Почвознание агрохимия и екология, 59, 4/2025
Bulgarian Journal of Soil Science Agrochemistry and Ecology, 59, 4/2025

DOI: https://doi.org/10.61308/PPUV3200

Проучване влиянието на биопродукти върху растежа, добива, минералния и химичния състав на ориенталски тютюн

Радка Божинова*, Йовко Дюлгерски

Институт по тютюна и тютюневите изделия - с. Марково, област Пловдив, Селскостопанска академия
E-mail*: rbojinova@yahoo.com

Резюме

Използването на биопродукти е подходяща алтернатива за безопасно производство на храни и здравословна околна среда, вместо внасянето на химически торове. Целта на това проучване беше да се оцени ефекта на биопродукти с различен състав (микробиален инокулант Mycoplant®, протеинов хидролизат Trainer® и растително масло третирано с озон Ozogea Strengthening®) върху растежа, добива, минералния и химичния състав на ориенталски тютюн. Изследването е проведено през 2022 г. в Институт по тютюна и тютюневите изделия, Марково при условия на полски експеримент. Опитът е заложен по блоков метод, в три повторения.

Растителното масло третирано с озон Ozogea Strengthening е без значим ефект върху растежните показатели и минералния състав на разсад от ориенталски тютюн.

Комбинираният NPK тор и биопродуктите Mycoplant и Trainer имат положително влияние върху растежа на тютюна, добива и концентрацията на макро- и микроелементи в листата. Растителното масло Ozogea Strengthening има слаб ефект върху тези показатели. Комбинираният NPK тор повишава доказано добива на сух тютюн – с 19,3% спрямо контролата. Повишението на добива от биопродуктите е с 2,9%-10%, статистически доказано при вариантите с Trainer в доза 800 ml/da и Mycoplant. Микробиалният инокулант увеличава доказано спрямо контролата съдържанието на P, K, Ca, Fe и Cu в листата на ориенталския тютюн, а протеиновият хидролизат (800 ml/da) - на N и Ca. Съотношението разтворими въглехидрати/никотин е по-добро при вариантите с NPK тор и с биопродуктите в сравнение с контролата.

Ключови думи: тютюн, протеинов хидролизат, микробиален инокулант, озонирано масло, растеж, добив, макроелементи, микроелементи, химичен състав

Investigation on the impact of bioproducts on growth, yield, mineral and chemical composition of oriental tobacco

Radka Bozhinova*, Yovko Dyulgerski

Tobacco and Tobacco Products Institute - Markovo, Agricultural Academy
Corresponding author*: rbojinova@yahoo.com

Citation: Bozhinova, R., & Dyulgerski, Y. (2025). Investigation on the impact of bioproducts on growth, yield, mineral and chemical composition of oriental tobacco. *Bulgarian Journal of Soil Science Agrochemistry and Ecology, 59*(4), 16-30 (Bg).

Abstract

The use of bioproducts is a suitable alternative for safe food production and healthy environment, instead of the use of chemical fertilizers. The aim of the study was to investigate the effects of bioproducts with different composition (microbial inoculant Mycoplant®, protein hydrolysate (PH) Trainer® and vegetable oil treated with ozone Ozogea Strengthening®) on the growth, yield, mineral and chemical composition of oriental tobacco. The field experiment was conducted in 2022 at Tobacco and Tobacco Products Institute, Markovo. The experimental design was a randomized complete block replicated three times.

The vegetable oil treated with ozone had no a significant effect on the growth parameters and mineral composition of tobacco seedlings.

The compound NPK fertilizer and bioproducts Mycoplant and Trainer had a positive effect on tobacco growth, yield and concentration of macro- and micronutrients in the leaves. The ozonated oil had a weak impact these indicators. The NPK fertilizer significantly increased the yield of tobacco compared to the control (+19.3%). The bioproducts improved tobacco yield by 2.9% to 10% in comparison with untreated plants. The application of PH Trainer (800 ml/da) and Mycoplant significantly increased the yield of sun-cured leaves compared to the control. The microbial inoculant significantly increased the concentrations of P, K, Ca, Fe, and Cu in leaves. Concentrations of N and Ca were significantly higher than the control when protein hydrolysate (800 ml/da) was applied. The reducing sugars/nicotine ratio was better in tobacco from treatments with NPK fertilizer and bioproducts compared to non-treated control.

Key words: tobacco, protein hydrolysate, microbial inoculant, ozonated oil, growth, yield, macronutrients, micronutrients, chemical constituents

Въведение

Ефектът на торенето върху добива и качеството на ориенталския тютюн зависи от редица фактори – от вида и нормата на торене, сортовите особености, почвено-климатичните условия и прилаганата агротехника. Използването на органични, неорганични и биологични източници на хранителни вещества може да бъде полезен инструмент за оптимизиране на растежа, продуктивността и химичния състав на тютюна. Минералното торене има голяма роля за формиране на добива от тютюна и неговото качество. Влиянието на ниските азотни норми върху качеството е положително, докато завишаването на торовия азот рязко понижава качествените характеристики на суровината от ориенталския тютюн (Yancheva, 1990). Биоторовете са обещаващ компонент на интегрирана система за осигуряване на хранителни елементи за растенията. Те са средство за увеличаване на плодородието на почвата, добивите и качеството на продукцията в условия на устойчиво земеделие (Chaudhary et al., 2022). Повишава се интересът към микробиални препарати, съдържащи арбускуларни микоризни гъби (АМГ). АМГ са повсеместно разпространени почвени микроорганизми, които могат да формират симбиотични асоциации с корените на повече от 90% от сухоземните растения (Mitra et al., 2021). Считат се за естествени биоторове, тъй като осигуряват на гостоприемника вода, хранителни вещества и защита от патогени в замяна на фотосинтетични продукти (Berruti et al., 2016). В литературата са описани редица благоприятни ефекти от използването им при голям брой култури, в т.ч. и при тютюна. Инокулацията с АМГ има положителен ефект върху височината, теглото на биомасата и съдържанието на хлорофил и каротеноиди в тютюна (Begum et al., 2020; Begum et al., 2021). Тютюневи растения, инокулирани с АМ гъби и бактерията *Bacillus methylotrophicus*, показват по-висока устойчивост на засушаване, свързано със значително подобрение в растежа и натрупването на биомаса (Begum et al., 2022). Yang et al. (2025) заключават, че нарастването на стойностите на растежните показатели при тютюн Виржиния (височина на растението, дължина на корена, площ на листата, диаметър на стъблото и биомасата) зависи от вида на АМГ.

