

Sodium Hypochlorite 처리와 광도 및 복토 깊이의 차이가 부들의 종자 발아에 미치는 영향

김영주 · 허진아 · 황용수 · 구자형*

충남대학교 농업생명과학대학 원예학과

Effect of Sodium Hypochlorite Pretreatment, Light Intensity and Depth of Soil Covering on Germination of Cattail(*Typha* spp.) Seeds

Young-Ju Kim, Jin-Ah Heo, Yong-Soo Hwang, Ja-Hyeong Ku*

Department of Horticulture, College of Agriculture and Life Sciences,
Chungnam National University

ABSTRACT

The effect of sodium hypochlorite treatment on the germination of cattail (*Typha* spp.) seeds was investigated in growth chambers maintained on a 14-h photoperiod with various temperatures and light intensities. Germination rates of seeds were, in general, enhanced by the increase of light intensity and temperature regardless of cattail species. Seeds of *T. orientalis* had 4.3, 13.0 and 7.3% germination at temperatures of 20, 25 and 30°C, respectively, under light intensity of 7.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. *T. angustata* showed higher germination rate, thus, 10.7, 22.7 and 50.7% under same temperature and light environment. Under high light intensity of 79.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, the germination rates of *T. orientalis* and *T. angustata* were 78.3% and 88.7% at 30°C, respectively. Scarification of seeds with NaOCl (4%, available chlorine) increased germination rate in both species, especially even at low temperature of 20°C. Germination speed was also enhanced by NaOCl treatment. High light intensity further increased the germination rate. When NaOCl treated seeds were sowed on the soil surface in plastic house, the seedling emergence was nearly 100%. Untreated seeds of *T. orientalis* and *T. angustata* showed 40 and 50%, respectively, in germination under same condition. However, when the

*Corresponding author. Tel : 042-821-5735
E-mail : kujja99@cnu.ac.kr

depth of soil covering was over 1.0 cm, seedling emergence was retarded more than 1 month. On the process of seedling development, emergence of mesocotyl occurred firstly and after than primary root and first leaf were developed on the end of elongated mesocotyl. These results suggest that the promotion of seed germination by NaOCl pretreatment may be induced from the increase of light absorptivity as well as water permeability through scarifying and bleaching the seed coat.

Key words : seed germination, temperature, *Typha orientalis*, *Typha angustata*, seedling development

서 론

우리나라에는 쭈부들(*Typha orientalis* Presl), 애기부들(*Typha angustata* Bory et Chaub.), 큰부들(*Typha latifolia* L.)의 3가지 종이 습지에 자생하는 것으로 알려지고 있다 (Im, 1998; Lee, 1996). 큰부들과 쭈부들은 수술과 암술이 붙어 있어 잎의 넓이로 구분하지만 애기부들은 잎이 좁으면서 암술 윗부분과 수술이 4-6cm 정도 분리되어 있는 것이 특징이다. 우리나라의 경우 전국에 걸쳐 가장 흔하게 발견되는 것은 애기부들이고 다음으로 쭈부들이며 큰부들의 분포는 매우 드물다. 미국에서는 잎이 넓은 것을 broad-leaved cattail(*Typha latifolia* L.) 또는 common cattail로 부르고, 잎이 좁은 것을 narrow-leaved cattail(*Typha angustifolia* L.)로 부른다. 후자의 경우 우리나라에서 자생하는 애기부들과 같이 수술과 암술부분이 분리되어 있으나 형태학적으로는 특성이 다소 다른 것으로 파악되고 있다(Apfelbaum, 2002; Im, 1998; Sojda and Solberg, 1993).

포황이라 불리는 부들의 화분은 한약 재료로 많이 사용되며(Im, 1998) 식용가치도 매우 높다. 어린 싹이나 줄기, 뿌리 등도 식용으로 이용이 시도되고 있다(Bankston and Clarke,

