

DOI: <https://doi.org/10.61308/LLTC7314>

## **Влияние на факторите норма и форма на азотно торене върху акумулирането на нитрати в репички**

**Пламена Янкова<sup>1\*</sup>, Хриска Ботева<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Технически университет - Варна, Машинно-технологичен факултет, катедра „Растениевъдство“*

<sup>2</sup>*Институт по зеленчукови култури „Марица“ - Пловдив, Селскостопанска академия*

**E-mail\***: pl\_yankova@abv.bg

ORCID Пламена Янкова 0000-0002-5008-5378

ORCID Хриска Ботева 0009-0002-8840-1054

### **Резюме**

Експерименталната работа е изведена през периода 2021-2023 година на Карбонатен чернозем, в опитното поле на катедра “Растениевъдство” към Технически университет - Варна. Изследването е проведено с репички, сорт Селеста F1. Изпитани са четири нива на торене с 3, 6, 9 и 12 kg N/da при различни форми на азота – амониев сулфат, амониев нитрат, карбамид, калиев нитрат, калциев нитрат, натриев нитрат, внесени еднократно при подготовката на почвата преди сеитба на семената, в четири повторения с отчетна площ - 4 m<sup>2</sup>. Семената са засети в два периода: през пролетта 10-12 април, и през есента – 10-12 септември, при вегетационен период 30-35 дни.

Установено е, че с увеличаване нормата на торене с азот се повишава и съдържанието на нитрати в кореноплодите. При пролетното отглеждане на репичките най-високо е съдържанието на нитрати при торене с 12 kg N/da, внесен като натриев нитрат (1700 mg) и с калциев нитрат - 1650 mg/kg свежа маса. Съдържанието на нитрати в кореноплодите спрямо тези в контролния вариант се увеличава съответно с 3,8 и 3,6 пъти. При есенното отглеждане на репички, сорт Селеста F1 съдържанието на нитрати е по-високо, което се обяснява с по-неблагоприятните условия за хидролизата на карбамида, а също така и за нитрификацията на амониевия азот; с по-слабата осветеност на растенията, поради по-късия ден и по-големия брой облачни дни; с по-ниската температура на почвата и въздуха. Двухакторният дисперсионен анализ показва, че по-силно влияние върху натрупването на нитрати оказва формата на азота, като въздействието на производственото направление е по-слабо изразено.

**Ключови думи:** репички, азотно торене, азотни източници, нитрати

# Influence of the factors rate and form of nitrogen fertilization on the accumulation of nitrates in radishes

Plamena Yankova<sup>1\*</sup>, Hriska Boteva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Technical University - Varna, Faculty of Manufacturing Engineering and Technologies, Department Plant Production

<sup>2</sup>Maritsa Vegetable Crops Research Institute - Plovdiv, Agricultural Academy

**Corresponding author\***: pl\_yankova@abv.bg

ORCID Plamena Yankova 0000-0002-5008-5378

ORCID Hriska Boteva 0009-0002-8840-1054

**Citation:** Yankova, P., & Boteva, H. (2024). Influence of the factors rate and form of nitrogen fertilization on the accumulation of nitrates in radishes. *Bulgarian Journal of Soil Science Agrochemistry and Ecology*, 58(4), 3-11 (Bg).

## Abstract

The experiment was carried out in the period 2021-2023 on Calcic Chernozem soil, in the experimental field of the Department of Crop production of the Technical University of Varna. The study was carried out with radish, variety Celeste F1. Four levels of nitrogen fertilisation were tested with 3, 6, 9 and 12 kg N/da in different forms of nitrogen - ammonium sulphate, ammonium nitrate, urea, potassium nitrate, calcium nitrate, sodium nitrate, applied once during soil preparation before sowing, in four repetitions with a reporting area - 4 m<sup>2</sup>. The seeds were sown in two periods: in spring - 10 - 12 April, and in autumn - 10 - 12 September, with a vegetation period of 30 - 35 days.

