

СТАНОВИЩЕ

относно дисертационен труд за получаване на образователната и научна степен „Доктор“ в област на висше образование Биология, професионално направление 4.3. „Биологични науки“ и 6.1. „Растениевъдство“, научна специалност „Микробиология“ /Почвена микробиология/.

Тема и автор на дисертационния труд:

Тема на дисертационния труд: „Екологични аспекти при отглеждането на лупина на Алувиално-ливадна почва”.

Автор на дисертационния труд: Веселинка Калинова Петрова, докторант на самостоятелна подготовка, за присъждане на ОНС „Доктор“ по докторска програма „Почвознание”, професионално направление 6.1. Растениевъдство.

Член на научното жури: проф. д-р Иван Димитров Спасов, София, /пенсионер/, професионално направление 6.1 „Растениевъдство”, научна специалност „Общо земеделие”.

определен за член на научното жури със заповед №РД-05-166/28.07.2026 г. на Председателя на ССА.

I. Актуалност на изследвания проблем

Изследваният проблем в този дисертационен труд е не само актуален, но същевременно резултатите от неговото разрешаване са много полезни, с оглед насоките за по-нататъшното развитие на биологичното земеделие в нашата страна. Характерно за микробиологичните изследвания е, че при повечето от инокулациите стават в контролирана среда – лабораторни и съдови опити и отличителното за това изследване е, че не се ограничава само до съдовите опити и експерименти, но изследванията са продължили и в полски условия. Резултатите получени от сполучливата комбинация с щамове *Bradyrhizobium* и *Azospirillum*, в съчетание с внасяне на оборски тор, дават перспектива за по-всеобхватна научна разработка, по-комплексни изследвания, които да бъдат свързани с разрешаването и на други проблеми в земеделското производство, особено при отглеждането на покривни, уплътняващи култури, като лупината, засявана самостоятелно или в смесен посев.

С това изследване освен, че се потвърждава ролята на оборския тор като подобрител на хранителната среда в почвата, се доказва, че той е стимулатор за микробиалната дейност в нея.

II. Цел, задачи и методи на изследване (хипотези на дисертационния труд)

С разработването на настоящия дисертационен труд докторантът си поставя за цел да проучи ефектът от самостоятелна инокулация с бактерии от род *Bradyrhizobium* и род *Azospirillum* върху качеството на растителната продукция на бялата сладка лупина, активността на почвената микрофлора и последствието върху добива и качеството на житна култура (тритикале).

За реализирането на тази цел в дисертационната работа са формулирани за изпълнение шест задачи. В три от тях са съсредоточени микробиологични изследвания: установяване ефекта от самостоятелна и смесена инокулация на лупина с бактерии от споменатите два рода върху качествените параметри на растителната продукция и добива; оценка на азотфиксиращия потенциал и вирулентността на щамове от род *Bradyrhizobium*; изпитване влиянието от самостоятелна и смесена инокулация с бактерии от родовете *Bradyrhizobium* и *Azospirillum* върху почвената микрофлора. В останалите три задачи се изследват ефективни комбинации на щамове и тестваната култура лупина в условията на торене с оборски тор и минерални торове и влиянието им върху количеството и качеството на продукцията, както и последствието от тях върху репродуктивните процеси и добива на тритикале.

В методично отношение дисертационният труд е изграден правилно. Основната част от експерименталната работа – лабораторна, съдови опити и полска, е извършена в ИПАЗР „Никола Пушкиarov“ – София и опитната база на института в с. Цалапица, Пловдивска област.

За изпълнение на поставените задачи са изведени два съдови и полски опит върху почвено различие Алувиално-ливадна почва (Mollic Fluvisols). В някои варианти е внесен оборски тор, а в един минерални торове.

В изследването са включени седем щам симбиотични азотфиксатори от род *Bradyrhizobium* и асоциативния азотфиксатор *Azospirillum brasilense* sp. Количеството на основни таксономични и физиологични групи микроорганизми са определяни по методиката на Грудев и колектив (2007 г.). Числеността на отделните групи почвени микроорганизми е определяна по общоприетите методи за микробиологичен анализ.

