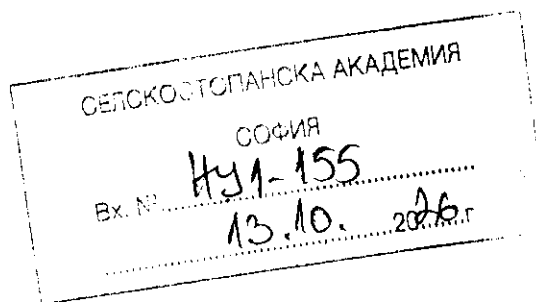


РЕЦЕНЗИЯ



на дисертационен труд за получаване на образователната и научна степен „Доктор” в област на висше образование: 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление: 6.1. Растениевъдство; научна специалност: „Почвознание” на Веселинка Калинова Петрова.

Тема и автор на дисертационния труд: *Екологични аспекти при отглеждането на лупина на алувиално-ливадна почва*

Член на научното жури: доц. д-р Гергана Славова Кунчева, професионално направление 6.1. „Растениевъдство”, научна специалност „Мелиорации, вкл. Почвена ерозия и борбата с нея”, регистриран в НАЦИД в област „Аграрни науки”. Заповед за жури № РД 05-166 от 28.07.2026 на Председателя на ССА.

Кратко представяне на докторанта:

Веселинка Калинова Петрова е родена на 2 ноември 1970 г. По професионална квалификация е агроном, с образователно-квалификационни степени „бакалавър” по „Агрономство” и „магистър” по „Лозарство и винарство”.

Средното си образование завършва през 1989 г. в 59 СОУ „Васил Левски”, с профил „Селско стопанство”. В периода 2003–2008 г. се обучава в Аграрен университет – Пловдив, където придобива образователно-квалификационна степен „бакалавър” по специалност „Агрономство”. Продължава образованието си в същия университет и през 2009 г. придобива образователно-квалификационна степен „магистър” по „Лозарство и винарство”.

От декември 2011 г. до настоящия момент работи в Столична община – район „Банкя”, като професионалната ѝ дейност е свързана с екологията и озеленяването. Заема длъжности „еколог”, „старши експерт” и „дизайнер в озеленяването”. Основните ѝ професионални дейности и отговорности включват организация, координация и предоставяне на методически насоки в областта на озеленителните дейности, както и участие в дейности, свързани с опазването и управлението на зелената система.

През 2024 г. започва обучение като докторант на самостоятелна подготовка в Института по почвознание, агротехнологии и защита на растенията „Никола Пушкиarov”, отдел „Физика, ерозия и почвена биота”. Докторантското ѝ обучение през периода 2024–2025 г. е насочено към задълбочаване на научната ѝ подготовка и развитие на изследователска компетентност в областта на почвознанието и екологичните аспекти на земеделието.

Професионалният и образователният път на Веселинка Петрова съчетава подготовка в областта на агрономството, лозарството и винарството с практически опит в сферата на екологията, озеленяването и управлението на зелените площи. Натрупаният практически опит и последващата научноизследователска подготовка са основа за развитието на професионалните ѝ интереси в областта на почвените и агроекологичните изследвания.

I. Обща характеристика на дисертацията и автореферата – обем и структура

Дисертационният труд е представен в обем от 143 страници, 26 таблици и 19 фигури и е структуриран в осем основни раздела.

Литературният обзор е тематично насочен към значението и разпространението на лупината, симбиотичната и асоциативната азотфиксация, приложението на смесена инокулация на бобови култури с грудкови бактерии и други растежно-стимулиращи микроорганизми, както и към особеностите на азотфиксацията при лупина.

В раздел „Обект, материал и методи“ са представени обектите на изследване – почва, мелиоранти и растителни култури, използваните химични и биохимични методи, постановката на съдовите и полските опити с лупина и тритикале и приложените статистически методи.

Основната част на дисертационния труд е обособена в раздел „Резултати и обсъждане“, структуриран в четири основни направления: съдов опит с лупина, съдов опит с тритикале, полски опити с лупина и полски опит с тритикале. Последователно са разгледани ефектите от инокулацията с азотфиксиращи бактериални щамове и приложението на органично и минерално торене върху числеността и състава на почвените микроорганизми, общата биологична активност и микробиалния биомасен въглерод, съдържанието на общ азот, макро- и микроелементи, растителните параметри, биомасата и добива. Изследвано е и последствието на приложените при лупината третирания върху тритикале, изследвано както при съдовите, така и при полските опити.

Получените резултати са обобщени в разделите „Изводи“ и „Приноси“, следвани от използваната литература и списък на публикациите, свързани с дисертационния труд.

Структурата на дисертацията е логична и последователна и съответства на поставените изследователски задачи и на комплексния характер на проведените изследвания.

