

УДК 546.17:633.31/.37:633.524.1:633.875

## **ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ АЗОТА В ВЕГЕТИРУЮЩЕЙ ЧАСТИ ПОБЕГОВ НЕТРАДИЦИОННОЙ ДЛЯ РОССИИ ЗЕРНОБОБОВОЙ КУЛЬТУРЫ КРОТАЛЯРИИ СИТНИКОВОЙ РОДОМ ИЗ ТРОПИЧЕСКИХ СТРАН**

**А.И. ОСИПОВ<sup>1</sup>**, доктор сельскохозяйственных наук,  
E-mail: aosipov2006@mail.ru

**Я.В. ПУХАЛЬСКИЙ<sup>2,3</sup>**, E-mail: puhalskyyan@gmail.com  
**С.И. ЛОСКУТОВ<sup>2,4</sup>**, кандидат сельскохозяйственных наук,  
E-mail: lislosk@mail.ru

**Г.В. НИКИТИЧЕВА<sup>2</sup>, Л.А. ГОРОДНОВА<sup>2</sup>,**  
**А.И. ЯКУБОВСКАЯ<sup>5</sup>**, кандидат биологических наук,  
E-mail: yakubovskaya\_alla@mail.ru

**Д.Д. МЕЩЕРЯКОВ<sup>6</sup>**, E-mail: info@ledforplant.ru  
**И.А. КАМЕНЕВА<sup>5</sup>**, кандидат сельскохозяйственных наук,  
E-mail: irina.kameneva.7@mail.ru

**Ю.В. ЛАКТИОНОВ<sup>3</sup>**, кандидат биологических наук,  
E-mail: laktionov@list.ru

<sup>1</sup> ФГБНУ АГРОФИЗИЧЕСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ,

<sup>2</sup> ГАОУ ВО ЛО ЛЕНИНГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ А.С. ПУШКИНА

<sup>3</sup> ФГБНУ ВНИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ  
(ФГБНУ ВНИИСХМ)

<sup>4</sup> ВНИИ ПИЩЕВЫХ ДОБАВОК – ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА  
ПИЩЕВЫХ СИСТЕМ ИМ. В.М. ГОРБАТОВА РАН

<sup>5</sup> ФГБУН НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА КРЫМА

<sup>6</sup> ИП LED FOR PLANT

*Crotalaria juncea* – это однолетний кустарник из семейства Бобовых, произрастающий в странах Индии и Африки и обычно используемый здесь в качестве сидеральной культуры, главным образом из-за того, что она обогащает почву большим количеством азота, посредством его биологической фиксации из атмосферы. В естественной популяции их сеянцы встречаются достаточно редко и аграрии во всем мире еще слабо осведомлены о полезных свойствах данных растений. Культура является редкой и для России, из-за ограниченности ареала ее возможного возделывания и слабого развития селекционной базы. Местом для возможного выращивания кроталарии в РФ могут послужить южные регионы страны с теплым умеренным климатом, в частности Краснодарский край, республики Адыгея или Крым. Культуру также можно активно выращивать в условиях закрытого грунта. Настоящая работа посвящена оценке роста и развития растений в условиях защищенного грунта при полной светокультуре в течение 140 суток, до фазы активного цветения, когда все биохимические показатели в морфогенезе максимальны, включая концентрацию накопления азота. Субстратом послужила почвосмесь состоящая из типичного чернозема, полученного из заповедника «Каменная степь» Воронежской области и 20% добавки в виде вулканического цеолита. Опыт включал в себя блок из 50 растений, имеющих показатель всхожести 66%. На протяжении всего цикла вегетации велся системный учет динамики изменения морфометрических показателей роста культуры (высоты и сухой биомассы), а также накопления в ней минерального азота. По итогу исследований установлено, что данные показатели можно

описать следующими квадратными уравнениями: накопление сухой биомассы –  $y=0,3325x^4 - 3,7533x^3 + 14,428x^2 - 19,197x + 9,91$  ( $R^2=0,99$ ); динамика роста побегов –  $y=0,4208x^4 - 3,0417x^3 + 6,3292x^2 + 13,792x + 18,5$  ( $R^2=0,99$ ); аккумуляция азота –  $y=-0,7075x^4 + 8,7117x^3 - 38,588x^2 + 75,393x - 31,7$  ( $R^2=0,99$ ).

