

dr hab. inż. Elżbieta Jamroz, prof. uczelni
Instytut Nauk o Glebie, Żywnienia Roślin
i Ochrony Środowiska
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Wrocław, 16.09.2022

DZIEKANAT WYDZIAŁU
BIOTECHNOLOGII I OGRODNICTWA

Wpłynęło dnia 21.09.2022r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej pt. „Wpływ naturalnej sukcesji leśnej w Karpatach na właściwości gleb”

Recenzję wykonano na zlecenie prof. dr. hab. inż. Marcina Rapacza, Przewodniczącego Rady Dyscypliny Rolnictwo i ogrodnictwo Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie. Praca doktorska została zrealizowana pod kierunkiem dr. hab. inż. Tomasza Zaleskiego, prof. URK (promotor) oraz dr hab. inż. Agnieszki Józefowskiej, prof. URK (promotor pomocniczy).

1. Wybór problematyki badawczej

Równowaga ekosystemów na kuli ziemskiej warunkowana jest procesami, powiązаныmi ściśle ze sobą, opartymi na akumulacji i przepływie składników, wśród których niewątpliwie najważniejszą rolę pełni węgiel organiczny. Składnik ten zapewnia stabilność środowiska naturalnego na Ziemi z uwagi na fakt, że większość całkowitej jego puli występuje w formie silnie reaktywnych substancji humusowych. Ekosystemy leśne zawierają połowę całkowitej ilości węgla organicznego na Ziemi, odgrywają zatem istotną rolę w jego sekwestracji i są jednym z najważniejszych elementów biosfery. Ekspansja antropogeniczna w środowisku naturalnym - obserwowana od szeregu lat - wiąże się ze zmianami w użytkowaniu nie tylko obszarów rolniczych ale także leśnych co skutkuje zmianami właściwości pokrywy glebowej, a w szczególności ilości i jakości materii organicznej. Kontrola tych zmian i właściwa reakcja w przypadku obserwowanych niekorzystnych trendów będzie możliwa tylko w przypadku bardzo dokładnego poznania jakości środowiska naturalnego. Gleba jako warstwa kontaktowa geosfery, atmosfery i hydrosfery, składa się ze składników mineralnych, materii organicznej, ich połączeń, wody, powietrza oraz organizmów żywych. Najważniejszym składnikiem glebowej materii organicznej jest próchnica, będąca mieszaniną względnie odpornych na rozkład substancji bezpostaciowych – głównie substancji humusowych, produktów zaawansowanych procesów humifikacji. Do oceny jakości glebowej materii organicznej wykorzystuje się analizy jakościowe i ilościowe, w tym zastosowaną przez Doktorantkę w niniejszej pracy ekstrakcję alkaliczną, rozwijane i doskonalone przez badaczy od ponad 200 lat. W ostatnich latach w literaturze światowej pojawiły się publikacje krytykujące przydatność ekstrakcji alkaliami do oceny substancji humusowych (Lehman i Kleber 2015; Kögel-Knabner i Rumpel 2018), jednak poglądy te są bardzo kontrowersyjne, co skutecznie zostało udowodnione przez najważniejsze autorytety w świecie badań glebowej materii organicznej (De Nobili 2019; Hayes i wsp. 2017; Hayes i Swift, 2020; Olk i wsp. 2019; Vuijnovic i wsp., 2020; Weber i wsp. 2018) przy silnym wsparciu International Humic Substances Society (<http://humic-substances.org/>).

Problematyka badawcza przedstawionej do oceny pracy doktorskiej bardzo dobrze wpisuje się w zagadnienia poznawania środowiska naturalnego, jest aktualna, ważna nie tylko z punktu widzenia lokalnego, ale także międzynarodowego odbiorcy. Autorka rozprawy podjęła się określenia czynników decydujących o przemianach węgla organicznego w glebach polskiej części Karpat w warunkach naturalnej sukcesji leśnej obejmującej półnaturalne łąki, na których prowadzona była gospodarka rolno-pasterska. Istotnym walorem przeprowadzonych badań jest fakt, iż objęły one swoim zasięgiem nie jeden, wybrany fragment, lecz trzy karpaccie parki narodowe, Pieniński, Magurski i Bieszczadzki Park Narodowy. Tak zróżnicowany obszar badań oraz zakres przeprowadzonych analiz pozwoliły Pani mgr Justynie Sokołowskiej na kompleksowe podejście do aspektu transformacji materii organicznej w warunkach antropopresji.

