

乙炔抑制型基质氮肥养分释放模式初探

左秀锦¹, 曹建明¹, 武志杰², 荣中原¹, 巩 潘¹

(1.大连大学环境与化学工程学院, 辽宁 大连 116622; 2.中科院沈阳应用生态研究所, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:将(NH₄)₂SO₄中加入占其纯N质量2%的乙炔前体——电石,用一种疏水性材料将其胶结造粒,制成基质型缓释氮肥,通过土壤溶出实验与作物栽培实验表征其养分释放模式。结果表明,其养分释放模式为扩散控制型,释放模式可看作包膜肥料的非线性组合,疏水材料的物理阻滞力与乙炔(C₂H₂)的硝化抑制作用能形成较好的“缓释接力”效应,且C₂H₂的硝化抑制率要优于同条件下的双氰胺(DCD),同时期乙炔处理的作物生物量也高于DCD处理。

关键词:C₂H₂; 硝化抑制剂; 电石; 缓释接力

中图分类号:S143.1 文献标识码:A 文章编号:1672-2043(2008)02-0648-06

A Preliminary Study on the Nutrient Release Pattern of Matrix Nitrogenous Fertilizer Inhibited by Acetylene

ZUO Xiu-jin¹, CAO Jian-ming¹, WU Zhi-jie², RONG Zhong-yuan¹, GONG Xiao¹

(1. College of Environmental and Chemical Engineering, Dalian University, Dalian 116622, China; 2. Institute of Applied Ecology, the Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China)

Abstract: A slow-release matrix nitrogenous fertilizer was obtained by (NH₄)₂SO₄ and Calcium carbide bonded and granulated with a certain type of hydrophobic material. Here the content of Calcium carbide, the precursor of acetylene, is equivalent to 2% quality of the N in (NH₄)₂SO₄. The nutrient release pattern was characterized by release rate test in soil and crop cultivation experiment. The results revealed that the nutrient release pattern was a diffusion-control type, which could be regarded as a slow-release relay effect combined by non-linear assembling for encapsulated fertilizer, physical blocking of the hydrophobic material and nitration-inhibition effect of acetylene (C₂H₂). Furthermore, the nitration-inhibition rate of acetylene was higher than that of dicyandiamide (DCD) under the same condition, and the biomass of crop treated with acetylene was also higher than that of crop treated by DCD. Therefore, the use of encapsulated calcium carbide performs well to provide a slow-release source of acetylene to inhibit nitrification in soil.

Keywords: acetylene; nitrification-inhibitor; calcium carbide; slow release relay

硝化抑制剂是一种是通过抑制亚硝化单胞菌属(Nitrosomonas)活性,来抑制硝化作用的第一步反应(NH₄⁺氧化为NO₂⁻)^[1],从而延长氮源以NH₄⁺-N形态存在时间的物质。通过硝化抑制剂的抑制作用,施入土壤中的NH₄⁺-N能较长时间地供作物吸收利用,减少了NO₂⁻和NO₃⁻的生成,亦减少了NO₂⁻和NO₃⁻的淋溶和反硝化造成的氮肥损失,提高了肥料利用率,降

收稿日期:2007-06-22

基金项目:国家“863计划”项目(2004AA246020);国家“星火计划”资助项目(2006EA651021);辽宁省教育厅科技攻关项目(05L021)

作者简介:左秀锦(1956—),女,教授,辽宁大连人,主要从事高分子材料、缓释肥与环境方面的研究。E-mail:xjzuo@dl.cn

低了环境污染^[2-4]。比较理想的硝化抑制剂都具有以下特点:低成本、高效、安全、应用方便和对环境无影响或影响较小。

C₂H₂虽是一种有效的硝化抑制剂^[5],但C₂H₂在常温常压下是气体,土壤对其吸附固持能力较弱,因此在土壤中的滞留时间很短,很难在农业生产的田间实际应用。而碳化钙(CaC₂),俗名电石,遇水后发生剧烈反应,可放出C₂H₂,因此一些学者通过包被C₂H₂前体—电石来制作硝化抑制剂,并通过与氮肥的配合使用来达到抑制氮肥硝化的目的。然而上述研究者制作的C₂H₂抑制剂与氮肥是相分离的^[6-9],这样容易造成局部硝化抑制作用不均^[10,11]。本研究是将二者有机结合