**Ключевые слова:** *Crotalaria juncea*, азотфиксация, продуктивность, высота.

**Для цитирования:** Осипов А.И., Пухальский Я.В., Лоскутов С.И., Никитичева Г.В., Городнова Л.А., Якубовская А.И., Мещеряков Д.Д., Каменева И.А., Лактионов Ю.В. Динамика накопления азота в вегетирующей части побегов нетрадиционной для России зернобобовой культуры кроталарии ситниковой родом из тропических стран. // Зернобобовые и крупяные культуры. 2024; 1 (49): 105-111. DOI: 10.24414/2309-348X-2024-105-111

## DYNAMICS OF NITROGEN ACCUMULATION IN THE VEGETATIVE PART OF SHOOTS OF THE NON-TRADITIONAL FOR RUSSIA LEGUMINOUS CROP *CROTALARIA JUNCEA* (SUNN HEMP) NATIVE TO TROPICAL COUNTRIES

A.I. Osipov<sup>1</sup>, J.V. Puhalsky<sup>2,3</sup>, S.I. Loskutov<sup>2,4</sup>, G.V. Nikiticheva<sup>2</sup>,  
L.A. Gorodnova<sup>2</sup>, A.I. Yakubovskaya<sup>5</sup>, D.D. Meshcheryakov<sup>6</sup>,  
I.A. Kameneva<sup>5</sup>, Yu.V. Laktionov<sup>3</sup>

<sup>1</sup> AGROPHYSICAL INSTITUTE OF THE RUSSIAN ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES, St. Petersburg, Russia

<sup>2</sup> PUSHKIN LENINGRAD STATE UNIVERSITY, St. Petersburg-Pushkin, Russia

<sup>3</sup> ALL-RUSSIA RESEARCH INSTITUTE FOR AGRICULTURAL MICROBIOLOGY, St. Petersburg-Pushkin, Russia

<sup>4</sup> VNIIPD — A BRANCH OF GORBATOV RESEARCH CENTER FOR FOOD SYSTEMS, St. Petersburg, Russia

<sup>5</sup> SCIENTIFIC RESEARCH INSTITUTE OF AGRICULTURE OF CRIMEA, Simferopol, Russia

<sup>6</sup> SOLE PROPRIETORSHIP «LED FOR PLANT», Krasnoyarsk, Russia

**Abstract:** *Crotalaria juncea* is an annual shrub from the legume family, native to India and Africa and commonly used here as a green manure crop, mainly because it enriches the soil with large amounts of nitrogen through biological fixation from the atmosphere. In the natural population, their seedlings are quite rare and farmers around the world are still poorly aware of the beneficial properties of these plants. The crop is also rare for Russia, due to the limited area of its possible cultivation and the poor development of the breeding base. The southern regions of the country with a warm temperate climate, in particular the Krasnodar Territory, the republic of Adygea or Crimea, can serve as a place for the possible cultivation of *crotalaria* in the Russian Federation. The crop can also be actively grown in closed ground conditions. This work is devoted to assessing the growth and development of plants in protected soil conditions with full light culture for 140 days, before the active flowering phase, when all biochemical indicators in morphogenesis are maximum, including the concentration of nitrogen accumulation. The substrate was a soil mixture consisting of typical chernozem obtained from the Kamennaya Steppe nature reserve in the Voronezh region, and 20% additive in the form of volcanic zeolite. The experiment included a block of 50 plants with a germination rate of 66%. Throughout the entire growing season, a systematic account was taken of the dynamics of changes in the morphometric indicators of crop growth (height and dry biomass), as well as the accumulation of mineral nitrogen in it. Based on the results of the research, it was established that these indicators can be described by the following quadratic equations: accumulation of dry biomass –  $y=0,3325x^4 - 3,7533x^3 + 14,428x^2 - 19,197x + 9,91$  ( $R^2=0,99$ ); shoot growth dynamics –  $y=0,4208x^4 - 3,0417x^3 + 6,3292x^2 + 13,792x + 18,5$  ( $R^2=0,99$ ); nitrogen accumulation –  $y= -0,7075x^4 + 8,7117x^3 - 38,588x^2 + 75,393x - 31,7$  ( $R^2=0,99$ ).

