



mgr inż. Andżelika Byczyńska

(nazwisko rodowe Woškowiak)

**Wpływ nanosrebra na wzrost, kwitnienie oraz rozmnażanie  
wybranych odmian tulipana i lilii w uprawie pod osłonami**

**Effect of nanosilver on growth, flowering and propagation  
of selected tulip and lily cultivars grown under cover**

Rozprawa doktorska

na podstawie cyklu publikacji naukowych

Praca wykonana w Katedrze Ogrodnictwa  
Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa  
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

**Promotor:**

Dr hab. inż. Agnieszka Zawadzińska, prof. ZUT

**Promotor pomocniczy:**

Dr hab. inż. Piotr Salachna, prof. ZUT

**Szczecin 2023**

***Podziękowania***

*Bardzo dziękuję mojej promotor Pani prof. ZUT dr. hab. inż. Agnieszce Zawadzińskiej za przekazaną wiedzę, wsparcie, życzliwość i wszelką pomoc.*

*Panu prof. ZUT dr. hab. inż. Piotrowi Salachnie chcę podziękować za inspirację, troskę, zawsze dobre słowo i owocną współpracę.*

*Podziękowania składam mgr. inż. Rafałowi Piechockiemu i pozostałym pracownikom WKŚiR ZUT za współpracę i całą udzieloną mi pomoc podczas realizacji pracy doktorskiej.*

*Osobne podziękowania składam najukochańszym Rodzicom, kochanemu Synowi i Mężowi, Rodzeństwu i Przyjaciółom za nieustanne wsparcie, motywację i życzliwość.*

## **SPIS TREŚCI**

Streszczenie.....	4
Summary.....	5
Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską.....	6
1. Wstęp.....	7
2. Hipoteza badawcza i cele naukowe pracy .....	11
3. Materiały i metody.....	12
3.1. Charakterystyka materiału roślinnego.....	12
3.2. Metodyka badań .....	13
3.2.1. Wpływ nanocząsteczek srebra na wzrost, kwitnienie i plon cebul tulipana ‘Pink Impression’ .....	13
3.2.2. Wpływ nanocząsteczek srebra na wzrost, kwitnienie i plon cebul lili orientalnych ‘Mona Lisa’ i ‘Little John’ .....	14
3.2.3. Wpływ nanocząsteczek srebra na plon cebul przybyszowych lili ‘Little John’, ‘Mona Lisa’ i ‘Osasco’ rozmnażanych przez sadzonki łuskowe....	16
3.2.4. Wpływ koloidalnych nanocząstek srebra na wzrost, kwitnienie i rozmnażanie lili azjatyckiej ‘Osasco’ oraz lili ‘Bright Pixi’ uprawianej w warunkach zasolenia.....	16
4. Omówienie wyników.....	18
5. Wnioski.....	25
6. Bibliografia.....	26
7. Wykaz cytowań (WoS) prac stanowiących rozprawę doktorską.....	29
8. Pozostały dorobek naukowy.....	31
9. Kopie publikacji stanowiących rozprawę doktorską oraz oświadczenia współautorów.....	33

## **Streszczenie**

Obecnie duże zainteresowanie w wielu dziedzinach nauki budzą nanomateriały, w tym szczególnie nanocząstki srebra (AgNPs). Celem badań była ocena wpływu AgNPs na wzrost, kwitnienie i plon cebul tulipana 'Pink Impression' oraz lili 'Little John', 'Mona Lisa' i 'Osasco'. Zbadano również reakcję lili 'Bright Pixi' na koloidalne AgNPs w warunkach stresu solnego. Tulipany traktowane AgNPs w stężeniu 100 ppm wcześniej kwitły, miały dłuższe pędy kwiatowe, większe działki okwiatu, zwiększoną średnicę i masę pędów kwiatowych oraz masę i długość korzeni. Ponadto rośliny cechowały się większym indeksem zazielenienia i zwiększoną przewodnością szparkową liści oraz miały cebule przybyszowe o największej masie. Moczenie cebul lili 'Mona Lisa' w roztworach AgNPs nanocząstek okazało się najskuteczniejszą metodą stymulacji wzrostu i kwitnienia roślin. U odmian lili orientalnej 'Mona Lisa' i 'Little John' AgNPs stymulowały wzrost roślin, co przejawiało się zwiększoną akumulacją świeżej masy liści i cebul oraz przyspieszonym kwitnieniem. Co więcej, lilie traktowane AgNPs miały zwiększony indeks zazielenienia liści, wytworzyły więcej kwiatów oraz dłużej kwitły. Najwyższą zawartość chlorofilu a, chlorofilu b, karotenoidów, K, Ca i S miały liście lili 'Little John' traktowanej AgNPs w stężeniu 100 ppm. Widma FTIR nie wykazały wyraźnych zmian w składzie chemicznym w wyniku działania AgNPs. Łuski cebul trzech odmian lili: 'Little John', 'Mona Lisa' i 'Osasco' moczono w wodnych roztworach AgNPs. Wykazano, że AgNPs w stężeniu 50 ppm zwiększyły liczbę cebul przybyszowych u lili 'Mona Lisa' i 'Osasco' oraz zwiększyły masę cebul i korzeni przybyszowych, szczególnie w stężeniach 50 i 100 ppm u wszystkich badanych odmian. W wyniku aplikacji koloidalnych AgNPs rośliny zakwitły szybciej, miały zwiększoną wysokość, szerokość działek okwiatu, masę i średnicę cebul oraz liczbę łusek w cebuli. Z łusek pochodzących z cebul traktowanych koloidalnymi AgNPs w stężeniu 100 i 150 ppm uzyskano więcej cebul przybyszowych, które jednocześnie miały zwiększoną masę w porównaniu do wariantu kontrolnego. Pod wpływem stresu zasolenia lilie miały zmniejszoną masę części nadziemnej i cebul, średnicę cebul, liczbę łusek w cebuli oraz zawartość barwników asymilacyjnych, N, K, Ca, Cu, Mn i Zn. Koloidalne AgNPs niwelowały niekorzystny wpływ zasolenia na plon cebul lili poprzez zwiększenie masy i średnicy cebuli oraz liczby łusek w cebuli. Podsumowując, zastosowanie AgNPs może przyczynić się do opracowania nowych metod produkcji ozdobnych roślin cebulowych.



## **Summary**

Nanomaterials, particularly silver nanoparticles (AgNPs) have increased great interest in many fields of science. The aim of this study was to investigate the effects of AgNPs (0, 25, 50, 100 and 150 ppm) on growth, flowering and bulb yield of tulip 'Pink Impression' and lilies 'Little John', 'Mona Lisa' and 'Osasco'. It also examined lily 'Bright Pixi' response to colloidal AgNPs and salt stress. The tulips treated with 100 ppm AgNPs flowered earlier, had longer cut-flower stem, larger petals, greater stem diameter and cut-flower fresh weight, showed increased leaf greenness index (SPAD), stomatal conductance, root fresh weight, root length and produced daughter bulbs of the greatest weight. Soaking the bulbs of lily 'Mona Lisa' in AgNPs solution turned out to be the most effective strategy for growth and flowering promotion. In cultivars of Oriental lily 'Mona Lisa' and 'Little John', AgNPs stimulated plant growth, as manifested by enhanced accumulation of leaf and bulb biomass and accelerated flowering. Moreover, lilies treated with AgNPs showed higher leaf greenness index, formed more flowers, and flowered longer. At 100 ppm AgNPs, the leaves of lily 'Little John' accumulated the highest content of chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids, and were abundant in potassium, calcium, and sulfur. The FTIR spectra did not show clear changes in absorbance intensity and chemical composition in the lily leaves from AgNP-treated bulbs. Bulb scales of three cultivars of lily: 'Little John', 'Mona Lisa', and 'Osasco' were soaked in aqueous solutions of AgNPs. The AgNPs increased the number of bulblets at 50 ppm in the 'Mona Lisa' and 'Osasco', and enhanced the fresh weight of the bulblets and their roots, particularly at concentrations of 50 and 100 ppm in all researched cultivars. As a result of the application of colloidal AgNPs, plants flowered faster and had increased height, petal width, fresh bulb weight, bulb diameter, and several scales in the bulb. Scales from parent bulbs treated with colloidal AgNPs at 100 and 150 ppm yielded more bulblets, which at the same time had increased fresh weight compared to the control. Under NaCl stress, plants had reduced fresh weight of the aboveground part and bulb, bulb diameter, number of scales in a bulb, and contents of assimilation pigments, N, K, Ca, Cu, Mn and Zn. Colloidal AgNPs offset the adverse effects of salinity on bulb yield by increasing fresh bulb, bulb diameter, and the number of scales in lily bulbs. In conclusion, using AgNPs can contribute to developing new methods of bulbous ornamental plants production.

## **Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską**

Publikacje oryginalne składające się na rozprawę doktorską pod tytułem:

**„Wpływ nanosrebra na wzrost, kwitnienie oraz rozmnażanie wybranych odmian tulipana i lili w uprawie pod osłonami”**

### **Publikacja 1**

**Byczyńska A., Zawadzińska A., Salachna P.** 2019. Silver Nanoparticles preplant bulb soaking affects tulip production. *Acta Agriculturae Scandinavica - Section B Soil and Plant Science*, 69(3), 250–256.

**IF: 1,092 (40 punktów)**

Liczba cytowań: 9 (WoS); 10 (Scopus); 14 (Google Scholar)

### **Publikacja 2**

Salachna P., **Byczyńska A., Zawadzińska A., Piechocki R., Mizielińska M.** 2019. Stimulatory effect of silver nanoparticles on the growth and flowering of potted oriental lilies. *Agronomy*, 9, 610.

**IF: 2,603 (100 punktów)**

Liczba cytowań: 37 (WoS); 38 (Scopus); 60 (Google Scholar)

### **Publikacja 3**

**Byczyńska A., Zawadzińska A., Salachna P.** 2018. Effects of nano-silver on bulblet production from bulb scales of *Lilium*. *Propagation of Ornamental Plants*, 18(3), 104–106.

**IF: 0,303 (15 punktów)**

Liczba cytowań: 1 (WoS); 1 (Scopus); 2 (Google Scholar)

### **Publikacja 4**

**Byczyńska A., Zawadzińska A., Salachna P.** 2023. Colloidal Silver Nanoparticles Enhance Bulb Yield and Alleviate the Adverse Effect of Saline Stress on Lily Plants. *Journal of Ecological Engineering*, 24(6), 338–347.

**IF: 0 (70 punktów)**

Liczba cytowań: 0 (WoS); 0 (Scopus); 0 (Google Scholar)

Sumaryczny Impact Factor (IF) publikacji stanowiących rozprawę doktorską zgodny z rokiem wydania publikacji jest równy **3,998**; punktacja MNiSW zgodna z rokiem wydania publikacji wynosi **225 punktów**; łączna liczba cytowań prac wynosi **47** (WoS), **49** (Scopus) i **76** (Google Scholar).

## **1. Wstęp**

Produkcja roślin ozdobnych jest dynamicznie rozwijającą się i dochodową dziedziną wśród całej produkcji ogrodniczej. Na największej na świecie giełdzie kwaciarskiej Royal Flora Holland w 2019 roku obrót kwiatami wyniósł 4,8 mld euro. W roku 2021, pomimo problemów wywołanych koronawirusem SARS-CoV-2 i światową pandemią, obrót roślinami ozdobnymi w ujęciu rocznym wzrósł i wyniósł 5,6 mld euro [1]. Siła rynku kwaciarskiego tkwi w różnorodności asortymentu oferowanego do sprzedaży. Dlatego tak istotne jest ciągle wprowadzanie do uprawy nowych odmian. Do innych działań warunkujących stały rozwój branży kwaciarskiej należy poszukiwanie nowych strategii sposobów uprawy i rozmnażania roślin oraz opracowanie rozwiązań łagodzących szkodliwy wpływ czynników stresowych na wzrost roślin [2,3].

Ozdobne rośliny cebulowe są ważnym działem produkcji kwaciarskiej, którego roczna wartość produkcji szacowana jest na około jeden miliard dolarów [4]. Najważniejszymi roślinami cebulowymi w towarowej produkcji w Polsce i w Europie są tulipany (*Tulipa* spp.) należące do rodziny liliowatych (*Liliaceae*). W Polsce tulipany produkuje się głównie na kwiaty cięte w szklarniach lub w tunelach foliowych; reprodukcja cebul tulipanów w gruncie jest niewielka. Pędzenie tulipanów pod osłonami jest rozwijającą się gałęzią polskiego kwaciarstwa [5]. Produkcja ta nie wymaga dużych nakładów i ilości ciepła, a duże zapotrzebowanie na kwiaty cięte tulipanów od drugiej połowy stycznia do kwietnia jest silnym czynnikiem stymulującym rozwój tej specjalności. Dynamiczny wzrost produkcji tulipanów w naszym kraju wynika także z coraz intensywniejszej sprzedaży ciętych kwiatów w popularnych sieciach handlowych [6]. W produkcji kwiatów ciętych tulipana wczesność kwitnienia, długość i średnica pędu, wybarwienie kwiatu i liści oraz wielkość i trwałość kwiatów ciętych decydują o jakości materiału handlowego [7]. Ze względu na wysokie wymagania rynku wciąż poszukuje się nowych rozwiązań polepszających jakość kwiatów ciętych tulipana oraz metod skracających cykl produkcji roślin pod osłonami. Poza uprawą na kwiaty cięte, tulipany produkowane są także zimą i wczesną wiosną jako rośliny doniczkowe. Tulipany to także powszechnie sadzone rośliny cebulowe w ogrodach i na terenach zieleni. Tulipany rozmnaża się wegetatywnie z cebul przybyszowych [8]. U niektórych gatunków i odmian współczynnik rozmnażania cebul jest niski, stąd poszukuje się sposobów zwiększających jakościowy i ilościowy plon cebul tulipanów [9].

Lilie (*Lilium* spp.) to po tulipanach najważniejsze rośliny cebulowe na świecie uprawiane na kwiaty cięte pod osłonami, należące do liliowatych (*Liliaceae*). Kwiaty cięte lili

dostępne są w Polsce w sprzedaży w ciągu całego roku i pochodzą zarówno z rodzimej produkcji, jak i z importu, głównie z Holandii [10]. Lilie polecane są także jako bardzo atrakcyjne byliny do ogrodów oraz są produkowane w doniczkach do dekoracji wnętrz, balkonów i tarasów. Mieszkańce azjatyckie to popularna grupa lilii, cechująca się krótkim okresem uprawy i wczesną porą kwitnienia, szeroką gamą kolorystyczną kwiatów, odpornością na choroby i wysokim współczynnikiem rozmnażania cebul [11]. Z kolei odmiany lilii z grupy mieszkańców orientalnych mają dłuższy czas produkcji, bardziej dekoracyjne kwiaty, które są duże, trwałe i pachnące. Jednocześnie mieszkańcy orientalne zaliczane są do najtrudniejszych w uprawie, głównie z powodu dużej wrażliwości na choroby i niesprzyjające warunki uprawy oraz niski współczynnik rozmnażania [12]. W związku z tym technologia ich uprawy jest wciąż udoskonalana [13,14]. Lilie mają wszechstronne zastosowanie w ogrodnictwie w związku z czym jest duże zapotrzebowanie na ich cebule i udoskonalone metody produkcji. Na skalę produkcyjną lilie rozmnaża się przez sadzonkowanie łusek. W celu zwiększenia plonu cebul przybyszowych można stosować regulatory wzrostu [15]. Coraz częściej alternatywą dla syntetycznych fitohormonów stosowanych w rozmnażaniu roślin cebulowych są substancje o działaniu biostymulującym [16]. Biostymulatory chronią rośliny przed stresem i wspomagają ich wzrost i rozwój, aczkolwiek w przypadku lilii doniesień dotyczących oddziaływania biostymulatorów na plon kwiatów i cebul jest niewiele.

W uprawie roślin coraz poważniejszym problemem jest nadmierne zasolenie gleb. Obecnie nawet 20% wszystkich gruntów uprawnych jest nadmiernie zasolonych, a globalne zmiany klimatu sprawiają, że obszarów dotkniętych zasoleniem będzie coraz więcej [17]. Zainteresowanie problemami związanymi z zasoleniem w uprawie roślin ozdobnych rośnie na całym świecie [18]. Większość badań nad wpływem warunków stresowych wynikających z zasolenia prowadzi się na ozdobnych roślinach rabatowych i bylinach, natomiast wciąż niewiele jest informacji dotyczących reakcji geofitów na ten czynnik. Z dotychczasowych, nielicznych badań u lilii wynika, że nadmierne zasolenie może prowadzić do zahamowania wzrostu i wyraźnego obniżenia jakości kwiatów [19,20]. Brakuje natomiast w dostępnej literaturze informacji na temat wpływu zasolenia na plon cebul lilii. Nie badano także dotąd możliwości łagodzenia szkodliwych skutków zasolenia u lilii z wykorzystaniem związków biostymulujących.

Nanotechnologia zajmuje się wytwarzaniem, projektowaniem oraz modyfikowaniem struktur w skali nano mających przynajmniej jeden wymiar mniejszy od 100 nm [21]. Cechami charakterystycznymi nanomateriałów i nanocząstek są bardzo małe rozmiary, relatywnie niska

masa i wysoki stosunek powierzchni do objętości [22]. Według raportu [23] popyt rynkowy na produkty nanotechnologiczne jest wart 42,2 mld USD i szacuje się, że do końca 2026 r. osiągnie poziom 70,7 mld USD. Obecnie dostępnych jest około 1300 materiałów w skali nano występujących w stanie swobodnym lub w formie agregatu bądź aglomeratu [24]. W ciągu ostatnich kilku lat nanotechnologia zyskała uwagę badaczy w dziedzinie nauk o roślinach. Nanocząstki metali szlachetnych stymulują wzrost roślin i zwiększają efektywność pobierania składników odżywczych. Związki te działają w małych ilościach jako skuteczne środki przeciwko patogenom, co wpływa na mniejsze zużycie konwencjonalnych pestycydów [25]. Dlatego dynamicznie rośnie znaczenie nanocząstek w zrównoważonym rolnictwie precyzyjnym. W rolnictwie i ogrodnictwie nanomateriały i nanocząstki są wykorzystywane także w biotechnologii roślin, w przechowywaniu, obrocie produktów rolnych i żywności [26,27]. Jakkolwiek zastosowanie nanocząstek w agronomii na tle pozostałych gałęzi jest wciąż niewielkie. Z około 29 000 patentów z nanotechnologii przyznanych na całym świecie, zaledwie 500 z nich dotyczy rolnictwa i żywienia [28]. Dlatego celowe jest prowadzenie na szerszą skalę prac badawczo-rozwojowych z wykorzystaniem nanomateriałów i nanocząstek w produkcji roślin.

Spśród nanocząstek metali największe zainteresowanie budzą nanocząstki srebra (AgNPs) charakteryzujące się silnym działaniem biologicznym. Szacuje się, że AgNPs zawiera prawie jedna czwarta wszystkich produktów nanotechnologicznych [29]. W ogrodnictwie AgNPs znajdują zastosowanie w rozmnażaniu *in vitro*, ochronie, nawożeniu, przedłużaniu trwałości kwiatów i zieleni ciętej [30,31]. Coraz bardziej powszechnym staje się pogląd, że AgNPs ze względu na mechanizmy działania i możliwości zastosowań można zaliczyć do grupy biostymulatorów [32]. AgNPs mogą silnie wpływać na wzrost i rozwój roślin, jednakże efekt działania jest niejednakowy, może być pozytywny, jak i negatywny [33,34]. Wykazano stymulujący lub hamujący wpływ AgNPs na kiełkowanie nasion, wzrost i rozwój organów roślinnych, kwitnienie i plonowanie roślin. AgNPs mogą wywoływać zmiany zarówno w rozwoju roślin, ich morfologii, a także w przebiegu procesów życiowych na poziomie fizjologicznym, biochemicznym i molekularnym [35,36,37]. W związku z tym istnieje potrzeba głębszych badań prowadzących do odpowiedzi na pytanie, jak AgNPs modyfikują procesy metaboliczne u roślin. Ostatnio postuluje się, że nanocząsteczki mogą skutecznie indukować tolerancję/odporność na stresy biotyczne i abiotyczne, wpływając przez to korzystnie na ogólną kondycję roślin, ich plonowanie oraz jakość [38,39].

### *Rozprawa doktorska*

Większość doświadczeń dotyczących wpływu AgNPs na rośliny ogranicza się do badań prowadzonych w warunkach optymalnych, często w warunkach *in vitro*, w fitotronach, gdzie w większości modelami są rośliny dwuliścienne [40]. Do nielicznych należą badania, w których wpływ AgNPs na wzrost i rozmnażanie roślin jest oceniany w naturalnych warunkach wzrostu roślin, przy naturalnej zmienności czynników w szklarni lub w tunelu, a obiektem badań są ozdobne cebulowe geofity. Ponadto wciąż bardzo słabo poznane są długoterminowe skutki reakcji roślin na AgNPs, szczególnie w warunkach stresów środowiskowych.