It was found that the nitrate content of the root vegetables increased as the rate of nitrogen fertilisation increased. In spring radish, the highest nitrate content was observed after fertilisation with 12 kg N/da as sodium nitrate (1700 mg) and with calcium nitrate - 1650 mg/kg fresh weight. The nitrate content of the root crops increased by 3.8 and 3.6 times, respectively, compared to the control. In the autumn radish variety Selesta F1, the nitrate content was higher, which can be explained by the less favourable conditions for urea hydrolysis and also for nitrification of ammonium nitrogen, by the lower plant light due to the shorter day and the greater number of cloudy days, and by the lower soil and air temperature. The two-factor analysis of variance shows that the form of nitrogen has a stronger influence on nitrate accumulation, while the influence of the season of production is less pronounced.

**Key words:** radishes, nitrogen fertilization, nitrogen sources, nitrates

## Въведение

Храненето на растенията е един от важните фактори, определящи количеството и качеството на растителната продукция. Съдържанието на нитрати в зеленчуците е обект на задълбочени проучвания (Goncharuk, 1989; Pokrovskaya, 1989; Rankov, 1983). Mueller et al., (2012), определят ключовата роля на азота за продоволствената сигурност в световен мащаб. Автори изследват оптималните норми за торене и дати на внасяне на целия спектър на азотните торове - неорганични, органични, бързи или бавно освобождаващи се (Fageria & Baligar, 2005; Kováčik & Jančovič, 2001; Kováčik et al., 2016; Kováčik et al., 2021; Jin et al., 2019; Liu et al., 2019). Търси се баланс между внасянето на азот в почвата и нуждите на растенията, като същевременно се цели поддържане на почвеното плодородие и опазване на околната среда, при отглеждането на култури с висока хранителна стойност чрез икономически ефективен начин (Kováčik et al., 2021; Lassaletta et al., 2014; Zhang et al., 2015; Prasad & Shivay, 2016; Rodrigues et al., 2019).

Репичките са зеленчукова култура с кратък вегетационен период, която се отглежда, както на открити площи така и в оранжерийни условия. Поради краткия си вегетационен период и слабо развитата си коренова система, репичките се нуждаят от голямо количество леснодостъпни хранителни вещества от почвата и въпреки че потребността от хранителни вещества е сравнително ниска, нуждата от тях се определя като висока. Репичките принадлежат към зеленчуците, които се характеризират с висока склонност към натрупване на нитрати, което може да доведе до влошаване качеството на продукцията (Rožek, 2000). Сред факторите, определящи успешното отглеждане на този зеленчук, са азотът и нивото на прилаганото азотно хранене, което трябва да бъде насочено не само към количеството, но преди всичко и към качеството на добива (Kowalska et al., 2006, Wojciechowska & Siwek 2006; Chohura & Kołota, 2011). При отглеждането на репички трябва да се прилага балансираното торене

с азот, съобразено с хранителните нужди на културата, както и със съдържанието на азот в почвата. Kowalska et al. (2006) установяват, че върху натрупването на нитрати влияние оказва не само нормата на азота, но и формата на азотните торове. Авторите доказват, че азотът, внесен в нитратна форма води до повишаване съдържанието на нитрати в кореноплодите на репичките, в сравнение с амониевата и амидната форма (Chohura & Kołota, 2011; Michałojć 2001).

Актуалността на извършените изследвания се обуславя от токсичността на нитратите за здравето на човека и животните (Pokrovskaya, 1989; Rankov, 1991). Проучено е акумулирането на нитратите в продукцията на зеленчукови култури, в зависимост от биологичните особености на вида (сорта); почвено-климатичните условия и прилаганите агротехнични мероприятия, особено на азотното торене (Pokrovskaya, 1989; Rankov, 1991).

Целта на настоящото изследване е да се проучи ефектът на азотното торене върху акумулирането на нитрати в репички, сорт Селеста F1, отглеждани при ранно и късно полско производство.

## Материали и методи

В продължение на три години в учебно-опитното поле на катедра „Растениевъдство“ на Карбонатен чернозем е изведен полски опит с различни норми на азотно торене на репички, сорт Селеста F1. В проучването са използвани азотните торове -  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ;  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ ;  $\text{KNO}_3$ ;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ;  $\text{NaNO}_3$ .

