

DIGERIBILITÀ E BILANCIO DELL'AZOTO IN AGNELLI
APPENNINICI ALIMENTATI CON DIETE A BASE
DI FARINA DI ESTRAZIONE DI GIRASOLE
E DIVERSI RAPPORTI MAIS/ORZO

DIGESTIBILITY AND NITROGEN BALANCE OF GROWING LAMBS FED
SUNFLOWER MEAL AND DIFFERENT MAIZE/BARLEY RATIO

GIAN BATTISTA LIPONI ⁽¹⁾, LORELLA GIULIOTTI ⁽¹⁾,
DOMENICO GATTA ⁽¹⁾

RIASSUNTO

È stata condotta una prova di digeribilità e bilancio dell'azoto su 10 agnelli di razza Appenninica dell'età iniziale di 50 giorni. Gli animali sono stati alimentati con cinque diete pellettate contenenti, come base proteica la farina di estrazione di girasole e, come fonte energetica cinque diversi rapporti mais/orzo (100/0, 75/25, 50/50, 25/75 e 0/100). I risultati ottenuti mostrano una maggiore ingestione negli animali riceventi la dieta con orzo al 50% o più. La digeribilità di SS, SO, EL risulta invece migliore nelle diete contenenti livelli più elevati di mais, che peraltro evidenziano una minore digeribilità dell'NDF. Il bilancio dell'N risulta più favorevole nelle diete con uguale percentuale di orzo e mais. Il valore nutritivo della dieta con solo mais è significativamente più elevato delle altre.

Parole chiave: farina di estrazione di girasole, mais, orzo, agnelli, digeribilità, bilancio dell'azoto.

SUMMARY

A digestibility trial and nitrogen balance was carried out in order to investigate on the nutritional value of these feed on ten male Apennine lambs (initial age 50 days). Animals were fed five different pelleted diets, based on sunflower meal and maize/barley with different ratio (100/0, 75/25, 50/50, 25/75 and 0/100). The dry matter intake was higher in diet with 50/50 mais/barley. Results showed a better digestibility of DM, OM, GE for the diets with a higher ratio maize/barley then the other diets. NDF digestibility was low in each diets. The diets with 50/50 maize/barley ratio indicated the better N retention values. Nutrition value was higher in diet with exclusive content of mais.

Key words: sunflower meal, barley, maize, lamb, digestibility, nitrogen balance.

⁽¹⁾ Dipartimento di Produzioni Animali - Direttore Prof. Dario Cianci.

Lavoro eseguito con cofinanziamento Ateneo 2000.

INTRODUZIONE

Il presente lavoro rientra in un più ampio programma di ricerca volto a verificare la possibilità di utilizzare fonti proteiche alternative alla farina di estrazione di soia nell'alimentazione di agnelli in accrescimento.

In questa prova è stata saggiata la farina di estrazione di girasole come fonte, testando nel contempo quale fonte energetica, tra mais ed orzo, permetta l'ottimizzazione della dieta.

A tale scopo sono state formulate 5 diete, caratterizzate da un diverso rapporto mais/orzo, da destinare ad agnelli in accrescimento valutando l'ingestione volontaria, la digeribilità apparente, il bilancio dell'azoto ed il valore nutritivo.

MATERIALI E METODI

Per la prova sono stati impiegati 10 agnelli maschi di razza Appenninica di 50 giorni di età con un peso medio di circa 26 kg. Le cinque diete sono state formulate per essere isoproteiche ed isoenergetiche. I principali ingredienti impiegati sono stati la farina di estrazione di girasole parzialmente decorticata, quale base proteica, ed un fieno polifita, mentre la fonte energetica era costituita da mais e orzo in differenti proporzioni (100/0, 75/25, 50/50, 25/75 e 0/100). I minerali e le vitamine sono stati bilanciati sulla base dei fabbisogni degli agnelli riportati dall'NRC, 1985. Gli ingredienti e la composizione chimica delle diete sono riportate rispettivamente nelle Tabelle I e II.

Il protocollo sperimentale si è basato su quanto suggerito dall'A.S.P.A, 1982.

Gli alimenti sono stati distribuiti *ad libitum* e giornalmente è stata rilevata l'ingestione volontaria di alimento e acqua. Le diete sono state somministrate in pellets del diametro di 5 mm.

