

BARTOSZ TOMASZEWSKI¹
GABRIELA MAJTKOWSKA²
WŁODZIMIERZ MAJTKOWSKI¹

¹ Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — PIB, Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych w Radzikowie, Ogród Botaniczny, Bydgoszcz

² Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — PIB, Zakład Technologii Produkcji Roślin Okopowych, Oddział Bydgoszcz

Zawartość chlorofilu u wybranych ekotypów i odmian prosa różgowatego (*Panicum virgatum* L.) w warunkach zróżnicowanego nawożenia

Chlorophyll content index in selected ecotypes and varieties of switchgrass (*Panicum virgatum* L.) in the diverse fertilization conditions

W latach 2013–2015 prowadzono badania związane z oceną zawartości chlorofilu u ekotypów i odmian prosa różgowatego (*Panicum virgatum* L.), w warunkach zróżnicowanego nawożenia. W trzech fazach rozwoju roślin: kłoszenie, kwitnienie oraz dojrzewanie nasion, oznaczano wskaźnik zawartości chlorofilu (CCI — *Chlorophyll Content Index*). Zastosowano jednorazowe nawożenie mineralne nawozem Polifoska M, w następujących dawkach: I blok — bez nawożenia, II blok — 20 kg Mg /ha, III blok — 40 kg Mg /ha. Przeprowadzone analizy składu chemicznego prób glebowych w latach 2013–2015 wykazały bardzo niską zawartość magnezu (28 – 30 mg/l gleby). Dla obiektów, w każdym bloku nawozowym, wykonywano po 5 pomiarów zawartości chlorofilu w liściu podflagowym w danej fazie rozwojowej. U badanych ekotypów i odmian prosa różgowatego zaobserwowano zróżnicowanie wskaźnika zawartości chlorofilu niezależnie od stosowanej dawki nawozowej. Najwyższe wartości wskaźnika zawartości chlorofilu (CCI) odnotowano w fazie kłoszenia i kwitnienia. Największą zawartością chlorofilu charakteryzowały się obiekty prosa różgowatego nr 1, 2, 3 i odmiana Dacotah. U obiektu *Panicum virgatum* nr 2 i 4 i odmiany Dacotah zaobserwowano wpływ nawożenia na wartości CCI zarówno w fazie kłoszenia, jak i kwitnienia, natomiast u obiektu nr 3, odmiany Summer tylko w fazie kłoszenia, a u ekotypu nr 1 w fazie kwitnienia. Wykazano pozytywny wpływ nawożenia magnezowego na zawartość chlorofilu u badanych obiektów prosa różgowatego.

Słowa kluczowe: chlorofil, nawożenie mineralne, rośliny energetyczne, proso różgowe (*Panicum virgatum* L.)

The evaluation of chlorophyll content index of switchgrass (*Panicum virgatum* L.) ecotypes and varieties in the diverse conditions of fertilization was conducted in years 2013–2015. Chlorophyll content index (CCI) was determined in three phases of plant development: heading, flowering and seed filling. A single fertilization with Polifoska M mineral fertilizer was used, in the following doses: block I — without fertilization, block II — 20 kg Mg/ha, block III — 40 kg Mg/ha. The chemical analyses of composition of soil samples that were conducted in period 2013–2015 showed a very low magnesium content (28–30 mg/l of soil). 5 measurements of chlorophyll content index on underflag leaf were performed for the objects in each fertilization block in particular developmental phases. The differences in the rate of chlorophyll content for the selected ecotypes and varieties of switchgrass were observed, regardless of the dose of fertilizer. The highest values of chlorophyll content index (CCI) were observed in the phases of heading and flowering. Ecotypes 1, 2, 3 of switchgrass and Dacotah variety were characterized by the highest content of chlorophyll. The effect of fertilization on the CCI was observed both in the heading and in the flowering phase for objects 2 and 4, and for Dacotah variety; whereas in the case of object 3 and variety Summer only in the heading phase; and in the case of object 1 only in the flowering stage. The results indicated a positive effect of magnesium fertilization on the chlorophyll content in the tested objects of switchgrass.

Key words: chlorophyll, mineral fertilization, energy crops, switchgrass (*Panicum virgatum* L.)

