



## فصلنامه علمی - پژوهشی گیاه و زیست بوم

سال ۷ ، شماره ۲۹-۱ ، زمستان ۱۳۹۰

# اثر دگرآسیبی کلزا در حضور آسکوربات اگزوژن بر پارامترهای رشد و دستگاه فتوسنتزی گیاه سویا

مریم نیاکان<sup>\*</sup> ، عاطفه ملکیان<sup>۱</sup> ، عباسعلی نوری نیا<sup>۲</sup>

### چکیده

یکی از تنش‌های زیستی که گیاهان دائماً تحت تاثیر آن قرار می‌گیرند، آلوپاتی یا دگرآسیبی می‌باشد. آلوکمیکال‌ها فرایندهایی نظیر فتوسنتز، تنفس، جذب آب و فعالیت آنزیم‌ها رشد و نمو گیاهان هدف را تحت تاثیر قرار می‌دهند. گیاه کلزا یک گیاه زراعی و استراتژیکی است که دارای توان آلوپاتی نیز می‌باشد. آسکوربات یکی از ترکیبات آنتی اکسیدانی بوده که سبب بهبود پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی می‌گردد. با توجه به مطالب فوق هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر آسکوربات اگزوژن بر پارامترهای رشد و نیز دستگاه فتوسنتزی سویا در حضور آلوکمیکال‌های موجود در عصاره آبی کلزا بود. بدین منظور عصاره‌های آبی از ریشه و اندام هوایی کلزا (*Brassica napus L.cv Hayola ۴۲۰*) در مرحله سه برگی تهیه و از آنها غلظت‌های ۱۰۰٪ و ۵۰٪ آماده شد. اثر هر یک از عصاره‌ها به تنهایی و نیز به همراه آسکوربات (۱۰ میلی مول) در قالب ۹ تیمار بر اساس طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار در محیط کشت هوگلندر بر گیاه سویا (*Glycine max L.cv DPX*) ارزیابی شد. نتایج نشان داد که عصاره آبی کلزا سبب کاهش پارامترهای رشد نظیر طول ریشه، هیپوکوتیل و اندام هوایی سویا گشت که اثرات بازدارندگی در عصاره حاصل از اندام هوایی کلزا بیش از ریشه بود. از سوی دیگر چنین اثر بازدارندگی بر میزان کلروفیل a و b و نیز قندهای محلول بخش ریشه، برگ نیز مشاهده شد. افزودن آسکوربات به محیط کشت حاوی عصاره‌های آبی کلزا سبب بهبود پارامترهای رشد، قندهای محلول و کلروفیل a گیاه سویا در پاسخ به عصاره آبی کلزا گشت.

کلمه‌های کلیدی: آلوپاتی، آسکوربات، کلزا، سویا، رشد، کلروفیل، قندهای محلول

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گروه زیست شناسی، گرگان، ایران.

۲- مرکز تحقیقات کشاورزی گرگان، گرگان، ایران.

\* مسئول مکاتبه (mnniakan@yahoo.com)

تاریخ دریافت: تابستان ۸۹

تاریخ پذیرش: زمستان ۸۹

## مقدمه

افزایش ترکیباتی می‌شوند که از لحاظ بیولوژیکی فعال بوده و دارای اثرات آللوپاتی می‌باشند (Bones & Rossiter, 1996). در اثر تجزیه گلوكوزینولات‌ها، نیتریل، ایزوتیوسیانات، تیوسیونات، اپی‌تیونیتیریل، اکسازولیدین‌تیون به وجود می‌آیند. گلوكوزینولات‌ها و محصولات حاصل از هیدرولیز آن به عنوان آللوکمیکال عمل کرده و از این طریق می‌توانند بر روی فرآیند رشد و نمو دیگر گیاهان اثر بگذارند (Win & Jongen, 1996).

آنژیم میروزیناز تیوگلوكوزیدازهایی هستندکه در هیدرولیز گلوكوزینولات‌های محلول در آب دخالت می‌کنند. آنژیم میروزیناز در سلول‌های خاصی به نام میروزین قرار دارد. محصولات حاصل از هیدرولیز گلوكوزینولات‌ها نقش مهمی در سیستم دفاعی کلزا در برابر میکرووارگانیسم‌ها و حشرات ایفاکرده و یا برای مراحلی از رشد و نمو گیاه ضروری می‌باشند (Halkier&Gershenson,2006., Wallsgrave Bellotas et al. 2006., 1999 et al.

ارسوی دیگر تحقیقات نشان داده است که گیاهان زراعی نظری سویا به ترکیبات آللوکمیکالی موجود در بقایای کلزا بسیار حساس بوده و در حضور این ترکیبات جوانه زنی، رشد و فرایندهای متابولیسم سویا تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Ahmedy, ۱۳۸۶).

آسکوربات یک آنتی اکسیدان محلول در آب است که سبب بهبود پاسخ گیاهان به استرس‌های غیر زیستی نظری شوری و خشکی می‌گردد. آسکوربات در همه بافت‌های گیاهی و به ویژه در سلول‌های مریستمی، کلروپلاست و میوه‌ها وجود دارد (Foyer & Noctor, 2005). آسکوربات بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی نظری رشد و نمو، فتوسنترز، تقسیم سلولی، جنین‌زایی، سنتز برخی هورمون‌ها و سیستم دفاعی گیاهان را تحت الشاعع قرار می‌دهد. همچنین آنتی اکسیدان‌های موجود در

برخی از گیاهان رشد و نمو گیاهان مجاور را از طریق ترشح ترکیبات شیمیایی موسوم به آللوکمیکال تحت تاثیر قرار می‌دهند. این ترکیبات ممکن است از طریق ریشه یا برگ‌های زنده و یا از بقایای در حال تجزیه گیاه حاصل شوند. به طور کلی آللوکمیکال‌ها متابولیت‌های ثانویه‌ای می‌باشند که ترپنوتیک‌ها، ترکیبات فنلی، زنجیره‌های طویل اسید چرب، آکالولئیدها... را شامل می‌شوند (Weston & Duke, 2003).