Prima di ciascun nuovo periodo di prova gli animali sono stati sottoposti ad una fase di adattamento alla nuova dieta e sono stati pesati all'inizio ed alla fine di ogni periodo.

Le analisi chimiche delle diete, delle feci e delle urine sono state condotte secondo quanto suggerito da Martillotti e coll., 1987.

L'energia lorda delle diete e delle feci è stata determinata per via calorimetrica mediante calorimetro adiabatico.

Tab. I. Composizione percentuale delle diete sul t.q.

Dieta	1	2	3	4	5
Mais/Orzo	100/0	75/25	50/50	25/75	0/100
Mais	56	43	29	15	0
Orzo	0	14	29	44	60
F.e. girasole	34	33	32	31	30
Fieno	4	4	4	4	4
Melasso	2	2	2	2	2
Carbonato di calcio	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
Fosfato bicalcico	1	1	1	1	1
Ossido di magnesio	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Cloruro di sodio	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
I.M.V.	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Legante	1	1	1	1	1

L'azoto solubile è stato analizzato secondo quanto proposto da Licitra e coll., 1996.

Il valore nutritivo delle cinque diete è stato stimato sulla base di quanto suggerito dall'I.N.R.A., 1988, a partire dai dati sperimentali in termini di composizione chimica, energia lorda e digeribile.

I dati relativi all'ingestione volontaria di alimenti, alla digeribilità della dieta, al bilancio azotato ed al valore nutritivo, sono stati analizzati seguendo un disegno sperimentale a quadrato latino 5 x 5 con due ripetizioni per ciascuna dieta, con il seguente modello statistico:

$$Y_{ikl} = \mu + A_i + P_k + T_l + E_{ikl}$$

dove A_i è l'effetto agnello, P_k il periodo, T_l il trattamento e E_{ikl} l'errore residuo.

L'analisi statistica è stata effettuata mediante pacchetto statistico JMP (SAS, 1994).

RISULTATI E DISCUSSIONE

La composizione chimica delle diete, riportata in Tabella II, mostra una certa variabilità tra i livelli proteici delle diete, da ricondurre a problemi di miscelazione in sede di lavorazione.

Tab. II. Composizione chimica delle diete (sulla sostanza secca).

Dieta		1	2	3	4	5
Mais/Orzo		100/0	75/25	50/50	25/75	0/100
Sostanza secca	%	90,45	90,03	89,90	90,40	90,44
Sostanza organica	''	92,08	92,66	92,03	92,07	92,64
Proteine grezze	''	16,45	16,17	15,88	16,22	16,53
Lipidi grezzi	''	2,72	1,46	1,79	1,38	1,43
Fibra grezza	''	8,50	9,61	8,39	10,78	10,62
Estrattivi inazotati	''	56,49	58,08	58,00	55,77	56,70
Ceneri	''	7,92	7,34	7,97	7,92	7,36
NSC	''	55,19	53,62	53,78	49,87	50,87
NDF	''	19,49	22,58	21,69	25,82	24,76
ADF	''	11,43	14,07	11,74	13,77	14,99
Cellulosa	''	8,20	10,65	8,38	9,50	10,93
Emicellulose	''	11,29	11,93	13,31	12,89	13,83
ADL	''	2,18	2,23	1,83	2,60	2,96
Azoto solubile	''	1,02	0,85	0,78	0,75	0,74
NPN	''	0,70	0,76	0,42	0,38	0,35

Analizzando i dati per l'ingestione (Tab. III) si nota che gli animali riceventi la dieta 2 (mais/orzo 75/25) presentano i più bassi livelli di ingestione di sostanza secca, di sostanza organica ($P < 0,05$), nonché di proteine ed energia lorda ($P < 0,01$). Si osserva che in taluni casi significativamente, in altri tendenzialmente, le diete a maggior contenuto di mais risultano meno ingerite rispetto a quelle a base di orzo. Questo risulta anche più evidente se rapportiamo l'ingestione al kg di peso vivo o di peso metabolico.