Опитът е изведен при следните варианти:

1. Контрола – неторена
2. Торено с 3 kg  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
3. Торено с 3 kg  $\text{NH}_4\text{NO}_3$
4. Торено с 3 kg  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$
5. Торено с 3 kg  $\text{KNO}_3$
6. Торено с 3 kg  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$
7. Торено с 3 kg  $\text{NaNO}_3$
8. Торено с 6 kg  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
9. Торено с 6 kg  $\text{NH}_4\text{NO}_3$

10. Торено с 6 kg CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>
11. Торено с 6 kg KNO<sub>3</sub>
12. Торено с 6 kg Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>
13. Торено с 6 kg NaNO<sub>3</sub>
14. Торено с 9 kg (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
15. Торено с 9 kg NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>
16. Торено с 9 kg CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>
17. Торено с 9 kg KNO<sub>3</sub>
18. Торено с 9 kg Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>
19. Торено с 9 kg NaNO<sub>3</sub>
20. Торено с 12 kg (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
21. Торено с 12 kg NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>
22. Торено с 12 kg CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>
23. Торено с 12 kg KNO<sub>3</sub>
24. Торено с 12 kg Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>
25. Торено с 12 kg NaNO<sub>3</sub>

\* торовите норми са на декар

Азотните торове са внесени еднократно при подготовката на почвата, преди сеитба на семената. Опитът е изведен в четири повторения с отчетна площ - 4 m<sup>2</sup>. Семената са засяти през пролетта 10-12 април и през есента – 10-12 септември, като продължителността на вегетационния период е 30-35 дни.

Агрехимичните анализи на почвата са извършени в лабораторията по почвознание на ТУ – Варна по следните методи:

Съдържанието на амониев азот (NH<sub>4</sub>-N) е определен фотометрично с индофенолово синьо в резултат екстракция с разтвор на калциев дихлорид (CaCl<sub>2</sub>) (Tomov et al., 1999; Ruseva, 2011).

Нитратният азот (NO<sub>3</sub>-N) е определен фотометрично с Nitrospectral в резултат екстракция с разтвор на калциев дихлорид (CaCl<sub>2</sub>) (Tomov et al., 1999; Ruseva, 2011).

Съдържанието на фосфор и калий е определено по двойно-лактатен метод на Егнер-Рийм (Tomov et al., 1999; Ruseva, 2011).

Стойностите на почвената реакция са измерени потенциометрично с рН-метър, съгласно изискванията на методиката за измерване рН на почва по международния стандарт ISO 10390.

От проведените анализи преди залагане на опита се отчита добра запасеност с усвоим калий.

Отчетено е съдържание на калий в почвения слой 0-20 cm от 32,5 mg/100 g почва и 20-40 cm от 27,86 mg/100 g почва. Установена е и добра запасеност по отношение на подвижните фосфати. Съдържанието на общ азот е слабо. Почвената реакция е неутрална (таблица 1).

Съдържанието на нитрати в кореноплодите е определено по БДС EN 12014-2:2018 Хранителни продукти. Определяне съдържанието на нитрати и/или нитрити. Част 2: HPLC/IC метод за определяне съдържанието на нитрати в зеленчуци и зеленчукови продукти е приложим за анализ на зеленчуци и зеленчукови продукти и е потвърден за съдържание на нитрати в обхвата от 50 mg/kg до 3 000 mg/kg.

На получените резултати е извършен регресионен анализ и е определено влиянието на проучените фактори. Резултатите за трите години са осреднени. Използван е програмен продукт SPSS 16 for Windows за статистическия анализ.