合,即将粉末状电石加入到氮肥粉末中,使其与氮肥充分混匀,并用一种疏水性物质将混合物胶结造粒,制成基质型缓释氮肥,通过土壤溶出实验和作物栽培实验研究其养分释放模式。

1 材料与方法

1.1 供试肥料

采用以 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 为氮源自制的等养分颗粒(2~4 mm)缓释氮肥,即在 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 中分别加入3种硝化抑制剂与不加抑制剂的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 对照,共4种基质型缓释氮肥,肥料制备所用胶结剂是一种广泛存在的工业废弃物,属于高分子疏水性物质,在土壤中可降解。

1.2 供试土壤

实验所用土壤采自大连大学农业实验基地内,为潮棕壤,风干过2 mm筛备用,其主要理化性质如表1所示:

1.3 土壤溶出率实验

采用室内培养的方法,实验采用1.1中3种含不同抑制剂的肥料与不含抑制剂的肥料,以及不施肥的空白对照共5个处理,即:①空白处理,不施肥,CK;②只施用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$,CK0;③ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ +双氰胺(DCD),CK1;④ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ +3,4-二甲基吡唑磷酸盐(DMPP),CK2;⑤ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ +CaC₂,CK3。 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 用量按1 kg干土中1 g纯N的量加入,DCD、DMPP、CaC₂均按纯N质量的2%加入,每个处理重复4次。将肥料置于尼龙网袋中,将网袋封口后放入盛有土样的塑料容器中部,容器用保鲜膜封口,并均匀扎上数个小孔,以使土壤在培养过程中保持充分好气的条件,然后置于28 ℃培养箱中恒温恒湿培养。培养期间,每天采用称重法补水1次,使土壤含水量保持在田间持水量的60%。培养实验开始后分别于第1、7、14、21、28、35、42 d取样,取样时小心将尼龙网袋取出,拭去其上沾附的土样,将土样充分混匀后,取一定质量用2 mol·L⁻¹KCl溶液浸提,将浸提液过滤,装入玻璃小瓶中冷冻保存,待全部取样完成后用连续流动分析仪(Auto-Analyzer3-BRAN-LUEBBE)一并测定浸提液中 NH_4^+ -N与 NO_3^- -N含量。

1.4 作物栽培实验

实验栽培玉米(*Zea mays* linn.)品种为白甜糯,由大连广大种子公司提供,试验设置5个处理,4次重复,即分别在1.3各处理基础上,每个处理再加入 KH_2PO_4 ,氮肥用量按1 kg干土中0.2 g纯N的量加入, KH_2PO_4 加入量按 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4:\text{KH}_2\text{PO}_4$ 为2:1(质量比)的量加入。加入肥料时亦将肥料置于尼龙网袋中,每个盆钵中装入土壤5 kg,肥料用网袋封口后按逐级递增的螺旋状放入盆钵中,玉米催芽后播种,每盆定植2棵,分别于播种后第10、15、20、30、45 d取玉米地上部分测定生物量。因玉米生长的影响因子较多,因此本实验在相同肥料处理的条件下连续播种三季,数据指标取三季的平均值。

