

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

BIOLOŠKO TESTIRANJE VZORCEV JEČMENA Z RAZLIČNO
VSEBNOSTJO DOSTOPNEGA LIZINA

Doktorska disertacija

Ivan KREFT
mag.genetike, dipl.ing.agr.

Ljubljana, junij 1971.

KREFT, Ivan: Biološko testiranje vzorcev ječmena z različno vsebnostjo dostopnega lizina, doktorska disertacija, Biotehniška fakulteta, Ljubljana 1971.

Metodološka raziskava vrednotenja hranilne vrednosti beljakovin ječmena s pomočjo laboratorijskih miši. Pregled metod vrednotenja hranilne vrednosti beljakovin, zanesljivost teh metod in možnosti za uporabo v žlahtnjenju rastlin. Primerjava analitičnih in kompleksnih metod. Biološko testiranje vzorcev ječmena s pomočjo CBA miši od dvajsetega do štiridesetega dne starosti, ugotavljanje teže živali vsakih pet dni poskusa.

Analiza variance da zadovoljive rezultate, analiza kovariance z upoštevanjem teže živali ob začetku poskusa ni možna zaradi nehomogenosti regresijskih kvocientov. Zaradi asimetričnih razporeditev prirastov živali v nekaterih skupinah daje avtor prednost uporabi neparametrične statistične metode. S pomočjo neparametrične metode se da ugotoviti značilno razliknost med vzorci ječmena z zadovoljivo možnostjo razločevanja. Poskus bi bilo možno skrajšati na petnajst dni, ne da bi se s tem zmanjšala zanesljivost razločevanja vzorcev. Uporaba funkcije biološke rasti daje možnost vpogleda v dinamiko rasti in razvoja živali v poskusnem obdobju.

Studies on the methodology of mice trials to evaluate nutritional value in barley samples.

The methodology of evaluation of barley protein nutritional value was investigated. Twenty days old CBA male mice were applied in a twenty days feeding trial, mice were weighted every fifth day. Due to the appearance of asymmetry in distribution of weight gains in some groups of animals, author prefers the application of nonparametric statistics. The method of direct calculation of probability, that the observed differences in weight gain between the groups of animals has occurred as a result of sampling, was applied. The application of the functions of biological growth enables an insight in dynamics of growth and development of animals.

Študija se ukvarja z metodologijo biološkega testiranja hranilne vrednosti beljakovin ječmena, za uporabo teh metod v žlahtnjenju rastlin in pri poljedelskih raziskavah. Eksperimentalni del študije je bil opravljen v prehranskem laboratoriju švedske ustanove za žlahtnjenje rastlin v Svalöfu (Utfodringslaboratoriet, Sveriges Utsädesförening, Svalöf). Obdelava rezultatov je bila opravljena na agronomskem oddelku biotehniške fakultete v Ljubljani.

Avtor se zahvaljuje predstojniku prehranskega laboratorija v Svalöfu dr. Larsu Munchu, da je to delo omogočil in ga spremljal s kritičnim zanimanjem. Prav tako se avtor zahvaljuje za podatke, pripombe in kritične nasvete, ki so jih prispevali Roger Mossberg na Weibullsholm Plant Breeding Institute v Landskroni na Švedskem, prof. Rudolf Turk, prof. dr. Karl Salobir, prof. dr. Drago Lebez, asistentka Slava Doberšek-Urbanc in asistentka Marija Opara-Müller na biotehniški fakulteti v Ljubljani, prof. dr. Marijan Blejc na ekonomski fakulteti v Ljubljani ter asistent Tone Tajnšek, Kmetijski inštitut Slovenije v Ljubljani. Elektronska obdelava podatkov je bila opravljena v računskem centru inštituta za matematiko, fiziko in mehaniko univerze v Ljubljani (programiral Zdene Breška). Prof. Rudolf Turk je dovolil uporabo neobjavljenih zamisli o zakonitostih biološke rasti, asistentka Marija Opara-Müller pa uporabo neobjavljenega programa analize variance in kovariance pri skupinah z neenakim številom.

K A Z A L O

stran

Sinopsis	2
Predgovor	3
Kazalo	4
Kazalo tabel	5
1. UVOD	
Vrednotenje rastlinskih beljakovin v žlahtnjenju rastlin in v poljedelstvu	6
2. NALOGA ŠTUDIJE	11
3. MATERIAL IN METODIKA	12
3.1. Vzorci ječmena	12
3.2. Živali	19
3.3. Metode vrednotenja hranilne vrednosti	21
4. REZULTATI IN DISKUSIJA	32
4.1. Teže živali in prirasti tež	32
4.2. Simetričnost distribucij	34
4.3. Analiza variance in kovariance	38
4.4. Neparometrično ugotavljanje razlik med skupinami živali	48
4.5. Funkcija biološke rasti	57
5. POVZETEK	68
6. LITERATURA	70
Dodatna dokumentacija	80

KAZALO TABEL

stran

Tabela 1 : Količina beljakovin in lizina v vzorcih ječmena	17
Tabela 2 : Poprečni prirasti teže živali	33
Tabela 3 : t vrednosti za odstopanja od simetričnosti	37
Tabela 4 : Srednji kvadratni odkloni od sredine (S^2) za priraste v dneh poskusa	40
Tabela 5 : Analize varianc	41
Tabele 6,7,8 in 9 : Razlike med aritmetičnimi sredinami prirastov skupin živali od prvega do petega, prvega do desetega, prvega do petnajstega in prvega do dvajsetega dne poskusa. Značilnost razlik po sekvenčni metodi	43-46
Tabeli 10 in 11 : Neparametrično ugotavljanje razlik	49
Tabele 12,13,14,15 in 16: Razlike med aritmetičnimi sredinami prirastov skupin živali od prvega do petega, prvega do desetega, prvega do petnajstega, prvega do dvajsetega in šestega do dvajsetega dne (neparametrična ocena)	52-56
Tabela 17 : Prirasti teže živali in pokazatelj "b"	65
Tabela 18 : Koeficienti korelacije	66
Tabela 19 : Hi-kvadrat vrednosti za oceno povezanosti činiteljev hranilne vrednosti ječmena z višino prirasta teže	67
Tabela 20: Teža miši in prirasti tež miši v posameznih obdobjih	80

1 U V O D

Vrednotenje rastlinskih beljakovin v žlahtnjenju
rastlin in v poljedelstvu

Pri čim popolnejšem ugotavljanju uporabne vrednosti rastlin ne smemo zanemarjati dejavnikov, ki vplivajo na hranilno vrednost. V kmetijstvu opazamo velike razlike pri hranilni vrednosti različnih vzorcev istega ali podobnega blaga. Brez ustrezne metodike ugotavljanja hranilne vrednosti teh razlik ne moremo upoštevati. S tem pa tudi ostanejo neizkoriščene zelo pomembne možnosti za usmerjanje proizvodnje.

S pomočjo žlahtnjenja rastlin lahko izboljšamo hranilno vrednost rastlinskih beljakovin le, če lahko natančno spremljamo dedovanje genov, ki vplivajo na količino in kvaliteto beljakovin. B a r b a c k i (1955) je ugotovil, da na količino beljakovin pri ječmenu vplivajo geni, ki se dedujejo po Mendlovih zakonih. Pri križanjih, ki jih je opravil, je često nastala transgresija. Pri sorti pšenice "Atlas 66" so ugotovili dedne činitelje, ki zagotavljajo visoko količino beljakovin v zrnu (J o h n s o n et al. 1969). S programi križanja skušajo to lastnost, ki se deduje nepopolno dominantno, prenesti na sorte pšenice, ki imajo nižjo vsebnost beljakovin. R i l e y in E w a r t (1970) sta ugotovila, da lahko posamezen kromosom rži, vključen v genotip pšenice, spremeni aminokislinski sestav ter poveča količino lizina pri pšenici.

S w a m i n a t h a n et al. (1969) so pri pšenici dobili več mutantov s povečano količino beljakovin in lizina. Znana sta mutanta pri koruzi opaque-2 (M e r t z et al. 1964) in floury-2 (N e l s o n et al. 1965) s spremenjenim razmerjem aminokislin, pomembno je zlasti povečanje količine triptofana in lizina. Možnosti, ki se obetajo pri žlahtnjenju rastlin kaže uspeh pri koruzi IHP, pri kateri je med 65-letnim žlahtnjenjem uspelo dvigniti količino beljakovin na 25%, pri primerjalnem žlahtnjenju za nizko količino beljakovin pa znižati na 4% (A l e x a n d e r et al. 1969). Več skupin raziskovalcev proučuje količino beljakovin in aminokislin pri sortah in mutantih ječmena (S w a m i n a t h a n et al. 1969, F a v r e t et al. 1969, T o f t V i u f et al. 1969, E g g u n et al. 1969, H a g b e r g in K a r l s o n 1969 ter M u n c k et al. 1970). Najpomembnejši rezultat, dosežen do sedaj pri ječmenu, je bilo odkritje recesivnega gena (ali tesno vezanega recesivnega genskega kompleksa) "hily", ki povzroča povečano količino lizina v zrnju ječmena (M u n c k et al. 1970).

Izboljšan aminokislinski sestav beljakovin ni posledica dedne spremembe vrstnega reda in razmerja posameznih aminokislin v določeni beljakovinski verigi. Spremenjen aminokislinski sestav je posledica spremenjenega razmerja beljakovinskih frakcij, ki imajo različna razmerja aminokislin. Mutacija torej nastane v genskem regulatornem sistemu. Na razmerje beljakovinskih frakcij v rastlini delujejo tudi razni ekološki in agrotehnični de-

javniki, kar daje možnost, da tudi s spremenjenim načinom pridelovanja višamo količino in kvaliteto rastlinskih beljakovin (C e n c e l j in J e l e n i ć 1969, M u n c k 1969, L e f e b v r e 1969, S w a m i n a t h a n et al. 1969). Pomembno je tudi z žlahtnjenjem in ukrepi pridelovanja nižati količino toksinov in izločati drage dejavnike, ki posredno nižajo hranilno vrednost rastlinskih beljakovin (M u n c k 1969):

Raziskave na področju fiziologije rastlin in molekularne genetike kažejo (S t o y 1969, F a v r e t et al. 1969, D u m a n o v i ć in D e n i ć 1969), da lahko delo na področju rastlinske genetike in žlahtnjenja rastlin še nadalje prispeva k višanju hranilne vrednosti beljakovin. Ugodne možnosti se kažejo tudi na področju spravila in predelave poljščin (M u n c k 1969), vse te vrste ukrepov bo treba povezovati na ustrezen način za hitro doseg željenih rezultatov.

Pri žlahtnjenju rastlin in pri poljedelskih raziskavah potrebujemo metode vrednotenja hranilne vrednosti rastlinskih beljakovin, ki bi omogočile hitro in zanesljivo vrednotenje velikega števila majhnih vzorcev. Več kemijskih analitičnih metod se približuje tem zahtevam.

Izkoriščanje beljakovin hrane je dinamičen biokemijski in fiziološki proces, v katerem ima aktivno vlogo tudi žival. Pri ocenjevanju "hranilne vrednosti" beljakovin

na osnovi rezultatov analitičnih metod moramo to upoštevati. Biološki testi zajemajo kompleksno vse dejavnike hranilne vrednosti s skupnim pokazateljem. V določenih pogojih lahko nastane zaradi spremenjenih količin posameznih snovi kvalitativna sprememba mehanizma izkoriščanja beljakovine. S tem so lahko porušene predpostavke, ki smo jih uporabljali pri upoštevanju podatkov o posameznih dejavnikih hranilne vrednosti.

Za vsestransko in zanesljivo vrednotenje rastlinskih beljakovin, ki bi kazalo na posamezne možnosti izboljšav, je potrebno kompleksne metode dopolnjevati z analitskimi, tolmačenje rezultatov analitskih metod pa preverjati z biološkimi testi na laboratorijskih in domačih živalih.

Da bi stimulirali pridelovanje kvalitetnih rastlinskih beljakovin in smotrnejše gospodarjenje z beljakovinami, bi morala biti cena poljedelskih proizvodov bolj neposredno odvisna od tistih lastnosti pridelkov, ki so pomembne za visoko hranilno vrednost krme.

Ta študija raziskuje metodiko biološkega testa, namenjenega za uporabo v žlahtnjenju rastlin pa tudi pri poljedelskih raziskavah. Miši so izbrane za poskusne živali pri tej študiji, ker se jih uporablja za standardno biološko testiranje rastlinskih beljakovin v ustanovi za žlahtnjenje rastlin v Svalöfu, v kateri je bil opravljen praktični del študije. Prav tako je bil izbran ječmen, ker je to najpomembnejša krmna

rastlina, ki jo žlahtnijo v tej ustanovi. Ječmen je tudi že zelo podrobno raziskan, tako s stališča genetike in citogenetike kot s stališča kemične sestave in hranilne vrednosti. Prirast teže poskusnih miši v študiji primerjam s količino beljakovin in količino lizina, to je s podatki o posameznih dejavnikih hranilne vrednosti, ki sta v sodobnem žlahtnjenju ječmena za višjo hranilno vrednost najbolj upoštevana.

2 N A L O G A Š T U D I J E

V ustanovi za žlahtnjenje rastlin v Svalöfu na Švedskem so v letih 1962-1966 razvili metodo biološkega testiranja rastlinskih beljakovin s pomočjo miši. Namen te študije je metodološko raziskati poskus izveden dosledno po standardnih navodilih za izvedbo biološkega testa rastlinskih beljakovin s pomočjo miši. Pri tem pokazatelje prirasta tež miši primerjam s pokazateljem, ki ju najobičajneje uporabljamo v žlahtnjenju rastlin za visoko količino in kvaliteto beljakovin ječmena: s količino beljakovin ($N \times 6,25$) in z vsebnostjo lizina.

Pri ugotavljanju možnosti izboljšav v pogledu zanesljivosti in hitrosti testa je treba:

- ugotoviti, katere metode iz vrednotenja rezultatov je možno uporabiti pri tem testu,
- ugotoviti, kateri prirasti živali najjasneje kažejo razlike v hranilni vrednosti vzorcev ječmena.

Ječmen je bil izbran za modelno rastlino, ker so razmeroma dobro znane reakcije laboratorijskih živali na različne aminokislinske sestave pri ječmenu (E g g u m 1967 a, M u n c k 1970 b, c.). Ta študija je hkrati tudi priprava na biološko testiranje drugih rastlin, predvsem koruze in rastlin za zeleno moko.

3. MATERIAL IN METODIKA

3.1. Vzorci ječmena

Vzorci ječmena so označeni s številkami 106 do 120. Vzorci izvirajo iz južnega področja Švedske. Skupna količina beljakovin v vzorcih je bila ocenjena po Kjeldahlovi metodi (faktor 6,25) z rutinsko analizo v kemijskem laboratoriju ustanove, v kateri je potekal eksperimentalni del raziskave (tabela 1). Za analize in za pripravo krme so bili vzorci zmleti (mlin kladivar Knuteolisws). Raziskani vzorci ječmena (tabela 1) so imeli 8,88 do 14,28 % beljakovin, srednja vrednost beljakovin je 11,11 %. Celokupnega lizina je bilo v vzorcih od 22,79 do 30,25 (poprečno 26,37) milimolov na kilogram suhe snovi vzorca. Lizina v beljakovinah je bilo od 0,200 do 0,277 (poprečno 0,239) mola na kilogram beljakovin. Med količino beljakovin in količino lizina v vzorcu je pozitivna korelacija, korelacijski koeficient $r = 0,89$ je značilen ($P > 0,99$). Med količino beljakovin v vzorcu in količino lizina v beljakovinah je negativna korelacija, korelacijski koeficient $r = -0,87$ je značilen ($P > 0,99$). Korelacija med količino lizina v vzorcu in količino lizina v beljakovinah vzorca ni značilna.

Pri ječmenu je lizin aminokislina, ki je čisto v minimumu (Munck 1964, Munck, 1970). Munck (1964, 1968) tudi poroča, da se dostopnost lizina ječmena lahko zmanjša pri določenih razmerah spravila, sušenja in skladišče-

nja. Eggum (1967) pa poroča, da je pri ječmenu lahko prebavljivost lizina le 72,3 %, tudi če je prebavljivost surovih beljakovin (celokupen N) 82,0 % in prebavljivost drugih raziskanih aminokislin med 75,5 in 90,4 %.

Vsebnost lizina v vzorcih so analizirali v laboratoriju inštituta za biokemijo Univerze v Uppsali s pomočjo kolonske kromatografije. "Dostopnost" bazičnih aminokislin vzorcev je preveril R. Mossberg v kemijskem laboratoriju inštituta za žlahtnjenje rastlin v Landskroni. Drobnno zmletim vzorcem je dodal raztopino azosulfonskega barvila Acilane Orange G (BAYER C.I. 15970), ki se veže s prostimi imidazol, gvanidin in aminoskupinami histidina, arginina, oziroma lizina ter s prostimi terminalnimi amino skupinami beljakovinske verige (Mossberg 1969, 1970). S kolorimetriranjem pri valovni dolžini 475 nm je Mossberg ugotovil količino vezanega barvila. Vrednosti za vezavo barve (DBC, dye-binding capacity) so pri raziskanih vzorcih ječmena dobro ustrezale vsotam vsebnosti bazičnih aminokislin (histidina, arginina in lizina), tako da ni bilo možno ugotoviti kakšnega zmanjšanja fiziološke dostopnosti bazičnih aminokislin zaradi blokiranih imidazol, gvanidin oziroma aminoskupin. Vsa količina aminokislin histidina, arginina in lizina tudi v nepoškodovanem vzorcu ni dostopna živalim v celoti (Eggum 1967), toda na podlagi Mossbergove raziskave lahko trdimo, da je količina dostopnih bazičnih aminokislin v vzorcih sorazmerna količini teh aminokislin. Dostopnost lizina torej ni značilno neenakomerno zmanjšana pod vplivom

ukrepov pridelovanja, spravila, sušenja in skladiščenja.

C a r p e n t e r in E l l i n g e r (1955) ter B r u n o in C a r p e n t e r (1957) so razvili kemijsko metodo ugotavljanja "dostopnega lizina", to je lizina, ki ima prosto epsilon amino skupino. Metoda, znana pod imenom "Carpenterjeva metoda" je zasnovana na reakciji med 1-fluoro-2,4-dinitrobenzenom (FDNB) in prostimi amino skupinami. Za žito in drugo krmo, ki vsebuje veliko škroba, metoda ni primerna.