WSTĘP

Podjęte w 2004 roku, w Ogrodzie Botanicznym Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Bydgoszczy, badania miały na celu ocenę przydatności proso różgowatego (*Panicum virgatum* L.) do celów energetycznych w warunkach klimatycznych Polski. Proso różgowe jest wieloletnią trawą typu C-4, u której wiązanie dwutlenku węgla w procesie fotosyntezy zachodzi zgodnie z reakcjami cyklu Kortschacka, Hatcha i Slacka. Pochodzi z Ameryki Północnej, gdzie występuje jako główny składnik zbiorowisk periowych. Biorąc pod uwagę siedliska w jakich występuje oraz cechy morfologiczne wyróżniono dwa ekotypy tego gatunku: pochodzący z terenów wilgotnych i zalewowych — wysoki, silnie rozkrzewiony, o mocnych łodygach oraz preferujący tereny suche, półpustynne — niższy, mniej rozrośnięty, z delikatniejszymi łodygami (Porter, 1966; Martinez-Reyna i Vogel, 2002). Gatunek ten znalazł zastosowanie jako trawa paszowa, do rekultywacji terenów zdegradowanych oraz jako ceniona trawa ozdobna. Od początku lat 90-tych XX wieku proso różgowe zaczęto wykorzystywać do celów energetycznych, jako źródło etanolu oraz do produkcji energii elektrycznej w USA i Kanadzie. Od 1998 r. prowadzone są badania nad adaptacją i wykorzystaniem proso różgowatego do celów energetycznych i produkcji biomasy w Europie (Elbersen i in., 2001, 2004). Uzyskane wyniki wskazują, że *Panicum virgatum* L. jest gatunkiem dającym wysoki plon biomasy w warunkach klimatycznych Europy (Lasorella i in., 2011).

Przedmiotem badań prowadzonych w Ogrodzie Botanicznym KCRZG w Bydgoszczy w latach 2013–2015 były cztery ekotypy proso różgowatego (*Panicum virgatum*) oraz dwie amerykańskie odmiany — Dacotah i Summer. Obie odmiany zostały wyhodowane w XX wieku, z lokalnych populacji; Dacotah — w 1989 r., Summer — w 1953 r. (Jefferson i McCaughey, 2012). Odmiana Dacotah zaliczana jest do odmian wczesnych, osiągając fazę kwitnienia o ok. 50 dni wcześniej, w porównaniu do późnej odmiany Summer (Tober i in., 2007).

Chlorofil pełni kluczową rolę w procesach biosyntezy zachodzących w zielonych częściach roślin, umożliwiając zamianę energii świetlnej w energię wiązań chemicznych w procesie fotosyntezy (Dżugan, 2006). Chlorofil jest najpowszechniej występującym barwnikiem w roślinach. Częsteczką każdego chlorofilu zbudowana jest z pochodnej porfiryny określanej feoporfiryną. Centralne miejsce w układzie porfiryny zajmuje atom magnezu łączący się z atomami azotu każdego z pierścieni. Wyróżnia się wiele rodzajów chlorofilu. Najbardziej rozpowszechnione w przyrodzie to chlorofil a i chlorofil b, występujące u zielonych glonów oraz wszystkich roślin prowadzących fotosyntezę. Stosunek chlorofilu a do chlorofilu b u roślin wyższych wynosi około 3:1 (Aron, 1949; Rajalakshmi i Banu, 2015). Zawartość chlorofilu oznacza się z reguły biochemiczną metodą Arnona (1956). Metoda ta jest pracochłonna i niszczy badany materiał. Zamiast niej możemy posłużyć się urządzeniami zwanymi chlorofilometrami. Umożliwiają one ocenę całkowitej zawartości chlorofilu na podstawie tzw. indeksu zieloności liścia. Do zalet chlorofilometrów można zaliczyć: małe rozmiary urządzenia i zasilanie bateryjne (pozwalające na wykonywanie pomiarów w terenie), prostotę obsługi, krótki czas pomiaru (dwie sekundy) oraz nieinwazyjność metody (Pacewicz i Gregorczyk, 2009).

Celem pracy było oznaczenie wskaźnika zawartości chlorofilu (CCI — Chlorophyll Content Index) dla ekotypów i odmian *Panicum virgatum* w warunkach zróżnicowanego nawożenia.