Авторефератът е в обем от 35 страници и представя в синтезиран вид основните елементи на дисертационния труд. Неговата структура следва логиката на дисертацията и отразява основните методични подходи, получените резултати, изводите и приносите на разработката.

II. Актуалност на изследвания проблем

Темата на дисертационния труд е актуална и е свързана с необходимостта от разработване и прилагане на устойчиви подходи за поддържане на почвеното плодородие и продуктивността на земеделските култури при ограничаване на зависимостта от минералното азотно торене. Използването на биологичната азотфиксация и микробиалните инокуланти представлява перспективен подход за подобряване на азотното хранене на растенията и за стимулиране на биологичната активност на почвата.

Особено значение имат бобовите култури, които чрез симбиозата си с грудкови бактерии могат да осигурят значителни количества биологично фиксиран азот. Сред тях лупината представлява интерес като култура с високо съдържание на белтъчини и възможности за фуражно и хранително приложение. В дисертационния труд е поставен

конкретният въпрос за отзивчивостта на бялата сладка лупина към инокулация със специфични за нея бактерии от род *Bradyrhizobium*, както и за възможността за повишаване на ефекта чрез комбинирането им с бактерии от род *Azospirillum*.

Актуалността на разработката се определя и от комплексния подход при оценяване на ефектите от микробиалната инокулация. Изследването не се ограничава единствено до непосредственото влияние върху лупината, както и последствието на приложените третирувания върху следваща житна култура – тритикале. По този начин се оценява не само директният ефект от инокулацията, но и възможността за използването ѝ като елемент от системата за по-устойчиво управление на почвеното плодородие и храненето на културите.

В този смисъл считам, че разработваният проблем е научно актуален и с ясно изразена приложна насоченост, като се вписва в съвременните търсения на биологични средства за оптимизиране на растителното хранене, поддържане на почвената биологична активност и намаляване на необходимостта от интензивно минерално торене.

III. Литературна осведоменост и теоретична подготовка на кандидата

Литературният обзор е разработен в обем от 19 страници и е структуриран в пет тематично свързани направления: значение и разпространение на лупината; симбиотична азотфиксация при бобовите растения; асоциативна азотфиксация; смесена инокулация на бобови култури с грудкови бактерии и други растежно-стимулиращи микроорганизми; азотфиксация при лупина.

При разработването на дисертационния труд са използвани общо 130 литературни източника, от които 12 на кирилица и 118 на латиница.

Структурата на литературния обзор следва логиката на дисертационното изследване. Специално внимание е отделено на комбинираното приложение на грудкови бактерии и други растежно-стимулиращи микроорганизми, което непосредствено обосновава експерименталния подход в дисертацията – самостоятелната инокулация с *Bradyrhizobium* и смесената инокулация с *Bradyrhizobium* и *Azospirillum*.

Обособяването на самостоятелен подраздел за азотфиксацията при лупина позволява разглежданият научен проблем постепенно да бъде конкретизиран от общите закономерности на симбиотичната и асоциативната азотфиксация към специфичния обект на дисертационното изследване.

Литературният обзор обхваща основните тематични направления, необходими за теоретичното обосноваване на поставените цел и задачи. **Броят, тематичният обхват и преобладаващият дял на чуждестранните литературни източници показват добра информираност на докторанта по изследвания проблем и осигуряват необходимата теоретична основа за проведените експериментални изследвания.**

IV. Методичен подход

За постигане на поставената цел и изпълнение на формулираните задачи е приложен комплексен експериментален и аналитичен подход, включващ съдови и полски опити с бяла сладка лупина (*Lupinus albus saccharatus* L.) и последващо отглеждане на тритикале, съчетани с микробиологични, биохимични, химични, агрохимични и биометрични изследвания.

Методичната схема е изградена последователно, като в първия етап при съдови условия е извършена сравнителна оценка на седем щама *Bradyrhizobium spp.* (*Lupinus*), както самостоятелно, така и в комбинация с органично торене. За част от перспективните варианти е приложена смесена инокулация с *Azospirillum sp.* 107. Съдовият опит включва общо 21 варианта в четири повторения, което позволява да бъдат сравнени ефектите на

отделните бактериални щамове, смесената инокулация и взаимодействието им с органичното и минералното торене.

Азотфиксиращият потенциал на изследваните симбиотични системи е оценен чрез определяне на нитрогеназната активност по метода на ацетиленовата редукция, а вирулентността на щамовете – чрез отчитане на образуваните грудки върху кореновата система на лупината. По този начин използваните методи са пряко свързани със задачата за оценка на ефективността и вирулентността на изпитваните щамове *Bradyrhizobium*.