## **2. Hipoteza badawcza i cele naukowe pracy**

W niniejszej pracy doktorskiej przetestowano następujące hipotezy:

- i. Nanocząstki srebra (AgNPs) wykazują stymulujący wpływ na wzrost roślin i kwitnienie tulipana i lili w uprawie pod osłonami.
- ii. AgNPs zwiększają ilościowy i jakościowy plon cebul przybyszowych tulipana i lili.
- iii. Zastosowanie AgNPs u lili łagodzi stres wywołany nadmiernym zasoleniem.

Szczegółowe cele badawcze pracy doktorskiej były następujące:

- i. Określenie wpływu AgNPs na parametry morfologiczne, wskaźniki fizjologiczne, trwałość pozbiorną kwiatów i plon cebul tulipana.
- ii. Ustalenie wpływu dawki i sposobu aplikacji AgNPs na wzrost, kwitnienie i plon cebul lili.
- iii. Zbadanie wpływu AgNPs na zawartość barwników asymilacyjnych, makro i mikroskładników oraz skład makromolekuł u lili.
- iv. Ocena wykorzystania AgNPs w rozmnażania wegetatywnym lili metodą łuskowania.
- v. Poznanie reakcji morfologicznych i fizjologicznych lili na traktowanie AgNPs w warunkach stresu solnego.

### 3. Materiały i metody

Badania do pracy doktorskiej prowadzono w Zachodniopomorskim Uniwersytecie Technologicznym w Szczecinie.

#### 3.1. Charakterystyka materiału roślinnego

Materiał badawczy stanowiły cebule jednej odmiany tulipana i czterech odmian lili. Opis badanych odmian przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Charakterystyka odmian tulipana i lili wykorzystanych w badaniach [41,42,43]






Takson	Pochodzenie cebul	Charakterystyka
Tulipan 'Pink Impression' grupa: Mieszańce Darwina 	importer Mantel Holland (Holandia)	Wysokość roślin 60 cm. Kwiaty pojedyncze, duże, ciemnoróżowe. Odmiana nadaje się na kwiat cięty, na kwietniki i rabaty. Jedna z najpopularniejszych różowych odmian tulipana w USA i Kanadzie, stosowana do ogrodów naturalistycznych.
Lilia 'Bright Pixi' grupa: Mieszańce azjatyckie 	importer Benex (Polska)	Wysokość roślin 35–40 cm. Kwiaty pojedyncze, kanarkowożółte, lekko pachnące. Seria odmian z grupy Pixi wyhodowano w Oregon Bulb Farms (USA). Odmiany z grupy Pixi wyróżniają się naturalnie niskim wzrostem i krótkim okresem pędzenia; są polecane do uprawy doniczkowej.
Lilia 'Osasco' grupa: Mieszańce azjatyckie 	importer Ogrodnictwo Wiśniewski Jacek Junior (Polska)	Wysokość roślin 40 cm. Kwiaty pojedyncze, pomarańczowe. Odmiana o naturalnie niskim wzroście i krótkim okresie uprawy.
Lilia 'Little John' grupa: Mieszańce orientalne 	importer Ogrodnictwo Wiśniewski Jacek Junior (Polska)	Rośliny dorastają do 50 cm. Kwiaty pojedyncze, białoróżowe z jasnożółtą smugą, silnie pachnące. Odmiana o szeroko rozwartych działkach, u nasady z licznymi białymi brodawkami.



Tabela 1. c.d.

Takson	Pochodzenie cebul	Charakterystyka
Lilia 'Mona Lisa' grupa: Mieszzańce orientalne 	importer Ogrodnictwo Wiśniewski Jacek Junior (Polska)	Wysokość roślin 50–60 cm. Kwiaty duże, pojedyncze. Działki pofalowane, długie, jasnoróżowe, przechodzące w biel. Przez środek działek przebiegają pojedyncze, długie, ciemnoróżowe paski. U podstawy działek liczne, ciemno zabarwione brodawki. Odmiana jest polecana do pędzenia w doniczkach.

### 3.2. Metodyka badań

#### 3.2.1. Wpływ nanocząsteczek srebra na wzrost, kwitnienie i plon cebul tulipana 'Pink Impression'

Doświadczenie przeprowadzono w sezonach 2014/15 i 2015/16. Cebule tulipana przed sadzeniem moczo 60 minut w roztworach nanocząstek srebra (AgNPs) uzyskanych z rozpuszczenia AgNPs w wodzie dejonizowanej w stężeniach: 0 (kontrola), 25, 50, 100 i 150 ppm. Każdy wariant składał się z 4 powtórzeń, po 20 cebul w każdym. Cebule sadzono 31.10.2014 r. i 22.10.2015 r. pojedynczo do doniczek o średnicy 12 cm, wypełnionych podłożem składającym się w równych proporcjach z piasku i substratu torfowego TS1 o składzie: N-NO<sub>3</sub> – 182 mg dm<sup>-3</sup>, P – 131 mg dm<sup>-3</sup>, K – 402 mg dm<sup>-3</sup>, Ca – 1646 mg dm<sup>-3</sup>, Mg – 172 mg dm<sup>-3</sup>, Cl – 18 mg dm<sup>-3</sup>, pH – 6,4; EC – 0,54 mS cm<sup>-1</sup>. Tulipany pędzono metodą standardową „+9 °C”. Po upływie 15. tygodni chłodzenia doniczki z tulipanami przeniesiono do szklarni z temperaturą 18 ± 2 °C w dzień i 16 ± 2 °C w nocy, w warunkach naturalnego fotoperiodu.

Obliczono liczbę dni od rozpoczęcia pędzenia roślin w szklarni do fazy rozpoczęcia kwitnienia, którą ustalono jako całkowicie wybarwiony pąk kwiatowy. W tej fazie z każdego powtórzenia wylosowano 5 roślin, u których określono wskaźnik zieloności liści SPAD (Soil and Plant Analysis Development) za pomocą aparatu optycznego SPAD-502 (Minolta, Japonia) i przewodnictwo szparkowe liści przy użyciu porometru SC1 (Dekagon Devices, USA). Pomiar przeprowadzono na trzech w pełni rozwiniętych liściach każdej rośliny, po cztery odczyty na każdym liściu. Zazielenienie liści, oceniane wskaźnikiem SPAD, jest ważnym kryterium branym pod uwagę przy ocenie jakości roślin ozdobnych. Wartość SPAD wyznaczana jest szybko i niedestrukcyjnie na podstawie wzoru: SPAD = (940 nm – 650 nm)/(650 nm – 940 nm). Pomiar przewodności szparkowej liści pozwala ocenić

funkcjonowanie aparatów szparkowych biorących udział w wymianie gazowej i transpiracji. Pomiar SPAD jak i przewodności szparkowej liści daje możliwość wykrycia u roślin stresów spowodowanych nieodpowiednim odżywieniem roślin azotem i zaburzoną gospodarką wodną.

Zmierzono długość pędu kwiatowego, średnicę pędu w środkowej części, długość działek, świeżą masę pędu kwiatowego, świeżą masę korzeni i ich długość. W celu oceny trwałości pozbiorczej tulipanów, kwiaty cięte umieszczano pojedynczo w wodzie dejonizowanej, w szklanych cylindrach o pojemności 0,25 dm<sup>3</sup>. Obserwacje kwiatów ciętych prowadzono codziennie w pomieszczeniu o kontrolowanych warunkach: temperatura 20 ± 2 °C, wilgotność względna 65 ± 5%, natężenie napromienienia kwantowego 30 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (lampa fluorescencyjna o barwie białej), w rytmie dobowym 10 godzin światła, 14 godzin ciemności. Za moment utraty dekoracyjności uznawano więdnienie i zasychanie działek. Po 3. tygodniach od zakończenia kwitnienia oceniono liczbę i świeżą masę cebul przybyszowych.

Wyniki z każdego sezonu opracowano osobno za pomocą analizy wariancji (ANOVA) dla doświadczeń jednoczynnikowych w układzie kompletnej randomizacji. Wykorzystano program statystyczny STATISTICA 13.3. Do porównania średnich i określenia grup jednorodnych wykorzystano test Tukeya przy  $p \leq 0,05$ .

### **3.2.2. Wpływ nanocząsteczek srebra na wzrost, kwitnienie i plon cebul lili orientalnych ‘Mona Lisa’ i ‘Little John’**

Doświadczenie przeprowadzono w okresie 17.03–25.07.2015 r. i 30.03.–8.08.2016 r. w nieogrzewanym tunelu wolnostojącym. W pierwszym roku do badań wykorzystano odmianę lili ‘Mona Lisa’, w drugim odmianę ‘Little John’. Cebule o obwodzie 12–13 cm sprowadzono z holenderskich plantacji reprodukcyjnych i do czasu sadzenia przechowywano w temperaturze 6-8 °C. Cebule sadzono pojedynczo do doniczek o średnicy 16 cm i pojemności 2 dm<sup>3</sup>. Podłożem był substrat torfowy TS1. Rośliny uprawiano w warunkach naturalnego fotoperiodu, a średnia temperatura powietrza w tunelu wynosiła (2015/2016): marzec 9,9/9,0 °C, kwiecień 11,9/12,4 °C, maj 15,4/19,8 °C, czerwiec 18,1/22,0 °C, lipiec 21,4/21,3 °C.

AgNPs stosowano w formie roztworów z użyciem wody dejonizowanej w stężeniach: 0 (kontrola), 25, 50, 100 i 150 ppm. W pierwszym roku badań AgNPs aplikowano trzema metodami: (I) moczenie cebul w roztworze AgNPs przed sadzeniem przez 60 minut; (II) podlewanie (100 ml na doniczkę), (III) opryskiwanie roślin (45 ml na roślinę). Podlewanie i opryskiwanie roślin roztworami AgNPs wykonano trzykrotnie 30., 40. i 50. dnia po posadzeniu. W drugim roku badań AgNPs aplikowano w formie moczenia cebul przed sadzeniem. W każdym wariancie doświadczenia sadzono 20 cebul, po 5 w jednym powtórzeniu.

Obliczono liczbę dni od posadzenia cebul do rozpoczęcia kwitnienia oraz długość kwitnienia. Za początek kwitnienia przyjęto pierwszy w pełni rozwinięty kwiat na roślinie. Długość kwitnienia ustalono na podstawie liczby dni od początku kwitnienia do rozwinięcia się ostatniego kwiatu na roślinie. W fazie początku kwitnienia mierzono: wysokość roślin, liczbę liści, długość i szerokość działek. Zmierzono indeks zazielenienia liści SPAD na trzech w pełni rozwiniętych liściach, wykonując po trzy odczyty na liściu i obliczono średnią. Gdy rośliny zakończyły kwitnienie określono liczbę kwiatów w kwiatostanie, świeżą masę liści i cebul oraz policzono liczbę łusek w cebuli. W drugim roku eksperymentu zebrane liście ze środkowej części pędu przeznaczono do analiz.

Zawartość barwników asymilacyjnych oraz makroskładników w liściach to ważne biomarkery określające stan fizjologiczny roślin. W tych badaniach zawartość barwników oceniono w świeżych liściach metodą spektrofotometryczną. Do analiz pobierano krążki o jednakowej średnicy (7 mm) wycięte korkoborem ze środkowej części liścia. Barwniki ekstrahowano 99% N-N-dwumetyloformamidem przez 24 godziny. Chlorofil a, chlorofil b, chlorofil a+b i karotenoidy oznaczono poprzez pomiar absorbancji przy długościach fali: 440, 645 i 663 nm używając spektrofotometru SPEKOL 11 (Carl Zeiss Jena, Niemcy). Zawartość barwników obliczono na bazie wzorów [44] i wyrażono w mg kg<sup>-1</sup> świeżej masy. Liście przepłukano trzykrotnie wodą destylowaną, wysuszono w 60 °C do stałej masy i zmielono. Makroskładniki fosfor, potas, magnez, wapń i siarkę oznaczono z użyciem ICP-OES, metody emisyjnej spektrometrii optycznej ze wzbudzeniem w plazmie indukowanej, wykorzystując spektrofotometr ICP-OES (Optima 2000TM DV Perkin-Elmer, USA). Zawartość azotu oznaczono za pomocą aparatu Kijeldahla (Vapodest, Gerhardt, Niemcy) [45].

Makromolekuły stanowią główny element budulcowy organizmów, a ich skład, warunkowany endogennie, może być modyfikowany przez czynniki zewnętrzne, w tym nanocząsteczki i nanozwiązki. Spektroskopia oscylacyjna FTIR to nowoczesna metoda analizy składu i struktury roślin pozwalająca na identyfikację poszczególnych grup funkcyjnych obecnych w badanym materiale oraz śledzenie zmian, jakim mogą ulegać różne wiązania chemiczne [46]. W niniejszych badaniach pomiar widm dla sproszkowanych próbek liści dokonano za pomocą spektrometru FTIR (Perkin Elmer Spectrophotometer, Spectrum 100) w zakresie odpowiadającym średniej podczerwieni 4000-650 cm<sup>-1</sup>, z rozdzielczością 4 cm<sup>-1</sup>.

Doświadczenie prowadzono w układzie kompletnej randomizacji, w pierwszym roku badań jako dwuczynnikowe (5 stężeń × 3 metody aplikacji), a w drugim roku jako jednoczynnikowe (5 stężeń). Do wszystkich pomiarów biometrycznych wybierano po 3 wyrównane rośliny z każdego powtórzenia. Analizy materiału roślinnego przeprowadzono

w trzech powtórzeniach. Wyniki opracowano za pomocą analizy wariancji ANOVA z wykorzystaniem programu STATISTICA 13.3. Do oceny najmniejszych istotnych różnic między średnimi zastosowano test Tukeya przy  $p \leq 0,05$ .

### **3.2.3. Wpływ nanocząsteczek srebra na plon cebul przybyszowych lili ‘Little John’, ‘Mona Lisa’ i ‘Osasco’ rozmnażanych przez sadzonki łuskowe**

Materiałem roślinnym były cebule lili o masie i obwodzie: 111 g i 10 cm (‘Little John’), 200 g i 12 cm (‘Mona Lisa’) oraz 20 g i 13 cm (‘Osasco’). 30 września 2015 r. cebule rozdzielono na pojedyncze łuski, które moczo 30 minut w wodnych roztworach AgNPs w stężeniach: 0 (kontrola-woda destylowana), 25, 50, 100 i 150 ppm. Ogółem w każdym wariancie wykorzystano 100 łusek, w czterech powtórzeniach. Po wyschnięciu (24 godziny) łuski wymieszano z perlitem i torfem kwaśnym o pH 4,5 w stosunku objętościowym (v:v) 1:1 i umieszczono po 25 sztuk w workach foliowych o pojemności 2 dm<sup>3</sup>. Sadzonki przechowywano w ciemności, w temperaturze 20–22 °C przez 12 tygodni, a następnie w temperaturze 2–4 °C przez 16 tygodni. Po tym okresie określono liczbę oraz świeżą masę wytworzonych cebul przybyszowych oraz świeżą masę korzeni.

Doświadczenie założono w układzie losowanych bloków. Wyniki zweryfikowano statystycznie metodą analizy wariancji (ANOVA) dla doświadczeń dwuczynnikowych przy pomocy programu STATISTICA 13.3. Istotność zróżnicowania średnich oceniono według testu porównań wielokrotnych Tukeya przy poziomie  $p \leq 0,05$ .

### **3.2.4. Wpływ koloidalnych nanocząstek srebra na wzrost, kwitnienie i rozmnażanie lili azjatyckiej ‘Osasco’ oraz lili ‘Bright Pixi’ uprawianej w warunkach zasolenia**

Przeprowadzono dwa doświadczenia. Zastosowano komercyjnie dostępne koloidalne nanosrebro AgNPs. W doświadczeniu I badano odmianę lili ‘Osasco’; w drugim odmianę lili ‘Bright Pixi’. Cebule sadzono do doniczek o pojemności 2 dm<sup>3</sup> wypełnionych podłożem TS1. Rośliny uprawiano w 2015 r. (doświadczenie I) i w 2016 r. (doświadczenie II), od połowy marca do połowy lipca w warunkach naturalnego fotoperiodu, w nieogrzewanym tunelu foliowym.

**Doświadczenie I.** Cebule lili 'Osasco' przed sadzeniem moczone 60 minut w roztworach AgNPs w stężeniu: 0 (kontrola), 25, 50, 100 i 150 ppm. Do przygotowania roztworów użyto wody dejonizowanej. Osuszone cebule sadzono pojedynczo do doniczek. W każdym wariancie było 20 cebul, po 5 w powtórzeniu. Obliczono liczbę dni od posadzenia cebul do początku i zakończenia kwitnienia roślin. Gdy był rozwinięty pierwszy kwiat, określono wysokość roślin i długość działek. Policzono liście i kwiaty oraz określono świeżą masę liści i cebul. Wykopane cebule 4 tygodnie po zakończeniu kwitnienia wykorzystano do rozmnożenia metodą łuskowania. W tym celu po 4 cebule mateczne z każdego wariantu (0, 25, 50, 100 i 150 ppm AgNPs) podzielono na łuski. Powtórzeniem były wszystkie łuski pochodzące z jednej cebuli (średnio 52,1 łuski z 1 cebuli). Łuski z poszczególnych cebul umieszczono osobno w workach foliowych o pojemności 2 dm<sup>3</sup> wypełnionych wilgotnym podłożem (50% torfu kwaśnego i 50% perlitu). Worki z podłożem wymieszanim z łuskami przechowywano w ciemności, w temperaturze 20–22 °C przez 12 tygodni, a następnie w temperaturze 3–5 °C przez 16 tygodni w warunkach wysokiej wilgotności względnej (> 90%). Po tym okresie określono liczbę cebul przybyszowych uformowanych na łuskach pochodzących z jednej cebuli i świeżą masę ogółem cebul przybyszowych. Na podstawie uzyskanych wyników dotyczących świeżej masy poszczególnych cebul przybyszowych obliczono procentową strukturę plonu.

**Doświadczenie II.** Zastosowano następujące traktowania dla lili 'Bright Pixi': (i) kontrola – rośliny nie traktowane; (ii) moczenie cebul przed sadzeniem w roztworze 100 ppm koloidalnego AgNPs (iii) podlewanie roślin roztworem 600 mM NaCl; (iv) moczenie cebul przed sadzeniem w roztworze 100 ppm koloidalnego AgNPs i podlewanie roślin roztworem 600 mM NaCl. W każdym wariancie doświadczalnym posadzono 20 cebul, po 5 w powtórzeniu. Cebule w roztworze AgNPs moczone 60 minut. Podlewanie roślin roztworem 600 mM NaCl o przewodności elektrolitycznej (EC) = 2,32 mS cm<sup>-1</sup> rozpoczęto po 35. dniach od posadzenia cebul. Zasalanie prowadzono trzy razy, co 5 dni, zużywając za każdym razem 100 ml roztworu NaCl na każdą roślinę. Rośliny niezaslane podlewano wodą wodociągową o EC 0,25 mS cm<sup>-1</sup>. Stężenie 100 ppm AgNPs wybrano na podstawie wyników z doświadczenia I, gdzie przy tym stężeniu jakość cebul była najlepsza. Stężenie 600 mM NaCl wybrano na podstawie doświadczenia wstępnego, gdzie przy tym stężeniu wykazano wyraźny negatywny wpływ na biomasę roślin lili. Pomiarów cech morfologicznych przeprowadzono analogicznie jak w doświadczeniu I. Świeże liście zebrane ze środkowej części roślin w fazie kwitnienia wykorzystano do analiz. Zawartość barwników asymilacyjnych oznaczono za pomocą spektrofotometru w świeżych liściach. Zawartość makro (P, K, Ca, Mg, Na)

i mikroskładników (B, Cu, Fe, Mn, Zn) oznaczono metodą ICP-OES. Zawartość azotu oznaczono metodą Kjeldahla. Zawartość barwników asymilacyjnych i minerałów oznaczono w 3 powtórzeniach.

Doświadczenia założono w układzie podbloków losowych. Wyniki zweryfikowano analizą wariancji (ANOVA) dla klasyfikacji pojedynczej. Czynnikiem klasyfikującym dla I doświadczenia były poziomy koloidalnego nanosrebra AgNPs (0, 25, 50, 100 i 150 ppm); dla drugiego doświadczenia cztery traktowania (kontrola, AgNPs, NaCl, AgNPs + NaCl). Do analizy statystycznej wykorzystano pakiet programu STATISTICA 13.3. W celu porównania średnich wykorzystano test Tukeya przy poziomie  $p \leq 0,05$ .

#### **4. Omówienie wyników**

**Publikacja 1.** Byczyńska A., Zawadzińska A., Salachna P. 2019. Silver Nanoparticles preplant bulb soaking affects tulip production. *Acta Agriculturae Scandinavica - Section B Soil and Plant Science*, 69(3), 250–256.

Biostymulacja to zjawisko biologiczne wynikające z interakcji między strukturami molekularnymi komórki, a zewnętrznymi bodźcami mogącymi mieć charakter fizyczny, chemiczny lub biologiczny. Po zastosowaniu czynnika biostymulacyjnego następują u roślin zmiany na poziomie genetycznym, metabolicznym i morfologicznym, które w efekcie prowadzą do zwiększenia wzrostu i plonowania. Szerokie zapotrzebowanie na biostymulatory skłania do poszukiwania nowych źródeł substancji o wysokiej aktywności względem roślin. Szczególną uwagę zwraca się ostatnio na nanocząstki srebra (AgNPs), które mogą modyfikować wzrost i rozwój roślin oraz ich aktywność fizjologiczną. Wykorzystanie AgNPs daje szereg korzyści, ale też bywa niebezpieczne ze względu na toksyczne działanie AgNPs, gdy są stosowane w nieodpowiednich dawkach.

