

水耕栽培キュウリの培養液から分離したフェノール物質が果実収量に及ぼす影響

浅尾俊樹・Md.H.R. Pramanik・富田浩平・大場友美子・太田勝巳・細木高志・松井佳久

島根大学生物資源科学部 690-1102 松江市上本庄町

Influences of Phenolics Isolated from the Nutrient Solution Nourishing Growing Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Plants on Fruit Yield

Toshiki Asao, Md.H.R.Pramanik, Kouhei Tomita, Yumiko Ohba, Katsumi Ohta, Takashi Hosoki and Yoshihisa Matsui

Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University, Kamihonjo, Matsue, Shimane 690-1102

Summary

Growth inhibiting substances of unknown origin found in the nutrient solution nourishing growing cucumber plants were isolated and identified. The growth inhibitors were absorbed on activated charcoal and extracted therefrom by an organic solvent. These extracts were partitioned into four fractions with different solvents.

1. The inhibiting activity for cucumber plants was detected in the acidic diethyl ether soluble fraction, but not in others.

2. The active substances in the above fraction analyzed by GC/MS method were identified as: benzoic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, 2, 4-dichlorobenzoic acid and phthalic acid.

3. The above substances were assayed for their activity on cucumber seedlings by adding various concentrations to the nutrient solution. 2, 4-dichlorobenzoic acid exhibited the strongest inhibitory activity; others were very weak.

4. 2, 4-dichlorobenzoic acid at $2 \mu\text{mol} \cdot \text{liter}^{-1}$ in nutrient solution had no effect on plant growth but it lowered fruit yield and shortened fruit harvesting period, compared with the control. Any inhibition was eliminated by adding activated charcoal to the nutrient solution.

5. Thus, 2, 4-dichlorobenzoic acid, the most effective inhibitor in the nutrient solution nourishing growing cucumber plants can be eliminated by adding activated charcoal.

Key Words: activated charcoal, autotoxicity, cucumber, fruit yield, hydroponics, 2, 4-dichlorobenzoic acid.

緒言

環境汚染減少の観点から閉鎖系養液栽培の研究が進められており (Van Os, 1995), 培養液を系外に排出することなく循環させる培養法が考案されている (Ruijs, 1994). その場合, 培養液中の無機養分の再調整と殺菌灯等による病原菌密度の低下が可能であるとされている (Benoit・Ceustermans, 1993). また, 培養液中に植物体からの溶出物質が, 植物の生長を抑制することも報告されている (Yu・Matsui, 1993a).

甲田ら (1977) は, ミツバの水耕栽培では培養液への活性炭添加により, 生育抑制が除去できたことから, 根からの溶出物質が生育低下の原因であると推定した. Yu・Matsui (1993b) は, トマトの水耕栽培では培養液中に抑制

物質が蓄積し, 植物体の生長と果実の収量が低下したが, この部分の抑制物質はフェノール物質を含んでいることを報告した. また, 浅尾ら (1998a) は, キュウリの水耕栽培では培養液を交換せずに栽培すると栽培後半の果実収量が減少したが, 培養液への活性炭添加により収量が向上したことから, 生長抑制物質が根から溶出する可能性を示唆した.

そこで, 本研究では, 前報 (浅尾ら, 1998a) のキュウリの水耕栽培において活性炭に吸着された生長抑制物質についての検索を行い, そこで検出された各フェノール物質がキュウリの生育および収量に及ぼす影響について検討した.

材料および方法

実験 1. 活性炭に吸着された生長抑制物質の検討
前報(浅尾ら, 1998a)の‘聖護院青長節成’の栽培実験では活性炭を2週間毎に交換したが, それらの中から収穫終了前の2週間分を検討試料とした. 活性炭 300 gは $0.4 \text{ mol} \cdot \text{liter}^{-1}$ NaOHとメタノール混液(1:1 v/v) 300 mlにより, 48時間室温(25°C)で振とう抽出した. 抽出液は $6 \text{ mol} \cdot \text{liter}^{-1}$ HClで中和後, ロータリーエバポレータ(40°C)で25 mlまで濃縮し, この濃縮液は第1図に示したように分別した(Yu・Matsui, 1993b). pH2でジエチルエーテル可溶性物質(以下, DE2とする)の生長抑制効果が最も大きかった. そこで本成分同定のためにガスクロマトグラフ・マススペクトル法(以下, GC/MSとする)(Schulz・Herrmann, 1980; Chapman・Horvat, 1989)によ

