

MARTA ALEKSANDROWICZ-TRZCIŃSKA, ADAM SZANIAWSKI, ANNA SOŁTYS,
KRZYSZTOF BASZAK, MARCIN STUDNICKI

Wpływ nanocząstek srebra i miedzi na wzrost i ograniczanie pasożytniczej zgorzeli siewek sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) w szkółce Nadleśnictwa Spsychowo

Effect of silver and copper nanoparticles on growth and the control of damping-off disease in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in the nursery of Spsychowo Forest District

ABSTRACT

Aleksandrowicz-Trzcńska M., Szaniawski A., Sołtys A., Baszak K., Studnicki M. 2018. Wpływ nanocząstek srebra i miedzi na wzrost i ograniczanie pasożytniczej zgorzeli siewek sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) w szkółce Nadleśnictwa Spsychowo. Sylwan 162 (6): 490-498.

Nanoparticles are gaining ever-wider application in plant production (for both agriculture and forestry), in the role of pesticides, as well as stimulators of plant growth and resistance. We sought to determine the efficacy of silver and copper nanoparticles (AgNPs and CuNPs respectively), used as seed dressings or subjected to foliar application, in affording protection from parasitic damping-off disease among soil-grown seedlings of Scots pine in a forest nursery. Experiments also assessed the influence of the nanoparticles on the growth of the plants potentially safeguarded in this way. Nanoparticles were used in seed soaking and foliar spraying at 50 ppm concentration. Pines treated with fungicides (Zaprawa Nasienna T 75 DS, Acrobat MZ 69 WG, Topsin M 500 SC, Gwarant 500 SC, Thiram Granuflo 80 WG and Signum 33 WG) or unprotected at all were used for comparison. In each treatment (AgNPs, CuNPs, fungicides or unprotected), seedlings were inventoried 6 weeks after the sowing and at the end of the growing season, while all individuals on 80 1-m-long segments of seed row were counted. At the end of the growing season, shoot length, root-collar diameter, root length and dry mass of shoots and roots were determined. The seedlings treated with nanoparticles had longer root systems of greater dry mass, but also only more weakly-developed above-ground parts (both height and dry mass being limited) in comparison with young Scots pines that had been fungicide-treated or were unprotected. It resulted in a significantly more favourable ratio between shoot and root masses, where nanoparticle treatment had been applied. The effectiveness of the protection extended to the germination and first-growth stages up to 6 weeks from the time of sowing was furthermore shown to be greatest where AgNPs had been applied, while at the season end there were comparable results among pines treated with either nanoparticles or fungicides. Our results thus indicate that nanoparticles limit damping-off disease in pine seedlings (AgNPs more effectively than CuNPs), with that effectiveness also proving comparable with that noted for the fungicides applied traditionally.

KEY WORDS

seedling growth, disease control, *Pinus sylvestris*, damping-off disease, nanoparticles

ADDRESSES

Marta Aleksandrowicz-Trzcńska ⁽¹⁾ – e-mail: marta_aleksandrowicz_trzcinska@sggw.pl

Adam Szaniawski ⁽¹⁾ – e-mail: adamszaniawski89@gmail.com

Anna Soltys ⁽¹⁾ – e-mail: anna_maria_soltys@o2.pl

Krzysztof Baszak ⁽²⁾ – e-mail: krzysztof.baszak@olsztyn.lasy.gov.pl

Marcin Studnicki ⁽³⁾ – e-mail: marcin_studnicki@sggw.pl

⁽¹⁾ Katedra Ochrony Lasu i Ekologii, SGGW w Warszawie; ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

⁽²⁾ Nadleśnictwo Spychowo; ul. Mazurska 3, 12-150 Spychowo

⁽³⁾ Katedra Doświadczalnictwa i Bioinformatyki, SGGW w Warszawie; ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

Wstęp

Nanocząstki to agregaty atomów lub molekuł, których przynajmniej jeden wymiar zawiera się w przedziale 1-100 nm [Ball 2002; Roco 2003]. Ich małe rozmiary i duża zewnętrzna powierzchnia powodują, że mają znacząco różne właściwości od materiałów litych tego samego rodzaju [Nel i in. 2006]. Unikalne właściwości nanocząstek sprawiają, że znajdują one szerokie zastosowanie w różnych dziedzinach gospodarki, w tym również w produkcji roślinnej (w rolnictwie i leśnictwie) jako insektycydy i fungicydy oraz nawozy stymulujące wzrost i odporność roślin na choroby [Monica, Cremonini 2009; Servin i in. 2015].