1977; Harrington, 1972; Murphy, 1959). 수로에서는 물의 흐름을 막아 잡초로서 취급되기도 하지만 최근에는 습지에서 오염물질의 정화에 큰 역할을 하는 것은 물론(Goulet and Pick, 2001; Reuter et al., 1992), 생태 조경재료로 그 이용 가치가 점점 확대되어 가고 있다. 부들은 지상부 및 근경의 발달이 왕성하여 많은 양의 biomass를 생산하기 때문에 미래의 bio-energy 작물로 주목을 받고 있다(Ciria et al., 2005; Dubbe et al., 1988). 그러나 필요한 장소에 부들을 식재하고자 할 때는 식물체를 구하기 어려운 실정이며 국내에서는 아직 재배하여 번식되는 경우도 드물다. 그 이유는 종자번식에 대한 체계가 정립되어 있지 않기 때문이다. 부들을 환경정화식물로 이용하고 나아가서 습담의 활용을 위하여 식용 또는 자원식물로 재배 생산하는 것은 매우 의미 있는 시도라 할 수 있다. 따라서 본 연구는 부들의 실생번식을 위한 발아특성을 구명하기 위하여 실시하였으며 우선 sodium hypochlorite에 의한 종피처리의 효과 (Drew and Brocklehurst, 1984; Hasiao and Quick, 1984; Hasiao et al., 1981; Haynes et al., 1997; Ku et al., 1996; Ku and Song, 2002; Ponzio, 1998)와 광도 및 복토 깊이에 따른 종자 발아의 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

대전근교의 습지에서 11월 하순경에 야생의 쯤부들(*T.orientalis*), 애기부들(*T. angustata*) 이삭을 채취하여 실온에 보관하면서 종자를 채취하였다. 솜털에 부착되어 있는 종자는 충분히 물속에서 침지시킨 다음 막대로 휘저어 솜털과 종자를 분리시키고 물에 가라앉은 종자만을 채취하였다. 채취한 종자는 음건 후 4℃ 냉장고에 보관하였다. 종자처리는 sodium hypochlorite (NaOCl) 용액(유한락스, 유효염소량 4%)을 2 또는 4시간 처리하고 흐르는 물에 12시간 이상 수세하였다. 종피처리된 종자들을 다시 음건하여 4℃ 냉장고에 저장하면서 공시재료로 사용하였다. 직경 9cm의 Petri-dish에 여과지를 깔지 않고 20mL의 증류수를 넣은 후 100립의 종자를 물속에 충분히 잠기도록 파종하여 20, 25, 30℃의 성장상(주간/야간=14/10)에서 8일간 발아시키며 조사하였다. 광도조절은 차광막을 사용하여 PAR 7.5, 12.0, 24.5, 40.0, 79.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 으로 조절하였다. 종자에서 중경(mescotyl)이 1.0mm 이상 나오는 종자를 발아된 것으로 계산하였다. 파종 후 복토의 두께에 따른 유묘출현률 조사하기 위해 유리온실 내에서 바닥이 막혀 있는 직경 400mL(직경 10cm)의 플라스틱 포트에 수도용 상토(부농)와 모래를 각각 1:1의 비로 혼합한 토양을 채우고 종자 50립씩을 파종한 후 0, 1, 2, 4cm의 깊이로 복토하고 담수상태로 두었다. 신초가 흙 표면 위로 나와 온전하게 자라는 것을 출현된 것으로 계산하고 1개월 간 측정하였다. 종자발아 과정의 Micro Hi-vision(Han Ra Precision Co., Ltd.)을 사용하여 관찰하였고 시험구의 배치는 난괴법 3반복으로 하였다.

결과 및 고찰

광도, Sodium hypochlorite (NaOCl)처리 및 온도 차이가 발아에 미치는 영향

Table 1은 20℃의 발아조건에서 광도에 따른 발아율 차이와 NaOCl 처리 효과를 살펴본 결과이다. 쯤부들에서 종피처리 되지 않은 종자는 광도가 낮은 7.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 에서는 4.3%에 불과하였으나, 광도가 높아질수록 발아율이 다소 증진되는 결과를 보여 광도가 충분한 것으로 생각되는 79.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 에서는 31.3%의 발아율을 보였다. NaOCl 처리된 종자는 2시간 처리에 비해 4시간 처리에서 더 높은 발아를 증진시킨 결과를 보였고 12.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 의 비교적 낮은 광도에서도 가장 높았던 광도에서의 무처리 종자 발아율과 비슷한 결과를 보였다. 또한 4시간 처리된 종자는 20℃의 낮은 온도에서도 가장 높은 광도에서는 97.3%의 발아율을 보여 종피처리로 저온에 의한 발아억제를 완전하게 회피시킬 수 있었다. 쯤부들에 비해 애기부들 종자는 낮은 광도에서 발아율이 다소 높은 것을 나타냈는데 가장 낮은 광도인 7.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ 에서 10.7%를 보였고, NaOCl에 4시간 처리된 종자의 발아율은 쯤부들에서 27%를 보인데 비하여 63%의 높은 발아율을 나타냈다. 다소 높은 광도인 12.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 에서는 4시간의 NaOCl 처리로 86.3%까지 발아율을 향상시킬 수 있었다. NaOCl 처리는 종자의 종류에 관계없이 발아속도를 촉진시켜 50%까지 발아되는 기간을 크게 단축시킬 수 있었다.