Activated charcoal from nutrient solution grown cucumber plant

Extracted with $0.4 \text{ mol} \cdot \text{liter}^{-1}$ NaOH solution and Methanol mixture (1 : 1v/v) for 48hrs at room temperature

Concentrated solution

Adjusted to pH 8 with 1N aqueous NaOH
Extracted three times each with 35 ml diethyl ethyl ether

Diethyl ether layer (DE8)

Aqueous layer

Extracted three times each with 35 ml ethyl acetate

Ethyl acetate layer (EA8)

Aqueous layer

Adjusted to pH 2 with 4N aqueous HCl

Extracted three times each with 35 ml diethyl ethyl ether

Diethyl ether layer (DE2)

Aqueous layer

Extracted three times each with 35 ml ethyl acetate

Ethyl acetate layer (EA2)

Aqueous layer

Fig. 1. The flow sheet of extraction and fractionation of adsorbed substances from activated charcoal added to the nutrient solution nourishing cucumber seedlings.

り検索した. なお, メチル化はジアゾメタン法によった. 供試分析機器は, ガスクロマトグラフ分析計(島津製作所, GC-14A)およびGC/MS分析計(日立製作所, M-80B)を使用した.

実験 2. フェノール物質がキュウリ幼苗の生育に及ぼす影響

供試品種は, ‘聖護院青長節成’である. 黒色ビニルマルチで根部のみを覆った420 ml容量のフラスコに培養液を400 ml入れ, 播種1週後のキュウリ苗をウレタンで支持し, 培養した. 蛍光灯付き培養装置で25°C, $74 \sim 81 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, 16時間日長で2週間生育後, 生育調査を行った. なお培養期間中は培養液への通気および培養液の補給と調整は行わなかった. 供試苗数は15株であり, 最大葉長, 最大葉幅および地上部の生体重量について調査した. なお, 培養液は圃試処方標準液に準じ $2.0 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$ とした(以下, 基準液とする).

培養液に実験1で検出されたフェノール物質 benzoic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, 2, 4-dichlorobenzoic acid および phthalic acidはそれぞれ0, 2, 10および $20 \mu\text{mol} \cdot \text{liter}^{-1}$ の添加区を設けた.

実験 3. 2, 4-dichlorobenzoic acidがキュウリの生育, 開花および収量に及ぼす影響

供試品種は, 実験2と同様である. 栽培は, 島根大学生物資源科学部附属生物資源教育研究センター内の約 100 m^2 のガラス温室で行った.

育苗法: 1998年2月20日にパーミキュライトを入れた1セル容量約45 mlの51穴セルトレイに播種した. 本葉出葉期に苗をウレタン(縦23 mm, 横23 mm, 高さ27 mm)4個で固定し, 容量約60 literのコンテナ(内寸, 縦50 cm, 横60 cm, 深さ21 cm)に移植した. 培養液は基準液を用い, 1週毎に全量を交換した. コンテナに培養液を50 liter入れ, エアーポンプ(空気送風量: $3.8 \text{ liter} \cdot \text{min}^{-1}$)で連続通気した. 育苗時の栽植本数は, 1コンテナ当たり18株とした.

栽培法: 定植は3月19日に本葉が2~3枚に達した時に行った. 培養液は育苗と同様であり, 栽植本数は, 1コンテナ当たり3株とした. 各処理区は9株である.

2, 4-dichlorobenzoic acidの影響: 定植時に2, 4-dichlorobenzoic acidを0, 0.2, 2, 10および $20 \mu\text{mol} \cdot \text{liter}^{-1}$ 添加し, さらにそれぞれの区に活性炭を添加する区を設けた. 活性炭の添加量は1コンテナ当たり300 gであり, 1週間毎に交換した. 主枝は15節, 第一次側枝および第二次側枝はそれぞれ1節を残して摘心した. 果実の収穫は開花10~18日後の, 果実長が約20 cmに達した時に行った. 調査項目は, 雄花および雌花の開花日, 開花雌花数, 収穫終了時期の株の生育, 果実収量および収穫果実数である.

