

prof. dr hab. inż. Wojciech Pusz  
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu  
Katedra Ochrony Roślin  
Zakład Fitopatologii i Mykologii  
pl. Grunwaldzki 24a  
50-363 Wrocław

Wrocław, dn. 16.12.2025 r.

## RECENZJA

Rozprawy doktorskiej **MSc Eng. Jean de Dieu Muhire**

pt. „**Endophytes eradication technology in the production  
of symbiotically modified grasses**”

(„**Technologia eradykacji endofitów w produkcji traw modyfikowanych symbiotycznie**”)

wykonanej w Katedrze Mikrobiologii i Ekologii Roślin, Politechniki Bydgoskiej

Promotor rozprawy: dr hab. inż. Dariusz Pańka

II promotor: dr hab. inż. Jan Mućko, prof. uczelni

Niniejszą recenzję sporządzono w odpowiedzi na pismo Przewodniczącej Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo, Politechniki Bydgoskiej z dnia 17 listopada 2025 roku, informującego o wyznaczeniu mojej osoby przez Radę Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo, Politechniki Bydgoskiej na opiniodawcę w przedmiotowej sprawie.

### **Problematyka badawcza podjęta w pracy**

W ostatnich dekadach wzrasta zainteresowanie zarówno badaczy, hodowców roślin jak i producentów rolnych, wykorzystaniem alternatywnych metod związanych ze strategiami

zarządzania stresem roślin uprawnych. Jedną z metod są próby wykorzystania endofitów w tym tych z rodzaju *Epichloë*.

Dzięki obecności endofitów *Epichloë*, trawy są zazwyczaj bardziej odporne na liczne czynniki stresowe, zarówno abiotyczne, jak i biotyczne. Wybrane izolaty grzybów endofitycznych z rodzaju *Epichloë/Neotyphodium*, tzw. „*novel endophytes*”, mogą być wykorzystane do symbiotycznej modyfikacji traw (SMG), zapewniając roślinom większą odporność na czynniki stresowe. Wprowadzenie tych izolatów do rośliny wymaga jednak wcześniejszego usunięcia dzikich endofitów z odmiany, która ma być modyfikowana. Jednym ze sposobów jest metoda oparta na procesie eradykacji.

Proces eradykacji jest trudny i czasochłonny. Zazwyczaj przeprowadza się go za pomocą odpowiednich związków chemicznych (np. fungicydów) lub wysokiej temperatury, a ich skuteczność bywa nie zadowalająca. Dlatego głównym celem przeprowadzonych przez Doktoranta badań było określenie przydatności plazmy niskotemperaturowej do eradykacji dzikich endofitów z roślin w celu opracowania propozycji innowacyjnej, skutecznej i przyjaznej dla środowiska technologii usuwania niepożądanych endofitów z traw, a następnie wykorzystania ich w procesie symbiotycznej modyfikacji nowych odmian.

Doktorant zaproponował hipotezę roboczą, że dzięki działaniu przeciwbakteryjnemu i przeciwgrzybiczemu plazmy niskotemperaturowej wzrost endofitu *Epichloë festucae* może zostać znacząco zahamowany po zastosowaniu plazmy DBD (*Dielectric Barrier Discharge*) oraz GA (*Gliding Arch*).

W celu realizacji badań związanych z niniejszą rozprawą doktorską Doktorant założył następujące cele badawcze:

- zebranie genotypów traw i izolatów grzybów endofitycznych zasiedlających różne genotypy dostępne komercyjnie, jak również ekotypy i scharakteryzowanie genotypów zasiedlonych przez endofity na podstawie wybranych parametrów,

- identyfikacja zebranych izolatów endofitów i określenie ich zróżnicowania genetycznego,
- określenie granicznych i optymalnych parametrów pracy generatora plazmy DBD i plazmy GA zapewniających najwyższy poziom eradykacji endofitów,
- porównanie efektywności plazmy DBD i plazmy GA,
- określenie wpływu zimnej plazmy atmosferycznej (plazmy DBD i GA) na zasiedlenie przez grzyby mikroskopowe,
- określenie wpływu plazmy (DBD i GA) na aktywność wybranych enzymów,
- zaproponowanie wytycznych dla prototypu projektu technologii eradykacji endofitów przy użyciu zimnej plazmy.

### **Formalna ocena pracy**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mieści się w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo. Praca liczy 175 strony maszynopisu, w tym 35 tabel, 36 wykresów / rycin. Autor podzielił swoją rozprawę na 7 rozdziałów z podrozdziałami. Kolejność pracy stanowi przemyślany układ, w którym trudno znaleźć jakiegokolwiek większe uchybienia. Świadczy to o dobrym przygotowaniu Doktoranta do interpretacji oraz omówienia uzyskanych wyników. Atutem rozprawy jest bogata literatura, na którą składa się 220 pozycji z czego ogromna większość to pozycje anglojęzyczne. Sama rozprawa napisana została starannie chociaż zawiera uchybienia, które nie wpływają na moją pozytywną oceną formalnej strony pracy.

