



ارزیابی دو روش اندازه گیری اندام زیرزمینی چمن پوآ (*Poa pratensis* cv. Barimpala) تحت تاثیر تنظیم کننده های رشد و تیمارهای آبیاری

ایمان روح الهی^{۱*} - محسن کافی^۲

تاریخ دریافت: ۸۸/۶/۱

تاریخ پذیرش: ۸۹/۴/۵

چکیده

روش های متعدد و گوناگونی جهت مطالعه ریشه پیشنهاد شده است، در واقع با استفاده از یک روش اندازه گیری نمی توان در تمام موقعیت ها اقدام به اندازه گیری خصوصیات ریشه چمن نمود. این آزمایش به صورت اسپلیت پلات در قالب بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. تغییر چگالی طول ریشه^۳، سطح ریشه و قطر ریشه با استفاده از دو روش ۱. دستگاه اندازه گیری سطح برگ (مدل تجزیه تصویری دلتا تی اسکن) ۲. روش محاسباتی، تحت تاثیر ترینگزاپک اتیل و پاکلوبوترازول و تیمارهای آبیاری (۲، ۵ و ۱۰ روز یکبار) مورد ارزیابی قرار گرفت. تیمارهای آبیاری تاثیر معنی داری روی چگالی طول ریشه و سطح ریشه نشان ندادند. پاکلوبوترازول در روش دوم به نحو معنی داری چگالی طول ریشه را کاهش داد ولی در روش اول تاثیر معنی داری روی این صفت نداشت. نتایج حاصل از دو روش علی رغم دقت فراوان متفاوت بودند که با توجه به گزارشات متفاوت موجود، هر یک از روش ها در جای خود قابل تایید می باشد. در جهت انجام مطالعات صحیح روی ریشه بهتر است روش اندازه گیری خصوصیات ریشه را با توجه به خصوصیات ریشه گیاه مورد نظر و نوع فاکتور مورد ارزیابی انتخاب نماییم. در نهایت با توجه به تراکم بالای ریشه در چمن و ظرافت آن که مانع جدا کردن ریشه ها می شود، استفاده از روش محاسباتی بهتر می باشد.

واژه های کلیدی: ریشه، تنظیم کننده های رشد، تیمارهای آبیاری، *Poa pratensis*

مقدمه ۲۲۱

برخی دیگر به ارزیابی ریشه دهی با مینی- ریزوترون^۴ (۳) یا دستگاه اندازه گیری سطح برگ پرداخته اند و همچنین در روش هایی نیز چمن های رل یا گلدانهای تیمار شده، مورد ارزیابی قرار گرفته اند (۷). تنظیم کننده هایی چون ترینگزاپک اتیل و پاکلوبوترازول بازدارنده هایی هستند که جهت جلوگیری از تولید مواد خشک حاصل از سربرداری، افزایش پنجه زنی، بهبود رنگ و حتی جهت ایجاد نمایی بهتر از سطح پوششی به کار می روند. ترینگزاپک اتیل و پاکلوبوترازول هر دو سطوح جیبرلین فعال گیاه که عامل تولید شدن سلولها و رشد عمودی گیاه است را کاهش می دهند (۳). ایجاد خسارت هایی چون سمیت برای شاخساره و کاهش رشد ریشه همراه با کاربرد بازدارنده های تقسیم سلولی، کاهش کاربرد این تنظیم کننده های رشد را به همراه داشته است (۹). از سال ۱۹۹۰ با ارائه تنظیم کننده رشد ترینگزاپک اتیل، استفاده از آن همانند کاربرد نیتروژن در برنامه های مدیریتی زمین های چمن با کیفیت بالا قرار گرفت (۷). اما طی این مدت همواره این نگرانی وجود داشته است که رشد ریشه ها به دلیل