Tulipan jest ze względów ekonomicznych najważniejszą rośliną cebulową w produkcji ogrodniczej. Jak do tej pory nie podjęto badań nad możliwością wykorzystania w uprawie tulipana nanomateriałów czy nanocząstek jako potencjalnych biostymulatorów. Celem badań była ocena wpływu moczenia cebul tulipana ‘Pink Impresion’ w roztworze AgNPs w różnym stężeniu na wzrost, kwitnienie, wybrane wskaźniki fizjologiczne oraz plon cebul.

W wyniku przeprowadzonego dwuletniego eksperymentu wykazano, że AgNPs w stężeniach od 25 do 150 ppm wpłynęły stymulująco na wzrost i rozwój tulipana.

Jednocześnie nie obserwowano u roślin jakichkolwiek uszkodzeń wskazujących na toksyczne działanie AgNPs. Stwierdzono, że traktowanie AgNPs przyspieszyło kwitnienie roślin, średnio o 4 dni w zależności od stężenia i sezonu. W wyniku aplikacji AgNPs we wszystkich stężeniach uzyskano dłuższe pędy kwiatowe. Najdłuższe pędy uzyskano u roślin traktowanych AgNPs w stężeniu 100 ppm. Przy tym stężeniu kwiaty były dłuższe w stosunku do kontroli o 22,4% (pierwszy sezon) i 28,2% (drugi sezon). W obu sezonach uprawy moczenie cebul w roztworze AgNPs spowodowało zwiększenie długości działek okwiatu, niezależnie od stężenia. Wykazano także, że traktowanie AgNPs zwiększyło istotnie świeżą masę pędów kwiatowych. Kwiaty uzyskane z roślin traktowanych 100 ppm AgNPs miały największą świeżą masę. Przy tym stężeniu świeża masa kwiatów była większa o 16,9% (pierwszy sezon) i o 24,6% (drugi sezon) w porównaniu do masy kwiatów u roślin kontrolnych. Zwiększony indeks zazielenienia liści wykazano u roślin traktowanych AgNPs w stężeniu 100 ppm (oba sezony) i 150 ppm (pierwszy sezon). Przewodność szparkowa liści była wyraźnie większa u roślin traktowanych AgNPs w stężeniu 50 i 100 ppm. Stwierdzono, że w obu sezonach rośliny uzyskane z cebul moczonych w 100 ppm AgNPs miały największą masę korzeni. Najdłuższe korzenie obserwowano u roślin traktowanych AgNPs w stężeniu 50 i 100 ppm. Traktowanie AgNPs spowodowało zwiększenie liczby cebul przybyszowych, przy czym najsilniejszy efekt uzyskano stosując AgNPs w stężeniu 50 i 100 ppm. Odnotowano, że świeża masa cebul przybyszowych była największa w wyniku stosowania 100 ppm AgNPs. Na podstawie obserwacji stwierdzono, że moczenie cebul tulipana przed sadzeniem w AgNPs nie miało wpływu na trwałość pozbiorną kwiatów ciętych.

**Publikacja 2.** Salachna P., Byczyńska A., Zawadzińska A., Piechocki R., Mizielńska M. 2019. Stimulatory effect of silver nanoparticles on the growth and flowering of potted oriental lilies. *Agronomy*, 9, 610.

W uprawie i rozmnażaniu odmian lili należących do grupy orientalnych napotyka się liczne trudności wynikające z ich wrażliwości na warunki klimatyczne i glebowe oraz choroby. Prawie nie ma danych literaturowych na temat doskonalenia technologii produkcji lili orientalnych z wykorzystaniem biostymulatorów w postaci nanocząstek. Celem nadrzędnym badań była ocena wpływu AgNPs na wzrost, przebieg kwitnienia, wybrane parametry morfologiczne i plon cebul dwóch odmian lili orientalnych.

Biostymulatory stymulują procesy życiowe zachodzące u roślin w wyniku wpływu na ich metabolizm. Nieliczne badania wskazują, że AgNPs mogą wywoływać zmiany na poziomie biologicznym i fizjologicznym wpływając na syntezę barwników asymilacyjnych, metabolitów i stopień odżywienia roślin. Postanowiono zatem sprawdzić, czy AgNPs mogą modyfikować metabolizm roślin na przykładzie lili 'Little John'. W tym celu oceniono wpływ AgNPs o zróżnicowanym stężeniu na zawartość chlorofilów, karotenoidów, składników mineralnych i profil makromolekuł.

Wykorzystanie nanomateriałów w różnych dziedzinach życia przynosi szereg korzyści, ale także przy okazji stwarza ryzyko ich uwolnienia do środowiska. Wpływ nanocząstek na ekosystemy (gleba, woda) jest w dużej mierze jeszcze nie zbadany. W rolnictwie i ogrodnictwie nanocząstki są stosowane najczęściej w formie opryskiwania i podlewania roślin. Brakuje szerszych informacji na temat aplikowania nanocząstek poprzez moczenie organów roślinnych w roztworach tych związków. Wydaje się, że moczenie cebul roślin w roztworze AgNPs w stosunku do podlewania czy opryskiwania jest efektywniejsze ekonomicznie oraz bardziej przyjazne środowisku z powodu większej kontroli nad uwalnianiem nanocząstek do otoczenia. Dlatego w badaniach porównano skuteczność trzech różnych metod aplikacji AgNPs w uprawie lili 'Mona Lisa'.

Zastosowanie AgNPs miało pozytywny wpływ na większość ocenianych parametrów morfologicznych lili 'Mona Lisa'. Rośliny traktowane AgNPs miały wyraźnie zwiększoną świeżą masę liści 23,6–50,5% i świeżą masę cebul 44,9–73,4% oraz wcześniej rozpoczynały kwitnienie (o 2–3 dni) w stosunku do roślin kontrolnych. Spośród zastosowanych stężeń AgNPs, przy 50 ppm rośliny były najwyższe (48,1 cm), miały najwięcej liści (27,1), wysoki indeks zazielenienia (61,5 SPAD), najdłużej kwitły (11 dni), a ich cebule cechowały się największą świeżą masą (37,1 g) i największą liczbą łusek (23,0). Porównując trzy metody aplikacji AgNPs stwierdzono, że lilie 'Mona Lisa' uzyskane z cebul moczonych w roztworze nanocząstek cechowały się istotnie zwiększoną liczbą liści, indeksem zazielenienia, liczbą kwiatów, świeżą masą liści i cebul w porównaniu do roślin opryskiwanych i podlewanych. Ponadto moczenie cebul w roztworze AgNPs przyspieszyło kwitnienie roślin i zwiększyło liczbę kwiatów pozostając bez wpływu na długość kwitnienia. Testowane stężenia AgNPs i metody stosowania nie miały istotnego wpływu na długość i szerokość płatków kwiatów.

Analizując liczbę liści, indeks zazielenienia oraz świeżą masę cebul stwierdzono istotną interakcję pomiędzy stężeniem AgNPs i metodą aplikacji. Rośliny uzyskane z cebul moczonych w roztworze AgNPs miały najwięcej liści (34,5) przy stężeniu 150 ppm,



a najwyższy indeks zazielenienia (68,3 SPAD) przy stężeniu 50 ppm. Cebule o największej świeżej masie (40,9 g) otrzymano u roślin podlewanych roztworem AgNPs w stężeniu 50 ppm.

W drugim roku badano lilię 'Little John', a AgNPs aplikowano w formie moczenia cebul jako metodę najkorzystniejszą. Uzyskane dane potwierdziły stymulujące działanie AgNPs na wzrost i kwitnienie lilii. Rośliny traktowane wszystkimi testowanymi stężeniami AgNPs cechowały się istotnie większą świeżą masą liści (28,6–47,9%) i cebul (40,6–56,5%), dłuższymi działkami (9,7–13,7%) i zwiększoną liczbą kwiatów (4,5–14,9%) w stosunku do roślin nietraktowanych. Ponadto, zastosowanie AgNPs przyspieszyło kwitnienie roślin o 2–4 dni z wyjątkiem stężenia 150 ppm. Najkorzystniej na większość analizowanych cech wpłynęło użycie AgNPs w stężeniu 100 ppm, przy którym rośliny były najwyższe (56,5 cm), miały najwięcej liści (65,7), najwyższy indeks zazielenienia (59,4 SPAD), najdłuższe (14,1 cm) i najszerze (7,0 cm) działki i najdłużej kwitły (18 dni).

Z przeprowadzonych analiz wynika, że zastosowanie AgNPs wpłynęło istotnie na zawartość barwników w liściach lilii 'Little John'. Najwięcej chlorofilu a, chlorofilu b, chlorofilu a+b oraz karotenoidów stwierdzono w liściach roślin traktowanych 100 ppm AgNPs. W tym wariacie poziom chlorofilu a, chlorofilu b, chlorofilu a+b oraz karotenoidów był zwiększony w stosunku do kontroli odpowiednio o 31%, 23%, 29% i 26%. Koncentracja w liściach azotu, potasu, wapnia i siarki także zależała od stężenia AgNPs. W porównaniu do roślin nietraktowanych, aplikacja AgNPs w stężeniu 50 ppm powodowała wzrost zawartości azotu i potasu odpowiednio o 9,2 i 16,1%. U roślin traktowanych AgNPs w stężeniu 100 ppm także wykazano istotnie zwiększoną zawartość potasu (o 14,9%) oraz dodatkowo zwiększoną zawartość wapnia (o 14,4%) i siarki (o 25,5%).

W ramach analizy spektroskopowej FTIR wyróżniono pięć obszarów w zakresie liczb falowych: (1) od 3600 do 3200  $\text{cm}^{-1}$ , (2) od 3200 do 2800  $\text{cm}^{-1}$ , (3) od 1800 do 1500  $\text{cm}^{-1}$ , (4) od 1400 do 1200  $\text{cm}^{-1}$  oraz (5) od 1200 do 900  $\text{cm}^{-1}$ . Zidentyfikowano sygnały: 3285,90  $\text{cm}^{-1}$  pochodzący najprawdopodobniej od oddziaływań grup O-H; 2917,58, 2850,42 i 1411,25  $\text{cm}^{-1}$  pochodzące najprawdopodobniej od oddziaływań grup  $\text{CH}_3\text{-CH}_2$ ; 1590,73  $\text{cm}^{-1}$  i 1587,03  $\text{cm}^{-1}$  charakterystyczne dla tłuszczów i pektyn oraz 1026,40, 1026,85 i 1098,49  $\text{cm}^{-1}$  pochodzące najprawdopodobniej od wiązań O-H i C-O. Na podstawie przeprowadzonej analizy FTIR nie stwierdzono, aby traktowanie roślin AgNPs miało wyraźny wpływ na położenie i intensywność pasm oscylacyjnych. Uzyskane widma FTIR próbek były do siebie spektralnie podobne.

**Publikacja 3.** Byczyńska A., Zawadzińska A., Salachna P. 2018. Effects of nano-silver on bulblet production from bulb scales of *Lilium*. *Propagation of Ornamental Plants*, 18(3), 104–106.

Cebule to organy rozmnażania wegetatywnego wykazujące zdolność do regeneracji całej rośliny. Główną przyczyną zdolności regeneracyjnej cebul roślin jest totipotencja ich komórek. Na łuskach cebul umieszczonych w warunkach wysokiej wilgotności i temperatury bez dostępu światła formują się cebule przybyszowe z pąków znajdujących się w stanie spoczynku. Współczynnik tworzenia się cebul przybyszowych na łuskach można zwiększyć stosując substancje hormonalne i regulatory wzrostu. W ostatnim okresie pojawiły się doniesienia dotyczące możliwości wykorzystania AgNPs w rozmnażaniu roślin zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *ex vitro*. Celem badań była ocena wpływu AgNPs na potencjał regeneracyjny lili 'Little John', 'Mona Lisa' i 'Osasco' rozmnażanych metodą łuskowania.

Stwierdzono, że moczenie łusek lili bezpośrednio przed inkubacją w roztworach AgNPs wpłynęło na wielkość i jakość plonu cebul przybyszowych, przy czym efekt ten zależał istotnie od odmiany i stężenia oraz współdziałania obu badanych czynników. Porównując oceniane odmiany stwierdzono, że wyraźnie więcej cebul przybyszowych uzyskano u odmiany 'Mona Lisa'. U odmian 'Little John' i 'Mona Lisa' uzyskane cebule przybyszowe miały większą świeżą masę w porównaniu do masy cebul przybyszowych odmiany 'Osasco'. Z kolei odmiana 'Little John' wytworzyła cebule przybyszowe, których korzenie miały większą świeżą masę w stosunku do dwóch pozostałych odmian.

Niezależnie od badanych odmian, zastosowanie AgNPs spowodowało zwiększenie liczby cebul przybyszowych lili, za wyjątkiem stężenia 150 ppm. Najkorzystniej na liczbę cebul przybyszowych wpłynęło zastosowanie AgNPs w stężeniu 50 ppm. Wykazano, że moczenie łusek w roztworze AgNPs miało stymulujący wpływ na świeżą masę cebul przybyszowych i korzeni przybyszowych. Cebule przybyszowe i korzenie przybyszowe o największej świeżej masie obserwowano po aplikacji AgNPs w stężeniu 50 i 100 ppm.

Wykazano istotną interakcję między odmianami a stężeniami AgNPs dla liczby i świeżej masy cebul przybyszowych oraz świeżej masy korzeni przybyszowych. Najwięcej cebul przybyszowych wytworzyła odmiana 'Mona Lisa', której łuski były traktowane AgNPs w stężeniu 50 ppm. Najmniej cebul przybyszowych uzyskano z łusek odmiany 'Osasco', których nie mociono w roztworze AgNPs. Z łusek odmiany 'Mona Lisa' traktowanych przed inkubacją AgNPs w stężeniu 50 ppm uzyskano cebule przybyszowe i korzenie przybyszowe o największej świeżej masie. Najmniejszą świeżą masą charakteryzowały się cebule

przybyszowe i korzenie przybyszowe u odmiany 'Little John', której łuski moczo w wodzie destylowanej bez AgNPs (kontrola).

**Publikacja 4.** Byczyńska A., Zawadzińska A., Salachna P. 2023. Colloidal Silver Nanoparticles Enhance Bulb Yield and Alleviate the Adverse Effect of Saline Stress on Lily Plants. *Journal of Ecological Engineering*, 24(6), 338–347.

Wpływ AgNPs na wzrost roślin zależy od rodzaju nanocząstek, ich wielkości, kształtu czy zdolności do tworzenia agregatów. Poszczególne gatunki roślin, a nawet odmiany różnią się pod względem reakcji na AgNPs. Z nielicznych badań wynika, że AgNPs mogą akumulować się w tkankach oraz organach przetrwalnikowych i być wykrywane w nowych pokoleniach roślin. Bardzo słabo poznane są długoterminowe skutki wpływu AgNPs na wzrost i rozmnażanie roślin. Ogólną ideą badań było zatem poznanie wpływu AgNPs w formie koloidalnej na wzrost, kwitnienie i plon cebul oraz zbadanie efektu następczego AgNPs na plon cebul przybyszowych lili 'Osasco'.

W ostatnich latach prowadzone są badania nad określeniem wrażliwości różnych gatunków roślin ozdobnych na nadmierne zasolenie. Poznanie roślin ozdobnych znoszących zasolenie ma duże znaczenie praktyczne. Lilie reagują na podwyższone zasolenie podłoża utratą dekoracyjności. Nie jest jednak głębiej poznany wpływ zasolenia na plon cebul lili. Ostatnie badania sugerują, że AgNPs mogą łagodzić skutki stresu wywołanego nadmiernym zasoleniem. Celem badań było określenie wpływu AgNPs w formie koloidalnej i zasolenia na wzrost, kwitnienie, zawartość barwników asymilacyjnych i skład chemiczny liści lili 'Bright Pixi'.

Nie stwierdzono na liściach, kwiatach i cebulach żadnych oznak fitotoksyczności wywołanych działaniem AgNPs. Zastosowanie AgNPs w stężeniach od 25 do 150 ppm wyraźnie przyspieszyło kwitnienie lili 'Osasco' od 3 do 6 dni. Najdłuższym okresem kwitnienia (22 dni) cechowały się lilie, których cebule moczo w roztworze 150 ppm AgNPs. Zastosowanie AgNPs, niezależnie od stężenia, zwiększyło świeżą masę części nadziemnej roślin od 21,5% do 32,0% oraz świeżą masę cebul od 36,3% do 64,0%. Użycie AgNPs zwiększyło także średnicę cebul lili od 19,9% do 22,0%. Największą świeżą masę zarówno części nadziemnej, jak i cebul, średnicę cebul oraz liczbę łusek w cebuli miały rośliny traktowane AgNPs w stężeniu 100 ppm. Wykazano następczy wpływ AgNPs na liczbę i świeżą masę ogółem cebul przybyszowych lili 'Osasco'. Z łusek pochodzących z cebul traktowanych

AgNPs w stężeniu 100 i 150 ppm uzyskano więcej cebul przybyszowych o odpowiednio 15,1% i 23,6%, które jednocześnie miały zwiększoną świeżą masę o 39,6% i 36,5% w stosunku do kontroli. Z analizy struktury plonu cebul przybyszowych wynika, że w każdym wariancie największy udział stanowiły cebule przybyszowe o masie od 0,01 do 0,20 g. Najwięcej cebul przybyszowych o masie od 0,01 do 0,20 g wykazano w wariancie kontrolnym (79,3%), a najmniej w wariancie, w którym użyto AgNPs w stężeniu 25 ppm (54,8%).

Wykorzystanie AgNPs do moczenia cebul pozytywnie wpłynęło na większość ocenianych cech morfologicznych lili 'Bright Pixi'. W wyniku aplikacji AgNPs rośliny zakwitły szybciej o 3 dni, miały zwiększoną wysokość (o 8,0%), szerokość działek (13,5%), świeżą masę cebul (13,9%), średnicę cebul (14,3%) i liczbę łusek w cebuli (12,3%) w porównaniu do roślin nietraktowanych AgNPs. Stres solny wywołany podlewaniem roślin wodnym roztworem NaCl spowodował nieznaczne opóźnienie kwitnienia i skrócenie długości kwitnienia, a także zmniejszenie długości działek okwiatu i wysokości roślin. Zdecydowanie silniejszy, negatywny wpływ stresu solnego wykazano analizując dane dotyczące biomasy i plonu cebul. W wyniku stresu solnego rośliny miały zmniejszoną świeżą masę części nadziemnej (o 36,5%), świeżą masę cebul (32,5%), średnicę cebul (13,0%) i liczbę łusek w cebuli (40,8%) w stosunku do roślin niezasalanych. Wykazano, że rośliny traktowane AgNPs w warunkach stresu solnego miały podobną liczbę dni do kwitnienia, liczbę kwiatów, długość i szerokość działek okwiatu oraz świeżą masę części nadziemnej w stosunku do roślin traktowanych tylko NaCl. Zastosowanie AgNPs ograniczyło negatywny wpływ stresu solnego na wysokość roślin i jakość ich cebul. Rośliny traktowane zarówno AgNPs, jak i NaCl cechowały się zwiększoną wysokością (o 7,6%), świeżą masą cebul (42,3%), liczbą łusek w cebuli (46,9%) i średnicą cebul (13,7%) w stosunku do roślin tylko zasalanych. Zastosowanie AgNPs i NaCl wpłynęło istotnie na zmiany w zawartości barwników w liściach lili 'Bright Pixi'. Najwięcej chlorofilu a, chlorofilu b, chlorofilu a+b oraz karotenoidów stwierdzono u roślin traktowanych AgNPs. Najmniej chlorofilu a, chlorofilu b, chlorofilu a+b oraz karotenoidów miały rośliny traktowane tylko NaCl. Pod wpływem stresu solnego obserwowano wyraźny spadek zawartości w liściach roślin azotu, potasu, wapnia, miedzi, manganu i cynku.