Pasożytnicza zgorzel siewek jest chorobą przynoszącą duże straty w szkółkach leśnych. Powodowana jest ona przez patogeny należące do różnych grup systematycznych, m.in. *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* i inne gatunki *Fusarium* oraz *Phytophthora cactorum* [Lazreg i in. 2014]. Zwalczanie choroby jest trudne, m.in. ze względu na występowanie odporności grzybów na fungicydy [Goffeau 2008]. Dotychczas, w badaniach *in vitro*, wykazano antygrzybowe właściwości nanocząstek srebra i miedzi w stosunku do różnych patogenów roślin, również tych powodujących zgorzel siewek. Skuteczność nanocząstek wykazano m.in. w stosunku do takich gatunków jak *Fusarium culmorum* [Kasprowicz i in. 2010] i *Rhizoctonia solani* [Min i in. 2009]. W stosunku do części patogenów potwierdzono skuteczność nanocząstek srebra również w testach *in vivo* [Jo i in. 2009], chociaż w niektórych badaniach wykazano, że ich skuteczność była niższa w porównaniu z aplikacją fungicydu [Mahdizadeh i in. 2015]. Nanocząstki miedzi okazały się bardziej skuteczne w zwalczaniu *Phytophthora infestans* niż tradycyjne fungicydy [Giannousi i in. 2013].

Dotychczas większość badań dotyczących wpływu nanocząstek na rośliny była prowadzona w sztucznych warunkach, najczęściej w kulturach hydroponicznych [Bernhardt i in. 2010], a tylko w nielicznych doświadczeniach rośliny hodowano w glebie [Joško, Oleszczuk 2013] lub na podłożu torfowym [Olchowik i in. 2017]. Wyniki tych badań wskazują na pozytywny, negatywny, jak i neutralny wpływ nanocząstek na rośliny [Servin i in. 2015; Rizwan i in. 2017]. Pozytywny wpływ przejawia się stymulacją kiełkowania nasion, szybszym tempem wzrostu roślin i ich wyższą biomasą, większą liczbą kwiatów, owoców i nasion, wyższą zawartością chlorofilu i szybszym tempem fotosyntezy, a także wyższą zawartością glutenu i skrobi [Linglan i in. 2008; Prasad i in. 2012; Jaberzadeh i in. 2013; Khodakovskaya i in. 2013]. Pośrednio korzystny wpływ nanocząstek na rośliny może wynikać ze wzrostu liczebności populacji mikroorganizmów ryzosferowych i ich aktywności [Raliya, Tarafdar 2013; Tarafdar i in. 2014]. Z kolei negatywny wpływ przejawia się hamowaniem kiełkowania nasion, zmniejszeniem długości pędów i korzeni oraz ich świeżej i suchej masy, a także zmniejszeniem zawartości chlorofilu [Dimkpa i in. 2012; Shaw, Hossain 2013; Nair i in. 2014; Vannini i in. 2014]. Różnice w wynikach badań prowadzonych przez różnych

autorów mogą wynikać z faktu, że biologiczny wpływ nanocząstek zależy od ich wielkości, składu chemicznego, struktury powierzchni i kształtu [Nel i in. 2006]. Wpływ na uzyskane wyniki mają również: gatunek rośliny, warunki wzrostu (takie jak rodzaj podłoża – wzrost w glebie lub na różnych pożywkach), temperatura i natężenie światła, a także stężenie nanocząstek, sposób ich aplikacji (dolistna, doglebowa) i zastosowana dawka [Monica, Cremonini 2009; Joško, Oleszczuk 2013; Rizwan i in. 2017]. Wymienione czynniki powodują duże trudności w porównaniu wyników uzyskanych przez różnych autorów [Sweet, Singleton 2015].

Nowoczesna gospodarka leśna w Unii Europejskiej i w Polsce poszukuje rozwiązań technologicznych bliskich naturze. Obejmuje to również produkcję szkółkarską, gdzie prowadzone są próby stosowania przyjaznych środowisku środków ochrony roślin. Nanocząstki metali charakteryzują się niższą toksycznością dla ludzi i zwierząt niż syntetyczne fungicydy, a ich wielokierunkowy mechanizm działania pozwala uniknąć powstania form odpornych grzybów [Jo i in. 2009]. Stąd celem badań było określenie skuteczności działania nanocząstek srebra (Ag) i miedzi (Cu) aplikowanych jako zaprawa nasienna i dolistnie w ochronie sosny zwyczajnej przed pasożytniczą zgorzelą siewek w szkółce gruntowej. W doświadczeniu oceniono również wpływ nanocząstek na wzrost ochraniających roślin. Hipoteza robocza zakładała, że nanocząstki korzystnie wpłyną na udatność wschodów i wzrost sosny.

Materiał i metody

MIEJSCE BADAŃ I WARUNKI POGODOWE. Badania przeprowadzono w szkółce gruntowej Nadleśnictwa Spychowo (RDLP Olsztyn). Dane meteorologiczne (temperatura powietrza i suma opadów) pochodzą ze stacji meteorologicznej Nadleśnictwa Spychowo zlokalizowanej na terenie szkółki. W celu lepszego zobrazowania warunków wilgotnościowych obliczono dla poszczególnych miesięcy sezonu wegetacyjnego indeks de Martonne'a [de Martonne 1926]:

$$IM = 12 \times O / (T + 10)$$

gdzie:

- O – średnia miesięczna ilość opadów [mm],
- T – średnia miesięczna temperatura powietrza [°C].