ارتباط گیاه با آب عمدتاً از طریق ریشه صورت می گیرد. بنابراین در بررسی روابط آب و گیاه باید به سیستم ریشه ای گیاهان و نقش آن ها در جذب آب و نمو گیاه نیز توجه شود. مشاهده و اندازه گیری سیستم ریشه در گیاه بسیار وقت گیر است. بخصوص این که هرگونه اقدام برای چنین مطالعاتی مستلزم بهم زدن وضعیت طبیعی ریشه ها بوده و باعث می شود که نتایج حاصل از مطالعات با واقعیت تطابق نداشته باشد. از طرفی راهبردهای تحقیقاتی در ارزیابی اثر تنظیم کننده های رشد بر ریشه دهی نیز متفاوت است برخی به ارزیابی اثر تنظیم کننده ها بر رشد چمن در مزرعه و بیوماس نمونه های ریشه و

۲۰۱- دانشجوی دکتری و دانشیار دانشکده مهندسی باغبانی و فضای سبز، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران
* - نویسنده مسئول: imanroohollahi@gmail.com (Email)

3- RLD (Root Length Density)

4- Mini- rhizotron

لومی (رس ۱۲/۳ درصد، سیلت ۲۲/۳ درصد، شن ۶۵/۴ درصد) پر شده بودند، کاشته و تحت شرایط طبیعی رشد یافتند. در انتهای هر یک از ستون ها جهت جلوگیری از خروج خاک ارتفاعی حدود ۳ سانتیمتر سنگریزه درشت ریخته شده بود. تا زمان کاربرد تنظیم کننده های رشد، چمن ها به صورت هفتگی در ارتفاع ۴ سانتیمتر به صورت دستی سربرداری و به مدت ۷۵ روز، اجازه داده شد تا کاملاً استقرار یابند. مطالعه حاضر شامل سه تیمار آبیاری بود: ۱- آبیاری هر ۲ روز یک بار ۲- آبیاری هر ۵ روز یک بار ۳- آبیاری هر ۱۰ روز یک بار. تمامی ستون ها یک روز قبل از اولین هورمون پاشی سربرداری شدند. پاکلوبوترازول، در غلظت های ۴۰۰،۰ و ۶۰۰ گرم در هکتار و ترینگزپاک اتیل هم در غلظت های ۱۰۰،۰ و ۲۰۰ گرم در هکتار با کار گرفته شدند.

بعد از پایان آزمایش تمام ستون ها برای مدتی در آب غوطه ور شده و سپس به راحتی روی یک توری سیمی با دقت تمام تخلیه شدند، بعد از خروج ریشه ها از ستون ها و شستشوی کامل، به دو روش زیر جهت اندازه گیری چگالی طول ریشه RLD و سطح ریشه RLA اقدام شد.

- ۱- در روش اول با استفاده از دستگاه اندازه گیری سطح برگ^۴ مدل تجزیه تصویری دلتا تی اسکن^۵، طول کل ریشه ها، سطح ریشه ها و میانگین قطر ریشه ها محاسبه شد. جهت این کار از هر توده خارج شده از گلدان ۱۰ نمونه به صورت تصادفی با دقت فراوان به نحوی که هر گیاهچه سالم بوده و هیچ پارگی در حد امکان در ریشه های آن رخ نداده باشد جدا شد. سپس با دستگاه، ریشه ها اسکن و آنالیز آنها با نرم افزار مربوطه انجام شد (شکل ۱- الف).
- ۲- در روش دوم ریشه ها از اندام های هوایی جدا شده و با استفاده از روش محاسباتی (۵ و ۱۳) اقدام به اندازه گیری سطح و طول ریشه ها نمودیم (شکل ۱- ب).
- تجزیه واریانس داده ها با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد (۱۴) و جهت مقایسه میانگین ها آزمون چند دامنه ای دانکن مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج و بحث

روش اول (استفاده از دستگاه اندازه گیری سطح برگ)

اندازه گیری خصوصیات ریشه به کمک دستگاه اندازه گیری سطح برگ نشان داد که تیمار های آبیاری تاثیر معنی داری روی چگالی طول ریشه و سطح ریشه نداشته (جدول ۱) ولی تیمار آبیاری ۱۰ روز یک بار به نحو معنی داری قطر ریشه را نسبت به دو تیمار آبیاری دیگر کاهش می دهد (جدول ۴).

وابستگی کامل آنها به تامین کربوهیدرات های مورد لزوم از بخش هوایی گیاه در اثر استفاده از این عوامل کاهش دهنده سطح برگ کاهش یابد. نادری و کافی (۲) در پی کاربرد ترینگزپاک اتیل، جهت افزایش عمر انبارداری چمن های رل^۱، تغییرات معنی دار وزن خشک ریشه را گزارش کردند.