M a t h e s o n (1968 a, b) je metodo izpopolnil in zmanjšal vpliv škroba na rezultate. M a u r o n (1970) je dokazal, da se količine "dostopnega" lizina, ugotovljene s Carpenterjevo metodo ujemajo z rezultati o "dostopnosti" lizina ugotovljenimi z encimatsko metodo ter z rezultati prirasta živali. Tako se na primer pri pripravi mleka v prahu zmanjša količina "dostopnega" lizina (po vseh treh metodah ugotavljanja dostopnosti) od 8,3-8,4 g lizina/16 g N na 1,9 - 2,3 g/16 g N, medtem ko se celokupna količina lizina v vzorcu zniža samo od 8,3 na 6,1 g/16 g N. Po M a u r o n u (1970) predstavlja razliko med "dostopnim" lizinom in celokupnim lizinom v vzorcu lizin z blokiranimi epsilon amino skupinami. Ko govorimo o "dostopnem" lizinu, mislimo s tem na lizin, ki je ugotovljen kot "dostopen" po Carpenterjevi metodi. O s e r (1970) ugotavlja, da je zaradi blokirane epsilon amino skupine lizina, ki postane fiziološko nedostopen, ovirano tudi proteolitično delovanje tripsina ter s tem znižana prebavljivost

beljakovin. To pa ima le omejen vpliv zaradi delovanja ostalih proteolitičnih encimov v prebavilih.

Podobno kot dostopnost lizina, je lahko znižana tudi dostopnost metionina (H o r n et al. 1968) in drugih aminokislin (B r ü g g e m a n n in E r b e r s - d o b l e r 1968). B e n d e r (1970) ugotavlja, da so najpogostejši vzroki zmanjšanja dostopnosti aminokislin med predelavo beljakovinske krme in hrane temperatura, čas gretja, vlaga in prisotne reducirajoče snovi. Da prihaja v praksi do tako pogostega nižanja hranilne vrednosti beljakovin zaradi nedostopnosti posameznih aminokislin, je vzrok v pomanjkljivi kontroli predelave.

M o u s t a f a (1966) je raziskoval, kako vpliva predelava ribje moke na hranilno vrednost in na količino dostopnega lizina. Ugotovil je zelo dobro korelacijo ($r=0,990$) med dostopnim lizinom in biološko vrednostjo beljakovin.

Če je bila pred kemijsko analizo aminokislin narejena kislá hidroliza, ni možno ugotoviti zmanjšane dostopnosti aminokislin (B e n d e r 1970). S pomočjo bioloških testov lahko ugotovimo le zmanjšanje dostopnosti omejujoče aminokislín (najbolj deficitarne esenciéne aminokislín), razen če ni narejen poskus s suplementiranjem različnih aminokislin (B e n d e r 1970).

Nekatere skupine aminokislin imajo skupen mehanizem prehoda iz prebavil v kri. Če je v hrani veliko ene od takih aminokislin, je s tem ovirana dostopnost druge.

(S a u b e r l i c h 1961, T a s a k i in T a k a h a s h i 1966, E g g u m 1967 a). Pri tem je treba razlikovati zmanjšano dostopnost določene aminokisline (dokazano s korekcijskim delovanjem suplementacije) od škodljivega delovanja presežne aminokisline (E g g u m 1967b). Na absorbcijo lizina v črevesu vpliva tudi prisotnost sladkorjev (M u n c k B.G. 1968). Pri krmljenju živali z žiti nastanejo v prebavilih razmeroma velike količine sladkorjev. "Dostopnosti" posamezne aminokisline torej ne moremo gledati samo kot funkcijo lastnosti krme temveč je absorbcija aminokislin odvisna tudi od kemijskega ravnotežja snovi v prebavilih ter od aktivnega transporta aminokislin iz prebavil v kri (N a s s e t 1964, M u n c k B.G. 1968, M e t t r i c k 1970).

Količine prostih aminokislin krvne plazme po obroku so v povezavi z relativnimi koncentracijami aminokislin v hrani. Na ta način lahko posredno tudi ocenjujemo kolikšna je dostopnost aminokislin hrane ali krmne. (L o n g e n e c k e r 1963, str. 123-136). N a s s e t (1964) ugotavlja slabo ujemanje razmerij aminokislin krvne plazme z razmerjem aminokislin sprejete hrane. Raziskave E r b e r s d o b l e r - j a et al. (1968) in K i h l b e r g - a (1970) potrjujejo ustreznost upoštevanja koncentracije prostih aminokislin krvne plazme kot ocene dostopnosti aminokislin.

Tabela 1. Količina beljakovin (N x 6,25)
in lizina v vzorcih ječmena

Crude protein (N x 6,25) and lysine in barley
samples

Vzorec ječmena	beljakovin v %	celokupen lizin mmol/kg	lizina v beljak. mol/kg
Barley sample	crude protein in %	lysine in mmol/kg	lysine in prot. in mol/kg
106	11,67	27,30	0,234
107	9,87	23,76	0,241
109	10,33	24,88	0,241
110	11,38	28,01	0,246
111	9,65	23,84	0,247
112	14,28	28,56	0,200
113	10,13	24,41	0,241
114	12,24	28,51	0,233
115	9,73	24,62	0,253
116	11,33	27,38	0,242
117	8,88	22,79	0,257
118	12,19	28,00	0,230
119	9,69	26,87	0,277
120	14,18	30,25	0,213

E g g u m (1967a) je ugotovil, da prebavljivost (dostopnost) posameznih aminokislin odstopa navzgor in navzdol od prebavljivosti beljakovin tudi pri nepredelanih rastlinskih beljakovinah. Poškodbe pri predelavi (visoka temperatura in drugo) torej niso edini vzrok različne fiziološke dostopnosti posameznih aminokislin. Ti podatki tudi kažejo, da bi bilo nepravilno ugotavljati količine prebavljivih aminokislin tako, da bi podatke o količini aminokislin v krmi množili s faktorjem prebavljivosti beljakovin.

3.2. ŽIVALI

Za poskus so uporabljene laboratorijske miši, samci inbridirane linije CBA. To je linija sivih miši inbridiranih več kot trideset let. Sedaj je vzdrževana kot populacija (M u n c k 1964 b). Predhodni poskusi z živalmi iste linije v istem laboratoriju (M u n c k 1967) kažejo, da so živali genetsko razmerna močno izenačene.

Ekološke razmere poskusa so tudi zelo izenačene. Avtomatsko sta bili regulirani temperatura ($25^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}$) in relativna zračna vlaga (60 %). Urejena je bila zvočna in svetlobna izolacija ter osvetlitev (svetloba 12 ur dnevno, od 8 do 20 ure).

Čas smo merili v laboratorijskih dnevih od 12,01 do 12,00 ure. Miši smo tehtali ob zaključku laboratorijskega dne, to je od 10 do 12 ure. Istočasno smo dodali hrano in vodo ter odstranili iztrebke. Kot čas rojstva živali je bil zapisan čas zaključka laboratorijskega dne, v katerem je bila žival rojena. Po štiri živali so bile v plastičnih kletkah odpornih pri avtoklaviranju. Dva centimetra nad dnom kletke je bila nerjaveča kovinska mreža, ki je prepuščala odpadke. Vsakih pet dni so bili odpadki odstranjeni. Kletke so bile nameščene na lesenem ogrodju.

Prvih 20 dni po rojstvu so dobivale živali izenačeno hrano. Poskus se je začel v začetku 21. dne ter je tra-

jal do zaključka 40.dne. Živali so bile hranjene ad libitum iz steklenih avtomatov za hranjenje (M u n c k 1964 b). Zmletim vzrocom ječmena so bile dodane mineralne snovi in vitamini. Na 1 kg vzorca je bilo uporabljeno 0,3 g naslednje mešanice vitaminov: 0,1 g biotina, 0,25 g folne kisline, 2,5 g metilnaftokinonsulfata, 2,5 g piridoksina, 5,0 g tiamina, 5,0 g riboflavina, 10,0 g nikotinamida, 20,0 g kalcijevega pantotenata, 1 mg kobalamina, 50,0 g inozitola in 10,65 g aerosila. Aerosil je inerten medij, ki absorbira vodo. Poleg 0,3 g/kg omenjene vitaminske mešanice je bil vzrocom dodan še holin klorid (1 g/kg), vitamin A (500 IE/kg) in vitamin D (225 IE/kg). Na 1 kg diete je bilo dodanih tudi 40 gramov naslednje mešanice mineralov : KJ (0,5g), $MnSO_4$ (1,0 g), $ZnCO_3$ (0,3 g), $CuSO_4$ (0,3 g), $CoCl_2$ (0,3 g), $FeSO_4$ (6,0 g), $MgSO_4$ (36,0 g), $CaCO_3$ (164,0 g), $Ca_3(PO_4)_2$ (153,0 g), Na_2HPO_4 (100,0 g), $NaCl$ (96,0 g), K_2HPO_4 (98,0 g), $KOOCCH_3$ (269,0 g).

3.3. METODE VREDNOTENJA HRANILNE VREDNOSTI BELJAKOVIN

Metode vrednotenja beljakovin delimo na kemijske in biološke. Biološke metode nam neposredno pokažejo hranilno vrednost beljakovin v konkretnih pogojih s pokazatelji, ki so zelo podobni pokazateljem rezultatov prireje živali. V nasprotju z biološkimi metodami nam dajo kemijske metode posamezne podatke, na podlagi katerih lahko bolj ali manj točno napovedujemo rezultate, ki bi v določenih pogojih nastali pri prireji domačih živali. Razlika med kemijskimi in biološkimi metodami je z metodološkega stališča predvsem v tem, da biološke metode same kompleksno zajemajo vse dejavnike hranilne vrednosti krmil, medtem ko kemijske metode analizirajo posamezne dejavnike; na podlagi teh analiz ter ob uporabi modelov pa potem podatke sumiramo. Ustrezno je torej metode razdeliti na analitične in kompleksne.

3.3.1 Kompleksne metode

Ravnotežje dušika

Raziskovanje uravnovešenosti sprejemanja in oddaje dušika je zelo pomembno za proučevanje izkoriščanja in presnove beljakovin v telesu. T h o m a s (1909) je definiral ravnotežje dušika ($B = \text{balance}$) kot razliko med sprejetim dušikom (I) in dušikom oddanim iz telesa v urinu (U) in blatu (F).

$$B = I - (U + F)$$

Po Thomas-u (1909) je bilo ravnotežje dušika uporabljeno za določanje "biološke vrednosti", definirane kot procent sprejetega dušika, ki je ostal v telesu. K izpopolnitvi metode so prispevale raziskave M i t s c h e l l a (1962). Izpopolnjena metoda ne upošteva kot uporabljen dušik le dušik, ki se vgradi v telo, temveč tudi dušik pri "notranji" presnovi v telesu. Ta del dušika, izločenega v urinu, ki izvira iz notranje presnove, se imenuje "endogenous N". Ugotovi se ga s primerjalnimi biološkimi testi z dietami brez dušika (A l b a n e s e in O r t o 1963) ali z dietami, ki jim je dodana točno znana majhna količina popolnoma prebavljive beljakovine (E g g u m 1969). Podobno je ugotovljen N presnove, to je del dušika v blatu, ki ga v blato izločijo stene prebavil. Po T h o m a s - M i t s c h e l l -ovi metodi je enačba ugotavljanja biološke vrednosti beljakovin naslednja (E g g u m 1969):

$$BV = \frac{N \text{ hrane} - (N \text{ blata} - N \text{ presnove}) - (N \text{ urina} - N \text{ endog.})}{N \text{ hrane} - (N \text{ blata} - N \text{ presnove})} \cdot 100$$

Uporaba te metode je zelo razširjena, kot eksperimentalne živali najpogosteje uporabljajo podgane (E g g u m in M e r c e r 1964).

Slabost T h o m a s - M i t s c h e l l -ove metode je v tem, da je ugotavljanje endogenega dušika in dušika presnove osnovano na predpostavki, da se metabolizem živali z izokalorično nebeljakovinsko hrano ne razlikuje bistveno od metabolizma živali, ki so bile krmljene s testirano beljakovino. Še širšo uporabo T h o m a s - M i t s c h e l l -ove metode ovira, da uporaba te me-

tode zahteva veliko dela ter da pri čim natančnejši izvedbi postopka nastajajo razne tehnične težave, kot na primer problem hitre in popolne ločitve urina in blata.

Izkoristek dušika hrane se lahko ugotavlja tudi z razliko med količino dušika v telesu poskusnih in primerjalnih živali. Količina dušika je ugotovljena s kemijsko analizo (K j e l d a h l) cele živali. Primerjalno skupino živali, ki je popolnoma enakovredna poskusni skupini, se usmrti in analizira ob samem začetku poskusa. Pokazatelj zasnovan na tej metodi NPU (Net Protein Utilization) sta razvila B e n d e r in D o e l (1957). NPU je primeren za ocenjevanje hranilne vrednosti rastlinskih beljakovin, v katerih je omejujoča aminokislina lizin, ker je zelo dobra pozitivna korelacija med NPU in lizinom v krmi (E g g u m 1969).

Na presnovo beljakovin lahko vplivajo tudi nekateri nebeljakovinski dejavniki hrane oziroma krme. Pri prenizki kalorični vrednosti krme in visokem procentu beljakovin se zniža beljakovinska "hranilna vrednost" beljakovin, ker se jih del uporabi kot vir energije. Da se temu izognemo, uporabljamo pri raziskovanju hranilne vrednosti beljakovin diete s približno 10 % beljakovin. Za uspešen potek raziskav je treba zagotoviti v krmi tudi zadostne količine mineralov in vitaminov.

Prirast živali

O s b o r n e et.al. (1919) so ugotovili korelacijo med prirastom telesne teže mladih podgan in med hranilno

vrednostjo krme. Uvedli so pokazatelj PER (Protein Efficiency Ratio), ki je definiran kot v gramih izražen prirast telesne teže na gram s hrano sprejetih beljakovin. Čim boljša je kvaliteta beljakovin, tem nižji procent beljakovin mora biti v hrani, da se doseže optimalni PER. Zaradi lažje in nepristranske primerjave je uveljavljeno merjenje PER na nivoju 10 % beljakovin v krmi.

B e n d e r in D o e l l (1957) sta uvedla pokazatelj NPR (Net Protein Retention), ki primerja teže skupine živali, hranjene z 10 % testirane beljakovine ter skupine, hranjene z nebeljakovinsko krmo. Tako ni upoštevana le uporaba beljakovin za prirast, temveč tudi uporaba beljakovin, ki se v času poskusa uporabijo v procesih presnove. Metoda NPR je torej zasnovana na predpostavki, da se metabolizem živali obeh skupin bistveno ne razlikuje.

H e g s t e d in V o r c e e s t e r (1947) ugotavljata, da je prirast teže živali lahko zadosten pokazatelj hranilne vrednosti beljakovin, brez upoštevanja količine konzumirane hrane, oziroma količine konzumiranih beljakovin.

Metoda NPU že upošteva beljakovinski del prirasta živali. Le, da ta prirast beljakovin (akumulacija dušika v telesu) ne moremo meriti individualno, saj bi z ugotavljanjem količine dušika v telesu živali ob začetku poskusa žival usmrtili. Pri miših istočasno kot dušik (za NPU) ugotavljamo tudi količino masti (M u n c k 1964 b), kar skupaj daje oceno razmerja med mesom in

mastjo. Pri prašičih je razmerje meso/mast eden od pomembnih kriterijev kvalitete svinj za zakol ter je v pozitivni korelaciji z biološko vrednostjo krme (C l a u s e n 1963, L a r s s o n et al. 1966). NPU ter razmerje meso/mast sta lahko preciznejša pokazatelja hranilne vrednosti kot celoten prirast teže živali, saj ta ne pomeni vedno povečane depozicije beljakovin, v sodobni živinoreji pa je cenjen predvsem beljakovinski prirast živali. Prirast teže živali kot pokazatelj ima prednost, da so taki poskusi hitrejši. Medtem, ko je nemogoče individualno upoštevati količino dušika v telesu ter razmerje meso/mast ob začetku poskusa, pa je možno natančno individualno upoštevanje startne teže živali pri ugotavljanju prirasta teže.

Od laboratorijskih živali se najširše uporabljajo podgane, tako za vrednotenje hranilne vrednosti rastlinskih in drugih beljakovin ter mešanic, kot za ugotavljanje zakonitosti fiziologije prehrane (N e h r i n g et al. 1959, E g g u m in M e r c e r 1964, B u n y a n in W o o d h a m 1964, E g g u m 1969, E g g u m 1970, K i h l b e r g 1970).

B o s s h a r d t et al. (1946) so ugotovili primernost miši za vrednotenje hranilne vrednosti beljakovin. T r o e l s e n in B e l l (1961) ter E g g u m et al. (1969) so ugotovili dobro korelacijo med rezultati bioloških poskusov z mišmi in prašiči. B e l l (1962) je ugotovil, da so za miši esencijske aminokisljine metionin, fenilalanin, valin, leucin, izoleucin, lizin, treonin in cistein. G a l l in K y l l e (1968)

sta raziskala zakonitosti rasti laboratorijskih miši. Ugotovila sta zelo hitro prirast živali med 2o. in 4o. dnevom.

Primernost CBA miši za vrednotenje hranilne vrednosti ječmena je raziskal M u n c k (1964 a,b,c, 1966). M u n c k je raziskal tudi problem genetske konstitucije poskusnih živali (M u n c k 1967, M u n c k 1970 a). Ugotovil je, da so lahko tudi heterotične živali (F_1 generacija) ustrezne za tovrstne teste. Pomen dedne konstitucije za hitrost prirasta miši sta raziskovala tudi L a n g in L e g a t e s (1969), ki sta ugotovila značilne razlike med linijami selekcioniranimi za visoko, oziroma nizko težo živali ob zaključku šestega tedna starosti.