MATERIAŁ I METODY

W latach 2013–2015 w Ogrodzie Botanicznym KCRZG w Bydgoszczy, na wybranych obiektach prosa różgowatego (*Panicum virgatum*), prowadzono badania związane z oceną zawartości chlorofilu, w warunkach zróżnicowanego nawożenia. Do badań wytypowano cztery ekotypy oraz dwie odmiany wzorcowe — Dacotah oraz Summer. Doświadczenie założono w trzech powtórzeniach, na glebie płowej właściwej, wytworzonej z gliny zwałowej (klasa IV). Wysadzono po 10 roślin z każdego obiektu, w rozstawie 60 × 60 cm. Na badanych obiektach oznaczano wskaźnik zawartości chlorofilu (CCI — *Chlorophyll Content Index*) za pomocą przenośnego aparatu typu ADC OSI CCM200 PLUS firmy Opti-Sciences. Pomiarów wykonywano w trzech fazach rozwojowych roślin: kłoszenia, kwitnienia oraz dojrzewania nasion. Dla obiektów, w każdym bloku nawozowym, wykonywano po 5 pomiarów na liściu podflagowym w danej fazie rozwojowej. Przeprowadzono analizy składu chemicznego prób glebowych w latach 2013–2015 i porównano je z wynikami z roku założenia doświadczenia (2004). Badania przeprowadzono w próbach ekstrahowanych 0,03 molowym kwasem octowym, metodą Spuwaya w modyfikacji Nowosielskiego i in. (1977) i oceniono według liczb granicznych opracowanych przez Gutmańskiego i in. (2000). W pobranym materiale glebowym w Laboratorium Chemicznym IHAR — PIB, Oddział w Bydgoszczy oznaczono: pH i zasolenie — w H₂O destylowanej, N-NO₃ — przy pomocy elektrody jonoselektywnej, P — metodą kolorymetryczną, Ca, K, Na — metodą spektrometrii emisyjnej, Mg — metodą absorpcji atomowej.

Zastosowano jednorazowe nawożenie mineralne nawozem Polifoska® M w 3 wariantach: I blok — bez nawożenia, II blok (25 kg N, 35 kg P, 100 kg K, 12 kg Mg i 14 kg S na 1 ha), III blok (50 kg N, 70 kg P, 200 kg K, 24 kg Mg i 28 kg S na 1 ha). W każdym bloku nawozowym wykonywano 5 pomiarów zawartości chlorofilu dla każdego obiektu w danej fazie rozwojowej.

Uzyskane wyniki poddano wieloczynnikowej analizie wariancji (ANOVA). Analizy statystyczne przeprowadzono przy pomocy pakietu statystycznego SAS® (SAS, 2004 a, b).

WYNIKI I DYSKUSJA

Analiza składu chemicznego podłoża, na którym założono doświadczenie wykazywała cechy gleby kwaśnej (pH 5,63), o bardzo niskim zasoleniu i bardzo niskiej zawartości magnezu (28 mg/l) (tab. 1).

Tabela 1

Wyniki analizy składu chemicznego podłoża z roku 2004 i w latach 2013-2015
The results of the analysis of the chemical composition of the soil in 2004 and in 2013-2015

Lata Years	pH	Zasolenie (g/l gleby) Salinity (g/dm ³ soil)	K	Ca	Mg	Na	P	N-NO ₃
			(mg/l gleby) (mg/dm ³ soil)					
2004	4,7 bk	0,17 bn	44 bn	383 bn	32 n	—	7 bn	<10 bn
2013	5,63 k	0,12 bn	116 śr	788 śr	28 bn	33 n	40 n	24 śr
2014	6,07 lk	0,02 bn	170 w	541 n	30 bn	32 n	30 n	7 bn
2015	6,03 lk	0,05 bn	91 n	356 bn	22 bn	17 bn	30 n	1,5 bn

