肥条件はキャベツと同様であり、9月上旬に基肥を施用した。ダイコンの栽植密度は 10a あたり 2800 株とし、10月上旬に追肥を行い12月上旬に収穫した。

(3) 収量調査法

各実験区あたり試料 30 株を無作為抽出し、キャベツについては結球重・外葉重・縦径・横径を測定した。ダイコンについては地下部 (根) 重・地上部 (葉) 重・根長・根周りを測定した。

2. 試料調製

(1) キャベツ

収量調査後直ちに各実験区ごとに試料調製を行った。試料は分割し、除芯後水道水、イオン交換水で洗浄し、水分を拭き取りジューサー (チタンジューサーカッター・松下電器) を用いて搾汁した。得られた搾汁液を 10000 rpm, 10 分間遠心分離し、上清をろ過後、1/10M 水酸化ナトリウムにて pH 7.2~7.4 に調整し、MILLEX-GP フィルター 0.45 μ m (Millipore 社) を用いてろ過滅菌を行った。試料液を使用時まで -80°C に凍結保存した。

(2) ダイコン

収量調査後各実験区ごとに試料を洗浄後分割し、除皮後ジューサーにて搾汁した。得られた搾汁液はキャベツと同様に試料処理を行った。

3. TNF- α 産生プライミング効果の測定法

(1) 実験動物

C3H/He 雄マウス (日本エスエルシー) を用いた。

飼育環境は温度 23 $\pm$ 1°C、湿度 55 $\pm$ 10%、明暗各 12 時間サイクルとし、飼料は市販固形飼料 (オリエンタル酵母・M 飼料)、飲料水は水道水を自由に摂取させた。一週間の予備飼育後、6 週齢で実験に供した。

(2) TNF- α の誘導と定量

生体内に TNF- α を誘導するためには、一次刺激 (Priming) と二次刺激 (Triggering) が必要であることが Carswell らにより報告されている¹¹⁾。実験は山崎らの方法に準じて行った⁷⁾。

つまり、一次刺激としてコントロール群には生理食塩水 (大塚製薬・大塚生食注), ポジティブコントロール群には Lipopoly saccharide (LPS: E. coli 0127: B8・DIFCO Laboratories), 試験群には生理食塩水で希釈した各試料をマウスの尾静脈内に投与した。投与容量は 0.2 ml/mouse とし, LPS はマウス 1 匹あたり 10 ng/生理食塩水を投与した。3 時間後に二次刺激として, 生理食塩水に混濁させた溶連菌製剤 OK-432 (中外製薬) を 1 匹あたり 2.2 KE/0.3 ml 尾静脈内に投与し (参考文献では 3 KE/0.4 ml であったが動物の投与後の状態を判断し減じた), 2 時間後に心臓採血を行った。血液は 37°C, 30 分間加温後, 7000 rpm, 15 分間遠心分離し血清を得た。血清は分析までの期間 -80°C に保存した。TNF- α 量は, Mouse Factor-Test-XTM TNF- α ELISA Kit (Genzyme 社) を用いて測定した。

4. キノンレダクターゼ (QR) 活性測定

(1) 細胞および培養方法

Hepa 1 c1 c7 は ATCC より入手した。Hepa 1 c1 c7 は, Bernhard により樹立されたマウス肝ガン細胞であり, C57L マウスに発現した Bw 7756 肝腫瘍細胞由来の Hepa 1 からクローン化された。本細胞は発ガン物質と結合する Ah レセプターをもち, チトクローム P450 を制御する性質があることから, QR 誘導作用をもっている。

培養は, GIBCO 社製 Minimum essential medium alpha medium (MEM- α) にコスモ・バイオ製 Fetal bovine serum (FBS) を 10% 添加し, 37°C, CO₂ 5% の条件下で行った。なお, FBS はチャーコール処理 (1% Charcoal-dextran: Sigma 社製, 56°C, 30 分間) したものをを用いた。