Druge kompleksne metode

Tetrahymena pyriformis, ki jo uporabljajo pri mikrobiološki metodi kompleksnega oziroma sumaričnega ocenjevanja hranilne vrednosti beljakovin ima zahteve po aminokislinah zelo podobne zahtevam višjih živali. Metoda skušajo prilagoditi za čim širšo uporabo (E g g u m et al. 1969, H e l m s in R ö l l e 1970). V uporabi so še razne druge mikrobiološke metode, ki pa se jih uporablja za ocenjevanje posameznih dejavnikov hranilne vrednosti beljakovin in torej ne spadajo med kompleksne temveč med analitične metode.

Za kompleksno oziroma sumarično oceno hranilne vrednosti beljakovin skušajo uporabljati tudi koncentracijo uree v krvi, količino izločene uree, razmerje med koli-

čino kreatinina v urinu in med celotnim izločenim dušikom, beljakovine krvne plazme ter razmerje med prostimi neesencijskimi in esencijskimi aminokislinami krvne plazme (A l b a n e s e in O r t o 1963, H o l t et al. 1963, E g g u m 1969, W a t e r l o w 1970, A u l s t a d 1970). Omenjeni faktorji so odvisni predvsem od procesov presnove organizma in le posredno tudi od kvalitete s hrano sprejetih beljakovin, zato ne omogočajo dovolj nepristranske ocene vrednosti beljakovin hrane.

3.3.2. Analitične metode

Vsebnost beljakovin

Pri krmi z beljakovinami približno enake sestave in prebavljivosti je zelo dobra povezanost med količino beljakovin in med hranilno vrednostjo. Tako često uporabljamo podatek o količini beljakovin v krmi za oceno hranilne vrednosti krme, navadno skupno s podatki o prebavljivosti ter o vsebnosti in prebavljivosti drugih snovi. Prebavljivost beljakovin lahko ugotavljamo in vivo ali in vitro.

Vsebnost beljakovin lahko določimo neposredno ali posredno. V agronomski praksi so uveljavljene razne metode posrednega ugotavljanja količine beljakovin, zlasti metoda ocene beljakovin s pomočjo ugotavljanja N po Kjeldahlovi metodi. Pri posrednih metodah je lahko sporen faktor, s katerim pomnožimo rezultat meritev, da dobimo oceno vsebnosti beljakovin. Ni pomembno samo v

konkretnih primerih preverjati in korigirati uporabljeni faktor, temveč tudi paziti na možnost grobih, ponavljajočih se napak pri nekritični uporabi posrednih metod. Često predpostavljamo, da vsebujejo beljakovine 16 % dušika, oziroma da dobimo procent celokupnih ali "surovih beljakovin", če procent dušika v krmu množimo s faktorjem 6,25 (100/16). Na osnovi kvantitativne analize aminokislin je E g g u m (1966) za vrsto beljakovin ugotovil, kakšen je ta faktor. Po tem viru so na primer faktorji:

konjski bob	5,66
pasja trava	6,25
ribja moka	6,33
soja	6,39
oves	6,50
rž	6,53
koruza	6,61
ječmen	6,71
kazein	6,89
pšenica	6,90
proso	6,92

Faktor 6,71 je E g g u m dobil za ječmen z analizo štirih vzorcev, faktorji izračunani za posamezne vzorce varirajo od 6,67 do 6,78.

Žal avtor ni navedel koliko se raziskani vzorci razlikujejo med seboj po drugih lastnostih, na primer po vsebnosti beljakovin. Znana je negativna korelacija med količino beljakovin v vzorcu in med vsebnostjo lizina v beljakovini (glej stran 42). Ker take korelacije (pozi-

tivne ali negativne) lahko pričakujemo tudi za ostale aminokisline, smemo pričakovati, da se bo hkrati s procentom beljakovin v vzorcu spreminjal tudi procent dušika v beljakovinah. Nekatere aminokisline (arginin, histidin, lizin) vsebujejo relativno veliko dušika, nekatere druge aminokisline (tirozin, fenilalanin, metionin) pa imajo malo dušika.

Količine aminokislin

Pri prehrani živali ni potrebe po beljakovinah kot takih, temveč le po aminokislinah, ki jih beljakovine vsebujejo. Ne moremo se več zadovoljevati s tem, da bi potrebe živali po beljakovinah izražali s količino prebavljivih beljakovin, ker ta podatek ni odločilen za optimalno prirejo mesa (C l a u s e n 1963). Hranilno vrednost beljakovin ocenjujemo na osnovi rezultatov predhodnih kemijskih ali mikrobioloških (B o l l i n d e r 1966, 1968, 1970) analiz aminokislin.

M i t c h e l l in B l o c k (1946) ter B l o c k in M i t c h e l l (1946) sta predlagala, naj bo količina najbolj omejujoče aminokisline osnova za izračun hranilne vrednosti beljakovin. Hranilno vrednost beljakovine bi naj predstavljal procent omejujoče aminokisline v raziskovani beljakovini v primerjavi z določeno referenčno beljakovino (kokošje jajce).

O s e r (1951) je predpostavljala, da je verjetnost, da so vse esencielne aminokisline na razpolago na mestu sinteze beljakovin v živali funkcija produkta koncentracij aminokislin. Pokazatelj, ki ga O s e r pred-

laga (EAAI - Essential Amino Acid Index) upošteva razmerja med količinami posameznih esencijskih aminokislin v preiskovani beljakovini in v referenčni beljakovini. Za referenčno beljakovino je O s e r izbral količino aminokislin v beljakovinah kokošjega jajca. V nasprotju z metodo Mitchell-a in Block-a (1946) v določenih primerih, ko večina aminokislin ustreza referenčni beljakovini, metoda po Oser-ju ne pokaže dovolj negativnega učinka pomanjkanja omejujoče aminokisline. A l m q u i s t (1954) in K o f r a n y i (1956) poudarjata pomen omejujoče aminokisline. Hranilna vrednost beljakovin je tem višja, čimbolj aminokislinski sestav ustreza potrebam živali po aminokislinah. Če je v beljakovini krme ene od esencijskih aminokislin na primer samo 50 % relativne potrebe živali po tej aminokislini, je beljakovina le polovično izkoriščena (L o n g e n e c k e r 1963, str. 117).

H a r p e r in K u n t a (1959) sta ugotavljala pomen ravnotežja aminokislin v krmi ter poudarjata, da je treba razlikovati posledice nepravilnega razmerja aminokislin od škodljivosti pri preveliki koncentraciji posamezne aminokisline.

R a m a R a o et al. (1964) so predlagali pokazatelj RI (Requirement Index), kjer bi bile zahteve živali po aminokislinah osnova izračuna hranilne vrednosti analizirane beljakovine in ne referenčna beljakovina.

H a c k l e r et al. (1967) so za frakcije soje ugotovili slabo korelacijo ocen hranilne vrednosti na osnovi analiz aminokislin (EAAI in RI) s hranilno vrednostjo

teh beljakovin ugotovljeno z biološkim testom.

Ugotavljanje drugih dejavnikov

Često so v beljakovinski krmi prisotni tudi nekateri nebeljakovinski dejavniki, ki nižajo izkoriščanje beljakovin pri živalih. Podrobneje so doslej raziskovali vpliv gosipola v bombažu (B a l i g a et al. 1959), škodljive fenole v rži, pšenici in Triticale (W i e r i n g a 1967, H o l m b e r g in O h l s s o n 1968), beta glukane in druge podobno delujoče snovi pri ječmenu, rži in pšenici (B u r n e t t 1966, M u n c k 1968), inhibitorje tripsina pri stročnicah, pšenici, rži in ajdi (L a p' o r t e in T r e m o l i e r e s 1962, B e n d e r 1970) ter razne rastlinske toksine. Hranilno vrednost beljakovinske krme lahko nižajo tudi mikotoksini. Tudi to je vzrok, da večkrat hranilna vrednost beljakovin, ocenjena na osnovi podatkov o vsebnosti in dostopnosti aminokislin, ne ustreza dejanski hranilni vrednosti, ugotovljeni s poskusi na živalih.

4 REZULTATI IN DISKUSIJA

4.1. Teže živali in prirasti tež

V poskusu so bile živali naključno razporejene v 14 skupin po 8 ali 12 živali. Skupno je bilo vključenih v poskus 144 živali. Hranjene so bile ad libitum z vzorci ječmena označenimi s številkami 106 - 120 (Tabela 1). (Med poskusom je ušla iz kletke ena žival iz skupine, krmljene z vzorcem št. 108, zato je bila ta skupina živali odstranjena iz poskusa).

Teža živali (izražena v gramih) je bila ugotavljana v začetku poskusa (oznaka A), po 5 dneh poskusa (oznaka B), po 10 dneh poskusa (oznaka C), po 15 dneh poskusa (oznaka D) in po 20 dneh ob zaključku poskusa (oznaka E). Tekoči in trdni ekskrementi izločeni med tehtanjem so bili upoštevani kot sestavni del teže živali. Teža ušesne markice je bila upoštevana pri tehtanju in njena teža odšteteta. Prirasti v posameznih obdobjih so izraženi kot razlika tež v začetku in ob koncu določenega obdobja (na primer prirast v 10 dneh od ugotovitve tež A do ugotovitve tež C je označen z C-A).

V tabeli štev. 20 (dodatek) so v gramih označene teže živali in prirasti tež v posameznih obdobjih za posamezne skupine živali krmljene z določenimi vzorci ječmena.

Tabela 2: Poprečni prirestki(na žival)tež živali v gramih

Mean weight gains(per animal)of mice in grams

Skupina Group	Dnevi poskusa - days of experiment										
	1-5	1-10	1-15	1-20	6-10	6-15	6-20	11-15	11-20	16-20	
106	2,30	5,28	8,26	10,16	2,98	6,00	7,86	2,98	4,88	1,90	
107	2,11	4,78	7,63	9,82	2,68	5,60	7,71	2,84	5,03	2,19	
109	2,23	4,91	7,74	10,06	2,68	5,51	7,83	2,83	5,15	2,32	
110	2,59	5,36	8,11	9,83	2,78	5,53	7,24	2,75	4,46	1,71	
111	2,31	4,65	6,85	8,99	2,34	4,54	6,68	2,20	4,34	2,14	
112	2,85	6,30	8,96	10,91	3,45	6,11	8,06	2,66	4,61	1,95	
113	2,24	4,90	7,56	9,48	2,66	5,33	7,24	2,66	4,58	1,91	
114	2,63	5,44	8,39	10,55	2,81	5,65	7,93	2,95	5,11	2,16	
115	1,96	4,49	7,08	9,39	2,53	5,11	7,43	2,59	4,90	2,31	
116	2,26	5,01	7,97	9,90	2,75	5,71	7,64	2,96	4,89	1,93	
117	2,09	4,38	6,81	8,73	2,28	4,72	6,64	2,43	4,36	1,93	
118	2,66	5,68	8,92	10,65	3,03	6,26	7,99	3,23	4,97	1,73	
119	2,23	4,85	7,54	9,57	2,63	5,32	7,34	2,69	4,72	2,02	
120	2,73	5,93	8,77	10,78	3,20	6,04	8,06	2,84	4,86	2,02	

4.2. Simetričnost distribucij

Parametri so mere posameznih lastnosti statističnih populacij. Če s pomočjo lastnosti vzorca ocenjujemo parametre populacije, nato pa na podlagi domnev o razporeditvi populacij izvajamo sklepe, so to parametrične metode. V primerih, ko omenjene domneve ustrezajo dejanski razporeditvi populacij, je tako sklepanje pravilno. Če dejanska razporeditev odstopa od domnevane razporeditve, lahko nastanejo neustrezni sklepi. Raziskovalec se mora pri uporabi parametričnih metod stalno zavedati, da so te metode zasnovane na določeni domnevi ter s kritičnim vrednotenjem uporabljene metodike in rezultatov zagotoviti, da to ne pripelje do napačnih sodb o raziskovanih populacijah.

Da bi ugotovili, če je razporeditev populacij iz katerih so vzeti raziskovani vzorci normalna in če smemo uporabiti nekatere običajne statistične metode, ki predpostavljajo normalnost razporeditve raziskovane populacije, moramo preveriti simetričnost razporeditev vzorcev. Razumljivo, da nobena od razporeditev vzorcev ni popolnoma simetrična. Ugotoviti pa moramo, ali lahko domnevamo, da je opazovan odklon od simetrije nastal le kot posledica vzorčenja, to je po naključju, oziroma pod vplivom maksimalno konkretnih dogodkov pri vzorčenju.

Uporabljena je bila metoda testiranja simetričnosti

pri majhnih vzorcih (Snedecor 1962, str. 199-201). Merilo asimetričnosti označujemo z g_1 , izračunamo ga po enačbi :

$$(I) \quad g_1 = \frac{k_3}{\sqrt{k_2^3}}$$

k_2 = srednji kvadrat odklona od aritm. sredine

k_3 = srednji kub odklona od aritmetične sredine

Merilo simetričnosti g_1 je lahko pozitivno, negativno ali enako nič. Če je $g_1 = 0$ je vzorec simetričen. Pozitiven g_1 je znak, da je prekomerno število enot vzorca manjših od poprečja, negativen g_1 pa kaže, da je večje število enot vzorca večjih od poprečja. Značilnost odstopanja vrednosti g_1 ugotovimo, da vrednost g_1 delimo s standardno napako te vrednosti ter dobljeno število primerjamo z ustrezno vrednostjo t distribucije pri neskončnem številu stopinj prostosti. Vrednost t distribucije pri neskončnem številu stopinj prostosti za $P=0,05$ je 1,960, za $P=0,01$ pa je 2,576. Dobljene t vrednosti za posamezne vzorce so razvidne s tabele 3.

Opisano pojavljanje asimetričnosti pri nekaterih skupinah živali za nekatera obdobja poskusa nam še ne omogoča, da bi z določeno zanesljivostjo ugotavljali asimetrično razporeditev populacij, iz katerih so vzeti opisani vzorci. Opozarja pa nas, da se vendar ne moremo popolnoma zanesti na simetričnost. Asimetričnost populacij je lahko taka, da bi se z večjo zanesljivostjo pokazala, če bi bili vzorci nekoliko večji. Če bi bili

vzorci večji, bi poleg natančnejše raziskave simetričnosti lahko raziskali tudi eksces ter tako ugotovili normalnost razporeditve populacij ali pa potrdili upravičenost dvoma o normalnosti razporeditve populacij.

Rezultate raziskave normalnosti distribucij lahko razlagamo tako, da sicer ni formalnega razloga za ovrženje upravičenosti uporabe parametričnih statistik, vendar da jih moramo uporabljati previdno ter rezultate tolmačiti z zadržki. Če pa se pokaže kot primerna katera od neparametričnih metod, jo lahko uporabljamo brez omenjenega zadržka.

Tabela 3: t vrednosti za odstopanja od simetričnosti
t numbers for deviation from symmetry
(Tabelarni t za $P = 0,05$ je 1,960
za $P = 0,01$ pa je 2,576).

Skupina Group	dnevi poskusa - days of experiment			
	1 - 5	1 - 10	1 - 15	1 - 20
106	-0,09	-2,43	-0,17	-1,75
107	0,48	-0,50	-1,41	-1,14
109	-0,54	0,30	-0,42	-0,57
110	0,05	-0,65	0,50	1,45
111	-2,09	-0,82	0,09	-0,21
112	-2,11	-0,13	-0,91	0,33
113	-0,22	0,40	-0,08	0,16
114	1,55	1,37	1,09	0,87
115	-1,38	-1,25	-2,26	-2,31
116	-0,50	-0,70	-0,68	-0,85
117	0,02	1,98	-0,37	2,60
118	0,82	-0,85	-1,28	-0,14
119	0,22	0,10	0,74	-0,09
120	0,17	0,59	0,56	2,77

4.3. Analiza variance in kovariance

Pri računanju variance in kovariance moramo upoštevati, da je v to raziskavo pri različnih skupinah živali vključenih neenako število osebkov. Uporabljen je bil poseben program za obdelavo podatkov s pomočjo elektronskega računalnika, ki to upošteva (program je sestavila M. Opara-Müller). Kot variabla so upoštevani prirasti živali v posameznih obdobjih poskusa, kovariabla pri analizi kovariance pa je teža živali v začetku poskusa.

Homogenost variance

Pomemben je podatek o homogenosti variance. Homogenost variance pri primerjanju večih skupin podatkov ugotavljamo s pomočjo Bartlett-ovega testa homogenosti variance, ob upoštevanju, da imamo neenako število osebkov v skupinah (Snedecor 1962, str. 287). Homogenost variance je bila raziskana za priraste od prvega do petega dne poskusa (izračunan korigiran hi-kvadrat 20,22), od prvega do desetega dne poskusa (hi-kvadrat 30,03), od prvega do petnajstega dne poskusa (hi-kvadrat 11,65), od prvega do dvajsetega dne poskusa (hi-kvadrat 15,91). Pri 13 stopinjah prostosti je verjetnost hi-kvadrata večjega od 22,36 $P=0,05$, večjega od 27,69 pa $P=0,01$. (S n e d e c o r 1962, str. 28). Na osnovi teh podatkov še ne moremo zanesljivo sklepati o simetričnosti distribucij podatkov. Potrebne bi bile dodatne

informacije in večje število poskusov. Nastanek velikih razlik med srednjimi kvadrati odklonov od srednjih vrednosti je lahko posledica vpliva vzorcev ječmena na živali, ali pa tudi posledica naključja oziroma maksimalno konkretnih dogodkov. Iz primerjav vrednosti S^2 (tabela 4) s podatki o vzorcih ječmena (tabela 1) ne moremo razbrati kakšnega določenega vpliva vzorcev na varianco.