Съществен компонент на методичния подход е оценката на въздействието на приложените третираня върху почвената микробиота. Върху селективни хранителни среди е определена числеността на основни физиологични и таксономични групи почвени микроорганизми – амонифициращи, спорообразуващи, целулозоразлагащи и олигонутрофилни микроорганизми, микроскопични гъби, актиномицети, бактерии, усвояващи минерален азот, и diaзотрофи. Допълнително са определени общата биологична активност на почвата чрез продукцията на CO₂ и микробиалният биомасен въглерод, което разширява оценката от числеността на отделни микробни групи към функционалното състояние на почвената микробна общност.

Химичните и агрохимичните анализи включват определяне на общ азот, фосфор, калий, калций и микроелементи в растителния материал, както и основни характеристики на почвата – механичен състав, органично вещество, хидролизуем азот, подвижни форми на фосфор и калий и почвена реакция. По този начин е осигурена възможност биологичните ефекти от третирането да бъдат разглеждани във връзка с хранителния режим и свойствата на почвата.

Важна страна на разработката е двустепенната експериментална проверка – при контролирани съдови и при полски условия. По този начин избраните микробиални комбинации са изпитани при реални почвено-климатични условия в две последователни години.

Като цяло избраният методичен подход съответства на поставената цел и задачи на дисертационния труд. Съчетаването на микробиологични и биохимични показатели с анализ на растителната продукция, минералния състав и основни почвени характеристики, както и последователното преминаване от съдови към полски условия и проследяването на последствието върху тритикале, осигуряват необходимата комплексност за оценка на ефективността на самостоятелната и смесената микробиална инокулация.

V. Значимост и убедителност на получените резултати, интерпретации и изводи

Получените в дисертационния труд резултати са значими както в научно, така и в научно-приложно отношение. Особено съществен резултат от проведените изследвания е открояването на щам *Bradyrhizobium sp.* 300 като най-ефективен от изпитваните щамове. Неговото положително действие е потвърдено чрез няколко независими показателя – грудкообразуване, биологична азотфиксация, натрупване на свежа и суха биомаса, добив на зърно и съдържание на хранителни елементи. При съдовия опит самостоятелната инокулация с този щам е довела до 122,2% увеличение на сухата маса на зърното, а при смесената инокулация с *Azospirillum sp.* 107 увеличението е 107,7%. Резултатите дават основание щам 300 да бъде определен като перспективен инокулант за изследваната култура.

Убедителността на направените заключения се повишава от статистическата доказаност на установените различия при основните изследвани показатели. По този

начин направените заключения се основават не само на наблюдавани тенденции, а на количествено установени и статистически потвърдени различия между изследваните варианти.

Съществено значение има съгласуваността между различните групи резултати. Положителното влияние на инокулацията с *Bradyrhizobium sp.* 300, самостоятелно или в комбинация с *Azospirillum sp.* 107 и оборски тор, се установява едновременно чрез показателите за състоянието на почвената микрофлора и биологичната активност, азотфиксиращата активност и грудкообразуването, растежа и формирането на биомаса, добива и минералния състав на растенията. Това взаимно потвърждаване на резултатите, получени чрез различни методични подходи, е съществен аргумент за тяхната достоверност. Резултатите от полските експерименти потвърждават положителното влияние на избраните третириания върху ризосферната микрофлора, продуктивността и минералния състав на растенията. При тези условия комбинацията от *Bradyrhizobium sp.* 300 и оборски тор се откроява като най-ефективна от изследваните по отношение на получаването на висок добив от биомаса на лупината.

Особена научно-приложна стойност имат резултатите, свързани с последствието върху тритикале. Положителното последствие се проявява в развитието на ризосферната микрофлора на тритикале, в биометричните и продуктивните показатели и в съдържанието на макро- и микроелементи

В резултат от комплексното изследване са определени като най-перспективни инокулацията с *Bradyrhizobium sp.* 300 в комбинация с оборски тор, самостоятелната инокулация с *Bradyrhizobium sp.* 300 и смесената инокулация с *Bradyrhizobium sp.* 300 и *Azospirillum sp.* 107. Подборът им е направен въз основа на съвкупност от показатели, характеризиращи почвената микробиологична активност, азотфиксацията, развитието и хранителния статус на растенията, добива и качеството на получената продукция.

Считам, че получените резултати са убедителни и експериментално и статистически добре обосновани. Тяхната достоверност се подкрепя от големия брой изследвани показатели, използването на различни и взаимно допълващи се аналитични методи, статистическата доказаност на установените различия, потвърждаването на основните ефекти при полски условия и проследяването на последствието върху следваща култура. Съгласуваността между резултатите от различните направления на изследването придава на направените изводи необходимата научна убедителност, а на дисертационния труд – научна и практическа значимост.

VI. Приноси на дисертационния труд.

Представените резултати и направените изводи дават основание приносите на дисертационния труд да бъдат оценени като научни и научно-приложни. Те са свързани с разширяване на познанията за взаимодействието между бялата сладка лупина и азотфиксиращи микроорганизми, с оценка на възможностите за самостоятелна и смесена микробна инокулация, както и с практическото приложение на селектираните ефективни комбинации.