**Keywords:** *Crotalaria juncea*, nitrogen fixation, productivity, height.

## Введение

Несмотря на сложную геополитическую ситуацию, сложившуюся в результате вводимых со стороны Запада экономических санкций в отношении России, государство для укрепления своего финансового суверенитета продолжает наращивать торговые связи со многими странами тропической зоны, включая Индию и Африку [1-3]. Дружественные отношения между нашими государствами, сложились уже давно, еще со времен Российской Империи и Советского Союза [4-5], однако сейчас они выходят на новый уровень. В данном тройственном союзе будет развиваться и научное сотрудничество в отрасли биотехнологии растениеводства. Уже сейчас, в рамках импортозамещения, идет активное внедрение лекарственных препаратов на российский рынок, полученных, в том числе из растений, входящих в фармоскопейную группу, произрастающих в тропических странах. Среди незаслуженно забытых сельскохозяйственных культур из семейства *Fabacea*, родом из тропиков, можно выделить – кроталарию ситниковую (*Crotalaria juncea*) – древнейшую нетрадиционную для России однолетнюю культуру, ареал распространения которой приходится на Южную Азию и Африку [6], где она используется как сидеральное удобрение, обладающее нематодостатической активностью. Растения имеет мощную и разветвленную корневую систему, которая помогает им хорошо усваивать питательные вещества из глубоких слоев почвы. Выращивание видов *Crotalaria* в севообороте дает ряд преимуществ системам нулевой обработки почвы для сдерживания деградации их плодородия и поддержания почвенного здоровья. По сравнению с другими покровными видами из рода *Crotalaria*, культура также является единственной лубяной, что выращивается для получения волокна, сбор которого составляет около 8% от сухой биомассы стебля. Полноценных научных работ по характеристикам возделывания данной культуры в отечественной печати обнаружено не было. Последние исследования, проводившиеся в рамках оценки адаптационного потенциала семян данной культуры, отмечены лишь на Кубани в период 1978-1984 гг [7]. Таким образом, нами ранее был подготовлен первый в современной России научный обзор, обобщающий особенности выращивания данной культуры в мире и перспективы ее интродукции на территории страны [8]. Из особенностей, описанных в нем, здесь можно выделить ссылку на недавние исследования, проведенные в Узбекистане, где в семенной продукции растений из данного рода также были обнаружены полисахариды (галактоманнаны), используемые в качестве физиологически активных соединений, обладающих ростостимулирующим действием при экзогенной обработке ими других растений, в частности Злаков [9]. Стоит также отметить, что культура может не формировать семена севернее 28° параллели, на что следует обратить внимание аграриям, при выращивании ее в открытом грунте с добавлением органических стимуляторов роста и инокуляцией микробными биопрепаратами для создания эффективных бобово-ризобиальных симбиосистем. Ареалом для возможного выращивания кроталарии в РФ могут послужить южные регионы страны с теплым умеренным климатом, в частности Краснодарский край, республики Адыгея или Крым. Культуру также можно круглогодично возделывать в закрытом грунте при полной светокультуре. Растения здесь получают более низкорослые, зато формируют выполненные семена. Подобные исследования уже проводят в коммерческих оранжереях и теплицах США и Франции, где также изучают возможности получения и использования более коротких сердцевинных волокон, при выращивании растений в беспочвенной горшечной культуре.

Таким образом, целью настоящей работы была оценка изменения продуктивности и накопления азота, в онтогенезе данных растений, выращенных в условиях защищенного грунта.