Tabela 4: Srednji kvadratni odkloni od sredine (S^2)
za priraste (v gramih) v dneh poskusa
Mean squares (S^2) for distributions of weight
gains (in grams) in days of experiment

Skupina živali	dnevi poskusa - days of experiment			
Group of animals	1 - 5	1 - 10	1 - 15	1 - 20
106	0,1036	0,5161	0,3972	0,2882
107	0,1027	0,1052	0,2275	0,3070
109	0,1370	0,5463	0,6972	0,6355
110	0,3984	0,6056	0,6298	0,2164
111	0,3784	0,1057	0,3943	0,5041
112	0,1514	0,2000	0,4313	0,8927
113	0,1370	0,2457	0,2798	0,1593
114	0,7193	0,8227	0,7184	0,5343
115	0,1083	0,9993	1,0736	0,7699
116	0,1790	0,3427	0,4879	0,7892
117	0,1517	1,0090	0,6354	0,7516
118	0,2190	1,3120	0,0943	0,2901
119	0,1930	0,5264	0,6372	0,2879
120	0,1330	0,5093	0,3879	0,2907

Tabela 5: Analize varianco
Analyses of variance

Obdobje poskusa	vir	SP	VKO	S^2	F-test	KV
1 - 5	Total	143	35,83	0,25	3,44	21,2
	Razlika	130	26,66	0,21		19,2
	Povpr.	13	9,17	0,71		35,6
1 - 10	Total	143	118,37	0,83	7,91	17,7
	Razlika	130	74,40	0,57		14,8
	Povpr.	13	43,97	3,38		35,9
1 - 15	Total	143	139,76	0,98	9,08	12,5
	Razlika	130	73,24	0,56		9,5
	Povpr.	13	66,52	5,12		28,6
1 - 20	Total	143	118,30	0,83	9,21	5,1
	Razlika	130	61,58	0,47		3,9
	Povpr.	13	56,72	4,36		11,7

Testiranje razlik med prirasti

F-test (S n e d e c o r 1962, str. 244) kaže značilen vpliv vzorcev ječmena na razlike med prirasti teže živali. Za obdobje poskusa od prvega do petega dne je $F=3,44$, od prvega do desetega dne $F=7,91$, od prvega do petnajstega dne $F=9,08$ in od prvega do dvajsetega dne $F=9,21$. Pri $P=0,05$ je $F=1,80$, pri $P=0,01$ je $F=2,28$, SP 13 in 130.

Za testiranje razlik med prirasti skupin živali sem uporabil sekvenčno metodo testiranja (S n e d e c o r 1962, str. 253). Ta metoda je podobna Tukeyevemu testu (S n e d e c o r 1962, str. 251-253), s tem da upoštevamo število skupin, ki je po velikostnem vrstnem redu med primerjanimi skupinama. Rezultati izračuna so prikazani na tabelah 6, 7, 8 in 9.

Skupina Group	112	120	118	114	110	111	106	116	113	119	109	107	117	115
$\bar{x}$	2,85	2,73	2,66	2,63	2,59	2,31	2,30	2,26	2,24	2,23	2,23	2,11	2,09	1,96
115	1,96	0,89	0,77	0,67	0,63	0,35	0,34	0,30	0,28	0,27	0,27	0,15	0,13	-
117	2,09	0,76	0,64	0,54	0,50	0,22	0,21	0,17	0,15	0,14	0,14	0,02	-	-
107	2,11	0,74	0,62	0,55	0,48	0,20	0,19	0,15	0,13	0,12	0,12	-	-	-
109	2,23	0,62	0,50	0,43	0,36	0,08	0,07	0,03	0,01	-	-	-	-	-
119	2,23	0,62	0,50	0,43	0,36	0,08	0,07	0,03	0,01	-	-	-	-	-
113	2,24	0,61	0,49	0,42	0,35	0,07	0,06	0,02	-	-	-	-	-	-
116	2,26	0,59	0,47	0,40	0,33	0,05	0,04	-	-	-	-	-	-	-
106	2,30	0,55	0,43	0,36	0,29	0,01	-	-	-	-	-	-	-	-
111	2,31	0,54	0,42	0,35	0,28	-	-	-	-	-	-	-	-	-
110	2,59	0,26	0,14	0,07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
114	2,63	0,22	0,10	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
118	2,66	0,19	0,07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
120	2,73	0,12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
112	2,85	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 6 :

Razlike med aritmetičnimi sredinami prirastov skupin živali od prvega do petega dne poskusa. Razlike, ki so značilne pri $P = 0,95$ so podčrtane (sekvenčna metoda)

Differences between means of weight gains (1st to 5th day) for groups of animals. Differences underlined are significant at $P = 0,95$ level.

Skupina Group	112	120	118	114	110	106	116	109	113	119	107	111	115	117
$\bar{x}$	6,30	5,93	5,68	5,44	5,36	5,28	5,01	4,91	4,90	4,85	4,78	4,65	4,49	4,38
117	4,38	1,92	1,55	1,30	1,06	0,90	0,63	0,53	0,52	0,47	0,40	0,27	0,11	-
115	4,49	1,81	1,44	1,19	0,95	0,87	0,52	0,42	0,41	0,36	0,29	0,16	-	-
111	4,65	1,65	1,28	1,03	0,79	0,71	0,36	0,26	0,25	0,20	0,13	-	-	-
107	4,78	1,52	1,15	0,90	0,66	0,58	0,23	0,13	0,12	0,07	-	-	-	-
119	4,85	1,45	1,08	0,83	0,59	0,51	0,16	0,06	0,05	-	-	-	-	-
113	4,90	1,40	1,03	0,78	0,54	0,46	0,11	0,01	-	-	-	-	-	-
109	4,91	1,39	1,02	0,77	0,53	0,45	0,10	-	-	-	-	-	-	-
116	5,01	1,29	0,92	0,67	0,43	0,35	0,27	-	-	-	-	-	-	-
106	5,28	1,02	0,65	0,40	0,16	0,08	-	-	-	-	-	-	-	-
110	5,36	0,94	0,57	0,32	0,08	-	-	-	-	-	-	-	-	-
114	5,44	0,86	0,49	0,24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
118	5,68	0,62	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
120	5,93	0,37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
112	6,30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 7:

Razlike med aritmetičnimi sredinami pripravov skupin živali od prvega do desetega dne poskusa. Razlike, ki so značilne pri $P = 0,95$ so podčrtane (sekvenčna metoda)

Differences between means of weight gains (1st to 10th day) for groups of animals. Differences underlined are significant at $P = 0,95$ level.

Skupina Group	112	118	120	114	106	110	116	109	107	113	119	115	111	117
$\bar{x}$	8,96	8,92	8,77	8,39	8,26	8,11	7,97	7,74	7,63	7,56	7,54	7,08	6,85	6,81
117	6,81	2,15	1,96	1,58	1,45	1,30	1,16	0,93	0,82	0,75	0,73	0,27	0,04	-
111	6,85	2,11	1,92	1,54	1,41	1,26	1,12	0,89	0,78	0,71	0,69	0,23	-	-
115	7,08	1,88	1,69	1,31	1,18	1,03	0,89	0,66	0,55	0,48	0,46	-	-	-
119	7,54	1,42	1,38	0,85	0,72	0,57	0,43	0,20	0,09	0,02	-	-	-	-
113	7,56	1,40	1,36	0,83	0,70	0,55	0,41	0,18	0,07	-	-	-	-	-
107	7,63	1,33	1,29	0,76	0,63	0,48	0,34	0,11	-	-	-	-	-	-
109	7,74	1,22	1,18	0,65	0,52	0,37	0,23	-	-	-	-	-	-	-
116	7,97	0,99	0,95	0,42	0,29	0,14	-	-	-	-	-	-	-	-
110	8,11	0,85	0,81	0,28	0,15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
106	8,26	0,70	0,66	0,13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
114	8,39	0,57	0,53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
120	8,77	0,19	0,15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
118	8,92	0,04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
112	8,96	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 8 :

Razlike med aritmetičnimi sredinami prirastov skupin živali od prvoga do petnaestega dne poskusa. Razlike, ki so značilne pri $P = 0,95$ so podčrtane (sekretna metoda).

Differences between ^{means} of weight gains (1st to 15th day) for groups of animals. Differences underlined are significant at $P = 0,95$ level.

Skupina Group	112	120	118	114	106	109	116	110	107	119	113	115	111	117
X	10,91	10,78	10,65	10,55	10,16	10,06	9,90	9,83	9,82	9,57	9,49	9,39	8,99	8,73
117	6,75	2,18	2,05	1,82	1,43	1,33	1,17	1,10	1,09	0,84	0,75	0,66	0,26	-
111	8,99	1,92	1,79	1,56	1,17	1,07	0,91	0,84	0,83	0,58	0,49	0,40	-	-
115	9,39	1,52	1,39	1,16	0,77	0,67	0,51	0,44	0,43	0,18	0,09	-	-	-
113	9,48	1,43	1,30	1,07	0,68	0,58	0,42	0,35	0,34	0,09	-	-	-	-
119	9,57	1,34	1,21	0,98	0,59	0,49	0,33	0,26	0,25	-	-	-	-	-
107	9,82	1,09	0,96	0,73	0,34	0,24	0,08	0,01	-	-	-	-	-	-
110	9,83	1,08	0,95	0,72	0,33	0,23	0,07	-	-	-	-	-	-	-
116	9,90	1,01	0,88	0,65	0,26	0,16	-	-	-	-	-	-	-	-
109	10,06	0,85	0,72	0,49	0,10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
106	10,16	0,74	0,62	0,39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
114	10,55	0,36	0,23	0,10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
118	10,65	0,26	0,13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
120	10,78	0,13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
112	10,91	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 9 :

Razlike med aritmetičnimi sredinami prirastov skupin živali od prvega do četrtega dne poskusa. Razlike, ki so značilne pri P = 0,95 so podčrtane (sekvenčna metoda).

Differences between ^{mean} of weight gains (1st to 20th day) for groups of animals. Differences underlined are significant at P = 0,95 level.

Analiza kovariance

Ali nam lahko analiza kovariance prikaže razlike med poprečnimi prirasti skupin živali? Ali moremo uporabiti analizo kovariance v ta namen?

Eden od pogojev za uporabo analize kovariance je homogenost regresijskih kvocientov (b). Ta pogoj v nekaterih primerih ni izpolnjen, saj je za priraste od prvega do petega dne poskusa za razmerje pojasnjene proti nepojasnjeni varianci $F=4,00$, za priraste od prvega do desetega dne poskusa je $F=3,00$, za priraste od prvega do petnajstega dne poskusa je $F=2,39$. Pri stopinjah prostosti $SP=13$ za večji srednji kvadrat in $SP=116$ za manjši srednji kvadrat odklona od srednje vrednosti je pri upoštevanju obeh strani distribucije na nivoju $P=0,05$ interpolirana vrednost $F=2,5$ (S n e d e c o r 1962, str. 279). V omenjenih primerih zaradi nehomogenosti regresijskega kvocienta ne moremo uporabiti analize kovariance. Hkrati pa nam to kaže tudi na to, da razlike v prehrani živali vplivajo na način odvisnosti prirasta živali od startne teže.

Za prirast živali od prvega do dvajsetega dne poskusa so regresijski kvocienti homogeni, prav tako pa so homogeni srednji kvadrati odklonov od regresije. Tudi tu ne moremo izboljšati razlikovanja med sredinami prirastov skupin živali z uporabo analize kovariance

namesto analize variance, saj je pri analizi variance $F=9,21$, pri analizi kovariance pa $F=9,17$.

4.4. Neparametrično ugotavljanje razlik med skupinami živali

Neparametrične so metode, ki za razliko od parametričnih metod niso zasnovane na predpostavkah o distribuciji populacij.

Od neparametričnih metod (T a t e in C l e l l a n d 1959) se je pokazala kot primerna metoda testiranja naključja pri razporednici 2×2 . Da smo dobili tako razporednico, smo izbrali poljubno število m kot mejno vrednost pri odločitvah, ali smatramo določeni prirast posamezne živali za velik ali majhen. Vsi prirasti, ki so enaki m ali manjši od m so "nizki", vsi prirasti večji od m so "visoki". Za mejno vrednost m uporabimo aritmetično sredino sredin prirasta obeh upoštevanih skupin živali ali drugo število, ki ni preveč oddaljeno od skupne aritmetične sredine. Tako dobimo razporednico 2×2 s štirimi vrednostmi G, H, I in J :

Tabela 10

Skupina	Število živali	
	manjših od m ali enakih	večjih od m
prva skupina	G	H
druga skupina	I	J

V konkretnem primeru na primer za prirast od prvega do petnajstega dne in primerjavo skupin živali lo7 in 118 je srednji prirast skupine lo7 7,63 g, srednji prirast skupine 118 8,92 g (Glej tabelo 2)
 m = aritmetična sredina obeh sredin, torej je $m=8,28$.

Tabela 11

Skupina	Število živali	
	manjših od m ali enakih	večjih od m
lo7	11	1
118	2	10

Kljub upoštevanju Yatesove korekcije (W a l s h 1962, str. 460; G o l d s t e i n 1964, str. 108) je izračun hi-kvadrata ustrezen le, če v nobenem razredu ni pričakovano število manjše od 5. Distribucije prirastov so, kot smo pokazali (str. 35) lahko asimetrične. Tako ne moremo ugotoviti pričakovanega števila v posameznem razredu. Tudi pri veljavnosti ničelne hipoteze ne bi mogli zaradi asimetričnosti pričakovati razporeditve osebkov 50 : 50 v obeh razredih določene skupine živali. Še prav posebej pa to velja, če uporabimo vrednost m , ki ni iden-

tična aritmetični sredini obeh sredin skupin živali. Nevarnosti, da izračunane vrednosti niso razporejene v skladu z razporeditvijo hi-kvadrat vrednosti, se izognemo tako, da namesto posrednega ugotavljanja verjetnosti konkretnih razporeditev preko tabel z verjetnostni hi-kvadratov, ugotovimo verjetnost nastopa konkretne in vseh ekstremnejših razporeditev (ob predpostavki ničelne hipoteze) z neposrednim izračunom verjetnosti (T a t e and C l e l l a n d, 1959, str. 73) posamezne razporeditve po formuli:

(II)

$$P = \frac{(G+H)! (I+J)! (G+I)! (H+J)!}{N! G! H! I! J!}$$

V formuli (II) je P verjetnost določene razporeditve, N skupno število enot ($G+H+I+J$), G, H, I in J pa pomenijo isto kot v tabeli lo.

Na ta način je izračunana verjetnost tako ekstremne razporeditve in vseh ekstremnejših razporeditev, kot je razporeditev v tabeli 11 (ob hipotezi, da ni razlike med prirasti obeh skupin živali lo7 in 118)

$P = 0,0003$. Ker upoštevamo verjetnost dobljene in ekstremnejših razporeditev na obeh straneh, pomnožimo dobljeno verjetnost z 2. To je verjetnost, da je ničelna hipoteza pravilna. Če vzamemo kot mejo kriterij $P=0,05$ ali $P=0,01$ lahko smatramo, da ničelna hipoteza v tem primeru ni potrjena.

Ugotavljana vrednost P po navedeni formuli daje verjetnost nastopa obravnavane in vseh bolj ekstremnih raz-

poreditev vrednosti G, H, I, J v razpredelnici 2×2 , s tem, da so robne vsote stalne. To pomeni, da lahko v konkretnem primeru primerjamo tudi skupine z neenakim številom živali, saj velja izračun verjetnosti nastopa take in ekstremnejših razporeditev le v odnosu do vseh možnih razporeditev z istimi robnimi vsotami, to je med drugim z določenim številom živali v vsaki od obeh skupin. Z istega stališča lahko ocenjujemo tudi vrednost m, ki smo jo vzeli za mejo med "nizkim" in "visokim" prirastom v vsakem konkretnem primeru. Tako je načelno dopusten odmik vrednosti m od sredine sredin prirastov za določeno vrednost. Tak odmik je dovoljen, smiseln pa je le, če sta robni vsoti $G+I$ in $H+J$ kljub spremenjenemu m še vedno tako veliki števili, da je še možno dovolj veliko število različno ekstremnih razporeditev ob stalnih robnih vsotah ter s tem primerjava verjetnosti nastopa posameznih razporeditev.

Računanje verjetnosti veljavnosti ničelne hipoteze na opisan način je zelo zamudno. Nekoliko ga olajša uporaba dekadičnih logaritmov in $N - \log N!$ tabel (T a t e in C l e l l a n d 1959, str. 73-74 in 144). Še hitrejše pa je računanje verjetnosti s pomočjo posebnih tabel, pripravljenih v ta namen (P e a r s o n in H a r t l e y 1963, str. 188 - 193).

Rezultati ugotavljanja razlik med skupinami živali s pomočjo neparametričnih statistik so prikazani v tabelah 12, 13, 14, 15 in 16.

Skupina Group	112	120	118	114	110	111	106	116	113	119	109	107	117	115
X	2,85	2,73	2,66	2,63	2,59	2,31	2,30	2,26	2,24	2,23	2,23	2,11	2,09	1,96
115	1,96	0,89	0,77	0,67	0,63	0,35	0,34	0,30	0,28	0,27	0,27	0,15	0,13	-
117	2,09	0,76	0,64	0,54	0,50	0,22	0,21	0,17	0,15	0,14	0,14	0,02	-	-
107	2,11	0,74	0,62	0,52	0,48	0,20	0,19	0,15	0,13	0,12	0,12	-	-	-
109	2,23	0,62	0,50	0,43	0,36	0,08	0,07	0,03	0,01	-	-	-	-	-
119	2,23	0,62	0,50	0,43	0,36	0,08	0,07	0,03	0,01	-	-	-	-	-
113	2,24	0,61	0,49	0,42	0,35	0,07	0,06	0,02	-	-	-	-	-	-
116	2,26	0,59	0,47	0,40	0,33	0,05	0,04	-	-	-	-	-	-	-
106	2,30	0,55	0,43	0,36	0,29	0,01	-	-	-	-	-	-	-	-
111	2,31	0,54	0,42	0,35	0,28	-	-	-	-	-	-	-	-	-
110	2,59	0,26	0,14	0,07	0,04	-	-	-	-	-	-	-	-	-
114	2,63	0,22	0,10	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
118	2,66	0,19	0,07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
120	2,73	0,12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
112	2,85	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabala 12 :

Razlike med aritmetičnimi sredinami pripravov.
Skupin živali od prvega do petega dne poskusa.
Razlike, ki so značilne pri $P = 0,99$ so dva-
krat podčrtane, razlike, značilne pri $P = 0,95$
so enkrat podčrtane, razlike, značilne pri
 $P = 0,90$ so črtkano podčrtane (neopazna trična
ocena P).

Differences between means of weight gains
(1 st to 5 th day) for groups of animals. Diffe-
rences underlined with double line are signi-
ficant at $P = 0,99$ level, single underlined
differences are significant at $P = 0,95$ level
and differences underlined with broken line
are significant at $P = 0,90$ level (nonapparent
estimation of P).