(2) 測定方法

QR 測定は Prochaska らの方法⁵⁾を一部改変し, 次のように行った。

細胞密度を 1×10^5 Cells/ml に調製し, 96 well マイクロプレート 2 枚に 1 well あたり 0.1 ml 播種した。37°C, CO₂ 5% のインキュベーター内で 24 時間培養後, Phosphate buffer solution (PBS) で希釈した試料を添加し, さらに 48 時間培養を行った。QR の測定は, 0.8% Digitonin/2 mM EDTA 溶液で細胞膜を溶解後, 反応液 (0.5 M Tris-HCl, BSA, 1.5% Tween 20, 10 mM FAD, 500 mM G-6-P, 50 mM NADP, G-6-P dehydrogenase, MTT, 50 mM Menadione, H₂O) を添加し, 37°C, 30 分間反応させ発色を確認した。次に反応停止液 (0.3 mM Dicumarol, 5 mM Potassium phosphate pH 7.4 を加

え, 595 nm で比色定量した。他の 1 枚のプレートは Crystal Violet 法により, 核染色をした後 595 nm で比色し, 生細胞数の測定を行い, 同条件下における添加試料による細胞増殖への影響を調べた。

5. 細胞増殖抑制活性の測定

(1) 細胞および培養方法

ヒト小腸由来正常細胞 Intestine 407 を用い, GIBCO 社製 Minimum essential medium (MEM) に FBS 10% を加え培養した。

(2) 測定方法

生細胞数の測定は MTT Assay により行った¹²⁾。つまり細胞の密度を 4×10^4 Cells/ml とし, 96 well マイクロプレートに 1 well あたり 0.1 ml 播種した。PBS で希釈された試料を添加し, 37°C, 5% CO₂ で 48 時間培養した。MTT 試薬 (同仁化学研究所) を加え, 4 時間培養した後生成した MTT formazan をイソプロパノール添加により溶解, さらに超音波処理後, 595 nm で比色定量した。

結果および考察

1. 生育状況

(1) キャベツ

生育状況を図 1, 2 に示した。キャベツの結球重は可食部であり, 外葉重は廃棄部分を示すものである。化学+有機肥料区で栽培された試料の結球重は化学肥料区に比べ, 約 20% 高く, 有機肥料を加えることにより収量が明らかに増加するという結果であった。また試料の容積を示す縦径, 横径においても有機肥料を加えた肥料区で大きくなっている。また外葉重についても化学+有機肥料区で約 10% 高くなっている。コントロールとして作られた無窒素肥料区の試料はさきわめて小さく商品にはなり得ないものであった。化学+有機肥料区の試料の収量が約 20% 高い理由としては堆肥のもつ土壌の化学性 (保肥力・緩衝能の安定化・肥料成分の増加) や物理性 (保水性・通気性・透水性) の改良効果が影響したためと推察される。

(2) ダイコン

ダイコンの生育状況を図 3 に示した。化学+有機肥料区の試料は, 地下部重が約 20%, 地上部重が約 10% 化学肥料区より高い結果であった。無窒素肥料区のダイコンの地下部重は, 化学肥料区に比べ約 55% であるが, 地上部重は約 24% と地上部重の方が施肥肥料の差により影響を受けることが示された。ダイコンの生育状況もキャベツと同様に有機肥料施用による収量増加が認めら