Table 2는 25℃에서의 종자발아 추세를 나타낸 결과이다. 무처리 종자의 경우 제일 높았던 광도에서 쯤부들과 애기부들은 각각 58%와 77%를 보여 발아에 충분한 온도조건은 되지 못하는 것으로 파악되었다. 광도의 증가에 따

Table 1. Effect of light intensity and NaOCl (4% available chlorine) pretreatment on germination percentage and days to 50% of total germination (T_{50}) of *T. orientalis* and *T. angustata* seeds at 20°C.

Light intensity ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	NaOCl (h)	<i>T. orientalis</i>		<i>T. angustata</i>	
		Germination (%)	T_{50} (d)	Germination (%)	T_{50} (d)
7.5	0	4.3	-	10.7	-
	2	11.0	-	23.0	-
	4	27.0	-	63.0	4.3
12.0	0	10.3	-	18.3	-
	2	11.3	-	34.0	-
	4	34.7	-	86.3	5.0
24.5	0	12.3	-	26.0	-
	2	25.7	-	80.0	5.0
	4	63.3	5.3	92.3	3.3
40.0	0	24.0	-	29.3	-
	2	48.0	-	84.0	4.7
	4	68.7	4.3	96.7	3.0
79.5	0	31.3	-	34.7	-
	2	52.7	4.7	90.3	4.7
	4	97.3	4.3	97.3	4.3
Significance					
Light intensity (A)		**		**	
NaOCl (B)		**		**	
A×B		**		**	

**Significance at 1%.

른 발아율의 향상은 두 종류의 종자 모두 뚜렷하게 나타났으며 20°C의 발아율과 비교할 때 보다 낮은 광도하에서 발아율이 높아지는 경향을 보였다. NaOCl처리의 발아 증진효과는 20°C에서보다 높게 나타나 줌부들의 경우 4시간 처리에서, 애기부들은 2시간처리로 제일 낮은 광도인 $7.5\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 에서 각각 84.3%와 83.5%의 높은 발아율을 얻을 수 있었다. 두 종간에 발아율 차이는 모든 광도에 걸쳐 애기부들에서 더 높은 경향으로 나타났다.

공시 온도 중 가장 높았던 30°C에서의 종자 발아율은 Table 3에서와 같았다. 무처리 종자

에서 줌부들의 경우 낮은 광도인 $7.5\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 에서는 7.3%에 불과한 발아율을 보였으나 애기부들의 경우는 50.7%까지 발아되었다. 이에 비해 $79.5\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 의 광도에서는 각각 78.3%와 88.7%의 발아율을 보여 30°C 이상의 온도에서 충분한 광조건이 주어진다면 높은 발아율을 얻을 수 있을 것으로 보였다. NaOCl처리는 온도가 증가할수록 더 증진되어 제일 낮은 광도에서 줌부들의 경우 2시간처리로 74.3%의 발아율을 얻을 수 있었고 애기부들에서는 99%까지 높일 수 있었다.

이러한 결과들은 부들종자의 발아는 온도와 광도가 다 같이 중요한 요인으로 작용하는 것

Table 2. Effect of light intensity and NaOCl (4% available chlorine) pretreatment on germination percentage and days to 50% of total germination (T_{50}) of *T. orientalis* and *T. angustata* seeds at 25°C.