2. Formalna ocena rozprawy doktorskiej

Przedłożona do oceny rozprawa składa się z trzech spójnych tematycznie artykułów opublikowanych w znaczących czasopismach naukowych. W każdym z tych artykułów Doktorantka jest pierwszym autorem, w dwóch z nich jest zarazem autorem korespondencyjnym. Publikacje wchodzące w skład rozprawy:

1. **Justyna Sokołowska** (autor korespondencyjny), Agnieszka Józefowska, Karolina Woźnica, Tomasz Zaleski. 2020. Succession from meadow to mature forest: Impacts on soil biological, chemical and physical properties – Evidence from the Pieniny Mountains, Poland. *Catena* 189, 104503 – IF (wg roku publikacji) **5,198**; punktacja ministerialna **140**, liczba cytowań wg bazy Scopus na dzień 13.09.2022 – **9**
2. **Justyna Sokołowska** (autor korespondencyjny), Agnieszka Józefowska, Tomasz Zaleski. 2022. Humus horizon development during natural forest succession process in the Polish Carpathians. *Journal of Mountain Science*, 19(3), 647-661 – IF (wg roku publikacji) **2,371**, punktacja ministerialna **70**, liczba cytowań wg bazy Scopus na dzień 13.09.2022 – **1**
3. **Justyna Sokołowska**, Agnieszka Józefowska, Tomasz Zaleski. 2022. Impact of natural forest succession on changes in soil organic carbon in the Polish Carpathian Mountains. *Forests*, 13, 744 – IF (wg roku publikacji) **3,282**, punktacja ministerialna **100**, liczba cytowań wg bazy Scopus na dzień 13.09.2022 – **0**

Łączna wartość wskaźnika IF ww. prac wynosi **10,851**, natomiast punktacja ministerialna **310**. Są to wartości wysokie, wskazujące na ambitny dobór czasopism, w których publikuje Autorka. Wszystkie trzy prace ukazały się w latach 2020 - 2022, zatem wyniki cytowań mają realne szanse na wzrost w kolejnych latach.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska, oprócz trzech prac, które w całości włączono do opracowania, zawiera oświadczenia wszystkich współautorów wraz z procentowym określeniem ich udziału w opublikowanych manuskryptach. Według przedłożonych oświadczeń wkład Pani mgr Justyny Sokołowskiej w opublikowanych pracach był dominujący, odpowiednio 60, 70 i 70% i obejmował opracowanie założeń prowadzonych badań, prace terenowe, dobór metodyki laboratoryjnej, przeprowadzenie analiz laboratoryjnych, opracowanie i interpretacja wyników, przygotowanie manuskryptów oraz korekty prac po recenzjach.

W opracowaniu przedstawionym do oceny oprócz ww. prac (umieszczonych w rozprawie chronologicznie według roku opublikowania), oraz oświadczeń, znalazły się następujące rozdziały: streszczenie w języku polskim i angielskim, spis treści, wstęp, cel pracy, struktura pracy, przegląd literatury, materiały i metody, wyniki badań, wnioski oraz literatura wykorzystana w autoreferacie. Całość rozprawy łącznie obejmuje 95 stron. Rozprawa doktorska w mojej ocenie została skonstruowana prawidłowo, w sposób uporządkowany i bardzo logicznie prowadzi czytelnika przez kolejne etapy charakterystyki przeprowadzonych badań.

3. Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

Głównym celem badań jaki postawiła przed sobą Doktorantka była ocena wpływu naturalnej sukcesji leśnej na morfologiczne, fizyko-chemiczne i mikrobiologiczne właściwości gleb w wybranych karpackich parkach narodowych. Cel ten miał zostać osiągnięty poprzez określenie zmian zawartości węgla organicznego, składu frakcyjnego próchnicy, określenie zaawansowania procesu humifikacji oraz ocenę właściwości mikrobiologicznych wraz ze zmianami wskaźników biochemicznych pod wpływem naturalnej sukcesji leśnej. Jest to podejście bardzo słuszne, które pozwala w sposób kompleksowy ocenić zmiany jakościowe i ilościowe glebowej materii organicznej w środowisku.