Według Światowej Organizacji Meteorologicznej indeks de Martonne'a wskazuje miesiące, w których konieczne jest nawadnianie. Generalnie za takie uznaje się miesiące, w których IM jest niższy od 20 [Hounam i in. 1975].

Tabela 1.

Średnia miesięczna temperatura powietrza (T [°C]), suma opadów (P [mm]) i indeks de Martonne'a (IM) w sezonie wegetacyjnym 2017 w Nadleśnictwie Spychowo
Mean monthly air temperature (T [°C]), precipitation (P [mm]) and de Martonne aridity index (IM) in 2017 growing season in the Spychowo Forest District

	T	P	IM
IV	6,8	98,3	70,23
V	13,5	31,1	15,87
VI	17,9	28,6	12,32
VII	18,2	166,2	70,83
VIII	18,6	93,7	39,30
IX	14,1	228,3	113,77
X	8,8	171,0	109,19

DOŚWIADCZENIE POŁOWE. Doświadczenie składało się z 4 wariantów: siewki traktowane nanocząstkami Ag i Cu, fungicydami (tak jak w produkcji szkółkarskiej) i kontrolne (nietraktowane). Doświadczenie założono w układzie 4 bloków losowych. Wariant w bloku stanowiło poletko o szerokości taśmy siewnej składającej się z 5 rzędów siewnych i długości 2 m. Glebę przygotowano pełną orką ze spulchnieniem kultywatorem i broną. Rowki siewne wykonano znacznikiem szkółkarskim do taśm pięciorzędowych. Nasiona sosny z drzewostanów gospodarczych miejscowego pochodzenia wysiano 5 maja 2017 roku, w ilości 4,6 g nasion na 1 mb taśmy (5 rzędów siewnych), co stanowi około 767 nasion. Nasiona przykryto ręcznie warstwą gleby o grubości około 0,8 cm.

APLIKACJA NONOCZĄSTEK I FUNGICYDÓW. W badaniach zastosowano nanocząstki Ag i Cu zakupione w firmie Nano Koloid Sp. z o.o. Nanocząstki wytwarzane są w procesie fizycznym w opatentowanej metodzie produkcji (nr patentu – EP2081672 A2). Mają średnicę 5 nm, składają się z około 100 atomów i zawieszane są w zdemineralizowanej wodzie. Stężenie nanocząstek w komercyjnym preparacie wynosi 50 ppm.

Nanocząstki Ag i Cu stosowano w stężeniu 50 ppm. Nasiona sosny przed wysiewem moczone w roztworze nanocząstek przez 6 godzin. Po 15 godzinach od odsączenia roztworu nasiona wysiano. Siewki opryskiwano 5-krotnie nanocząstkami w stężeniu 50 ppm, stosując 500 l/ha (50 ml/m²) cieczy. Fungicydy stosowano według standardu szkółkowego. Nasiona zaprawiono na sucho Zaprawą Nasienną T 75 DS w ilości 5 g/kg. Siewki opryskiwano pięciokrotnie: 1 oprysk – preparatem Acrobat MZ 69 WG w stężeniu 0,2%, 2 oprysk – Topsin M 500 SC w stężeniu 0,15%, 3 oprysk – Gwarant 500 SC w stężeniu 0,2%, 4 oprysk – Thiram Granuflo 80 WG 0,12%, 5 oprysk – Signum 33 WG 0,15%. Zabiegi wykonano wczesnym ranem (5:30-6:30), w następujących terminach: 24 maja, 1, 10, 19 czerwca i 8 lipca 2017.

INWENTARYZACJA SIEWEK I POMIARY CECH BIOMETRYCZNYCH. Inwentaryzację siewek przeprowadzono dwukrotnie: 12 czerwca i 27 października. Siewki liczono na metrowych odcinkach rzędu siewnego. Na każdym poletku stanowiącym wariant w bloku liczono siewki na 5 rzędach taśmy siewnej. Metrowe odcinki obejmowały środkową część poletka, tj. umiejscowioną 0,5 m od jego krańców. Dla każdego wariantu policzono siewki na 20 odcinkach o długości 1 m, łącznie w doświadczeniu na 80 odcinkach o długości 1 m.

W końcu sezonu wegetacyjnego pobrano losowo po 40 sosen (10 roślin × 4 bloki) z każdego wariantu. Łącznie pobrano 160 sadzonek. W laboratorium zmierzono długość pędu i grubość w szyjce korzeniowej sosen. Całkowitą długość systemu korzeniowego określono przy użyciu skanera EPSON Perfection 4990 Photo oraz zintegrowanego oprogramowania WinRhizo™ (Version 2007a, Regent Instruments Inc., Kanada). Suchą masę części nadziemnej i systemu korzeniowego określono po uprzednim wysuszeniu w temperaturze 105°C przez 24 h. Następnie obliczono stosunek suchej masy części nadziemnej do suchej masy systemu korzeniowego.