Използването на богати на протеини източници за хидролиза на протеини и използването на тези хидролизати като биостимуланти в растениевъдството се увеличава (Paskоvić et al., 2024). Тези смеси се произвеждат главно чрез химическа и ензимна хидролиза от богати на протеини странични продукти от животински и растителен произход, или от водорасли. Прилагането на протеинови хидролизати подобрява растежа и увеличава производителността на земеделските култури, както и устойчивостта им на абиотичен стрес. Ciriello et al. (2025) свързват увеличението на добива от ягоди третирани с протеиновия хидролизат Trainer с подобрения хранителен статус на растенията (повишаване на NO_3^-, Mg^{2+} и Ca^{2+} в листата). Според Colla et al. (2015) нарасналото усвояване на хранителни елементи от растенията третирани с протеинови хидролизати се дължи на повишение на микробната и ензимните активности в почвата, на подобрената мобилност и разтворимост на микроелементите, по-специално на Fe, Zn, Mn и Cu, на модификации в кореновата архитектура (дължината на корена, плътността и броя на страничните корени) и на повишаване на нитрат редуктазната, глутамин синтетазната и Fe(III)-хелат редуктазната активност. Протеиновият хидролизат Trainer има положително въздействие върху разсад от ориенталски тютюн - повишава свежото и сухото тегло на растенията и концентрацията на азота в биомасата (Bozhinova, 2022). Ползите от протеиновите хидролизати зависят от редица фактори като растителен вид и сорт, условия на околната среда, време и начин на приложение (листно или кореново), от анатомията на листата и др. (Colla et al., 2015).

Ниските концентрации на озон могат да действат като стимулатор на растенията чрез задействане на защитните им механизми и

биосинтезата на биоактивни съединения, фитохимикали и фитохормони (Agathokleous et al., 2019). Съцветията на третирани с озон броколи са обогатени с витамин Е, а при китайското зеле се наблюдава повишено съдържание на антоцианини и β-каротин (Rozpądek et al., 2015). Авторите докладват, че третирането с озон не е повлияло значително върху продуктивността на двата зеленчука. Озонираната вода, приложена в подходящи концентрации, може да подобри растежа на доматите и качеството на плодовете (Tahamolkonan et al., 2022). Активността на антиоксидантните ензими в листата на доматите се повишава значително, а съдържанието на малонов диалдехид се понижава при поливане или листно третиране с озонирана вода, което показва, че озонирана вода има потенциал да подобри толерантността на доматените растения към стрес (Xu et al., 2021). Същите автори установяват по-голям ефект от напояването с озонирана вода върху физиологичните характеристики на доматените растения в сравнение с листното пръскане. Листното пръскане с озонирана вода подобрява растежа на пипера (Sharaf-Eldin et al., 2022). Najarian et al. (2018) съобщават за положително влияние на озонираната вода върху усвояването на хранителни елементи от краставични растения, което влияе върху добива. От друга страна, Díaz-López et al. (2015) докладват, че третирането с озон не е повлияло върху добива и качеството на доматите. Вредното въздействие на озона (O_3) върху развитието на растенията и тяхната продуктивност е проучено обстойно. Положителното влияние на ниските му концентрации подлежи на бъдещи изследвания (Sharaf-Eldin et al., 2022).

De Pascale et al. (2017) подчертават, че са необходими проучвания за определяне на оптималната доза на биостимулантите, времето и метода на тяхното приложение при различни земеделски култури и условия на околната среда. Сравнително малко е информацията за ефекта на биопродукти с различен състав и произход върху растежа, продуктивността и качеството на ориенталския тютюн.

Целта на настоящето проучване беше да се изследва влиянието на биопродукти с различен състав (a) при производството на разсад от ориенталски тютюн и (b) върху растежа, минералния състав, стопанския добив и химичната характеристика на ориенталски тютюн.

Материали и методи

За проследяване влиянието на биопродуктите Mycoplant®, Trainer® и Ozogea Strengthening® върху ориенталски тютюн (сорт Крумовград 58) през 2022 г. е изведен полски опит върху Хумусно-карбонатна почва (Rendzic Leptosol).

Търговският микробиален продукт Mycoplant® е източник на арбускуларни микоризни гъби (*Glomus intraradices*). Протеиновият хидролизат Trainer® е произведен чрез ензимна хидролиза на протеини, получени от семена на бобови растения. Съдържа предимно пептиди и аминокиселини и в по-малка степен разтворими въглехидрати, минерални елементи и фенолни съединения. Растителното масло Ozogea Strengthening® съдържа маслиново и слънчогледово олио третирано с озон.

I. Проучване ефекта на растителното масло Ozogea Strengthening върху разсад от ориенталски тютюн

Производството на разсад е извършено в три варианта, в три повторения:

1. Торене с оборски тор;

2. Торене с оборски тор+минерален азотен тор (конвенционално отглеждане);

3. Торене с оборски тор+растително масло третирано с озон (Ozogea Strengthening).

Непосредствено след сеитбата на семената (м. март), лехите от всички варианти са покрити с оборски тор. Третирането на растенията с растителното масло Ozogea Strengthening (1% разтвор) е проведено през две фази от развитието на разсада - „уши“ и „готов разсад“. При вариант 2 преди сеитбата е внесен минерален азотен тор (амониева селитра) - 20 g/m^2, а по време на разсадния период е извършено двукратно подхранване с 15 g/m^2 амониева селитра.

Почвата, върху която е отгледан разсадът е

с умерено алкална реакция. Съдържанието на минерален азот (определен чрез дестилация и редукция на нитратите) е ниско, а запасеността на почвата с подвижен фосфор (по Олсен), калий (в 2N HCl), калций и магнезий (в извлек от 1N KCl) е висока (таблица 1).

Съдържанието на подвижно желязо в почвата е ниско (7,5 mg/kg). Според групирането на MAFF (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food) (Mitsios et al., 2005), запасеността с подвижните Mn (36,6 mg/kg), Zn (6,8 mg/kg) и Cu (7,1 mg/kg) е висока. Подвижните форми на микроелементите са определени в извлек с DTPA с pH 7,3 и отчитане на атомно-абсорбционен спектрометър.