Confrontando i dati di ingestione volontaria con quelli riportati da Liponi e coll., 1999, relativi ad una prova di digeribilità con diete contenenti anche farina di estrazione di girasole, si nota come l'ingestione di sostanza secca sia più elevata di circa 400 g/capo/d. Di conseguenza anche l'ingestione di proteine ed energia si è attestata su valori più alti di quelli da noi ottenuti. Considerando che il peso medio degli animali in questa sperimentazione risulta superiore di circa 2 kg rispetto ai pesi rilevati nella prova di Liponi e coll., 1999 e che il periodo di svolgimento delle prove sperimentali era lo stesso, più probabilmente la causa di tali differenze è da ricercare nella diversa razza

Tab. III. Ingestione volontaria giornaliera (media \pm e.s.).

Dieta	1	2	3	4	5	P
Mais/Orzo	100/0	75/25	50/50	25/75	0/100	
Sostanza secca:						
g	1069 ab $\pm 12,9$	1055 a $\pm 14,0$	1105 b $\pm 14,0$	1100 b $\pm 12,9$	1106 b $\pm 12,9$	0,034
g/kg p.v.	31,5 A a $\pm 0,36$	31,7 ab $\pm 0,39$	33,1 Bc $\pm 0,39$	32,7 bc $\pm 0,36$	32,6 bc $\pm 0,36$	0,018
g/kg p.v. ^{0,75}	75,9 A a $\pm 0,84$	76,0 ab $\pm 0,90$	79,4 Bc $\pm 0,90$	78,6 c $\pm 0,84$	78,5 bc $\pm 0,84$	0,020
Sostanza organica:						
g	985 ab $\pm 11,9$	978 a $\pm 12,9$	1017 bc $\pm 12,9$	1013 $\pm 11,9$	1024 c $\pm 11,9$	0,042
g/kg p.v.	29,0 Aa $\pm 0,33$	29,4 ab $\pm 0,36$	30,5 B c $\pm 0,36$	30,1 bc $\pm 0,33$	30,2 bc $\pm 0,33$	0,023
g/kg p.v. ^{0,75}	69,9 Aa $\pm 0,77$	70,5 ab $\pm 0,83$	73,0 Bc $\pm 0,83$	72,3 bc $\pm 0,77$	72,7 bc $\pm 0,77$	0,026
Proteine grezze:						
g	175,9 b $\pm 2,08$	170,6 Aa $\pm 2,24$	175,3 ab $\pm 2,24$	178,4 bc $\pm 2,08$	182,7 Bc $\pm 2,08$	0,007
g/kg p.v.	5,18 ab $\pm 0,058$	5,12 Aa $\pm 0,063$	5,26 $\pm 0,063$	5,30 bc $\pm 0,058$	5,38 Bc $\pm 0,058$	0,039
g/kg p.v. ^{0,75}	12,48 ab $\pm 0,136$	12,29 Aa $\pm 0,147$	12,60 $\pm 0,147$	12,74 bc $\pm 0,136$	1,97 Bc $\pm 0,136$	0,022

A, B: P < 0,01; a, b, c: P < 0,05.

(Massese) di agnelli impiegati per le prove di digeribilità. È noto infatti che le razze ad attitudine lattifera hanno una maggiore capacità di ingestione rispetto a quelle da carne.

I valori di digeribilità apparente (Tab. IV) per la sostanza secca si attestano per tutte le diete vicino al 70%. La digeribilità della sostanza secca per le diete con alti livelli di orzo è risultata più bassa delle altre: in particolare la dieta 4 è risultata significativamente differente (P < 0,01) rispetto alle diete 1, 2 e 3.

Tab. IV. Digeribilità apparente percentuale (media \pm e.s.).

Dieta	1	2	3	4	5	P
Mais/Orzo	100/0	75/25	50/50	25/75	0/100	
Sostanza secca	71,09 Aa \pm 0,534	69,59 ABb \pm 0,582	70,07 BCb \pm 0,582	67,13 Aa \pm 0,534	68,78 ABb \pm 0,534	< 0,001
Sostanza organica	74,95 B \pm 0,483	72,14 Aa \pm 0,527	73,05 Aa \pm 0,527	70,33 Ab \pm 0,483	71,69 Aa \pm 0,483	< 0,001
Proteine grezze	76,93 B \pm 0,464	73,62 Ab \pm 0,501	72,20 Aa \pm 0,501	72,86 A \pm 0,464	76,35 B \pm 0,464	< 0,001
NDF	23,66 \pm 1,359	20,26 \pm 1,452	24,56 \pm 1,452	21,76 \pm 1,359	23,41 \pm 1,359	0,235
Energia lorda	72,66 C \pm 0,534	69,31 B \pm 0,571	69,88 B \pm 0,571	67,13 A \pm 0,534	69,72 B \pm 0,534	< 0,001

A, B, C: $P < 0,01$; a, b: $P < 0,05$.