ANALIZY STATYSTYCZNE. Ocenę istotności różnic pomiędzy 4 kombinacjami (zastosowanie nanocząstek Ag i Cu, fungicydów i kontrola) dla cech biometrycznych przeprowadzono, wykorzystując jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA. Wpływ na liczbę siewek na metrowych odcinkach rzędu siewnego 4 kombinacji doświadczalnych oceniono z zastosowaniem uogólnionego modelu liniowego (ang. generalized linear models – GLM) z rozkładem Poissona dla układu losowanych bloków. Porównania wielokrotne średnich (test *post-hoc*) pomiędzy kombinacjami doświadczalnymi dla ANOVA i GLM przeprowadzono, wykorzystując test Tukeya. Analizę statystyczną przeprowadzono z zastosowaniem pakietu R 3.3.3. Przyjęty poziom istotności wyniósł $p < 0,05$.

Wyniki

Wartości analizowanych cech wzrostowych sosen różniły się istotnie między poszczególnymi wariantami doświadczenia (tab. 2). Siewki traktowane nanocząstkami charakteryzowały się dłuższym systemem korzeniowym o większej suchej masie i słabiej rozbudowaną częścią nadziemną (mniejsza wysokość i sucha masa) w porównaniu z sosnami traktowanymi fungicydami i kontrolnymi (niechronionymi). W efekcie ich stosunek masy pędu do korzenia był istotnie bardziej korzystny.

Pierwsza inwentaryzacja wschodów wykazała, że na metrze rządka siewnego skielkowało średnio 106,8 sosen w wariantcie z aplikacją nanocząstek Ag. Istotnie mniej sosen stwierdzono w wariantcie kontrolnym (bez ochrony) – 100 siewek. Liczba sosen chronionych fungicydami i nanocząstkami Cu wynosiła 103 i nie różniła się statystycznie od wartości w dwóch pozostałych wariantach. Wydajność wschodów wynosiła 79,7% w wariantcie z zastosowaniem nanocząstek Ag, 65,2% dla sosen niechronionych i po 67,2% w dwóch pozostałych wariantach (ryc.).

Tabela 2.

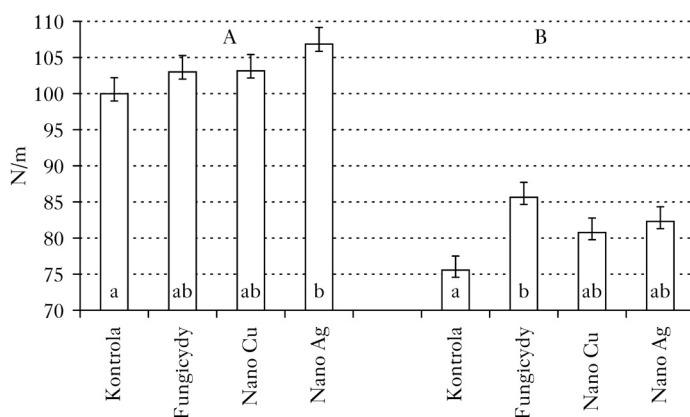
Średnia \pm odchylenie standardowe długość pędu (DP [cm]), grubość w szyjce korzeniowej (D_0 [mm]), długość korzeni (DK [cm]), sucha masa pędu (S [g]) i korzeni (R [g]) oraz stosunek S/R dla siewek sosny chronionych nanocząstkami Cu (Nano Cu) i Ag (Nano Ag), fungicydami i niechronionych (Kontrola)

Mean \pm standard deviation of shoot length (DP [cm]), root collar diameter (D_0 [mm]), roots length (DK [cm]), dry mass of shoot (S [g]) and roots (R [g]) as well as S/R ratio for Scots pine seedlings protected with AgNPs (Nano Ag), CuNPs (Nano Cu) or fungicides (Fungicydy) and unprotected (Kontrola)

	DP	D_0	DK	S	R	S/R
Kontrola	9,05 \pm 1,86 a	0,95 \pm 0,34 a	10,55 \pm 1,81 ab	0,31 \pm 0,18 bc	0,09 \pm 0,05 a	4,31 \pm 2,49 b
Fungicydy	10,01 \pm 2,06 b	0,95 \pm 0,43 a	10,28 \pm 1,73 a	0,40 \pm 0,21 c	0,12 \pm 0,05 b	4,15 \pm 2,03 b
Nano Cu	10,29 \pm 1,60 b	0,99 \pm 0,40 a	11,06 \pm 2,39 ab	0,20 \pm 0,18 a	0,16 \pm 0,14 b	2,08 \pm 1,81 a
Nano Ag	8,64 \pm 1,13 a	1,03 \pm 0,47 a	11,66 \pm 3,22 b	0,25 \pm 0,18 ab	0,15 \pm 0,08 b	2,33 \pm 1,41 a

Ta sama litera oznacza grupy jednorodne (test Tukeya; $p < 0,05$)

The same letter indicates homogenous groups (Tukey test; $p < 0,05$)



Ryc.