#### **Характеристика на използвания сорт:**

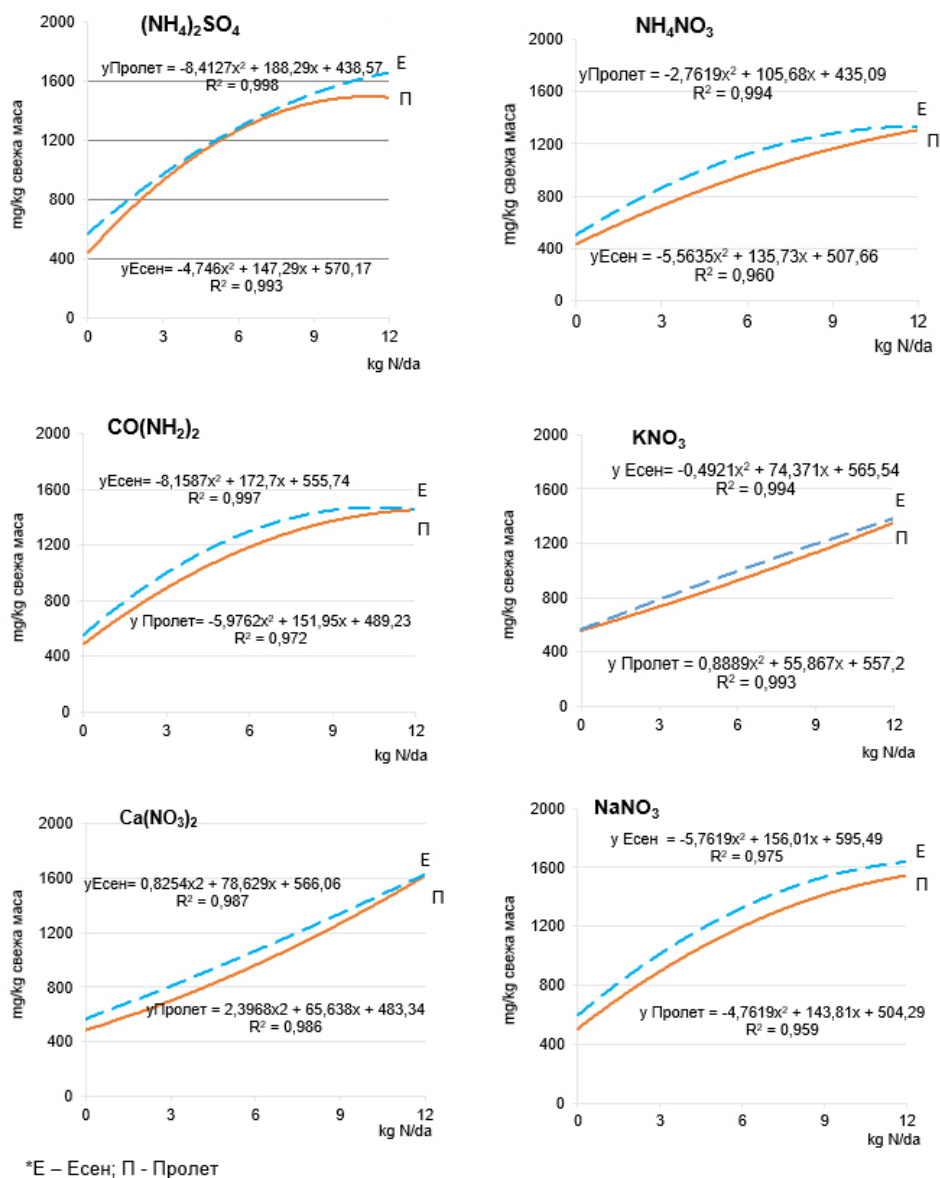
Сорт Селеста F1 - Листната розетка е къса, изправена, много здрава. Формира едра, кръгла кореноплодна част, изцяло червено оцветена с фина и крехка консистенция. Много устойчива на напукване при студено и влажно време и при високи температури през лятото. Подходящ за производство в оранжерийни и полски условия. С висока толерантност на брашнеста мана. Кореноплодът запазва свежия си вид при кратко съхранение и транспорт.