По време на разсадния период са водени наблюдения по следните показатели - брой листа на растение, свежо и сухо тегло на растения във фаза „готов разсад“. През същата фаза е определено съдържанието на хранителни елементи в надземната биомаса.

II. Проучване реакцията на ориенталски тютюн към биопродуктите Mycoplant, Trainer и Ozogea Strengthening чрез основни растежни, химични и стопански показатели

Изведен е полски опит за установяване на ефективността на някои биопродукти при отглеждане на ориенталски тютюн и възможностите за приложението им в практиката. Схемата на опита включва вариантите:

Т1 – Неторена контрола;

Т2 – Торене с комбиниран тор NPK (15:15:15);

Т3 – Внасяне в почвата на микробиален продукт Mycoplant, съдържащ арбускуларни микоризни гъби;

Т4 – Третиране на тютюна с протеинов хидролизат Trainer в доза 400 ml/da;

Т5 – Третиране на тютюна с протеинов хидролизат Trainer в доза 800 ml/da;

Т6 – Третиране на тютюна с растително масло третирано с озон (Ozogea Strengthening).

Ориенталският тютюн е разсаден през м. май. Експериментът е заложен по блоков метод, в три повторения. Третирането на растенията с протеиновия хидролизат Trainer (400 ml/da и 800 ml/da) и с 1% разтвор на растителното масло Ozogea Strengthening е проведено през четвъртата и през шестата седмица след разсаждането. Микробиалният инокулант Mycoplant (0,6% разтвор) е внесен през м. юни, по 20 ml разтвор за едно растение, на дълбочината на кореновата система. Комбинираният тор NPK (20 kg/da) е приложен еднократно преди първото окопаване. Останалите агротехнически и растително защитни мероприятия са проведени съгласно възприетата технология за сортова група Басми.

Реакцията на почвата е алкална – $pH_{(H2O)}$ е 7,96. Съдържанието на минерален азот и на подвижен фосфор е ниско, на подвижния магнезий е средно, а на подвижните калий и калций е високо (таблица 2). По отношение на подвижните форми на микроелементите, почвата е с високо съдържание на цинк и мед, средно запасена с манган и слабо запасена с желязо.

Снети са биометрични данни: височина и брой листа на растение (във фаза масов цъфтеж на тютюна); размери на технически зрели листа от различни беритбени пояси. Произведението на отчетените дължини и ширини е умножено по коригиращ коефициент (0,66) за изчисляване на листната площ.

Листа от среден беритбен пояс, в технологична зрялост, са анализирани за определяне концентрацията на N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn и Cu. Общото съдържание на азот е определено по Келдал. Подготовката на растителните проби за определяне на останалите макро- и микроелементи е извършена чрез сухо изгаряне и разтваряне в 3M HCl. Фосфорът е определен по молибдат-ванадатния метод. За определяне съдържанието на останалите елементи е използван атомно-абсорбционен спектрометър „SpectrAA 220“ (Varian).

Отчетен е добивът сух тютюн от декар, kg.

Статистическият пакет PSPP for Windows е използван за обработката на експерименталните данни. Приложен е вариационен анализ и тест за многопосочно сравняване на резултатите по Duncan при ниво на вероятност 0,05.

Резултати и обсъждане

Проучване ефекта на растителното масло Ozogea Strengthening върху разсад от ориенталски тютюн

Торенето и подхранването на тютюневите лехи е съществено условие за получаване на добри резултати при производството на разсад (Donev and Milyanchev, 1974; Bozhinova, 2022).

Влиянието на изпитваните варианти върху броя на листата е статистически недоказано, което е в синхрон със слабото вариране на този показател (таблица 3). По-отчетлив е ефектът им върху теглото на разсада (таблица 3). С доказано най-високо свежо тегло се отличават растенията, отгледани по конвенционалната технология (вариант 2). Не се установи достоверна разлика по този показател между варианта със самостоятелно внасяне на оборски тор и този с приложение на оборски тор+растително масло Ozogea Strengthening. Подобен е ходът на натрупаната суха маса. Минералното торене допринася за значимо увеличаване количеството на сухата биомаса. Вариантът с Ozogea, по ефект върху сухата маса, не се различава съществено от самостоятелното приложение на оборски тор. Различни са резултатите, докладвани от Colunje et al. (2021), според които снабдяването на растения от пипер с озон чрез фертигация увеличава количеството на биомасата, което авторите свързват с по-високото усвояване на N и K от растенията.

Изменчивостта на свежото и сухото тегло на разсада от торенето (CV е 12,1% - 16%) е по-силно от варирането на броя на листата, където CV е 3,1%.

Влиянието на торенето върху концентрацията на макроелементи в разсада е представено в таблица 4.

Концентрацията на азот в надземната биомаса на разсадните растения се диференцира значимо от торенето. Съдържанието на елемента е доказано най-високо при растенията, торени с оборски тор и амониева селитра (вариант 2). Разликите между растенията, торени само с оборски тор (вариант 1) и оборски тор+Ozogea (вариант 3) са несъществени. Сведенията за промените в концентрацията на хранителните елементи при различни култури в резултат от третирането с озон са разнопосочни. Според Xu et al. (2021) третирането с озонирана вода може значително да повиши съдържанието на азот в листата на доматите и насърчава експресията на гени, свързани със синтеза на хлорофил и гени, свързани с абсорбцията на азот, което е от полза за подобряване на фотосинтетичния капацитет и добива от домати. Ruiz-Espin et al. (2023) намират, че концентрацията на азот в листата на домати не показва зависимост от концентрацията на O_3 в хранителния разтвор, докато нарастването на озона в разтвора значително повишава съдържанието на P и K в листата. Между отделните варианти не се наблюдават значими различия по отношение на концентрацията на P и K в биомасата. Подобно е заключението направено от Najarian et al. (2018), които съобщават, че третирането с озонирана вода няма значим ефект върху концентрацията на P в краставични растения. Съдържанието на Ca в разсадните растения се повишава от торенето с амониева селитра (вариант 2). Mitreva and Apostolova (1986) съобщават също за нарастващи концентрации и нарастващо потребление на Ca с увеличаване нивото на азотно торене на растенията. Концентрацията на Mg в разсада се понижава от внасянето на минералния азотен тор. Това може да се припише на ефекта на разреждане от нарастващата биомаса при азотно торене.