## Материал и методы исследований

Эксперимент проводился летом 2023 года на базе тепличного комплекса НОЦ «Зимний сад» (ЛГУ им. А.С. Пушкина, СПб - г. Пушкин). Температура в теплице на протяжении всего опыта составляла 35-40°C днем и 25-28°C ночью при влажности воздуха 60-65%. Растения выращивали в цилиндрических пластиковых сосудах на 2 л., заполненных почвосмесью, состоящей из типичного чернозема, полученного из заповедника «Каменная степь»

Воронежской области и 20% добавки в виде вулканического цеолита, для улучшения водоудерживающей способности субстрата [10]. Агрехимическая характеристика почвы проведена стандартными методами:  $p_{H_2O}$   $6,89 \pm 0,02$ ;  $p_{KCl}$   $6,39 \pm 0,02$ ; гумус  $7,65 \pm 0,28\%$ ; ЕКО -  $45,5 \pm 0,02$  мг-экв/100 г,  $N_T$  -  $1,54 \pm 0,08$  мг-экв /100г;  $K_2O$   $127,7 \pm 2,3$  мг/кг;  $P_2O_5$   $125,9 \pm 1,9$  мг/кг. На один сосуд приходилось по одному саженцу.

Общий период выращивания растений составил 140 суток (с 22 апреля по 09 сентября), до фазы активного цветения, когда все биохимические показатели в морфогенезе, включая концентрацию накопленного азота, максимальны.

Эксперимент включал блок из 50 растений. Каждые 28 суток велся системный учет динамики изменения морфометрических показателей роста культуры (высоты и сухой биомассы), путем рандомного извлечения из каждого блока вариантов по десять культиваров. Для определения азота биомассу подвергали сернокислотному разложению по методу Кьельдаля.

Математическую обработку полученных данных проводили с помощью прикладной системы Excel 2016.

### Результаты и их обсуждение

Итоговая высота полученных растений на момент съема опыта в закрытом грунте составила 1,2-1,4 м (рис. 1).

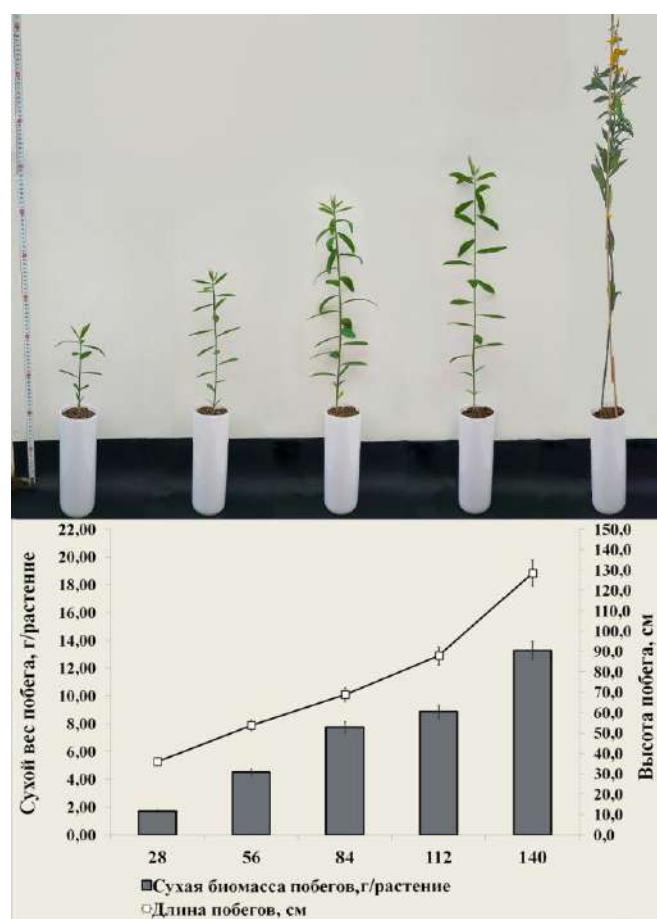


Рис. 1. Биометрические показатели динамики роста *Crotalaria juncea* в условиях вегетационного тепличного опыта