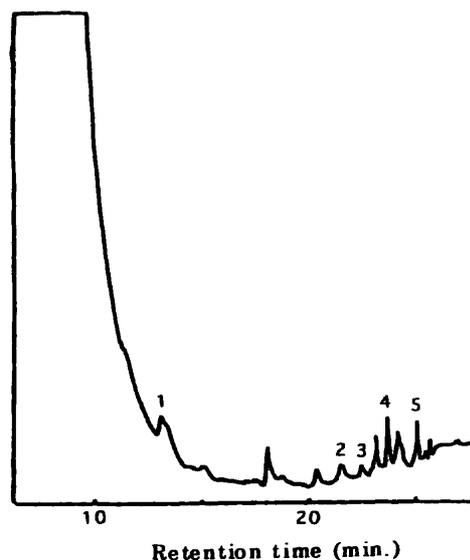


Fig. 2. Gas chromatographic tracing of the acidic diethyl ether soluble fraction.

Analytical condition: Column. GL Sci. TC-5 (60m), Initial temp. 100 °C for 2 min., Prog. rate 5 °C · min⁻¹, Final temp. 260 °C for 10 min., Injector and detector temp. 300 °C each, Helium gas pressure 0.8 kg · cm⁻².

Peak no. 1. Benzoic acid, 2. *p*-Hydroxybenzoic acid, 3. 2, 4-Dichlorobenzoic acid, 4. Phthalic acid and 5. 2, 6-Di-*t*-butyl-*p*-cresol.

結 果

実験 1. 活性炭に吸着された生長抑制物質の分析

DE2 を GC/MS 法によって検索したところ benzoic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, 2, 4-dichlorobenzoic acid, phthalic acid および 2, 6-di-*t*-butyl-*p*-cresol が検出された (第 2 図). なお, 2, 6-di-*t*-butyl-*p*-hydroxycresol は, 抽出に用いたジエチルエーテル中に抗酸化剤として含まれていたものであり, キュウリ根から溶出したものとは考えられない. なお, これらの物質は, 未使用の活性炭からは検出されず, 培養液に添加され回収された活性炭からのみ検出された.

実験 2. フェノール物質が幼苗の生育に及ぼす影響

実験 1 で検出された benzoic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, 2, 4-dichlorobenzoic acid および phthalic acid を培養液に添加してキュウリ幼苗に及ぼす影響を調査した. その結果, benzoic acid 添加区および *p*-hydroxybenzoic acid 添加区では最大葉長, 最大葉幅および地上部の生体重何れも対照区との間に有意差は認められなかった (第 1 表). 2, 4-dichlorobenzoic acid 添加区では, 最大葉長, 最大葉幅および地上部の生体重は, 濃度が高くなるにつれて有意に減少した. 20 μmol · liter⁻¹ 添加区ではそれぞれ対照区の 41 %, 36 % および 25 % であった. phthalic acid 添加区の最大葉長および最大葉幅は, 対照区との間

に有意差は認められなかったが, 地上部の生体重は 20 μmol · liter⁻¹ 添加区で減少した.

実験 3. 2, 4-dichlorobenzoic acid が生育, 開花および収量に及ぼす影響

実験 2 では, 2, 4-dichlorobenzoic acid が幼苗の生育抑制が最も高かったので, それを培養液に添加し, 幼苗の生長に及ぼす影響について検討した. 実験終了時点の主