Odczyn gleby: bk bardzo kwaśny, k kwaśny, lk lekko kwaśny

Soil pH: bk strongly acidic, k acidic, lk slightly acidic

Zasobność: bn bardzo niska, n niska, śr średnia, w wysoka

Nutrient resources: bn very low, n low, śr average, w high

Badane ekotypy i odmiany prosa różgowatego charakteryzowały się zróżnicowanymi wartościami wskaźnika zawartości chlorofilu (CCI) w zależności od zastosowanej dawki nawozowej oraz fazy rozwojowej. U wszystkich badanych obiektów najwyższe wartości wskaźnika CCI notowano zawsze w powtórzeniu z najwyższą stosowaną dawką nawozową (tabela 2). W wyniku przeprowadzonych analiz najwyższe wartości wskaźnika zawartości chlorofilu obserwowano w przypadku odmiany Dacotah oraz ekotypu nr 1 i 2. Najwyższe wartości wskaźnika CCI dla wszystkich obiektów notowano w powtórzeniu z najwyższą dawką nawozową — od 7,8 dla ekotypu nr 3 do 13,2 dla odmiany Dacotah. Dane literaturowe oraz badania własne wykazały, że wysoka zawartość chlorofilu nie przekłada się bezpośrednio na produktywność oraz wysokość plonów. Potwierdziły to badania prowadzone w Ogrodzie Botanicznym KCRZG w Bydgoszczy. Pomimo wysokiej zawartości chlorofilu u odmiany Dacotah, plon z jednego hektara wynosił ok. 6 t/ha, podczas gdy u odmiany Summer — ok. 18 t/ha (Sprawozdanie, 2010). W warunkach amerykańskich odmiany te plonowały odpowiednio: od 4,5 do 8 t/ha (Dacotah) i od 9 do ponad 20 t/ha (Summer) (Tober i in., 2007; Bransby i Huang, 2014). W przypadku

odmiany Summer i Dacotah obserwowano pozytywne, istotne statystycznie, różnice wpływu nawożenia na zawartość chlorofilu w przypadku stosowania dawki III (tab. 2).

Tabela 2

Wskaźnik zawartości chlorofilu u badanych ekotypów i odmian prosa różgowatego w latach 2013–2015, w zależności od fazy rozwojowej i poziomu nawożenia — wieloczynnikowa analiza wariancji (ANOVA)

Chlorophyll content index in the examined ecotypes and varieties of switchgrass depending on the developmental stages and fertilization level in the years 2013–2015 — analysis of variance (ANOVA)

Obiekt Object	Gatunek Species	Dawka nawozowa Fertilizer dose			Faza rozwoju roślin Developmental stage		
		I	II	III	kłoszenie earing	kwitnienie flowering	dojrzewanie maturing
NIR — LSD	0,6	1			1,3		
<i>Panicum virgatum</i> 1	8,3 _a	7,7 _a	8,7 _a	8,5 _{bc}	10,3 _a	9,3 _b	5,3 _a
<i>Panicum virgatum</i> 2	8,2 _a	7,4 _a	8,2 _a	9,1 _b	10,0 _a	9,0 _b	5,7 _a
<i>Panicum virgatum</i> 3	7,2 _b	7,4 _a	6,4 _c	7,8 _c	8,1 _{bc}	8,8 _b	4,7 _a
<i>Panicum virgatum</i> 4	7,9 _a	7,8 _a	7,5 _{ab}	8,3 _{bc}	9,6 _{ab}	9,2 _b	4,7 _a
<i>Panicum virgatum</i> Dacotah	8,4 _a	5,9 _b	6,2 _c	13,2 _a	9,1 _{abc}	11,2 _a	5,0 _a
<i>Panicum virgatum</i> Summer	7,3 _b	7,2 _a	6,6 _{bc}	8,2 _{bc}	8,6 _{bc}	8,2 _b	5,1 _a

NIR α = 0,05

LSD α = 0.05

a, b, c — grupy jednorodne

a, b, c — homogeneous groups

Wpływ nawożenia na wzrost zawartości chlorofilu u różnych gatunków roślin wykazały również badania Ciećko i in. (2004) oraz Skwaryło-Bednarz i Krzepińko (2009). Właściwie dobrane nawożenie mineralne zarówno makro- jak i mikro-pierwiastkami zapewnia odpowiednie warunki do syntezy chlorofilu i zwiększenia produktywności roślin (Mazur i Rogalski, 1977). Ważne funkcje w roślinie odgrywa magnez, będący centralnym atomem w cząsteczce chlorofilu oraz uczestniczący w wielu procesach fizjologicznych. Jego niedobór powoduje spadek zawartości zielonych barwników, zwłaszcza u starszych liści. Gleby uprawne w Polsce charakteryzują się deficytem całkowitego i przyswajalnego magnezu (Grzebisz i in., 2010). W celu zabezpieczenia właściwego poziomu odżywienia roślin zastosowano nawożenie magnezowe.