Научни приноси

За първи път е извършено сравнително изследване на седем щама *Bradyrhizobium sp.* (Lupinus) – № 295, 296, 297, 298, 299, 300 и 301 от колекцията на лаборатория

„Микробиология на почвата“ към ИПАЗР „Н. Пушкиров“, при условията на Алувиално-ливадна почва (Fluvisol). Сравнителната им оценка по отношение на азотфиксиращата активност, грудкообразуването и влиянието върху развитието и продуктивността на лупината разширява познанията за ефективността на конкретните щамове при тази култура.

Съществен научен принос представлява проучването за първи път в страната на възможностите за смесена инокулация на лупина със симбиотични азотфиксиращи бактерии от род *Bradyrhizobium* и асоциативни азотфиксиращи бактерии от род *Azospirillum*. Получените резултати дават нова информация за ефекта от съвместното им приложение върху биологичната активност на почвата, растежа, минералното хранене и продуктивността на лупината.

Получени са нови данни за влиянието на азотфиксиращите бактерии върху грудкообразуването, биологичната азотфиксация, натрупването на макро- и микроелементи и биометричните показатели на бялата сладка лупина. Установените взаимовръзки между микробиалната инокулация, промените в ризосферната микрофлора и реакцията на растенията допринасят за по-комплексното характеризиране на системата почва–микроорганизми–растение.

Към научните приноси може да бъде отнесено и установеното положително последствие на приложените при лупината микробиални инокулации върху последващата житна култура – тритикале. Получените резултати показват, че ефектът от инокулацията не се ограничава до културата, върху която е приложена, а се проявява и чрез промени в ризосферната микрофлора, биометричните показатели, добива и минералния състав на следващата култура.

Научно-приложни приноси

В резултат от сравнителното изпитване е селектиран щам *Bradyrhizobium sp.* 300 като перспективен инокулант за бяла сладка лупина. Неговата ефективност е установена чрез комплекс от показатели и е потвърдена при съдови и полски условия.

Определена е ефективна технологична комбинация от инокулация с *Bradyrhizobium sp.* 300 и внасяне на оборски тор, при която в полски условия е установено увеличение на добива на лупина до 80%. Полученият резултат има непосредствено практическо значение и създава предпоставки за използване на микробиална инокулация в съчетание с органично торене при отглеждането на културата.

Научно-приложен характер има и определянето на перспективни варианти – самостоятелна инокулация с *Bradyrhizobium sp.* 300, комбинирането му с оборски тор и смесената инокулация с *Bradyrhizobium sp.* 300 и *Azospirillum sp.* 107 – които оказват положително влияние не само върху лупината, но и върху добива, биомасата и хранителния статус на последващо отглежданото тритикале. Този резултат разширява възможностите за приложение на изследваните микробиални инокуланти в система на сеитбообращение.

Приемам формулираните приноси като обосновани от представените експериментални резултати. Те отразяват както получаването на нови знания за взаимодействието между лупината и азотфиксиращите микроорганизми, така и конкретни резултати с потенциал за практическо приложение. Особено значение имат селекцията на ефективния щам *Bradyrhizobium sp.* 300, установяването на ефекта от смесената

инокулация с *Azospirillum sp.* 107 и доказаното последствие на приложените третириания върху следваща житна култура.

VII. Оценка на качеството на научните публикации, отразяващи резултатите в дисертацията

Във връзка с дисертационния труд са представени три научни публикации, публикувани в *Journal of Balkan Ecology* през 2016 и 2018 г. Публикациите са тематично непосредствено свързани с дисертационното изследване и представят отделни части от получените експериментални резултати.

От трите публикации една е самостоятелна, а две са в съавторство. Самостоятелната публикация, както и водещото авторство на докторанта в останалите две, дават основание да се приеме наличието на ясно изразен личен принос при получаването, анализа и публикуването на резултатите.

И трите публикации са в *Journal of Balkan Ecology* и са представени като индексирани в Web of Science All Databases. Публикуването на резултатите показва, че съществени части от дисертационното изследване са получили научна публичност преди представянето на дисертационния труд.

След преглед на представените публикации считам, че **съдържанието им съответства на тематиката на дисертацията и действително отразява части от получените в нея резултати.** Налице е пряка връзка между публикуваните изследвания, поставените задачи и основните резултати на дисертационния труд.

В обобщение, представената публикационна активност е тематично свързана с дисертацията, отразява съществени резултати от проведените изследвания и показва активното участие на докторанта в тяхното научно представяне и публикуване.