Динамику линейного роста можно выразить уравнением:  $y = 0,4208x^4 - 3,0417x^3 + 6,3292x^2 + 13,792x + 18,5$  ( $R^2 = 0,99$ ). В полевых условиях эти показатели могут достигать 3-4 м. Объяснение сему факту можно связать с ограниченным объемом сосуда для нормального развития более мощной корневой системы. Тем не менее, для условий защищенного грунта и модельного эксперимента этот результат идеальный. Максимальный вес растения также достигали при 140 сутках - 13,26 г/растение. Накопление сухого вещества можно выразить

Научно – производственный журнал «Зернобобовые и крупяные культуры» № 1 (49) 2024 г. следующим квадратным уравнением:  $y = 0,3325x^4 - 3,7533x^3 + 14,428x^2 - 19,197x + 9,91$  ( $R^2 = 0,99$ ).

Накопление N было незначительным до 28 суток (рис. 2), после чего оно начинало постепенно увеличиваться, достигая максимума при 112 сутках. Квадратное уравнение представлено следующим видом:  $y = - 0,7075x^4 + 8,7117x^3 - 38,588x^2 + 75,393x - 31,7$  ( $R^2 = 0,99$ ). Далее начинается формирование бобов с последующим развитием зерна, и накопленный минеральный азот, преобладающих для данных видов растений в аммонийной форме, начинает постепенно перераспределять в пользу последних, что связано с эффектом разбавления, где он участвует в процессах синтеза аминокислот и белка [11-12]. Дальнейшее снижение содержания N в побегах может быть также стратегией растений, направленной на поддержание работоспособности фотосинтетического листового аппарата.

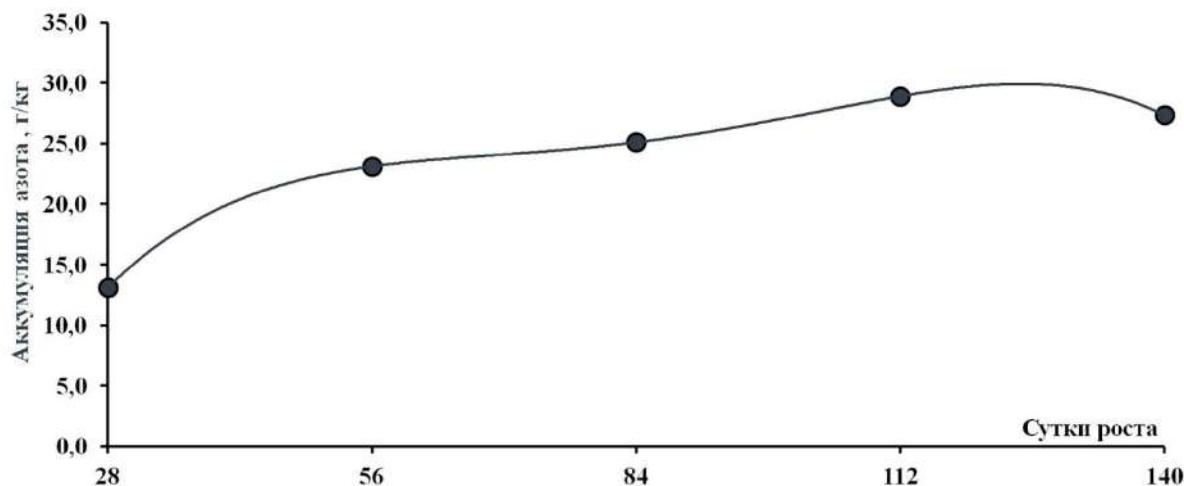


Рис. 2. Накопление азота в вегетативной части побегов растений *Crotalaria juncea* в зависимости срока вегетации

### Выводы

Таким образом, на основании модельного опыта проведенного в теплице можно сделать вывод, что для обеспечения почвы азотом, быстрее всего срезку растений необходимо проводить до образования репродуктивных органов. Для получения максимально биомассы и бобов, растения можно продолжать выращивать и дальше, до полного периода вегетации, который для данной культуры составляет 226-240 суток. При этом, обычно, максимальное накопление сухого вещества наблюдается через 135 дней. Кроме того, отмечено, что после цветения в растениях идет накопление алкалоидного вещества под названием монокроталин, используемый ими в программах борьбы с вредителями, который уже сдерживает их использование на корм скоту. Поэтому максимальный срок возделывания кроталарии на силос должен составлять не более 170 дней.