W pierwszej publikacji Autorka wraz z zespołem wykazała, że naturalna sukcesja leśna tylko w niewielkim stopniu wpływa na właściwości badanych gleb na terenie Pienińskiego Parku Narodowego. Zasoby węgla w wierzchnim poziomie mineralnym gleb pod drzewostanem były nieznacznie wyższe w porównaniu do gleb łąkowych, podobnie niewielki był wpływ sukcesji na aktywność mikrobiologiczną badanych gleb.

Nasuwają mi się tu trzy pytania i jedna uwaga:

1. **Czy lokalizacja obiektów badawczych uwzględniła wysokość nad poziomem morza oraz wystawę?** Wiadomym jest, że zawartość węgla organicznego w glebach górskich w dużym stopniu warunkowana jest tymi dwoma czynnikami. Procesy mineralizacji materii organicznej zwalniają tempo wraz z wysokością i na stokach o wystawie północnej; zatem proszę o odpowiedź **czy wszystkie obiekty badawcze były zlokalizowane na tej samej wysokości oraz wystawie?**
2. **Czy wszystkie badane próbki pobrane były z poziomu próchnicznego?** Rozkład węgla organicznego w profilu glebowym uzależniony jest od procesu glebotwórczego; podanie wyłącznie głębokości pobrania próbek bez uszczegółowienia z jakiego poziomu genetycznego pochodziły jest niekompletne i może prowadzić do mylnej interpretacji.
3. **Czy i w jaki sposób wyeliminowane zostały fragmenty roślinne z glebowego materiału mineralnego przed przystąpieniem do analiz?**

I uwaga:

Zacytowany w metodyce przewodnik analityczny (Kabała and Karczewska, 2017) jest wewnętrzną instrukcją autorów dla studentów Instytutu Nauk o Glebie Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Nie jest to pozycja opublikowana ani recenzowana, nie powinna być zatem stosowana jako źródło metod analitycznych.

W drugiej publikacji Pani mgr Justyna Sokołowska skupiła się na procesach humifikacji oraz charakterystyce substancji humusowych w warunkach zmiany użytkowania, w oparciu o analizę frakcjonowaną oraz analizy spektroskopowe kwasów huminowych i fulwowych.

Autorka potwierdziła, że pomimo nieznacznego wpływu sukcesji na zmiany zawartości węgla organicznego, istotnie uległ zmianie skład frakcyjny endopróchnicy, a co za tym idzie zaawansowanie procesu humifikacji. Z przyjemnością zaznaczam, że Autorka zasługuje na pochwałę, gdyż w sposób prawidłowy dobiera terminologię opisując substancje humusowe, mówiąc o **dojrzałości kwasów fulwowych**, a nie jak to bardzo często - nieprawidłowo - bywa używane „o stopniu humifikacji kwasów huminowych lub fulwowych”.

Ponownie, studium tego manuskryptu nasunęło mi kilka pytań, na które chciałabym uzyskać odpowiedź od Pani mgr Justyny Sokołowskiej podczas obrony:

1. W metodyce podano, iż z powierzchni gleby usunięto świeży opad liści, **czy w badanych glebach stwierdzono występowanie poziomu epihumusowego (Oh) lub poziomu fermentacyjnego (Of) i jeśli tak to czy oddzielono je od mineralnej części profilu?**
2. Zastosowana w publikacji metoda rekomendowana przez IHSS została opracowana do izolowania substancji humusowych przeznaczonych następnie do badań jakościowych. Prawdą jest, że można stosować tę metodę do badań składu ilościowego, jednak wymagana jest modyfikacja procedury, polegająca na wydłużeniu czasu ekstrakcji alkalicznej do momentu uzyskania supernatantów odbarwionych, zwykle trwa to kilka dni przy ekstrakcji statycznej i może być skrócona podczas ekstrakcji dynamicznej. Tak krótka - 4 godzinna zaledwie ekstrakcja, która została zastosowana w prezentowanych badaniach nie wyizolowała całości węgla wchodzącego w skład wszystkich frakcji humusowych, co przełożyło się na uzyskane wyniki (np. suma frakcji węgla kwasów huminowych i fulwowych oraz humin nie odpowiada zawartości węgla organicznego) i z całą pewnością zawyża zawartość humin. Podobnie w zbyt krótkim czasie ekstrakcji upatruję przyczynę tak niskich wartości współczynników absorbancji Q4/Q6 kwasów fulwowych (Tab. 6). **Czym powodowana była decyzja Autorki o takim sposobie (czasie ekstrakcji) przy ilościowym oznaczeniu frakcji próchnicy?**
3. Podczas ekstrakcji alkalicznej kwasy huminowe zostały oddzielone od kwasów fulwowych po acidyfikacji ekstraktu, a następnie rozpuszczone. Zawartość węgla została oznaczona zarówno w rozpuszczonej frakcji kwasów huminowych jak też kwasów fulwowych. Z reguły zawartość frakcji kwasów fulwowych wylicza się z różnicy między TOC oznaczonym w ekstrakcie alkalicznym a TOC kwasów huminowych z uwagi na obecność w ekstrakcie oprócz frakcji kwasów fulwowych także innych związków typu aminokwasy, białka, cukry lub kwasy tłuszczowe. Moje pytanie brzmi: **czy przed oznaczeniem węgla w ekstrakcie kwasów fulwowych zostały one oczyszczone np. z użyciem żywic typu XAD-8?**
4. W tabeli 4 podano zawartość TOC w BdNP w pierwszym obiekcie - 57,1 g/kg, Ntot – 1,7 g/kg; stosunek C:N nie może wynosić zatem 52,1
5. Analizowane gleby charakteryzowały się znacznym udziałem minerałów ilastych, które znane są z tworzenia połączeń z substancjami humusowymi. Dużą część tych substancji humusowych można wyizolować z materiału mineralnego poddając je odpowiedniej ekstrakcji. Moje pytanie brzmi: **czy, a jeśli tak to w jaki sposób oznaczana była grupa połączeń substancji humusowych z minerałami ilastymi?**
6. Wyniki analiz właściwości spektroskopowych substancji humusowych w dużym stopniu zależą od sposobu przygotowania próbek. W przypadku obecności w glebie minerałów ilastych pojawiają się w ekstraktach alkalicznych koloidy mineralne, które

mogą wpływać na wyniki oznaczeń UV-VIS. Moje pytanie brzmi: **czy była przeprowadzona procedura usuwania koloidów podczas analizy frakcjonowanej?**

Uwaga:

Humifikacja prowadzi do zmian w poszczególnych frakcjach próchnicy i zależy w dużym stopniu od typu siedliska, a zatem pokrywy roślinnej. Porastająca siedliska roślinność jest źródłem opadu roślinnego, który podlega następnie mineralizacji i humifikacji. Każdy obiekt/typ siedliska charakteryzuje się inną zawartością węgla organicznego, a w konsekwencji inną zawartością poszczególnych frakcji. **Proponuję, aby w przyszłych badaniach uwzględniła Pani obrazowanie wyników w postaci procentowego udziału poszczególnych frakcji w ogólnej zawartości węgla organicznego.** Czytelnikowi łatwiej jest zrozumieć kierunek przemian, gdy wyniki przedstawione są w taki właśnie sposób; widać wówczas wyraźnie kierunek zmian, które następują pod wpływem czynników takich jak np. zmiany użytkowania, sukcesja, zanieczyszczenia środowiska itp. Można wówczas obiektywnie porównywać różne siedliska pod kątem udziału poszczególnych frakcji, a więc określać kierunki procesu transformacji materii organicznej.