آللوکمیکال‌ها با تاثیر بر روی فرایندهایی نظیر رشد طولی سلول، جوانه‌زنی دانه‌ها، فتوسنترز، تنفس، روابط آبی گیاه، نفوذ پذیری غشا، فعالیت آنزیمی، تثبیت نیتروژن، سنتز رنگیزه‌ها، جذب آب و مواد غذایی و به طور کلی در رشد و متابولیسم گیاهان هدف تغییراتی ایجاد می‌کنند (Gniazdowska & Bogatek, 2005).

آللوکمیکال‌ها اثر دوگانه‌ای بر رشد گیاهان دارند به طوری که ممکن است در غلطی مشخص مانع رشد برخی گونه‌ها گشته و یا موجب تحریک همان گونه در غلطی دیگر و یا تحریک سایر گونه‌ها در همان غلطی گردند (Sharma et al., 2000).

کلزا گیاهی متعلق به خانواده Brassica می‌باشد. اعضاء براسیکاسه دارای توان آللوپاتیکی بوده و سبب کاهش رشد گیاهان زراعی می‌گردد (Turk et al., 2005). علت این بازدارندگی به ترکیباتی تحت عنوان گلوكوزینولات نسبت داده شده است. در گیاهان این خانواده گلوكوزینولات‌ها به علت محصور بودن در واکوئل و دور بودن از آنژیم میروزیناز موجود در دیواره سلولی فعالیت چندانی نداشته و تنها پس از تخریب سلولی است که این آنزیم آزاد شده و با هیدرولیز گلوكوزینولات‌ها سبب تولید و

### تهیه محلول غذایی هوگلند

جهت تهیه محلول غذایی هوگلند از عناصر ماکرو و میکروی زیر استفاده شد: نیترات پتاسیم، نیترات کلسیم، سولفات منیزیم، فسفات دی هیدروژن پتاسیم، سولفات آهن، اسید مولیبدیک، اسید بوریک، کلرور منگنز، EDTA، سولفات روی، سولفات مس

### کاشت بذر در محیط هیدروپونیک

در ابتدا دانه های سویا (*Glycine max L.cv DPX*) با آب ژاول ۲٪ به مدت ۲ دقیقه ضد عفونی گشتند و تحت شرایط استریل داخل پلیت ها قرار داده شدند. سپس پلیت ها در داخل ژرمیناتور در دمای  $24 \pm 1$  درجه سانتی گراد نهاده شد. آبیاری بذرها روزانه با آب مقطر صورت گرفت. پس از گذشت ۴ روز دانه رستها به محیط کشت هیدروپونیک منتقل گشتند. در این مرحله با توجه نتایج حاصل از پیش آزمایش تیمارهای زیر انتخاب شدند:

- شاهد (محیط کشت هوگلند)

- عصاره با غلظت ۵٪ (اندام هوایی و یا ریشه کلزا) + محیط کشت هوگلند

- (نسبت حجمی  $\frac{v}{v} = 70:130$ )

- عصاره با غلظت ۱۰٪ (اندام هوایی و یا ریشه کلزا) + محیط کشت هوگلند

- (نسبت حجمی  $\frac{v}{v} = 70:130$ )

- محیط کشت هوگلند حاوی آسکوربات ۱ mM

- محیط کشت هوگلند حاوی آسکوربات ۲ mM

- محیط کشت هوگلند حاوی آسکوربات  $+1\text{ mM}$

محیط کشت نیم هوگلند حاوی عصاره با غلظت

۵٪ (اندام هوایی و یا ریشه کلزا)

غشاء را حمایت کرده و در نتیجه به عنوان محافظت کننده سلولی تلقی می شود. آسکوربات با جاروب کردن گونه های فعال اکسیژن از کلروپلاست در برابر آسیب های اکسیداتیو محافظت می کند (Christine et al., 2000). تحقیقات نشان داده است که آسکوربات با جاروب کردن گونه های فعال اکسیژن تولید شده توسط تنש های خشکی و شوری، اثرات مضر و کاهنده این تنش ها را بر جوانه زنی و رشد دانه رست ها کاهش می دهد (Christine et al. 2000.. Shalata & Neumann, 2001

با توجه به اینکه تحقیقات اندکی در رابطه با اثر آسکوربات اگزوژن بر چگونگی پاسخ گیاهان به تنش های زیستی موجود می باشد لذا هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی اثر آللوپاتی عصاره اندام هوایی و ریشه کلزا در حضور آسکوربات اگزوژن بر پارامترهای رشد و نیز دستگاه فتوسنتری گیاه سویا در محیط کشت هیدروپونیک می باشد.

### مواد و روش ها

#### تهیه عصاره آبی کلزا

بوته های گیاه کلزا (*Brassica napus L.cv Hayola420*) در مرحله سه برگی در تاریخ ۸/۲۳/۸۷ از ایستگاه مرکز تحقیقات کشاورزی استان گلستان واقع در شهرستان گرگان جمع آوری و در سایه و هوای آزاد خشک گردید. ۵ گرم از پودر خشک ریشه و اندام هوایی کلزا به طور جداگانه با ۱۵۰ میلی لیتر آب مقطر استریل مخلوط و به مدت ۱۲ ساعت بر روی دستگاه شیکر قرار داده شد و سپس از پارچه تنزیپ ۴ لایه و نیز از کاغذ صافی نایلونی میکروپور ۰/۰۲ میکرونی عبور داده و از آنها عصاره های ۵٪ و ۱۰٪ آماده گردید Narwal & (Tauro, 1996).

میلی لیتر فنل ۵٪ و ۵ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ افزوده و جذب در طول موج nm ۴۸۵ در مقابل شاهد خوانده شد. سپس با استفاده از گلوکز منحنی استاندارد ترسیم و مقدار قندهای محلول بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید.