Średnia (słupek) \pm odchylenie standardowe (wąs) liczba siewek na metrze rządka siewnego (N/m) około 6 tygodni po skielkowaniu (A) i na końcu sezonu wegetacyjnego (B) w poszczególnych wariantach (por. tabela 2)
Mean (bar) \pm standard deviation (whisker) of number of Scots pine seedlings in 1-m-long segments of the seed row (N/m) approximately 6 weeks after germination (A) and at the end of growing season (B) in individual variant (see table 2)

Ta sama litera oznacza grupy jednorodne (test Tukeya; $p < 0,05$)

The same letter indicates homogenous groups (Tukey test; $p < 0,05$)

W drugiej inwentaryzacji, w efekcie stosowania ochrony chemicznej, na metrowych odciinkach rządka siewnego pozostało średnio 85,6 siewki, co stanowi 55,8% w stosunku do liczby wysianych nasion. Istotnie mniej sosen stwierdzono w wariancie kontrolnym: 75,6 (49,3%). Dla sosen chronionych nanocząstkami analogiczne wartości wynosiły: nanocząstki Cu 80,8 (52,7%), nanocząstki Ag 82,3 (53,7%) (ryc.). Głównym czynnikiem decydującym o wydajności wschodów była pasożytnicza zgorzel siewek, której objawy stwierdzono we wszystkich wariantach doświadczenia. W żadnym z wariantów doświadczenia nie obserwowano objawów innych chorób.

Dyskusja

Uzyskane wyniki wskazują, że nanocząstki aplikowane dolistnie i jako zaprawa nasienna ograniczają porażenie siewek sosny przez pasożytniczą zgorzel siewek. Zastosowanie nanocząstek Ag jest bardziej skuteczne w porównaniu z aplikacją nanocząstek Cu. Trzeba jednak zaznaczyć, że zagrożenie ze strony choroby nie było duże. Różnice w wydajności siewów między niechronionymi i chronionymi siewkami, mimo że istotne statystycznie, są stosunkowo niewielkie. W pierwszej inwentaryzacji wynoszą 4,5%, a w drugiej 6,5%. To niewielkie zagrożenie ze strony pasożytniczej zgorzeli siewek mogło być wynikiem suszy, która miała miejsce w pierwszej części sezonu wegetacyjnego (AI).

Wyniki te są zgodne z rezultatami uzyskanymi przez innych autorów, wskazującymi na skuteczność działania nanocząstek Ag i Cu w ochronie roślin w warunkach polowych przed różnymi chorobami grzybowymi, w tym również przed zgorzelą siewek [Jo i in. 2009; Lamsal i in. 2011a, b; Giannousi i in. 2013; Mahdizadeh i in. 2015].

Sprawcy pasożytniczej zgorzeli siewek należą do różnych grup systematycznych: *Ascomycota*, *Basidiomycota* i *Oomycota*, co skutkuje koniecznością naprzemiennego stosowania fungicydów o różnym zakresie działania lub środków o szerokim zakresie działania [Salerno, Lori 2007; Kwaśna, Bateman 2009]. Nanocząstki Ag i Cu charakteryzują się szerokim zakresem działania grzybobójczego. Liczne badania wykazały ich skuteczność w zwalczaniu chorób powodowanych przez sprawców z różnych grup systematycznych [Servin i in. 2015].

Innym problemem w zwalczaniu pasożytniczej zgorzeli siewek jest uodparnianie się sprawców choroby na stosowane fungicydy [Goffeau 2008]. Zastosowanie nanocząstek pozwala uniknąć tego problemu ze względu na mechanizm ich działania [Jo i in. 2009]. Obecnie mechanizmy antymikrobiologicznego działania nanocząstek nie zostały jeszcze w pełni poznane, chociaż w przypadku bakterii istnieje już kilka teorii je wyjaśniających. Nanocząsteczki mogą powodować powstawanie w komórkach reaktywnych form tlenu (ROS) powodujących uszkodzenia białek, lipidów i kwasów nukleinowych [Nel i in. 2006]. Pod wpływem działania nanocząstek DNA może utracić swoją zdolność do replikacji. Innym mechanizmem jest łączenie się nanocząstki metalu z grupą tiolową (-SH) białek, co prowadzi do ich dezaktywacji [Alghuthaymi i in. 2015]. Nanocząstki mogą też przyłączać się do powierzchni komórki i naruszać integralność oraz funkcjonowanie błony komórkowej [Klaine i in. 2008; Servin i in. 2015]. Uważa się również, że mechanizmy te nie działają pojedynczo, lecz najczęściej pojawiają się symultanicznie po kilka [Alghuthaymi i in. 2015]. Zapobiega to tworzeniu się w populacji patogenu szczepów odpornych na działanie fungicydów.