Концентрацията на всички макроелементи в разсада варира слабо от торенето. Най-нисък е вариационният коефициент при калия, а най-висок е при магнезия.

Измерените концентрации на Fe и Cu в разсада от трите варианта са близки (таблица 5). Съдържанието на Mn и Zn е по-ниско при растенията, отгледани по традиционната технология, с минерално азотно торене (таблица 5), което е вероятен резултат от акумулирането на по-голямо количество биомаса и разреждането на елементите в нея. Според Najarian et al. (2018) съдържанието на Fe, Zn и Cu в краставични растения зависи от концентрацията на озона

във водата.

Проучване реакцията на ориенталски тютюн към биопродуктите Mycoplant, Trainer и Ozogea Strengthening чрез основни растежни, химични и стопански показатели

Влиянието на торенето върху височината на тютюна е силно (таблица 6). Растенията торени с NPK тор (Т2) са най-високи. Увеличението спрямо неторената контрола е с 13,6%. При третиране с биопродуктите Mycoplant (Т3), Trainer (Т4 и Т5) и Ozogea Strengthening (Т6) нарастването на височините спрямо контролата е по-малко, съответно с 6,1%, 4,8%, 6,8% и 2,5%. Най-слаб ефект върху този признак има растителното масло третирано с озон. Удвояването на дозата на протеиновия хидролизат Trainer (800 ml/da) повишава недоказано височината на растенията спрямо по-ниската (400 ml/da). Според Rouphael et al. (2017) протеиновите хидролизати, съдържащи аминокиселини, въглехидрати и пептиди, стимулиращи кореновите власинки, показват ауксин- и в някои случаи гиберелин подобна активност, като по този начин насърчават растежа на растенията. АМ гъби осигуряват основни неорганични хранителни вещества за растенията гостоприемници, като по този начин подобряват растежа им при различни условия на средата (Begum et al., 2019).

Броят на листата, макар статистически недоказано, е повлиян от изпитваните варианти (таблица 6). С най-голям брой листа са растенията, торени с комбиниран тор. Повишението при този вариант е със 7% спрямо неторената контрола. Изпитаните биопродукти увеличават формирания брой листа с 0,7%-3,5%, най-слабо при третиране с растителното масло. Положителен ефект на протеинови хидролизати и на микробиални продукти върху броя на листата при различни култури е установен от редица автори (Rouphael et al., 2017; Yari et al., 2019; Bonasia et al., 2021; Ciriello et al., 2025).

Статистически значим е ефектът от различните варианти върху площта на листата (таблица 6). Площта на листата от среден и горен беритбен пояс е най-голяма при торене с комбиниран тор. Увеличението на площта на средните листа (14-ти лист) от този вариант е с 27,6% спрямо неторената контрола, а на горните листа (21-ви лист) е с 38,6%. Изпитаните биопродукти имат по-слабо влияние върху този показател. Нарастването на площта от микробиалния продукт Mycoplant е със 7,8% при средните листа и с 10,9% при горните. Повишението на площта на средните и горните листа при третиране с Trainer (Т4 и Т5) е съответно с 9,5%-12,2% и с 14,1%-21% спрямо контролата, по-голямо от по-високата доза на протеиновия хидролизат. Ефектът на растителното масло върху площта на листата е малък и недоказан спрямо контролата, което не кореспондира с докладваното от Najarian et al. (2018) значимо увеличение на листната площ при краставици при прилагане на озонирана вода. Резултатите от конкретния опит са в унисон с установени тенденции за повишаване размерите на листата при различни култури при използването на микробиални продукти и протеинови хидролизати (Adeyemi et al., 2020; Bonasia et al., 2021; Choi et al., 2022).

Варирането на височината на тютюна и броя листа на растение е слабо, с ниски стойности на вариационните коефициенти. По-силно е варирането на площта на листата от торенето (CV е 8,8%-12,1%).

Концентрацията на хранителните елементи е показателна за нивото на хранене на растенията и е базата за използване при листната диагностика. Тя кореспондира с качеството на растителната продукция. В таблица 7 са посочени данни за концентрацията на макроелементи в листата от среден беритбен пояс на тютюна.

Съдържанието на азот в листата е свързано със съдържанието на никотин в суровината и зависи до голяма степен от сортовите особености и от приложеното торене (Yancheva et al., 2008). Концентрацията на азот в тютюна е от 1,68% до 2,06%, с най-ниска стойност при варианта без торене. Минералното торене повишава значимо азотното съдържание - с 22,6% спрямо контролния вариант. Статистически достоверно е увеличението и от протеиновия хидролизат Trainer, приложен в доза 800 ml/da (+13,7%).

Таблица 1. Агрохимична характеристика на почвата за разсадопроизводство
Table 1. Agrochemical characteristics of the soil for seedling production

Почва/Soil	$pH_{(H2O)}$	NH_4^++NO_3^- mg/kg	P_2O_5 mg/100g	K_2O mg/100g	Ca mg/100g	Mg mg/100g
Rendzic Leptosol	7,72	11,28	21,3	67,1	309,5	37,0

Таблица 2. Съдържание на подвижни форми на елементите в почвата
Table 2. Available nutrients in the soil

Почва/ Soil	NH_4^++NO_3^- mg/kg	P_2O_5	K_2O	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
		mg/100g				mg/kg			
Rendzic Leptosol	14,06	2,19	45,8	426,4	28,2	9,3	27,5	8,6	7,7

Таблица 3. Брой листа, свежо и сухо тегло на разсадни растения
Table 3. Number of leaves, fresh and dry weight of tobacco seedlings

Вариант/Treatment	Брой листа/Number of leaves per plant	Свежо тегло/Fresh weight, g per plant	Сухо тегло/Dry weight, g per plant
Оборски тор/ Manure	5,33a	8,20b	0,80b
Оборски тор+амониева селитра/ Manure+ ammonium nitrate	5,67a	10,19a	1,05a
Оборски тор+Ozogea Strengthening/ Manure +Ozogea Strengthening	5,47a	8,46b	0,81b
Средна/Mean±SD	5,49±0,549	8,95±2,66	0,89±0,338
CV %	3,11	12,09	15,96