## **5. Wnioski**

Wyniki badań uzyskane w czterech oryginalnych publikacjach naukowych pozwalają na sformułowanie następujących wniosków:

1. W uprawie tulipana i lili pod osłonami zastosowanie nanocząstek srebra (AgNPs) w stężeniach 25–150 ppm przyspieszyło kwitnienie, spowodowało poprawę jakości roślin i zwiększyło plon cebul.
2. Najkorzystniej na jakość kwiatów ciętych, zazielenienie liści, przewodność szparkową liści, a także plon cebul przybyszowych tulipana ‘Pink Impression’ wpłynęło użycie AgNPs w stężeniu 100 ppm.
3. Zastosowanie AgNPs w stężeniach 50 i 100 ppm u lili ‘Mona Lisa’ pozwoliło na uzyskanie wcześniej kwitnących roślin, o wyraźnie zwiększonej liczbie kwiatów i masie cebul.
4. Moczenie cebul lili ‘Mona Lisa’ w roztworach AgNPs miało większy efekt biostymulujący na wzrost i kwitnienie roślin w porównaniu do dwóch pozostałych metod aplikacji, tj. opryskiwania i podlewania.
5. Lilie ‘Little John’ uzyskane z cebul traktowanych AgNPs w stężeniu 100 ppm charakteryzowały się największą zawartością barwników asymilacyjnych, potasu, wapnia i siarki w liściach. Jednocześnie nie stwierdzono znaczących zmian ilościowych i jakościowych składu makromolekuł w liściach roślin eksponowanych na AgNPs.
6. Możliwe jest zastosowanie AgNPs w rozmnażaniu lili przez sadzonki łuskowe w celu zwiększenia plonu cebul przybyszowych. Moczenie łusek lili w roztworze AgNPs w stężeniu 50 i 100 ppm wpłynęło najkorzystniej na masę i system korzeniowy cebul przybyszowych.
7. Poszczególne odmiany lili różniły się potencjałem regeneracyjnym. Najwięcej cebul przybyszowych uformowało się na łuskach lili ‘Mona Lisa’.
8. Obserwowano pozytywny, następczy wpływ AgNPs na współczynnik rozmnażania lili ‘Osasco’. Najwięcej zainicjowanych cebul przybyszowych stwierdzono na łuskach pochodzących z cebul moczonych w roztworze AgNPs w stężeniach 100 i 150 ppm.
9. Stres solny spowodował u lili ‘Bright Pixi’ wyraźny spadek biomasy, zmniejszenie średnicy cebul i liczby łusek w cebuli, zawartości barwników asymilacyjnych, azotu, potasu, wapnia, miedzi, manganu i cynku. Zastosowanie AgNPs łagodziło niekorzystny wpływ nadmiernego zasolenia na plon cebul lili.

## 6. Bibliografia

1. Salachna P. 2022. Trends in ornamental plant production. *Horticulturae*, 8(5), 413.
2. Cardoso J.C., Vendrame W.A. 2022. Innovation in propagation and cultivation of ornamental plants. *Horticulturae*, 8(3), 229.
3. García-Caparrós P., Lao M.T. 2018. The effects of salt stress on ornamental plants and integrative cultivation practices. *Scientia Horticulturae*, 240, 430–439.
4. Benschop M., Kamenetsky R., Le Nard M., Okubo H., De Hertogh A. 2010. The global flower bulb industry: Production, utilization, research. *Horticultural Reviews*, 36, 1–115.
5. <https://www.podoslonami.pl/uprawa-tulipanow/> [dostęp 15.04.2023]
6. <https://www.podoslonami.pl/opinie/sezon-na-tulipany-pierwsze-podsumowania/> [dostęp 1.02.2023]
7. Voronchikhina I.N., Shchuklina O.A., Alenicheva A.D., Klimenkova I.N., Klimenkov F.I., Langaeva N.N., Zavgorodny S.V. 2020. Study of biomorphological features of tulips (*Tulipa* L.) in the forcing crop. *Ovoši Rossii*.
8. Krause J. 1998. Ocena przydatności wybranych odmian tulipanów Foster'a do pędzenia w doniczkach. *Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis, Agricultura*, 70, 43–47.
9. Orlikowska T., Podwyszyńska M., Marasek-Ciołakowska A., Sochacki D., Szymański R. 2018. Tulip. *Ornamental crops*, 769–802.
10. <https://www.podoslonami.pl/przegląd-informacji/lilie-szklarniowe-247-czyli-powtorka-z-czerwca/> [dostęp 10.04.2023]
11. Mynett K. 1992. *Lilie*. PWRIL, Warszawa.
12. Treder J. 2003. Effects of supplementary lighting on flowering, plant quality and nutrient requirements of lily 'Laura Lee' during winter forcing. *Scientia Horticulturae*, 98(1), 37–47.
13. Inamoto K., Nagasuga K., Yano T. 2022. Effect of CO<sub>2</sub> Enrichment on the Photosynthesis and Dry Matter Accumulation in the Oriental Hybrid Lily 'Siberia'. *The Horticulture Journal*, 91(4), 541–550.
14. Chahal D., Malik A., Devi S. 2022. Effect of Different Growing Conditions and Genotypes on Growth and Bulb Parameters of Asiatic Lily. *Agricultural Science Digest-A Research Journal*, 42(4), 407–413.
15. Tang N., Ju X., Hu Y., Jia R., Tang D. 2020. Effects of Temperature and Plant Growth Regulators on the Scale Propagation of *Lilium davidii* var. unicolor. *HortScience*, 55(6), 870–875.
16. Sochacki D., Woźniak E., Marciniak P. 2018. The effect of selected factors on micropropagation efficacy and on the first bulb yield in *Hippeastrum* × *chmielii* Chm. and *H. hybridum* 'Double Roma'. *Propagation of Ornamental Plants*, 18(3), 87–96.
17. Butcher K., Wick A.F., DeSutter T., Chatterjee A., Harmon J. 2016. Soil salinity: A threat to global food security. *Agronomy Journal*, 108(6), 2189–2200.
18. Franco J.A., Martínez-Sánchez J.J., Fernández J.A., Bañón S. 2006. Selection and nursery production of ornamental plants for landscaping and xerogardening in semi-arid environments. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 81(1), 3–17.
19. Ayad J., Othman Y., Al Antary T. 2019. Irrigation water salinity and potassium enrichment influenced growth and flower quality of Asiatic lily. *Fresenius Environmental Bulletin*, 28(11A), 8900–8905.

20. Kang Y.I., Choi Y.J., Lee Y.R., Seo K.H., Suh J.N., Lee H.R. 2021. Cut flower characteristics and growth traits under salt stress in lily cultivars. *Plants*, 10(7), 1435.
21. Fincheira P., Tortella G., Seabra A.B. Quiroz A., Diez M.C., Rubilar O. 2021. Nanotechnology advances for sustainable agriculture: current knowledge and prospects in plant growth modulation and nutrition. *Planta*, 254, 1–25.
22. Wang P., Lombi E., Zhao F.J., Kopittke P.M. 2016. Nanotechnology: a new opportunity in plant sciences. *Trends in Plant Science*, 21(8), 699–712.
23. <https://www.globenewswire.com/news-release/2022/05/16/2444012/0/en/Global-Nanotechnology-Market-to-Reach-70-7-Billion-by-2026.html> [dostęp 10.04.2023]
24. Yashwant Y.S., Deepika D.C., Tansukh T.B. 2022. Impact of nanotechnology on environment and their role in agronomy and food stuffs production: an overview: role of nanotechnology in agronomy. *Biomaterials Journal*, 1(2), 1–4.
25. Hu J., Xianyu Y. 2021. When nano meets plants: A review on the interplay between nanoparticles and plants. *Nano Today*, 38, 101143.
26. Rana R.A., Siddiqui M., Skalicky M., Brestic M., Hossain A., Kayesh E., Popov M., Hejnak V., Gupta D.R., Mahmud N.U., Islam T. 2021. Prospects of nanotechnology in improving the productivity and quality of horticultural crops. *Horticulturae*, 7(10), 332.
27. Salachna P., Mizielińska M., Płoszaj-Witkowska B., Jaszczak A. 2021. Zinc oxide nanoparticles enhanced biomass and zinc content and induced changes in biological properties of red *Perilla frutescens*. *Materials*, 14(20), 6182.
28. Yadav S.K., Lal S., Yadav S., Laxman J., Verma B., Sushma M., Choudhary R., Singh P.K., Singh S.P., Sharma V. 2019. Use of nanotechnology in agri-food sectors and apprehensions: an overview. *Seed Research*, 47(2), 99–149.
29. Yaqoob A.A., Umar K., Ibrahim M.N.M. 2020. Silver nanoparticles: various methods of synthesis, size affecting factors and their potential applications—a review. *Applied Nanoscience*, 10, 1369–1378.
30. Byczyńska A. 2017. Improvement of postharvest quality of cut tulip ‘White Parrot’ by nano silver. *World Scientific News*, (83), 224–228.
31. Tymoszuk A., Kulus D. 2020. Silver nanoparticles induce genetic, biochemical, and phenotype variation in chrysanthemum. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 143(2), 331–344.
32. Bahuguna A., Sharma S., Rai A., Bhardwaj R., Sahoo S.K., Pandey A., Yadav B. 2022. Advance technology for biostimulants in agriculture. In: *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, Elsevier, 393–412.
33. Cvjetko P., Milošić A., Domijan A.M., Vrček I.V., Tolić S., Štefanić P.P., Letofsky-Papst I., Tkalec M., Balen B. 2017. Toxicity of silver ions and differently coated silver nanoparticles in *Allium cepa* roots. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 137, 18–28.
34. Guzmán-Báez G.A., Trejo-Téllez L.I., Ramírez-Olvera S.M., Salinas-Ruiz J., Bello-Bello J.J., Alcántar-González G., Hidalgo-Contreras J.V., Gómez-Merino F.C. 2021. Silver nanoparticles increase nitrogen, phosphorus, and potassium concentrations in leaves and stimulate root length and number of roots in tomato seedlings in a hormetic manner. *Dose-Response*, 19(4), 15593258211044576.

35. Chen S., Yan X., Peralta-Videa J.R., Su Z., Hong J., Zhao L. 2023. Biological Effects of AgNPs on Crop Plants: Environmental Implications and Agriculture Applications. *Environmental Science: Nano*, 10, 62–71.
36. Anjum N.A., Gill S.S., Duarte A.C., Pereira E., Ahmad I. 2013. Silver nanoparticles in soil–plant systems. *Journal of Nanoparticle Research*, 15, 1–26.
37. Siddiqi K.S., Husen A. 2022. Plant response to silver nanoparticles: a critical review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 42(7), 973–990.
38. Mahajan S., Kadam J., Dhawal P., Barve S., Kakodkar S. 2022. Application of silver nanoparticles in in-vitro plant growth and metabolite production: revisiting its scope and feasibility. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 150(1), 15–39.
39. Yan X., Chen S., Pan Z., Zhao W., Rui Y., Zhao L. 2023. AgNPs-Triggered Seed Metabolic and Transcriptional Reprogramming Enhanced Rice Salt Tolerance and Blast Resistance. *ACS nano*, 17(1), 492–504.
40. Sarmast M.K., Salehi H. 2016. Silver nanoparticles: an influential element in plant nanobiotechnology. *Molecular Biotechnology*, 58, 441–449.
41. <https://ruigrokflowerbulbs.com/product/tulipa-darwin-hybrid-pink-impression/> [dostęp 15.04.2023]
42. Mynett K. 1993. *Lilie*. PWRiL, Warszawa.
43. <https://www.jparkers.co.uk/lilium-mona-lisa/> [dostęp 10.04.2023]
44. Grzeszczuk M., Jadczyk D. 2009. Estimation of biological value of some species of mint (*Mentha L.*). *Herba polonica*, 55(3), 194–199.
45. Ostrowska A., Gawliński S., Szczubiałka Z. 1991. *Metody analizy i oceny właściwości gleb i roślin*. Instytut Ochrony Środowiska, Warszawa.
46. Monnier G., Frahm E., Luo B., Missal K. 2017. Developing FTIR microspectroscopy for analysis of plant residues on stone tools. *Journal of Archaeological Science*, 78, 158–178.



7. Wykaz cytowań (WoS) prac stanowiących rozprawę doktorską

Praca	Cytowania w WoS (stan na 15.05.2023)
Publikacja 1	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Oraee A., Tehranifar A., Karimpour S. 2022. Possibility of Producing Tulip Bulblet Under Drought Stress Using Potassium and Phosphorus Solubilizing Bacteria. <i>Communications in Soil Science and Plant Analysis</i>, 1–17. <b>(40 punktów)</b></li> <li>2. Danish M., Shahid M., Ahamad L., Raees K., Hatamleh A.A., Al-Dosary M.A., Danish S. 2022. Nanopesticidal potential of Cassia fistula (L.) leaf synthesized silver nanoparticles (Ag@ CfL-NPs): Deciphering the phytopathogenic inhibition and growth augmentation in <i>Solanum lycopersicum</i> (L.). <i>Frontiers in Microbiology</i>, 13. <b>(100 punktów)</b></li> <li>3. Yue L., Feng Y., Ma C., Wang C., Chen F., Cao X., Xing B. 2022. Molecular mechanisms of early flowering in tomatoes induced by manganese ferrite (MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) nanomaterials. <i>ACS nano</i>, 16(4), 5636–5646. <b>(200 punktów)</b></li> <li>4. Salachna P., Mizieleńska M., Płoszaj-Witkowska B., Jaszczak A. 2021. Zinc oxide nanoparticles enhanced biomass and zinc content and induced changes in biological properties of red <i>Perilla frutescens</i>. <i>Materials</i>, 14(20), 6182. <b>(140 punktów)</b></li> <li>5. Pérez-Hernández H., Pérez-Moreno A., Sarabia-Castillo C.R., García-Mayagoitia S., Medina-Pérez G., López-Valdez, F., Fernández-Luqueño F. 2021. Ecological drawbacks of nanomaterials produced on an industrial scale: collateral effect on human and environmental health. <i>Water, Air, &amp; Soil Pollution</i>, 232, 1–33. <b>(70 punktów)</b></li> <li>6. Ke M., Li Y., Qu Q., Ye Y., Peijnenburg W.J.G.M., Zhang Z., Qian H. 2020. Offspring toxicity of silver nanoparticles to <i>Arabidopsis thaliana</i> flowering and floral development. <i>Journal of Hazardous Materials</i>, 386, 121975. <b>(200 punktów)</b></li> <li>7. Salachna P., Byczyńska A., Zawadzińska A., Piechocki R., Mizieleńska M. 2019. Stimulatory effect of silver nanoparticles on the growth and flowering of potted oriental lilies. <i>Agronomy</i>, 9(10), 610. <b>(100 punktów)</b></li> <li>8. Ibrahim E., Fouad H., Zhang M., Zhang Y., Qiu W., Yan C., Chen J. 2019. Biosynthesis of silver nanoparticles using endophytic bacteria and their role in inhibition of rice pathogenic bacteria and plant growth promotion. <i>RSC Advances</i>, 9(50), 29293–29299. <b>(100 punktów)</b></li> <li>9. Maślanka M., Prokopiuk B. 2019. Bulb organogenesis of <i>Tulipa tarda</i> in vitro cultures in relation to light environment. <i>Acta Agriculturae Scandinavica, Section B—Soil &amp; Plant Science</i>, 69(5), 398–404. <b>(40 punktów)</b></li> </ol>
Publikacja 2	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ranjani S., Hemalatha S. 2023. Influence of Polyherbal Nanoformulation on Plant Growth and Biochemical Constituents in Legume Seedlings. <i>Journal of Plant Growth Regulation</i>, 1–9. <b>(70 punktów)</b></li> <li>2. Matras E., Gorczyca A., Pocięcha E., Przemieniecki S. W., Żeliszewska P., Oćwieja M. 2023. Silver nanoparticles affect wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) germination, seedling blight and yield. <i>Functional Plant Biology</i>. <b>(100 punktów)</b></li> <li>3. Cokul Raj, M., Manokari M., Arumugam N., Dey A., Faisal M., Alatar A.A., Shekhawat M.S. 2023. Silicon Nanoparticles Mediated In vitro Flowering and Study of Pollen Viability in <i>Vitex negundo</i> L. <i>Silicon</i>, 1–11. <b>(20 punktów)</b></li> <li>4. Fang S., Lin M., Ali M.M., Zheng Y., Yi X., Wang S., Lin Z. 2023. LhANS-rr1, LhDFR, and LhMYB114 Regulate Anthocyanin Biosynthesis in Flower Buds of Lilium ‘Siberia’. <i>Genes</i>, 14(3), 559. <b>(100 punktów)</b></li> <li>5. Dam P., Paret M.L., Mondal R., Mandal A.K. 2023. Advancement of noble metallic nanoparticles in agriculture: A promising future. <i>Pedosphere</i>, 33(1), 116–128. <b>(70 punktów)</b></li> <li>6. Mubeen B., Hasnain A., Jie W., Zheng H., Peijnenburg W.J., Rozali S.E., Negm S. 2023. Enhanced Production of Active Photosynthetic and Biochemical Molecules in <i>Silybum marianum</i> L. Using Biotic and Abiotic Elicitors in Hydroponic Culture. <i>Molecules</i>, 28(4), 1716. <b>(140 punktów)</b></li> <li>7. Miladinova-Georgieva K., Geneva M., Stancheva I., Petrova M., Sichanova M., Kirova E. 2023. Effects of Different Elicitors on Micropropagation, Biomass and Secondary Metabolite Production of <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni—A Review. <i>Plants</i>, 12(1), 153. <b>(70 punktów)</b></li> <li>8. Salam A., Afridi M.S., Javed M.A., Saleem A., Hafeez A., Khan A.R., Gan Y. 2022. Nano-priming against abiotic stress: A way forward towards sustainable agriculture. <i>Sustainability</i>, 14(22), 14880. <b>(100 punktów)</b></li> <li>9. Lapič-Culqui Y.K., Meléndez-Mori J.B., Mállap-Detquiza G., Tejada-Alvarado J.J., Vilca-Valqui N.C., Huaman-Human E., Goñas M. 2022. In Vitro Bulbification of Five Lily Varieties: An Effective Method to Produce Quality Seeds and Flowers. <i>International Journal of Agronomy</i>, 2022. <b>(40 punktów)</b></li> <li>10. Azeez L., Oyedeji A.O., Aremu H.K., Busari H.K., Adekale I., Olabode O.A. 2022. Silver Nanoparticles-Cow Dung Combination Disrupts Physiology, Enzyme Activities with Corresponding Increased Oxidative Stress and Heavy Metal Accumulation in <i>Abelmoschus esculentus</i>. <i>Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology</i>, 109(5), 893–899. <b>(40 punktów)</b></li> <li>11. Phong T.H., Hieu T., Tung H.T., Mai, N.T.N., Khai H.D., Cuong D.M., Nhut D.T. 2022. Silver nanoparticles: a positive factor for in vitro flowering and fruiting of purple passion fruit (<i>Passiflora edulis</i> Sim f. <i>edulis</i>). <i>Plant Cell, Tissue and Organ Culture</i>, 151(2), 401–412. <b>(100 punktów)</b></li> <li>12. El-Shawa G.M., Alharbi K., AlKahtani M., AlHusnain L., Attia K.A., Abdelaal K. 2022. Improving the Quality and Production of Philodendron Plants Using Nanoparticles and Humic Acid. <i>Horticulturae</i>, 8(8), 678. <b>(20 punktów)</b></li> <li>13. Kaur H., Kaur H., Kaur H., Srivastava S. 2022. The beneficial roles of trace and ultratrace elements in plants. <i>Plant Growth Regulation</i>, 1–18. <b>(70 punktów)</b></li> <li>14. Nile S.H., Thiruvengadam M., Wang Y., Samynathan R., Shariati M.A., Rebezov M., Kai G. 2022. Nano-priming as emerging seed priming technology for sustainable agriculture—recent developments and future perspectives. <i>Journal of Nanobiotechnology</i>, 20(1), 1–31. <b>(140 punktów)</b></li> <li>15. Krutyakov Y.A., Mukhina M.T., Shapoval O.A., Zargar M. 2022. Effect of foliar treatment with aqueous dispersions of silver nanoparticles on legume-Rhizobium symbiosis and yield of soybean (<i>Glycine max</i> L. Merr.). <i>Agronomy</i>, 12(6), 1473. <b>(100 punktów)</b></li> </ol>