W trzeciej publikacji Doktorantka skupiła się na określeniu wpływu naturalnej sukcesji na właściwości biologiczne gleb badanego obszaru Karpat. **W większości prac dotyczących charakterystyki materii organicznej właściwości biologiczne gleb ograniczają się do określenia aktywności enzymatycznej. W przedstawionej do oceny rozprawie doktorskiej ta część jest bardziej rozbudowana, co oceniam bardzo wysoko. Stanowi o oryginalności i nowatorstwie podjętych badań.** Dzięki obecności eksperta w tej dziedzinie Pani dr hab. inż. Agnieszki Józefowskiej, prof. URK w roli Promotora pomocniczego, Doktorantka pogłębiła zagadnienie właściwości mikrobiologicznych dokonując pomiaru respiracji heterotroficznej gleby, określając węgiel biomasy mikroorganizmów, a także opisując wskaźniki biochemiczne. Autorka stwierdziła, że najwyższa zawartość węgla biomasy mikroorganizmów występowała w siedlisku półnaturalnej łąki, natomiast najniższa pod starodrzewem, przy czym wyższe zawartości węgla biomasy stwierdzono w górnej części profilu – w warstwie 0-10 cm, w porównaniu do warstwy 10-20 cm. Opisując parametry wpływające na zawartość węgla organicznego (rozd. 5.7 str. 31 rozprawy) Pani mgr Justyna Sokołowska użyła stwierdzenia, że cyt: „W warstwie 0-10 cm zawartość węgla organicznego w glebach (...) kształtowana była przez iloraz mineralizacji, (...) iloraz mikrobiologiczny, (...) zawartość węgla rozpuszczalnego (...)”. Moje pytanie brzmi: **czy nie jest tak, że to raczej obecność węgla organicznego decyduje o aktywności mikrobiologicznej, dostęp do łatwo przyswajalnego źródła energii jakim jest choćby DOC determinuje bogactwo świata mikrobiologicznego, a wskaźniki obliczone biochemiczne są jedynie potwierdzeniem tego stanu, podobnie jak obliczany często wskaźnik C:N nie jest przyczyną a obrazem tempa mineralizacji materii organicznej?**

W sformułowanych wnioskach końcowych Autorka wymieniła najważniejsze czynniki decydujące o transformacjach materii organicznej gleb badanego obszaru polskiej części Karpat. Wątpliwość moją wzbudza jedynie zapis wniosku 5, w którym Doktorantka stwierdza, że cyt: „W warstwie 10-20 cm nastąpił wzrost tempa humifikacji, jak również spadek zawartości kwasów humusowych i kwasów fulwowych w początkowym stadium rozkładu”. Wydaje mi się, że powinno być użyte sformułowanie kwasów huminowych i kwasów fulwowych – kwasy humusowe to grupa połączeń węgla obejmująca dwie frakcje: kwasy huminowe i kwasy fulwowe. Ponadto, proces humifikacji wiąże się z transformacją połączeń

węgla w kierunku zwiększania frakcji kwasów humusowych - moim zdaniem zapis tego wniosku jest niezbyt fortunny.

Wszystkie wymienione przeze mnie pytania i uwagi w żaden sposób nie wpływają na moją ogólną – pozytywną - ocenę wartości merytorycznej rozprawy, która stanowi niezwykle cenne źródło informacji o otaczającym nas środowisku naturalnym. Pani mgr inż. Justyna Sokołowska wykazała, że niezmienione ekosystemy łąkowe i leśne są gwarantem utrzymania stabilności ekosystemów lądowych, szczególnie w kontekście sekwestracji węgla oraz obserwowanych zmian klimatu.

Podsumowując ocenę merytoryczną stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, którym było określenie czynników decydujących o przemianach węgla organicznego w glebach polskiej części Karpat w warunkach naturalnej sukcesji leśnej obejmującej półnaturalne łąki, na których prowadzona była gospodarka rolno-pasterska. Publikacje składające się na rozprawę doktorską mgr inż. Justyny Sokołowskiej stanowią spójne tematycznie dzieło, w którym jasno został sformułowany tytuł i cel prac badawczych, wyniki, dyskusja oraz wnioski. Ponadto, przedstawiona rozprawa stanowi dowód wiedzy teoretycznej i praktycznej Doktorantki w zakresie dyscypliny: „Rolnictwo i ogrodnictwo” a także potwierdza umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

WNIOSEK KOŃCOWY

Stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska autorstwa Pani mgr inż. Justyny Sokołowskiej pt. „Wpływ naturalnej sukcesji leśnej w Karpatach na właściwości gleb” wykonana pod merytorycznym kierunkiem dr. hab. inż. Tomasza Zaleskiego, prof. URK - Promotora oraz dr hab. inż. Agnieszki Józefowskiej, prof. URK - Promotora pomocniczego, w pełni mieści się dyscyplinie: „Rolnictwo i ogrodnictwo” spełnia wymagania określone w art. 187ust. 1 oraz ust. 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018, poz. 1668 z późn. zm.) W związku z powyższym wnioskuję o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego w dyscyplinie.

Elżbieta Jęmur