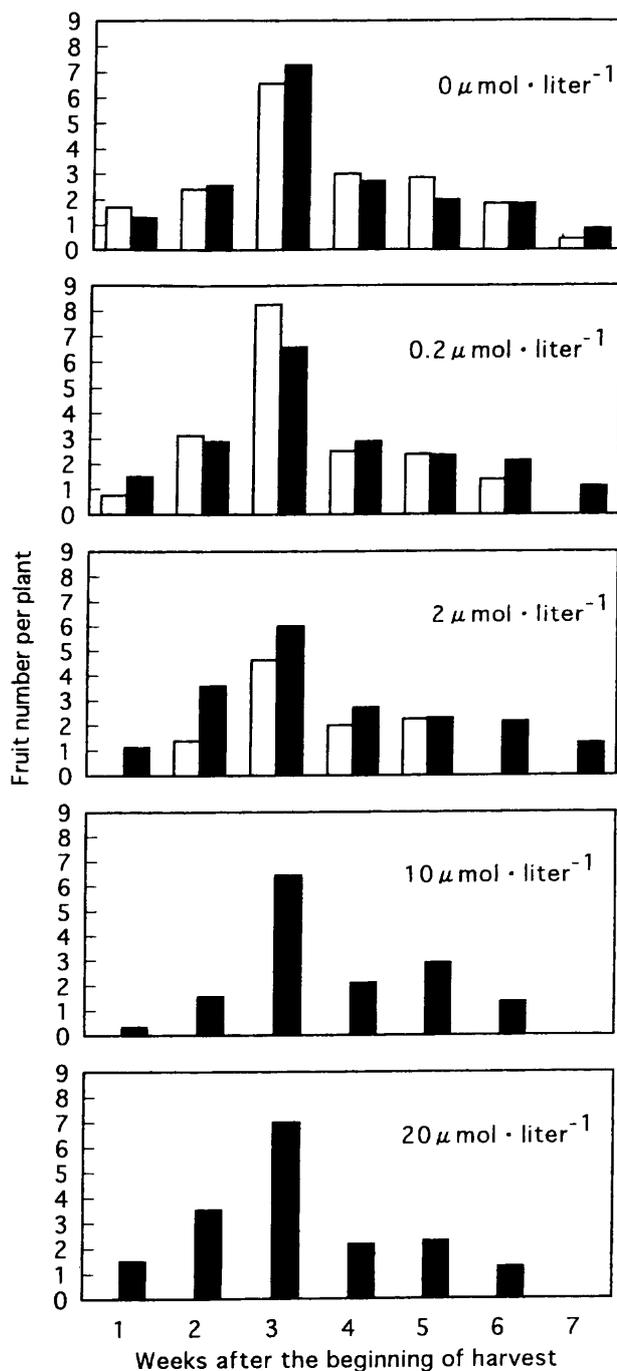


Fig. 3. Weekly yield of cucumber 'Shogoin-aonaga-fushinari' through the harvest period; non-charcoal (blank bar), charcoal added (solid bar). The plants in 10 and 20 μmol · liter⁻¹ 2, 4-dichlorobenzoic acid decayed before the beginning of the harvest.

Table 1. Effects of phenolic compounds on the growth of cucumber seedlings.

Phenolic compounds	Concentrations ($\mu\text{mol}\cdot\text{liter}^{-1}$)	Maximum leaf length (mm)	Maximum leaf width (mm)	Fresh wt of shoot (g)
None (control)	0 ^z	83	107	2.8
Benzoic acid	2	86	107	3.2
	10	86	106	3.2
	20	87	105	2.9
	Significance			
Linear		NS ^y	NS	NS
Quadratic		NS	NS	NS
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	2	83	104	2.9
	10	80	101	2.5
	20	80	108	3.0
	Significance			
Linear		NS	NS	NS
Quadratic		NS	NS	NS
2,4-Dichlorobenzoic acid	2	88	105	3.1
	10	58	75	1.7
	20	34	39	0.7
	Significance			
Linear		**	**	**
Quadratic		NS	NS	NS
Phthalic acid	2	81	104	3.1
	10	84	105	3.1
	20	79	100	2.5
	Significance			
Linear		NS	NS	*
Quadratic		NS	NS	**

^z Control of 4 phenolic compounds

^y Significant at 5% level (*), 1% level (**), and non-significant (NS) by regression analysis in each phenolic compound.