Korzyści ze stosowania nanocząstek w ochronie sosny przed pasożytniczą zgorzelą siewek są wielostronne. Szeroki zakres działania nanocząstek zapewnia skuteczność ochrony siewek przed różnymi sprawcami choroby [Servin i in. 2015]. Ponadto nanocząstki metali charakteryzują się niższą toksycznością dla ludzi i zwierząt niż syntetyczne fungicydy [Alghuthaymi i in. 2015], a ich wielokierunkowy mechanizm działania pozwala uniknąć powstania odpornych szczepów grzybów [Jo i in. 2009].

Wyniki uzyskane w prezentowanych badaniach wskazują, że wprawdzie zaprawianie nasion i dolistna aplikacja obu rodzajów nanocząstek nie stymulowały wzrostu siewek sosny, lecz spowodowały istotną zmianę w budowie morfologicznej. Siewki traktowane nanocząstkami charakteryzowały się dłuższym systemem korzeniowym o większej suchej masie i słabiej rozbudowaną częścią nadziemną (mniejsza wysokość i sucha masa) w porównaniu z sosnami traktowanymi fungicydami i kontrolnymi (niechronionymi), przez co stosunek masy pędu do korzenia należy uznać za bardziej korzystny. Jednym ze sposobów określania jakości sadzonek, rozumianej jako późniejsza przydatność do wysadzenia w uprawie leśnej, jest ocena ich parametrów wzrostowych. Powszechnie stosowaną metodą oceny wartości użytkowej sadzonek drzew jest określenie stosunku masy części nadziemnej do masy systemu korzeniowego. Przyjmuje się, że im mniejszy jest stosunek obu tych mas, tym wyższa wartość hodowlana sadzonek [Gorzelał 1986; Aleksandrowicz-Trzcńska 2002].

Uzyskane wyniki trudno porównać z otrzymanymi przez innych autorów. Nanocząstki wykazują zarówno pozytywny, jak i negatywny wpływ na wzrost roślin i ich morfologię – w zależności od gatunku rośliny, stadium wzrostu/wieku, warunków wzrostu, aplikowanej dawki i czasu ekspozycji [Rizwan i in. 2017]. Ponadto większość badań przeprowadzono na roślinach nierzewnych. Tylko w nielicznych badaniach oceniono wpływ nanocząstek na wzrost drzew. W przypadku wierzby traktowanej nanocząstkami TiO_2 , siewek dzikiej gruszy nanocząstkami SiO_2 i siewek dębu szypułkowego nanocząstkami Ag i Cu wykazano neutralny ich wpływ na wzrost roślin [Seeger i in. 2009; Zarafshar i in. 2015; Olchowik i in. 2017]. Jedynie w badaniach Sweeta i Singletona [2015] nanocząstki Ag istotnie inhibowały wzrost sosny (*Pinus muricata*). Prezentowane doświadczenie jest pierwszym, w którym oceniono wpływ nanocząstek Ag i Cu na wzrost sosny zwyczajnej w warunkach otwartej szkółki leśnej.

Mechanizmy leżące u podstawy stymulacji bądź inhibicji wzrostu roślin są słabo poznane, a w przypadku hodowli roślin w glebie nie były w ogóle badane. Aplikacja nanocząstek może zmieniać stan odżywienia roślin, zawartość chlorofilu i przebieg fotosyntezy oraz aktywność wielu kluczowych enzymów i w ten sposób wpływać na wzrost rośliny [Servin i in. 2015]. Przy obecnym stanie wiedzy na temat oddziaływania nanocząstek na rośliny nie można wskazać czynników, które miały wpływ na kształtowanie cech budowy morfologicznej siewek sosny w niniejszym doświadczeniu.

Podsumowanie

Zastosowanie nanocząstek Ag i Cu dolistnie i w postaci zaprawy nasiennej ogranicza porażenie siewek sosny przez pasożytniczą zgorzel siewek. Aplikacja nanocząstek Ag daje lepsze efekty w porównaniu z zastosowaniem nanocząstek Cu. Nanocząstki nie stymulowały wzrostu siewek sosny, lecz spowodowały istotną zmianę w ich budowie morfologicznej. Siewki traktowane nanocząstkami charakteryzowały się dłuższym systemem korzeniowym o większej suchej masie i słabiej rozbudowaną częścią nadziemną (mniejsza wysokość i sucha masa) w porównaniu z sosnami traktowanymi fungicydami i kontrolnymi (niechronionymi). W efekcie ich stosunek masy pędu do korzenia był istotnie bardziej korzystny. Wyniki doświadczenia wskazują, że nanocząstki Cu i Ag mogą znaleźć zastosowanie jako alternatywa metody chemicznej w ochronie sosny przed pasożytniczą zgorzelą siewek w szkółce otwartej. Konieczne są jednak dalsze badania, które pozwoliłyby ustalić nie tylko optymalne dawki i stężenia, lecz również możliwość zastosowania innych nanomateriałów.