2 结果与分析

2.1 基质型缓释氮肥的结构

基质型肥料是一种将植物营养成分与可降低它们释放速率的材料共混,将肥料均一地分散于控释材料中,形成多孔网络体系,肥料养分随着控释材料对肥料养分的解吸、或控释材料的溶蚀或降解释放出来的一种肥料,其结构如图1所示,其结构可看作许多个小的包膜肥料颗粒的无序堆积或在控释材料中的不规则镶嵌。本研究利用一种高分子工业废弃物作为 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 的载体,利用其疏水性分子骨架的物理阻滞力(空间位阻)和生物降解的速度来减缓 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 的释放,图2与图3分别为此控释材料在放大1 500倍与4 500倍的扫描电镜照片。由图2、图3可以看出,在放大1 500倍的条件下,控释材料的膜表面显得比较致密,但在放大4 500倍的条件下,膜表面的凹槽与微孔依稀可见,此微孔便是水分进入以及养分与乙炔释出的通道。其养分释放主要与膜层厚度、孔隙率、曲折因子以及膜层的强度相关^[12],同时有研究指出乙炔在类玻璃态聚合物膜中的渗透服从亨利定律外,同时服从吸附的Langumir理论,即双吸附现象,也就是双迁移-双吸附机理,其渗透系数随原料压力增大而减小,随温度升高而升高^[12]。在本研究中原料的压力在肥料制备过程中就已经确定,因此在土壤

表1 供试土壤基本化学性质

Table 1 Some properties of tested soil

pH	全 N/g · kg ⁻¹	碱解 N/mg · kg ⁻¹	速效 K/mg · kg ⁻¹	有效 P/mg · kg ⁻¹	有机质/g · kg ⁻¹
5.86	0.84	136.7	89.2	97.5	16.3

注:土壤pH值测定采用1 mol·L⁻¹KCl溶液浸提,水土比为5:1。

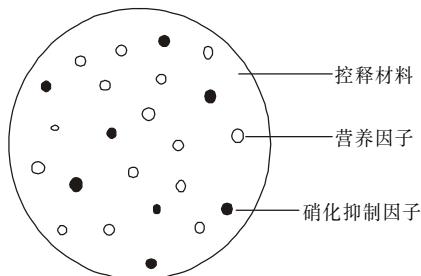


图1 肥料剖面示意图

Figure 1 Profile of the fertilizer

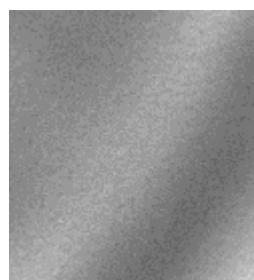


图2 肥料×1 500倍扫描电镜照片

Figure 2 Scanning electron microscope photo of the fertilizer at 1 500 times

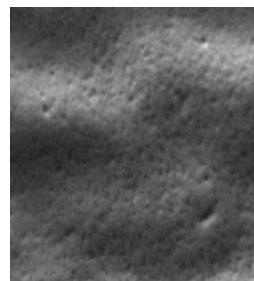


图3 肥料×4 500倍扫描电镜照片

Figure 3 Scanning electron microscope photo of the fertilizer at 4 500 times

溶出实验与作物栽培实验中,温度是乙炔透膜扩散速率的主要影响因子。

2.2 土壤溶出率实验

2.2.1 基质氮肥的缓释性能

因为各个处理所采用的控释材料与包被工艺是相同的,因此理论上各处理的养分释放量在同一时期差别较小,图4所示数值为处理中所测得的 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 与 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 含量之和再减去土壤本底值所得数值。给定显著性水平 $\alpha=0.05$ (新复极差法), CK1、CK2、CK3 之间差异不显著,而 CK0 与 CK1、CK2、CK3 之间存在显著差异,说明不加抑制剂的基质氮肥其养分溶出后,会有一部分在硝化反硝化过程中损失掉,相对于