枝長および側枝長は添加濃度が高くなるにつれて有意に減少し、10および20 $\mu\text{mol}\cdot\text{liter}^{-1}$ 添加区ではすべての株が果実収穫前に枯死した(第2表)。活性炭添加区では、前述のような生長要因には有意差は認められなかった。活性炭無添加区の主枝、1葉重、側枝および根の乾物重は、2,4-dichlorobenzoic acid濃度が高くなるにつれて減少する傾向がみられたが、この傾向は活性炭の添加により除去できた。

雄花および雌花の開花開始日、開花雌花数は2,4-dichlorobenzoic acid濃度(0, 0.2, 2, 10および20 $\mu\text{mol}\cdot\text{liter}^{-1}$)の差異および活性炭添加の有無に関係なく有意差が認められなかった(第3表)。収穫開始日は0および0.2 $\mu\text{mol}\cdot\text{liter}^{-1}$ 区と比べ、2 $\mu\text{mol}\cdot\text{liter}^{-1}$ 添加区でやや遅れたが、そのことは活性炭の添加により除去できた。また、株当たりの収穫果実数および収量は2 $\mu\text{mol}\cdot\text{liter}^{-1}$ 添加区で有意に減少したが、それは活性炭添加により除去できた。

さらに、1週間毎の収穫果実数は、0 $\mu\text{mol}\cdot\text{liter}^{-1}$ 添加区と比べ0.2および2 $\mu\text{mol}\cdot\text{liter}^{-1}$ 添加区で収穫期間が1および2週間短くなったが、活性炭の添加により、対

照区と同様に第7週間まで収穫できた(第3図)。また、10および20 $\mu\text{mol}\cdot\text{liter}^{-1}$ 添加区の活性炭無添加区の株は枯死したが、培養開始期に活性炭の添加すると株が枯死することなく第6週まで果実が収穫できた。

考 察

甲田ら(1980)は、ミツバの水耕栽培において、培養前の培養液と比べると、培養残液には有機酸含量が高いことに注目し、根から溶出されるプロピオン酸等が生育低下の原因物質であると考えた。また、Young(1984)はアスパラガスの根からの分泌物がアスパラガスの幼苗の生育を阻害することを明らかにし、この阻害物質はフェノール物質であることを報告した。さらに、Yu・Matsui(1993b)は、トマトの水耕栽培の培養液を濃縮し、本研究と同様な方法で分別後、各区分のトマト苗の生長に及ぼす影響について調査した。その結果、酸性ジエチルエーテル区分(DE2)に生育抑制作用がみられ、それから数種のフェノール物質を検出した。本研究では、前報(浅尾ら, 1998a)のキュウリの水耕栽培で用いた活性炭から抽

Table 2. Effects of 2, 4-dichlorobenzoic acid on the growth of cucumber 'Shogoin-aonaga-fushinari'.

Concentration ($\mu\text{mol} \cdot \text{liter}^{-1}$)	Charcoal	Plant length (cm)	Length of primary lateral branch (cm)	Dry weight (g)			
				Main stem	Leaf weight of main stem per leaf	Primary lateral branch per plant ²	Root
0	Control	210.1	41.0	18.7	8.9	72.2	136.3
	Added	196.9	41.1	17.8	8.1	80.3	136.1
		NS ^y	NS	NS	NS	NS	NS
0.2	Control	197.5	44.0	15.3	7.0	63.8	116.2
	Added	205.3	39.5	17.5	8.1	64.7	122.0
		NS	NS	*	NS	NS	NS
2	Control	183.9	34.0	14.7	6.9	65.2	102.1
	Added	194.3	38.5	17.6	7.9	64.7	125.6
		NS	NS	NS	NS	NS	NS
10	Control	— ^x	—	—	—	—	—
	Added	197.4	40.5	18.9	8.0	80.8	126.4
20	Control	—	—	—	—	—	—
	Added	198.3	44.1	18.0	8.9	81.4	121.6
Significance							
Non-charcoal							
Linear		** ^w	**	NS	NS	NS	NS
Quadratic		NS	NS	NS	*	NS	NS
Charcoal							
Linear		NS	NS	NS	NS	NS	NS
Quadratic		NS	NS	NS	NS	NS	NS

² Stem and leaf.^y Significant at 5% level (*) and non-significant (NS) between absence and presence of activated charcoal by T-test.^x Not-investigated because the plants decayed.^w Significant at 5% level (*), 1% level (**), and non-significant (NS) by regression analysis in the concentrations.

