

تغییرات بیوشیمیایی و فتوسنتزی سیب زمینی تحت تأثیر تنش شوری

جعفر نباتی^۱، محمد کافی^۲، بیژن سعادتیان^۳، آرمین اسکوییان^۳، جواد شهابنگ^۴

۱. استادیار پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد. [email: jafarnabati@ferdowsi.um.ac.ir](mailto:jafarnabati@ferdowsi.um.ac.ir)

۲. استاد گروه زراعت و پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد.

۳. دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشگاه فردوسی مشهد.

۴. مربی آموزشی گروه زراعت دانشگاه فردوسی مشهد.

کلمات کلیدی: رقم آگریا، کارایی مصرف آب، کلروفیل، کلرید سدیم.

چکیده

با توجه به کمبود منابع آب، استفاده از آب‌های غیرمعارف و شور در بخش کشاورزی اجتناب‌ناپذیر است. گیاه سیب‌زمینی یکی از مهم‌ترین محصولات ایران به شمار می‌آید. لذا مطالعه اثرات شوری بر خصوصیات بیوشیمیایی و فتوسنتزی این گیاه می‌تواند در تعیین غلظت شوری آب آبیاری مورد استفاده قرار گیرد. بدین منظور آزمایشی به صورت طرح پایه بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۵ انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سطوح شوری آب آبیاری (صفر، ۵، ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر) بود. دو هفته پس از اعمال تنش شوری، صفات فتوسنتزی، تعرق، کارایی مصرف آب، مالون دی آلدئید، پرولین، ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH، قندهای محلول، کلروفیل a و b و کاروتنوئیدهای برگ اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که تعرق برگ در تیمار هشت دسی زیمنس بر متر کمترین مقدار بود و به دنبال آن بالاترین کارایی مصرف آب با رشد ۷/۱ برابری نسبت به شاهد به دست آمد. غلظت پرولین و ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH در بالاترین سطح شوری به طور معنی‌داری بیشتر از سایر سطوح بود. در مقابل، غلظت کلروفیل‌های a، b و کاروتنوئیدهای برگ در تیمار ۱۲ دسی زیمنس بر متر نسبت به شاهد به ترتیب ۶۶، ۶۲ و ۶۹ درصد کاهش نشان داد. با توجه به نتایج به نظر می‌رسد که سیب‌زمینی رقم آگریا تا سطح هشت دسی زیمنس بر متر قادر به انجام فعالیت‌های بیوشیمیایی و فتوسنتزی به روش اعمال شده است.

Biochemical and photosynthesis changes in potato (*Solanum tubersum* L.) under salinity stress

Jafar Nabati¹, Mohammad Kafi², Bijan Saadatian³, Armin Oskoueian³, Javad Shabahang⁴

1. Assistant professor, Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad,

email: jafarnabati@ferdowsi.um.ac.ir

2. Professor, Department of Agronomy and Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad

3. Ph.D Candidate of Crop Physiology, Ferdowsi University of Mashhad

4. Member of Department of Agronomy, Ferdowsi University of Mashhad

Keywords: Agria cv., Chlorophyll, Sodium chloride, Water use efficiency.

Considering water resource shortage, using salty water in agriculture is inevitable. Potato is one of the most important crops in Iran. So evaluation salt effects on biochemical and photosynthesis of this crop can be useful in determination of concentration of salinity of irrigation water. An experiment was conducted in complete block design with three replications in research farm of Ferdowsi University of Mashhad in 2016. Experiment treatments include salinity of irrigation water (zero, 5, 8 and 12 dS.m⁻¹). Two weeks after irrigation with salty water, photosynthesis characters, evaporation, water use efficiency, malondialdehyde, proline, DPPH scavenging, soluble sugar, chlorophyll a, b and carotenoids were determined. Results showed that leaf evaporation was lowest amount in treatment with 8 dS.m⁻¹ and following that highest water use efficiency obtained 7.1 folds in same treatment in comparison with control. Proline concentration and DPPH scavenging in highest level of salinity of irrigation water, were significantly higher in comparison with other levels. In contrast, concentration of chlorophyll a and b, leaf carotenoids in 12 dS.m⁻¹ decreased 66, 62 and 69 percent in comparison with control. Considering the results it seems that Agria variety of potato can do the biochemical and photosynthesis activity under 8 dS m⁻¹ salinity.