### سنجد رنگیزه‌های فتوسنتزی

جهت سنجش میزان کلروفیل a و b از روش (Bruinsma, 1963) استفاده شد. در این روش پس از توزین، برگ‌ها در استون ۸۰٪ همگن گشته و جذب عصاره حاوی رنگیزه‌ها در طول موجهای ۶۴۵ و ۶۶۳ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. جهت تعیین محتوای رنگیزه‌ها کلروفیلی با استفاده از روابط زیر مقدار آنها بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

$$Chla=0/0127A_{663}-0/00269A_{645}$$

$$Chlb=0/0229A_{645}-0/00468A_{663}$$

$$Chl\ total=0/0202A_{645}+0/.00802A_{663}$$

### محاسبات آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق واریانس دو عاملی (ANOVA) و نرم افزار SPSS بر اساس طرح کاملاً تصادفی و با احتساب سه تکرار برای هر تیمار انجام گرفت. برای مقایسه بین تیمار و شاهد از آزمون دانکن در سطح ۵٪ استفاده گردید.

### نتایج

#### اثر عصاره ریشه کلزا و آسکوربات بر پارامترهای رشد سویا

بیشترین مقدار طول ریشه سویا در محیط کشت هوگلنند (شاهد) دیده شد و با افزودن عصاره آبی ریشه کلزا به محیط کشت هم در حضور آسکوربات و

- محیط کشت هوگلنند حاوی آسکوربات +۱ mM

- محیط کشت هوگلنند حاوی عصاره با غلظت ۱۰٪ (اندام هوایی و یا ریشه کلزا)

- محیط کشت هوگلنند حاوی آسکوربات +۲ mM

- محیط کشت هوگلنند حاوی عصاره با غلظت ۵٪ (اندام هوایی و یا ریشه کلزا)

- محیط کشت هوگلنند حاوی آسکوربات +۲ mM

- محیط کشت هوگلنند حاوی عصاره با غلظت ۱۰٪ (اندام هوایی و یا ریشه کلزا)

سپس ۱۰ عدد دانه‌رسن سویا در ظروف پلاستیکی حاوی تیمارهای فوق به طور جداگانه قرار داده شد پس از گذشت ۱۵ روز اقدام به جمع آوری گیاهان جهت بررسی پارامترهای رشد و سنجش‌های بیوشیمیایی گردید.

### اندازه‌گیری پارامترهای رشد

برای تعیین طول ریشه، هیپوکوتیل و کل اندام هوایی سویا از خط کش بر حسب سانتی‌متر شد. جهت تعیین وزن خشک، ریشه و اندام هوایی سویا به طور جداگانه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در آون قرار گرفت و سپس با استفاده از ترازوی دیجیتالی بر حسب گرم میزان وزن خشک تعیین گردید.

### سنجد قندهای محلول

برای سنجش میزان قند محلول از روش (Kochert, 1978) استفاده شد. برای این منظور ریشه و برگ گیاه سویایی تحت تیمارهای مختلف در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت داخل آون خشک گردید. سپس الكل اتانول ۷۰٪ به هر یک از نمونه‌ها اضافه و در یخچال به مدت یک هفته نگهداری شد. سپس به ۱ میلی لیتران، ۱

همچنین نتایج موجود در (جدول ۱) نشان داد که با افزایش غلظت عصاره ریشه کلزا وزن خشک ریشه و اندام هوایی سویا نسبت به شاهد کاهش معنی داری یافت و افزودن آسکوربات به محیط کشت نیز نتوانست به طور معنی داری از شدت این بازدارندگی بکاهد.

هم در فقدان آن طول ریشه سویا کاهش معنی داری یافت. از سوی دیگر بیشترین طول هیپوکوتیل سویا در تیمارهای مربوط به عصاره های ۵۰ و ۱۰۰ درصد کلزا به همراه آسکوربات مشاهده گشت و تنها با اضافه کردن عصاره آبی ریشه کلزا با غلظت ۱۰۰ درصد به محیط کشت از طول هیپوکوتیل سویا به طور معنی داری کاسته شد. نتایج حاصل از این بخش از تحقیقات حاضر نشان داد که در حضور آسکوربات اثرات بازدارندگی حاصل از عصاره ریشه کلزا با غلظت ۱۰۰ درصد بر رشد طولی هیپوکوتیل سویا به طور معنی داری کاهش یافت. مشابه این اثر نیز در مورد طول اندام هوایی دیده شد و آسکوربات توانست شدت بازدارندگی عصاره آبی ریشه کلزا (غلظت ۱۰۰ درصد) بر رشد اندام هوایی سویا را به طور معنی داری کاهش دهد (جدول ۱).

**جدول ۱- اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی ریشه کلزا (۰/۱۰۰٪ و ۰/۵۰٪) و آسکوربات (۱ و ۲ mm) بر طول ریشه، هیپوکوتیل، طول و وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه سویا**

تیمار	طول ریشه	طول هیپوکوتیل	طول اندام هوایی	وزن خشک ریشه	وزن خشک اندام هوایی	نام
محیط کشت هوگلن (شاهد)	۱۶/۴ a	۲/۲۶ bc	۲۲/۲۶ ac	۰/۰۷۶ a	۰/۲۶۳ a	
عصاره ۰/۵۰٪	۶/۶۶ c	۳/۰۶ ab	۱۳/۴۳ b	۰/۰۴۰ cd	۰/۱۸۰ b	
عصاره ۰/۱۰۰٪	۶ c	۲ c	۱۰/۰۶ e	۰/۰۲۸ e	۰/۰۹۳ e	
آسکوربات ۱ mm	۹/۵ b	۳/۱۶ ab	۲۲ a	۰/۰۶۴ b	۰/۲۴۰ a	
آسکوربات ۲ mm	۶/۵ c	۳/۹ a	۲۰/۰۶ a	۰/۰۵۰ cd	۰/۱۸ b	
آسکوربات ۱ mm و عصاره ۰/۵۰٪	۵/۷۳ c	۳/۷ a	۱۶/۸۶ b	۰/۰۳۳ de	۰/۱۴۷ bc	
آسکوربات ۲ mm و عصاره ۰/۵۰٪	۵/۸۳ c	۳/۶۶ a	۱۷/۱۶ b	۰/۰۳۳ de	۰/۱۳۰ cd	
آسکوربات ۱ mm و عصاره ۰/۱۰۰٪	۶/۳۳ c	۳/۷۶ a	۱۰/۳۶ d	۰/۰۲۴ e	۰/۰۹۳ e	
آسکوربات ۲ mm و عصاره ۰/۱۰۰٪	۴/۳۶ c	۳/۱ ab	۱۱/۱ cd	۰/۰۳ de	۰/۱۰۳ ed	

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده آن است که با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد در گروه آماری مشابه ای قرار دارند.