### Литература

1. Захарова С.В., Соколова О.Ю., Власова Н.Л., Скворцова В.А., Скворцов А.О. Особенности внешнеэкономических связей России со странами Африки // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Общественные науки. – 2021. – № 1 (57). – С. 103-114.
2. Беляев С.А. Внешняя торговля России со странами африканского континента на фоне развития структурного кризиса // Азимут научных исследований: экономика и управление. – 2020. – Т. 9. – № 1 (30). – С. 65-67.
3. Юрлов Ф.Н. Россия и Индия в меняющемся глобальном мире // Гуманитарные исследования Центральной России. – 2019. – № 1 (10). – С. 36-45.
4. Нуриева А.Р., Гибадуллин М.З., Зайнутдинова Д.И. Российская империя и страны африканского континента: от первых контактов к регулярному экономическому взаимодействию // Вестник Томского государственного университета. Экономика. – 2021. – № 55. – С. 216-224.

5. Акарашов И.С. Россия - Индия: необходимо повышать уровень доверия // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Всеобщая история. – 2017. – Т. 9. – № 3. – С. 222-233.
6. Garcia J.M., Kawakita K., Souza M.C., Miotto S.T.S. 2013. The genus *Crotalaria* L. (*Leguminosae*, *Faboideae*, *Crotalarieae*) in the upper Parana River floodplain, Brazil // *Revista Brasileira de Biociencias*. – 2013. – V. 11. – № (2). – P. 209-226.
7. Силаева О.И. Хранение коллекции семян мировых растительных ресурсов в условиях низких положительных температур - оценка, состояние, перспективы // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 2012. – Т. 169. – С. 230-239.
8. Пухальский Я.В., Воробьев Н.И., Лоскутов С.И., Глушаков Р.И., Косульников Ю.В., Якубовская А.И., Никитичева Г.В., Городнова Л.А., Кожемяков А.П., Лактионов Ю.В. Кроталария ситниковая (*Crotalaria juncea* L.): характеристика и перспективы возделывания новой бобовой культуры в России // *Сельскохозяйственная биология*. – 2024. – Т. 59. – № 1. – С. 3-30.
9. Закирова Р.П., Асатова С.С., Сафарова Н.Р., Ташпулатова Ф.Ш. Изучение ростстимулирующей активности полисахаридов растений *Gleditsia triacanthos*, *Crotalaria alata* и *Crotalaria* sp. // *Аграрная наука*. – 2020. – № 1. – С. 52-55.
10. Арефьев А.Н., Кузина Е.Е., Кузин Е.Н. Влияние природных цеолитов на водоудерживающую способность и режим влажности чернозема выщелоченного // *Нива Поволжья*. – 2016. – № 1(38). – С. 2-9.
11. Helali S.M., Nebli H., Kaddour R., Mahmoudi H., Lachaâl M., Ouerghi Z. Influence of nitrate-ammonium ratio on growth and nutrition of *Arabidopsis thaliana* // *Plant and Soil*. – 2010. – V. 336. – № 1. – P. 65-74.
12. Masakapalli S.K., Kruger N.J., Ratcliffe R.G. The metabolic flux phenotype of heterotrophic *Arabidopsis* cells reveals a complex response to changes in nitrogen supply // *The Plant Journal*. – 2013. – V. 74. – № 4. – P. 569-582.