VIII. Критични бележки, въпроси и препоръки към кандидата

Към представения дисертационен труд нямам съществени критични бележки. Изследването е проведено задълбочено и в значителен обем, като са получени множество научни и научно-приложни резултати, които свидетелстват за способността на кандидата за самостоятелна научноизследователска работа.

Препоръчвам на кандидата да продължи изследванията си в разработваното научно направление, като разшири и надгради получените в дисертационния труд резултати и ги популяризира чрез публикации в специализирани научни издания. С оглед на демонстрирания изследователски потенциал считам за целесъобразно кандидатът да продължи своето академично развитие и при възможност да се насочи към заемане на академична длъжност, което би му позволило да развива последователно научната и преподавателската си дейност.

Нямам въпроси, свързани с неясноти или недостатъци на дисертационния труд. Като въпрос за научна дискусия бих поставила следния:

Кои от получените в дисертационния труд резултати кандидатът счита за най-перспективни за продължаване на изследванията и по какъв начин би развил експерименталната работа в бъдеще?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Въз основа на приложените от докторанта различни методи на изследване, правилно изведените експерименти, направените обобщения и изводи считам, че представеният дисертационен труд отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в ССА.

Това ми дава основание да оценя положително дисертационния труд и да предлага да се присъди на Веселинка Калинова Петрова, образователната и научна степен „Доктор” в област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление: 6.1. Растениевъдство; научна специалност: „Почвознание“.

Дата: 30.09.2026

ИЗГОТВИЛ РЕЦЕНЗИЯТА:

/доц. д-р Гергана Славова Кунчева/

REVIEW

of a dissertation submitted for the award of the educational and scientific degree “Doctor” (PhD) in the field of higher education 6. Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, professional field 6.1. Crop Science, scientific specialty “Soil Science”, by Veselinka Kalinova Petrova

Title and author of the dissertation:

“Ecological Aspects of Lupin Cultivation on Alluvial-Meadow Soil”

Member of the Scientific Jury:

Assoc. Prof. Gergana Slavova Kuncheva, PhD, professional field 6.1. Crop Science, scientific specialty “Melioration, including Soil Erosion and its Control”, registered with NACID in the field of Agricultural Sciences. Appointment to the Scientific Jury by Order No. RD 05-166 of 28 July 2026 of the President of the Agricultural Academy.

Brief Presentation of the Doctoral Candidate

Veselinka Kalinova Petrova was born on 2 November 1970. She is an agronomist by professional qualification and holds a Bachelor’s degree in Agronomy and a Master’s degree in Viticulture and Enology.

She completed her secondary education in 1989 at Vasil Levski Secondary School No. 59, specializing in Agriculture. From 2003 to 2008, she studied at the Agricultural University – Plovdiv, where she obtained a Bachelor’s degree in Agronomy. She continued her education at the same university and, in 2009, obtained a Master’s degree in Viticulture and Enology.

Since December 2011, she has been employed by Sofia Municipality – Bankya District, where her professional activities are related to ecology and landscaping. She has held the positions of ecologist, senior expert, and landscape designer. Her main professional activities and responsibilities include the organization and coordination of landscaping activities, the provision of methodological guidance in this field, and participation in activities related to the conservation and management of urban green spaces.

In 2024, she enrolled as an independent doctoral candidate at the Nikola Poushkarov Institute of Soil Science, Agrotechnologies and Plant Protection, Department of Physics, Erosion and Soil Biota. During the period 2024–2025, her doctoral training focused on advancing her scientific expertise and developing research competence in the fields of soil science and the ecological aspects of agriculture.

The professional and educational background of Veselinka Petrova combines training in agronomy, viticulture and enology with practical experience in ecology, landscaping, and the management of green spaces. Her accumulated practical experience and subsequent research training provide a solid foundation for the development of her professional interests in soil and agroecological research.

I. General Characteristics of the Dissertation and the Dissertation Abstract – Scope and Structure

The dissertation comprises 143 pages, 26 tables and 19 figures and is structured into eight main sections.

The literature review focuses on the significance and distribution of lupin, symbiotic and associative nitrogen fixation, the application of combined inoculation of legumes with nodule bacteria and other plant growth-promoting microorganisms, as well as the specific characteristics of nitrogen fixation in lupin.

The section “Research Objects, Materials and Methods” presents the objects of investigation – soil, amendments and crops – as well as the chemical and biochemical methods used, the experimental design of the pot and field experiments with lupin and triticale, and the statistical methods applied.

The main part of the dissertation is presented in the “Results and Discussion” section, which is structured into four principal areas: pot experiment with lupin, pot experiment with triticale, field experiments with lupin, and field experiment with triticale. The effects of inoculation with nitrogen-fixing bacterial strains and the application of organic and mineral fertilizers on the abundance and composition of soil microorganisms, total biological activity and microbial biomass carbon, total nitrogen content, macro- and micronutrients, plant parameters, biomass and yield are examined systematically. The residual effects of the treatments applied to lupin on the subsequent triticale crop were also investigated under both pot and field conditions.