В изследването е включено изследване на химични и биохимични параметри по методиката за почвени лабораторни анализи на ИПАЗР „Н. Пушкиarov“.

III. Визуализация и интерпретация на получените резултати.

Използвана литература

Научно-изследователската работа е проведена в съдови и полски опити. Съдовите опити са изведени в четири повторения за статистическа обработка на получените

результати и включват варианти (без инокулиране и без торене), със самостоятелна инокулация със седем щама *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*), със същите седем щама но с внасяне на оборски тор (200 g на съд), два варианта със смесена инокулация с щамове *Bradyrhizobium* и щам *Azospirillum*, както и сравнителни варианти без инокулация, само с добавяне на оборски тор и съответно минерални торове. Тези опити са свързани със значителен обем работа, тъй като 21 варианти са с по четири повторения, което означава, че са заложили 84 съда. Във всички основни фенофази на лупината са проведени физиологични наблюдения. Във фаза цъфтеж на растенията е определяна вирулентността на изпитваните щамове бактерии и отчитан брой на грудките. След прибирането на опита са анализирани почвени проби за наличието на групи микроорганизми и за агрохимични показатели.

В същите съдове след лупината са отглеждани растения тритикале за установяване на последствието от приложените микробиологични третираня и симбиозата с бобовата култура, която е много добър предшественик за житните култури. След реколтирането на опита са проведени съответните залеждали в методичния план анализи.

Въз основа на получените резултати от съдовите опити (инокулацията с щам *Bradyrhizobium* 300 е най-ефикасния избор на инокулант за лупината (*Lupinus albus saccharatus* L.), за което свидетелства най-висок добив от зърно, брой грудки и биологична азотфиксация) е заложен полски опит в база Цалапица по метода на дробните парцели с размер на реколтните парцели 10 m². Разстоянието между повторенията е 0,70 m, би трябвало да е поне 1,0 m, но вероятно размера на опитната площ е бил ограничен. Опитът включва седем варианти – контрола (без инокулиране и торене), инокулация със щам *Bradyrhizobium* sp. 300 без и със торене с оборски тор, смесена инокулация на щама с *Azospirillum* sp. 107 с варианти без и с оборски тор, с внасяне на 4 t/dka оборски тор и с минерално торене N₄P₈K₈.

Получените резултати от съдовите опити се припокриват с тези от полския опит. Най-значимо нарастване на биомасата и увеличение в сухата маса на зърното при лупината е отчетено при самостоятелната инокулация с *Bradyrhizobium* sp. 300 и смесената инокулация с този щам и *Azospirillum* sp. 107 с внасяне на оборски тор. Тези варианти водят до нарастване добива от зърно и растителна продукция от тритикале.

Резултатите получени от изследванията са отразени в 26 таблици и 17 фигури, Физиологичното развитие на растенията е онагледено с 11 снимки.

Всички получени резултати са с висока степен на надеждност, тъй като фактическите данни от почти всички изследвания са подложени на математическа обработка.

IV. Приноси на дисертационния труд

Най-съществен научно-фундаментален принос е сравнителното изследване на седем щама *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) в съдови и полски опит върху Алувиално-ливадна почва (*Mollic Fluvisols*) при лупина, с последствие при тритикале.

За първи път е проучено смесеното инокулиране между симбиотични азотфиксатори от род *Bradyrhizobium* и асоциативния азотфиксатор *Azospirillum brasilense* sp. при нова в микробиологичните изследвания бобова култура – лупина. С проведеното изследване са получени нови познания за влиянието на азотфиксиращите бактерии върху грудкообразуването и биометричните показатели при лупина, както и върху микробиологичната активност в почвеното различие.

Научно-приложен принос за земеделската практика е, че оборския тор се проявява като стимулатор за дейността на азотфиксиращите бактерии в почвата, което води до значително увеличение на добива на биомаса и зърно от лупина.