سوی دیگر افزودن آسکوربات در دو غلظت ۱ و ۲ میلی مول به محیط کشت حاوی عصاره آبی اندام هوایی کلزا موجب بهبود طول ریشه و اندام هوایی سویا گشت در حالیکه این افزایش در وزن خشک ریشه و اندام هوایی سویا در حضور آسکوربات و عصاره کلزا معنی دار نبود (جدول ۲).

### اثر عصاره اندام هوایی کلزا و آسکوربات بر پارامترهای رشد سویا

در رابطه با اثر آللوباتیکی عصاره آبی اندام هوایی کلزا بر پارامترهای رشد سویا نتایج نشان داد که افزودن این عصاره به محیط کشت موجب کاهش قابل ملاحظه طول ریشه، هیپوکوتیل و اندام هوایی و نیز وزن خشک ریشه و اندام هوایی سویا گشت. از

**جدول ۲- اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی اندام هوایی کلزا (۱۰۰٪ و ۵۰٪) و آسکوربات (۱ و ۲ mm) بر طول ریشه، هیپوکوتیل، طول و وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه سویا**

تیمار	طول ریشه	طول هیپوکوتیل	طول اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	وزن ریشه
محیط کشت هوگلنند (شاهد)	۱۷/۲۶ a	۳/۶۶ a	۲۲/۸۶ a	۰/۰۸۷ a	۰/۲۵۲ a
عصاره ۵۰٪	۵/۹۳ de	۲/۶۶ a	۱۳/۴ c	۰/۰۴۵ bcd	۰/۱۶۴ bc
عصاره ۱۰۰٪	۴/۴۶ e	۲/۵ bc	۹/۷ de	۰/۰۳۹ cd	۰/۱۲۴ cd
آسکوربات ۱ mm	۱۰/۲ b	۱/۸ de	۲۰/۹۳ ab	۰/۰۵۴ bc	۰/۲۲۹ a
آسکوربات ۲ mm	۸/۹۳ bc	۲/۰۶ cde	۱۸/۷۶ b	۰/۰۶۲ b	۰/۲۰۹ ab
آسکوربات ۱ mm و عصاره ۱ mm	۶/۹۶ cd	۴/۱۶ a	۱۸/۵۳ b	۰/۰۴۲ cd	۰/۱۷۶ bc
آسکوربات ۲ mm و عصاره ۲ mm	۷/۷ cd	۳/۳۶ ab	۱۷/۸۶ b	۰/۰۴۶ bcd	۰/۱۴۲ cd
آسکوربات ۱ mm و عصاره ۱ mm	۷/۹۳ cd	۲/۵ bc	۸/۸۳ e	۰/۰۳۸ cd	۰/۰۹۱ d
آسکوربات ۲ mm و عصاره ۲ mm	۸/۱۶ c	۲/۲ cde	۱۲/۶۶ cd	۰/۰۳۳ d	۰/۱۰۳ d

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده آن است که با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد در گروه آماری مشابه ای قرار دارند.

نشان داد که کاربرد عصاره آبی ریشه کلزا و آسکوربات و نیز افزودن توان آنها اثرات معنی داری بر میزان کلروفیل a و b و نیز مجموع و نسبت آنها ایجاد ننمود (جدول ۳).

اثر عصاره آبی ریشه کلزا و آسکوربات بر میزان کلروفیل a و b برگ سویا  
داده های حاصل از سنجش میزان رنگیزه های کلروفیلی در برگ سویا در تیمارهای مورد آزمایش

**جدول ۳- اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی ریشه کلزا (۱۰۰٪ و ۵۰٪) و آسکوربات (۲ mm و ۱) بر میزان کلروفیل a و b ، مجموع کلروفیل ها (a+b) و نسبت کلروفیل ها (a/b) در برگ سویا**

تیمار	گرم وزن (تر)	میلی گرم بر	کلروفیل b (میلی گرم بر)	مجموع کلروفیل b و a	نسبت کلروفیل b به a	۲/۰۳۹ b
محیط کشت هوگلند (شاهد)						
عصاره ۵۰٪						
عصاره ۱۰۰٪						
آسکوربات ۱ mm						
آسکوربات ۲ mm						
آسکوربات ۱ mm و عصاره ۵۰٪						
آسکوربات ۲ mm و عصاره ۵۰٪						
آسکوربات ۱ mm و عصاره ۱۰۰٪						
آسکوربات ۲ mm و عصاره ۱۰۰٪						

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده آن است که با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد در گروه آماری مشابه ای قرار دارند.

کلروفیل b کاهش معنی داری را در تیمارهای مربوط به عصاره های ۵۰ و ۱۰۰ درصد و آسکوربات نشان نداد. همچنین مجموع کلروفیل a و b کاهش معنی داری را در تمام تیمارها نسبت به شاهد نشان داد. نسبت این دورنگیزه نیز در عصاره های ۵۰ و ۱۰۰ درصد کلزا در مقایسه با شاهد کاهش یافت و افزودن آسکوربات به محیط کشت حاوی عصاره ها تغییرات معنی داری را ایجاد نکرد (جدول ۴).