The results obtained are summarized in the “Conclusions” and “Contributions” sections, followed by the references and a list of publications related to the dissertation.

The structure of the dissertation is logical and consistent and corresponds to the stated research objectives and the complex nature of the investigations performed.

The dissertation abstract comprises 35 pages and presents the main elements of the dissertation in a concise form. Its structure follows the logic of the dissertation and reflects the principal methodological approaches, results, conclusions and contributions of the research.

II. Relevance of the Research Problem

The topic of the dissertation is highly relevant and is associated with the need to develop and implement sustainable approaches to maintaining soil fertility and crop productivity while reducing dependence on mineral nitrogen fertilization. The use of biological nitrogen fixation and microbial inoculants represents a promising approach for improving plant nitrogen nutrition and stimulating soil biological activity.

Leguminous crops are of particular importance because, through their symbiosis with nodule-forming bacteria, they can provide substantial amounts of biologically fixed nitrogen. Among these crops, lupin is of particular interest because of its high protein content and its potential use as both food and feed. The dissertation specifically addresses the response of white sweet lupin to inoculation with bacteria of the genus *Bradyrhizobium* and examines the possibility of enhancing this effect by combining them with bacteria of the genus *Azospirillum*.

The relevance of the research is also determined by the comprehensive approach used to evaluate the effects of microbial inoculation. The study is not limited to its direct influence on lupin but also examines the residual effects of the applied treatments on a subsequent cereal crop – triticale. Thus, the research assesses not only the direct effects of inoculation but also its potential use as a component of a more sustainable system for managing soil fertility and crop nutrition.

In this respect, I consider the research problem to be scientifically relevant and clearly application-oriented, corresponding to current efforts to develop biological approaches for

optimizing plant nutrition, maintaining soil biological activity, and reducing the need for intensive mineral fertilization.

III. Knowledge of the Literature and Theoretical Background of the Candidate

The literature review comprises 19 pages and is structured into five thematically related areas: significance and distribution of lupin; symbiotic nitrogen fixation in legumes; associative nitrogen fixation; combined inoculation of legumes with nodule bacteria and other plant growth-promoting microorganisms; and nitrogen fixation in lupin.

A total of 130 references were used in preparing the dissertation, of which 12 are in Cyrillic and 118 in Latin script.

The structure of the literature review follows the logic of the dissertation research. Particular attention is devoted to the combined application of nodule bacteria and other plant growth-promoting microorganisms, which directly provides the theoretical basis for the experimental approach adopted in the dissertation – single inoculation with *Bradyrhizobium* and combined inoculation with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum*.

The inclusion of a separate subsection devoted to nitrogen fixation in lupin allows the scientific problem to be progressively narrowed from the general principles of symbiotic and associative nitrogen fixation to the specific subject of the dissertation research.

The literature review covers the principal thematic areas required to provide a theoretical basis for the stated aim and objectives. **The number, thematic scope and predominance of international literature sources demonstrate the doctoral candidate's good knowledge of the research problem and provide the necessary theoretical foundation for the experimental investigations.**

IV. Methodological Approach

To achieve the stated aim and objectives, a comprehensive experimental and analytical approach was applied, comprising pot and field experiments with white sweet lupin (*Lupinus albus saccharatus* L.) and subsequent cultivation of triticale, combined with microbiological, biochemical, chemical, agrochemical and biometric analyses.

The methodological scheme was developed sequentially. In the first stage, under pot conditions, seven strains of *Bradyrhizobium* spp. (Lupinus) were comparatively evaluated, both individually and in combination with organic fertilization. For some of the promising treatments, combined inoculation with *Azospirillum* sp. 107 was applied. The pot experiment included a total of 21 treatments with four replicates, allowing comparison of the effects of individual bacterial strains, combined inoculation, and their interactions with organic and mineral fertilization.

The nitrogen-fixing potential of the investigated symbiotic systems was evaluated by determining nitrogenase activity using the acetylene reduction assay, while strain virulence was assessed by recording the nodules formed on the lupin root system. Thus, the methods used were directly related to the objective of evaluating the effectiveness and virulence of the tested *Bradyrhizobium* strains.

An important component of the methodological approach was the assessment of the effects of the applied treatments on soil microbiota. Selective culture media were used to determine the abundance of major physiological and taxonomic groups of soil microorganisms, including ammonifying, spore-forming, cellulose-degrading and oligotrophic microorganisms, microscopic fungi, actinomycetes, bacteria utilizing mineral nitrogen, and diazotrophs. In

addition, total soil biological activity was determined through CO₂ production, together with microbial biomass carbon, thus extending the assessment from the abundance of individual microbial groups to the functional status of the soil microbial community.