La digeribilità della sostanza organica della dieta 1 risulta significativamente più elevata ($P < 0,01$) rispetto alle altre, simile andamento si può osservare anche per la digeribilità dell'energia lorda.

Riguardo alle proteine grezze invece si osserva un andamento particolare, caratterizzato da una digeribilità più elevata ($P < 0,01$) per le diete costituite da solo mais (76,93%) e solo orzo (76,35%) rispetto alle altre.

Il valore medio di digeribilità dei carboidrati strutturali (NDF) si attesta su un valore piuttosto modesto, pari a 22,73%, e non si riscontrano differenze significative.

Dai risultati ottenuti, in particolare per la digeribilità della sostanza secca, sostanza organica ed energia lorda, le diete con maggior contenuto in mais, sembrano fornire le migliori risposte. Questi valori risultano superiori a quelli ottenuti da Liponi e coll., 1999, in una prova di confronto tra farina di estrazione di soia e girasole: per quest'ultima erano stati ottenuti valori di digeribilità della sostanza secca ed organica rispettivamente pari a 60,8% e 63,9%. I diversi risultati potrebbero essere imputabili alla più modesta quantità di orzo (46%) e al più elevato contenuto di fieno (19%).

I valori di digeribilità delle proteine grezze, più elevati per le diete estreme, sono in parte spiegabili con il fatto che queste due diete si caratterizzavano, sia pur di poco, per contenuti proteici più elevati

Tab. V. Bilancio dell'azoto (media \pm e.s.).

Dieta Mais/Orzo	1 100/0	2 75/25	3 50/50	4 25/75	5 0/100	P
N ingerito:						
g	28,1 ab \pm 0,33	27,3 Aa \pm 0,36	28,1 ab \pm 0,36	28,5 bc \pm 0,33	29,2 Bc \pm 0,33	0,007
N fecale:						
g	6,5 A \pm 0,16	7,2 BCa \pm 0,17	7,7 BCb \pm 0,17	7,7 Cb \pm 0,16	6,9 AB \pm 0,16	< 0,001
N assorbito:						
g	21,7 BCb \pm 0,27	20,1 A \pm 0,29	20,3 A \pm 0,29	20,8 Aba \pm 0,27	22,3 C \pm 0,27	< 0,001
N urinario:						
g	13,0 BCb \pm 0,36	10,4 A \pm 0,38	9,3 A \pm 0,38	11,8 Ba \pm 0,36	14,2 Cc \pm 0,36	< 0,001
N ritenuto:						
g	8,67 ABa \pm 0,34	9,71 BCb \pm 0,37	11,0 Cc \pm 0,37	9,0 AB \pm 0,34	8,1 A \pm 0,34	< 0,001
N rit./N ing.:						
%	31,4 ABb \pm 1,19	35,9 BCc \pm 1,28	39,0 Cc \pm 1,28	31,4 b \pm 1,19	27,7 Aa \pm 1,19	< 0,001
N rit./N ass.:						
%	40,8 AB \pm 1,61	48,8 CDb \pm 1,74	54,0 D \pm 1,74	43,1 BCa \pm 1,61	36,3 Aa \pm 1,61	< 0,001

A, B, C, D: $P < 0,01$; a, b, c: $P < 0,05$.

rispetto alle altre. A supporto di questa ipotesi la regressione individuata tra contenuto e digeribilità delle proteine risulta essere significativa ($P < 0,001$) e con un r^2 pari a 0,43.

Anche per la digeribilità delle proteine i valori da noi riscontrati risultano superiori a quanto ottenuto da Liponi e coll., 1999, nella prova precedentemente citata (digeribilità delle proteine grezze: 69,1%).