Skupina Group	112	120	118	114	110	106	116	109	113	119	107	111	125	117
$\bar{x}$	6,30	5,93	5,68	5,44	5,36	5,28	5,01	4,91	4,90	4,85	4,78	4,65	4,49	4,38
117	4,38	1,92	1,55	1,30	1,06	0,98	0,63	0,53	0,52	0,47	0,40	0,27	0,11	-
115	4,49	1,81	1,44	1,19	0,95	0,87	0,52	0,42	0,41	0,36	0,29	0,16	-	-
111	4,65	1,65	1,28	1,03	0,79	0,71	0,36	0,26	0,25	0,20	0,13	-	-	-
107	4,78	1,52	1,15	0,90	0,66	0,58	0,23	0,13	0,12	0,07	-	-	-	-
119	4,85	1,45	1,08	0,83	0,59	0,51	0,16	0,06	0,05	-	-	-	-	-
113	4,90	1,40	1,03	0,78	0,54	0,46	0,11	0,01	-	-	-	-	-	-
109	4,91	1,39	1,02	0,77	0,53	0,45	0,10	-	-	-	-	-	-	-
116	5,01	1,29	0,92	0,67	0,43	0,35	0,27	-	-	-	-	-	-	-
106	5,28	1,02	0,65	0,40	0,16	0,08	-	-	-	-	-	-	-	-
110	5,36	0,94	0,57	0,32	0,08	-	-	-	-	-	-	-	-	-
114	5,44	0,86	0,49	0,24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
118	5,68	0,62	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
120	5,93	0,37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
112	6,30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 13.

Razlike med aritmetičnimi sredinami prirastov skupin živali od prvoga do desetoga dne postaja. Razlike, ki so značilne pri $P = 0,99$ so dvakrat podčrtane, različne, značilne pri $P = 0,95$ so enkrat podčrtane, različne, značilne pri $P = 0,90$ so črtano podčrtane (neparametrična ocena P).

Differences between means of weight gains (1st to 10th day) for groups of animals. Differences underlined with double line are significant at $P = 0,99$ level, single underlined differences are significant at $P = 0,95$ level and differences underlined with broken line are significant at $P = 0,90$ level (non-parametric estimation of P).

Skupina Group	112	118	120	114	106	110	116	109	107	113	119	115	111	117
$\bar{x}$	8,96	8,92	8,77	8,39	8,26	8,11	7,97	7,74	7,63	7,56	7,54	7,08	6,85	6,81

117	6,81	2,15	2,11	1,96	1,58	1,45	1,30	1,16	0,93	0,82	0,75	0,73	0,27	0,04	-
111	6,85	2,11	1,92	1,54	1,41	1,26	1,26	1,12	0,89	0,78	0,71	0,69	0,23	-	-
115	7,08	1,88	1,69	1,31	1,18	1,03	0,89	0,66	0,55	0,48	0,46	-	-	-	-
119	7,54	1,42	1,38	0,85	0,72	0,57	0,43	0,20	0,09	0,02	-	-	-	-	-
113	7,56	1,40	1,36	0,83	0,70	0,55	0,41	0,18	0,07	-	-	-	-	-	-
107	7,63	1,33	1,29	0,76	0,63	0,48	0,34	0,11	-	-	-	-	-	-	-
109	7,74	1,22	1,18	0,65	0,52	0,37	0,23	-	-	-	-	-	-	-	-
116	7,97	0,99	0,95	0,80	0,42	0,29	0,14	-	-	-	-	-	-	-	-
110	8,11	0,85	0,81	0,66	0,28	0,15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
106	8,26	0,70	0,66	0,51	0,13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
114	8,39	0,57	0,53	0,38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
120	8,77	0,19	0,15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
118	8,92	0,04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
112	8,96	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabala 14 :

Razlika med aritmetičnimi sredinami prirastov skupin živali od prvoga do petnajstega dne poskusa. Razlike, ki so značilne pri $P = 0,99$ so dvakrat podčrtane, razlike, značilne pri $P = 0,95$ so enkrat podčrtane, razlike, značilne pri $P = 0,90$ so črtkano podčrtane (nonsignificant at $P = 0,90$ level).

Differences between means of weight gains (1st to 15th day) for groups of animals. Differences underlined with double line are significant at $P = 0,99$ level, single underlined differences are significant at $P = 0,95$ level and differences underlined with broken line are significant at $P = 0,90$ level (nonsignificant at $P = 0,90$ level).

Skupina Group	112	120	118	114	106	109	116	110	107	119	113	115	111	117
$\bar{X}$	10,91	10,78	10,65	10,55	10,16	10,06	9,90	9,83	9,82	9,57	9,48	9,39	8,99	8,73

117	8,73	2,98	2,05	1,92	1,82	1,43	1,33	1,17	1,10	1,09	0,84	0,75	0,66	0,26
111	8,99	1,92	1,79	1,66	1,56	1,17	1,07	0,91	0,84	0,83	0,58	0,49	0,40	-
115	9,39	1,52	1,39	1,26	1,16	0,77	0,67	0,51	0,44	0,43	0,18	0,09	-	-
113	9,48	1,43	1,30	1,17	1,07	0,68	0,58	0,42	0,35	0,34	0,09	-	-	-
119	9,57	1,34	1,21	1,08	0,98	0,59	0,49	0,33	0,26	0,25	-	-	-	-
107	9,82	1,09	0,96	0,83	0,73	0,34	0,24	0,08	0,01	-	-	-	-	-
110	9,83	1,08	0,95	0,82	0,72	0,33	0,23	0,07	-	-	-	-	-	-
116	9,90	1,01	0,88	0,75	0,65	0,26	0,16	-	-	-	-	-	-	-
109	10,06	0,85	0,72	0,59	0,49	0,10	-	-	-	-	-	-	-	-
106	10,16	0,74	0,62	0,49	0,39	-	-	-	-	-	-	-	-	-
114	10,55	0,36	0,23	0,10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
118	10,65	0,26	0,13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
120	10,78	0,13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
112	10,91	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 15 :

Razlike med aritmetičnimi sredinami prirastov skupin živali od prvca do dvanajsetega dne poskusa. Razlike, ki so značilne pri $P = 0,99$ so dvakrat podčrtane, razlike, značilne pri $P = 0,95$ so enkrat podčrtane, razlike, značilne pri $P = 0,90$ so črtkano podčrtane (neparametrična ocena P).

Differences between means of weight gains (1 st to 20 th day) for groups of animals. Differences underlined with double line are significant at $P = 0,99$ level, single underlined differences are significant at $P = 0,95$ level and differences underlined with broken line are significant at $P = 0,90$ level (nonparametric estimation of P).

Skupina Group	120	112	118	114	106	109	107	116	115	119	113	110	111	117
$\bar{x}$	8,06	8,06	7,99	7,93	7,86	7,83	7,71	7,64	7,43	7,34	7,24	7,24	6,68	6,64
117	6,64	<u>1,42</u>	<u>1,35</u>	<u>1,29</u>	<u>1,22</u>	<u>1,19</u>	<u>1,07</u>	<u>1,00</u>	<u>0,79</u>	<u>0,70</u>	<u>0,60</u>	<u>0,60</u>	<u>0,04</u>	-
111	6,68	<u>1,38</u>	<u>1,31</u>	<u>1,25</u>	<u>1,18</u>	<u>1,15</u>	<u>1,03</u>	<u>0,96</u>	<u>0,75</u>	<u>0,66</u>	<u>0,56</u>	<u>0,56</u>	-	
110	7,24	<u>0,82</u>	<u>0,75</u>	<u>0,69</u>	<u>0,62</u>	<u>0,59</u>	<u>0,47</u>	<u>0,40</u>	<u>0,19</u>	<u>0,10</u>	-	-		
113	7,24	<u>0,82</u>	<u>0,75</u>	<u>0,69</u>	<u>0,62</u>	<u>0,59</u>	<u>0,47</u>	<u>0,40</u>	<u>0,19</u>	<u>0,10</u>	-	-		
119	7,34	<u>0,72</u>	<u>0,65</u>	<u>0,59</u>	<u>0,52</u>	<u>0,49</u>	<u>0,37</u>	<u>0,30</u>	<u>0,09</u>	-				
115	7,43	<u>0,63</u>	<u>0,56</u>	<u>0,50</u>	<u>0,43</u>	<u>0,40</u>	<u>0,28</u>	<u>0,21</u>	-					
116	7,64	<u>0,42</u>	<u>0,35</u>	<u>0,29</u>	<u>0,22</u>	<u>0,19</u>	<u>0,07</u>	-						
107	7,71	<u>0,35</u>	<u>0,35</u>	<u>0,22</u>	<u>0,15</u>	<u>0,12</u>	-							
109	7,83	<u>0,23</u>	<u>0,23</u>	<u>0,10</u>	<u>0,03</u>	-								
106	7,86	<u>0,20</u>	<u>0,20</u>	<u>0,07</u>	-									
114	7,93	<u>0,13</u>	<u>0,13</u>	-										
118	7,99	<u>0,07</u>	<u>0,07</u>	-										
112	8,06	-	-											
120	8,06	-	-											

Tabela 16:

Razlike med aritmetičnimi sredinami prirastov skupin živali od šestega do dvajsetega dne poskusa. Razlike, ki so značilno pri $P=0,99$ so dvakrat podčrtane, razlike, značilne pri $P=0,95$ so enkrat podčrtane, razlike, značilne pri $P=0,90$ so črtkano podčrtane (neparametrična ocena P).

Differences between means of weight gains (6 th to 20 th day) for groups of animals. Differences underlined with double line are significant at $P=0,99$ level, single underlined differences are significant at $P=0,95$ level and differences underlined with broken line are significant at $P=0,90$ level (nonparametric estimation of P).

4. 5. Funkcija biološke rasti

B r o d y (1964) označuje s pojmom "rast" biološko sintezo organizma oziroma izgradnjo novih biokemičnih enot kot rezultanto anabolizma in katabolizma. Rast organizma je tak razvoj organizma, ki rezultira v povečanju žive snovi in je sestavljen iz enega ali več od naslednjih procesov:

- (a) večanje števila celic,
- (b) večanje velikosti celic,
- (c) vgrajevanje snovi vzetih iz okolja.

Vse te procese zajemamo, če merimo rast organizma kot celote (G o s s 1964, str. 118-243, B r o d y 1964, str. 484-486).

Po B r o d y -ju (1964, str. 489-502) lahko težo živali v določeni starosti oziroma kumulativno rast organizma prikažemo z dvigajočo se S-krivuljo, pri tem je prvi del priraščanja pospešen, drugi del pa pojemajoč. Obračaj krivulje je v času pomembnih fizioloških sprememb. Splošna zakonitost biološke rasti v obliki dvigajoče se krivulje S je potrjena tudi s poskusi pri laboratorijskih miših (G a l l in K y l e 1968).

Pri primerjanju prirastov živali hranjenih z različnimi vzorci ječmena v določenem obdobju

poskusa so podatki obravnavani po običajnih metodah. Obravnavanje z različnih aspektov (upoštevanje različnih obdobj poskusa) lahko da nekoliko popolnejšo informacijo, kljub temu pa dinamična komponenta ni zajeta.

Pri vrednotenju podatkov smo skušali tudi istočasno upoštevati teže posameznih živali pri vseh tehtanjih tekom poskusa. Z uporabo metode faktorialne analize (S n e d e c o r 1962, str. 346-350) smo vsoto kvadratnih odklonov podatkov petih tehtanj za posamezno žival razbili na ortogonalne primerjave s po eno stopinjo prostosti. Tako smo dobili vsote kvadratnih odklonov za linearno, kvadratno, kubično in kvartalno komponento regresije.

Za vsako od komponent regresije (linearno, kvadratno, kubično in kvartalno) smo skušali ugotoviti, če se te komponente med skupinami živali, hranjenimi z različnimi vzorci ječmena, značilno razlikujejo. Posebej smo tako naredili analizo variance za linearno komponento, za kvadratno, za kubično in za kvartalno. Značilna je bila le linearna komponenta, ki se je tudi edina značilno razlikovala za skupine živali ($F = 6,08$. Pri $P = 0,99$ je tabelarna vrednost $F = 2,28$).

Nekatere skupine živali, hranjene z različnimi vzorci ječmena, se torej razlikujejo za intenziteto hitrosti priraščanja. Razlikovanje med skupinami živali, hranjenimi z različnimi vzorci ječmena pa na ta način vendar ni tako uspešno kot pri prirastih teže živali od prvega do desetega dne, od prvega do petnajstega dne in od prvega do dvajsetega dne poskusa (primerjaj strani 41 in 42). Linearna komponenta regresije značilno korelira z vsebnostjo beljakovin v vzorcih ječmena ($r = 0,52$; $P > 0,99$) in z vsebnostjo lizina v ječmenu ($r = 0,51$; $P > 0,99$).

Pri raziskovanju biološke rasti lahko upoštevamo, da predhodno stanje sovpliva na naslednje stanje, oziroma z drugimi besedami, da je naslednje stanje funkcija predhodnega stanja. Prof. R. Turk (1971) to izraža s splošno funkcijo:

$$(III) \quad y_{i+1} = f(y_i/K/)$$

y_i = predhodno stanje

y_{i+1} = naslednje stanje

/K/ so specifični konkretni vplivi okolja, v katerem raste raziskovan organizem.

Postavlja se vprašanje, na kakšen način načelo, upoštevano v splošni funkciji (III), upoštevati

pri izračunu določene enačbe za posamezen konkreten primer.

Pri razvrščanju podatkov o prirastu živali po načelu funkcije (III) se pojavlja nekaj posebnih problemov. V večajočih se vrednostih y je subsumirana tudi dimenzija časa, oziroma proces rasti-staranja živali. Tu nimamo časovno neodvisnega biološkega zaporedja, temveč posebno biološko-časovno zaporedje. Pojav upadanja tež živali se eventuelno lahko pojavi v dobi staranja živali, kar pa je daleč izven obdobja razvoja miši, raziskovanega v tej študiji. Namesto padanja teže živali pri visokih vrednostih y , se pojavi le padanje prirasta, kar pomeni, da se teža y_{i+1} spreminja tako, da se pri visokih y temu približuje tudi vrednost y_{i+1} .

Načelo enačbe (III) sem upošteval pri izravnavanju podatkov skupin živali z enačbo

$$(IV) \quad y = bx + cx^2$$

kjer je x začetna teža posamezne živali ob začetku določenega petdnevnega obdobja poskusa in y teža živali ob zaključku tega petdnevnega obdobja.

Enačba (IV) je eden od možnih načinov matematičnega izražanja odnosa funkcije (III). Vrednost b enačbe (IV) ob uporabi podatkov te študije dobro korelira z vsebnostjo beljakovin in lizina v vzorcih ječmena (tabeli 17 in 18).

Koeficient parcialne korelacije vrednosti b z vsebnostjo lizina pri konstantni količini beljakovin ($r = 0,52$) je značilen samo na nivoju verjetnosti $P = 0,90$. Je pa pri istem številu stopinj prostosti vendar večji od ustreznih koeficientov parcialne korelacije med drugimi pokazatelji prirasta živali in med vsebnostjo lizina v vzorcu (tabela 13).

Vrednost c enačbe (IV) predstavlja zaviralni činitelj biološke rasti. V raziskanem primeru je faktor c med vrednostima $- 0,0193$ in $- 0,0321$ in je v negativni korelaciji s faktorjem b ($r = - 0,96$; $P > 0,99$).

Da bi dobili jasnejšo sliko o pomenu vrednosti b enačbe (IV) bi bilo potrebno napraviti posebno študijo z večjim številom različnih vzorcev ječmena, ki pa bi bili izbrani tako, da ne bi bilo značilne korelacije med količino beljakovin v vzorcu in med količino lizina v vzorcu. Zamisel prof. Turka (1971) izražena v enačbi (III) bi pri taki študiji morala biti upoštevana tako, da bi bile živali tehtane vsak dan ali vsak drugi dan, namesto vsak peti dan, kot je bilo pri tej študiji.

Upoštevanje poteka in zakonitosti biološke rasti nam prikaže prirast živali v določenih konkretnih pogojih

v luči spreminjajočega se procesa. Tako se prav posebej pokaže, da pojem hranilne vrednosti ni enkratna in absolutna kategorija, temveč relativna vrednost, odvisna ne samo od lastnosti raziskovanega vzorca, temveč tudi od faze ontogenetskega (epigenetskega) razvoja in načina razvoja posamezne živali.

Pri rutinskem določanju hranilne vrednosti vzorcev lahko uporabljamo le en dogovorjen in standardiziran kriterij določenega biološkega testa s poskusnimi živalmi, ob kritičnemu zavedanju omejitev pri tolmačenju rezultatov. Pri znanstvenem raziskovanju hranilne vrednosti in vrednotenja hranilne vrednosti, pa je treba upoštevati dinamiko rasti in spreminjanja živali in upoštevati več različnih pokazateljev.

Pri raziskovanju biološkega testiranja ni pomembno samo, da ugotavljamo možnosti značilnega razlikovanja različnih vzorcev, temveč da skušamo tudi ugotoviti, kaj nam določeni pokazatelj biološkega testa sploh pove.

Da bi bilo možno vzporejati posamezne dejavnike hranilne vrednosti ječmena z višino prirasta teže živali, sem ob upoštevanju posameznega kriterija hranilne vrednosti ječmena razdelil vse analizirane vzorce ječmena na dve enaki skupini, skupino, v kateri nastopa določen dejavnik močno, in drugo, v kateri nastopa v manjši meri. Po metodi hi-kvadrata sem primerjal števila živali z nadpovprečnim, oziroma podpovprečnim prirastom teže v obeh skupinah (tabela 19). Za prirasta od enajstega do dvajsetega dne in od šestnajstega do dvajsetega dne poskusa ne moremo dokazati nobene povezanosti med količino surovih beljakovin v vzorcu in med prirastom teže živali. Za priraste od enajstega do dvajsetega dne se po taki metodi kaže pomembna predvsem relativna količina lizina v beljakovinah vzorca ječmena, za prirast od šestnajstega do dvajsetega dne pa absolutna količina lizina v vzorcu. Za prirast od prvega do petega dne poskusa lahko dokažemo povezanost višine prirasta s količino surovin beljakovin, pa tudi s količino lizina. Ne moremo pa dokazati povezanosti količine lizina v beljakovinah z višino prirasta živali. Za vse ostale priraste lahko dokažemo povezavo z vsemi tremi kriteriji hranilne vrednosti vzorcev ječmena.