مقدمه

یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش کیفیت آب‌های مورد استفاده در بخش کشاورزی، افزایش املاح و شوری ناشی از آن است. این پدیده به دلایل مختلف از جمله دخالت‌های انسان در محیط زیست و آلودگی آب‌ها و یا در اثر پدیده‌های زمین‌شناسی حادث می‌گردد. افزایش تقاضا در بخش‌های خانگی و کاهش سطح سفره‌های آب زیرزمینی موجب فشار به بخش کشاورزی برای کاهش بهره‌گیری از آب‌های شیرین و استفاده از آب‌های با کیفیت پایین شده است. از این رو استفاده از آب‌های شور در فعالیت‌های آبی تولیدات کشاورزی امری اجتناب‌ناپذیر به نظر می‌رسد (۵ و ۱۲). سیب‌زمینی از محصولات غده‌ای مهم در تغذیه انسان و دام به شمار می‌رود. این گیاه از نظر اهمیت غذایی و تولید پس از گندم، برنج و ذرت مقام چهارم را در جهان به خود اختصاص داده است. بعد از ذرت، سیب‌زمینی دارای گسترده‌ترین توزیع مناطق کشت در دنیا است (۸). در مناطق سیب‌زمینی‌کاری ایران نیز شوری آب آبیاری در سالیان اخیر نمود یافته و کشاورزان ناگزیر به استفاده از آب‌های نامتعارف و شور شده اند (۱۲ و ۱۳). با توجه به مطالب بیان شده، ضرورت تحقیقات بیشتر در زمینه اثر شوری آب آبیاری بر خصوصیات مختلف گیاه سیب‌زمینی از جمله صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک آن که در نهایت تعیین کننده عملکرد هستند را بیش‌ازپیش نمایان می‌سازد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت طرح پایه بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه پژوهشی-آموزشی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۵ انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سطوح شوری آب آبیاری (صفر، ۵، ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر) بود. منبع تأمین آن از طریق انحلال نمک کلرید سدیم در آب آبیاری به دست آمد. ابتدا غده‌های بذری حدود ۲۰ روز قبل از کاشت از سردخانه (چهار درجه سانتی‌گراد) خارج شد. بعد از خروج از سردخانه، غده‌ها در جعبه در تاریکی در دمای ۱۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد گرفت تا نیش بزنند. سپس غده‌ها به مدت حدود یک هفته در معرض نور کافی و همان دما قرار داده شدند. به طوری که در زمان کاشت، غده‌ها از نظر سن فیزیولوژیک در شرایط سنی جوانه‌زنی معمولی و دارای ۳-۵ جوانه سبز ۱/۵-۱ سانتی‌متری بودند. هر کرت آزمایشی به مساحت ۱۵ مترمربع شامل چهار خط کاشت به طول پنج متر بود. فاصله خطوط کاشت ۷۵ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی خطوط ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. تاریخ کاشت ۲۷ اردیبهشت‌ماه ۱۳۹۵ بود. آبیاری غده‌های سیب‌زمینی در مراحل اولیه رشد و استقرار تا سه

الی چهار برگگی (تا یک ماه پس از کشت) با آب معمولی انجام شد. سپس تیمارهای شوری هر هفته اعمال گردید. در تاریخ ۱۵ تیرماه ۱۳۹۵، دو هفته پس از اعمال تنش شوری صفات بیوشیمیایی و فتوسنتزی برگ‌های سیب‌زمینی مورد ارزیابی قرار گرفت. اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل برگ‌ها توسط دستگاه فلورومتر مدل OS1-FL در شرایط نوری انجام و عوامل حداقل فلورسانس کلروفیل (F_s)، حداکثر فلورسانس کلروفیل (F_{ms}) و عملکرد کوانتومی فتوسیستم (PS) در شرایط تطابق نوری از طریق معادله ۱ به دست آمد (۱۰).

$$PS = \frac{F_{ms} - F_s}{F_{ms}}$$

(۱)

در ساعات ۱۰ الی ۱۱ صبح از هر کرت، بالاترین برگ جوان کاملاً توسعه یافته دو بوته انتخاب و صفات فتوسنتزی برگ، شامل فتوسنتز خالص (A) بر حسب میکرو مول دی‌اکسید کربن (CO_2) تثبیت شده بر مترمربع برگ در ثانیه و تعرق (E) بر حسب میلی‌مول آب (H_2O) بر مترمربع در ثانیه با دستگاه IRGA مدل LCi Consol تعیین شد. کارایی مصرف آب نیز از تقسیم فتوسنتز بر تعرق برگ به دست آمد. اندازه‌گیری محتوای کلروفیل a, b (۲) و کاروتنوئیدها (۹) در آزمایشگاه فیزیولوژی تنش‌های محیطی پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. برای اندازه‌گیری مهار فعالیت رادیکال DPPH میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر پس از ۳۰ دقیقه تاریکی، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد (۱). غلظت فنل کل در نمونه برگ بر اساس روش فولین شیکالتو (۱۴) در طول موج ۷۶۵ نانومتر تعیین شد. پرولین برگ در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۳). میزان فندهای محلول برگ با استفاده از روش فنل سولفوریک اسید (۴) در طول موج ۴۸۰ نانومتر تعیین گردید. برای سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، غلظت مالون دی‌آلدئید که محصول پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد، اندازه‌گیری شد (۶). آنالیز واریانس داده‌ها با نرم‌افزار SAS ۹/۱ و مقایسات میانگین داده‌ها با آزمون LSD محافظت شده در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