* - Different letters within each column indicate that the means are significantly different (P<0.05)

Микробиалният инокулант, протеиновият хидролизат в доза 400 ml/da и растителното масло повишават съдържанието на азота в тютюна съответно с 6,5%, 8,3% и 2,4%, без съществени разлики с контролата. Установената концентрация на фосфора в технически зрелите листа варира от 0,12% до 0,18%. Значимо е увеличението на елемента при торене с комбиниран тор – с 50% спрямо контролата и при внасяне на микробиалния продукт Mycoplant (+33,3%). Концентрацията на калия в тютюна е от 1,19% до 1,67%. Съдържанието на K нараства доказано при варианта с NPK тор – с 35,8% спрямо нетретираната контрола и при третиране с Mycoplant (+14,6%). Минералното торене увеличава съдържанието и на калция в листата. Процентното увеличение спрямо контролата е с 24%. Доказано спрямо нетретираната контрола е увеличението на калция при варианта с Mycoplant – 11,3%, както и при внасяне на протеиновия хидролизат Trainer в доза 800 ml/da (+8,8%). Диференциацията по

Таблица 4. Концентрация на макроелементи в надземната биомаса на разсада
Table 4. Macronutrient concentrations in the aboveground biomass of tobacco seedlings

Вариант/Treatment	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)
Оборски тор/ Manure	3,33b	0,18a	5,05a	1,64b	0,26a
Оборски тор+амониева селитра/ Manure+ ammonium nitrate	3,54a	0,18a	5,10a	1,77a	0,24b
Оборски тор+Ozogea Strengthening/ Manure +Ozogea Strengthening	3,26b	0,17a	5,05a	1,66b	0,26a
Средна/ Mean±SD	3,37±0,143	0,18±0,012	5,07±0,093	1,69±0,076	0,25±0,014
CV %	4,32	3,27	0,57	4,14	4,56

* - Different letters within each column indicate that the means are significantly different (P<0.05)

Таблица 5. Концентрация на микроелементи в надземната биомаса на разсада
Table 5. Micronutrient concentrations in the aboveground biomass of tobacco seedlings

Вариант/Treatment	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Cu (mg/kg)
Оборски тор/ Manure	135,6a	32,4a	40,7a	8,3a
Оборски тор+амониева селитра/ Manure+ ammonium nitrate	140,4a	27,5c	35,2b	9,0a
Оборски тор+Ozogea Strengthening/ Manure +Ozogea Strengthening	138,3a	29,8b	42,1a	8,7a
Средна/Mean±SD	138,1±4,142	29,9±2,393	39,3±3,605	8,7±0,527
CV %	1,74	8,20	9,27	4,05

* - Different letters within each column indicate that the means are significantly different (P<0.05)

Таблица 6. Височина на тютюна, брой листа на растение и листна площ
Table 6. Plant height, number of leaves per plant and leaf area

Вариант/ Treatment	Височина/ Plant height, cm	Брой листа/Number of leaves per plant	Листна площ/Leaf area, cm^2	
			14 лист/14 leaf	21 лист/21 leaf
T1 - Контрола/Control	138,6c	28,6a	275,6c	117,3d
T2 - NPK	157,4a	30,6a	351,6a	162,6a
T3 - Mycoplant	147,0bc	29,2a	297,0bc	130,1bcd
T4 - Trainer (400 ml/da)	145,2bc	29,4a	301,9bc	133,8bc
T5 - Trainer (800 ml/da)	148,0b	29,6a	309,1b	141,9b
T6 - Ozogea Strengthening	142,0bc	28,8a	283,1bc	121,8cd
Средна/Mean±SD	146,4±8,12	29,4±1,65	303,0±39,43	134,6±21,44
CV%	4,38	2,41	8,83	12,08

* - Different letters within each column indicate that the means are significantly different (P<0.05)

Таблица 7. Концентрация на макроелементи в листата на тютюна
Table 7. Macroelement concentrations in tobacco leaves

Вариант/Treatment	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)
T1 - Контрола/ Control	1,68c	0,12b	1,23c	2,04c	0,22a
T2 - NPK	2,06a	0,18a	1,67a	2,53a	0,23a
T3 - Mycoplant	1,79bc	0,16a	1,41b	2,27b	0,22a
T4 - Trainer (400 ml/da)	1,82bc	0,13b	1,19c	2,15bc	0,18a
T5 - Trainer (800 ml/da)	1,91b	0,12b	1,26c	2,22b	0,21a
T6 - Ozogea Strengthening	1,72c	0,14b	1,21c	2,16bc	0,20a
Средна/ Mean±SD	1,83±0,14	0,14±0,03	1,33±0,18	2,23±0,17	0,21±0,03
CV%	7,56	16,95	13,92	7,48	8,52

* - Different letters within each column indicate that the means are significantly different (P<0.05)

Таблица 8. Концентрация на микроелементи в листата тютюна
Table 8. Micronutrient concentrations in tobacco leaves

Вариант/Treatment	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Cu (mg/kg)
T1 - Контрола/Control	122,3b	36,3bc	59,5ab	9,2b
T2 - NPK	100,6e	41,2a	60,6ab	9,4b
T3 - Mycoplant	132,4a	38,2ab	63,5a	11,0a
T4 - Trainer (400 ml/da)	115,1c	33,0c	53,3c	10,2a
T5 - Trainer (800 ml/da)	107,7d	36,8bc	56,7bc	8,2c
T6 - Ozogea Strengthening	115,8c	37,5ab	62,3a	10,3a
Средна/Mean±SD	115,64±10,86	37,16±3,08	59,32±4,26	9,72±0,99
CV%	9,59	7,19	6,36	10,18

* - Different letters within each column indicate that the means are significantly different (P<0.05)

Таблица 9. Добив сух тютюн. Групиране на вариантите
Table 9. Yield of sun-cured leaves. Grouping of variants (Duncan's method)

Вариант/Treatment	Homogenous groups - Subset for α = 0.05			
	1	2	3	4
T1 - Контрола/Control	147,0			
T6 - Ozogea Strengthening	151,3	151,3		
T4 - Trainer (400 ml/da)	155,7	155,7	155,7	
T3 - Mycoplant		159,7	159,7	
T5 - Trainer (800 ml/da)			161,7	
T2 - NPK				175,3
Significance	0,075	0,097	0,203	1,00

съдържанието на Mg в листата по варианти е слаба и без изразени закономерности. Получените резултати подкрепят установеното положително влияние на микробиални продукти на база АМГ и на протеинови хидролизати върху храненето на растенията, и увеличаване съдържанието на макроелементите в тях (Subhashini, 2013; Berruti et al., 2016; Caruso et al., 2019; Ertani et al., 2019; Begum et al., 2021; Bozhinova, 2022; Ciriello et al., 2025).