Chemical and agrochemical analyses included the determination of total nitrogen, phosphorus, potassium, calcium and micronutrients in plant material, as well as major soil characteristics – particle-size distribution, organic matter, hydrolysable nitrogen, available forms of phosphorus and potassium, and soil reaction. This made it possible to assess the biological effects of the treatments in relation to soil nutrient status and properties.

An important feature of the study is its two-stage experimental verification – under controlled pot conditions and under field conditions. In this way, the selected microbial combinations were tested under actual soil and climatic conditions over two consecutive years.

Overall, the methodological approach corresponds to the stated aim and objectives of the dissertation. The combination of microbiological and biochemical indicators with analyses of plant production, mineral composition and major soil characteristics, together with the sequential transition from pot to field conditions and the evaluation of residual effects on triticale, provides the necessary comprehensive basis for assessing the effectiveness of single and combined microbial inoculation.

V. Significance and Reliability of the Results, Interpretations and Conclusions

The results obtained in the dissertation are significant from both scientific and applied perspectives. A particularly important result is the identification of *Bradyrhizobium sp.* 300 as the most effective of the tested strains. Its positive effect was confirmed by several independent indicators – nodule formation, biological nitrogen fixation, accumulation of fresh and dry biomass, grain yield and nutrient content. In the pot experiment, single inoculation with this strain resulted in a 122.2% increase in grain dry matter, while combined inoculation with *Azospirillum sp.* 107 resulted in an increase of 107.7%. These results provide a basis for identifying strain 300 as a promising inoculant for the crop studied.

The reliability of the conclusions is strengthened by the statistical significance of the differences established for the main parameters investigated. Thus, the conclusions are based not only on observed trends but also on quantitatively established and statistically confirmed differences among the treatments.

Of particular importance is the consistency among the different groups of results. The positive effect of inoculation with *Bradyrhizobium sp.* 300, either alone or in combination with *Azospirillum sp.* 107 and farmyard manure, was simultaneously demonstrated by indicators characterizing soil microflora and biological activity, nitrogen-fixing activity and nodule formation, plant growth and biomass formation, yield, and plant mineral composition. This mutual confirmation of results obtained through different methodological approaches constitutes an important argument supporting their reliability.

The field experiments confirmed the positive effects of the selected treatments on rhizosphere microflora, plant productivity and mineral composition. Under field conditions, the combination of *Bradyrhizobium sp.* 300 and farmyard manure was identified as the most effective of the treatments investigated in terms of achieving a high lupin biomass yield.

The results concerning the residual effects on triticale are of particular scientific and applied importance. Positive residual effects were observed on the development of triticale

rhizosphere microflora, biometric and productivity parameters, and macro- and micronutrient contents.

As a result of the comprehensive investigation, the most promising treatments were identified as inoculation with *Bradyrhizobium sp.* 300 combined with farmyard manure, single inoculation with *Bradyrhizobium sp.* 300, and combined inoculation with *Bradyrhizobium sp.* 300 and *Azospirillum sp.* 107. Their selection was based on a combination of indicators characterizing soil microbiological activity, nitrogen fixation, plant development and nutritional status, yield, and the quality of the resulting production.

I consider the results obtained to be convincing and well supported both experimentally and statistically. Their reliability is supported by the large number of parameters investigated, the use of diverse and complementary analytical methods, the statistical significance of the observed differences, confirmation of the main effects under field conditions, and evaluation of residual effects on the subsequent crop. The consistency among the results obtained from the different areas of investigation provides the conclusions with the necessary scientific credibility and gives the dissertation both scientific and practical significance.

VI. Contributions of the Dissertation

The presented results and conclusions provide grounds for assessing the contributions of the dissertation as both scientific and applied. They are associated with expanding knowledge of the interactions between white sweet lupin and nitrogen-fixing microorganisms, evaluating the possibilities for single and combined microbial inoculation, and the practical application of the selected effective combinations.

Scientific Contributions

For the first time, a comparative study was conducted on seven *Bradyrhizobium sp.* (Lupinus) strains – Nos. 295, 296, 297, 298, 299, 300 and 301 – from the collection of the Soil Microbiology Laboratory at the Nikola Poushkarov Institute of Soil Science, Agrotechnologies and Plant Protection under the conditions of Alluvial-Meadow soil (Fluvisol). Their comparative assessment in terms of nitrogen-fixing activity, nodule formation, and effects on lupin development and productivity expands existing knowledge of the effectiveness of these particular strains in this crop.

An important scientific contribution is the first study in Bulgaria of the possibilities for combined inoculation of lupin with symbiotic nitrogen-fixing bacteria of the genus *Bradyrhizobium* and associative nitrogen-fixing bacteria of the genus *Azospirillum*. The results provide new information on the effects of their combined application on soil biological activity, plant growth, mineral nutrition and lupin productivity.