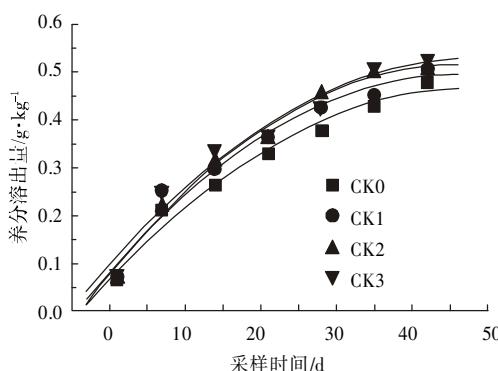


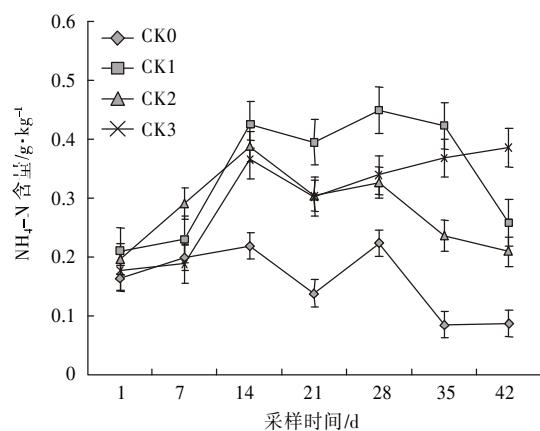
图4 基质氮肥养分释放拟合曲线

Figure 4 The fitted curve of matrix nitrogenous fertilizer nutrient release

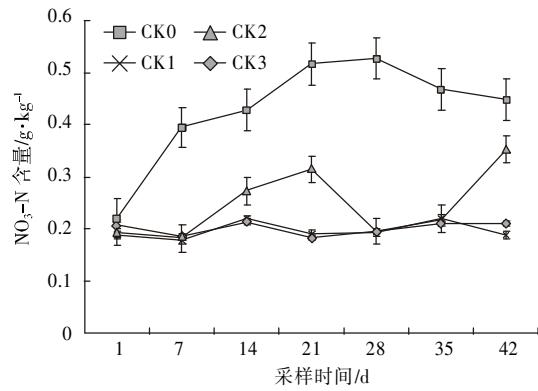
添加抑制剂的处理,其损失量更大一些。图4为用 origin7.0 将各处理测定的散点图进行了二次曲线的拟合,从图中可以看出,其养分释放模式为一种近 L 曲线,不完全是包膜肥料所具有的高亲和力 L 曲线^[13],因其结构在理论上可看作许多个小的包膜肥料颗粒的无序堆积或在控释材料中的不规则镶嵌,所以开始时肥料表面与外界接触的面积较大,因此养分释放速率较快,随着小颗粒包膜肥料数量的减少,其养分释放速率也逐渐变慢。但土壤溶出率是一种表观溶出率,在土壤中部分养分经转化、固定与挥发损失往往会使测定结果小于真实值^[14]。基质型缓释肥料的释放机理可以是扩散控制型,也可以是物理化学控制型。本实验应该是一种扩散控制型,因为实验所用控释材料由疏水材料构成,养分因子在聚合物中分散的均匀性或被隔离程度成为此体系中释放的控制因子。此外实验后从土样中取出的肥料颗粒,其表面未出现显著的溶蚀,所以控释材料虽然属于生物降解型材料,其生物降解速率相对较慢,在控释期内结构稳定,起到控释的作用,肥料养分的释放仍然是扩散控制型。

2.2.2 乙炔的硝化抑制作用

本实验所制得的基质氮肥是一种透膜扩散控制与乙炔硝化抑制的结合型缓释肥,所以养分释放率与乙炔的硝化抑制作用均是实验的考察指标。由图5可以看出,只使用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 处理的 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 含量一直较低,因各处理所用控释材料的种类、比例及 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 含量均相同,所以各处理的养分释放速率在理论上应该是相同的,没有添加抑制剂的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 处理由于土壤中亚硝化菌、硝化菌的作用,其释放的 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 较快地转变为 $\text{NO}_3^- \text{-N}$,因此 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 含量一直处于较低的水平,其均值只有 $0.1595 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,而添加 CaC_2 处

图 5 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 随时间变化率Figure 5 Changes of $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ contents with time