La digeribilità dell'NDF risulta essere piuttosto bassa ed inferiore

a quella ottenuta nella prova sopra citata, nella quale era stato riscontrato un valore pari a 28,5%. Questo risultato può essere spiegato dal prevalente apporto di NDF da parte del girasole nei confronti del fieno in questa prova rispetto a quella di Liponi e coll., 1999. Infatti come evidenziato da Ferruzzi e coll., 1999, la digeribilità dell'NDF del girasole risulta piuttosto modesta (23,48%).

In Tabella V viene riportato il bilancio dell'azoto. Per quanto riguarda l'azoto ingerito, per la dieta 5 si rileva il valore più elevato ($P < 0,05$ con le diete 1 e 3 e $P < 0,01$ con la dieta 2).

Le maggiori escrezioni azotate fecali si sono avute soprattutto per le diete intermedie. L'andamento dell'azoto ingerito e fecale ha determinato valori di N apparentemente assorbito significativamente più elevati per le diete estreme (1 e 5).

Ai valori più elevati di azoto assorbito hanno corrisposto anche valori di azoto urinario significativamente più elevati.

Il bilancio dell'azoto è quindi risultato significativamente migliore per la dieta intermedia (3: 50% mais, 50% orzo), con un rapporto N ritenuto/N assorbito significativamente più elevato ($P < 0,01$) rispetto alle diete 1, 4 e 5. Evidentemente, nella dieta intermedia, il mais e l'orzo realizzano la migliore efficienza di utilizzazione metabolica dell'N assorbito almeno quando la principale fonte proteica è la farina d'estrazione di girasole.

Il valore medio di sostanza organica apparentemente assorbita (Tab. VI), espressa per kg di peso metabolico, risulta pari a circa 51,92 g e poiché l'INRA, 1988, definisce la quantità necessaria al mantenimento pari a 23 g di sostanza organica digeribile/kg p.v.^{0,75}, per le cinque diete otteniamo un livello nutritivo medio di 2,25.

Per quanto riguarda le proteine apparentemente assorbite, le diete 1 e 5 sono quelle che presentano il valore più elevato e differente in maniera significativa rispetto alle altre. Se facciamo riferimento al valore per il mantenimento degli agnelli pari a 2,14 g di proteine assorbite/kg p.v.^{0,75}, riportato dall'INRA, 1978, otteniamo che l'apporto proteico delle diete impiegate era in grado di coprire da 4,25 a 4,63 volte, come valori minimi e massimi, i fabbisogni di mantenimento.

Confrontando i valori di assorbimento con la dieta a base di girasole presente nella sperimentazione di Liponi e coll. (1999), questi risultano più elevati per tutti i parametri considerati rispetto a quelli

Tab. VI. Sostanza organica e proteine apparentemente assorbite e valore nutritivo (media \pm e.s.).

Dieta	1	2	3	4	5	P
Mais/Orzo	100/0	75/25	50/50	25/75	0/100	
Sostanza organica:						
g	739,1 bc $\pm 10,09$	705,2 a $\pm 10,89$	745,8 c $\pm 10,89$	712,5 ab $\pm 10,09$	734,3 $\pm 10,09$	0,043
g/kg p.v. ^{0,75}	52,4 $\pm 0,58$	50,8 A $\pm 0,63$	53,4 B $\pm 0,63$	50,9 A $\pm 0,58$	52,1 $\pm 0,58$	0,028
Proteine:						
g	135,4 BCb $\pm 1,71$	125,0 A $\pm 1,84$	127,0 A $\pm 1,84$	130,0 ABa $\pm 1,71$	140,0 C $\pm 1,71$	< 0,001
g/kg p.v. ^{0,75}	9,6 BCb $\pm 0,10$	9,1 A $\pm 0,11$	9,1 A $\pm 0,11$	9,3 ABa $\pm 0,10$	9,9 C $\pm 0,10$	< 0,001
E.L. MJ/kg s.s.	17,19	16,98	16,88	17,02	17,49	-
E.D. MJ/kg s.s.	12,49 Cc $\pm 0,090$	11,77 ABb $\pm 0,097$	11,79 Bb $\pm 0,097$	11,43 Aa $\pm 0,090$	12,19 Cb $\pm 0,090$	< 0,001
E.M. MJ/kg s.s.	10,59 Cc $\pm 0,079$	9,96 ABb $\pm 0,085$	10,03 Bb $\pm 0,085$	9,65 Aa $\pm 0,079$	10,31 Cb $\pm 0,079$	< 0,001
E.N. MJ/kg s.s.	6,04 C $\pm 0,073$	5,51 B $\pm 0,079$	5,56 B $\pm 0,079$	5,21 A $\pm 0,073$	5,70 B $\pm 0,073$	< 0,001
UFC n./kg s.s.	0,79 C $\pm 0,010$	0,72 B $\pm 0,010$	0,73 B $\pm 0,010$	0,68 A $\pm 0,010$	0,75 B $\pm 0,010$	< 0,001
A, B, C: P < 0,01; a, b, c: P < 0,05.						