С научно-приложен ефект е и установеното позитивно последствие от инокулацията на лупина с щамове от *Bradyrhizobium* и *Azospirillum*, изразяващо се в количествено и качествено нарастване на растителната продукция и зърното от тритикале.

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

Във връзка с темата на дисертационния труд са три публикации в списание *Balkan Ecology*, от които едната е самостоятелна, а две са в съавторство с предишния ръководител доц. А. Димитрова. В тях акуратно са отразени получените резултати от научно-изследователската работа по темата.

VI. Критични бележки, въпроси и препоръки към кандидата

Нямам съществени критични бележки, те са свързани с това, че някои изводи не са достатъчно убедителни и са установени незначителни стилистични грешки.

Препоръката ми е, да продължи изследователската дейност в насока влияние на инокулацията с азотфиксиращи бактерии при лупина, отглеждана самостоятелно и в смесен посев като покривна (уплътняваща) култура, особено в специализираните оризови и зеленчукови сеитбообращения, в които нуждата от постъпление на органична маса е значителна.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Въз основа на научените и 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, което ми дава основание да го оценя **ПОЛОЖИТЕЛНО**.

Позволявам си да предложа на почитаемото Научно жури също да гласува **положително** и да присъди на докторанта **Веселинка Калинова Петрова**, докторант на самостоятелна подготовка, образователната и научна степен **“доктор”** в област на висше образование Биология, професионално направление 4.3. „Биологични науки“ и 6.1. „Растениевъдство“, научна специалност „Микробиология“.

Дата: 29.09.2026 г.

София

ИЗГОТВИЛ СТАНОВИЩЕТО:

(проф. д-р Иван Димитров Спасов)

ACADEMIC REVIEW

Concerning a dissertation submitted for the award of the educational and scientific degree “Doctor” (PhD) in the field of higher education Biology, professional fields 4.3. Biological Sciences and 6.1. Crop Science, scientific specialty “Microbiology” (Soil Microbiology).

Dissertation Title and Author:

Title of the dissertation:

“Environmental Aspects of Lupin Cultivation on Mollic Fluvisols”

Author of the dissertation:

Veselinka Kalinova Petrova, independent doctoral candidate, applying for the award of the educational and scientific degree “Doctor” (PhD) under the doctoral programme “Soil Science”, professional field 6.1. Crop Science.

Member of the Scientific Jury:

Prof. Ivan Dimitrov Spasov, PhD, Sofia (retired), professional field 6.1. Crop Science, scientific specialty “General Agriculture”.

Appointed as a member of the Scientific Jury by Order No. RD-05-166/28 July 2026 of the President of the Agricultural Academy.

I. RELEVANCE OF THE RESEARCH PROBLEM

The research problem addressed in this dissertation is not only highly relevant, but the results obtained from its investigation are also of considerable practical importance, particularly with regard to the future development of organic farming in Bulgaria.

Microbiological studies are commonly characterized by the fact that most inoculation experiments are conducted under controlled conditions, primarily in laboratory and pot experiments. A distinctive feature of the present research is that it is not limited to pot trials and controlled experiments but has also been extended to field conditions.

The results obtained from the successful combination of Bradyrhizobium and Azospirillum strains, together with the application of farmyard manure, provide promising opportunities for further and more comprehensive scientific research. Such studies could contribute to addressing a broader range of challenges in agricultural production, particularly those associated with the cultivation of cover and catch crops such as lupin, grown either as a sole crop or in mixed stands.

The present study not only confirms the role of farmyard manure in improving the soil nutrient environment, but also demonstrates its stimulating effect on soil microbial activity.

I. AIM, OBJECTIVES AND RESEARCH METHODS (DISSERTATION HYPOTHESES)

In the present dissertation, the doctoral candidate aims to investigate the effects of separate inoculation with bacteria of the genera Bradyrhizobium and Azospirillum on the quality of plant production of white sweet lupin, the activity of the soil microflora, and the residual effects on the yield and quality of a subsequent cereal crop (triticale).