## Rozprawa doktorska

	<ol style="list-style-type: none"> <li>16. Burketová L., Martinec J., Siegel J., Macůrková A., Maryška L., Valentová O. 2022. Noble metal nanoparticles in agriculture: impacts on plants, associated microorganisms, and biotechnological practices. <i>Biotechnology Advances</i>, 58, 107929. <b>(200 punktów)</b></li> <li>17. Yue L., Feng Y., Ma C., Wang C., Chen F., Cao X., Xing B. 2022. Molecular mechanisms of early flowering in tomatoes induced by manganese ferrite (MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) nanomaterials. <i>ACS Nano</i>, 16(4), 5636–5646. <b>(200 punktów)</b></li> <li>18. Mosa W.F., Behiry S.I., Ali H.M., Abdelkhalek A., Sas-Paszt L., Al-Huqail A.A., Salem M.Z. 2022. Pomegranate trees quality under drought conditions using potassium silicate, nanosilver, and selenium spray with valorization of peels as fungicide extracts. <i>Scientific Reports</i>, 12(1), 1–16. <b>(140 punktów)</b></li> <li>19. Jhanzab H.M., Qayyum A., Bibi Y., Sher A., Hayat M.T., Iqbal J., Askary A.E. 2022. Chemo-Blended Ag &amp; Fe Nanoparticles Effect on Growth, Physiochemical and Yield Traits of Wheat (<i>Triticum aestivum</i>). <i>Agronomy</i>, 12(4), 757. <b>(100 punktów)</b></li> <li>20. Hoang N.H., Le Thanh T., Thepbandit W., Treekoon J., Saengchan C., Sangpueak R., Buensanteai N. 2022. Efficacy of Chitosan Nanoparticle Loaded-Salicylic Acid and-Silver on Management of Cassava Leaf Spot Disease. <i>Polymers</i>, 14(4), 660. <b>9 (100 punktów)</b></li> <li>21. Mocová K.A., Petrová Š., Pohořelý M., Martinec M., Tourinho P.S. 2022. Biochar reduces the toxicity of silver to barley (<i>Hordeum vulgare</i>) and springtails (<i>Folsomia candida</i>) in a natural soil. <i>Environmental Science and Pollution Research</i>, 29(25), 37435–37444. <b>(100 punktów)</b></li> <li>22. González-Moscoso M., Juárez-Maldonado A., Cadenas-Pliego G., Meza-Figueroa D., SenGupta B., Martínez-Villegas N. 2022. Silicon nanoparticles decrease arsenic translocation and mitigate phytotoxicity in tomato plants. <i>Environmental Science and Pollution Research</i>, 1–17 <b>(100 punktów)</b></li> <li>23. Hassanisaadi M., Barani M., Rahdar A., Heidary M., Thysiadou A., Kyzas G.Z. 2022. Role of agrochemical-based nanomaterials in plants: Biotic and abiotic stress with germination improvement of seeds. <i>Plant Growth Regulation</i>, 97(2), 375–418. <b>(70 punktów)</b></li> <li>24. Rahmawati M., Mahfud C., Risuleo G., Jadid N. 2022. Nanotechnology in plant metabolite improvement and in animal welfare. <i>Applied Sciences</i>, 12(2), 838. <b>(100 punktów)</b></li> <li>25. Biba R., Košpić K., Komazec B., Markulin D., Cvjetko P., Pavoković D., Balen B. 2022. Surface coating-modulated phytotoxic responses of silver nanoparticles in plants and freshwater green algae. <i>Nanomaterials</i>, 12(1), 24. <b>(100 punktów)</b></li> <li>26. Ordon M., Nawrotek P., Stachurska X., Schmidt A., Mizielińska M. 2021. Mixtures of <i>Scutellaria baicalensis</i> and <i>Glycyrrhiza L.</i> Extracts as antibacterial and antiviral agents in active coatings. <i>Coatings</i>, 11(12), 1438. <b>(100 punktów)</b></li> <li>27. Hajjian M.H., Ghorbanpour M., Abtahi F., Hadian J. 2022. Differential effects of biogenic and chemically synthesized silver-nanoparticles application on physiological traits, antioxidative status and californidine content in California poppy (<i>Eschscholzia californica</i> Cham). <i>Environmental Pollution</i>, 292, 118300. <b>(100 punktów)</b></li> <li>28. Guzmán-Báez G.A., Trejo-Télez L.I., Ramírez-Olvera S.M., Salinas-Ruiz J., Bello-Bello J.J., Alcántar-González G., Gómez-Merino F.C. 2021. Silver nanoparticles increase nitrogen, phosphorus, and potassium concentrations in leaves and stimulate root length and number of roots in tomato seedlings in a hormetic manner. <i>Dose-Response</i>, 19(4), 15593258211044576. <b>(70 punktów)</b></li> <li>29. Salachna P., Mizielińska M., Płoszaj-Witkowska B., Jaszczak A. 2021. Zinc oxide nanoparticles enhanced biomass and zinc content and induced changes in biological properties of red <i>Perilla frutescens</i>. <i>Materials</i>, 14(20), 6182. <b>(140 punktów)</b></li> <li>30. Pérez-Hernández H., Pérez-Moreno A., Sarabia-Castillo C.R., García-Mayagoitia S., Medina-Pérez G., López-Valdez F., Fernández-Luqueño F. 2021. Ecological drawbacks of nanomaterials produced on an industrial scale: collateral effect on human and environmental health. <i>Water, Air, &amp; Soil Pollution</i>, 232, 1–33. <b>(70 punktów)</b></li> <li>31. Fincheira P., Tortella G., Seabra A.B., Quiroz A., Diez M.C., Rubilar O. 2021. Nanotechnology advances for sustainable agriculture: current knowledge and prospects in plant growth modulation and nutrition. <i>Planta</i>, 254, 1–25. <b>(100 punktów)</b></li> <li>32. Siddiqi K.S., Husen A. 2022. Plant response to silver nanoparticles: a critical review. <i>Critical Reviews in Biotechnology</i>, 42(7), 973–990. <b>(140 punktów)</b></li> <li>33. Parzymies M. 2021. Nano-silver particles reduce contaminations in tissue culture but decrease regeneration rate and slows down growth and development of <i>Aldrovanda vesiculosa</i> explants. <i>Applied Sciences</i>, 11(8), 3653. <b>(70 punktów)</b></li> <li>34. Landa P. 2021. Positive effects of metallic nanoparticles on plants: Overview of involved mechanisms. <i>Plant Physiology and Biochemistry</i>, 161, 12–24. <b>(70 punktów)</b></li> <li>35. Tung H.T., Thuong T.T., Cuong D.M., Luan V.Q., Hien V.T., Hieu T., Nhut D.T. 2021. Silver nanoparticles improved explant disinfection, in vitro growth, runner formation and limited ethylene accumulation during micropropagation of strawberry (<i>Fragaria × ananassa</i>). <i>Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)</i>, 145, 393–403. <b>(100 punktów)</b></li> <li>36. Santos-Espinoza A.M., González-Mendoza D., Ruiz-Valdiviezo V.M., Luján-Hidalgo M.C., Jonapa-Hernández F., Valdez-Salas B., Gutiérrez-Miceli F.A. 2021. Changes in the physiological and biochemical state of peanut plants (<i>Arachis hypogaea</i> L.) induced by exposure to green metallic nanoparticles. <i>International Journal of Phytoremediation</i>, 23(7), 747–754. <b>(100 punktów)</b></li> <li>37. Mustafa G., Hasan M., Yamaguchi H., Hitachi K., Tsuchida K., Komatsu S. 2020. A comparative proteomic analysis of engineered and bio synthesized silver nanoparticles on soybean seedlings. <i>Journal of proteomics</i>, 224, 103833. <b>(100 punktów)</b></li> </ol>
Publikacja 3	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Salachna P., Byczyńska A., Zawadzińska A., Piechocki R., Mizielińska M. 2019. Stimulatory effect of silver nanoparticles on the growth and flowering of potted oriental lilies. <i>Agronomy</i>, 9(10), 610. <b>(100 punktów)</b></li> </ol>

## **8. Pozostały dorobek naukowy**

### **Artykuły oryginalne**

1. Salachna P., Piechocki R., Zawadzińska A., **Woškowiak A.** 2015. Response of speckled spur-flower to salinity salt stress and salicylic acid treatment. *Journal of Ecological Engineering*, 16(5), 68–75. (12 punktów; 16 cytowań wg Google Scholar)
2. Salachna P., Piechocki R., Zawadzińska A., **Woškowiak A.** 2015. Growth and flowering of *Rhodohypoxis baurii* (Baker) Nel cultivars depending on rhizome weight. *Folia Horticulturae*, 27(2), 169–173. (14 punktów; 4 cytowania wg Google Scholar)
3. Salachna P., **Woškowiak A.** 2017. Effect of nitric oxide and production location on vase life of cut *Eucomis* 'Sparkling Burgundy' flowers. *World Scientific News*, 83, 229–234. (6 punktów; 8 cytowań wg Google Scholar)
4. Salachna P., **Woškowiak A.** 2017. Effects of colloidal silver on vase life of cut chrysanthemum. *World Scientific News*, 69, 239–243. (6 punktów; 9 cytowań wg Google Scholar)
5. Salachna P., Piechocki R., **Woškowiak A.** 2017. Plant growth of curly kale under salinity stress. *Journal of Ecological Engineering*, 1(18), 119–124. (14 punktów; 25 cytowań wg Google Scholar)
6. Salachna P., **Byczyńska A.**, Jeziorska I., Udyecz E. 2017. Plant growth of *Verbena bonariensis* L. after chitosan, gellan gum or iota-carrageenan foliar applications. *World Scientific News*, 62, 111–123. (6 punktów; 22 cytowania wg Google Scholar)
7. **Byczyńska A.** 2017. Postharvest quality of cut aspidistra leaves as affected by colloidal silver. *World Scientific News*, 69, 244–247. (6 punktów; 3 cytowania wg Google Scholar)
8. **Byczyńska A.** 2017. Improvement of postharvest quality of cut tulip 'White Parrot' by nano silver. *World Scientific News*, 83, 224–228. (6 punktów; 12 cytowań wg Google Scholar)
9. **Byczyńska A.** 2017. Potential of Canarian wild plants as ornamentals. *World Scientific News*, 86(3), 357–364. (6 punktów; 1 cytowanie wg Google Scholar)
10. **Byczyńska A.** 2017. Nano-silver as a potential biostimulant for plant—A review. *World Scientific News*, 86(3), 180–192. (6 punktów; 11 cytowań wg Google Scholar)
11. **Byczyńska A.** 2018. Effect of nitric oxide on vase-life of giant chinchinchee (*Ornithogalum saundersiae* Baker). *World Scientific News*, (110), 13–22. (6 punktów; 0 cytowań wg Google Scholar)
12. **Byczyńska A.** 2018. Chitosan improves growth and bulb yield of pineapple lily (*Eucomis bicolor* Baker) an ornamental and medicinal plant. *World Scientific News*, 110, 159–171. (6 punktów; 5 cytowań wg Google Scholar)

### **Materiały konferencyjne**

1. **Woškowiak A.** 2016. Rośliny ozdobne w kanaryjskim ogrodzie botanicznym Tafira Alta. W: *Zagadnienia aktualnie poruszane przez Młodych Naukowców 6* (Red.: Kuczera M., Piech K.) Creativetime, Kraków, 110–114.
2. **Woškowiak A.** 2016. Mało znane kwiaty cięte stosowane we florystyce. W: *Zagadnienia aktualnie poruszane przez Młodych Naukowców 6* (Red.: Kuczera M., Piech K.) Creativetime, Kraków, 109.

## ***Rozprawa doktorska***

3. Zawadzińska A., Salachna P., **Byczyńska A.**, Piechocki R., Pietrak A. 2021. Pre-planting application of colloidal silver nanoparticles enhances bulb yield of *Lilium* grown under NaCl stress. The 1<sup>st</sup> International Electronic Conference on Agronomy, 3–17 May 2021.

### **Publikacje w czasopismach popularno-naukowych**

1. Salachna P., **Woškowiak A.** 2015. Kard w roli głównej. forum.kwiatowe.pl
2. Salachna P., **Woškowiak A.** 2015. Słownik botaniczny. Florysta, 4(11), 38–39.
3. Salachna P., **Woškowiak A.** 2015. Owocowy raj. Florysta, 4(11), 20–21.
4. Salachna P., **Woškowiak A.** 2015. W pełnym rozkwicie. Florysta, 3(10), 18–19.
5. Salachna P., **Woškowiak A.** 2016. Oda do szarości. Florysta, 1(12), 12–13.
6. Salachna P., **Woškowiak A.** 2016. Uwaga! Świeżo malowane! Florysta, 2(13), 12–13.
7. **Byczyńska A.** 2016. W świecie lilii. Forum kwiatowe.pl ([www.forumkwiatowe.pl/w-świecie-lilii](http://www.forumkwiatowe.pl/w-świecie-lilii))

Całkowity dorobek naukowy wraz z artykułami stanowiącymi rozprawę doktorską obejmuje 16 oryginalnych prac recenzowanych w języku angielskim, w tym 6 prac jednoautorskich. Liczba cytowań dla artykułów ogółem wg Google Scholar wynosi 192.

**9. Kopie publikacji stanowiących rozprawę doktorską oraz oświadczenia  
współautorów**

.





# Silver nanoparticles preplant bulb soaking affects tulip production

Andżelika Byczyńska, Agnieszka Zawadzińska & Piotr Salachna

To cite this article: Andżelika Byczyńska, Agnieszka Zawadzińska & Piotr Salachna (2019) Silver nanoparticles preplant bulb soaking affects tulip production, Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science, 69:3, 250-256, DOI: [10.1080/09064710.2018.1545863](https://doi.org/10.1080/09064710.2018.1545863)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/09064710.2018.1545863>



Published online: 14 Nov 2018.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 125



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)



Citing articles: 1 View citing articles [↗](#)



## Silver nanoparticles preplant bulb soaking affects tulip production

Andżelika Byczyńska, Agnieszka Zawadzińska  and Piotr Salachna 

Department of Horticulture, West Pomeranian University of Technology, Szczecin, Poland

### ABSTRACT

Nanomaterials and particularly silver nanoparticles (AgNPs) have increased great interest in many fields of science. The element may affect plant growth and development but so far research studies have been scarce and their results disparate. Tulip is one of the most important ornamental plants and its production technology is constantly being improved. The aim of this study was to investigate the effects of AgNPs on growth and yield attributes of tulip cv. 'Pink Impression'. Before planting, the tulip 'Pink Impression' bulbs were soaked in the following concentrations of AgNPs: 25, 50, 100 and 150 mg L<sup>-1</sup>. Control bulbs were soaked in deionized water. The plants were forced in a greenhouse for two growing seasons. The tulips treated with 100 mg L<sup>-1</sup> AgNPs flowered earlier, had longer cut-flower stem, larger petals, greater stem diameter and cut-flower fresh weight. Moreover, at this concentration of AgNPs, they showed increased leaf greenness index (SPAD), stomatal conductance, root fresh weight, root length and produced daughter bulbs of the greatest weight. The study outcomes indicate that AgNPs may be used as plant growth promoters in horticulture.

### ARTICLE HISTORY

Received 20 August 2018  
Accepted 31 October 2018

### KEYWORDS

Cut flowers; forcing; nanomaterials; plant growth promoters; *Tulipa*

### Introduction

Bulbous plants are an important segment of ornamental plant production, the annual value of which is estimated to be around one billion dollars (Benschop et al. 2010). Tulip (*Tulipa gesneriana* L., Liliaceae) is the third most popular cut flower after roses and chrysanthemums. In 2017, Dutch flower exchanges sold over 1894 million cut tulip flowers for a total of 281 million EUR (Royal FloraHolland 2018). High market requirements constantly drive improvements in tulip cut flowers quality (Sochacki and Treder 2017) and methods shortening the production cycle under covers (Ramzan et al. 2014; Amiri et al. 2018).

Recently, numerous research studies have focused on nanotechnology and its achievements in many areas of human activity (Singh 2017). Silver nanoparticles (AgNPs) belong to the most common nanomaterials obtained via physical, chemical and biological processes, often with the use of various plant species (Zuverza-Mena et al. 2017; Rai et al. 2018). A limited number of studies conducted so far on AgNPs in agricultural and horticultural settings demonstrated their effects on seed germination, plant growth and development, flowering, yield and physiological processes (Yin et al. 2012; Yasur and Rani 2013; Byczyńska 2017; Zakharova et al. 2017). AgNPs promoted seed germination in *Pennisetum glaucum* (Parveen and Rao 2015), stimulated

growth and increased the number of inflorescences in *Carthamus tinctorius* (Zari et al. 2015), and in combination with indoleacetic acid and 6-benzyladenine they increased the number and length of adventitious roots in *Hibiscus rosa sinensis* (Thangavelu et al. 2018). In *Trigonella foenum-graecum*, the application of AgNPs stimulated the growth of seedlings by enhancing leaf number, root length, shoot length and wet weight of plants (Jasmin et al. 2017). Contrary to that, AgNPs inhibited germination in *Brassica nigra* (Amooaghaie et al. 2015), seedlings growth in *Lolium multiflorum* (Yin et al. 2011), *Phaseolus radiatus* and *Sorgum bicolor* (Lee et al. 2012). The results are inconclusive and identified AgNPs as both growth stimulators and inhibitors.

To our knowledge, this study is the first one demonstrating biostimulating properties of AgNPs in forcing of ornamental bulbous crop plant. Here, we evaluated the effects of bulb soaking in nano-silver solutions of different concentrations on plant growth, flowering, selected physiological parameters and bulb yield of 'Pink Impression' tulips.

### Material and methods

The experiment carried out over two growing seasons (2014–2015 and 2015–2016) involved prepared tulip bulbs cv. 'Pink Impression' of the Darwin hybrid group,



imported from the Netherlands (Mantel, Holland). Their mean circumference was 12.2 cm and mean weight 19.1 g. Directly prior to planting the bulbs were soaked for 60 min in AgNPs (Sigma-Aldrich, Spain) solutions (0, 25, 50, 100 and 150 mg L<sup>-1</sup>) obtained by dissolving AgNPs in deionized water. Each variant consisted of four repetitions, 20 bulbs per independent repetition. The bulbs were planted individually on 31 October 2014 and 22 October 2015 into plastic pots 12 cm in diameter and 0.7 L capacity filled equally (v:v) with sand and peat substrate TS1 (Kronen, Cerkwica, Poland) containing: N-NO<sub>3</sub> – 182 mg L<sup>-1</sup>, P – 131 mg L<sup>-1</sup>, K – 402 mg L<sup>-1</sup>, Ca – 1646 mg L<sup>-1</sup>, Mg – 172 mg L<sup>-1</sup> and Cl – 18 mg L<sup>-1</sup>. The peat substrate had an initial of pH 6.4 and electrical conductivity of 0.54 mS cm<sup>-1</sup>. The pots were placed in a room intended for bulb cooling. The tulips were forced using a standard method (De Hertogh 1996). After 15 weeks of cooling, the pots were transferred into a greenhouse and kept under natural photoperiod at 18 ± 2°C (day) and 16 ± 2°C (night).

We counted the number of days from the beginning of greenhouse forcing to the beginning of flowering that was determined as a fully colored flower bud. At this stage, we randomly selected five plants from each replicate and determined their leaf greenness index (SPAD) with an optical apparatus Chlorophyll Meter SPAD-502 (Minolta, Osaka, Japan) and stomatal conductance with an SC1 porometer (Dekagon Devices, Pullman, WA, USA). The measurements involved three fully developed leaves of each plant and four readings per leaf. The measured parameters included cut-flower length, stem diameter (middle section), petal length, fresh cut-flower weight, fresh weight of roots and root length measured from the basal plate to the end of the longest root. To assess post-harvest longevity in days, cut flowers were placed in individual glass cylinders with a capacity of 0.25 L filled with deionized water. Flower observation was conducted daily in a room with the following controlled conditions: 20 ± 2°C, relative humidity 65 ± 5%, quantum radiation intensity 30 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> applied in a cycle of 10 h of light and 14 h of darkness. Wilting and drying of perianth petals were assumed as a loss of the ornamental value. Three weeks after the end of flowering, we also assessed fresh weight and number of daughter bulbs per plant.

Results from each growing season were analysed with ANOVA for univariate experiments in a complete randomisation arrangement. Calculations were performed using the STATISTICA 13.3 package (StatSoft, Cracov, Poland). Comparison of means and determination of homogeneous groups were based on Tukey's test for  $\alpha = 0.05$ .

## Results

Experimental results for both seasons showed that bulb soaking in AgNPs stimulated the growth attributes of tulip (Figure 1). The use of AgNPs accelerated flowering by on average 4.2 days, depending on concentration and season (Table 1). In the first season, the first to



**Figure 1.** Visible effects of silver nanoparticles (AgNPs) on tulip growth attributes. Left to right: 0 (control), 25, 50, 100 and 150 mg L<sup>-1</sup> AgNPs.