Podziękowania

Autorzy składają podziękowania Nadleśniczemu Nadleśnictwa Spychowo Panu Krzysztofowi Krasula za wyrażenie zgody na przeprowadzenie badań w Szkółce Leśnej Piasutno.

Literatura

- Aleksandrowicz-Trzcńska M. 2002. Wpływ fungicydów na wzrost i kolonizację mikoryzową sadzonek sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) hodowanych w kontenerach. Rozprawy Naukowe i Monografie. Wydawnictwo SGGW, Warszawa.
- Alghuthaymi M. A., Almoammar H., Rai M., Said-Galiev E., Abd-Elsalam K. A. 2015. Myconanoparticles: synthesis and their role in phytopathogen management. *Biotechnology and Biotechnological Equipment* 29 (2): 221-236.
- Ball P. 2002. Natural strategies for the molecular engineer. *Nanotechnology* 13: 15-28.
- Bernhardt E. S., Colman B. P., Hochella M. F., Cardinale B. J., Nisbet M., Richardson C. J., Yin L. 2010. An ecological perspective on nanomaterial impacts in the environment. *Journal of Environmental Quality* 39: 1-12.
- Dimkpa C. O., McLean J. E., Latta D. E., Manangón E., Britt W. D., Johnson W. P., Boyanov M. I., Anderson A. L. 2012. CuO and ZnO nanoparticles: phytotoxicity, metal speciation, and induction of oxidative stress in sand-grown wheat. *Journal of Nanoparticle Research* 14: 1125.
- Giannousi K., Avramidis I., Dendrinou-Samara C. 2013. Synthesis, characterization and evaluation of copper based nanoparticles as agrochemicals against *Phytophthora infestans*. *RSC Advances* 3 (44): 21743-21752.
- Goffeau A. 2008. Drug resistance: The fight against fungi. *Nature* 452: 541-542.
- Gorzela A. 1986. Badania warunków wzrostu i produkcji siewek niektórych gatunków drzew leśnych w namiotach foliowych. Prace Instytutu Badawczego Leśnictwa 653: 3-84.
- Hounam C. E., Burgos J. J., Kalik M. S., Palmer W. C., Rodda J. 1975. Drought and agriculture. Report of the Commission for Agricultural Meteorology Working Group on Assessment of Drought. Technical Note No. 138. World Meteorological Organization, Geneva, Switzerland.
- Jaberzadeh A., Moaveni P., Tohidi Moghadam H. R., Zahedi H. 2013. Influence of bulk and nanoparticles titanium foliar application on some agronomic traits, seed gluten and starch contents of wheat subjected to water deficit stress. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 41 (1): 201-207.
- Jo Y.-K., Kim B. H., Jung G. 2009. Antifungal activity of silver ions and nanoparticles on phytopathogenic fungi. *Plant Disease* 93: 1037-1043.
- Joško I., Oleszczuk P. 2013. Influence of soil type and environmental conditions on ZnO, TiO₂ and Ni nanoparticles phytotoxicity. *Chemosphere* 92: 91-99.
- Kasprówicz M. J., Koziol M., Gorczyca A. 2010. The effect of silver nanoparticles on phytopathogenic spores of *Fusarium culmorum*. *Canadian Journal of Microbiology* 56: 247-253.
- Khodakovskaya M. V., Kim B. S., Kim J. N., Alimohammadi M., Dervishi E., Mustafa T., Cernigla C. E. 2013. Carbon nanotubes as plant growth regulators: effects on tomato growth, reproductive system, and soil microbial community. *Small* 9 (1): 115-123.
- Klaine S. J., Alvarez P. J. J., Batley G. E., Fernandes T. F., Handy R. D., Lyon D. Y., Mahendra S., McLaughlin M. J., Lead J. R. 2008. Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27 (9): 1825-1851.
- Kwaśna H., Bateman G. L. 2009. Microbial communities in roots of *Pinus sylvestris* seedlings with damping-off symptoms in two nurseries as determined by ITS1/2 rDNA sequencing. *Forest Pathology* 39: 239-248.
- Lamsal K., Kim S. W., Jung J. H., Kim Y. S., Kim K. S., Lee Y. S. 2011a. Inhibition effects of silver nanoparticles against powdery mildews on cucumber and pumpkin. *Mycobiology* 39 (1): 26-32.
- Lamsal K., Kim S. W., Jung J. H., Kim Y. S., Kim K. S., Lee Y. S. 2011b. Application of silver nanoparticles for the control of *Colletotrichum* species *in vitro* and pepper anthracnose disease in the field. *Mycobiology* 39 (3): 194-199.
- Lazreg F., Belabid L., Sanchez J., Gallego E., Bayaa B. 2014. Pathogenicity of *Fusarium* spp. associated with diseases of Aleppo-pine seedlings in Algerian forest nurseries. *Journal of Forest Science* 60 (3): 115-120.
- Linglan M., Chao L., Chunxiang Q., Sitao Y., Jie L., Fengqing G., Fashui H. 2008. Rubisco activase mRNA expression in spinach: modulation by nanoanatase treatment. *Biological Trace Element Research* 122 (2): 168-178.
- Mahdzadeh V., Safaei N., Khelghatibana F. 2015. Evaluation of antifungal activity of silver nanoparticles against some phytopathogenic fungi and *Trichoderma harzianum*. *Journal of Crop Protection* 4 (3): 291-300.
- de Martonne E. 1926. Une nouvelle fonction climatologique: L'indice d'aridité. *La Météorologie* 2: 449-458.
- Min J. S., Kim K. S., Kim S. W., Jung J. H., Lamsal K., Kim S. B., Jung M., Lee Y. S. 2009. Effects of colloidal silver nanoparticles on sclerotium-forming phytopathogenic fungi. *The Plant Pathology Journal* 25 (4): 376-380.
- Monica C. R., Cremona R. 2009. Nanoparticles and higher plants. *Caryologia* 62 (2): 161-165.
- Nair P. M. G., Chung I. M. 2014. A mechanistic study on the toxic effect of copper oxide nanoparticles in soybean (*Glycine max* L.) root development and lignification of root cells. *Biological Trace Element Research* 162: 342-352.
- Nel A., Xia T., Mädler L., Li N. 2006. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science* 311: 622-627.
- Olchowik J., Bzdyk R., Studnicki M., Bednarska-Błaszczuk M., Urban A., Aleksandrowicz-Trzcńska M. 2017. The effects of silver and copper nanoparticles on the condition of English oak (*Quercus robur* L.) seedlings in a container nursery experiment. *Forests* 8 (9): 310.