#### **Резултати и дискусия**

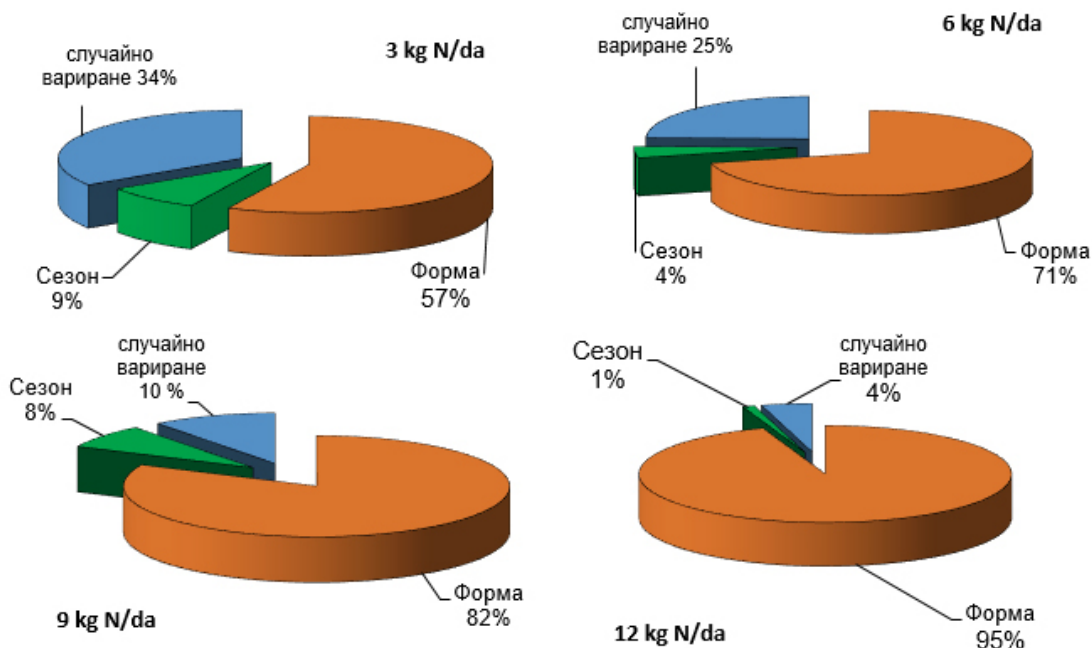
С увеличаване нормата на торене с азот се повишава и съдържанието на нитрати в кореноплодите (фиг. 1). Влиянието на включените в проучването азотни торове в тази насока е различно. При пролетното отглеждане на репичките най-високо е съдържанието на нитрати след торене с 12 kg N/da, внесен като натриев нитрат (1700 mg), следван от варианта с калциев нитрат - 1650 mg/kg свежа маса. Съдържанието на нитрати в кореноплодите спрямо тези в контролния вариант се увеличава съответно 3,8 и 3,6 пъти. Тези резултати

**Таблица 1.** Агрохимични показатели на почвата средно за периода на изследване  
**Table 1.** Agrochemical parameters of the soil averaged over the study period

Дълбочина, Depth, cm	pH H <sub>2</sub> O	NH <sub>4</sub> -N, mg/kg	NO <sub>3</sub> -N, mg/kg	Минерален Mineral N, mg/kg	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , mg/100g	K <sub>2</sub> O, mg/100g
0-20	6,5	3,52	10,89	14,41	30,50	32,50
20-40	7,0	3,02	25,53	28,53	28,62	27,86



**Фиг. 1.** Съдържание на нитрати в кореноплодите  
**Fig. 1.** Nitrate content in root crops



**Фиг. 2.** Влияние на формата на азота и сезона върху съдържанието на нитрати в кореноплодите  
**Fig. 2.** Influence of nitrogen form and season on nitrate content in root crops

корелират с получените и от други автори, доказващи, че азотът внесен в нитратна форма води до повишаване съдържанието на нитрати в кореноплодите на репичките, в сравнение с амониевата и амидната форма (Chohura & Kołota, 2011; Michałojć 2001).

След торене със същата норма азот внесена под формата на карбамид и амониев сулфат е отчетено съдържание на нитрати в кореноплодите съответно – 1490 mg/kg свежа маса (карбамид) и 1480 mg/kg свежа маса кореноплоди (амониев сулфат). Увеличението спрямо контролата е с 3,3 пъти и за двата варианта. Най-ниско е нитратното съдържание в кореноплодите след торене с амониев нитрат – 1288 mg/kg свежа маса.

Регресионните зависимости между натрупването на нитрати в кореноплодите на репичките и срока на засяване на растенията са с полиномиален характер. Коефициентите на детерминация са високи при всички варианти ( $R^2=0,99$ ). Резултатите показват силна взаимовръзка между двата фактора. Стойностите на тези коефициенти ни позволяват да прогнозираме, че