### اثر عصاره آبی اندام هوایی کلزا و آسکوربات بر میزان کلروفیل a و b برگ سویا

افزودن عصاره اندام هوایی کلزا به محیط کشت موجب کاهش محتوای کلروفیل a در برگ سویا گشت در حالیکه بر میزان کلروفیل b تغییرات معنی داری حاصل ننمود. به کارگیری آسکوربات به همراه عصاره اندام هوایی کلزا نیز نتوانست کاهش میزان کلروفیل a را جبران کند. از سوی دیگر میزان

**جدول ۴- اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی اندام هوایی کلزا (۱۰۰٪ و ۵۰٪) و آسکوربات (۲mm و ۱mm) بر میزان کلروفیل a و b ، مجموع کلروفیل ها (a+b) در برگ سویا**

تیمار	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر)	مجموع کلروفیل b و a به a	نسبت کلروفیل b به a
محیط کشت هوگلند (شاهد)	۰/۴۸۳ a	۰/۶۳۲ a	۳/۶۲ a	۰/۷۷ ab
عصاره ۵۰٪	۰/۲۵۸ bc	۰/۵۰۶ abc	۱/۸۲۶ b	۰/۵۱۸ cd
عصاره ۱۰۰٪	۰/۲۴۳ c	۰/۵۰۵ abc	۱/۹۰۳ b	۰/۴۹۲ d
آسکوربات ۱ mm	۰/۳۳ bc	۰/۵۶۰ ab	۱/۹۱۷ b	۰/۶۰۳ bcd
آسکوربات ۲ mm	۰/۳۴۱ b	۰/۳۸۰ c	۱/۶۹۹ b	۰/۸۸۵ a
آسکوربات ۱ mm و عصاره ۱ mm	۰/۳۲۴ bc	۰/۴۵۲ bc	۱/۷۱۹ b	۰/۷۴۸ abc
آسکوربات ۲ mm و عصاره ۵۰٪	۰/۲۹ bc	۰/۳۸۳ c	۱/۶۸۰ b	۰/۷۶۹ ab
آسکوربات ۱ mm و عصاره ۱۰۰٪	۰/۲۷ bc	۰/۵۲۱ abc	۱/۶۵۶ b	۰/۵۲۵ bcd
آسکوربات ۲ mm و عصاره ۱۰۰٪	۰/۲۶ bc	۰/۴۵۳ c	۱/۵۶۰ b	۰/۶۰۰ bcd

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده آن است که با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد در گروه آماری مشابه ای قرار دارند.

**اثر عصاره آبی اندام هوایی کلزا و آسکوربات بر میزان قندهای محلول اندام‌های مختلف سویا**  
 تنها عصاره ۱۰۰٪ اندام هوایی کلزا موجب کاهش معنی دار قندهای محلول ریشه سویا در مقایسه با شاهد شد و عصاره های ۵۰ و ۱۰۰٪ تغییرات معنی داری را بر مقدار قندهای محلول برگ سویا بر جای نگذاشت. افزودن آسکوربات ۱ و ۲ میلی مول به عصاره ۵۰٪ نیز تغییرات معنی داری را در مقایسه با کاربرد عصاره به تنها یی ایجاد ننمود ولیکن افزودن اسکوربات ۲ میلی مول به عصاره ۱۰۰٪ میزان قندهای محلول را در ریشه سویا به طور معنی داری افزود. در مورد قندهای محلول برگ سویا نیز افزودن آسکوربات ۱ و ۲ میلی مول به عصاره ۱۰۰٪ اندام هوایی کلزا سبب افزایش قابل ملاحظه آن گشت (جدول ۵).

**اثر عصاره آبی ریشه کلزا و آسکوربات بر میزان قندهای محلول اندام‌های مختلف سویا**  
 عصاره آبی ریشه کلزا در غلظت ۵۰٪ موجب کاهش قندهای محلول در ریشه سویا در مقایسه با شاهدگشت در حالیکه عصاره ۱۰۰٪ آن سبب کاهش میزان قندهای محلول در برگ سویا در مقایسه با شاهد شد. کاربرد آسکوربات در دو غلظت ۱ و ۲ میلی مول به همراه عصاره ریشه کلزا در معنی داری را میزان قندهای محلول ریشه کلزا در مقایسه با عصاره ۵۰ و ۱۰۰٪ حاصل نکرد. از سوی دیگر کاربرد اگزوزن آسکوربات در تیمار مربوط به عصاره ۱۰۰٪ ریشه کلزا سبب افزایش قندهای محلول برگ سویا در مقایسه با کاربرد عصاره به تنها یی شد (جدول ۵).

**جدول ۵- اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی ریشه و اندام هوایی کلزا (۱۰۰٪ و ۵۰٪) و آسکوربات (۲mm و ۱mm) بر محتوای قدرت‌های محلول (گرم در گرم خشک نمونه) ریشه و برگ سویا**

عصاره آبی ریشه کلزا		عصاره آبی ریشه کلزا		تیمار
قندهای محلول	برگ	قندهای محلول	ریشه	
قندهای محلول	برگ	قندهای محلول	ریشه	تیمار
۰/۱۶۵ bc	۰/۲۱۸ ab	۰/۱۷۸ a	۰/۲۲۷ a	محیط کشت هوگلند (شاهد)
۰/۱۳۸ c	۰/۲۰۹ ab	۰/۱۵۶ ab	۰/۱۶۷ b	عصاره ۵۰٪
۰/۱۳۱ c	۰/۱۷۷ cd	۰/۱۲۹ b	۰/۱۸۸ ab	عصاره ۱۰۰٪
۰/۱۷۹ b	۰/۲۲۷ ab	۰/۱۵۲ ab	۰/۲۱۱ ab	آسکوربات ۱ mm
۰/۲۰۱ b	۰/۲۴۴ a	۰/۱۶۹ a	۰/۱۸۹ ab	آسکوربات ۲ mm
۰/۱۶۵ bc	۰/۲۰۵ bc	۰/۱۶۰ ab	۰/۱۸۲ ab	آسکوربات ۱ mm و عصاره ۵۰٪
۰/۱۶۳ bc	۰/۲۱۵ ab	۰/۱۶۶ a	۰/۱۵۶ b	آسکوربات ۲ mm و عصاره ۵۰٪
۰/۲۷۰ a	۰/۱۷۲ d	۰/۱۶۷ a	۰/۲۳۴ a	آسکوربات ۱ mm و عصاره ۱۰۰٪
۰/۱۹۷ b	۰/۲۱۵ ab	۰/۱۵۷ a	۰/۱۹۷ ab	آسکوربات ۲ mm و عصاره ۱۰۰٪

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده آن است که با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد در گروه آماری مشابه ای قرار دارند.