図 1 キャベツ (YR 錦秋 152) の生育状況

図 3 ダイコンの生育状況

図 2 キャベツ (しずはま 2 号) の生育状況

れた。

2. TNF- α 産生プライミング効果

(1) キャベツ試料

「YR 錦秋 152」の試料液を一次刺激としてマウスに投与し、その TNF- α 産生プライミング効果を図 4a に示した。試料液は生理食塩水で 2 倍希釈し投与された (キャベツ試料液の希釈率は、その後の検討により 4 倍に変更された)。血清中に誘導された TNF- α 量は血清 1 ml 当たりに換算し表わした。ポジティブコントロールである LPS では TNF- α 産生量が約 15 ng/ml であった。化学肥料区、化学+有機肥料区ともに約 13 ng/ml、無窒素肥料区では約 12 ng/ml であった。3 肥料区の試料による TNF- α 産生量に有意差は認められなかった。キャベツ試料は明らかに TNF- α 産生プライミング効果を示し、LPS 投与群に近い誘導活性であった。しかし山崎らの結果と比較するとやや低い値であった。その原因として本実験における投与試料の濃度が高かったことが考えられた。1998 年に栽培された実験区のキャベツ「しずはま 2 号」ではキャベツ試料液を 4 倍希釈して投与を行った。その結果を図 4 b に示した。各肥料区ともに

図 4 キャベツ試料液投与による TNF- α 産生プライミング効果
a; YR 錦秋 152 b; しずはま 2 号 *; $p < 0.001$ vs. 生理食塩水

TNF- α 産生量が約 20 ng/ml という値が得られたが、肥料区による有意差は認められなかった。これらの結果から TNF- α 産生を誘導する成分は肥料の違いによる影響を受けにくいものと考えられた。TNF- α 産生を誘導する成分として山崎らはフェルラ酸、MMSC (Methyl methionine sulfonium chloride) などの低分子成分および高分子の糖タンパク質成分をあげている¹³⁾。また著者らは、アブラナ科植物に広く分布するイソチオシアネート類も TNF- α 産生プライミング効果を有するという結果を得ている (未発表)。イソチオシアネート類・MMSC 等は微量成分であり、植物体においては防御的作用をもつと考えられているが、植物生理学的意味は明確ではない。しかし、このような活性成分は植物生理学的に優位に合成され、窒素源の種類、施用肥料の影響を受けにくいものと推察された。しかし個体あたりの TNF- α 産生プライミング効果は、化学+有機肥料区、化学肥料区、無窒素肥料区の順位で大きくなり、生産のフィールドレベルにおける活性成分収量は、高い結果となる。

(2) ダイコン

ダイコン試料液の TNF- α 産生プライミング効果を図 5 に示した。試料は 2 倍希釈投与である。各肥料区ともにキャベツに比べかなり低い結果であった。山崎らは、市販ダイコン試料液の 4 倍希釈液をマウスに投与し高い活性を示すことを報告している¹⁴⁾。これは、試料濃度の違い、ダイコン試料中の強い酵素活性、辛味成分などの成分の影響および測定法の違いによるものと考えられる。

3. QR 誘導活性

「YR 錦秋 152」(1997 年産)の結果を図 6a に、「しずはま 2 号」(1998 年産)の結果を図 6b に示した。両品種ともに試料の添加により高い QR 誘導活性が認められた。しかし添加量の増加に伴い、活性は一度高くなった後さらに添加量を増加させるとやや低下する傾向があり、とくに「YR 錦秋 152」の無窒素肥料区では 80 μ l/ml で活性が大きく減少し、他の肥料区との間に有意差 ($p < 0.01$) が認められた。この原因として、無窒素肥料区の試料における細胞毒性の強さが影響を与えていると考え

図 5 ダイコン試料液投与による TNF- α 産生プライミング効果* ; $p < 0.001$ vs. 生理食塩水

図 6 キャベツ試料液添加による QR 誘導活性

a ; YR 錦秋 152 b ; しずはま 2 号

—■— ; 化学肥料区

—●— ; 化学+有機肥料区 —▲— ; 無窒素肥料区

* ; $p < 0.01$ vs. 化学肥料区, 化学+有機肥料区

られた。QR 活性測定と同条件の高密度細胞条件下における試料の影響を測定した。その結果、細胞の増殖抑制は約 10% 以内であり、大きな変化は認められなかった。つまり QR 測定時の細胞は高密度状態にあり、試料の添加によって細胞死に到ってはいないが、試料量の増加に伴い QR 誘導系になんらかの傷害を与えているものと推察された。しかし化学肥料区、化学+有機肥料区間に有意差は認められなかった。活性を誘導する成分として、Talalay らの研究グループはブロッコリー中のスルホラファン (4-(methylsulfinyl) butyl-NCS) を同定し、