出した DE2 を GC/MS 法で検索したところ、4 種のフェノール物質 (benzoic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, 2, 4-dichlorobenzoic acid および phthalic acid) が検出された。前報で培養液非交換のキュウリの水耕栽培で培養液への活性炭添加により栽培後半の果実収量低下が除去できることから、これらのフェノール物質が生育抑制物質である可能性が考えられた。なおトマトでは, benzoic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, phthalic acid などのフェノール物質が検出されている (Yu・Matsui, 1993b) が, 2, 4-dichlorobenzoic acid はキュウリでのみ検出された。

浅尾ら (1998b) は, 培養残液に含まれるキュウリ根から溶出した生育抑制物質の検定にはキュウリ幼苗が有効であると報告した。そこで, 本研究では, 検出された 4 種のフェノール物質のうち, キュウリの水耕栽培における生育抑制物質を見出すためにキュウリ幼苗を用いて生育に及ぼす影響について検討した (実験 2)。その結果, 2, 4-dichlorobenzoic acid を 10 および 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{liter}^{-1}$ 添加区ではキュウリ幼苗の生育を有意に抑制したことから, 4 種のフェノール物質のうち本物質がキュウリの生育を抑制する主な原因物質であると考えた。

そこで, 水耕キュウリの培養液に 2, 4-dichlorobenzoic acid を添加し, 生育および収量に及ぼす影響について検

討した (実験 3)。培養液に 2 $\mu\text{mol} \cdot \text{liter}^{-1}$ 添加区では, 栄養生長 (乾物重) にはほとんど影響を与えなかったが, 果実の収量低下と収穫期間の短縮がみられた。このことは, 雌花開花後, 子房が肥大せずに黄化する果実が増加し, 特に収穫期後半に多かったことによると考えられる。これらの結果は, 浅尾ら (1998a) が培養液の非交換栽培した場合にみられた結果と類似していた。また 2, 4-dichlorobenzoic acid 10 および 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{liter}^{-1}$ のような高濃度添加区では株が果実の収穫前に枯死したことから, 2, 4-dichlorobenzoic acid の 10~20 $\mu\text{mol} \cdot \text{liter}^{-1}$ 添加区では果実の収穫前に株が枯死するが, 実際栽培では株が枯死することはないので, 培養中での根からの 2, 4-dichlorobenzoic acid の溶出濃度は 10~20 $\mu\text{mol} \cdot \text{liter}^{-1}$ のような高濃度になることはないものと考えられる。また, 前述のような高濃度 2, 4-dichlorobenzoic acid の添加区でも活性炭の添加によりキュウリの生育抑制は除去されたが, このことは 2, 4-dichlorobenzoic acid が活性炭によって吸着された結果, 培養液中の溶存濃度が低下したことによるものと考えられる。なお, Yu・Matsui (1993b) はトマト幼苗を用いて, いくつかのフェノール物質の栄養生長に対する抑制効果について調査しているが, 果実収量については検討していない。

Table 3. Effects of 2, 4-dichlorobenzoic acid on the flowering and yield of cucumber 'Shogoin-aonaga-fushinari'.

Concentration ($\mu\text{mol} \cdot \text{liter}^{-1}$)	Charcoal	Date of anthesis (month/day)		No. of flowering female flower per plant	Beginning dates of harvest (month/day)	Harvested fruit number per plant	Total yield per plant (g)
		male flower	female flower				
0	Control	4/6	4/6	29.7	4/23	18.9	2812
	Added	4/5	4/6	29.4	4/23	18.6	2591
		NS ^z	NS	NS	NS	NS	NS
0.2	Control	4/5	4/7	31.8	4/24	18.4	2459
	Added	4/5	4/6	31.9	4/23	19.4	2795
		NS	NS	NS	NS	NS	NS
2	Control	4/5	4/7	44.1	4/29	10.3	1298
	Added	4/6	4/5	38.1	4/24	19.1	2934
		NS	NS	NS	**	**	**
10	Control	— ^y	—	—	—	—	—
	Added	4/5	4/6	38.8	4/28	14.7	2214
20	Control	—	—	—	—	—	—
	Added	4/5	4/6	18.3	4/23	17.6	2453
Significance							
Non-charcoal							
Linear		NS ^x	NS	NS	**	**	**
Quadratic		NS	NS	NS	NS	NS	NS
Charcoal							
Linear		NS	NS	NS	NS	NS	NS
Quadratic		NS	NS	*	**	NS	NS

^z Significant at 5% level (*) and non-significant (NS) between absence and presence of activated charcoal by T-test.