کوتاه تر از شاهد گشته و راس آنها نیز به رنگ قهوه ای می‌گراید که همگی موید نتایج حاضر می‌باشد (Niakan et al 2008).

همچنین نتایج نشان داد که عصاره استخراج شده از بخش‌های مختلف گیاه کلزا قابلیت دگر آسیبی متفاوتی را به نمایش گذاشتند. بدین معنی که اثر بازدارندگی عصاره حاصل از اندام هوایی کلزا بر رشد طولی سویا بیش از عصاره ریشه بود در حالیکه عصاره اندام هوایی کلزا هیپوکوتیل و طول اندام هوایی سویا را بیش از عصاره ریشه تحت تاثیر قرار داد. عصاره ریشه کلزا نیز اثرات بازدارندگی بیشتری را بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی سویا نشان داد (جداول ۱ و ۲). از سوی دیگر نتایج پژوهش حاضر نشان داد که حساسیت پارامترهای رشد ریشه و اندام هوایی سویا نیز به ترکیبات آلوکمیکال موجود در بخش‌های مختلف کلزا متفاوت است.

### بحث و نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که افزودن عصاره آبی حاصل از اندام هوایی و ریشه کلزا به محیط کشت هوگلند سبب کاهش پارامترهای رشد گیاه سویا در مقایسه با شاهد گشت و با افزایش غلظت عصاره از ۵۰ به ۱۰۰٪ این اثرات بازدارندگی تشدید گشت (جداول ۱ و ۲). در این راستا (Turk & Tawaha 2005) اعلام نمودند که که عصاره *Brassica nigra* L. هیپوکوتیل و اندام هوایی گیاه *Radish* گشت و با افزایش غلظت عصاره، طول هیپوکوتیل، طول و وزن خشک ریشه چه این گیاه باشد بیشتری کاهش یافت. چنین اثر مشابهی نیز بر روی علف هرز فالارپس، گندم و سویا (نیاکان و همکاران. ۸۶، ۸۷). گزارش شده است. همچنین بیان شده است میزان رشد دانه‌رست‌های گندم تحت تاثیر آلوکمیکال‌های کلزا کند تر از شاهد بوده و ریشه‌چههای حاصل نیز

آسکوربات انجام بسیاری از فعالیت‌های غیر آنتی اکسیدانی را نیز بر عهده دارد. به عنوان مثال باعث تنظیم تقسیم سلولی و فرایند چرخه سلولی از فاز  $G_1$  به  $S$  می‌گردد. همچنین گزارش شده است که آسکوربات رشد طولی سلول‌ها را نیز تنظیم می‌کند (Detullio et al. 1999).

تحقیقات نشان داد که طول ریشه و اندام هوایی دانه رست‌های کلزا و آفتابگردان در طی تیمار با آسکوربات به طور معنی داری افزایش یافت. به نظر محققان تیمار با آسکوربات با افزایش تقسیم سلولی در مریستم‌ها سبب افزایش رشد طولی گیاه Dolatabadin & Modarressanavy, می‌گردد (Dolatabadin & Modarressanavy, 2008).

گزارش شده است که افزودن آسکوربات به محیط کشت سبب بهبود پاسخ گیاه به تنش می‌گردد. بدین معنی که آسکوربات علاوه بر افزایش تقسیم سلولی به علت خاصیت آنتی اکسیدانی خود سبب کاهش آسیب ناشی از رادیکال‌های فعال ایجاد شده توسط تنفس می‌شود (Miguel et al., 2006; دیانسایی ۱۳۸۶).

همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که افزودن آسکوربات به عصاره آبی ریشه کلزا تاثیر بهتری بر افزایش رشد طولی سویا در مقایسه با عصاره آبی اندام هوایی کلزا داشت (نمودار ۱). از آنجایی که اثرات بازدارندگی عصاره آبی اندام هوایی بیش از ریشه می‌باشد (احمدی ۱۳۸۵). لذا به نظر می‌رسد که آسکوربات تنها در حضور ترکیبات آلوكمیکالی موجود در کلزا که قدرت بازدارندگی کمتری دارند قادر به جبران کاهش رشد در سویا می‌باشد.

داده‌های حاصل از این تحقیق نشان داد که عصاره آبی ریشه کلزا تغییری در میزان کلروفیل  $a$  و

در رابطه با کلزا عنوان شده است که میزان و نوع ترکیبات بازدارنده گلوکوزینولاتی در ریشه و اندام هوایی کلزا یکسان نیست. به عنوان مثال ترکیباتی نظیر فنیل اتیل گلوکوزینولات بیش از ۸۰٪ از کل گلوکوزینولات‌ها را در ریشه تشکیل می‌دهد در حالیکه در اندام هوایی ۳ بوتنیل گلوکوزینولات و ۴ پنتنیل گلوکوزینولات و مشتقان آن (۲ هیدروکسی) بیش از ۹۰٪ از کل گلوکوزینولات‌ها را شامل می‌شود (Fenwick et al. 1983).

مطابق با نتایج بدست آمده افزودن آسکوربات به عصاره آبی کلزا سبب بهبود و جبران اثر بازدارندگی عصاره بر پارامترهای رشد سویا گشت که این اثر مثبت بویژه در میزان رشد طولی اندام هوایی سویا کاملاً مشهود بود (جداول ۱ و ۲).

آسکوربات یکی از آنتی اکسیدان‌های قوی می‌باشد که در اکثر سلول‌های گیاهی، اندامک‌هایی نظیر کلروپلاست و آپوپلاست وجود دارد (Arrigoni and Tullio, 2000). در زمان ایجاد تنش در گیاهان رادیکال‌های آزاد تولید می‌گردد که این ترکیبات از طریق آسیب به غشا، ترکیبات پروتئینی و اسیدهای نوکلئیک موجب آسیب به گیاه می‌گردد. در این بین آسکوربات از طریق شرکت در بسیاری از واکنش‌های آنزیمی و غیر آنزیمی موجب رفع سمیت ناشی از رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن معرفی می‌شود (Smirnoff et al. 2001).