U wszystkich badanych ekotypów i odmian prosa różgowatego najniższe wartości wskaźnika zawartości chlorofilu notowano w fazie dojrzewania nasion — od 4,7 dla ekotypu nr 3 i 4 do 5,7 dla ekotypu nr 2 (tab. 2). Pomiędzy fazą dojrzewania nasion a fazą kłoszenia i kwitnienia u wszystkich badanych obiektów obserwowano istotne statystycznie różnice. Gej (1966) podaje, że w fazie intensywnego wzrostu następuje intensywna synteza i wzrost zawartości chlorofilu do wartości maksymalnych, po której zaczyna przeważać rozkład nad syntezą i stężenie zielonego barwnika spada.

Najwyższe wartości wskaźnika CCI dla ekotypów nr 1, 2, 4 oraz odmiany Summer obserwowano w fazie kłoszenia, natomiast w przypadku ekotypu nr 3 i odmiany Dacotah w fazie kwitnienia. Dla wszystkich badanych obiektów stwierdzono istotne statystycznie różnice pomiędzy fazą dojrzewania nasion a fazą kłoszenia oraz kwitnienia (tab. 2).

Istotnie statystycznie różnice pomiędzy fazą kłoszenia i kwitnienia zaobserwowano tylko w przypadku odmiany Dacotah. Badania Liatukasa i in. (2015) prowadzone na obiektach prosa różgowatego potwierdzają wzrost zawartości chlorofilu od momentu wschodów do kwitnienia roślin oraz jego spadek w fazie dojrzewania nasion.

WNIOSKI

1. Stosowanie nawożenia magnezowego ma pozytywny wpływ na zawartość chlorofilu, szczególnie w fazie najintensywniejszego wzrostu roślin — w fazie kłoszenia i kwitnienia.
2. Wysoka zawartość chlorofilu nie świadczy o osiągnięciu wysokich plonów biomasy, które są cechą charakterystyczną dla genotypu.
3. Uzyskane wyniki świadczą o trwałości oraz przystosowaniu wybranych odmian i ekotypów prosa różgowatego do uprawy w warunkach klimatycznych Polski. Pod względem produktywności mogą przewyższać gatunki rodzime.

LITERATURA

- Arnon D. J., Allen M. B., Whatley F. 1956. Photosynthesis by isolated chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta* 20: 449 — 461.
- Aron D. 1949. Copper enzymes isolated chloroplasts, polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*. 24: 1 — 15.
- Bransby D., Huang P. 2014. Twenty-year biomass yields of eight switchgrass cultivars in Alabama. *Bioenergy Res.* 7: 1186 — 1190.
- Ciećko Z., Grzegorzewski K., Żołnowski A., Naumowicz T. 2004. Oddziaływanie nawożenia mineralnego na plonowanie i zawartość cukru w korzeniach oraz zawartość chlorofilu w liściach buraka cukrowego. *Biul. IHAR* 234: 137 — 144.
- Dżugan M. 2006. Czynniki wpływające na stabilność zielonych barwników roślin. *Zesz. Nauk. PTG* 7: 27 — 33.
- Elbersen H. W., Christian D. G., El Bassam N., Bacher W., Sauerbeck G., Aleopoulou E., Sharma N., Piscioneri I., De Visser P., Van Den Berg D. 2001. Switchgrass variety choice in Europe. *Aspects of Applied Biology* 65: 21 — 28.
- Elbersen H. W., Christian D. G., El Bassam N., Sauerbeck G., Alexopoulou E., Sharma N., Piscioneri I. 2004. A management guide for planting and production of switchgrass as a biomass crop in Europe. 2nd World Conference on Biomass for Energy, Industry and Climate Protection, 10–14 May 2004, Rome, Italy.
- Gej B. 1966. Zmiany w zawartości chlorofilu a i b w liściach różnego wieku niektórych roślin dwuliściennych. *Acta Soc. Bot. Pol.* 35: 209 — 224.
- Grzebisz W., Przygocka-Cyna K., Szczepaniak W., Diatta J. B., Potarzycki J. 2010. Magnesium as a nutritional tool of nitrogen efficient management — plant production and environment. *J. Elementol.* 15 (4): 771 — 788.
- Gutmański I., Nowakowski M., Mikita J. 2000. Possibilities of balanced sugar beet nutrition in Poland. *Proc. of the Regional Workshop of BRI, WPI, IPI: Balanced plant nutrition in sugar beet cropping systems for high yield and quality.* Budapest, 1-2 IX 1999: 120 — 130.
- Jefferson P.G., McCaughey W.P. 2012. Switchgrass (*Panicum virgatum* L.) cultivar adaptation, biomass production, and cellulose concentration as affected by latitude of origin. *International Scholarly Research Network, ISRN Agronomy*: 1-9, ID 763046, doi:10.5402/2012/763046.
- Lasorella M. V., Monti A., Alexopoulou E., Riche A., Sharma N., Cadoux S., Diepen K., Elbersen B., Atzema A. J., Elbersen H. W. 2011. Yield comparison switchgrass and miscanthus in Europe. *VP1.3.59 19th European Biomass Conference and exhibition*, 6–10 June 2011, Berlin, Germany.