طی بررسی اثر ترینگزپاک اتیل روی ساختار ریشه چمن پوآ با استفاده از دستگاه واین رایزو^۲، بیسلی و برانهام (۳) اعلام کردند که چگالی طول ریشه و سطح ریشه در ۴ هفته بعد از اعمال تیمار افزایش ولی بعد از این مدت هیچ تفاوتی بین چمن های تیمار شده و شاهد مشاهده نشد. بیسلی و برانهام (۴) نشان دادند که ترینگزپاک اتیل تاثیری بر ریشه ها نداشته ولی پاکلوبوترازول، ۴۲۰ گرم در هکتار حدود ۲۰ درصد چگالی طول ریشه را کاهش می دهد. طی همین مطالعه نشان داده شد که دو تنظیم کننده رشد ترینگزپاک اتیل و پاکلوبوترازول تاثیری روی قطر ریشه ندارند. جیانگ و فرای (۱۰) طی دو سال تحقیق روی کاربرد تنظیم کننده های رشد ترینگزپاک اتیل و پاکلوبوترازول در غلظت های ۱۳۴ و ۵۵۳ گرم در هکتار نشان دادند که تنها ترینگزپاک اتیل تراکم ریشه را کاهش نداده است. فیگرنس و یلورتون (۶) طی کاربرد پاکلوبوترازول و ترینگزپاک اتیل روی چمن بنت گراس اعلام کردند که هیچ یک از غلظت های این دو تنظیم کننده رشد ریشه دهی چمن بنت گراس را افزایش نداده و پاکلوبوترازول در غلظت ۵۶۰ گرم در هکتار وزن خشک ریشه را کاهش می دهد. مک کلوق و همکاران (۱۱) نیز کاهش چگالی طول ریشه را به دنبال کاربرد پاکلوبوترازول گزارش کردند. مارک و جیانگ (۱۲) اعلام کردند که گسترش ریشه های فستوکای بلند بعد از کاربرد پاکلوبوترازول و ترینگزپاک اتیل کاهش می یابد. گلینسکی و کارنوک (۸) اعلام کردند که چگالی طول ریشه RLD بیشتر بیانگر کمیت ریشه موجود در خاک است و میزان گسترش ریشه در خاک را نشان نمی دهد ولی سطح طول ریشه RLA^۳ (سطح ریشه موجود در خاک) بیشتر بیانگر میزان گسترش ریشه در خاک است.

مواد و روش ها

با هدف ارزیابی دو روش اندازه گیری اندام زیرزمینی چمن این پژوهش در یک طرح آزمایشی اسپلیت پلات در قالب بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شده. بذور چمن پوآ (*Poa pratensis* cv. Barimpala) در گلدان های پی وی سی به عمق ۶۰ سانتی متر و قطر دهانه ۱۵ سانتی متر که یک طرف آنها با پوشش فایبرگلاس دارای سوراخ هایی به قطر ۲/۵ سانتی متر بسته شده و با خاک شن -

1- Roll

2- WinRhizo (version 5.0A, Regent instrument Inc., Quebec, Canada)

3- Root Length Aera

4- Leaf area meter

5- Delta-T-Scan Image Analysis System

شکل ۱- الف. اندازه گیری خصوصیات ریشه با استفاده از دستگاه دلتا تی اسکن ب. اندازه گیری خصوصیات ریشه با استفاده از روش نیومن و

بوهم



کننده های رشد و آبیاری روی چگالی طول ریشه و سطح ریشه در هیچ یک از روش های ذکر شده معنی دار نبود (جدول ۲).

تاثیر تیمار های تنظیم کننده های رشد مورد نظر بر روی سطح ریشه معنی دار بود (جدول ۲)، ترینگزاپک اتیل در غلظت ۲۰۰ گرم در هکتار و پاکلوبوترازول در هر دو غلظت خود سطح ریشه را به نحو معنی داری نسبت به شاهد کاهش دادند. تاثیر کاهشی ترینگزاپک اتیل با نتایج جیانگ و فرای (۱۰) مغایرت دارد زیرا در این تحقیق ترینگزاپک اتیل تنها تنظیم کننده رشدی بود که سطح ریشه را کاهش داد. به طور کلی همانطور که بیان شد این روش اندازه گیری ریشه نشان می دهد که ترینگزاپک اتیل هیچ گونه تاثیر منفی بر چگالی طول ریشه نداشته ولی پاکلوبوترازول به نحو معنی داری آن را کاهش می دهد.