^y Not investigated because the plants decayed.

^x Significant at 5% level (*), 1% level (**) and non-significant (NS) by regression analysis in the concentrations.

以上の結果より、2, 4-dichlorobenzoic acidが水耕キュウリの果実収量低下(とくに収穫後期)の原因物質の1つである可能性が示された。また果実の収量低下は活性炭処理により除去できたことから、本物質は活性炭に吸着され、培養液中の溶存濃度が低下し、果実収量への影響が除去されたものと考えられる。

摘 要

水耕キュウリの培養液から単離された生長抑制物質について検討を行った。培養液に活性炭を加え、生長抑制物質を吸着させ、活性炭から抑制物質を有機溶媒により溶出し、4分画に分別した。

1. キュウリに対する生長抑制は酸性のジエチルエーテル可溶性分画にみられたが、他の分画ではみられなかった。

2. 上記の活性分画のGC/MS法により検索したところ、benzoic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, 2, 4-dichlorobenzoic acidおよびphthalic acidが同定された。

3. 前述の種類物質を各種濃度で培養液に添加し、キュウリ幼苗に対する生長抑制活性を調査した。その結果、2, 4-dichlorobenzoic acidが生長を最も抑制したが、他の物質の生長抑制活性は極めて弱かった。

4. 培養液に2, 4-dichlorobenzoic acidを2 $\mu\text{mol} \cdot$

liter⁻¹添加すると、栄養生長には影響はみられなかったが、果実収量は低下し、果実の収穫期間も短くなる影響がみられた。この影響は培養液への活性炭添加により除去された。

5. 以上の結果から、2, 4-dichlorobenzoic acidは水耕栽培キュウリにおいて生長抑制効果があり、本成分は活性炭に吸着除去できることが明らかにされた。

引用文献

- 浅尾俊樹・梅山元正・太田勝巳・細木高志・伊藤憲弘・植田尚文. 1998a. 水耕キュウリの培養液非交換による収量の減少と活性炭添加による回復. 園学雑. 67: 99-105.
- 浅尾俊樹・大谷紀之・清水法子・梅山元正・太田勝巳・細木高志. 1998 b. キュウリ幼苗のバイオアッセイによる閉鎖系養液栽培に適した品種選定の可能性. 植物工場学会誌. 10: 92-95.
- Benoit, F. and N. Ceustermans. 1993. Low pressure UV disinfection also effective for NFT-lettuce. P.9. Technical Communications European R&D Center, B-2860 Sint-Katelijne-Waver, Belgium.
- Chapman, G. W. Jr. and R. J. Horvat. 1989. Determination of nonvolatile acids and sugars from fruits and sweet potato extracts by capillary GLC and GLC/MS. J. Agric.

- Food Chem. 37: 947-950.
- 甲田暢男・荻原佐太郎・広保 正. 1977. ミツバの水耕液に対する活性炭の添加効果. 園学要旨. 昭52春: 270-271.
- 甲田暢男・宇田川雄二・荻原佐太郎・広保 正. 1980. ミツバの水耕液に対する活性炭の添加効果(第2報)有機酸の影響と除去効果. 園学要旨. 昭55秋: 224-225.
- Ruijs, M. N. A. 1994. Economic evaluation of closed production system in glasshouse horticulture. Acta Hort. 340: 87-94.
- Schulz, J. M. and K. Herrmann. 1980. Analysis of hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids in plant material. 2. Determination by gas-chromatography. J. Chromatog. 195: 95-104.
- Van Os, E. A. 1995. Engineering and environmental aspects of soilless growing systems. Acta Hort. 396: 25-32.
- Young, C. C. 1984. Autointoxication in root exudates of *Asparagus officinalis* L. Plant and Soil 32: 247-253.
- Yu, J. Q. and Y. Matsui. 1993a. Effects of the Addition of activated charcoal to the nutrient solution on the growth of tomato grown in the hydroponic culture. Soil. Sci. Plant Nutr. 39: 13-22.
- Yu, J. Q. and Y. Matsui. 1993b. Extraction and identification of the phytotoxic substances accumulated in the nutrient solution for the hydroponic culture of tomato. Soil. Sci. Plant Nutr. 39: 691-700.