آسکوربات به طور مستقیم رادیکال‌های سوپر اکسید و هیدروکسیل را حذف کرده و  $H_2O_2$  را با کمک آسکوربات پر اکسیداز به آب احیا می‌کند. همچنین آسکوربات باعث تولید مجدد توکوفرول از طریق رادیکال توکوفروکسیل می‌شود و به این ترتیب از غشاء‌حمایت می‌کند. علاوه بر این

از آنجایی که جایگاه این رنگیزه ها در غشاء های درون کلروپلاست از جمله تیلاکوئید می باشد، به نظر می رسد که گونه های فعال اکسیژن از طریق پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی به طور مستقیم بر رنگیزه ها اثر می گذارد. گزارش شده است که آسکوربات با حذف گونه های فعال اکسیژن اثرات سوء آنها را به حداقل می رساند (Christine et al., 2000)، که نتایج پژوهش حاضر موید این مطلب است.

مطابق با نتایج بدست آمده میزان قندهای محلول در دو بخش ریشه و برگ سویا نیز تحت تاثیر عصاره های آبی ریشه و اندام هوایی کلزا قرار گرفت. عصاره آبی اندام هوایی کلزا بار دیگر اثرات کاهندگی بیشتری را نسبت به عصاره ریشه از خود نشان داد (جدول ۵). گزارش شده است که افزایش غلظت عصاره کلزا سبب کاهش میزان قندهای محلول در ریشه سویا گشت (احمدی، ۱۳۸۵). همچنین (بشارت، ۱۳۸۵) گزارش نمود که افزایش غلظت عصاره آبی کلزا میزان قندهای محلول در ریشه فالاریس را می کاهد. کاهش میزان کلروفیل و به دنبال آن کاهش میزان فتوسنتر توسط ترکیبات فنلی در گیاهانی نظیر عدسک آبی نیز گزارش شده است (Borkosky & Einhellig 2003).

همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن آسکوربات به عصاره آبی کلزا بویژه غلظت ۱۰۰٪ موجب افزایش قابل ملاحظه و معنی دار محتوای قندهای محلول در برگ سویا شد (جدول ۵) و از اثر بازدارندگی آلوکمیکالهای موجود در عصاره کلزا بر میزان قندهای محلول سویا کاست. در این راستا گزارش شده است که میزان کربوهیدرات های محلول در پاسخ به آسکوربات اگزوژن افزایش می یابد (El-Shazly & El-Masri, 2003) همچنین (باباگلی، ۱۳۸۶) گزارش کرد که افزودن آسکوربات

b موجود در برگ سویا در مقایسه با شاهد نشان نداد در حالیکه عصاره آبی اندام هوایی کلزا میزان رنگیزه های فتوسنتری را به طور قابل ملاحظه ای کاهش داد (جدوال ۳ و ۴). از آنجایی که میزان ترکیبات آلوکمیکال موجود در برگ های کلزا Sharma et al., 2000) لذا این نتیجه را می توان به نتیجه پژوهش حاضر نیز تعمیم داد.

(Borkosky & Einhellig 2003) کردند که تیمار گیاهان با ترکیبات فنلی که دارای توان آلوپاتیکی می باشند منجر به کاهش مقدار کلروفیل، فتوسنتر و انتقال الکترون می گردد. کاهش در محتوای کلروفیل عدسک آبی<sup>۱</sup> تیمار شده با ژوگلون نیز گزارش شده است. ژوگلون با تخریب کلروفیل سبب کاهش میزان فتوسنتر در ذرت، سویا Gniazdowska & Bogatek, 2005).

کاهش کلروفیل پاسخ معمولی نسبت به آلوکمیکال ها می باشد که ممکن است پدیده ای ثانوی و ناشی از آسیب سلولی باشد. از سوی دیگر افزودن آسکوربات به محیط کشت حاوی عصاره آبی ریشه کلزا سبب افزایش معنی داری در میزان کلروفیل a موجود در برگ های سویا گشت (جدول ۳). که این مطلب اثر مثبت کاربرد آسکوربات را در رفع اثر بازدارندگی تنش آلوپاتی حاصل از عصاره آبی کلزا بر سویا تایید می کند. تحقیقات نشان داده است که کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش های محیطی با افزایش تولید گونه های فعال و واکنشگر اکسیژن در ارتباط است و

1- *Limna minor*

آسکوربات در تنش‌های زیستی نظیر آللوپاتی اندک است. در این پژوهش نشان داده شد که کاربرد اگزوزن آسکوربات در زمان ایجاد تنش‌های زیستی نظیر تنش آللوپاتی نیز می‌تواند سبب بهبود مکانیسم‌های سازشی گیاه هدف یعنی سویا در پاسخ به ترکیبات آللوکمیکال موجود در عصاره کلزا گردد.

اگزوزن موجب انباستگی قندهای غیر احیاء کننده، افزایش رنگیزهای فتوسنتزی و تسريع واکنش هیل در گیاه کلزا تحت تنش شوری می‌گردد. تا کنون تحقیقات متعددی در مورد اثر آنتی اکسیدانی آسکوربات بر پاسخ گیاهان به تنش‌های غیرزیستی نظیر خشکی و شوری صورت گرفته است ولیکن مطالعات انجام شده بر روی چگونگی اثر