理的 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 均值为 $0.3036 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 添加 DMPP 处理的 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 均值为 $0.2792 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 添加 DCD 处理的 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 均值为 $0.3412 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 可见添加 CaC_2 而产生 C_2H_2 的硝化抑制作用还是较强的。在前 14 d CK1、CK2、CK3 处理的 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 呈明显的上升趋势, 说明此阶段土壤中的硝化菌及亚硝化菌均被有效地抑制, 而 CK0 处理的 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 含量无上升趋势, 甚至总体呈缓慢下降趋势, 因此 CK0 处理中 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 的硝化及亚硝化作用还是较强的。由图 6 可以看出, C_2H_2 的硝化抑制作用与 DMPP 的硝化抑制作用非常接近, 而 DCD 的硝化抑制作用要弱于 C_2H_2 与 DMPP, 这表明 C_2H_2 是一种比 DCD 更有效的硝化抑制剂, 没有添加抑制剂的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 处理 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 含量最高为 $0.4295 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 添加 CaC_2 处理的 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 均值只有 $0.2012 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 因乙炔要发挥作用, 必须缓慢释放并保持一定浓度, 通过 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的变化可以看出本实验制备的氮肥, 其对

图 6 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 随时间变化率Figure 6 Changes of $\text{NO}_3^- \text{-N}$ contents with time

CaC_2 的包被还是比较成功的, 但从图 6 看出, CK0 处理的 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 含量在 1~28 d 一直呈上升趋势, 形成明显的 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 积累, 说明处理中肥料所释放的养分大部分发生了硝化作用, 而 CK1、CK2、CK3 处理的 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 无明显上升趋势, 特别是 CK2、CK3 处理, $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 含量在整个培养过程中无明显波动, 土壤中的亚硝化菌及硝化菌活性均被有效地抑制, 因此 CaC_2 与 DMPP 是两种相对稳定且更为有效的硝化抑制剂。同时从 CK0 处理 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的变化趋势可以看出, 本实验所制得的基质型缓释氮肥其养分溶出速率还有待于进一步优化。

2.3 作物栽培实验

从第 10 d 取样测定的生物量可以看出, 不加抑制剂的 CK0 处理与含 CaC_2 的处理 CK3 作物生物量最高, 且两者基本持平, 但第 20 d 作物的生物量为 CK3 处理最高, 高出不施氮肥的 CK 处理 37.18 个百分点, 第 45 d 的作物生物量依然为 CaC_2 处理最高,

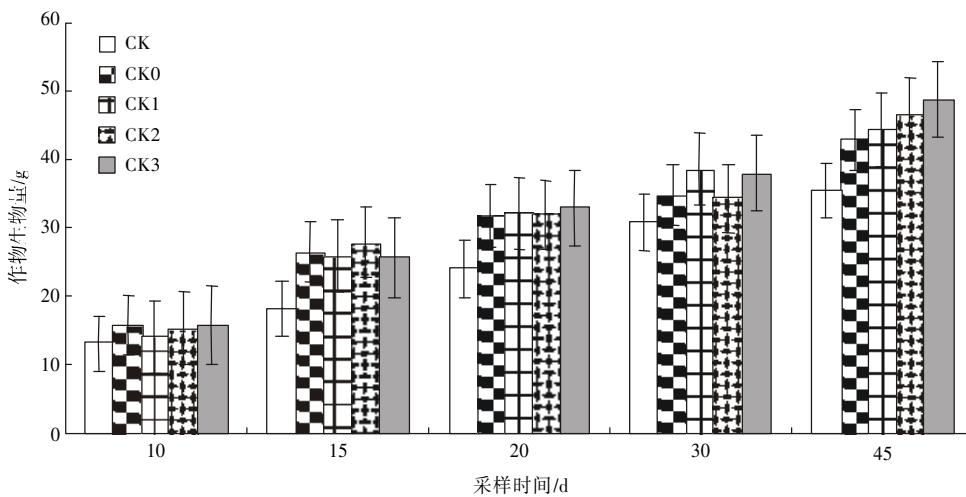


图 7 作物生物量随时间变化率

Figure 7 The variation of corn biomass with time under different fertilizer treatments

表2 不同处理的作物生物量(g)

Table 2 The corn biomass under different treatments(g)