#### References

1. Zakharova S.V., Sokolova O.YU., Vlasova N.L., Skvortsova V.A., Skvortsov A.O. Osobennosti vneshneekonomicheskikh svyazei Rossii so stranami Afriki [Features of Russia's foreign economic relations with African countries] *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedenii. Povolzhskii region. Obshchestvennye nauki*, 2021, no. 1 (57), pp. 103-114. (In Russian)
2. Belyaev S.A. Vneshnyaya trgovlya Rossii so stranami afrikanskogo kontinenta na fone razvitiya strukturnogo krizisa [Russia's foreign trade with the countries of the African continent against the backdrop of a developing structural crisis] *Azimut nauchnykh issledovaniy: ekonomika i upravlenie*, 2020, T. 9, no. 1 (30), pp. 65-67. (In Russian)
3. Yurlov F.N. Rossiya i Indiya v menyayushchemsya global'nom mire [Russia and India in a changing global world] *Gumanitarnye issledovaniya Tsentral'noi Rossii*, 2019, no. 1 (10), pp. 36-45. (In Russian)
4. Nurieva A.R., Gibadullin M.Z., Zainutdinova D.I. Rossiiskaya imperiya i strany afrikanskogo kontinenta: ot pervykh kontaktov k regulyarnomu ekonomicheskomu vzaimodeistviyu [The Russian Empire and the countries of the African continent: from first contacts to regular economic interaction] *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Ekonomika*, 2021, no. 55, pp. 216-224. (In Russian)
5. Akarashov I.S. Rossiya - Indiya: neobkhodimo povyshat' uroven' doveriya [Russia - India: it is necessary to increase the level of trust] *Vestnik Rossiiskogo universiteta druzhby narodov. Seriya: Vseobshchaya istoriya*, 2017, V. 9, no. 3, pp. 222-233. (In Russian)
6. Garcia J.M., Kawakita K., Souza M.C., Miotto S.T.S. 2013. The genus *Crotalaria* L. (*Leguminosae*, *Faboideae*, *Crotalarieae*) in the upper Parana River floodplain, Brazil. *Revista Brasileira de Biociencias*, 2013, V. 11, no. (2), pp. 209-226.
7. Silaeva O.I. Khranenie kolleksii semyan mirovykh rastitel'nykh resursov v usloviyakh nizkikh polozhitel'nykh temperatur - otsenka, sostoyanie, perspektivy [Storing a collection of seeds of world plant resources in conditions of low positive temperatures - assessment, status, prospects] *Trudy po prikladnoi botanike, genetike i seleksii*, 2012, V. 169, pp. 230-239. (In Russian)

8. Puhalsky J.V., Vorob'ev N.I., Loskutov S.I., Glushakov R.I., Kosul'nikov Y.V., Yakubovskaya A.I., Nikiticheva G.V., Gorodnova L.A., Kozhemyakov A.P., Laktionov Y.V. Krotalyariya sitnikovaya (*Crotalaria juncea* L.): kharakteristika i perspektivy vozdeleyvaniya novoi bobovoi kul'tury v Rossii [*Crotalaria juncea* L.: characteristics and prospects for cultivating a new legume crop in Russia] *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya*, 2024, V. 59, no. 1, pp. 3-30. (In Russian).
9. Zakirova R.P., Asatova S.S., Safarova N.R., Tashpulatova F.SH. Izuchenie roststimuliruyushchei aktivnosti polisakharidov rastenii *Gleditsia triacanthos*, *Crotalaria alata* i *Crotalaria* sp. [Study of the growth-stimulating activity of polysaccharides from the plants *Gleditsia triacanthos*, *Crotalaria alata* and *Crotalaria* sp.] *Agrarnaya nauka*, 2020, no. 1, pp. 52-55. (In Russian)
10. Aref'ev A.N., Kuzina E.E., Kuzin E.N. Vliyanie prirodnykh tseolitov na vodouderzhivayushchuyu sposobnost' i rezhim vlazhnosti chernozema vyshchelochennogo [The influence of natural zeolites on the water-holding capacity and moisture regime of leached chernozem] *Niva Povolzh'ya*, 2016, no. 1(38), pp. 2-9. (In Russian)
11. Helali S.M., Nebli H., Kaddour R., Mahmoudi H., Lachaâl M., Ouerghi Z. Influence of nitrate-ammonium ratio on growth and nutrition of *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Soil*, 2010, V. 336, no. 1, pp. 65-74.
12. Masakapalli S.K., Kruger N.J., Ratcliffe R.G. The metabolic flux phenotype of heterotrophic *Arabidopsis* cells reveals a complex response to changes in nitrogen supply. *The Plant Journal*, 2013, V. 74, no. 4, pp. 569-582.