- Liatukas Ž., Lemežienė N., Butkutė B., Cesevičienė J., Dabkevičienė G. 2015. Chlorophyll values as a measure of genetic variation of switchgrass (*Panicum virgatum* L.) populations under cool temperate climate conditions. *Zemdirbyste-Agriculture* 102, 2: 159 — 166.
- Martinez-Reyna J. M, Vogel K. P. 2002. Incompatibility systems in switchgrass. *Crop Sci.* 42: 1800 – 1805.
- Mazur T., Rogalski L. 1977. Wpływ nawożenia mineralnego na cechy morfologiczne łodyg i zawartość barwników w liściach ziemniaków. *Acta Agrobot.* XXX, 1: 71 — 83.
- Nowosielski O., Szwońek E., Smoter J., Bereśniewicz A., Mijas M., Nowosielska B., Jaszczółt E., Trębski L., Stupnicka H. 1977. Metodyka analizy gleb i ziem ogrodniczych, substratów szklarniowych oraz kompostów w celach diagnostycznych. Zakład Nawożenia Instytutu Warzywnictwa. Skierniewice: 15 ss.
- Pacewicz K., Gregorczyk A. 2009. Porównanie ocen zawartości chlorofilu chlorofilometrami SPAD-502 i N-tester. *Folia Pomer. Univ. Technol. Stetin.* 2009, Agric., Aliment., Pisc. Zootech. 269 (9): 41 — 46.
- Porter C. L. 1966. An analysis of variation between upland and lowland switchgrass, *Panicum virgatum* L., in central Oklahoma. *Ecology* 47: 980 — 992.
- Rajalakshmi K., Banu N. 2015. Extraction and estimation of chlorophyll from medicinal plants. *International Journal of Science and Research* 4 (11): 209 — 212.
- SAS Institute Inc. 2004 a. SAS 9.1 Companion for Windows. Cary, NC, USA, SAS Publishing, SAS Institute Inc.
- SAS Institute Inc. 2004 b. SAS/STAT 9.1 User's Guide. Cary, NC, USA, SAS Publishing, SAS Institute Inc.
- Skwaryło-Bednarz B., Krzepińko A. 2009. Wpływ zróżnicowanego nawożenia NPK na zawartość chlorofilu w liściach dwóch odmian szarłat (*Amaranthus cruentus* L.) uprawianego w siewie szerokokorzedowym. *Acta Agrophysica* 14(2): 469 — 477.
- Sprawozdanie. Majtkowska G. 2010. Sprawozdanie z badań prowadzonych w ramach tematu DS 1-7-00-7-02 „Badanie zmienności cech wybranych gatunków wieloletnich traw typu C-4 fotosyntezy dla upraw energetycznych w Polsce” (badania nie publikowane).
- Tober D., Duckwitz W., Jensen N., Knudson M. 2007. Switchgrass biomass trials in North Dakota, South Dakota and Minnesota. United States Department of Agriculture Natural Resources Conservation Service Bismarck, North Dakota.

http://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_PLANTMATERIALS/publications/ndpmcpu7093.pdf.