Разнопосочно е влиянието на изпитваните варианти върху концентрацията на микроелементи в тютюна (таблица 8). Съдържанието на Fe в листата е значимо по-високо от установеното при контролата единствено при внасяне на микробиалния продукт Mycoplant. Според Huang and Wu (2017) растенията, инокулирани с АМГ, показват по-голяма толерантност към Fe стрес

Таблица 10. Химични показатели на сухия тютюн от сорт Крумовград 58
Table 10. Chemical composition of oriental tobacco of Krumovgrad 58 variety

Вариант/Treatment	Никотин/Nicotine (%)	Разтворими въглехидрати/Reducing sugars (%)	Разтворими въглехидрати/никотин/ Reducing sugars/nicotine
T1 - Контрола/Control	1,30	19,2	14,8
T2 - NPK	1,84	16,1	8,8
T3 - Mycoplant	1,56	14,9	9,6
T4 - Trainer (400 ml/da)	1,57	17,7	11,3
T5 - Trainer (800 ml/da)	1,57	15,8	10,1
T6 - Ozogea Strengthening	1,40	14,2	10,1

(дефицит на Fe), което може да се дължи както на подобрената абсорбция на Fe чрез директно усвояване от извънкореновите хифи, така и на мобилизирането на Fe чрез увеличаване на активността на Fe(III)-хелат-редуктазата в корените и намаляване на pH на почвата, което води до по-високо съдържание на Fe в тъканите. Dehghanian et al. (2018) установяват, че при условия на карбонатна почва, инокулацията с АМ гъби значително намалява стойностите на pH на почвата в сравнение с контролата и увеличава достъпните за растенията форми на Zn, Fe и Mn. Сведенията за ефекта на протеиновите хидролизати върху усвояването на микроелементи от различни земеделски култури са непоследователни в зависимост от състава на продукта, дозата, метода на приложение и др. По-голямо акумулиране на микроелементи (Cu, Zn) в царевични растения, в резултат от приложението на два различни протеинови хидролизата е наблюдавано от Ertani et al. (2019). Значимо е увеличението на Cu в зърното на зимна пшеница от различните продукти и дози, докато нарастването на концентрациите на Fe, Mn и Zn е недоказано (Popko et al., 2018). При условията на настоящия опит, процентното нарастване на мангана в листата на тютюна спрямо контролата е с 13,5% при внасяне на NPK тор, с 5,2% при Mycoplant, с 3,3% при Ozogea Strengthening и с 1,4% при Trainer в доза 800 ml/da. Концентрацията на Zn в тютюна се повишава спрямо контролата при вариантите с NPK тор, Mycoplant и Ozogea, но без да се доказва статистически. Концентрацията на мед в тютюна е доказано по-висока при вариантите с Mycoplant, Trainer (400 ml/da) и Ozogea.

Продуктивността на тютюневите растения е тясно свързана с храненето и растежа им. Стопанският добив от сорт Крумовград 58 варира от 147,0 до 175,3 kg/da, най-нисък при неторената контрола (таблица 9). Увеличението на добива спрямо контролата е с 19,3% при торене с комбиниран тор (T2), с 10% при третиране с Trainer в доза 800 ml/da (T5), с 8,4% при внасяне на Mycoplant (T3), с 5,9% при варианта с Trainer в доза 400 ml/da (T4) и само с 2,9% при приложение на Ozogea Strengthening (T6). Разликите с контролата са доказани при вариантите с минерално торене, с микробиален инокулант и с протеиновия хидролизат в доза 800 ml/da. Според Colla et al. (2015) аминокиселините и пептидните компоненти, типични за Trainer®, подобряват фотосинтетичната активност на растението и впоследствие водят до по-добри добиви. АМ гъби повишават добивите от културните растения поради подобряване на храненето, фотосинтезата и устойчивостта им на стрес (Wu et al., 2022).

Резултатите са в съответствие с известното от литературата, положително влияние на микробиални продукти на база АМГ и на

протеинови хидролизати върху продуктивността на редица земеделски култури: тютюн (Subhashini, 2013); домати (Rouphael et al., 2017; Caruso et al., 2019; Choi et al., 2022); соя (Adeyemi et al., 2020); ягоди (Ciriello et al., 2025); маруля (Choi et al., 2022) и др. Najarian et al. (2018) намират, че прилагането на озонирана вода не е оказало значително влияние върху броя на плодовете при краставици, но има ефект върху теглото им и добива.

От съществено значение при оптимизиране на минералното хранене на тютюна е информацията за съдържанието на химическите вещества, характеризиращи потенциалните пушателни качества на основните сортове (Yancheva et al., 2008). Съдържанието на никотин в опита е най-ниско при контролата (1,3%) (таблица 10). Минералното торене и изпитаните биопродукти повишават неговото съдържание. Увеличението е най-голямо при внасяне на комбиниран тор - с 41,5%. При вариантите с биопродукти нарастването е със 7,7% при третиране с растителното масло и с около 20% при останалите. Счита се, че средното съдържание на разтворими въглехидрати в ориенталските тютюни е от 10% до 18% (Gyuzelev, 1983). С изключение на контролата, то е в посочените рамки. Количеството на разтворимите въглехидрати се понижава при различните варианти със 7,8% до 26% спрямо неторения вариант. Пониженото съдържание на въглехидратите в листата на тютюна под влияние на повишените дози азотни торове Volodarskiy (1971) свързва с усилената загуба на въглехидрати като енергетичен и строителен материал при синтеза на органичните съединения на азота. От условните показатели, които отразяват качеството на тютюна често се използва количественото съотношение между разтворимите въглехидрати и никотина. Това съотношение служи за характеризиране на вкуса на тютюневия дим и дава представа за пълнотата и гладкостта на вкуса и за проявление на парене и острота. Оптималните му стойности са в диапазона 6,0-10,0 (Gyuzelev, 1983). Изчислените стойности за болшинството варианти с биопродукти и с минерално торене показват сравнително добър баланс между разтворимите въглехидрати и никотина. С близка стойност до горната граница е тютюнът от варианта с Trainer (400 ml/da) – 11,3. Тютюнът от контролния вариант е със стойност на отношението, превишаваща значително високата граница на приетия за оптимален интервал, което може да се свърже с определен дисбаланс в пушателните свойства.