采样时间/d	处 理				
	CK	CK0	CK1	CK2	CK3
10	12.93c	15.60a	13.95bc	15.06ab	15.65a
15	17.97c	26.13ab	25.58b	27.63a	25.44b
20	23.88b	31.48a	31.93a	31.64a	32.76a
30	30.58c	34.53b	38.40a	34.17b	37.85a
45	35.31d	42.80c	44.18bc	46.52ab	48.74a

注:不同字母表示差异达5%显著水平。

CaC₂处理的作物生物量高出CK 37.96%,高出CK0 1.137%,CK1 1.102%,CK2 1.046%,说明CaC₂处理中养分的释放与C₂H₂的硝化抑制作用是基本匹配的。各处理的作物生物量及处理间的差异情况如表2所示。

NH₄⁺-N与NO₃⁻-N都是作物可吸收利用的氮素形态,但玉米是一种喜NH₄⁺-N作物,当NH₄⁺-N所占比例较高时,更利于玉米的生长^[15]。在作物栽培实验中,含CaC₂的缓释氮肥其养分释放模式可描述如下:首先溶出NH₄⁺-N,NH₄⁺-N有一部分被作物吸收利用,一部分在土壤亚硝化菌与硝化菌的作用下,生成NO₃⁻-N继续被作物吸收利用;但所含CaC₂在此过程中与进入肥料内部的水分反应生成C₂H₂,也使C₂H₂同时释放出来,释放的C₂H₂即作为硝化抑制剂抑制了NH₄⁺-N向NO₃⁻-N的转化,使溶出氮素大多以NH₄⁺-N形态存在供作物吸收利用,因此养分的释放与C₂H₂的抑制形成一种“缓释接力”效应,使养分的释放与C₂H₂的硝化抑制作用基本保持一致,其养分的释放速率与作物的养分吸收速率相吻合,因此作物生物量与其他处理相比在45 d后更占优势;此外,Todd R L研究指出当作物根系被迫吸收NH₄⁺时,根系会向外排出质子以保持根系的电荷平衡,因而导致根际周围pH下降,根际微域变酸,从而影响土壤微生物的活动^[16],而C₂H₂的产出前体—CaC₂与水反应除生成C₂H₂外,还生成Ca(OH)₂,Ca(OH)₂的生成无疑中和了作物释放的质子,起到了一定程度的缓冲作用,这种巧合也是作为硝化抑制剂的CaC₂所特有。Muhammad Yaseen在2006年通过棉田与麦田实验,证明C₂H₂能明显提高作物产量,并推测是由于C₂H₂在土壤中转化生成了植物荷尔蒙—乙烯(C₂H₄),它增加了作物对氮的吸收利用率所致^[17]。所以在作物栽培实验中,C₂H₂作为硝化抑制剂比DCD、DMPP更具优势;但本实验只选用了从玉米苗期到拔节抽穗期之前的一段时间,还有一定局限性,若需进一步对其进行

验证,需做田间试验。

3 结论

将乙炔前体—电石与植物营养元素一起造粒制成基质型缓释氮肥是一种比较理想的缓释肥料,它将养分的缓释与C₂H₂对NH₄⁺-N的硝化抑制有机结合,形成“缓释接力”,在45 d的实验期内取得较好的实验效果。其养分释放模式为透膜扩散控制型,释放模式可表示为:水蒸气渗入—空隙形成—养分释放、C₂H₂释放—递减式重复。

实验所用控释材料,即胶结剂为广泛存在的工业废弃物,本研究为缓释/控释肥料提供新型控释材料的同时,也为废弃物的循环利用提供了新途径;此外硝化抑制剂C₂H₂的产出前体—电石也是价廉易得的,以上均是本研究所制氮肥的成本优势。

基质型肥料相对于包膜型肥料,其研究报道比较少,本文提出的其养分释放模式可看作包膜肥料的非线性组合,只是一种理论上的假定,其具体释放模式还有待于进一步的研究与验证。

参考文献:

- [1] Hoeft R g. Current status of nitrification inhibitor use in U.S. agriculture [R]. In Nitrogen in Crop Production (Hauck R D,ed), Madison, WI, American Society of Agronomy, 1984. 561-570.
- [2] 孙爱文,石元亮,张德生,等.硝化/脲酶抑制剂在农业中的应用[J].土壤通报,2004,35(3):357-361.
SUN Ai wen, SHI Yuan liang, ZHANG De sheng, et al. Application of Nitrification-urease Inhibitors in Agriculture [J]. Chinese Journal of Soil Science, 2004,35(3):357-361.
- [3] 黄益宗,冯宗炜,王效科,等.硝化抑制剂在农业上应用的研究进展[J].土壤通报,2002,(33)4:310-315.
HUANG Yi zong, FENG Zong wei, WANG Xiao ke, et al. Research progress of nitrification inhibitors applied in agriculture[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2002,33(4):310-315.
- [4] 黄益宗,冯宗炜,张福珠.硝化抑制剂硝基吡啶在农业和环境保护中的应用[J].土壤与环境,2001,10(4):323-326.
HUANG Yi zong, FENG Zong wei, ZHANG Fu zhu. Application of nitrapyrin in agriculture and environmental protection [J]. Soil and Environmental Sciences, 2001,10(4):323-326.
- [5] Walter H M, Keeney D R, Filley I r. Inhibition of nitrification by acetylene [J]. Soil Science Society of America Journal, 1979,43:195-196.
- [6] Rocheter I, Constable G, Saffigaa P. Effective nitrification inhibitors may improve fertilizer recovery in irrigated cotton[J]. Biology and Fertility of Soil, 1996,23:1-6.
- [7] Mohanty S K, Mosier A R. Nitrification-denitrification in flooded rice soils [J]. Trans 14th Internat Cong Soil Sci, 1990,4:326-331.
- [8] Banerjee N K, Mosier A R. Coated calcium carbide as a nitrification in-

- hibitor in upland and flooded soils[J]. *Indian Soc Soil Sci*, 1989,37:306–313.
- [9] Bronson K F, Mosier A R, Bishnoi S R. Nitrous oxide emissions in irrigated corn as affected by nitrification inhibitors [J]. *Soil Sci Soc Am J*, 1992, 56 :161–165.
- [10] Daum D, Schenk M K. Evaluation of the acetylene inhibition method for measuring denitrification in soilless plant culture systems [J]. *Biol Fertil Soils*, 1997,24:111–117.
- [11] Aulakh M S, Rennie D A, Paul E A. Acetylene and N-serve effects upon N₂O emissions from NH₄ and NO₃ treated soils under aerobic and anaerobic conditions [J]. *Soil Biol Biochem*, 1984,16: 351–356.
- [12] Wijmans J G, Baker R W. The solution–diffusion model: a review [J]. *Membr Sci*, 1995, 107: 1–21.
- [13] Christianson C B. Factors affecting N release of urea from reaction layer coated urea [J]. *Fer Res*, 1988,16:273–284
- [14] 张智猛, 胡昌浩, 董树亭, 等. 氮素对两种玉米脂肪及其组分含量的影响[J]. 植物营养与肥料学报 2004,10(2):152–155.
ZHANG Zhi meng, HU Chang hao, DONG Shu ting, et al. Effect of nitrogen on fat and fatty composition content of two maize[J]. *Plant Nutrition and Fertilizing Science*, 2004,10(2):152–155.
- [15] Yeomans J C, Beauchamp E G. Limited inhibition of nitrous oxide reduction in soil in the presence of acetylene[J]. *Soil Biol Biochem*, 1978, 10:517–519.
- [16] Todd R L. Nitrification and cation circulation in soil[J]. *Soil Sci Div Agron Abstr*, 1974,131.
- [17] Muhammad Yaseen, Muhammad Arshad, Azeem Khalid. Effect of acetylene and ethylene gases released from encapsulated calcium carbide on growth and yield of wheat and cotton [J]. *Pedobiologia*, 2006,50(5): 405–411.