قبل از اینکه به مطالعه ریشه و اندازه گیری پارامتر های آن پرداخته شود باید نوع پارامتر مورد نظر و صرف وقت و هزینه مطالعه آن بررسی شده و تنها در صورتیکه انجام عمل توجیه پذیر باشد نسبت به آن اقدام کنیم. هارپر و همکاران (۹) طی بررسی مشکلات مطالعه ریشه اعلام کردند که طی این نوع مطالعات بیشتر انرژی محقق در جهت گسترش تکنیک های این نوع مطالعه به کار گرفته می شود. همانطور که در مورد پتانسیل تاثیر تنظیم کننده های رشد بر ریشه دهی بیان شد تاثیر این تنظیم کننده ها بر وضعیت ریشه از دو جنبه قابل بررسی است. کاهش تولید برگ و گل به گیاه اجازه می دهد تا انرژی خود را به تولید ریشه اختصاص دهد و از طرفی پتانسیل اثرات سمی برخی از تنظیم کننده های رشد عامل کاهش احتمالی

تیمار تنظیم کننده های رشد پاکلوبوترازول و ترینگزاپک اتیل روی چگالی طول ریشه موثر بود. ترینگزاپک اتیل در غلظت ۲۰۰ گرم در هکتار به نحو معنی داری چگالی طول ریشه را نسبت به شاهد کاهش داد که مطابق با نتایج مارکم و جیانگ (۱۲) و مغایر با نتایج بیسلی و برانهام (۴) و جیانگ و فرای (۱۰) می باشد. هر دو غلظت پاکلوبوترازول تفاوت معنی داری نسبت به شاهد نشان ندادند که با نتایج بیسلی و برانهام (۴) و مک کلوق (۱۱) مغایرت دارد. تاثیر ترینگزاپک اتیل و پاکلوبوترازول روی قطر ریشه معنی دار نبود، این موضوع توسط بیسلی و برانهام (۳ و ۴) تایید شده است.

روش دوم (استفاده از روش محاسباتی)

اثر تیمار های آبیاری بر روی چگالی طول ریشه و سطح ریشه معنی دار نبود ولی اثر تنظیم کننده های رشد ترینگزاپک اتیل و پاکلوبوترازول روی چگالی طول ریشه و سطح ریشه معنی دار بود (جدول ۲). ترینگزاپک اتیل در هیچ یک از غلظت های خود تاثیر معنی داری روی چگالی طول ریشه نشان نداد (جدول ۳) که مطابق با نتایج بیسلی و برانهام (۴) می باشد. پاکلوبوترازول در هر دو غلظت خود به نحو معنی داری چگالی طول ریشه را نسبت به شاهد کاهش داد (جدول ۲) که مطابق با نتایج بیسلی و برانهام (۴)، جیانگ و فرای (۱۰)، فیگرنس و یلورتون (۶) و مک کلوق و همکاران (۱۱) می باشد. بدون شک اثرات سمی این تنظیم کننده رشد روی قسمت هوایی گیاه در کاهش ایجاد شده موثر بوده است. اثر متقابل بین تنظیم

دقت فراوان متفاوت بودند که با نظر بعضی از محققان یکسان و با بعضی دیگر متفاوت بود، بنابراین بهتر است در جهت انجام مطالعات صحیح روی ریشه روش اندازه گیری خصوصیات ریشه را با توجه به خصوصیات ریشه گیاه مورد نظر و نوع فاکتور مورد ارزیابی انتخاب و یا در صورت امکان از روش هایی استفاده کنیم که به پراکنش طبیعی ریشه در خاک آسیبی نرسانند. در نهایت با توجه به تراکم بالای ریشه در چمن و ظرافت آن که مانع جدا کردن ریشه ها می شود، استفاده از روش محاسباتی جهت اندازه گیری خصوصیات ریشه چمن بهتر می باشد.