さらにこの成分がラットの乳ガンを抑制することを報告している⁴⁾¹⁵⁾。また著者らはワサビに存在するアリルイソチオシアネートである 6-メチルスルフィニルヘキシルイソチオシアネートが QR を誘導することを報告している¹⁰⁾。今回アブラナ科植物であるキャベツ試料に QR 誘導が認められたことからその活性成分はキャベツ中のアリルイソチオシアネート類によるものと考えられる。アリルイソチオシアネート類がキャベツ中に存在することは古くから知られている¹⁶⁾。しかしその含有量は施用肥料つまり化学肥料、化学+有機肥料の違いによる影響

を受けにくいものと考えられた。

4. 細胞増殖抑制活性

キャベツ「YR 錦秋 152」の試料液による細胞増殖抑制率を図 7 に示した。Intestine 407 は、ヒト小腸上皮細胞由来の培養細胞であり、薬剤感受性が高い細胞である。細胞増殖抑制活性の測定は、ヒト胃ガン細胞 (MKN-28) および Intestine 407 を用いて行われ、両細胞に対して強い増殖抑制作用を示したが、MKN-28 では試料による差がほとんど確認されなかった。本報告では、試料間に差がみられた Intestine 407 の結果を示した。試料は 5 倍希釈し実験に用いた。Intestine 407 細胞に対する細胞増殖抑制活性は試料濃度依存的に増加した。有意差は認められなかったが、無窒素肥料区で抑制率が高い結果となった。この無窒素肥料区の土壌は、明らかに低養分状態にある。ダイコンの栽培文献ではあるが、無肥料や減肥の条件ではイソチオシアネート含量が高くなると報告されている¹⁷⁾。また小濱らは、ダイコンの無肥料区の栽培ではビタミン C や辛味成分の含量が高くなり、糖分が低くなる傾向があると報告している¹⁸⁾。無窒素肥料区のキャベツ栽培においても辛味成分の含量が高くなり、細胞増殖抑制率が高くなったものと推察される。しかし、化学肥料区と化学+有機肥料区の試料では抑制率に差は認められなかった。またイソチオシアネート類は、含量が高くなると培養細胞に対して増殖を抑制する作用を有する成分である。

以上の結果からキャベツ試料液は、TNF- α 産生プラ

図 7 キャベツ (YR 錦秋 152) 試料液の Intestine 407 に対する細胞増殖抑制活性

—■— ; 化学肥料区 —●— ; 化学+有機肥料区
—▲— ; 無窒素肥料区

イミング効果および QR 誘導活性をもつことが明らかとなった。これらの活性は、調理条件を考慮した煮る (95℃, 15 分間)、焼く (200℃, 2 分間) の処理後の試料においても減少は認められなかった。つまりアブラナ科植物に含有されるイソチオシアネート類は調理等の加熱条件に対しても安定であることを確認している¹⁹⁾。これらの成分は、植物の防御作用とともに植物生理学的に重要な働きをもっていると考えられる。しかし、これら成分の合成は施用肥料 (化学、化学+有機) による影響を受けにくいと推察された。緒論で述べたように野菜、果実由来成分の生理活性が明らかになるに伴い、野菜の栽培条件である栽培産地・栽培時期・肥料形態などが生理活性に与える影響を検討する必要があるといえる。本実験では、野菜の栽培条件が、生産する側の視点に立って設定されている。都農業試験場では生産者に対して、土壌に関する基礎的データを基に有機肥料施用による土壌の改良を指導している。有機肥料栽培と嗜好、さらに野菜栽培の施肥条件と野菜の生理活性など、科学的検討に基づく基礎的データの蓄積が重要になるものと思われる。