To achieve this aim, six research objectives were formulated. Three of them focus on microbiological investigations: determining the effects of separate and combined inoculation of lupin with bacteria of the above-mentioned genera on the qualitative characteristics of the plant production and crop yield; assessing the nitrogen-fixing potential and virulence of strains of the genus *Bradyrhizobium*; and evaluating the effects of separate and combined inoculation with bacteria of the genera *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* on the soil microflora.

The remaining three objectives focus on investigating effective combinations of bacterial strains and the tested crop, lupin, under conditions of farmyard manure and mineral fertilizer application, and evaluating their effects on the quantity and quality of the plant production, as well as their residual effects on the reproductive processes and yield of triticale.

From a methodological perspective, the dissertation is appropriately designed. The major part of the experimental work, including laboratory investigations, pot experiments, and field trials, was conducted at the “Nikola Poushkarov” Institute of Soil Science, Agrotechnologies and Plant Protection, Sofia, and at the Institute’s experimental station in the village of Tsalapitsa, Plovdiv Region.

To achieve the research objectives, we conducted two pot experiments and a field experiment on alluvial meadow soil (Mollic Fluvisol). Farmyard manure was applied in some of the experimental treatments, while mineral fertilizers were applied in one treatment.

The study included seven strains of symbiotic nitrogen-fixing bacteria belonging to the genus *Bradyrhizobium*, as well as the associative nitrogen-fixing bacterium *Azospirillum brasilense*. We determined the abundance of the main taxonomic and physiological groups of microorganisms according to Grudeva et al. (2007). The population densities of the individual groups of soil microorganisms were determined using generally accepted methods of microbiological analysis.

The study also included the determination of chemical and biochemical parameters according to the methodology for soil laboratory analyses applied at the “Nikola Poushkarov” Institute of Soil Science, Agrotechnologies and Plant Protection.

III. PRESENTATION AND INTERPRETATION OF THE RESULTS. REFERENCES

The research work was conducted through pot and field experiments. The pot experiments were carried out in four replicates to allow statistical analysis of the obtained results. They included a control treatment (without inoculation and fertilization); separate inoculation with seven strains of *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*); inoculation with the same seven strains combined with the application of farmyard manure (200 g per pot); two treatments with combined inoculation using *Bradyrhizobium* strains and an *Azospirillum* strain; as well as comparative treatments without inoculation, with the application of farmyard manure alone and mineral fertilizers, respectively.

These experiments involved a considerable amount of experimental work, as 21 treatments, each with four replicates, resulted in a total of 84 experimental pots. Physiological observations were carried out at all major phenological stages of lupin development. At the flowering stage, the virulence of the tested bacterial strains was evaluated and the number of nodules was recorded. Following completion of the experiment, soil samples were analyzed to determine the abundance of different groups of microorganisms and to assess the relevant agrochemical parameters.

After the lupin crop, triticale plants were grown in the same pots in order to evaluate the residual effects of the applied microbiological treatments and the symbiotic association with the legume crop, which is considered a very suitable preceding crop for cereals. Following harvest, the respective analyses specified in the methodological design of the study were performed.

Based on the results obtained from the pot experiments, inoculation with *Bradyrhizobium* sp. 300 was identified as the most effective inoculant treatment for lupin (*Lupinus albus* saccharatus L.), as demonstrated by the highest grain yield, number of nodules, and level of biological nitrogen fixation. On this basis, a field experiment was established at the Tsalapitsa experimental station using a split-plot design, with harvest plots of 10 m². The distance between replicates was 0.70 m; it would have been preferable for this distance to be at least 1.0 m, but the size of the available experimental area was presumably limited.

The field experiment comprised seven treatments: a control without inoculation or fertilization; inoculation with *Bradyrhizobium* sp. 300 without and with farmyard manure application; combined inoculation with *Bradyrhizobium* sp. 300 and *Azospirillum* sp. 107, without and with farmyard manure application; application of farmyard manure at a rate of 40 t/ha; and mineral fertilization at N₄₀P₈₀K₈₀.