**Table 1.** Impacts of silver nanoparticles' (AgNPs) various concentrations on flowering of tulip in two seasons.

AgNPs (mg L <sup>-1</sup> )	Days to anthesis	Cut-flower length (cm)	Stem diameter (mm)	Petal length (mm)	Fresh cut-flower weight (g)	Vase life (days)
Season 2014–2015						
0	39.7 a	35.2 c	49.5 c	41.8 b	31.9 b	6.7 a
25	36.4 b	39.1 b	50.9 bc	45.2 a	32.4 b	6.7 a
50	34.7 c	40.3 b	53.5 ab	45.7 a	34.3 ab	6.5 a
100	34.2 c	43.1 a	54.3 a	45.2 a	37.3 a	6.7 a
150	35.4 bc	40.4 b	50.2 c	44.6 a	30.0 b	6.7 a
Season 2015–2016						
0	33.4 a	35.8 c	54.3 a	46.1 b	30.5 c	6.7 a
25	31.3 b	41.4 b	56.0 a	47.5 a	32.7 bc	6.5 a
50	28.0 d	45.8 a	56.0 a	48.2 a	36.0 ab	6.8 a
100	29.1 c	45.9 a	57.6 a	48.3 a	38.0 a	6.8 a
150	29.9 c	45.1 a	55.1 a	47.9 a	33.1 bc	6.8 a

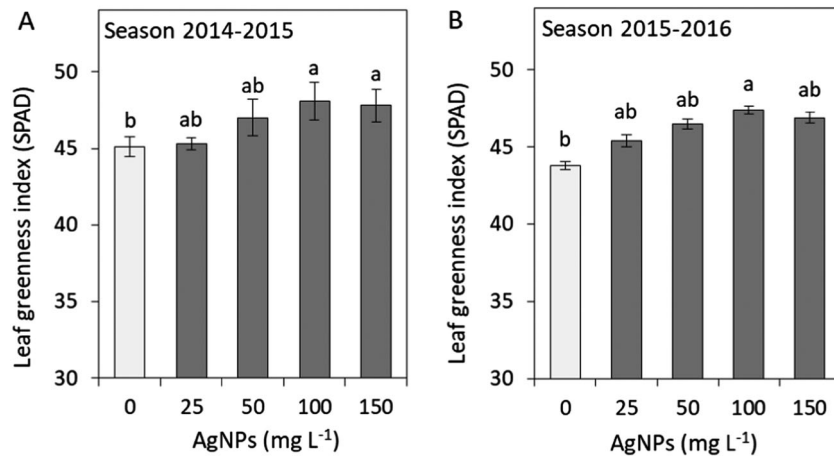
Note: A different letter in each column indicate a significant difference between treatments at  $P \leq 0.05$ . Each value is the mean of 20 plants (five plants × four replications).

bloom were the plants grown from the bulbs soaked in 50 and 100 mg L<sup>-1</sup> AgNPs, and in the second season those soaked in 50 mg L<sup>-1</sup>. All concentrations of AgNPs increased the length of cut flowers, and 100 mg L<sup>-1</sup> was the most effective. At this concentration, flowers were by 22.4% longer than the control in the first season and by 28.2% in the second season. Additionally, AgNPs significantly affected the stem diameter that was the highest in the plants grown from the bulbs soaked in 100 mg L<sup>-1</sup> AgNPs. Compared to the control, AgNPs treatment increased petal length during both seasons, irrespective of the concentration. The plants obtained from the bulbs treated with 100 mg L<sup>-1</sup> AgNPs had the highest fresh weight of cut flowers. At that concentration, the flower fresh weight was 16.9% greater than in the control in the first season and by 24.6% in the second season. Our observations showed no effect of

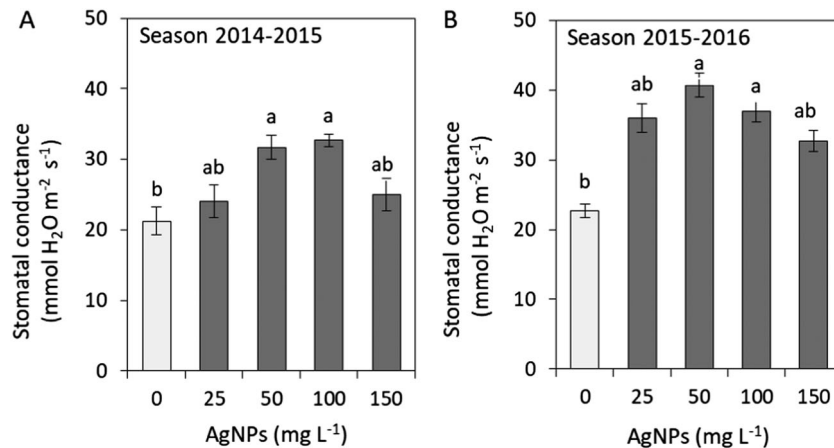
bulb soaking in AgNPs on the post-harvest longevity of cut flowers that usually lasted for six days in both the seasons (Table 1).

To assess physiological changes evoked by AgNPs treatment, we determined the leaf greenness index that correlates with chlorophyll content and stomatal conductance, which is one of the basic parameters of gas exchange (Figures 2 and 3). The leaf greenness index exceeded that of the control in the plants exposed to 100 mg L<sup>-1</sup> AgNPs (both seasons) and 150 mg L<sup>-1</sup> (the first season). The stomatal conductance was significantly higher in the plants treated with 50 and 100 mg L<sup>-1</sup> in both the seasons.

Root system size affects plant growth, which is why we determined the root fresh weight and the length of adventitious roots. In both seasons, the plants grown from the bulbs soaked in 100 mg L<sup>-1</sup> AgNPs produced



**Figure 2.** Impacts of silver nanoparticles' (AgNPs) various concentrations on the leaf greenness index of tulip in seasons 2014–2015 (A) and 2015–2016 (B). Vertical bars indicate the mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 4$ ). A different letter above each bar indicates a significant difference between treatments at  $P \leq 0.05$ .



**Figure 3.** Impacts of silver nanoparticles' (AgNPs) various concentrations on stomatal conductance of tulip in seasons 2014–2015 (A) and 2015–2016 (B). Vertical bars indicate the mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 4$ ). A different letter above each bar indicates a significant difference between treatments at  $P \leq 0.05$ .

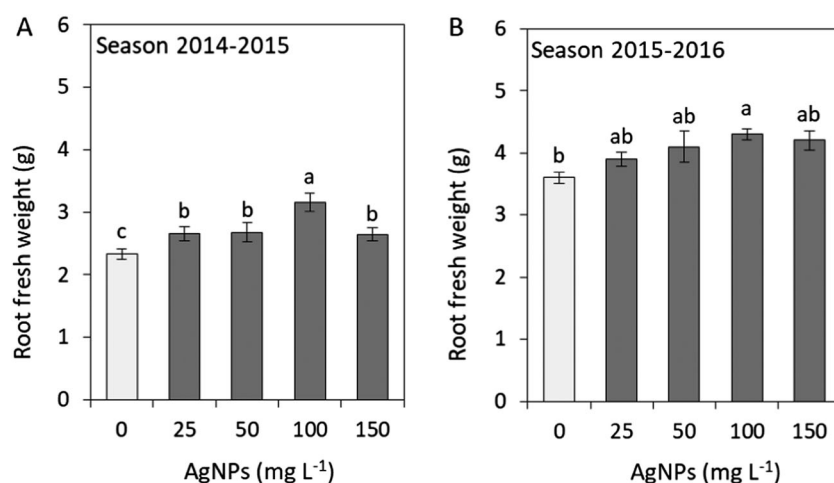
roots of higher fresh weight (Figure 4). The roots were the longest in the plants treated with 50 and 100 mg L<sup>-1</sup> AgNPs, irrespective of the season (Figure 5).

The number and weight of daughter bulbs are important metrics of tulip yield. In both seasons, AgNPs treatment enhanced the fresh weight of daughter bulbs and the effect was the strongest for AgNPs at 100 mg L<sup>-1</sup>. In the first season, a higher number of daughter bulbs were formed on the plants treated with 50 mg L<sup>-1</sup> AgNPs, and in the second with 100 mg L<sup>-1</sup> AgNPs (Table 2).

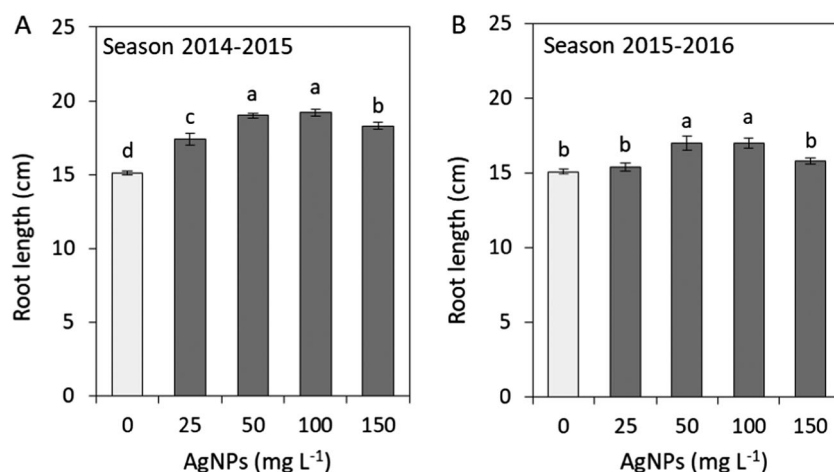
## Discussion

The commercial value of cut tulip flowers depends on early flowering, stem length and diameter, and flower

size (De Hertogh 1996). Our study showed considerable shortening of the greenhouse forcing period and effective growth stimulation in the plants exposed to AgNPs, particularly at 100 mg L<sup>-1</sup> (Table 1). The cut flowers obtained from the bulbs treated with 100 mg L<sup>-1</sup> AgNPs were longer, had thicker stems, longer petals and higher fresh weights than controls. Our results match the findings of other authors. Pallavi et al. (2016) found that *Vigna sinensis* plants sprayed with 50 mg L<sup>-1</sup> AgNPs produced longer and heavier shoots. Nejat-zadeh-Barondozi et al. (2014) noticed a stimulating effect of 60 ppm AgNPs on growth and biomass of *Ocimum basilicum*. Positive effect of AgNPs on plant growth occurred also in *Cucumis sativus* (Shams et al., 2013), *Chrysanthemum morifolium* (Tung et al. 2018) and *Phaseolus vulgaris* (Das et al. 2018). The



**Figure 4.** Impacts of silver nanoparticles' (AgNPs) various concentrations on the root fresh weight of tulip in seasons 2014–2015 (A) and 2015–2016 (B). Vertical bars indicate the mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 4$ ). A different letter above each bar indicates a significant difference between treatments at  $P \leq 0.05$ .



**Figure 5.** Impacts of silver nanoparticles' (AgNPs) various concentrations on root length of tulip in seasons 2014–2015 (A) and 2015–2016 (B). Vertical bars indicate the mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 4$ ). A different letter above each bar indicates a significant difference between treatments at  $P \leq 0.05$ .

**Table 2.** Impacts of silver nanoparticles' (AgNPs) various concentrations on bulbs yield of tulip in two seasons.

AgNPs (mg L <sup>-1</sup> )	Fresh weight of daughter bulbs per plant (g)	Number of daughter bulbs per plant
Season 2014–2015		
0	19.4 c	4.26 bc
25	22.5 b	4.40 bc
50	25.0 ab	5.33 a
100	25.6 a	4.50 b
150	23.6 ab	4.03 c
Season 2015–2016		
0	14.3 d	2.50 b
25	18.0 c	2.83 ab
50	20.1 b	3.16 ab
100	22.4 a	3.50 a
150	19.3 bc	3.16 ab

Note: A different letters in each column indicate a significant difference between treatments at  $P \leq 0.05$ . Each value is the mean of 20 plants (five plants  $\times$  four replications).

effect of AgNPs on growth and development of plants may be attributed to the fact that nanoparticles may enhance metabolic processes that lead to plant growth stimulation or inhibition in general (Feregrino et al. 2018). According to Krishnaraj et al. (2012) silver ions may interact with the proteins, starch synthesising machinery and carbohydrate translocation in the plant. Das et al. (2018) propose that nano-silver intensifies plant growth by improving the accumulation of essential macronutrients uptake by roots. It is important to mention that AgNPs may stimulate plant growth by regulating gene expression. For example, AgNPs induced *Arabidopsis* gene expression related to cell division, metabolism and hormone signalling pathways (Syu et al. 2014). The mechanism of the AgNPs' action in plants is not sufficiently recognised and requires further studies.

Leaf greenness evaluated by SPAD is an important quality criterion in the assessment of ornamental crops (Zawadzińska and Salachna 2018). A high SPAD value may indicate increased leaf content of chlorophyll (Dunn et al. 2018). In our study, the most vividly green leaves indicated the high quality of tulips grown from the bulbs soaked in 100 and 150 mg L<sup>-1</sup> AgNPs (Figure 2). Moreover, the leaves of tulips treated with 50 and 100 mg L<sup>-1</sup> AgNPs had higher stomatal conductance (Figure 3), which together with increased SPAD suggest enhanced efficiency of photosynthesis. Literature reports confirm these assumptions. For example, AgNPs increased the chlorophyll content in the leaves of *P. vulgaris* (Das et al. 2018), *Brassica juncea* (Sharma et al. 2012) and *Solanum tuberosum* (Homaeae and Ehsanpour 2015), and improved net productivity of photosynthesis in *Solanum lycopersicum* (Zakharowa et al. 2017).

In our study soaking tulip bulbs in 100 mg L<sup>-1</sup> AgNPs significantly increased both fresh weight and length of the adventitious roots (Figures 4 and 5). Other species

also showed differences in root length depending on the AgNPs' concentration. Seedlings of *S. lycopersicum* produced markedly longer shoots when grown from seeds soaked in 1.5 mg L<sup>-1</sup> AgNPs (Almutairi 2016). Soaking seeds in AgNPs positively affected root length in *B. juncea* (Sharma et al. 2012) and *Pisum sativum* (Barabanov et al. 2018). In the first plant AgNPs concentration was below 200 ppm, and in the second AgNPs solution was stabilised with quaternary ammonium salt at 0.005% and 0.001%. Stimulation of root system growth by AgNPs may improve water and nutrient uptake, as reported for *P. vulgaris* grown on a substrate containing biological concentrations of AgNPs reaching 25–50 mg kg<sup>-1</sup> (Das et al. 2018).

Some tulip species and cultivars achieve poor bulb propagation rate (Podwyszyńska et al. 2015), which is why new solutions increasing bulb yield are constantly being looked for. AgNPs used in our study allowed us to obtain a higher number of daughter bulbs that had also higher fresh weight than those produced by the control. Improved quality and quantity parameters of tulip yield may be due to the stimulating effects of AgNPs on the growth of roots and above ground organs. The potential application of AgNPs in the propagation of other ornamental geophytes is worth investigating.

In conclusion, our study demonstrated that soaking tulip bulbs in 50 and 100 mg L<sup>-1</sup> AgNPs shortens the production cycle and improves the quality of cut flowers. Moreover, silver in the form of AgNPs enhanced bulb yield and stimulated root system development. These findings can be applied in forcing tulips in future. However, considering the poorly known impact of AgNPs on the environment, further detailed studies are necessary.

## Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

## Funding

Research work and funds for covering the costs to publish were supported by grants of West Pomeranian University of Technology in Szczecin: 517-07-014-5365/17.

## Notes on contributors

*Andżelika Byczyńska* is a PhD Student in the West Pomeranian University of Technology in Szczecin, Poland. Her studies mainly focused on the use of nano-silver in ornamental geophytes.

*Agnieszka Zawadzińska* has obtained a Ph.D. degree in the subject of horticulture. Presently, she is an academic staff in



the Department of Horticulture, the West Pomeranian University of Technology in Szczecin, Poland. His study mainly focused on alternative growing media, salinity and plant growth regulators in ornamentals crops.

**Piotr Salachna** is a lecturer of horticulture at the West Pomeranian University of Technology in Szczecin, Poland. He was born in Debica and earned his MS (2001) and PhD (2006) from the University of Agriculture in Szczecin. His main areas of expertise include flower bulbs, with special interest *Eucomis* and *Ornithogalum* species. He has specialized on the use of natural polysaccharides as biostimulators.

## ORCID

Agnieszka Zawadzka  <http://orcid.org/0000-0002-0882-9919>

Piotr Salachna  <http://orcid.org/0000-0003-0403-8519>


## References

- Almutairi ZM. 2016. Influence of silver nano-particles on the salt resistance of tomato (*Solanum lycopersicum*) during germination. *Int J Agric Biol.* 18(2):449–457.
- Amiri A, Kafi M, Kalate-Jari S, Matinzadeh M, Karaj I. 2018. Tulip response to different light sources. *J Anim Plant Sci.* 28(2):539–545.
- Amooaghaie R, Tabatabaei F, Ahadi AM. 2015. Role of hematin and sodium nitroprusside in regulating *Brassica nigra* seed germination under nanosilver and silver nitrate stresses. *Ecotoxicol Environ Saf.* 113:259–270.
- Barabanov PV, Gerasimov AV, Blinov AV, Kravtsov AA, Kravtsov VA. 2018. Influence of nanosilver on the efficiency of *Pisum sativum* crops germination. *Ecotoxicol Environ Saf.* 147:715–719.
- Benschop M, Kamenetsky R, Nard ML, Okubo H, De Hertogh A. 2010. The global flower bulb industry: production, utilisation, research. *Hortic Rev.* 36(1):1–115.
- Byczyńska A. 2017. Nano-silver as a potential biostimulant for plant – a review. *World Sci News.* 86(3):180–192.
- Das P, Barua S, Sarkar S, Karak N, Bhattacharyya P, Raza N, Kim KH, Bhattacharya SS. 2018. Plant extract-mediated green silver nanoparticles: efficacy as soil conditioner and plant growth promoter. *J Hazard Mater.* 346:62–72.
- De Hertogh AA. 1996. Holland bulb forcer's guide. Hillegom, Netherlands: International Flower Bulb Centre and Dutch Bulb Exporters Association.
- Dunn BL, Singh H, Goad C. 2018. Relationship between chlorophyll meter readings and nitrogen in poinsettia leaves. *J Plant Nutr.* 41(12):1566–1575.
- Feregrino-Perez AA, Magaña-López E, Guzmán C, Esquivel K. 2018. A general overview of the benefits and possible negative effects of the nanotechnology in horticulture. *Sci Hortic.* 238:126–137.
- Homaee MB, Ehsanpour AA. 2015. Physiological and biochemical responses of potato (*Solanum tuberosum*) to silver nanoparticles and silver nitrate treatments under *in vitro* conditions. *Indian J Plant Physiol.* 20(4):353–359.
- Jasim B, Thomas R, Mathew J, Radhakrishnan EK. 2017. Plant growth and diosgenin enhancement effect of silver nanoparticles in Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Saudi Pharm J.* 25(3):443–447.
- Krishnaraj C, Jagan EG, Ramachandran R, Abirami SM, Mohan N, Kalaichelvan PT. 2012. Effect of biologically synthesized silver nanoparticles on *Bacopa monnieri* (Linn.) Wettst. plant growth metabolism. *Process Biochem.* 47(4):651–658.
- Lee WM, Kwak JI, An YJ. 2012. Effect of silver nanoparticles in crop plants *Phaseolus radiatus* and *Sorghum bicolor*: media effect on phytotoxicity. *Chemosphere.* 86(5):491–499.
- Nejatzadeh-Barandozi F, Darvishzadeh F, Aminkhani A. 2014. Effect of nano silver and silver nitrate on seed yield of (*Ocimum basilicum* L.). *Org Med Chem Lett.* 4(1):11.
- Pallavi MC, Srivastava R, Arora S, Sharma AK. 2016. Impact assessment of silver nanoparticles on plant growth and soil bacterial diversity. *3 Biotech.* 6(2):254.
- Parveen A, Rao S. 2015. Effect of nanosilver on seed germination and seedling growth in *Pennisetum glaucum*. *J Clust Sci.* 26:693–701.
- Podwyszyńska M, Kosson R, Treder J. 2015. Polyamines and methyl jasmonate in bulb formation of *in vitro* propagated tulips. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 123(3):591–605.
- Rai PK, Kumar V, Lee S, Raza N, Kim KH, Ok YS, Tsang DC. 2018. Nanoparticle-plant interaction: implications in energy, environment, and agriculture. *Environ Int.* 119:1–19.
- Ramzan F, Younis A, Riaz A, Ali S, Siddique MI, Lim KB. 2014. Pre-planting exogenous application of gibberellic acid influences sprouting, vegetative growth, flowering, and subsequent bulb characteristics of 'Ad-Rem' tulip. *Hortic Environ Biote.* 55(6):479–488.
- Royal FloraHolland. 2018. Royal FloraHolland Annual Report 2017. [https://annualreport.royalfloraholland.com/?\\_ga=2.239128835.1893662484.1533650048-1004016660.1533650048#/feiten-en-cijfers/import-export?\\_k=52jegh](https://annualreport.royalfloraholland.com/?_ga=2.239128835.1893662484.1533650048-1004016660.1533650048#/feiten-en-cijfers/import-export?_k=52jegh) [17 August 2018].
- Shams G, Ranjbar M, Amiri A. 2013. Effect of silver nanoparticles on concentration of silver heavy element and growth indexes in cucumber (*Cucumis sativus* L. *negeen*). *J Nanopart Res.* 15(5):1630.
- Sharma P, Bhatt D, Zaidi MGH, Saradhi PP, Khanna PK, Arora S. 2012. Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*. *Appl Biochem Biotechnol.* 167(8):2225–2233.
- Singh NA. 2017. Nanotechnology innovations, industrial applications and patents. *Environ Chem Lett.* 15(2):185–191.
- Sochacki D, Treder J. 2017. A survey of viruses' occurrence in Polish and imported tulip bulbs. *Acta Sci Pol-Hortoru.* 16(1):105–112.
- Syu YY, Hung JH, Chen JC, Chuang HW. 2014. Impacts of size and shape of silver nanoparticles on Arabidopsis plant growth and gene expression. *Plant Physiol Biochem.* 83:57–64.
- Thangavelu RM, Gunasekaran D, Jesse MI, Su MR, Sundarajan D, Krishnan K. 2018. Nanobiotechnology approach using plant rooting hormone synthesized silver nanoparticle as "nanobullets" for the dynamic applications in horticulture – an *in vitro* and *ex vitro* study. *Arab J Chem.* 11(1):48–61.
- Tung HT, Nam NB, Huy NP, Luan VQ, Hien VT, Phuong TTB, Le DT, Loc NH, Nhut DT. 2018. A system for large scale production of chrysanthemum using microponics with the supplement of silver nanoparticles under light-emitting diodes. *Sci Hortic.* 232:153–161.
- Yasur J, Rani PU. 2013. Environmental effects of nanosilver: impact on castor seed germination, seedling growth, and plant physiology. *Environ Sci Pollut Res.* 20(12):8636–8648.