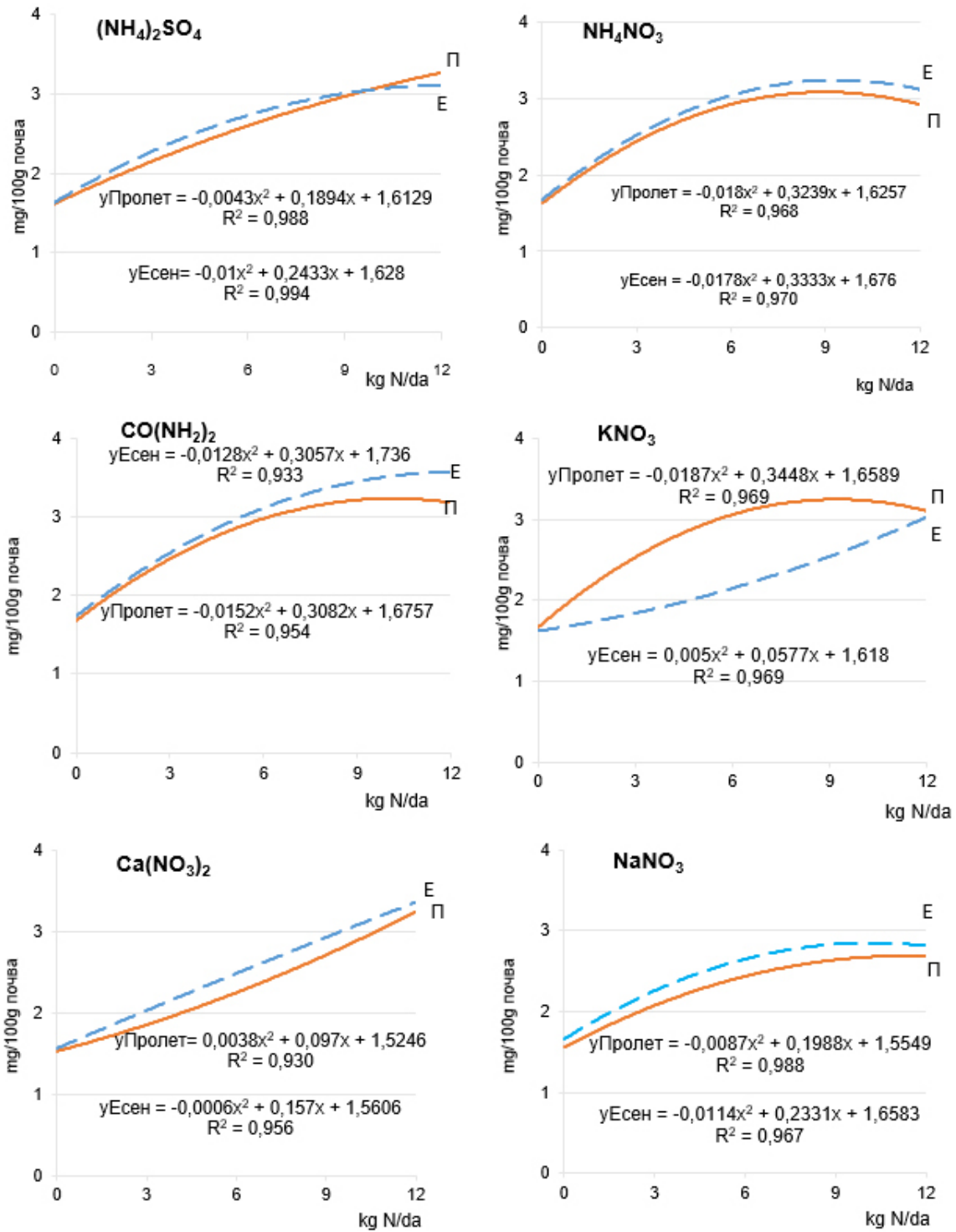
установените изменения върху акумулирането на нитрати в кореноплодите на репичките ще следва посочената тенденция в приблизително 96-99% от случаите.

Възприетата ПДК за нитрати в репичките (1200 mg/kg свежа маса) се надвишава при торене с 6 kg N/da след използване на амониев сулфат и карбамид. При торене с амониев нитрат ПДК се надвишава при норма от 9 kg N/da, а с калиев нитрат – след 12 kg N/da.

Резултатите от пролетното и есенното засаждане са еднопосочни, но съдържанието на нитрати в кореноплодите през есента е по-високо. Това е по-силно изразено след торене с карбамид, амониев сулфат и амониев нитрат.

Известно е, че хидролизата на карбамида до амоняк и нитрификацията на амониевия азот зависят от биохимичните особености, температурата и влажността на почвата. С това може да се обясни бавното протичане на тези процеси през есента.