ریشه است. در خلاصه تحقیقات اشاره شده به تاثیر تنظیم کننده های رشد بر ریشه دهی چمن، تنها سه گزارش افزایش ریشه دهی را بعد از کاربرد گزارش کرده اند. در دیگر گزارشات چاپ شده بی اثر یا کاهش دهنده بودن آنها نشان داده شده است.

در کل نتایج دو روش اندازه گیری خصوصیات ریشه را مورد ارزیابی قرار داده و آنها را با نتایج سایر محققان مقایسه نمودیم. دو روش مورد استفاده در این تحقیق روش های معمولی هستند که به طور عمده در کشور ما جهت مطالعات ریشه مورد استفاده قرار می گیرند. همانطور که بیان شد نتایج حاصل از دو روش علی رغم

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس اثر تنظیم کننده های رشد و تیمار های آبیاری بر طول کل، سطح و میانگین قطر ریشه ها با استفاده از

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		چگالی طول ریشه (mm)	سطح ریشه (mm ²)	میانگین قطر ریشه (mm)
تکرار	۲	۱۳/۹۲ ^{ns}	۱/۶۱ ^{ns}	۰/۰۰۸ ^{ns**}
آبیاری	۲	۱/۶۸ ^{ns}	۱۷/۹۵ ^{ns}	۰/۰۰۵ [*]
خطای کرت اصلی	۴	۳۸/۵۹	۱۱/۷۷	۰/۰۰۰۶
تیمار	۴	۶۰/۸۱ [*]	۱۰/۳۳ ^{ns}	۰/۰۰۱۸ ^{ns}
تیمار در آبیاری	۸	۴۷/۶۱ ^{ns}	۴/۸۲ ^{ns}	۰/۰۰۴۵ ^{ns}
خطای کرت فرعی	۲۴	۱۷/۳۸	۶/۹۹	۰/۰۰۴
ضریب تغییرات (%)		۱۶/۱۲	۱۲/۶۰	۳۰/۰۸

روش اول اندازه گیری خصوصیات ریشه (دستگاه اندازه گیری سطح برگ)

* میانگین در هر ستون با حروف متفاوت در سطح ۱٪ یا ۵٪ آزمون چند دامنه دانکن دارای تفاوت معنی دار هستند.

** ns بدون اختلاف معنی دار

جدول ۲- جدول تجزیه واریانس اثر تنظیم کننده های رشد و تیمار های آبیاری بر طول کل و سطح ریشه ها با استفاده از روش دوم اندازه گیری

خصوصیات ریشه (روش محاسباتی)

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		طول کلی ریشه (mm)	سطح ریشه (mm ²)
تکرار	۲	۰/۰۸ ^{ns}	۲۵۲۱۹۵۵ ^{ns**}
آبیاری	۲	۰/۸۰ ^{ns}	۴۹۴۳۶۸۴ ^{ns}
خطای کرت اصلی	۴	۲	۲۶۷۷۷۸۹۶
تیمار	۴	۰/۵۰ [*]	۲۷۲۹۳۹۹۲
تیمار در آبیاری	۸	۰/۰۷ ^{ns}	۲۸۴۹۱۸۴ ^{ns}
خطای کرت فرعی	۲۴	۰/۱۳	۳۶۲۸۲۳۳
ضریب تغییرات (%)		۳/۵۴	۲۶/۳۸

* میانگین در هر ستون با حروف متفاوت در سطح ۱٪ یا ۵٪ آزمون چند دامنه دانکن دارای تفاوت معنی دار هستند.