تأثیر تیمارهای شوری بر صفات عملکرد کوانتومی فتوسیستم II، فتوسنتز، غلظت مالون دی‌آلدئید و فنل کل برگ‌های سیب‌زمینی معنی‌دار نبود (جدول ۱). احتمالاً مدت زمان لازم برای تأثیر شوری بر این صفات بیشتر از زمان اندازه‌گیری‌ها بوده، از این رو صفات یاد شده در بین تیمارهای شوری اختلاف نداشتند. از سویی دیگر، با توجه به تغییرات معنی‌دار ترکیبات محافظت‌کننده سلولی در شرایط تنش از جمله پرولین، فندهای محلول و ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH (جدول ۱) می‌توان عنوان داشت که افزایش معنی‌دار ترکیبات یاد شده با افزایش تنش شوری (جدول ۲) موجب حفاظت ساختارهای فتوسنتزی، ادامه تثبیت دی‌اکسید کربن و عدم تغییر در کارایی فتوشیمیایی مرکز واکنش فتوسیستم II در طی مدت زمان اعمال تنش شده اند. یافته‌های دیگر نیز حاکی از نقش مؤثر ترکیبات سلولی ضد تنش در محافظت از ساختارهای فتوسنتزی و بقای فرایندهای مرتبط با آن است (۵ و ۱۱). علاوه بر معنی‌داری اثر تیمارهای شوری بر ترکیبات ضد تنش، صفات مرتبط با رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی برگ سیب‌زمینی نیز تحت تأثیر شوری قرار گرفت (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) عوامل فتوسنتزی و بیوشیمیایی برگ سیب‌زمینی دو هفته پس از اعمال شوری

صفات	منابع تغییرات			
	تکرار	شوری	خطا	ضریب تغییرات
درجه آزادی	۲	۳	۶	-
عملکرد کوانتومی فتوسیستم II	۰/۰۰۷ ^{ns}	۰/۰۰۴ ^{ns}	۰/۰۰۲	۶/۱

۱۱/۶	۰/۸۶	۰/۵۰ ^{ns}	۱/۴۱ ^{ns}	فتوستتزر
۱۴/۶	۰/۰۰۶	۰/۳۵۶ ^{**}	۰/۰۰۱ ^{ns}	تعرق
۲۸/۰	۱۱۵	۵۳۳۰ ^{**}	۹۲ ^{ns}	کارایی مصرف آب
۱۸/۰	۱۴/۱	۶۳/۲ ^{ns}	۰/۶ ^{ns}	غلظت مالون دی آلدئید
۱۴/۲	۰/۰۳۱	۰/۰۸۵ ^{ns}	۰/۰۳۳ ^{ns}	غلظت فنل کل
۱۵/۲	۰/۰۷۳	۱/۰۰۶ ^{**}	۰/۰۲۰ ^{ns}	غلظت پرولین
۱۵/۸	۰/۴۰۹	۴/۵۰۸ ^{**}	۰/۶۵۵ ^{ns}	غلظت قندهای محلول
۱۵/۵	۰/۰۱۶	۰/۳۳۶ ^{**}	۰/۰۰۸ ^{ns}	ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH
۱۴/۵	۰/۰۲۴	۰/۵۵۸ ^{**}	۰/۰۲۶ ^{ns}	غلظت کلروفیل a
۱۴/۵	۰/۰۰۴	۰/۰۸۴ ^{**}	۰/۰۰۴ ^{ns}	غلظت کلروفیل b
۱۱/۸	۰/۰۰۱	۰/۰۳۹ ^{**}	۰/۰۰۲ ^{ns}	غلظت کاروتنوئیدها
۱۲/۸	۰/۰۶۰	۱/۵۲۴ ^{**}	۰/۰۶۰ ^{ns}	مجموع غلظت رنگدانه‌های برگ

ns، * و ** به ترتیب به مفهوم غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد می باشد.