Интензивността и продължителността на осветеност също оказват силно влияние върху нитратното съдържание в растенията, тъй като



\*Е – Есен; П - Пролет

**Фиг. 3.** Съдържание на минерален N в почвата /NH<sub>4</sub>-N + NO<sub>3</sub>-N/ - mg/100g почва  
**Fig. 3.** Soil mineral N content /NH<sub>4</sub>-N + NO<sub>3</sub>-N/ - mg/100g soil

редуцирането на нитратите до аминокрупи е енергиен процес. Светлинният фактор влияе върху нитратредуктазата. Температурата и влажността на въздуха влияят върху натрупването на нитрати в растенията чрез изменение интензивността на транспирацията и поглъщането им от почвата. Понижението на температурата на въздуха през есента намалява съдържанието на белтъчния азот, но се повишават нитратите и нитритите. Установено е също, че ефектът от понижението на температурата се засилва в дъждовно време, поради намаляване интензивността на осветеност.

Проучванията у нас и чужбина при торене с натриев нитрат на репички не показват положителни резултати. Развитието на растенията се влошава, получава се нисък добив със силно влошаване на качеството на продукцията. С това се обясняват и резултатите за по-високото нитратно съдържание в кореноплодите на репичките.

Двуфакторният дисперсионен анализ показва, че най-силно влияние върху натрупването на нитрати оказва формата на азота и при четирите норми на торене (фиг. 2).

Забелязва се тенденция с увеличаване на количеството на азот се засилва и влиянието на формата на азот. При торене с 12 kg/da формата на азот оказва най-голямо влияние – 95 %, следван от варианта с 9 kg/da – 82 %. По-слабо е влиянието на производственото направление.

Агрохимичният анализ за съдържание на минерален азот ( $\text{NH}_4 - \text{N} + \text{NO}_3 - \text{N}$ ) в почвата допълва интерпретацията на разгледаните резултати. С увеличаване количеството на внесения азот съдържанието на минералния азот нараства (фиг. 3). Това е най-добре изразено след торене с карбамид, амониев нитрат и амониев сулфат, по-добре изразено през есента. Значително се увеличава делът и на амониевия азот спрямо общото количество на минералния азот. Това също е по-добре изразено в опита, изведен през есента. Този резултат потвърждава изтъкнатите обстоятелства за влиянието на разгледаните фактори върху хидролизата на карбамида и неговата нитрификация.

## Изводи

1. С увеличаване нормата на торене с карбамид, амониев сулфат и натриев нитрат нараства и съдържанието на нитрати (съответно 1 496 mg/kg, 1 480 mg/kg и 1 700 mg/kg) в кореноплодите на репички, сорт Селеста F1.

2. При есенното отглеждане на репички, сорт Селеста F1 съдържанието на нитрати е по-високо, което се обяснява с по-неблагоприятните условия за хидролиза на карбамида, а също така и нитрификацията на амониевия азот, с по-слабата осветеност на растенията поради по-късия ден и по-големия брой облачни дни, с по-ниската температура на почвата и въздуха.

3. Двуфакторният дисперсионен анализ показва, че по-силно влияние върху натрупването на нитрати оказва формата на азота, въздействието на производственото направление е по-слабо изразено.

## Литература

**BDS EN 12014-2:2018.** Foodstuffs - Determination of nitrate and/or nitrite content - Part 2: HPLC/IC method for the determination of nitrate content of vegetables and vegetable products

**BDS EN ISO 10390:2022.** Soil, treated biowaste and sludge - Determination of pH.

**Chohura, P., & Kolota, E.** (2011). The effect of nitrogen fertilization on radish yielding. *Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus*, 10(1), 23-30.

**Fageria, N.K., & Baligar, V.C.** (2005). Enhancing nitrogen use efficiency in crop plants. *Advances in Agronomy*, 88, 97-185, doi: 10.1016/S0065-2113(05)88004-6.

**Goncharuk, E. I.** (1989). Chemicalization of Agriculture, *Journal of the Kiev Medical Institute*, 1, 53-54 (Ru).

**Jin, Z., Chen, C., Chen, X., Jiang, F., Hopkins, I., Zhang, X., Han, Z., Billy, G., & Benavides, J.** (2019). Soil acidity, available phosphorus content, and optimal biochar and nitrogen fertilizer application rates: A five-year field trial in upland red soil, China. *Field Crops Research*, 232, 77-87, doi: 10.1016/j.fcr.2018.12.013.