Заключение

Растителното масло третирано с озон Ozogea Strengthening оказва незначително влияние върху растежните показатели и минералния състав на разсад от ориенталски тютюн.

Комбинираният NPK тор и биопродуктите Mycoplant и Trainer имат положително влияние върху растежа на тютюна, добива и концентрацията на макро- и микроелементи в листата. Растителното масло Ozogea Strengthening има слаб ефект върху тези показатели. Комбинираният NPK тор повишава доказано добива сух тютюн – с 19,3% спрямо контролата. Повишението на добива от биопродуктите е с 2,9%-10%, статистически доказано при вариантите с Trainer в доза 800 ml/da и Mycoplant. Торенето с NPK тор увеличава доказано спрямо контролата концентрацията на N, P, K, Ca и Mn в листата. Микробиалният инокулант повишава значимо съдържанието на P, K, Ca, Fe и Cu, а протеиновият хидролизат (800 ml/da) - на N и Ca. Комбинираният тор и биопродуктите повишават съдържанието на никотин в сухия тютюн. Съотношението разтворими въглехидрати/никотин е по-добро при вариантите с NPK тор и с биопродуктите в сравнение с контролата.

Резултатите показват, че микробиалният продукт Mycoplant и протеиновият хидролизат Trainer могат да бъдат ефективно средство за повишаване на добива и качеството на ориенталския тютюн.

Конфликт на интереси: авторите декларират липсата на конфликт на интереси.

Литература

Adeyemi, N. O., Atayese, M. O., Olubode, A. A., & Akan, M. E. (2020). Effect of commercial arbuscular mycorrhizal fungi inoculant on growth and yield of soybean under controlled and natural field conditions. *Journal of Plant Nutrition, 43*(4), 487-499.

Agathokleous, E., Belz, R. G., Calatayud, V., De Marco, A., Hoshika, Y., Kitao, M., ... & Calabrese, E. J. (2019). Predicting the effect of ozone on vegetation via linear non-threshold (LNT), threshold and hormetic dose-response models. *Science of the Total Environment, 649*, 61-74.

Begum, N., Ahanger, M.A. & Zhang, L. (2020). AMF inoculation and phosphorus supplementation alleviates drought induced growth and photosynthetic decline in *Nicotiana tabacum* by up-regulating antioxidant metabolism and osmolyte accumulation. E*nvironmental and Experimental Botany, 176*, 104088.

Begum, N., Akhtar, K., Ahanger, M. A., Iqbal, M., Wang, P., Mustafa, N. S., & Zhang, L. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi improve growth, essential oil, secondary metabolism, and yield of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) under drought stress conditions. *Environmental Science and Pollution Research, 28*, 45276-45295.

Begum, N., Qin, C., Ahanger, M. A., Raza, S., Khan, M. I., Ashraf, M., ... & Zhang, L. (2019). Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation: implications in abiotic stress tolerance. *Frontiers in plant science, 10*, 1068.

Begum, N., Wang, L., Ahmad, H., Akhtar, K., Roy, R., Khan, M. I., & Zhao, T. (2022). Co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and the plant growth-promoting rhizobacteria improve growth and photosynthesis in tobacco under drought stress by up-regulating antioxidant and mineral nutrition metabolism. *Microbial ecology, 83*, 971-988.

Berruti, A., Lumini, E., Balestrini, R., & Bianciotto, V. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungi as natural biofertilizers: let's benefit from past successes. *Frontiers in microbiology, 6*, 1559.

Bonasia, A., Conversa, G., Lazzizera, C., & Elia, A. (2021). Foliar application of protein hydrolysates on baby-leaf spinach grown at different n levels. *Agronomy, 12*(1), 36.

Bozhinova, R. (2022). Effect of biostimulants on growth and nutritional status of tobacco seedlings. *Rastenievadni nauki, 59*(2), 55-63.

Caruso, G., De Pascale, S., Cozzolino, E., Cuciniello, A., Cenvinzo, V., Bonini, P., Colla, G., & Rouphael, Y. (2019). Yield and nutritional quality of Vesuvian Piennolo tomato PDO as affected by farming system and biostimulant application. *Agronomy, 9*, 505.

Chaudhary, P., Singh, S., Chaudhary, A., Sharma, A., & Kumar, G. (2022). Overview of biofertilizers in crop production and stress management for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science, 13*, 930340.

Choi, S., Colla, G., Cardarelli, M., & Kim, H. J. (2022). Effects of plant-derived protein hydrolysates on yield, quality, and nitrogen use efficiency of greenhouse grown lettuce and tomato. *Agronomy, 12*(5), 1018.

Ciriello, M., Pannico, A., Rouphael, Y., & Basile, B. (2025). Enhancing Yield, Physiological, and Quality Traits of Strawberry Cultivated Under Organic Management by Applying Different Non-Microbial Biostimulants. *Plants, 14*(5), 712.

Colla, G., Nardi, S., Cardarelli, M., Ertani, A., Lucini, L., Canaguier, R., & Rouphael, Y. (2015). Protein hydrolysates as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae, 96*, 28-38.

Colunje, J., Garcia-Caparros, P., Moreira, J. F., & Lao, M. T. (2021). Effect of ozonated fertigation in pepper cultivation under greenhouse conditions. *Agronomy, 11*(3), 544.

De Pascale, S., Rouphael, Y., & Colla, G. (2017). Plant biostimulants: Innovative tool for enhancing plant nutrition in organic farming. *European Journal of Horticultural Science, 82*(6), 277-285.

Dehghanian, H., Halajnia, A., Lakzian, A., & Astaraei, A. R. (2018). The effect of earthworm and arbuscular mycorrhizal fungi on availability and chemical distribution of Zn, Fe and Mn in a calcareous soil. *Applied Soil Ecology, 130*, 98-103.