** ns بدون اختلاف معنی دار

جدول ۳- مقایسه میانگین خصوصیات ریشه چمن، اندازه گیری شده بوسیله دو روش متفاوت تحت تاثیر تنظیم کننده های رشد

روش دوم (روش محاسباتی)		روش اول (استفاده از دستگاه)			غلظت gr ha ⁻¹	تنظیم کننده های رشد
چگالی طول ریشه	سطح ریشه	چگالی طول ریشه	سطح ریشه	قطر ریشه		
۱۰/۴۳ ab*	۶۹۹۵/۴ bc	۲۱/۵۲ b	۲۰/۳۹ a	۰/۱۸۸۵ a	۲۰۰	ترینگزپاک اتیل
۱۰/۶۶ a	۸۷۲۳ ab	۲۵/۵۷ ab	۲۰/۲۶ a	۰/۲۱۱۷ a	۱۰۰	ترینگزپاک اتیل
۱۰/۷۴ a	۹۲۱۸/۶ a	۲۸/۰ a	۲۲/۶۵ a	۰/۲۲۳۱ a	—	شاهد
۱۰/۲۰ b	۵۱۰۰/۶ c	۲۷/۵ a	۱۹/۹۵ a	۰/۲۲۳۲ a	۶۰۰	پاکلوبوترازول
۱۰/۲۷ b	۶۰۶۴/۶ c	۲۶/۶ a	۲۱/۳۹ a	۰/۲۱۶۷ a	۴۰۰	پاکلوبوترازول

* اعداد مشترک در هر ستون برای هر تنظیم کننده رشد اختلاف معنی دار ندارد.

جدول ۴- مقایسه میانگین قطر ریشه ها تحت تاثیر تیمار های آبیاری در روش دوم اندازه گیری خصوصیات ریشه (دلتا تی اسکن)

قطر ریشه	تیمار های آبیاری
۰/۲۲۲۲۸۸ a	۲ روز یک بار
۰/۲۲۵۱۰۲ a	۵ روز یک بار
۰/۱۹۰۶۳۸ b	۱۰ روز یک بار

منابع

- ۱- روح اللهی ا. و کافی م. ۱۳۸۶. بررسی تاثیر تنظیم کننده های رشد و تیمار های آبیاری بر تعداد سربرداری و پاسخ به خشکی چمن *Poa pratensis cv. Barimpala*. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم باغبانی و گیاه پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.
- ۲- نادری د. و کافی م. ۱۳۸۴. بررسی اثر دو سطح ترینگزپاک اتیل بر روی خصوصیات کیفی چمن های رل (Sod) پس از انبارداری. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم باغبانی و گیاه پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.
- 3- Beasley J.S., and Branham B.E. 2005. Trinexapac-ethyl affects Kentucky bluegrass root architecture. HortScience 40(5):1539-1542.
- 4- Beasley J.S., and Branham B.E. 2007. Trinexapac-ethyl and Paclobutrazol affect Kentucky bluegrass single-leaf carbon exchange rates and growth. Crop science, 47:132-138.
- 5- Bohm W. 1979. Methods of studying root system. Ecological studies, 33: 188. Springer – verlag, Berlin.
- 6- Fagerness M.J., and Yelverton F.H. 2001. Plant growth regulator and mowing height effects on seasonal root growth of penncross creeping bent grass. Crop science, 41:1901-1905.
- 7- Fry J., and Huang B. 2004. Applied Turfgrass Science and Physiology. John wiley & sons pob, Inc., Hoboken, Newjersey, Canada. 320 p.
- 8- Gliniski D.S., and Karnok K.J. 1993. Comparison of reporting methods for root growth data from transparent-interface measurements. Crop Science, 33:310-314.
- 9- Harper J.L., Jones M., Sackville-Hamilton N.R. 1991. The evolution of roots and the problems of analyzing their behavior. In: Atkinson D(ed) plant root growth. Blackwell, Oxford, pp3-24
- 10- Jiang H., and Fry J. 1998. Drought responses of perennial ryegrass treated with plant growth regulators. Hortscience 33(2):270-273.
- 11- McCullough P.E., Haibo L., Lambert B., McCarty B., and Whitwell T. 2005. Physiological Response of "Tifeagle" Bermudagrass to paclobutrazol. Hortscience, 4(1):224-226.
- 12- Marcum K. B., and H. Jiang. 1997. Effects of Plant Growth Regulators on Tall Fescue Rooting and Water Use. Journal of Turfgrass Management, 2 (2):13-27.
- 13- Newman E.I. 1966. A method of estimating the total length of root in a sampel. Journal of applied ecology, 3:139-145.
- 14- SAS Institute 2004. The SAS system for Windows. V. 8.2. SAS Inst., Cary, N.C.