Light intensity ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	NaOCl (h)	<i>T. orientalis</i>		<i>T. angustata</i>	
		Germination (%)	T_{50} (d)	Germination (%)	T_{50} (d)
7.5	0	13.0	-	22.7	-
	2	44.3	-	85.3	3.0
	4	84.3	3.3	90.7	2.0
12.0	0	14.7	-	51.7	4.7
	2	69.0	3.0	92.3	3.0
	4	88.7	2.3	100.0	2.7
24.5	0	31.7	-	62.0	2.7
	2	92.7	3.0	93.7	3.0
	4	98.7	2.0	100.0	2.0
40.0	0	62.0	3.3	66.3	4.3
	2	99.0	3.0	96.0	2.3
	4	96.7	2.0	98.0	2.0
79.5	0	58.0	3.7	77.0	3.3
	2	98.0	3.0	100.0	3.0
	4	97.3	2.7	100.0	2.0
Significance					
Light intensity (A)		**		**	
NaOCl (B)		**		**	
A×B		**		**	

**Significance at 1%.

임을 시사해주는 것으로 해석할 수 있다. Ku와 Song(2002)은 쯤부들 종자의 발아에서 NaOCl 처리에 의한 발아촉진을 투수성 증대로 추측한 바 있고, Smith(1967)는 습한 조건에 있는 종자는 건조한 종자에 비해 발아율이 월등히 높은 것을 보고한 바 있다. 본 시험에서 발아 온도가 높아짐에 따라 발아율이 증진되는 것은 투수성의 증대에 의한 결과로 해석할 수 있다. 그러나 동일한 온도 조건, 특히 발아온도가 낮은 경우에 광의 세기가 높아짐에 따라 발아율이 증진되는 것은 투수성 증대 외에 광이 발아에 크게 간여함을 시사하는 결과로 볼 수 있다. 실제로 NaOCl에 의한 종자

처리는 종피의 갈색정도를 현저히 탈색시켜 주는 것을 볼 수 있었다. 따라서 부들 종자의 발아를 촉진시키는 NaOCl 처리 효과는 종피를 탈색시키거나 부식시켜 투수성을 증대시키는 외에 광을 많이 수용할 수 있도록 하는 역할이 큰 것으로 파악된다.

복토 깊이의 차이가 유묘 출현률에 미치는 영향

본 시험은 위 경우와는 다르게 온실에서 종자파종 후 복토의 깊이에 따른 유묘 출현률의 차이를 알아보고자 실시하였다. 쯤부들과 애기부들 모두 흙 표면 위에서는 무처리 종자에서 각각 40%와 50%의 출현률을 보였으나

Table 3. Effect of light intensity and NaOCl (4% available chlorine) pretreatment on germination percentage and days to 50% of total germination (T_{50}) of *T. orientalis* and *T. angustata* seeds at 30°C.

Light intensity ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	NaOCl (h)	<i>T. orientalis</i>		<i>T. angustata</i>	
		Germination (%)	T_{50} (d)	Germination (%)	T_{50} (d)
7.5	0	7.3	-	50.7	3.0
	2	74.3	2.7	99.0	2.0
	4	90.7	2.0	95.7	2.0
12.0	0	7.3	-	64.7	2.3
	2	89.3	2.0	100	2.0
	4	94.0	2.0	99.7	2.0
24.5	0	58.3	2.3	66.0	3.3
	2	96.7	2.0	100.0	2.0
	4	99.0	2.0	100.0	2.0
40.0	0	62.3	2.7	80.0	2.0
	2	97.7	1.7	100.0	2.0
	4	99.7	2.0	100.0	2.0
79.5	0	78.3	2.0	88.7	3.0
	2	97.7	2.0	100.0	2.0
	4	99.0	2.0	100.0	2.0
Significance					
Light intensity (A)		**		**	
NaOCl (B)		**		**	
A×B		**		**	

**Significance at 1%.

NaOCl에 처리 종자는 두 종류 모두 100%에 가까운 출현률을 보였다. 그러나 종자가 1cm의 깊이만 들어가도 NaOCl 처리시간에 관계 없이 1개월간에 걸쳐 유묘 출현이 거의 진전되지 않았다(Table 4). 이는 물속에서 1cm의 토양 깊이에 묻혀 있어도 광의 도달이 발아를 촉진할 수 있을 정도에 미치지 못한데 기인되는 결과로 해석된다. 종자 파종에 의한 부들의 번식과정에서는 수분이 포화된 상태의 배양토 위에 파종하고 발아된 종자가 물에 유동되지 않을 정도의 파종화 상태를 유지하면서 충분한 광조건을 주어야 많은 묘를 얻을 수 있었다.