- Yin L, Cheng Y, Espinasse B, Colman BP, Auffan M, Wiesner M, Bernhardt ES. 2011. More than the ions: the effects of silver nanoparticles on *Lolium multiflorum*. *Environ Sci Technol*. 45:2360–2367.
- Yin L, Colman BP, McGill BM, Wright JP, Bernhardt ES. 2012. Effects of silver nanoparticle exposure on germination and early growth of eleven wetland plants. *PLoS One*. 7(10): e47674.
- Zakharova OV, Gusev AA, Zherebin PM, Skripnikova EV, Skripnikova MK, Ryzhikh VE, Lisichkin GV, Shapoval OA, Bukovskii ME, Krutyakov YA. 2017. Sodium tallow amphopolyglycinate-stabilized silver nanoparticles suppress early and late blight of *Solanum lycopersicum* and stimulate the growth of tomato plants. *BioNanoScience*. 7(4):692–702.
- Zari H, Babak P, Asad R. 2015. The effect of priming with nanosilver on agronomic traits of safflower cultivars. *J Essent Oil Bear Pl*. 18(5):1148–1156.
- Zawadzińska A, Salachna P. 2018. Effects of some peat-alternative substrate on the growth and chemical composition of pelargonium. *Acta Hortic*. 1201:641–647.
- Zuverza-Mena N, Martínez-Fernández D, Du W, Hernandez-Viezas JA, Bonilla-Bird N, López-Moreno ML, Peralta-Videa JR, Gardea-Torresdey JL. 2017. Exposure of engineered nanomaterials to plants: insights into the physiological and biochemical responses-A review. *Plant Physiol Biochem*. 110:236–264.

Article

# Stimulatory Effect of Silver Nanoparticles on the Growth and Flowering of Potted Oriental Lilies

Piotr Salachna <sup>1,\*</sup> , Andżelika Byczyńska <sup>1,\*</sup>, Agnieszka Zawadzińska <sup>1</sup>, Rafał Piechocki <sup>1</sup> and Małgorzata Mizieleńska <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Horticulture, West Pomeranian University of Technology, 3 Papieża Pawła VI Str., 71-459 Szczecin, Poland; agnieszka.zawadzinska@zut.edu.pl (A.Z.); rafal.piechocki@zut.edu.pl (R.P.)

<sup>2</sup> Center of Bioimmobilisation and Innovative Packaging Materials, West Pomeranian University of Technology, 35 Janickiego Str., 71-270 Szczecin, Poland; malgorzata.mizielinska@zut.edu.pl

\* Correspondence: piotr.salachna@zut.edu.pl (P.S.); andzelika.woskowiak@zut.edu.pl (A.B.); Tel.: +48-91-4496-359 (P.S. & A.B.)

Received: 29 July 2019; Accepted: 29 September 2019; Published: 3 October 2019



**Abstract:** Nanoparticles exhibit unique biological activities and may serve as novel plant growth stimulators. This research consisted of a two-year pot experiment designed to find out if silver nanoparticles (AgNPs) might be used in the cultivation of Oriental lilies. In the first year, we evaluated the effects of various concentrations of AgNPs (0, 25, 50, 100, and 150 ppm) and their application methods (pre-planting bulb soaks, foliar sprays, and substrate drenches) on the growth and flowering of *Lilium* cv. Mona Lisa. In the second year, we evaluated the effects of soaking the bulbs of cv. Little John in the same concentration of AgNP solution on plant morphological features, leaf content of photosynthetic pigments, basic macronutrients, and complex biomolecules with the use of the Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR). Soaking the bulbs in a nanoparticle solution turned out to be the most effective strategy for growth and flowering promotion. AgNPs stimulated plant growth, as manifested by enhanced accumulation of leaf and bulb biomass and accelerated flowering. Moreover, plants treated with silver nanoparticles showed higher leaf greenness index, formed more flowers, and flowered longer. At 100 ppm AgNPs, the leaves accumulated the highest content of chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids, and were the richest in potassium, calcium, and sulfur. The FTIR spectra did not show any changes in absorbance intensity and chemical composition in the leaves from AgNP-treated bulbs.

**Keywords:** *Lilium*; nanosilver; biostimulators; ornamentals; pigments; nutrients; biomacromolecule

## 1. Introduction

Advances in nanotechnology have allowed for the production of specific nanoparticles with unique properties and a wide spectrum of practical applications [1]. Nanoparticles are characterized by small size, low weight, and a high surface to volume ratio [2]. In the agriculture industry, they are increasingly being used as components of new fertilizers [3], plant protection products [4], herbicides [5], and preparations for prolonging cut flower durability [6]. Recently, nanoparticles and nanomaterials have been suggested as potential biostimulators that might improve plant propagation and growth [7,8] and improve plant resistance to stress [9,10]. Using nanoparticles could bring numerous benefits to agriculture and horticulture, but also involves some risks related to their not yet fully recognized environmental impacts [11].

The most interesting metal nanoparticles seem to be silver nanoparticles (AgNPs), which exhibit strong biological activity [12]. They affect plants at many different levels [13,14]. Positive effects of AgNPs include stimulation of germination [15], growth invigoration [16], increased biomass

accumulation [17], improved shoot induction and proliferation [7], or enhanced pigment content [18]. Silver nanoparticles may also show phytotoxicity, manifested by limited germination and seedling growth [19], decreased biomass of leaves and shoots [20], delay in flowering time, and inhibition of photosynthesis [21]. Therefore, further studies are needed to clarify these contradictory observations and to explain the mechanisms controlling growth stimulation or inhibition in AgNP-treated plants.

Production of potted ornamental plants is a rapidly developing area of the horticultural industry [22]. Plants with decorative flowers account for over 50% of potted plants on the market. One such plant is lily (*Lilium* L., Liliaceae), a globally economically important bulbous flower crop. By adding new cultivars every year, lilies are constantly growing in popularity [23]. The most attractive cultivars include oriental hybrids with large, scented flowers. These are also the most difficult to grow, mostly due to their high sensitivity to fungal pathogens [24,25]. The decorative value of ornamental plants may be enhanced by using growth stimulators [26,27]. However, there have been few reports on the effect of biostimulators on the yield of flowers and bulbs in lily [28,29].

This is the first study investigating the effects of different AgNP concentrations and methods of their application on the growth and flowering of potted Oriental hybrid lilies. To better understand plant response to AgNPs, we evaluated the leaf content of assimilation pigments and macronutrients and analyzed macromolecule composition using Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR). With the exception of our earlier research [30], no comprehensive studies have been undertaken on using metal nanoparticles as biostimulators to enhance the ornamental quality of bulbous crop plants.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Plant Material and Growth Conditions

The experiment was carried out between 17 March and 25 July 2015 and between 30 March and 8 August 2016 in an unheated stand-alone tunnel with area of 225 m<sup>2</sup>, covered with a double layer of plastic with a UV filter, located at the premises of West Pomeranian University of Technology in Szczecin (53°25' N, 14°32' E; 25 m ASL). In the first year, we investigated cv. Mona Lisa, and in the second, cv. Little John. Both cultivars belong to a division of Oriental hybrids and are recommended for pot cultivation. Bulbs 12–13 cm in circumference were imported from Dutch breeding plantations and kept in cold storage at 6–8 °C prior to planting. The experiments included only healthy bulbs, with no spots or damage and with strong and unbroken roots.

Each year the bulbs were planted individually into 16 cm diameter round plastic pots with a volume of 2 dm<sup>3</sup>. The pots were filled with TS1 peat substrate (Klasmann-Delmann, Germany), with a pH in H<sub>2</sub>O 5.4 and salinity of 1.09 g NaCl dm<sup>-3</sup>, containing 162 mg dm<sup>-3</sup> N-NO<sub>3</sub>, 118 mg dm<sup>-3</sup> P, 323 mg dm<sup>-3</sup> K, 1189 mg dm<sup>-3</sup> Ca, 132 mg dm<sup>-3</sup> Mg, and 17 mg dm<sup>-3</sup> Cl. The plants were grown on steel tables with a density of 16 plants per m<sup>2</sup> under a natural photoperiod, and mean air temperature in the tunnel (2015/2016) was: March 9.9/9.0 °C, April 11.9/12.4 °C, May 15.4/19.8 °C, June 18.1/22.0 °C, and July 21.4/21.3 °C.

### 2.2. Treatments

AgNPs purchased from Sigma Aldrich (particle size <100 nm and surface area 5.0 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) were dissolved in deionized water and used at the following concentrations: 0 (control), 25, 50, 100, and 150 ppm. In the first year of the study, three application methods were investigated: (I) bulb soaking in AgNP solution for 60 min prior to planting, (II) substrate drenches (100 mL/pot), and (III) foliar sprays (45 mL/plant). The plants were drenched or sprayed with AgNP solutions three times, i.e., 30, 40, and 50 days after planting. In the second year, AgNPs were applied only in the form of bulb soaking prior to planting. Both experiments were arranged in a randomized complete block design, and each treatment was replicated four times with 20 bulbs per treatment.



### 2.3. Growth and Flowering Characteristics

We determined daily the number of days from bulb planting to the beginning of anthesis and flower longevity. The beginning of anthesis was assumed as the moment when one flower per plant was fully opened. Flower longevity meant the number of days from the beginning of anthesis to the opening of the last flower. The parameters measured at the beginning of anthesis included: plant height from the soil line to the uppermost part of inflorescence, number of leaves per plant, tepal length, and tepal width. Additionally, the SPAD (soil and plant analysis development) leaf greenness index was measured with a Chlorophyll Meter SPAD 502 (Minolta, Osaka, Japan) in three fully developed leaves per plant by taking three readings per leaf and calculating mean values. When the flowering ceased, we determined the number of flowers per inflorescence, fresh weight of leaves and bulbs, and the number of scales per bulb. In the second year of the experiment, we analyzed leaves harvested from the central section of the stem of three representative plants of each treatment.

### 2.4. Chlorophylls and Carotenoids

Pigment content was determined spectrophotometrically in fresh leaves (10 g fresh weight). To this end, discs of the same diameter (7 mm) were cut out with a cork borer from the central part of the leaf. The pigments were extracted with 99% N-N-dimethylformamide for 24 h. Chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll a + b, and carotenoid presence were detected by reading their absorbance at 440, 645, and 663 nm with a spectrophotometer SPEKOL 11 (Carl Zeiss Jena, Jena, Germany). The pigment content was calculated using the appropriate formulae [31,32] and has been expressed in  $\text{mg kg}^{-1}$  fresh weight (FW).

### 2.5. Macronutrient Concentration

Fresh leaves (100 g fresh weight) were rinsed thrice with distilled water, dried at 60 °C to dry weight, and ground. Leaf tissue samples were then microwave digested in  $\text{HNO}_3$ , using closed Teflon vessels. Phosphorus (P), potassium (K), magnesium (Mg), calcium (Ca), and sulfur (S- $\text{SO}_4$ ) were determined using inductively coupled plasma–optical emission spectrometry ICP-OES (Optima 2000TM DV PerkinElmer, Waltham, MA, USA). Nitrogen (N) content was established with a Kjeldahl apparatus (Vapodest, Gerhardt, Germany). Leaf macronutrient content has been expressed in % of dry weight (DW).

### 2.6. Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) Analysis

Fourier-transform infrared (FTIR) spectrum of dry leaf tissue (2 g) was measured using a FTIR spectroscope (PerkinElmer Spectrophotometer, Spectrum 100), operated at a resolution of  $4 \text{ cm}^{-1}$  for four scans. Samples were ground into powder and placed directly (each one separately) at the ray-exposing stage. The spectrum recorded a wave number of  $650\text{--}4000 \text{ cm}^{-1}$ .

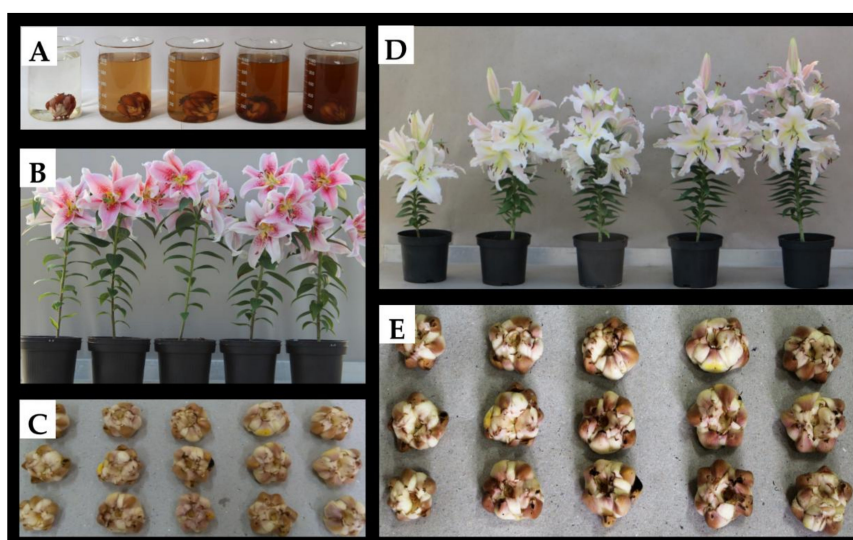
### 2.7. Experimental Design and Statistical Analysis

The experiment tested two factors in the first year (five concentrations  $\times$  three application methods) and a single factor in the second year (five concentrations). Each biometric measurement included three similar plants from each repetition ( $n = 12$ ). The plant material was analyzed in three independent biological replicates ( $n = 3$ ). The results were subjected to ANOVA using Statistica Professional 13.3 package (TIBCO Software, Palo Alto, CA, USA). Tukey's test at  $p \leq 0.05$  was used to assess the smallest significant differences between means.

### 3. Results

#### 3.1. Impact of AgNPs on Plant Growth and Flowering

The outcomes from the first year indicated positive effects of AgNPs on the majority of the assessed morphological parameters in lily cv. Mona Lisa (Figure 1, Tables 1 and 2). All plants treated with AgNPs clearly showed enhanced leaf fresh weight (by 23.6–50.5%), greenness index (by 8.6–18.4%), and bulb fresh weight (by 44.9–73.4%), and began flowering by two or three days earlier than control plants. At 50 ppm AgNPs, the lilies grew the tallest (48.1 cm), produced the greatest number of leaves (27.1), and flowered for the longest time (11.4 days), and their bulbs had the greatest fresh weight (37.1 g), and formed the greatest number of scales (23.0). The tested AgNP concentrations and application methods did not significantly affect tepal length or width (Table 2).



**Figure 1.** Effects of silver nanoparticles (AgNPs) on color change of solution (A); flowering (B) and bulb yield (C) of lily cv. Mona Lisa; flowering (D) and bulb yield (E) of lily cv. Little John after the application of AgNP pre-planting bulb soaks. Left to right: nontreated control, 25, 50, 100, and 150 ppm AgNPs.

**Table 1.** Main effects of silver nanoparticle (AgNP) concentration and application method on growth of lily cv. Mona Lisa. Values followed by differing letters in each column are significantly different at  $p \leq 0.05$  (ANOVA and Tukey’s test). \*, \*\*, \*\*\*: significant at  $p \leq 0.05, 0.01, \text{ or } 0.001$ , respectively. Non-significant: ns.

AgNP Treatment	Plant Height (cm)	No. of Leaves Per Plant	Greenness Index (SPAD)	Leaf Fresh Weight (g/Plant)	Bulb Fresh Weight (g/Plant)	No. of Scales Per Bulb
Concentration (C)						
0 ppm	44.7 b	21.3 c	52.3 c	20.8 c	21.4 c	18.5 c
25 ppm	45.7 ab	25.6 ab	56.8 b	27.3 a	31.3 b	19.8 bc
50 ppm	48.1 a	27.1 a	61.5 a	28.1 a	37.1 a	23.0 a
100 ppm	46.8 ab	23.5 bc	61.9 a	31.3 a	35.1 a	22.9 a
150 ppm	45.6 ab	23.3 bc	61.2 a	25.7 b	31.0 b	21.1. ab
Method (M)						
Bulb soaks	47.2 a	26.9 a	61.2 a	28.2 a	33.3 a	23.2 a
Drenches	45.0 b	22.4 b	58.1 b	26.1 b	31.0 b	20.3 b
Foliar sprays	46.4 ab	23.2 b	57.0 b	25.6 b	29.2 c	19.8 b
Two-way ANOVA						
C	**	***	***	***	***	**
M	*	***	**	**	***	***
C × M	ns	**	*	ns	***	ns

**Table 2.** Main effects of silver nanoparticle (AgNP) concentration and application method on flowering of lily cv. Mona Lisa. Values followed by differing letters in each column are significantly different at  $p \leq 0.05$  (ANOVA and Tukey's test). \*, \*\*: Significant at  $p \leq 0.05$ , 0.01 or 0.001, respectively. Non-significant: ns.

AgNP Treatment	Days to Anthesis	No. of Flowers Per Plant	Tepal Length (cm)	Tepal Width (cm)	Flower Longevity (Days)
Concentration (C)					
0 ppm	109 b	2.7 b	11.7 a	5.76 a	9.50 b
25 ppm	107 a	3.6 ab	11.9 a	5.76 a	10.3 ab
50 ppm	106 a	4.0 a	12.0 a	5.89 a	11.4 a
100 ppm	106 a	4.0 a	12.0 a	5.93 a	11.0 ab
150 ppm	107 a	3.4 ab	12.0 a	5.80 a	10.6 ab
Method (M)					
Bulb soaks	106 a	4.0 a	11.9 a	5.91 a	10.3 a
Drenches	107 b	3.1 b	11.8 a	5.74 a	11.0 a
Foliar sprays	107 b	3.4 b	12.0 a	5.84 a	10.4 a
Two-way ANOVA					
C	**	*	ns	ns	*
M	*	**	ns	ns	ns
C × M	ns	ns	ns	ns	ns

As for the AgNP application methods, cv. Mona Lisa lilies grown from the bulbs soaked in nanoparticle solutions produced significantly more leaves and flowers and had higher greenness indices and fresh weight of leaves and bulbs than plants watered or sprayed with AgNPs. In addition, soaking the bulbs in AgNP solution accelerated flowering and increased the number of flowers without affecting flower longevity (Tables 1 and 2).

For the number of leaves, greenness index, and bulb fresh weight, we found a significant interaction between AgNP concentration and its application method (Table 3).

**Table 3.** The interaction effects of application method and silver nanoparticle (AgNP) concentration on the number of leaves, greenness index, and bulb fresh weight of lily cv. Mona Lisa. Values followed by differing letters in each column are significantly different at  $p \leq 0.05$  (ANOVA and Tukey's test).

AgNP Treatment		No. of Leaves Per Plant	Greenness Index (SPAD)	Bulb Fresh Weight (g/Plant)
Method	Concentration			
Bulb soaks	0 ppm	21.3 c	52.3 d	21.4 g
	25 ppm	29.2 ab	59.2 abcd	40.2 a
	50 ppm	24.8 bc	68.3 a	39.3 ab
	100 ppm	24.5 bc	66.1 ab	33.4 cd
	150 ppm	34.5 a	60.1 abcd	32.2 de
Drenches	0 ppm	21.3 c	52.3 d	21.4 g
	25 ppm	24.0 bc	56.1 cd	26.4 fg
	50 ppm	22.0 c	56.7 cd	40.9 a
	100 ppm	23.0 bc	62.1 abc	33.8 bcd
	150 ppm	21.8 c	63.3 abc	32.6 cde
Foliar sprays	0 ppm	21.3 c	52.3 d	21.4 g
	25 ppm	23.7 bc	55.1 cd	27.4 ef
	50 ppm	23.1 bc	59.5 abcd	31.0 def
	100 ppm	23.0 bc	57.6 bcd	37.9 abc
	150 ppm	25.1 bc	60.3 abcd	28.4 def

In the second year of the study, we focused on cv. Little John and chose the most effective method of AgNP application, i.e., bulb soaking. The data we obtained for this cultivar confirmed the stimulatory effects of AgNPs on lily growth and flowering (Figure 1, Table 4). Plants treated with all

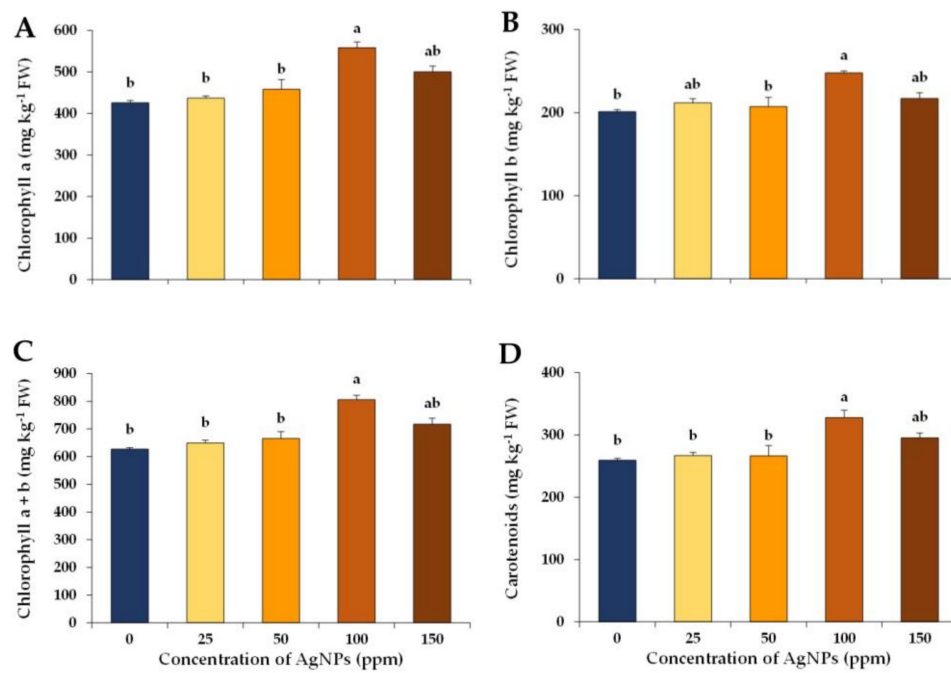
investigated concentrations of AgNPs reached significantly greater fresh weight of leaves (28.6–47.9%) and bulbs (40.6–56.5%), and produced more flowers (4.5–14.9%) with longer tepals (9.7–13.7%) than control ones. Moreover, AgNP presence accelerated flowering by two to four days, except for the concentration of 150 ppm. The most beneficial AgNP concentration was 100 ppm, at which the plants were the highest (56.5 cm), produced the greatest number of leaves (65.7), had the highest greenness index (59.4 SPAD), the longest (14.1 cm) and the widest (7.03 cm) tepals, and flowered for the longest time (18.2 days).