della presente ricerca: questa differenza è spiegabile con la maggior ingestione di sostanza secca ottenuta nella prova menzionata e già chiarita nel paragrafo riguardante l'ingestione volontaria.

Dall'esame dei risultati del valore nutritivo (Tab. VI) risulta un maggiore e significativo valore di energia digeribile, per unità di sostanza secca, per le diete 1 e 5 (tutto mais e tutto orzo rispettivamente).

Il valore stimato di energia netta della dieta 1 risulta significativamente più elevato (P < 0,01) degli altri. In termini di UFC la dieta 1 risulta pari a 0,79 unità per kg di sostanza secca.

CONCLUSIONI

In nostre prove precedenti avevamo dimostrato la validità della farina di estrazione di girasole parzialmente decorticata come possibile sostituto sia della f.e. di soia che del lupino. Nel presente lavoro abbiamo cercato di verificare la migliore associazione tra questa fonte proteica e mais e orzo utilizzati in diversi rapporti. I risultati ottenuti indicano che:

- l'ingestione volontaria è risultata leggermente superiore per le diete a pari contenuto di mais/orzo o a prevalente contenuto di orzo;
- la digeribilità apparente di sostanza secca, sostanza organica ed E.L., è risultata migliore per la dieta a base di solo mais. La digeribilità delle proteine è risultata maggiore per le diete estreme, solo mais o solo orzo. A questo proposito riteniamo che sarebbero necessarie ulteriori indagini per chiarire meglio tale andamento. La bassa digeribilità dell'NDF, apportato prevalentemente dal girasole, conferma quanto ottenuto anche da altri Autori;
- il bilancio dell'azoto risulta migliore quando mais e orzo sono presenti in pari quantità. Probabilmente la contemporanea presenza di questi due alimenti determina una migliore efficienza di utilizzazione metabolica dell'azoto assorbito della dieta;
- il valore nutritivo risulta più elevato per la dieta costituita da solo mais, ma anche in questo caso riteniamo che sarebbero necessarie ulteriori conferme.

BIBLIOGRAFIA

- Commissione Valutazione Alimenti (1982). Valutazione di alimenti di interesse zootecnico. 2. Aspetti metodologici della digeribilità *in vivo*. Zoot. Nutr. Anim., 8, 387-394.
- FERRUZZI G., PISTOIA A., SERRA A., MELE M. (1999). Nutritive characteristics for ruminants of a sunflower cake. Proc. of XIII Congr. A.S.P.A., Piacenza, June 21-24, 372-374.
- I.N.R.A. (1978). Alimentation des Ruminants. Ed. I.N.R.A. Publ., Route de Saint-Cyr, 78000, Versailles.
- I.N.R.A. (1988). Alimentation des bovins, ovins et caprins. I.N.R.A. Ed., Paris.
- LICITRA G., HERNANDEZ T.M., VAN SOEST P.J. (1996). Anim. Feed. Sci. Techn., 57, 347-358.

- LIPONI G.B., XING J.J., GATTA D., COLOMBANI B. (1999). Comparison of digestibility and nitrogen metabolism of growing lambs fed with pelleted diets containing sweet white lupin seeds, sunflower meal and soybean meal. Proc. of XIII Congr. A.S.P.A, Piacenza, June 21-24, 375-377.
- MARTILLOTTI F., ANTONGIOVANNI M., RIZZI L., SANTI E., BITTANTE G. (1987). Metodi di analisi per gli alimenti d'impiego zootecnico. Quaderni metodologici n. 8, CNR-IPRA, Roma.
- N.R.C. (1985). Nutrient Requirements of Sheep. National Academy Press, Washington, D.C., USA.
- JMP (1994). Statistics and Graphics Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