要 約

化学肥料・化学+有機肥料・無窒素肥料の 3 つの施肥条件で栽培されたキャベツ、ダイコンの生育状況、および生理活性に及ぼす影響を検討した。生理活性として、TNF- α 産生プライミング効果、肝解毒酵素キノンレダクターゼ誘導活性および培養細胞への影響を検討した。

1) キャベツおよびダイコンの生育状況は、有機肥料 (堆肥) を加えることにより、収量が約 20% 増加し、施肥条件の差が明らかとなった。

2) TNF- α 産生プライミング効果はキャベツ試料液の投与により血清 1 ml あたり 12~13 ng (YR 錦秋 152) および 20 ng (しずはま 2 号) の TNF- α を誘導し、明らかなプライミング効果が認められた。ダイコン試料液ではキャベツ試料に比較し低い結果であった。肥料の違いによる有意差は認められなかった。

3) キャベツ試料液は、両品種ともに高い QR 誘導活性を示した。しかし肥料施用の違いによる差は認められなかった。

4) キャベツ試料液は Intestine 407 の細胞増殖を明らかに抑制した。とくに無窒素肥料区の試料で高い増殖抑制が認められた。

TNF- α 産生誘導実験にあたりご指導いただきました帝京大学薬学部山崎正利先生に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 大澤俊彦監修：がん予防食品の開発（シーエムシー）（1995）.
- 2) CONSTANTINO, A. and HUBERMAN, E. : *Exp. Biol. Med.*, **208**, 109 (1995).
- 3) ZHANG, Y., TALALAY, P., CHO, C-G. and POSNER, G. H. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 2399 (1992).
- 4) ZHANG, Y., KENSLER, T.W., CHO, C-G., POSNER, G. H. and TALALAY, P. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 3147 (1994).
- 5) PROCHASKA, H.J., SANTAMARIA, A.B. and TALALAY, P. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 2394 (1992).
- 6) 山崎正利：炎症, **10**, 163 (1990).
- 7) YAMAZAKI, M., UEDA, H., FUKUDA, K., OKAMOTO, M. and YUI, S. : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 149 (1992).
- 8) 吉田企世子・森 敏・長谷川和久・西沢直子・熊沢喜久雄：栄食誌, **37**, 123 (1984).
- 9) 吉田企世子・小宮直子・林 和男：土壤肥料学会, p. 146 北海道 (1999).
- 10) FUKU, Y., HAGA, Y., ONO, H., NOMURA, T. and RYOYAMA, K. : *Cytotechnology*, **25**, 197 (1997).
- 11) CARSWELL, E.A. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **72**, 3666 (1975).
- 12) CAMICHAEL, J., DEGRAFF, W.G., GAZDAR, A.F., MINNA, J.D. and MITCHELL, J.B. : *Cancer Res.*, **47**, 936 (1987).
- 13) 浜崎 誠・上田浩史・油井 聡・山崎正利：第51回日本癌学会総会記事, p. 311, 大阪 (1992).
- 14) YAMAZAKI, M., UEDA, H., FUKUDA, K., OKAMOTO, M. and YUI, S. : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 149 (1992).
- 15) ZHANG, Y., TALALAY, P., CHO, C-G. and POSNER, G. H. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 2399 (1992).
- 16) CLAPP, R.C., Long, L. J., Dateo, G. P., Bissett, F. H. and Hasselstrom, T. *Am. Chem. Soc.*, **81**, 6278 (1959).
- 17) 石井現相・西條了康：園学雑, **56**, 313 (1987).
- 18) 小濱節雄・石井現相：野菜試栽培部年報, **11**, 136 (1984).
- 19) FUKU, Y., NAGATA, I., WATANABE, Y., FURUKAWA, T., NANAYAMA, M. and MATSUOKA, H. : *Food Sci. Technol. Res.*, 投稿中.

(平成 12 年 1 月 21 日受付, 平成 12 年 6 月 15 日受理)