To, da dokažemo povezanost posameznega kriterija hranilne vrednosti vzorca ječmena z višino prirasta teže pri živalih še ne zadostuje, da bi lahko govorili o vzročni povezavi. Raziskani činitelji hranilne vrednosti vzorcev ječmena so med seboj povezani, povezani pa so

tudi z drugimi bolj ali manj pomembnimi dejavniki, ki vplivajo na hranilno vrednost. Ugotovljene povezanosti nas morejo samo usmerjati pri iskanju vzročnih povezav.



Tabela 17. Prirasti tež živali in pokazatelj "b"

Crude protein (N x 6,25) and lysine in barley samples, weight gains in mice and "factor b"

Vzorec	beljakovin v %	lizin mmol/kg	poprečni prirasti teže na žival v dneh poskusa				faktor b
			1-5	1-10	1-15	1-20	
Sample	protein in %	lysine mmol/kg	average weight gains per animal in days of experiment				factor b
106	11,67	27,30	2,30	5,28	8,26	10,16	1,56
107	9,87	23,76	2,11	4,78	7,63	9,82	1,46
109	10,33	24,88	2,23	4,91	7,74	10,06	1,48
110	11,38	28,01	2,59	5,36	8,11	9,83	1,60
111	9,65	23,84	2,34	4,65	6,85	8,99	1,48
112	14,28	28,56	2,85	6,30	8,96	10,91	1,59
113	10,13	24,41	2,24	4,90	7,56	9,48	1,51
114	12,24	28,51	2,63	5,44	8,39	10,55	1,55
115	9,73	24,62	1,96	4,49	7,08	9,39	1,44
116	11,33	27,38	2,26	5,01	7,97	9,90	1,53
117	8,88	22,79	2,09	4,38	6,81	8,73	1,46
118	12,19	28,00	2,66	5,68	8,92	10,65	1,61
119	9,69	26,87	2,23	4,85	7,54	9,57	1,50
120	14,18	30,25	2,73	5,93	8,77	10,78	1,61

Tabela 18. Koeficienti korelacije

Coefficients of correlation

	Korelacija Correlation		parcialna korelacija partial correlation	
	beljakovine protein	lizin lysine	beljakovine protein	lizin lysine
protein protein	-	0,89 ³	-	-
lizin lysine	0,89 ³	-	-	-
1-5	0,92 ³	0,82 ³	0,71 ³	0,05
1-10	0,97 ³	0,87 ³	0,89 ³	0,03
1-15	0,93 ³	0,88 ³	0,67 ³	0,33
1-20	0,91 ³	0,84 ³	0,66 ²	0,18
faktor b factor b	0,87 ³	0,89 ³	0,39	0,52 ¹

1-level of significance 90% 1-nivo značilnosti 90%

2-level of significance 95% 2-nivo značilnosti 95%

3-level of significance 99% 3-nivo značilnosti 99%

1-5 prirast teže miši od prvega do petega dne poskusa

1-5 weight gain from 1st to 5th day of mice feeding trial

Tabela 19 : Hi-kvadrat vrednosti za oceno povezanosti
činiteljev hranilne vrednosti ječmena z
višino prirasta teže miši.

Chi-squares as estimation of the relationship
between factors of nutritional value in barley
and weight gains in certain periods of experiment.

Prirast teže v dneh Weight gain in days	činitelj vzorca nutritional factor		
	beljakovine crude protein	lizin lysine	lizin v belj. lysine in protein
1 - 5	12,25	12,25	3,19
1 -10	40,25	40,31	9,35
1 -15	42,27	42,56	24,14
1 -20	32,13	32,12	36,01
6 -10	18,91	18,82	10,98
6 -15	26,69	26,69	23,43
6 -20	9,41	12,49	26,34
11-15	6,29	6,29	11,99
11-20	0,44	0,44	9,09
16-20	0,25	7,33	0,73
začetna teža startweight	0,03	0,03	0,23

Pri $SP = 1$ je verjetnost hi-kvadrata večjega od 3,84
enaka $P = 0,05$.

At one degree of freedom the probability of chi-square greater
as 3,84 is $P = 0,05$.

1.5. P O V Z E T E K

Štirinajst skupin po 8 ali 12 samcev inbridirane linije miši CBA je bilo hranjenih ad libitum s štirinajstimi vzorci ječmena z znano količino beljakovin in lizina, katerega fiziološka dostopnost ni bila znižana. Poskus je trajal od dvajsetega do štiridesetega dne starosti živali, teža živali je bila ugotavljana na začetku poskusa, po petih dneh poskusa, po desetih dneh poskusa, po petnajstih dneh poskusa in ob zaključku poskusa.

Pri posameznih skupinah živali se pojavlja značilno odstopanje od simetričnosti razporeditve prirastov, pri prirastih od prvega do desetega dne pa se je pojavila nehomogenost variance. Zato moramo biti previdni pri uporabi parametričnih statističnih metod in pri tolmačenju rezultatov dobljenih s temi metodami. Zakonitosti razporeditve populacij bi bilo treba raziskati z uporabo večjega števila živali, ki bi jih hranili z enako dieto. Uporabo analize kovariance z upoštevanjem startne teže živali kot kovari³ble ovira tudi nehomogenost regresijskih kvocientov.

Zadržkov v zvezi z uporabo parametričnih metod ni treba upoštevati pri obdelavi podatkov z neparametričnimi metodami. Priraste živali dveh primerjalnih skupin je avtor študije z neko mejno vrednostjo razdelil v po^{dve} kategoriji, nato pa z neposrednim izračunom verjetnosti naključne razporeditve števila živali v

omenjene kategorije ocenil verjetnost veljavnosti domneve, da med prirasti obeh skupin živali ni razlike, oziroma da ni razlike med vplivi ocenjevanih vzorcev ječmena. V avtorju znani literaturi pri raziskovanju prirasta živali doslej taka neparametrična metoda še ni bila opisana. Ustreznost uporabe posameznih metod iz vrednotenja rezultatov bi bilo možno podrobneje preveriti tako, da bi z enako dieto hranili veliko število živali ter primerjali dejanske razlike med sredinami enakovrednih vzorcev s pričakovanimi. Na ta način bi bila možna tudi kritična primerjava metod.

Najjasneje se kažejo razlike med vzorci ječmena pri upoštevanju prirastov živali od prvega do petnajstega dne poskusa in od prvega do dvajsetega dne poskusa. Ker med obema trajanjima poskusa ni značilnih razlik v zanesljivosti razločevanja vzorcev ječmena, bi na podlagi te študije lahko skrajšali trajanje testa od dvajset na petnajst dni, ne da bi se s tem znižala zanesljivost testa, pridobili pa bi na hitrosti.

Uporaba funkcije biološke rasti omogoča vpogled v dinamiko rasti in razvoja živali. Razvidno je, da obe raziskovani komponenti hranilne vrednosti vzorcev ječmena, količina beljakovin in količina lizina ne vplivata ves čas poskusa na enak način na priraščanje živali. Pri podrobnejšem raziskovanju hranilne vrednosti vzorcev ječmena s pomočjo biološkega testiranja je zato treba upoštevati več različnih pokazateljev. Nakazuje se tudi možnost, da bi izbirali pokazatelje, ki bi bili v čim močnejši korelacijski povezavi s posameznimi pomembnejšimi dejavniki hranilne vrednosti. To je pomembno zlasti za uporabo biološkega testa hranilne vrednosti v žlahtnjenju rastlin.

6 L I T E R A T U R A

- ALBANESE, A.A. and ORTO, L.A. (1963): Proteins and Amino Acids. In: Newer Methods of Nutritional Biochemistry, Ed. A.A. Albanese, Academic Press, New York and London, 1963, 1-112.
- ALEXANDER, D.E., LAMBERT, R.J., DUDLEY, J.W. (1969): Breeding problems and potentials of modified protein maize, New approaches to breeding for improved plant protein, IAEA, Vienna, pp. 55-65.
- ALMQUIST, H.J. (1954): Utilization of amino acids by chicks. Arch. Biochem. Biophys. 52. 197-202.
- AULSTAD, D. (1970): In vivo estimation of carcass composition in young boars. III. The use of urinary creatinine, total plasma protein and total plasma cholesterol, Acta Agriculturae Scandinavica, 20, 65-69.
- BALIGA, B.P., BAYLISS, M.E., LYMAN, C.M. (1959): Determination of free lysine amino groups in cottonseed meals and preliminary studies on relation to protein quality. Arch. Bioch., 84: 1-6.
- BARBACKI, S. (1955): Nowe drogi do poznania dziedzicznosci. Plenarne posiedzenie Komitetu Nauk Rolniczych PAN, 1955. 1-17
- BELL, J.M. (1962). Nutrient requirements of the laboratory mouse. Nutrient Requirements of Domestic Animals, 10, 39-49.
- BENDER, A.E., DOELL, B.H. (1957). Biological evaluation of proteins: a new aspect. Brit. J. Nutr., 11: 140-148
- BENDER, A.E. (1970): Factors affecting the nutritive value of protein foods. Evaluation of novel protein products, Ed. A.E. Bender, R. Kihlberg, B. Löfqvist, L. Munck, Pergamon Press, 1970, 319-330.
- BLOCK, R.J. and MITCHELL, H.H. (1946): The correlation of the amino-acid composition of proteins with their nutritive value. - Nutr. Abstr. Rev. 16: 249-278.

- BOLINDER, A.E. (1966) : Plate assay methods for amino acids. 3. Usefulness of several lactic-acid bacteria for the assay of lysine. *Acta Pharmaceutica Suecica* 3: 363-375.
- BOLINDER, A.E. (1968): Plate assay methods for amino acids. 4. Usefulness of five strains of lactic-acid bacteria for the assay of six amino acids. *Acta Pharmaceutica Suecica* 5: 117-134.
- BOLINDER, A.E. (1969): Microbiological plate assay methods for free amino acid levels in blood, *Analytical Biochemistry*, 27: 370-377.
- BOLINDER, A.E. (1970): Plate assay methods for amino acids. *Acta Pharmaceutica Suecica* 7: 209-238.
- BOSSHARDT, D.K., YDSE, L.C., AYRES, M.M. and BARNES, R.H. (1946). The use of mice for the measurements of growth quality of proteins. *J. Nutr.* 31: 23-33.
- BOYNE, A.W., CARPENTER, K.J., WOODHAM, A.A. (1961): Progress report on an assessment of laboratory procedures suggested as indicators of protein quality in feedingstuffs, *J. Sci. Fd. Agric.* 1961:832-848.
- BRODY SAMUEL, (1964): Bioenergetics and growth. Hafner Publishing company, INC, New York, 1964, pp. 1023.
- BRÜGGEMAN, J. und ERBERSDOBLER, H. (1968): Untersuchungen zur analytischen und physiologischen Charakterisierung der Aminosäureschädigungen bei Hitzebehandlung von Nahrung - und Futtermitteln. *Z. Tierphysiol. Tierernährg. u. Futtermittelkunde*, 24: 1-68.
- BRUNO, D., CARPENTER, K.J. (1957): A modified procedure for the estimation of "available lysine" in food proteins. *Biochem. J.* 67, 13P.
- BUNYAN, J., WOODHAM, A.A. (1964): Protein quality of feedingstuffs. 2. The comparative assessment of protein quality in three fish meals by microbiological and other laboratory tests, and by biological evaluation with chicks and rats. *Brit. J. Nutr.*, 18, 537-544.
- BURNETT, G.S. (1966): Studies of viscosity as the probable factor involved in the improvement of certain barleys for chickens by enzyme supplementation, *Brit. Poultry Sci.* 7:55-75, 1966.

- CARPENTER, K.J., ELLINGER, G.M. (1955): The evaluation of "available lysine" in protein concentrates. *Biochem.J.*, 61:11.
- CENCELJ, J., JELENIĆ, Dj. (1969): Effect of nitrogen fertilizers on the lysine synthesis in silo-maize. Isotope studies on the nitrogen chain. IAEA and FAO, Vienna, 1968, pp. 133-144.
- CLAUSEN, H. (1963): Forsøg med slagterisvin-Aminosyrer, Forsøgslaboratoriets årsbog, Landøkonomisk Forsøgslaboratorium, København, 1963, pp. 209-222.
- DAWSON, N.J. (1970): Body composition of inbred mice (*Mus musculus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 1970. Vol. 37, pp. 589-593.
- DUMANOVIĆ, J., DENIĆ, M. (1969): Variation and heritability of lysine content in maize. New approaches to breeding for improved plant protein. International Atomic Energy Agency, Vienna, 1969, pp. 109-116.
- EBERSDOBLER, H. und ZUCKER, H. (1968): Austausch tierischer Eiweissfuttermittel durch pflanzliche Proteine und Aminosäuren. Hoffman-La Roche A.G. Grenzach/Baden, 7-39.
- EGGUM, B.O. (1966): Faktoren 6.25, Ugeskrift for Landmaend, nr. 28/1966, 459-462.
- EGGUM, B.O. (1967 a): Proteinkvalitet vurderet på grundlag af aminosyreanalyse. Kontaktmøde vedrørende automatisk aminosyreanalyse, pp. 1-22.
- EGGUM, B.O. (1967 b): Vekselvirkning af antagonisme i aminosyrestofskiftet, Ugeskrift for agronomer, nr. 30, 1967, 575-579.
- EGGUM, B.O. (1969): Evaluation of protein quality and the development of screening techniques, New approaches to breeding for improved plant protein, IAEA, Vienna, pp. 125-135.
- EGGUM, B.O. (1970): Nutritional evaluation of proteins by laboratory animals. Evaluation of Novel Protein Products, Ed. A.E. Bender, R. Kihlberg, B. Löfqvist, L. Munck; Pergamon Press, 1970, 117-128.
- EGGUM, B.O., MERCER, N.H. (1964): En biologisk proteinvurdering ved hjælp af rotter, Ugeskrift for Landmaend, 50: 1-3, 1964.

- EGGUM, B.O., MADSEN, A., PETERSEN, V.E., MUNCK, L., MODEWEG-HANSEN, L. (1969): Faellesforsög vedrørende bygkvalitet, Udgivet af Statens Husdyrbrugsudvalg, København, 1969, 1-96.
- ENOS, H.L. and MORENG, R.E. (1965) : Evidence of genetic variability for lysine utilization, Poultry Science, 44, 964-971.
- FAVRET, E.A., SOLARI, R., MANGHERS, L. and AVILA, A. (1969): Genetic control of the qualitative and quantitative production of endosperm proteins in wheat and barley. New approaches to breeding for improved plant protein, IAEA, Vienna, 1969, 87-107.
- FISHER, R.A. and YATES, F. (1963): Statistical tables for biological, agricultural and medical research, Oliver and Boyd, Edinburgh, 1963, pp. 146.
- GALL, G.A.E., KYLE, W.H. (1968): Growth of the laboratory mouse. Theoretical and Applied Genetics 38: 304-308.
- GOLDSTEIN, A. (1964): Biostatistics, an introductory text, The Macmillan Company, New York, 1-272.
- GOSS, R.J. (1964) : Adaptive growth, Logos Press, Academic Press, London 1964, pp. 360
- GUGGENHEIM, K. (1970): Protein evaluation by microorganisms. Evaluation of Novel Protein Products, Ed. A.E. Bender, R. Kihlberg, B. Löfqvist, L. Munck, Pergamon Press, 1970, 235-245.
- HACKLER, L.R., STILLINGS, B.R. and POLIMENI, R.J. Jr. (1967): Correlation of amino acid indexes with nutritional quality of several soybean fractions, Cereal Chemistry, 44, 638-644.
- HAGBERG, A., KARLSSON, K.E. (1969) : Breeding for high protein content and quality in barley, New approaches to breeding for improved plant protein, IAEA, Vienna, pp. 17-21.
- HARPER, A.E. and KUMTA, U.S. (1959): Amino acid balance and protein requirement. Federation Proc. 18, 1136.
- HEGSTED, D.M. and WORCESTER, J. (1947), J. Nutrition 33, 685. Cit. po Longenecker (1963).
- HELMS, P., RÖLLE, C. (1970): Nutritive evaluation of protein quality with Tetrahymena pyriformis W. Evaluation

of Novel Protein Products, Ed.A.E.Bender, R. Kihlberg, B.Löfqvist, L.Munck. Pergamon Press, 1970, 259-264.

HOLMBERG, E. och Ohlson, K. (1968): Näringsvärdet av rag., ragvete och vete i relation till halten av 5-alkylresorcinoler. Genetiska Institutet, Lund, 1-53.

HOLT, L.E., SNYDERMAN, S.E., NORTON, P.M., ROITMAN, E. and FINCH, J. (1963): The plasma aminogram in kwashiorkor. Lancet 11, 1343-3148.

HORN, M.J. LICHTENSTEIN, H. and WOMACK, M. (1968): Availability of amino acids. A methioninefructose compound and its availability to microorganisms and rats, J. Agr. Food Chem. 16, 741.

ILOVAR, Z. (1968) : O problemih prehrane haloških otrok, Zbornik I. simpozija o prehrani v Sloveniji, Društvo živilskih in prehranskih strokovnih delavcev Slovenije, Ljubljana, 1968, str. 63-65.

JANSEN, G.R. (1970): Amino acid supplementation and the world food problem. Evaluation of Novel Protein products, Ed. A.E. Bender, R. Kihlberg, B. Löfqvist, L. Munck, Pergamon Press, 1970, 105-114.

JOHNSON, V.A., MATTERN, P.J., WHITED, D.A., SCHMIDT, J.W. (1969): Breeding for high protein content and quality in wheat, New approaches to breeding for improved plant protein, IAEA, Vienna, pp. 29-40.

KIHLBERG, R. (1970): Changes in growth and plasma free amino acids in short growth studies with rats. Evaluation of Novel Protein Products, Ed. A.E. Bender, R. Kihlberg, B. Löfqvist, L. Munck. Pergamon Press, 1970, 149-157.