تعرق برگ سیب زمینی رقم آگریا در تیمارهای پنج و هشت دسی زیمنس بر متر نسبت به شاهد به ترتیب ۲۵ و ۸۷ درصد کاهش داشت. اما در بالاترین تیمار شوری، تعرق برگی افزایش یافت و مقدار آن ۴۴ درصد بیشتر از شاهد به دست آمد (جدول ۲). با توجه به عدم تأثیرگذاری معنی دار شوری بر فتوستتزر جاری برگ، نوسان ناشی از اعمال تنش شوری بر تعرق سبب تأثیر مستقیم بر کارایی مصرف آب شد. به طوری که در تیمار ۸ دسی زیمنس بر متر صفت یاد شده نسبت به شاهد، رشدی ۷/۱ برابری نشان داد. اما در سایر سطوح شوری، تفاوت معنی داری با شاهد از این نظر مشاهده نشد (جدول ۲). غلظت پرولین برگ در تیمارهای پنج و هشت دسی زیمنس بر متر نسبت به شاهد تفاوت معنی داری نداشت. اما صفت یاد شده در بالاترین سطح شوری با اختلاف ۹۸ درصدی نسبت به شاهد، افزایش معنی داری نشان داد (جدول ۲). غلظت قندهای محلول در دو سطح شوری پنج و هشت دسی زیمنس بر متر نسبت به شاهد تفاوت معنی داری نشان داد. اما اختلافی بین دو سطح شوری از نظر صفات یاد شده مشاهده نشد. در بالاترین سطح تنش، غلظت قندهای محلول در مقایسه با سایر سطوح شوری با کاهش همراه بود. به طوری که نسبت به شاهد تفاوت آماری نداشت (جدول ۲). ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH برگ سیب زمینی در تمامی سطوح تنش نسبت به شاهد افزایش معنی داری نشان داد و در بالاترین سطح شوری از نظر آماری بالاترین غلظت صفت یاد شده به دست آمد (جدول ۲). غلظت کلروفیل a در سطوح هشت و ۱۲ دسی زیمنس بر متر نسبت به شاهد کاهش معنی داری نشان داد و بیشترین اثر منفی شوری در تیمار ۱۲ دسی زیمنس بر متر به دست آمد. به طوری که غلظت کلروفیل a در تیمار یاد شده ۶۶ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داد. غلظت کلروفیل b و کاروتنوئیدهای برگ نیز مشابه کلروفیل a با افزایش شوری به طور معنی داری کاهش یافت. اما تغییرات ناشی از شوری بر غلظت کلروفیل b در مقایسه با سایر رنگدانه‌های فتوستتزی به ویژه در تیمار پنج دسی زیمنس بر متر کمتر بود (جدول ۲). با توجه به روند کاهشی یکسان در غالب رنگدانه‌های فتوستتزی اندازه گیری شده، غلظت کل رنگدانه‌های فتوستتزی نیز با افزایش شوری روندی مشابه داشت (جدول ۱).

جدول ۲- مقایسه میانگین عوامل فتوستتزی و بیوشیمیایی برگ سیب زمینی.

صفات	شوری آب آبیاری (دسی زیمنس بر متر)	LSD ^{0/05}
------	-----------------------------------	---------------------

صفر	۵	۸	۱۲	
۰/۶۳	۰/۴۸	۰/۰۸	۰/۹۰	تعرق (میلی مول بر مترمربع بر ثانیه)
۱۳/۶	۱۶/۸	۹۷/۱	۸/۸	کارایی مصرف آب (میکرو مول دی اکسید کربن بر میلی مول آب)
۱/۳۲	۱/۶۷	۱/۵۰	۲/۶۲	غلظت پرولین (میلی گرم بر گرم وزن تر)
۲/۴۸	۵/۱۶	۴/۸۷	۳/۶۹	غلظت قندهای محلول (میلی گرم گلوکز بر گرم وزن تر)
۰/۳۸۴	۰/۸۵۹	۰/۸۰۰	۱/۲۰۰	ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH (میلی گرم آسکوربات بر گرم وزن تر)
۱/۴۸۴	۱/۳۱۰	۱/۰۰۱	۰/۵۰۰	غلظت کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر)
۰/۶۰۱	۰/۵۵۹	۰/۴۲۰	۰/۲۲۸	غلظت کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر)
۰/۳۷۹	۰/۳۲۸	۰/۲۵۵	۰/۱۱۸	غلظت کاروتنوئیدها (میلی گرم بر گرم وزن تر)
۲/۴۶۴	۲/۱۹۸	۱/۶۷۶	۰/۸۴۶	مجموع غلظت رنگ دانه های برگ (میلی گرم بر گرم وزن تر)