종자의 발아과정

Fig. 1은 부들의 발아과정을 나타낸 그림으로 처음 중경이 발생하여 어느 정도 자란 후에 끝부분에서 주근과 잎이 자라고 다음에 측근이 발생하는 것을 볼 수 있다. 다른 종자와 같이 종자 발아시 유근이 먼저 발생되지 않고 중경이 먼저 자라기 때문에 토양활착은 물의 유동이 적어야 쉽게 이루어질 수 있었다. 관리의 부족으로 어린 식물체가 일단 물에 뜨게 되면 활착이 아주 어려울 뿐만 아니라 어린 유충들의 먹이가 되는 것도 자연 상태에서 종자에 의한 번식이 쉽지 않은 또 하나의 원인으로 판단되었다.

Table 4. Effect of depth of soil covering and NaOCl(4% available chlorine) pretreatment on seedling emergence percentage of *T. orientalis* and *T. angustata* seeds examined at 1 month after sowing in green house.

Soil depth (cm)	NaOCl (h)	Germination (%)	
		<i>T. orientalis</i>	<i>T. angustata</i>
0	0	40.0	54.0
	2	100.0	100.0
	4	100.0	100.0
1	0	0.7	0.0
	2	0.0	0.0
	4	0.0	0.7
2	0	0.0	0.0
	2	0.0	0.0
	4	0.0	0.0
4	0	0.0	0.0
	2	0.0	0.0
	4	0.0	0.0

Significance

Soil depth(A)

NaOCl(B)

A×B

**

**

**

**

**

**

**Significance at 1%.

요약

부들종자는 종간에 차이가 없이 20℃에 비해 25℃와 30℃에서 더 높은 발아율을 보였고, 약광하에서 보다 강 광하에서 높은 발아율을 보였다. 발아 온도 20, 25, 30℃에서 무처리 종자의 발아율은 가장 낮은 광도인 $7.5 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 에서 쯤부들이 각각 4.3, 13.0, 7.3%였고, 애기부들 10.7, 22.7, 50.7%였다. 이에 비해 가장 높은 광도인 $79.5 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 에서는 발아온도가 30℃일 경우에 쯤부들은 78.3%, 애기부들은 88.7%의 높은 발아율을 보였다. NaOCl용액(4% available chlorine) 처리는 낮은 온도 및 약 광에서의 발아를 크게 촉진시켰으며 발아시간을 단축시켰다. 무처리 종자의 경우 온도가 높아질수록 낮은 광도에서 발아율이 더 높아졌고 온도가 높아질수록 짧은 시간의 NaOCl 처리로 높은 발아율을 얻을 수 있었다. NaOCl에 처리된 종자는 쯤부들과 애기부들 모두 흙 표면 위에서

100%의 발아율을 보였으나 무처리 종자는 각각 40%와 50%의 발아율 보였다. 복토깊이가 1cm 이상이 되면 1개월 이상 발아가 진행되지 않았다. 종자발아 과정은 중경이 먼저 길게 나온 다음, 중경 끝에서 초엽과 주근이 발생하고 다음으로 측근이 발생하는 양상을 보였다. 부들류의 종자에 있어서 NaOCl 처리에 의한 발아 촉진 효과는 종피의 탈색과 부식으로 인한 광흡수의 증대에서 기인되는 것