**Kováčik, P., & Jančovič, J.** (2001). Deficiency symptoms of nitrogen, phosphorus, potassium and sulphur in radish plants. *Acta fytotechnica et zootechnica*, 4(2), 38-42.

**Kováčik, P., Žofajová, A., Šimanský, V., & Halászová, K.** (2016). Spring barley yield parameters after lignite, sodium humate and nitrogen utilization. *Agriculture (Pol'nohospodarstvo)*, 62(3), 80-89, doi: 10.1515/agri-



2016–0009.

**Kováčik, P., Wiśniowska-Kielian, B., Smoleń, S., Škarpa, P., Olšovská, K., & Urmínská, J.** (2021). Dependence of quantitative and qualitative parameters of radish yield on contents of ammonium and nitrate nitrogen in soil substrate. *Journal of Ecological Engineering*, 22(5).

**Kowalska, I., Sady, W., & Szura, A.** (2006). Wpływ formy azotu nawozowego, dokarmiana dolistnego i miejsca uprawy na plonowanie i jakość sałaty. *Acta Agrophysica* 7(3), 619-631.

**Lassaletta, L., Billen, G., Grizzetti, B., Anglade, J., & Garnier, J.** (2014). 50 year trends in nitrogen use efficiency of world cropping systems: the relationship between yield and nitrogen input to cropland. *Environmental Research Letters*, 9(10), 105011, doi: 10.1088/1748–9326/9/10/105011.

**Liu, Q., Ma, H., Lin, X., Zhou X., & Zhao Q.** (2019). Effects of different types of fertilizers application on rice grain quality. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 79(2), 202-209, doi: 10.4067/ S0718–58392019000200202.

**Michalójć, Z.** (2001). *Wpływ nawożenia azotem i potasem oraz terminu uprawy na plonowanie i skład chemiczny sałaty, rzodkiewki oraz szpinaku*. Rozpr. Nauk. AR 238, Lublin.

**Mueller, N.D., Gerber, J.S., Johnston, M., Ray, D.K., Ramankutty, N., & Foley, J.A.** (2012). Closing yield gaps through nutrient and water management. *Nature*, 490, 25-257, doi: 10.1038/nature11420.

**Pokrovskaya, S. F.** (1989). *Ways to reduce nitrate in vegetables /Overview/*, Agroiinform SZV. M. (Ru).

**Prasad, R., & Shivay Y. S.** (2016). Deep placement and foliar fertilization of nitrogen for increased use efficiency – An overview. *Indian Journal of Agronomy*, 61(4), 420–424.

**Rankov, V.** (1983). *Fertilization of vegetable crops under conditions of intensive agriculture*, Ed. Hr. Danov, Plovdiv (Bg).

**Rankov, V., Kanazirska, V., & Vancheva, V.** (1991). *Arrangements for the regulation of nitrate content in vegetable production. Review*. CA, Sofia (Bg).

**Rodrigues, M.Â., Coelho, V., Arrobas M., Gouveia, E., Raimundo, S., Correia C.M., & Bento, A.** (2019). The effect of nitrogen fertilization on the incidence of olive fruit fly, olive leaf spot and olive anthracnose in two olive cultivars grown in rainfed conditions. *Scientia Horticulturae*, 256, 108658, doi: 10.1016/j. scienta.2019.108658 77.

**Rozek, S.** (2000). Czynniki wpływające na akumulację azotanów w plonie warzyw. Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej w Krakowie. *Sesja Naukowa*, 71, 19-31.

**Ruseva, N.** (2011). *Agrochemistry*. 2011. Academic Publishing House of Technical University – Varna (Bg).

**Tomov, T., Rachovski, G. T., Kostadinova, Sv., & Manolov, Iv.** (1999). *Exercise manual in agrochemistry*, Academic Publishing House of the University of Science and Technology, Plovdiv.

**Wojciechowska, R., & Siwek, P.** (2006). The effect of shading on nitrate metabolism in stalks and blades of celery

leaves (*Apium graveolens* L. var. dulce). *Folia Horti.*, *Ann.* 18(2), 25-35.

**Zhang, X., Davidson, E., Mauzerall, D., Searchinger, T., Dumas, P., & Shen, Y.** (2015). Managing nitrogen for sustainable development. *Nature*, 528, 51-59, doi: 10.1038/nature15743.

**Received:** 29th September 2024, **Approved:** 7th October 2024, **Published:** December 2024