The results obtained from the pot experiments were consistent with those from the field experiment. The most pronounced increase in biomass and lupin grain dry matter was recorded following separate inoculation with *Bradyrhizobium* sp. 300 and combined inoculation with *Bradyrhizobium* sp. 300 and *Azospirillum* sp. 107 together with farmyard manure application. These treatments also resulted in increased grain yield and overall plant production of the subsequent triticale crop.

The results of the research are presented in 26 tables and 17 figures. The physiological development of the plants is additionally illustrated with 11 photographs.

The obtained results demonstrate a high degree of reliability, as the experimental data from nearly all investigations were subjected to appropriate mathematical and statistical analysis.

IV. CONTRIBUTIONS OF THE DISSERTATION

The most significant fundamental scientific contribution of the dissertation is the comparative investigation of seven strains of *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) in pot and field experiments with lupin grown on Alluvial-Meadow soil (Mollic Fluvisol), including an assessment of their residual effects on the subsequent triticale crop.

For the first time, combined inoculation with symbiotic nitrogen-fixing bacteria of the genus *Bradyrhizobium* and the associative nitrogen-fixing bacterium *Azospirillum brasilense* was investigated in lupin, a legume crop newly introduced into this type of microbiological research. The study provides new knowledge on the effects of nitrogen-fixing bacteria on nodule formation and the biometric parameters of lupin, as well as on the microbiological activity of the studied soil.

An important applied scientific contribution to agricultural practice is the finding that farmyard manure acts as a stimulant of the activity of nitrogen-fixing bacteria in the soil, resulting in a significant increase in lupin biomass and grain yield.

Another contribution of scientific and practical significance is the established positive residual effect of lupin inoculation with strains of *Bradyrhizobium* and *Azospirillum*, expressed in quantitative and qualitative improvements in triticale plant production and grain yield.

V. ASSESSMENT OF THE QUALITY OF THE SCIENTIFIC PUBLICATIONS REFLECTING THE RESULTS OF THE DISSERTATION

Three publications related to the dissertation topic have been published in the journal *Balkan Ecology*. One is a single-author publication, while the other two are co-authored with my former scientific supervisor, Assoc. Prof. A. Dimitrova. The publications accurately present the results obtained from the research conducted within the framework of the dissertation.

VI. CRITICAL REMARKS, QUESTIONS AND RECOMMENDATIONS TO THE CANDIDATE

I have no substantial critical remarks regarding the dissertation. The comments I would make are mainly related to the fact that some of the conclusions are not sufficiently convincing, and a few minor stylistic errors have been identified.

My recommendation to the candidate is to continue the research on the effects of inoculation with nitrogen-fixing bacteria on lupin grown both as a sole crop and in mixed stands as a cover (catch) crop. Such research would be particularly valuable in specialized rice- and vegetable-based crop rotations, where the need for additional inputs of organic matter into the soil is considerable.

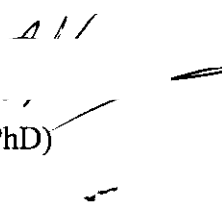
CONCLUSION

Based on the various research methods mastered and applied by the doctoral candidate, the properly conducted experiments, and the generalizations and conclusions drawn from the results, I consider that the submitted dissertation meets the requirements of the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria Act (DASRBA) and the Regulations on the Terms and Procedure for the Acquisition of Academic Degrees and the Occupation of Academic Positions at the Agricultural Academy, which gives me sufficient grounds to evaluate the dissertation POSITIVELY.

I therefore respectfully propose that the esteemed Scientific Jury also vote positively and award Veselinka Kalinova Petrova, an independent doctoral candidate, the educational and scientific degree "Doctor" (PhD) in the field of higher education Biology, professional fields 4.3. Biological Sciences and 6.1. Crop Science, scientific specialty "Microbiology".

Date: 29 September 2026

Sofia

REVIEW PREPARED BY: 

(Prof. Ivan Dimitrov Spasov, PhD)