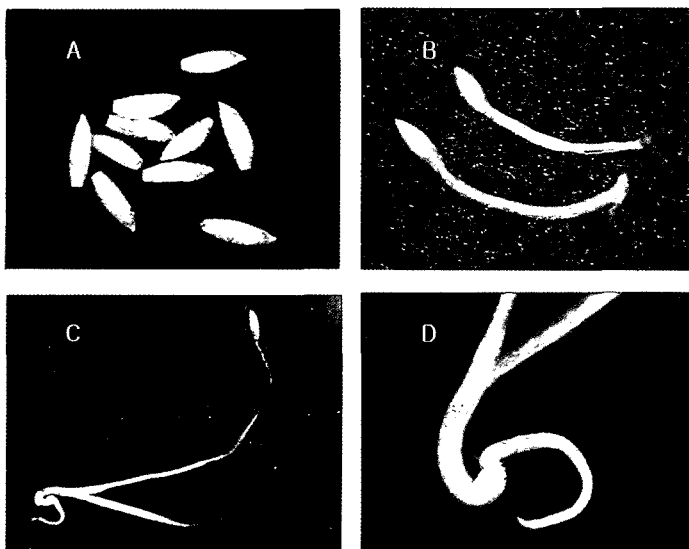


Fig. 1. Process of seedling development in *T. orientalis*. A=seeds, B=emergence of mesocotyl, C=growth of a primary root and first leaf, D=development of lateral roots.

으로 추측된다.

참고문헌

1. Apfelbaum, S.I. 2002. Cattail(*Typha* spp.) management. <http://www.appliedeco.com/Project/Cattailmanage.pdf>.
2. Bankston, J.L. and C.B. Clarke. 1977. Edible and useful plants of California. Univ. Cal. Press.
3. Ciria, M.P., M.L. Solano, and P. Soriano. 2005. Role of macrophyte *Typha latifolia* in a constructed wetland for wastewater treatment and assessment of its potential as a biomass fuel. Biosystems Engineering 92:535-544.
4. Drew, R.L.K. and P.A. Brocklehurst. 1984. The effect of sodium hypochlorite on germination of lettuce seed at high temperature. J. Exp. Botany 35:975-985.
5. Dubbe, D.R., E.G. Garver, and D.C. Pratt. 1988. Production of cattail (*Typha* spp.) biomass in Minnesota, USA. Biomass 17:79-104.
6. Goulet, R.R. and F.R. Pick. 2001. The effect of cattails(*Typha latifolia*) on concentrations and partitioning of metals in surficial sediments of surfaceflow constructed wetland. Water, Air, Soil Poll. 132:275-291.
7. Harrington, H.D. 1972. Western edible wild plants. The Univ. New Mexico Press.
8. Hsiao, A.I. and W.A. Quick. 1984. Action of sodium hypochlorite and hydrogen peroxide on seed dormancy and germination of wild oat, *Avena fatua* L. Weed Research 24:411-419.
9. Hsiao, A.I., A.D. Worsham, and D.E. Moreland. 1981. Effects of sodium hypochlorite and certain growth regulators on germination of witchweed(*Striga asitica*) seeds. Weed Sci. 29:98-100.
10. Haynes, J.R., W.G. Pill, and T.A. Evans. 1997. Seed treatments improve the germination and seedling emergence of switchgrass(*Panicum virgatum* L.). HortScience 32:1222-1226.
11. Im, R.J. 1998. Flora Medica Coreana. Vol 2. Agr. Pub. House. Pyongyang. Korea.
12. Ku, J.H., T.I. Kim, and D.W. Jun. 1996. Effect of sodium hypochlorite treatment on germination of spinach seeds. Kor. Soc.Hort. Sci. 37:357-361.
13. Ku, J.H. and J.W. Song. 2002. Effect of sodium hypochloite on seed germination of *Typha orientalis* Presl. J. Environ. Sci. Tech. 20:50-55.
14. Lee, Y.N. 1996. Flora of Korea. Kyohak Pub. Co., Ltd. Seoul, Korea.
15. Murphy, E.V.A. 1959. Indian uses of native plants. Univ. Cal. Press.
16. Ponzio, K.L. 1998. Effects of various treatments on the germination of sawgrass, *Cladium jamaicense* Cranz, seeds. Wetlands 18:51-58.
17. Reuter, J.E., T.Djohan, and C.R. Goldman. 1992. The use of wetlands

- for nutrient removal from surface runoff in a cold climate region of California results from a newly constructed wetland at Lake Tahoe. *J. Environ. Manage.* 36:35-53.
18. Smith, S.G. 1967. Experimental and natural hybrid in North America *Typha* (Typhaceae). *The Amer. Mid. Nat.* 78:257-287.
19. Sojda, R.S. and K.L. Solberg. 1993. Management and control of cattails. *Waterfowl Management Handbook. Fish and Wildlife Leaflet* 13.4.13. <http://www.mesc.usgs.gov/produces/000/pdf>.