LSD/۰۰۵ حداقل اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد

در مطالعات پیشین، عدم تغییرات معنی دار آسمیلاسیون و افزایش غلظت ترکیبات آنتی اکسیدانی و اسمولیتی نشانه ای از واکنش مثبت گیاه در مواجهه با تنش در گیاه عنوان شده است (۷ و ۱۱). در آزمایش حاضر نیز بوته های سیب زمینی پس از دو هفته از اعمال تنش علاوه بر حفظ فتوسنتز جاری، توانایی کاهش تعرق برگ به منظور مواجهه بهتر با شرایط تنش شوری تا سطح هشت دسی زیمنس بر متر را داشتند. همچنین در تیمار شوری یاد شده افزایش کارایی مصرف آب سیب زمینی به بالاترین حد خود رسید. غلظت قندهای محلول نیز تا سطح ۸ دسی زیمنس به طور معنی داری افزایش نشان داد. لذا با توجه به نتایج به دست آمده می توان بیان داشت که بوته های سیب زمینی رقم آگریا با روش شوری اعمال شده تا سطح هشت دسی زیمنس بر متر قادر به توسعه مکانیسم های مواجهه با تنش بوده است. از این رو پیشنهاد می شود که در مطالعات آتی تیمارهای شوری تا هشت دسی زیمنس بر متر تعریف گردد تا به دقت تغییرات بیوشیمیایی و عملکرد نیز مورد ارزیابی قرار گیرد. و از طریق محاسبات مبتنی بر صرفه اقتصادی بهترین تیمار شوری قابل قبول برای کشت سیب زمینی در منطقه مشهد به دست آید.

منابع مورد استفاده

1. Abe, N., Murata, T., & Hirota, A. (1998). "Novel 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl- radical scavengers, bisorbicillin and demethyltrichodimerol, from a fungus". *Bioscience of Biotechnology and Biochemistry*, 62: 661-662
2. Arnon, D. (1949). "Copper enzyme polyphenoloxides in isolated chloroplast in *Beta vulgaris*". *Plant Physiology*, 24: 1-15.
3. Bates, L.S., Waldran, R.P., & Teare, I. D. (1973). "Rapid determination of free proline for water studies". *Plant and soil*, 39: 205-208.
4. Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., and Smith, F. (1956). "Calorimetric method for determination of sugars and related substances". *Analytical Chemistry*, 28: 350-356.
5. Hashemi, A., Abdolzadeh, A. & Sadeghipour, H.R. (2010). "Beneficial effects of silicon nutrition in alleviating salinity stress in hydroponically grown canola, *Brassica napus* L., plants". *Soil Science and Plant Nutrition*, 56: 244-253.
6. Heath, R.L., & packer, L. (1969). "Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation". *Archives Biochemistry and Biophysics*, 125: 189-198.
7. Kafi, M., Bagheri, A., Nabati, J., Zare Mehrjerdi, M., & Masomi, A. (2011). "Effect of salinity on some physiological variables of 11 chickpea genotypes under hydroponic conditions". *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 1 (4) :55-70.
8. Khjehpoor, M.R. (2000). *Industrial Crops*. Jahadaneshgahi Esfahan. P. 520.
9. Lichtenthaler, H.K., & Wellburn, A.R. (1983). "Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents". *Biochemical Society Transactions*, 11: 591-592.
10. Maxwell, K., & Johnson, G.N. (2000). "Chlorophyll fluorescence- a practical guide". *Journal of Experimental Botany*, 51: 659-668.



11. **Nabati, J., Kafi, M., Nezami, A., Rezvani Moghaddam, P., Masoumi, A., & Zare Mehrgerdi, M. (2014).** "Evaluation of some physiological characteristics and antioxidants activity in kochia (*Kochia scoparia*) in different of salinity levels and growth stages". Iranian Journal of Field Crops Research, 12(1): 17-26.
12. **Nabati, J., Kafi, M., Nezami, A., Rezvani Moghaddam, P., Masoumi, A., & Zare Mehrjerdi, M. (2013).** "Evaluation of quantitative and qualitative characteristic of forage kochia in different growth under salinity stress". Electronic Journal of crop production, 5(2): 111-128.
13. **Saadatian, B., Soleymani, F., Ahmadvand, G., & Vejdani Aram, S. (2012).** "Investigation of tolerance, yield and yield components of wheat cultivars to salinity of irrigation water at sensitive stages of growth". Iranian Journal of Field Crops Research, 10(4): 726-734.
14. **Singleton, V.L. & Rossi, J.A. (1965).** "Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents". American Journal enology and viticulture, 16: 144-158.