New data were obtained on the effects of nitrogen-fixing bacteria on nodule formation, biological nitrogen fixation, macro- and micronutrient accumulation, and biometric parameters of white sweet lupin. The relationships established between microbial inoculation, changes in rhizosphere microflora and plant responses contribute to a more comprehensive characterization of the soil–microorganism–plant system.

The positive residual effects of microbial inoculations applied to lupin on the subsequent cereal crop – triticale – can also be regarded as a scientific contribution. The results demonstrate that the effects of inoculation are not limited to the crop to which it is directly applied but are

also manifested through changes in rhizosphere microflora, biometric parameters, yield and mineral composition of the subsequent crop.

Scientific and Applied Contributions

As a result of the comparative testing, *Bradyrhizobium sp.* 300 was selected as a promising inoculant for white sweet lupin. Its effectiveness was demonstrated through a combination of indicators and confirmed under both pot and field conditions.

An effective technological combination of inoculation with *Bradyrhizobium sp.* 300 and farmyard manure application was identified, resulting in an increase in lupin yield of up to 80% under field conditions. This result has direct practical significance and provides a basis for the use of microbial inoculation in combination with organic fertilization in lupin cultivation.

The identification of promising treatments – single inoculation with *Bradyrhizobium sp.* 300, its combination with farmyard manure, and combined inoculation with *Bradyrhizobium sp.* 300 and *Azospirillum sp.* 107 – also represents a scientific and applied contribution. These treatments positively affected not only lupin but also the yield, biomass and nutritional status of the subsequently cultivated triticale. This finding broadens the possibilities for applying the investigated microbial inoculants within a crop rotation system.

I accept the stated contributions as being substantiated by the experimental results presented. They reflect both the generation of new knowledge concerning interactions between lupin and nitrogen-fixing microorganisms and specific results with potential for practical application. Of particular importance are the selection of the effective *Bradyrhizobium sp.* 300 strain, the established effect of combined inoculation with *Azospirillum sp.* 107, and the demonstrated residual effects of the treatments on the subsequent cereal crop.

VII. Assessment of the Quality of the Scientific Publications Presenting the Dissertation Results

Three scientific publications related to the dissertation have been presented, published in the *Journal of Balkan Ecology* in 2016 and 2018. The publications are directly related to the subject of the dissertation and present individual parts of the experimental results obtained.

Of the three publications, one is single-authored and two are co-authored. The single-authored publication, together with the doctoral candidate's first authorship of the other two papers, provides grounds for recognizing a clearly identifiable personal contribution to obtaining, analysing and publishing the results.

All three publications appeared in the *Journal of Balkan Ecology* and are presented as being indexed in Web of Science All Databases. Publication of these results demonstrates that substantial parts of the dissertation research had received scientific dissemination prior to submission of the dissertation.

Following my review of the publications presented, I consider that **their content corresponds to the subject of the dissertation and genuinely reflects parts of the results obtained within it.** There is a direct relationship between the published studies, the research objectives, and the main results of the dissertation.

In summary, the presented publication activity is thematically related to the dissertation, reflects substantial results from the research conducted, and demonstrates the doctoral candidate's active participation in their scientific presentation and publication.

VIII. Critical Comments, Questions and Recommendations to the Candidate

I have no substantial critical comments regarding the dissertation presented. The research has been conducted thoroughly and on a considerable scale, producing numerous scientific and applied results that demonstrate the candidate's ability to conduct independent scientific research.

I recommend that the candidate continue research in this scientific field, further developing and expanding upon the results obtained in the dissertation and disseminating them through publications in specialized scientific journals. In view of the demonstrated research potential, I consider it appropriate for the candidate to continue her academic development and, where possible, to pursue an academic position that would enable her to further develop her research and teaching activities.

I have no questions arising from ambiguities or shortcomings in the dissertation. As a question for scientific discussion, I would propose the following:

Which of the results obtained in the dissertation does the candidate consider the most promising for further research, and how would she develop the experimental work in the future?

CONCLUSION

On the basis of the diverse research methods applied by the doctoral candidate, the properly conducted experiments, and the generalizations and conclusions drawn, I consider that the submitted dissertation meets the requirements of the **Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria Act** and the **Regulations on the Conditions and Procedure for Acquiring Scientific Degrees and Holding Academic Positions at the Agricultural Academy**.

This provides sufficient grounds for me to give a **positive evaluation of the dissertation** and to recommend that **Veselinka Kalinova Petrova** be awarded the educational and scientific degree **"Doctor" (PhD)** in the field of higher education **6. Agricultural Sciences and Veterinary Medicine**, professional field **6.1. Crop Science**, scientific specialty **"Soil Science"**.

Date: 30.09.2026

REVIEW PREPARED BY:

Assoc. Prof. Gergana Slavova Kuncheva, PhD