- Prasad T. N. V. K. V., Sudhakar P., Sreenivasulu Y., Latha P., Munaswamy V., Raja Reddy K., Sreeprasad T. S., Sajanalal P. R., Pradeep T. 2012. Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of Plant Nutrition* 35 (6): 905-927.
- Raliya R., Tarafdar J. C. 2013. ZnO nanoparticle biosynthesis and its effect on phosphorous-mobilizing enzyme secretion and gum contents in Clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba* L.). *Agricultural Research* 2 (1): 48-57.
- Rizwan M., Ali S., Qayyum M. F., Ok Y. S., Adrees M., Ibrahim M., Zia-Ur-Rehman M., Farid M., Abbas F. 2017. Effect of metal and metal oxide nanoparticles on growth and physiology of globally important food crops: A critical review. *Journal of Hazardous Materials* 322: 2-16.
- Roco M. C. 2003. Broader societal issues of nanotechnology. *Journal of Nanoparticle Research* 5: 181-189.
- Salerno M. I., Lori G. A. 2007. Association of seed-borne *Fusarium* species on *Pinus ponderosa* with germination and seedling viability in Argentina. *Forest Pathology* 37: 263-271.
- Seeger E. M., Baun A., Kästner M., Trapp S. 2009. Insignificant acute toxicity of TiO₂ nanoparticles to willow trees. *Journal of Soils and Sediments* 9: 46-53.
- Servin A., Elmer W., Mukherjee A., De la Torre-Roche R., Hamidi H., White J. C., Bindraban P., Dimkpa C. 2015. A review of the use of engineered nanomaterials to suppress plant disease and enhance crop yield. *Journal of Nanoparticle Research* 17: 92.
- Shaw A. K., Hossain Z. 2013. Impact of nano-CuO stress on rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Chemosphere* 93: 906-915.
- Sweet M. J., Singleton I. 2015. Soil contamination with silver nanoparticles reduces *Bishop pine* growth and ectomycorrhizal diversity on pine roots. *Journal of Nanoparticle Research* 17: 448.
- Tarafdar J. C., Raliya R., Mahawar H., Rathore I. 2014. Development of zinc nanofertilizer to enhance crop production in pearl millet (*Pennisetum americanum*). *Agricultural Research* 3 (3): 257-262.
- Vannini C., Domingo G., Onelli E., De Mattia F., Bruni I., Marsoni M., Bracale M. 2014. Phytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles exposure on germinating wheat seedlings. *Journal of Plant Physiology* 171: 1142-1148.
- Zarafshar M., Akbarinia M., Askari H., Hossein S. M., Rahaie M., Struve D. 2015. Toxicity Assessment of SiO₂ nanoparticles to pear seedlings. *International Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 11 (1): 13-22.