KING, C.G. (1970) : Strategy in the evaluation of novel protein products. Evaluation of Novel Protein Products, Ed. A.E. Bender, R. Kihlberg, B. Löfqvist, L. Munck, Pergamon Press, 1970, 33-38.

KOFRANYI, E. (1956): Zur Bestimmung der biologischen Wertigkeit von Nahrungsproteinen. Hoppe-Seyler's Ztschr. physiol. Chem. 305, 61-69.

KREFT, I. (1969): Vrednotenje hranilne vrednosti beljakovin žitnega zrnja. Sodobno kmetijstvo, 2: 456-458, 69.

- KREFT, I. (1970) (Discussion). Evaluation of Novel Protein Products. Ed. by A.E. Bender, R. Kihlberg, B. Löfqvist and L. Munck. Pergamon Press-Oxford and New York, 1970, page 301.
- LANG, B.J., LEGATES, J.E. (1969): Rate, composition and efficiency of growth in mice selected for large and small body weight. Theoretical and Applied Genetics 39: 306-314, 1969.
- LAPORTE, J. and TRÉMOLIERES, J. (1962): Inhibiting action of rice, maize, barley, wheat, rye and buckwheat meals on some proteolytic enzymes of the pancreas. C.R. Soc. Biol. 156, 1261-1263.
- LARSSON, S., NILSSON, T. and OLSSON, B. (1966): Some aspects on the metabolic effect of amino acid supplementation of pig diets, Acta vet. scand. 7, 47-65.
- LEFEBVRE, J.H. (1969): Influence de la fertilisation azotes sur les variations de la composition en composés protéiques et non protéiques des parties aériennes de *Dactylis glomerata* L. New approaches to breeding for improved plant protein, IAEA, Vienna, 1969, 99-107.
- LIPOVEC, J. ml. (1968): O prehrani prebivalcev vasi v okolici Ljutomeru. Žbornik I. simpozija o prehrani v Sloveniji. Društvo živilskih in prehranskih strokovnih delavcev Slovenije, Ljubljana, 1968, str. 67-69.
- LONGENECKER, J.B. (1963): Utilization of Dietary Proteins, In: Newer Methods of Nutritional Biochemistry, Academic Press, New York and London, 1963, pp. 113-144.
- MATHESON, N.A. (1968 a): Available lysine. I.-Determination of non-N-terminal lysine in protein. J. Sci. Fd. Agric. Vol. 19: 492-495.
- MATHESON, N.A. (1968 b): Available lysine. II.-Determination of available lysine in feedingstuffs by dinitrophenylation. J. Sci. Fd. Agric. Vol. 19: 496-502.
- MERTZ, E.T., Bates, L.S. NELSON, O.E. (1964): Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm, Science 145: 279-280.
- METTRICK, D.F. (1970): Protein nitrogen, amino acid and carbohydrate gradients in the rat intestine. Comp. Biochem. Physiol., 37, pp. 517-541.

- MILLER, D.S., PAYNE, P.R. (1961): Problems in the prediction of protein values of diets: caloric restriction. *J. Nutr.*, 75: 225-230.
- MITCHELL, H.H. (1962): Comparative nutrition of man and domestic animals, Academic Press, New York, 1962, pp. 701.
- MITCHELL, H.H. and BLOCK, R.J. (1946): Some relationships between the amino acid contents of proteins and their nutritive values for the rat. *J. Biol. Chem.* 163, 599-620.
- MOSSBERG, R. (1969): Evaluation of protein quality and quantity by dye-binding capacity: a tool in plant breeding. New approaches to breeding for improved plant protein, Symposium, International Atomic Energy Agency, Vienna, 1969, pp. 151-160.
- MOSSBERG, R. (1970): Estimation of protein content and quality by dye-binding. Evaluation of Novel Protein Products, Ed. A.E. Bender, R. Kihlberg, B. Löfqvist, L. Munck, Pergamon Press, 1970, 203-207.
- MOUSTAFA, E.K. (1966): Beitrag zur Qualitätsbaurteilung von Fischprotein unter besondere Berücksichtigung der Qualitätsveränderung durch die Trocknungstemperatur, Aug. 1966. Disert. zur Erlangung des Doktorgrades der Landwirtschaftlichen Fakultät der Justus Liebig-Universität Giessen. pp. 202.
- MUNCK, B.G. (1968): Amino acid transport by the small intestine of the rat. Evidence against interactions between sugars and amino acids at the carrier level. *Biochim. Biophys. Acta*, 156, 192-194.
- MUNCK, L. (1964 a): The variation of nutritional value in barley. I. Variety and nitrogen fertilizer effect on chemical composition and laboratory feeding experiment, *Hereditas* 52: 1-35, 1964.
- MUNCK, L. (1964 b): The variation of nutritional value in barley. II. The CBA-mouse as a test organism for large-scale evaluations of nutritional characteristics in programs of plant breeding, *Hereditas* 52: 49-58, 1964.
- MUNCK, L. (1964 c): The variation of nutritional value in barley. III. Favourable and unfavourable effects of damaging and processing to the nutritional value considered in relation to plant breeding, *Hereditas* 52: 59-76, 1964.

- MUNCK, L. (1966): Physiological trials with laboratory animals to evaluate nutritional values of plant material in programs for plant breeding and technical research, *Qualitas Plantarum et Materiae Vegetabiles*, 13: 106-118, 1966.
- MUNCK, L. (1967): Heterosis problems in mice nutrition, *Hereditas* 57: 443, 1967.
- MUNCK, L. (1968): Fodersäd-kvalitet och utnyttjande, *Sveriges Utsädesf. Tidskrift*, 78: 137-201. 1968.
- MUNCK, L. (1969): Genotype-environment interaction in protein production and utilization, *New approaches to breeding for improved plant protein*, IAEA, Vienna, pp. 173-184.
- MUNCK, L. (1970 a): Mice as test animals for evaluation of the nutritional quality of protein. *Evaluation of Novel Protein Products*, Ed. A.E. Bender, R. Kihlberg, B. Löfqvist, L. Munck, Pergamon Press, 1970, 143-147.
- MUNCK, L. (1970 b): Basic research for development of the nutritional value in cereal protein exemplified by studies of the Hily character, IAEA, Vienna, 1-19.
- MUNCK, L. (1970 c): Aspects on the physiology of protein formation in cereal grains and its importance as breeding objective. *Rencontre des Section Céréales et Physiologie de l'Eucarpia*, Dijon, France, 1-16.
- MUNCK, L. KARLSSON, K.-E., HAGBERG, A., EGGUM, B.O. (1970): Gene for improved nutritional value in barley seed protein. *Science* 168: 985-987.
- NAHRING, K., PLATIKANOW, N., TANGL, H., SKULMOWSKI, J., TÖMME, M.F. (1959): *Das Problem der Futterbewertung und Futterwertseinheit III*. Deutsche Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin.
- NASSET, E.S. (1964): The role of the digestive tract in protein metabolism. *The American journal of digestive diseases*, New Series Vol. 9, 175-190.
- NELSON, O.E., MERTZ, E.T., BATES, L.S. (1965): Second mutant gene affecting the amino acid pattern of maize endosperm proteins, *Science* 150, 1469-70.
- OSBORNE, T.B., MENDEL, L.B. and FERRY, E.L. (1919): A method of expressing numerically the growth-promoting value of proteins. *J. biol. Chem.*, 37: 223-229.

- OSER, B.L. (1951): Method for integrating essential amino acid content in the nutritional evaluation of protein. *J. Am. diet. Assoc.*, 27: 396-402.
- OSER, B.L. (1970): Analytical criteria for the effects of processing and storage on proteins, *Evaluation of Novel Protein Products*, Ed. A.E. Bender, R. Kihlberg, B. Löfqvist, L. Munck, Pergamon Press 1970, 315-317.
- PEARSON, E.S. and HARTLEY, H.O. (1956): *Biometrika tables for statisticians*, Cambridge, Published for the Biometrika Trustees. Vol. I., University Press, 1956, pp. 238.
- RAMA RAO, P.B., NORTON, H.W. and JOHNSON, B.C. (1964): The amino acid composition and nutritive value of proteins. V. Amino acid requirements as a pattern for protein evaluation. *J. Nutrition* 82, 88-92.
- RILEY, R. and EWART, J.A.D. (1970): The effect of individual rye chromosomes on the amino acid content of wheat grains. *Genet. Res.* 15, 209-219.
- SAUBERLICH, H.E. (1961): Growth of rats fed proteinfree diets supplemented with purified amino acid mixtures. *J. Nutr.* 74: 298.
- SNEDECOR, G.W. (1962): *Statistical methods applied to experiments in agriculture and biology*, The Iowa State University Press, Ames, Iowa. 1-535.
- STOY, V. (1969): Nagra synpunkter på proteinbildningens biokemi och fysiologi, *Sveriges Utsädesf. Tidskrift*, 79: 192-195, 1969.
- SWAMINATHAN, M.S., AUSTIN, A., KAUL, A.K., NAIK, M.S. (1969): Genetic and agronomic enrichment of the quality of proteins in cereals and pulses. New approaches to breeding for improved plant protein, Symposium, International Atomic Energy Agency, Vienna, 1969, pp. 71-86.
- TASAKI, I. and TAKAHASHI, N. (1966): Absorption of amino acids from the small intestine of domestic fowl. *Journal of nutrition*, Vol. 88, 359-364.
- TATE, M.W. and CIELLAND, R.C. (1959): *Nonparametric and short-cut statistics*, Interstate printers and publishers, Inc., Denville. 1-171.

- THOMAS, K. (1909) : Über die biologische Wertigkeit der Stickstoffsubstanzen in verschiedenen Nahrungsmitteln. Beiträge zur Frage dem physiologischen Stickstoffminimums. Arch. Anat. u. Physiol. Physiol. Abt. 1909, 219-302.
- TIMON, V.M., EISEN, E.J. (1969): Comparison of growth curves of mice selected and unselected for postweaning gain. Theoretical and Applied Genetics 39 : 345-351, 1969.
- TOFT VIUF, B. (1969): Breeding of barley varieties with high protein content with respect to quality. New approaches to breeding for improved plant protein, Symposium, International Atomic Energy Agency, Vienna, 1969, pp. 23-28.
- TROELSEN, J.E. and BELL, J.M. (1961): Performance and carcass response in swine and mice to similar rations. Can. Soc. Anim., Prod. Proc. ann. meet. General Soc. 27-29.
- TURK, R. (1971) : Prispevek k metodiki določanja proizvodnih funkcij z vidika sestave optimalnih proizvodnih programov (Poročilo o raziskavi - v pripravi).
- WALSH, J.E. (1962) : Handbook of nonparametric statistics. D. van Nostrand Company, Inc. Princeton. 1-549.
- WATERLOW, J.C. (1970): Human protein requirements and malnutrition. Evaluation of novel protein products, Ed. A.E. Bender, R. Kihlberg, B. Löfqvist, L. Munck, Pergamon Press, 1970, 15-21.
- WIERINGA, G.W. (1967): On the occurrence of growth inhibiting substances in rye, Institute for storage and processing of agricultural produce, Wageningen, Publication 156, 1-68.
- ZUCKER, H., ERBERSDOBLER, H., GROPP, J. (1968): Analytische Untersuchungen und Fütterungsversuche an Ratten und Wachteln, Z. Tierphys., Tierernährung u. Futtermittelkunde, 23:193-256.

D O D A T E K

Teža miši (A v začetku poskusa, B po 5 dneh poskusa, C po 10 dneh, D po 15 dneh, E po 20 dneh) in prirasti tež miši v posameznih obdobjih (B-A je na primer razlika v teži miši med meritvijo A in meritvijo B) v gramih.

Weights of mice (A at beginning of the experiment, B after 5 days, C after 10 days, D after 15 days, E after 20 days) and weight gains (B-A is for instance difference between weights A and B) in grams.

1. Teža miši Weights of mice

Vzorec ječmena
No. of barley
sample

	A	B	C	D	E
106	7,6	10,4	13,1	16,3	18,7
106	7,3	9,7	12,7	15,8	17,7
106	8,3	10,8	13,6	16,1	18,3
106	6,4	8,8	11,4	14,3	16,4
106	7,6	9,8	12,9	16,1	17,6
106	7,7	10,3	13,8	16,8	18,1
106	8,3	10,2	14,9	17,6	18,5
106	7,2	9,6	12,9	15,3	17,2
106	7,1	9,6	12,4	15,3	17,2
106	6,7	9,0	11,6	15,0	17,3
106	6,6	8,5	11,1	14,3	16,9
106	5,9	7,6	9,7	12,9	14,7
107	8,7	10,8	13,7	17,0	19,2
107	7,4	9,5	12,2	15,4	17,4
107	8,5	10,2	13,0	16,0	18,0
107	8,2	9,9	12,9	16,2	18,5
107	7,6	9,2	11,7	14,1	16,2
107	7,9	10,3	12,8	15,6	17,4
107	7,5	9,4	12,0	14,7	16,9
107	9,0	11,6	14,0	16,9	19,4
107	7,2	9,6	12,1	14,4	16,7
107	6,8	9,1	11,7	14,5	17,2
107	7,4	9,7	12,8	15,2	17,3
107	6,8	9,0	11,5	14,5	16,6

Vzorec ječmena
No. of barley
sample

	A	B	C	D	E
109	7,2	9,3	11,1	14,1	17,3
109	7,9	10,4	12,9	15,7	18,0
109	7,9	10,6	13,8	17,0	19,2
109	8,5	10,6	13,4	16,5	19,2
109	8,4	10,6	13,5	16,1	18,2
109	7,1	8,9	11,6	14,5	16,5
109	7,4	10,2	13,6	16,1	17,7
109	7,0	9,5	11,8	14,1	15,9
109	6,6	8,7	11,4	14,0	16,3
109	7,4	9,5	12,6	15,6	17,8
109	6,3	7,8	9,8	12,4	15,1
109	6,5	8,9	11,6	15,0	17,7
110	6,3	8,8	11,0	13,7	15,7
110	7,1	10,7	13,5	16,0	17,4
110	7,7	10,7	13,1	15,7	17,3
110	6,0	7,7	11,2	13,4	15,5
110	7,5	10,3	13,5	16,8	18,2
110	7,7	10,6	13,7	16,5	17,5
110	7,4	9,8	12,6	15,3	16,8
110	5,9	7,7	9,9	13,1	15,8
111	7,0	9,4	11,6	14,2	16,5
111	7,3	8,3	12,0	14,0	16,6
111	6,5	9,5	10,8	12,9	15,3
111	6,3	9,0	11,3	14,1	16,4
111	6,4	8,3	10,5	12,4	14,9
111	7,9	10,5	12,8	15,0	16,5
111	7,6	10,1	12,2	13,8	15,5
111	7,2	9,6	12,2	14,6	16,5

Vzorec ječmena
No. of barley
sample

	A	B	C	D	E
112	6,8	9,9	13,1	16,5	19,2
112	8,8	12,1	15,6	18,0	20,0
112	7,0	9,0	12,6	14,7	17,5
112	7,9	10,7	14,8	16,7	19,7
112	7,0	9,8	13,6	16,8	18,4
112	7,1	9,9	13,2	16,1	17,5
112	7,4	10,5	13,3	16,1	17,1
112	7,0	9,9	13,2	15,8	16,9
113	8,8	10,4	13,2	15,8	17,8
113	8,0	10,4	13,5	15,9	18,0
113	7,1	9,3	11,5	13,9	16,4
113	7,5	10,3	13,1	15,8	17,4
113	6,4	8,4	10,8	14,1	16,2
113	7,9	10,5	13,0	15,2	17,0
113	7,3	9,5	12,0	15,4	16,9
113	7,1	9,2	12,2	14,5	16,2
114	8,1	9,5	12,5	15,8	17,7
114	8,3	10,8	13,7	16,7	19,1
114	7,3	9,6	12,7	15,7	18,1
114	6,9	9,2	11,5	15,1	17,0
114	5,7	10,1	12,9	15,8	17,6
114	8,8	11,4	14,2	16,7	19,1
114	6,6	9,1	11,5	14,0	16,5
114	7,6	10,6	13,8	16,6	18,6

Vzorec ječmena
No. of barley
sample

	A	B	C	D	E
115	7,4	9,8	12,7	15,2	17,0
115	8,1	10,2	13,4	15,8	18,1
115	8,0	10,1	13,0	15,8	17,7
115	6,3	8,1	11,0	14,0	16,5
115	6,1	7,4	9,1	13,0	13,5
115	6,9	9,1	11,2	13,9	16,2
115	6,6	8,5	11,1	13,6	16,4
115	6,5	8,4	10,3	11,2	15,6
116	6,9	9,4	12,1	15,7	17,9
116	8,2	10,7	13,9	17,2	19,0
116	7,7	10,0	13,0	16,0	18,1
116	6,3	8,3	10,8	14,5	16,7
116	7,2	9,5	12,5	15,6	17,6
116	6,4	7,9	10,3	13,0	14,9
116	6,3	8,0	10,5	13,5	15,6
116	6,3	8,2	11,1	14,1	15,7
116	8,6	11,5	14,5	17,0	19,0
116	7,5	10,3	12,8	15,5	16,6
116	7,9	10,4	13,0	15,2	16,4
116	7,5	9,7	12,4	15,1	18,1
117	7,8	10,2	12,9	15,7	17,3
117	7,5	9,1	11,8	14,5	16,2
117	7,4	9,6	11,9	15,0	16,3
117	6,0	7,7	9,9	12,7	14,5
117	7,0	8,8	10,6	13,3	15,2
117	6,3	7,8	9,2	11,6	13,9
117	6,3	8,4	10,4	12,7	15,0
117	6,4	8,5	10,2	13,1	15,1
117	8,8	11,5	12,9	16,7	16,7
117	7,7	10,3	13,1	14,3	16,5
117	7,7	10,1	14,5	15,1	18,7
117	7,7	9,7	11,7	13,6	16,0