Díaz-López, M., Siles, J. A., Ros, C., Bastida, F., & Nicolás, E. (2022). The effects of ozone treatments on the agro-physiological parameters of tomato plants and the soil microbial community. *Science of the Total Environment, 812*, 151429.

Donev, N., & Milyanchev, I. (1974). Scientific achievements in the tobacco seedling production. *Bulgarian tobacco, 1*, 19-28 (Bg).

Ertani, A., Nardi, S., Francioso, O., Sanchez-Cortes, S., Foggia, M. D., & Schiavon, M. (2019). Effects of two protein hydrolysates obtained from chickpea (*Cicer arietinum* L.) and *Spirulina platensis* on *Zea mays* (L.) plants. *Frontiers in plant science, 10*, 954.

Gyuzelev, L. (1983). *Stick science of tobacco*. Hristo G. Danov, Plovdiv (Bg).

Huang, Y. M., & Wu, Q. S. (2017). Arbuscular mycorrhizal fungi and tolerance of Fe stress in plants. In: *Arbuscular mycorrhizas and stress tolerance of plants*. Wu Q. S. (ed), Springer Nature, Singapore, 131-145.

Mitra, D., Djebaili, R., Pellegrini, M., Mahakur, B., Sarker, A., Chaudhary, P., ... & Mohapatra, P. K. D. (2021). Arbuscular mycorrhizal symbiosis: plant growth improvement and induction of resistance under stressful conditions. *Journal of Plant Nutrition, 44*(13), 1993-2028.

Mitreva, N., & Apostolova, E. (1986). Virginia tobacco uptake, utilization and distribution of potassium and calcium at different nitrogen levels. *Soil science, agrochemistry and plant protection, 21*(1), 25-34 (Bg).

Mitsios, K. I., Golia, E., & Tsadilas, D. C. (2005). Heavy Metal Concentration in Soils and Irrigation Waters

in Thessaly Region, Central Greece. *Communications in Soil Science and Plant Analysis, 36*, 487-501.

Najarian, M., Mohammadi-Ghehsareh, A., Fallahzade, J., & Peykanpour, E. (2018). Responses of cucumber (*Cucumis sativus* L.) to ozonated water under varying drought stress intensities. *Journal of Plant Nutrition, 41*(1), 1-9.

Pasković, I., Popović, L., Pongrac, P., Polić Pasković, M., Kos, T., Jovanov, P., & Franić, M. (2024). Protein Hydrolysates-Production, Effects on Plant Metabolism, and Use in Agriculture. *Horticulturae, 10*(10), 1041.

Popko, M., Michalak, I., Wilk, R., Gramza, M., Chojnacka, K., & Górecki, H. (2018). Effect of the new plant growth biostimulants based on amino acids on yield and grain quality of winter wheat. *Molecules, 23*(2), 470.

Rouphael, Y., Colla, G., Giordano, M., El-Nakhel, C., Kyriacou, M. C., & De Pascale, S. (2017). Foliar applications of a legume-derived protein hydrolysate elicit dose-dependent increases of growth, leaf mineral composition, yield and fruit quality in two greenhouse tomato cultivars. *Scientia Horticulturae, 226*, 353-360.

Rozpądek, P., Nosek, M., Ślesak, I., Kunicki, E., Dziurka, M., & Miszalski, Z. (2015). Ozone fumigation increases the abundance of nutrients in Brassica vegetables: broccoli (*Brassica oleracea var. italica)* and Chinese cabbage (*Brassica pekinensis*). *European Food Research and Technology, 240*, 459-462.

Ruiz-Espin, A., Garcia-Caparros, P., Llanderal, A., Colunje, J., Moreira, J. F., & Lao, M. T. (2023). Physiological and nutritional responses to ozone application in tomato seedling plants. *Agriculture, 13*(1), 60.

Sharaf-Eldin, M. A., Alshallash, K. S., Alharbi, K. R., Alqahtani, M. M., Etman, A. A., Yassin, A. M., ... & El-Okkiah, S. A. (2022). Influence of seed soaking and foliar application using ozonated water on two sweet pepper hybrids under cold stress. *Sustainability, 14*(20), 13453.

Subhashini, D. V. (2013). Effect of bio-inoculation of AM fungi and PGPR on the growth, yield and quality of FCV tobacco (*Nicotiana tabacum*) in Vertisols. *Indian Journal of Agricultural Sciences, 83*(6), 667-672.

Tahamolkonan, M., Ghahsareh, A. M., Ashtari, M. K., & Honarjoo, N. (2022). Tomato (*Solanum lycopersicum)* growth and fruit quality affected by organic fertilization and ozonated water. *Protoplasma, 259*(2), 291-299.

Volodarskiy, N. I. (1971). Mineral Nutrition of Tobacco. In: *Physiology of Agricultural Plants* (Rubin B. A., ed.). Moskow University, Moskow, 196-243 (Ru).

Wu, S., Shi, Z., Chen, X., Gao, J., & Wang, X. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungi increase crop yields by improving biomass under rainfed condition: a meta-analysis. *PeerJ, 10*, e12861.**Xu, J. P., Yu, Y. C., Zhang, T., Ma, Q., & Yang, H. B.** (2021). Effects of ozone water irrigation and spraying on physiological characteristics and gene expression of tomato seedlings. *Horticulture Research, 8*.

Yancheva, D. (1990). Productivity and quality of Krumovgrad 90 cultivar. *Bulgarian tobacco, 2*, 13-17 (Bg).

Yancheva, D., Dagnon, S., & Stoilova, A. (2008). Mineral fertilization diagnostics of oriental tobacco variety Krumovgrad. Varietal response. *Plant Science, 45*(4), 343-346 (Bg).

Yang, S. L., Bi, X. X., Huang, B., Xia, T. Y., Deng, L. J., Luo, X. Q., ... & Ren, Z. (2025). Screening and transcriptomic profiling of tobacco growth-promoting arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Signaling & Behavior, 20*(1), 2467935.

Yari, P., Pasari, B., & Shaaf, S. (2019). The response of tobacco to impact of arbuscular mycorrhizal inoculation and application of some micro and macronutrients. *The Philippine Agricultural Scientist, 102*(3), 238-246.

Received: 12th May 2025, ***Approved***: 30th September 2025, ***Published***: December 2025