### **Merytoryczna ocena pracy**

Przedstawiona mi do recenzji praca jest obszerna, obejmuje zagadnienia na pograniczu dyscyplin naukowych co w mojej opinii jest największym jej plusem. Mnogość wykonanych doświadczeń, ich przygotowanie, ocena i interpretacja wymagała od Doktoranta dużego zaangażowania i pracy. Temat jest bardzo interesujący i mam nadzieję, że będzie rozwijany nadal w jednostce macierzystej Doktoranta, a uzyskane wyniki będą stanowić bazę do

świetnych publikacji. Aby jednak do tego etapu doszło konieczne jest rozwianie moich wątpliwości – proszę o ustosunkowanie się do nich Doktoranta.

Proszę o odpowiedź czym kierowano się podczas wyboru lokalizacji z których pobierano materiał do badań? Czy były pobierane z siedlisk o różnym wpływie antropopresji np. z polany śródleśnej czy z łąk / pastwisk / miedz? Czy Doktorant zauważył jakiegokolwiek różnice między izolatami pobranymi z różnych siedlisk?

Kolejne moje pytanie związane jest z liczbą roślin / klonów z których były izolowane endofity (podrozdział 4.4.2). Nie znalazłem w tekście informacji jaka była to wartość. Ciekawi mnie czym kierowano się w wyborze izolatów do dalszych badań, bo w rozdziale 5.2.1 widnieje wartość „23” izolatów.

W rozdziale 4.6.2. Doktorant opisuje założenia metodyczne związane z wykorzystaniem plazmy do odkażania nasion. Moje pytanie czy nasiona do tego etapu badań były dezynfekowane np. powierzchniowo w celu ograniczenia grzybów w spermosferze? Interesuje mnie też, dlaczego do analizy mykologicznej nasion wybrano pożywkę PDA, a nie maltozową – dedykowaną do badań nasion? Proszę także o informacje czy zastosowanie plazmy wpłynęło na zbiorowiska grzybów zasiedlających nasiona z punktu widzenia różnorodności gatunkowej? Nie znajduje bowiem w pracy listy gatunków wyizolowanych z nasion przed / po zastosowaniu plazmy, a samo przedstawienie wyników tej części badań w rozdziale 5.5 jest nieczytelne.

Proszę o informację w jaki sposób wykonano pomiary grzybni, które zostały przedstawione w tabeli numer 6?

Pomysł wykorzystania plazmy do eradykacji jest innowacyjny i rokuje duże nadzieje na wykorzystanie w przyszłości. Proszę jednak o informacje czy Doktorant może wskazać szacunkowe koszty rozwiązania przedstawionego w rozdziale 5.7?

Przygotowując elementy niniejszej rozprawy celem opublikowania warto, aby Doktorant zastanowił się nad ich przedstawieniem w formie graficzno-tabelarycznej. Wykresy i tabele w formie przedstawionej w dysertacji są w mojej opinii nieczytelne i trudno w obecnej postaci prawidłowo je zinterpretować.

Podobnie w kwestii rozdziału poświęconej podsumowaniu / wnioskom (rozdział 7). Wnioski przygotowane przez Doktoranta nie są moim zdaniem wnioskami, lecz podsumowaniem pracy. Proszę przygotować trzy najważniejsze wnioski jakie wysnuto w trakcie badań i przedstawić je podczas publicznej obrony zamiast czternastu przedstawionych w dysertacji.

### **Wnioski końcowe**

W podsumowaniu uważam, że założone przez doktoranta cele badawcze zostały zrealizowane. Pan magister Jean de Dieu Muhire wykazał, że plazma DBD w optymalnym zakresie mocy (300W-600W) znacząco zredukowała kolonizację życicy trwałej przez endofity lecz nie osiągnięto pełnej eradykacji. W związku z tym opracowano wytyczne do prototypowego projektu technologii, zgodnie z którymi nasiona potraktowane plazmą DBD powinny być poddane dalszej obróbce jedną z metod tradycyjnych: chemicznej (np. tebukonazolem i tiuramem), termicznej lub poprzez odpowiednie długotrwałe przechowywanie (temperatura/wilgotność).

Praca dostarcza solidnych dowodów na to, że plazma DBD jest skutecznym narzędziem do znaczącej redukcji liczby endofitów oraz zasiedlenia nasion życicy trwałej przez grzyby, a także stymuluje aktywność enzymów obronnych roślin. Największy wpływ na te procesy miała moc generatora plazmy. Chociaż nie osiągnięto pełnej eradykacji, co wymagało sformułowania modelu technologii hybrydowej (plazma plus metoda tradycyjna), wyniki stanowią istotny krok w kierunku opracowania innowacyjnej i ekologicznej metody wstępnej obróbki nasion traw przeznaczonych do symbiozy z nowymi endofitami.

**Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie istotnego problemu naukowego i wnosi cenny wkład w rozwój nauk rolniczych w obrębie dyscypliny *rolnictwo i ogrodnictwo* oraz spełnia wszystkie warunki określone w art. 187 ustawy *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz.U. z 2024 r., poz. 1571), dlatego wnioskuję o jej dopuszczenie do kolejnych etapów postępowania doktorskiego.**

**W związku z powyższym przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Rolnictwo i ogrodnictwo, Politechniki Bydgoskiej, wniosek o dopuszczenie do publicznej obrony pana mgr Jean de Dieu Muhire oraz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Wojciech Pusz