### منابع

- احمدی، ا. ۱۳۸۵. بررسی شاخص‌های رشد و برخی فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه سویا (رقم گرگان ۳) در پاسخ به عصاره آبی کلزا (رقم هایولا ۴۰) پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.
- باباگلی، ف. ۱۳۸۶. نقش اسید آسکوربیک در کاهش تنش اکسیداتیو در گیاه کلزا تحت تیمار با شوری، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
- بشارت، ح. ۱۳۸۶. اثر عصاره آبی کلزا (رقم RGS) بر پارامترهای رشد و برخی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی دو علف هرز یونجه و علف خونی (*Melilotus officinalis*) در مرحله دانه‌رست و گیاه کامل، پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.
- دیانسایی، آ. ۱۳۸۶. بررسی اثر آسکوربات بر تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری و نیز پاسخ‌های مورفوفیزیولوژی گیاه سویا رقم DPX، پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.
- نیاکان، م، بشارت، ح، ساطعی، آ، زینعلی، ا، اورسجی، و. ۱۳۸۶. اثر دگر آسیبی کلزا رقم (RGS) بر جوانه زنی، پارامترهای رشد و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی علف هرز فالاریس. فصلنامه تخصصی پژوهش‌های علوم گیاهی. شماره ۸: ۹-۱۷.
- نیاکان، م، احمدی، ا، نوری نیا، ع. ۱۳۸۷. اثر دگر آسیبی کلزا بر رشد و فرایندهای بیوشیمیایی ریشه و گرهک سویا، فصلنامه تخصصی پژوهش‌های علوم گیاهی، شماره ۹: ۵۷-۴۹.

**Arrigoni, O. , De Tullio MC.** 2000. The role of ascorbic acid in cell metabolism: between gene-directed functions and unpredictable chemical reactions. J. Plant Physiol 157, 481–488

**Barkosky, R.R., Einhellig, F.A.** 2003. Allelopathic interference of plant-water relationships by parahydroxybenzoic acid. Bot. Bull. Acad. Sin. 44:53-58.

- Bellostas, N., Sorensen, J. C and Sorensen, H.** 2006. Effect of ascorbic acid and glutathione on the production of nitriles by myrosinase. Second International Biofumigation Symposium, Moscow, Idaho, USA, 26-29 .
- Bones, A. M., and Rossiter, J. T.** 1996. The myrosinase-glucosinolate in defense system in plants. *Physiol Plantarum*. 97 (1): 194-208.
- Bruinsma, J.** 1963. The quantitative analysis of chlorophyll a & b in plant extract photochem. *Photobiol*, 12: 241- 249.
- Christine, H., Foyer, Geert Potters., and Han Asard.** 2000. Ascorbate function and associated transport systems in plants. *Plant. Physiol . Biochem* 38: 531-540.
- Detullio ,MC., Paciolla, C., Dalla Vecchia,F., Rascio., N, D'Emerico, S., De Gara, L., Liso, R., Arrigoni, O.** 1999. Changes in onion root development induced by the inhibition of peptidyl-polyl hydroxylase and influence of the ascorbate system on cell division and elongation. *Planta* 209, 424–434
- Dolatabadian, A., Modarressanavy, S. A. M.** 2008. Effect of the ascorbic acid, pyridoxine and hydrogen peroxide treatments on germination, catalase activity, protein and malondialdehyde content of three oil seeds. *Bot. Horti Agri .bot* 36 (2):61-66.
- El-Shazly, W.M.O. and El-Masri, M.F.** 2003. Response of cotton cultivar to foliar application of ascorbic acid , gibberellic acid, phosphorus and potassium. *J. Agri. Sci.* 28:1579-1597.
- Fenwick, G. R., R .. K Heaneg and W. J . Mullin.** 1983. Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants . *Crit . Rev . Food .Sci . Nutr* , 18: 123 – 301
- Foyer, CH., Noctor, G.** 2005 .Redox homeostis and antioxidant signaling: A metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell*. 17: 1866-1875.
- Gniazdowska, A., Bogatek, R.** 2005. Allelopathic interactions between plants. Multi site action of allelochemicals. *Act. Physiol. Plantarum*. 27(3):395-407.
- Halkier, B., and Gershenson , J.** 2006 .Biology and biochemistry of glucosinolates .*Plant. Biol* . 57:303-333.
- Kochert, G.** 1978. Carbohydrate determination by phenol sulfuric acid method in: Helebust, J. A. CRAIG, J. S. (ed): Hand book of Ohicologia Method. 56- 97.
- Miguel, A., Rosales , J., Ruiz, M ., Hernandes, J., Soriano, T., Castilla, N and Romero, L.** 2006 .Antioxidant content and ascorbate metabolism in cherry tomato exocarp in relation to temperature and solar radiation.*J. Sci. food. Agri* 86:1545-1551.
- Narwal, S.S and Tauro, P.** 1996. Suggested methodology for allelopathy: Field Observ . Method. P. 255-260
- Niakan, M.,Tajari, M and Ghorbanli, M.** 2008. Effect of salinity on allelopathic potential of canola (*Brassica napusL*). *Allelopathy Journal*. 21(2):228-239

- Shalata, A., and Neumann, PM.** 2001. Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. *J. Exp. Bot.* 52, 2207–2211.
- Sharma, N. K., Samra, J. S. and Singh, H. P.** 2000. Effect of aqueous extracts of *populus deltoids* M. on germination and seedling growth of wheat. *Allelopathy Journal.* 7:56-68.
- Smirnoff ,N., Conklin ,PL., Loewus ,FA.** 2001. Biosynthesis of ascorbic acid in plants: a renaissance. *An. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.* 52, 437–467
- Turk, M. A., Lee, K. D. and Tawaha, A. M.** 2005 .Inhibitory effects of aqueous extracts of Blak Mustard on germination and growth of Radish. *J. Agri. Biol. Sci.* 1:227-231.
- Wallsgrove, R., Bennett, R., Kiddle, G., Bartlet, E., Ludwig-Mueller, J.** 1999. Glucosinolate biosynthesis and pest disease interactions. *Proc. 10<sup>th</sup> Int. Rapeseed Congr.* Canberra, Australia.
- Weston L.A., and Duke S.O.** 2003. Weed and crop allelopathy. *Crit. Rev. Plant Sci.* 22: 367-389.
- Win, M., and Jongen, F.** 1996 .Glucosinolates in brassica :occurrence and significance as cancer-modulating agents. *Proceedings of the Nutrition Society.* 55,433-446.