Vzorec ječmena
No. of barley
sample

	A	B	C	D	E
118	7,3	9,7	12,5	16,0	17,2
118	6,4	8,3	9,5	13,7	16,8
118	7,6	10,2	13,0	16,5	17,9
118	7,6	10,4	13,2	17,3	18,8
118	7,6	10,3	13,4	16,3	18,0
118	7,0	9,8	13,0	16,0	18,1
118	6,2	8,2	10,7	13,2	16,0
118	6,6	9,3	12,1	15,4	17,6
118	8,4	11,0	14,7	17,8	18,9
118	7,7	10,3	13,9	17,0	18,2
118	7,9	11,6	15,1	17,7	19,2
118	8,3	11,4	15,7	18,7	19,7
119	7,1	9,1	11,6	14,8	16,8
119	8,0	10,4	12,8	15,4	17,6
119	6,6	8,4	10,5	13,6	15,3
119	6,2	7,9	10,5	13,0	15,7
119	6,5	8,1	10,2	12,6	15,2
119	7,7	10,1	12,9	15,8	17,6
119	8,0	10,4	13,0	15,9	17,7
119	6,4	8,3	10,8	13,5	15,9
119	8,0	10,7	13,9	16,3	18,3
119	8,2	11,0	13,6	15,7	17,5
119	7,8	9,9	12,9	15,3	17,2
119	8,2	11,1	14,2	16,3	18,7

Vzorec ječmena
No. of barley
sample

	A	B	C	D	E
120	8,6	11,7	15,2	18,4	19,7
120	7,5	10,1	13,7	17,2	19,7
120	7,5	10,3	13,1	16,8	18,1
120	6,0	8,1	10,8	14,0	16,9
120	6,6	9,1	11,7	15,1	17,6
120	7,3	10,3	13,3	16,2	17,8
120	6,4	8,7	11,6	14,7	16,8
120	6,6	9,4	12,3	15,7	17,7
120	8,3	11,1	14,7	17,0	18,5
120	7,4	9,8	13,4	15,4	17,8
120	8,4	11,8	15,8	17,2	19,0
120	7,7	10,6	13,8	15,8	18,1

2. Prirasti tež
Weight gains

Vzorec
ječmena
No. of
barley
sample

	B-A	C-A	D-A	E-A	C-B	D-B	E-B	D-C	E-C	E-D
106	2,8	5,5	8,7	11,1	2,7	5,9	8,3	3,2	5,6	2,4
106	2,4	5,4	8,5	10,4	3,0	6,1	8,0	3,1	5,0	1,9
106	2,5	5,3	7,8	10,0	2,8	5,3	7,5	2,5	4,7	2,2
106	2,4	5,0	7,9	10,0	2,6	5,5	7,6	2,9	5,0	2,1
106	2,2	5,3	8,5	10,0	3,1	6,3	7,8	3,2	4,7	1,5
106	2,6	6,1	9,1	10,4	3,5	6,5	7,8	3,0	4,3	1,3
106	1,9	6,6	9,3	10,2	4,7	7,4	8,3	2,7	3,6	0,9
106	2,4	5,7	8,1	10,0	3,3	5,7	7,6	2,4	4,3	1,9
106	2,5	5,3	8,2	10,1	2,8	9,7	7,6	2,9	4,8	1,9
106	2,3	4,9	8,3	10,6	2,6	6,0	8,3	3,4	5,7	2,3
106	1,9	4,5	7,7	10,3	2,6	5,8	8,4	3,2	5,8	2,6
106	1,7	3,8	7,0	8,8	2,1	5,8	7,1	3,2	5,0	1,8

Vzorec
ječmena
No. of
barley
sample

	B-A	C-A	D-A	E-A	C-B	D-B	E-B	D-C	E-C	E-D
107	2,1	5,0	8,3	10,5	2,9	6,2	8,4	3,3	5,5	2,2
107	2,1	4,8	8,0	10,0	2,7	6,9	7,9	3,2	5,2	2,0
107	1,7	4,5	7,5	9,5	2,8	5,8	7,8	3,0	5,0	2,0
107	1,7	4,7	8,0	10,3	3,0	6,3	8,6	3,3	5,6	2,3
107	1,6	4,1	6,5	8,6	2,5	4,9	7,0	2,4	4,5	2,1
107	2,4	4,9	7,7	9,5	2,5	5,3	7,1	2,8	4,6	1,8
107	1,9	4,5	7,2	9,4	2,6	5,3	7,5	2,7	4,9	2,2
107	2,6	5,0	7,9	10,4	2,4	5,3	7,8	2,9	5,4	2,5
107	2,4	4,9	7,2	9,5	2,5	4,8	7,1	2,3	4,6	2,3
107	2,3	4,9	7,7	10,4	2,6	5,4	8,1	2,8	5,5	2,7
107	2,3	5,4	7,8	9,9	3,1	5,5	7,6	2,4	4,5	2,1
107	2,2	4,7	7,7	9,8	2,5	5,5	7,6	3,0	5,1	2,1
109	2,1	3,9	6,9	10,1	1,8	4,8	8,0	3,0	6,2	3,2
109	2,7	5,9	9,1	11,3	3,2	6,4	8,6	3,2	5,4	2,2
109	2,1	4,9	8,0	10,7	2,8	5,9	8,6	3,1	5,8	2,7
109	2,5	5,0	7,8	10,1	2,5	5,3	7,6	2,8	5,1	2,3
109	2,2	5,1	7,7	9,8	2,9	5,5	7,6	2,6	4,7	2,1
109	1,8	4,5	7,4	9,4	2,7	5,6	7,6	2,9	4,9	2,0
109	2,8	6,2	8,7	10,3	3,4	5,9	7,5	2,5	4,1	1,6
109	2,5	4,8	7,1	8,9	2,3	4,6	6,4	2,3	4,1	1,8
109	2,1	4,8	7,4	9,7	2,7	5,3	7,6	2,6	4,9	2,3
109	2,1	5,2	8,2	10,4	3,1	6,1	8,3	3,0	5,2	2,2
109	1,5	3,5	6,1	8,8	2,0	4,6	7,3	2,6	5,3	2,7
109	2,4	5,1	8,5	11,2	2,7	6,1	8,8	3,4	6,1	2,7

Vzorec
ječmena
No. of
barley
sample

	B-A	C-A	D-A	E-A	C-B	D-B	E-B	D-C	E-C	E-D
110	2,5	4,7	7,4	9,4	2,2	4,9	6,9	2,7	4,7	2,0
110	3,6	6,4	8,9	10,3	2,8	5,3	6,7	2,5	3,9	1,4
110	3,0	5,4	8,0	9,6	2,4	5,0	6,6	2,6	4,2	1,6
110	1,7	5,2	7,4	9,5	3,5	5,7	7,8	2,2	4,3	2,1
110	2,8	6,0	9,3	10,7	3,2	6,5	7,9	3,5	4,7	1,4
110	2,9	6,0	8,8	9,8	3,1	5,9	6,9	2,8	3,8	1,0
110	2,4	5,2	7,9	9,4	2,8	5,5	7,0	2,7	4,2	1,5
110	1,8	4,0	7,2	9,9	2,2	5,4	8,1	3,2	5,9	2,7
111	1,9	4,1	6,0	8,5	2,2	4,1	6,6	1,9	4,4	2,5
111	2,6	4,9	7,1	8,6	2,3	4,5	6,0	2,2	3,7	1,5
111	2,5	4,6	6,2	7,8	2,1	3,7	5,3	1,6	3,2	1,6
111	2,4	5,0	7,4	9,3	2,6	5,0	6,9	2,4	4,3	1,9
111	2,4	4,6	7,2	9,5	2,2	4,8	7,1	2,6	4,9	2,3
111	1,0	4,7	6,7	9,3	3,7	5,7	8,3	2,0	4,6	2,6
111	3,0	4,3	6,4	8,8	1,3	3,4	5,8	2,1	4,5	2,4
111	2,7	5,0	7,8	10,1	2,3	5,1	7,4	2,8	5,1	2,3
112	3,1	6,3	9,7	12,4	3,2	6,6	9,3	3,4	6,1	2,7
112	3,3	6,8	9,2	11,2	3,5	5,9	7,9	2,4	4,4	2,0
112	2,0	5,6	7,7	10,5	3,6	5,7	8,5	2,1	4,9	2,8
112	2,8	6,9	8,8	11,8	4,1	6,0	9,0	1,9	4,9	3,0
112	2,8	6,6	9,8	11,4	3,8	7,0	8,6	3,2	4,8	1,6
112	2,8	6,1	9,0	10,4	3,3	6,2	7,6	2,9	4,3	1,4
112	3,1	5,9	8,7	9,7	2,8	5,6	6,6	2,8	3,8	1,0
112	2,9	6,2	8,8	9,9	3,3	5,9	7,0	2,6	3,7	1,1

Vzorec
ječmena
No. of
barley
sample

B-A C-A D-A E-A C-B D-B E-B D-C E-C E-D

112	3,1	6,3	9,7	12,4	3,2	6,6	9,3	3,4	6,1	2,7
112	3,3	6,8	9,2	11,2	3,5	5,9	7,9	2,4	4,4	2,0
112	2,0	5,6	7,7	10,5	3,6	5,7	8,5	2,1	4,9	2,8
112	2,8	6,9	8,8	11,8	4,1	6,0	9,0	1,9	4,9	3,0
112	2,8	6,6	9,8	11,4	3,8	7,0	8,6	3,2	4,8	1,6
112	2,8	6,1	9,0	10,4	3,3	6,2	7,6	2,9	4,3	1,4
112	3,1	5,9	8,7	9,7	2,8	5,6	6,6	2,8	3,8	1,0
112	2,9	6,2	8,8	9,9	3,3	5,9	7,0	2,6	3,7	1,1

113	1,6	4,4	7,0	9,0	2,8	5,4	7,4	2,6	4,6	2,0
113	2,4	5,5	7,9	10,0	3,1	5,5	7,6	2,4	4,5	2,1
113	2,2	4,4	6,8	9,3	2,2	4,6	7,1	2,4	4,9	2,5
113	2,8	5,6	8,3	9,9	2,8	5,5	7,1	2,7	4,3	1,6
113	2,0	4,4	7,7	9,8	2,4	5,7	7,8	3,3	5,4	2,1
113	2,6	5,1	7,3	9,1	2,5	4,7	6,5	2,2	4,0	1,8
113	2,2	4,7	8,1	9,6	2,5	5,9	7,4	3,4	4,9	1,5
113	2,1	5,1	7,4	9,1	3,0	5,3	7,0	2,3	4,0	1,7

114	1,4	4,4	7,7	9,6	3,0	6,3	8,2	3,3	5,2	1,9
114	2,5	5,4	8,4	10,8	2,9	5,9	8,3	3,0	5,4	2,4
114	2,3	5,4	8,4	10,8	3,1	6,1	8,5	3,0	5,4	2,4
114	2,3	4,6	8,2	10,1	2,3	5,9	7,8	3,6	5,5	1,9
114	4,4	7,2	10,1	11,9	2,8	5,7	7,5	2,9	4,7	1,8
114	2,6	5,4	7,9	10,3	2,8	5,3	7,7	2,5	4,9	2,4
114	2,5	4,9	7,4	9,9	2,4	4,0	7,4	2,5	5,0	2,5
114	3,0	6,2	9,0	11,0	3,2	6,0	8,0	2,8	4,8	2,0

Vzorec
ječmena
No. of
barley
sample

	B-A	C-A	D-A	E-A	C-B	D-B	E-B	D-C	E-C	E-D
115	2,4	5,3	7,8	9,6	2,9	5,4	7,2	2,5	4,3	1,8
115	2,1	5,3	7,7	10,0	3,2	5,6	7,9	2,4	4,7	2,3
115	2,1	5,0	7,8	9,7	2,9	5,7	7,6	2,8	4,7	1,9
115	1,8	4,7	7,7	10,2	2,9	5,9	8,4	3,0	5,5	2,5
115	1,3	3,0	6,9	7,4	1,7	5,6	6,1	3,9	4,4	0,5
115	2,2	4,3	7,0	9,3	2,1	4,8	7,1	2,7	5,0	2,3
115	1,9	4,5	7,0	9,8	2,6	5,1	7,9	2,5	5,3	2,8
115	1,9	3,8	4,7	9,1	1,9	2,8	7,2	0,9	5,3	4,4
116	2,5	5,2	8,8	11,0	2,7	6,3	8,5	3,6	5,8	2,2
116	2,5	5,7	9,0	10,8	3,2	6,5	8,3	3,3	5,1	1,8
116	2,3	5,3	8,3	10,4	3,0	6,0	8,1	3,0	5,1	2,1
116	2,0	4,5	8,2	10,4	2,5	6,2	8,4	3,7	5,9	2,2
116	2,3	5,3	8,4	10,4	3,0	6,1	8,1	3,1	5,1	2,0
116	1,5	3,9	6,6	8,5	2,4	5,1	7,0	2,7	4,6	1,9
116	1,7	4,2	7,2	9,3	2,5	5,5	7,6	3,0	5,1	2,1
116	1,9	4,8	7,8	9,4	2,9	5,9	7,5	3,0	4,6	1,6
116	2,9	5,9	8,4	10,4	3,0	5,5	7,5	2,5	4,5	2,0
116	2,8	5,3	8,0	9,1	2,5	5,2	6,3	2,7	3,8	1,1
116	2,5	5,1	7,3	8,5	2,6	4,8	6,0	2,2	3,4	1,2
116	2,2	4,9	7,6	10,6	2,7	5,4	8,4	2,7	5,7	3,0

Vzorec
ječmena
No. of
barley
sample

D-A C-A D-A E-A C-B D-B E-B D-C E-C E-D

117	2,4	5,1	7,9	9,5	2,7	5,5	7,1	2,8	4,4	1,6
117	1,6	4,3	7,0	8,7	2,7	5,4	7,1	2,7	4,4	1,7
117	2,2	4,5	7,6	8,9	2,3	5,4	6,7	3,1	4,4	1,3
117	1,7	3,9	6,7	8,5	2,2	5,0	6,8	2,8	4,6	1,8
117	1,8	3,6	6,3	8,2	1,8	4,5	6,4	2,7	4,6	1,9
117	1,5	2,9	5,3	7,6	1,4	3,8	6,1	2,4	4,7	2,3
117	2,1	4,1	6,4	8,7	2,0	4,3	6,6	2,3	4,6	2,3
117	2,1	3,8	6,7	8,7	1,7	4,6	6,6	2,9	4,9	2,0
117	2,7	4,1	7,9	7,9	1,4	5,2	5,2	3,8	3,8	0,0
117	2,6	5,4	6,6	8,8	2,8	4,0	6,2	1,2	3,4	2,2
117	2,4	6,8	7,4	11,0	4,4	5,0	8,6	0,6	4,2	3,6
117	2,0	4,0	5,9	8,3	2,0	3,9	6,3	1,9	4,3	2,4
118	2,4	5,2	8,7	9,9	2,8	6,3	7,5	3,5	4,7	1,2
118	1,9	3,1	7,3	10,4	1,2	5,4	8,5	4,2	7,3	3,1
118	2,6	5,4	8,9	10,3	2,8	6,3	7,7	3,5	4,9	1,4
118	2,8	5,6	9,7	11,2	2,8	6,9	8,4	4,1	5,6	1,5
118	2,7	5,8	8,7	10,4	3,1	6,0	7,7	2,9	4,6	1,7
118	2,8	6,0	9,0	11,1	3,2	6,2	8,3	3,0	5,1	2,1
118	2,0	4,5	7,0	9,8	2,5	5,0	7,8	2,5	5,3	2,8
118	2,7	5,5	8,8	11,0	2,8	6,1	8,3	3,3	5,5	2,2
118	2,6	6,3	9,4	10,5	3,7	6,8	7,9	3,1	4,2	1,1
118	2,6	6,2	9,3	10,5	3,6	6,7	7,9	3,1	4,3	1,2
118	3,7	7,2	9,8	11,3	3,5	6,1	7,6	2,6	4,1	1,5
118	3,1	7,4	10,4	11,4	4,3	7,3	8,3	3,0	4,0	1,0

Vzorec
ječmena
No. of
barley
sample

B-A C-A D-A E-A C-B D-B E-B D-C E-C E-D

119	2,0	4,5	7,7	9,7	2,5	5,7	7,7	3,2	5,2	2,0
119	2,4	4,8	7,4	9,6	2,4	5,0	7,2	2,6	4,8	2,2
119	1,8	3,9	7,0	8,7	2,1	5,2	6,9	3,1	4,8	1,7
119	1,7	4,3	6,8	9,5	2,6	5,1	7,8	2,5	5,2	2,7
119	1,6	3,7	6,1	8,7	2,1	4,5	7,1	2,4	5,0	2,6
119	2,4	5,2	8,1	9,9	2,8	5,7	7,5	2,9	4,7	1,8
119	2,4	5,0	7,9	9,7	2,6	5,5	7,3	2,9	4,7	1,8
119	1,9	4,4	7,1	9,5	2,5	5,2	7,6	2,7	5,1	2,4
119	2,7	5,9	9,3	10,3	3,2	6,6	7,6	3,4	4,4	1,0
119	2,8	5,4	7,5	9,3	2,6	4,7	6,5	2,1	3,9	1,8
119	2,1	5,1	7,5	9,4	3,0	5,4	7,3	2,4	4,3	1,9
119	2,9	6,0	8,1	10,5	3,1	5,2	7,6	2,1	4,5	2,4
120	3,1	6,6	9,8	11,1	3,5	6,7	8,0	3,2	4,5	1,3
120	2,6	6,2	9,7	12,2	3,6	7,1	9,6	3,5	6,0	2,5
120	2,8	5,6	9,3	10,6	2,8	6,5	7,8	3,7	5,0	1,3
120	2,1	4,8	8,0	10,9	2,7	5,9	8,8	3,2	6,1	2,9
120	2,5	5,1	8,5	11,0	2,6	6,0	8,5	3,4	5,9	2,5
120	3,0	6,0	8,9	10,5	3,0	5,9	7,5	2,9	4,5	1,6
120	2,3	5,2	8,3	10,4	2,9	6,0	8,1	3,1	5,2	2,1
120	2,8	5,7	9,1	11,1	2,9	6,3	8,3	3,4	5,4	2,0
120	2,8	6,4	8,7	10,2	3,6	5,9	7,4	2,3	3,8	1,5
120	2,4	6,0	8,0	10,4	3,6	5,6	8,0	2,0	4,4	2,4
120	3,4	7,4	8,8	10,6	4,0	5,4	7,2	1,4	3,2	1,8
120	2,9	6,1	8,1	10,4	3,2	5,2	7,5	2,0	4,3	2,3