**Table 4.** Effects of silver nanoparticle (AgNP) pre-planting bulb soaks on growth and flowering of lily cv. Little John. Values for each parameter followed by differing letters are significantly different at  $p \leq 0.05$  (ANOVA and Tukey's test). \*, \*\*, \*\*\*: Significant at  $p \leq 0.05$ , 0.01 or 0.001, respectively.

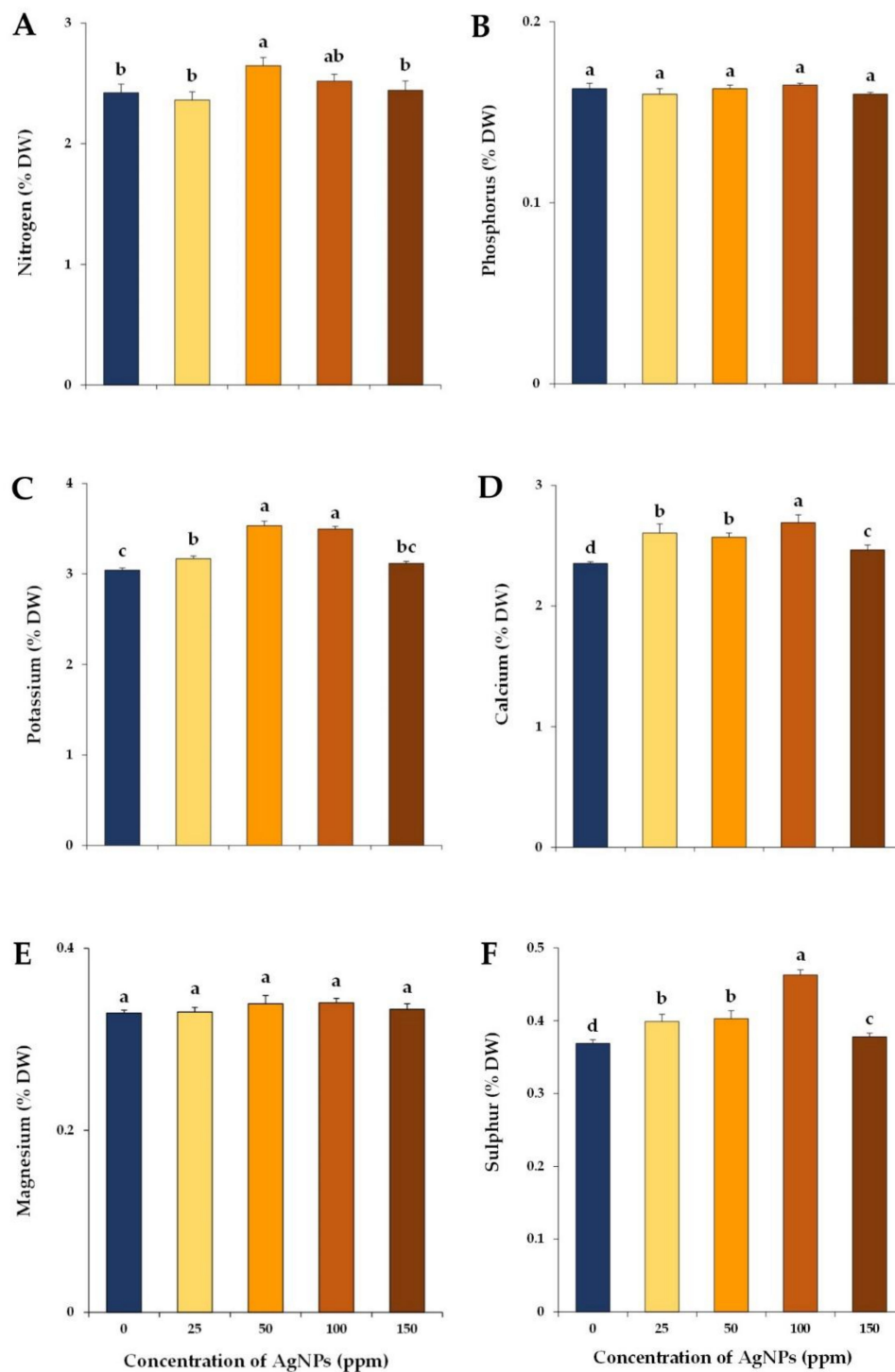
Parameters	AgNP Concentration					One-Way ANOVA
	0	25 ppm	50 ppm	100 ppm	150 ppm	
Plant height (cm)	48.8 a	53.3 b	54.7 ab	56.5 a	53.5 b	**
No. of leaves per plant	58.3 b	59.3 ab	63.0 ab	65.7 a	61.7 ab	*
Greenness index (SPAD)	48.5 c	54.6 b	56.6 ab	59.4 a	55.4 ab	**
Leaves fresh weight (g)	35.3 b	45.4 a	50.6 a	52.2 a	50.0 a	**
Bulb fresh weight (g)	52.4 b	73.7 a	79.8 a	82.0 a	74.2 a	***
No. of scales per bulb	31.7 c	38.3 b	39.7 b	43.0 a	43.3 a	**
Days to anthesis	113 b	110 a	110 a	109 a	111 ab	*
No. of flowers per plant	6.7 b	7.5 a	7.7 a	7.7 a	7.0 a	*
Tepal length (cm)	12.4 b	13.6 a	13.7 a	14.1 a	13.6 a	**
Tepal width (cm)	6.19 b	6.80 ab	6.84 ab	7.03 a	6.93 ab	*
Flower longevity (days)	14.2 b	15.3 ab	16.5 ab	18.2 a	15.5 ab	*

### 3.2. Effect of AgNPs on Photosynthetic Pigments and Macronutrient Concentration

Our study showed a significant effect of AgNPs on the leaf content of photosynthetic pigments (Figure 2). Leaves of the lily cv. Little John treated with 100 ppm of AgNPs accumulated the greatest amounts of chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll a + b, and carotenoids. For this treatment, the levels of chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll a + b, and carotenoids were higher by 31.2, 23.1, 28.6, and 26.3% than in control, respectively. Leaf content of nitrogen, potassium, calcium, and sulfur also depended on AgNP concentration (Figure 3). In comparison with the control plants, AgNPs at 50 ppm enhanced nitrogen and potassium content by 9.2 and 16.1%, respectively. Plants treated with 100 ppm AgNPs also showed significantly higher levels of potassium (by 14.9%), as well as calcium (by 14.4%) and sulfur (by 25.5%). The contents of phosphorus and magnesium were unaffected by AgNP treatments (Figure 3).



**Figure 2.** Effects of silver nanoparticle (AgNP) pre-planting bulb soaks on chlorophyll a (A), chlorophyll b (B), chlorophyll a + b (C), and carotenoid (D) content of lily cv. Little John. Vertical bars indicate the standard error (SE) of the mean. A different lower-case letter above each bar in each panel indicates a significant difference between treatment at  $p \leq 0.05$  (ANOVA and LSD test). FW: fresh weight.

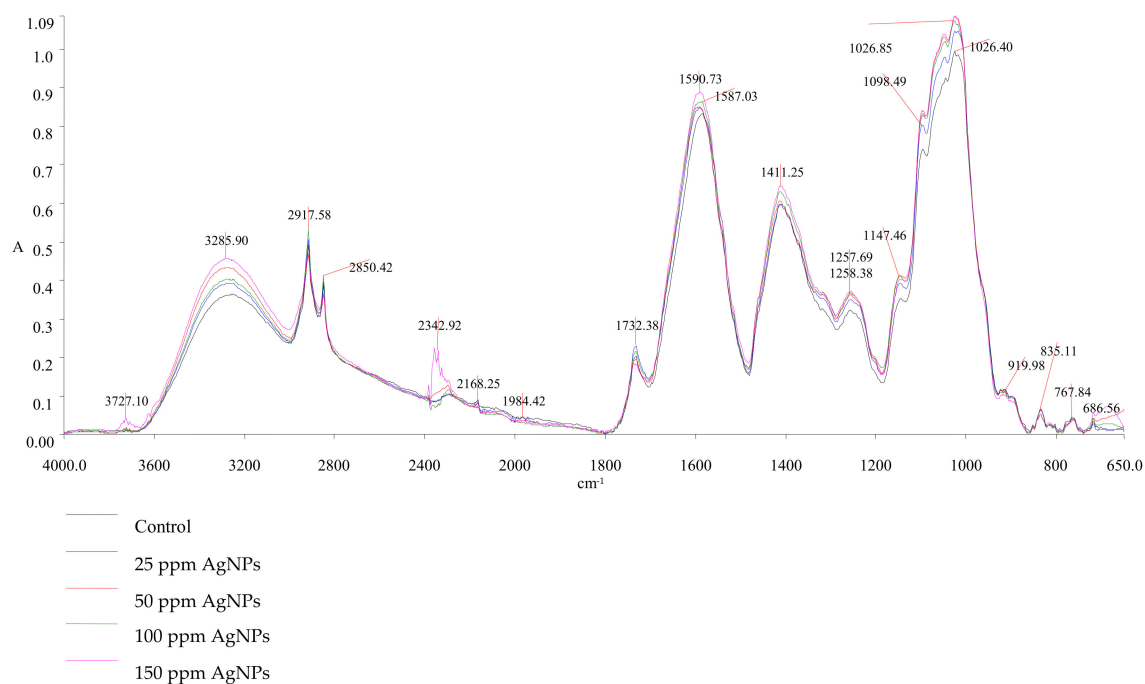


**Figure 3.** Effects of silver nanoparticles (AgNPs) preplant bulb soaks on leaf nitrogen (A); phosphorus (B); potassium (C); calcium (D); magnesium (E) and sulphur (F) content of lily cv. Little John. Vertical bars indicate the standard error (SE) of the mean. A different lower-case letter above each bar in each panel indicates a significant difference between treatment at  $p \leq 0.05$  (ANOVA and LSD test). DW: dry weight.

### 3.3. FTIR Analysis

The study analyzed five regions in the FTIR spectra: (1) from  $3600$  to  $3200$   $\text{cm}^{-1}$ , (2) from  $3200$  to  $2800$   $\text{cm}^{-1}$ , (3) from  $1800$  to  $1500$   $\text{cm}^{-1}$ , (4) from  $1400$  to  $1200$   $\text{cm}^{-1}$ , and (5) from  $1200$  to  $900$   $\text{cm}^{-1}$

(Figure 4). In the case of the  $3285.90\text{ cm}^{-1}$  peak, its consistency with absorption was noted, stimulated by O–H single bonds. By contrast, spectrum peaks at  $2917.58$ ,  $2850.42$ , and  $1411.25\text{ cm}^{-1}$  were consistently observed for a peak with  $\text{CH}_3\text{--CH}_2$  induced absorption. The  $1590.73\text{ cm}^{-1}$  and  $1587.03\text{ cm}^{-1}$  peaks corresponded to lipids and pectin. Spectrum peaks at  $1026.40$ ,  $1026.85$ , and  $1098.49\text{ cm}^{-1}$  were consistently observed for a peak with O–H- and C–O-induced absorption, which mainly occurs in carbohydrates [33]. The FTIR analysis did not show any influence of AgNPs on the location and relative intensity of the oscillation bands.



**Figure 4.** Fourier-transform infrared (FTIR) spectra (region  $4000\text{--}650\text{ cm}^{-1}$ ) from leaf samples of lily cv. Little John after the application of silver nanoparticle (AgNP) pre-planting bulb soaks.

#### 4. Discussion

The study demonstrated positive effects of AgNPs on lily production, as manifested in enhanced growth and more abundant flowering. Plants treated with AgNPs responded with accelerated anthesis, higher greenness index, greater number of flowers, and prolonged flowering, which translated into a greater decorative and commercial value than that of non-treated plants. Additionally, AgNPs considerably increased bulb weight and the number of scales, reflecting improved reproduction potential of the species. Leaves of lilies treated with AgNPs showed no signs of necrosis, chlorosis, leaf and bud drying, or other symptoms of decreased plant quality (Figure 1). Lily cv. Mona Lisa developed the most preferable morphological features when treated with 50 ppm AgNPs, while for cv. Little John, the optimal concentration of nanoparticles was 100 ppm. We have previously reported similar results confirming the beneficial effects of 100 ppm AgNPs, applied by pre-planting soak, on the yield of cut flowers and daughter bulbs of *Tulipa gesneriana* cv. Pink Impression [30]. Dipping cuttings in 50 and 100 ppm AgNP solutions in lily propagation via bulb scales increased the weight of bulblets and their adventitious roots [34]. In *in vitro* cultures of lily, supplementation of media with AgNPs stimulated morphogenesis and elimination of bacterial contaminations [35]. Information on using AgNPs in the cultivation and propagation of ornamental bulbous plants is scarce, and while data on AgNP treatment in other plant groups are more abundant, they are often contradictory. Phytostimulatory effects of biosynthesized AgNPs on seedling elongation and their biomass growth have been reported in *Oryza sativa* [17] and *Trigonella foenum-graceum* [16]. Treatment



of *Chrysanthemum morifolium* with 7.5 ppm AgNPs applied to tissue cultures significantly improved plant height, length and width of leaves, and plant fresh and dry weight [36]. In *Swertia chirata*, supplementation of the cultivation media with AgNPs of 20 nm in diameter favorably influenced shoot morphogenesis [7]. Contrary to that, exposing *Capsicum annuum* to soil-drench-applied AgNPs inhibited plant growth and reduced biomass accumulation of the above-ground parts [20]. Seedlings of *Lupinus termis* treated with high concentrations of AgNPs (300–500 ppm) responded with a reduction in shoot and root elongation and decreased biomass accumulation. However, AgNPs at 100 ppm stimulated shoot and root growth [37]. Similarly, positive effects of low-concentrated solution of AgNP on seedling development were reported in *Pisum sativum* [38]. Inconsistent plant responses to AgNPs may be due to the fact that nanoparticle actions depend on plant genotype [39,40], AgNP concentration [41,42], and application method [43], as confirmed in our study. Bulb soaking in various concentrations of nanoparticles turned out to be more effective than drenching or spraying. It could be assumed that bulbs treated with AgNPs prior to planting were more resistant to soil pathogen infections, and thus their growth and development was more vigorous from the beginning of the cultivation. AgNPs are known for their high antimicrobial activity and effective plant protection against various diseases [1,4,12]. A suggested beneficial effect on lily disease of AgNPs still needs to be further studied. Other factors, such as nanoparticle size, shape [44], or synthesis method [41,45] also make it difficult to compare the results of different studies and to explain the mechanisms of AgNP action. Different plant responses to different AgNP doses may be the effect of hormesis, i.e., a stimulatory influence of low doses and inhibitory influence of high doses of the same agent [46]. According to Juárez-Maldonado et al. [47], the surface charges of nanoparticles interact with the surface charges of plant cells, inducing plant responses from biostimulation to toxicity. These authors assume a two-stage biostimulation process. The initial stage of physicochemical character involves the interaction of surface charges, while the later stage consists of a series of biochemical stimuli that promote nanoparticle penetration into the cells or cause changes in the membranes or integral proteins [47].

Leaf contents of assimilation pigments and macronutrients serve as important biomarkers of plant physiological condition. Increased synthesis of chlorophyll and more effective uptake of minerals are known to considerably improve plant growth and enhance biomass production. In our study, pre-planting bulb soaks of AgNPs at 100 ppm increased leaf content of chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids, as well as the levels of potassium, calcium, and sulfur. We also saw enhanced accumulation of potassium, accompanied by greater content of nitrogen in plants treated with AgNPs at 50 ppm. Stimulation of chlorophyll synthesis following AgNP foliar application has been demonstrated previously in the leaves of *Triticum aestivum* [18]. AgNPs are assumed to exert a pleiotropic effect on plants by affecting their physiological and biochemical processes and gene expression profiles. Supplementing soil substrate with AgNPs resulted in considerable increase in leaf chlorophyll content, nitrogen and phosphorus uptake, accumulation of crude protein, and enhanced expression of mRNA for nitrate reductase and ferredoxin in a culture of *Phaseolus vulgaris* [41]. Syu et al. [44] demonstrated that phytostimulatory activity of medium-applied AgNPs on the growth of *Arabidopsis* correlated with accumulation of proteins associated with the cell cycle and carbohydrate metabolism, and changes in the expression of the genes involved in multiple cellular processes, such as cell proliferation, photosynthesis, and signaling pathways of such hormones as auxins, abscisic acid, and ethylene. Gupta et al. [17] reported AgNP-stimulated growth improvement in *Oryza sativa* seedlings accompanied by elevated levels of catalase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase, and decreased amounts of lipid peroxidation and hydrogen peroxide content. By enhancing the activity of antioxidant enzymes, the nanoparticles probably help to reduce oxidative stress and may reinforce plant responses to other types of stresses, such as salinity or high temperature [48,49].

Macromolecules are the main building blocks of plant bodies and their endogenously determined composition may be modified by external factors, including nanoparticles and nanocompounds [50]. To obtain comprehensive data on the composition of plant macromolecules, we carried out vibrational spectroscopy FTIR that enabled the identification of individual functional groups and detection of



changes in various chemical bonds. We found that AgNP treatment did not alter the macromolecular composition of lily leaves. However, our findings were inconsistent with a study by Zuverza-Mena et al. [33], where FTIR analysis detected changes in the bands corresponding to lipids (3000–2800  $\text{cm}^{-1}$ ), proteins (1550–1530  $\text{cm}^{-1}$ ), and structural components such as lignin, pectin, and cellulose in *Raphanus sativus* seedlings grown in AgNP suspensions. In *Lycopersicon esculentum*, grown in sewage sludge amendment soil containing  $\text{TiO}_2$  nanoparticles, FTIR analysis revealed a decrease in tannins and lignins and an increase in carbohydrates in leaves, but no changes in fruits [51]. The effect of AgNPs on the physiological responses, mineral status, and macromolecule conformation in plants is still an open question.

## 5. Conclusions

Our study showed that AgNPs used in the form of bulb-soaking solutions stimulated growth and flowering of two cultivars of Oriental lily. AgNP application resulted in enhanced leaf and bulb biomass, leaf greenness index, and flower abundance. Additionally, the plants treated with AgNPs began their anthesis earlier and featured prolonged flower longevity, meaning their decorative period was longer, which is a top priority in floriculture. The effects of AgNPs on plant growth and the content of assimilation pigments and some macronutrients depended on nanoparticle concentration. In most cases, the best effects were achieved for 50 and 100 ppm. FTIR spectroscopy showed no quantitative or qualitative changes in macromolecules and individual functional groups in response to AgNP treatment. The unique properties of AgNPs may be highly beneficial in the cultivation of ornamental bulb plants, but, as their mechanisms of action are not fully understood, further detailed mycological, biochemical, and molecular studies on the impact of nanosilver on plant health and stress are necessary.

**Author Contributions:** Conceived and designed the experiments, A.B., P.S. and A.Z.; Collected and analyzed the data, A.B., M.M. and R.P., Wrote the paper: P.S., A.B. and M.M.

**Funding:** The study was supported by the Polish Ministry of Science and Higher Education (Project UPB 517-07-014-5365/17 ZUT).

**Acknowledgments:** The authors would like to thank Róża Stuart for her help in the lab.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Rai, P.K.; Kumar, V.; Lee, S.; Raza, N.; Kim, K.H.; Ok, Y.S.; Tsang, D.C. Nanoparticle-plant interaction: Implications in energy, environment, and agriculture. *Environ. Int.* **2018**, *119*, 1–19. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Khan, M.N.; Mobin, M.; Abbas, Z.K.; AlMutairi, K.A.; Siddiqui, Z.H. Role of nanomaterials in plants under challenging environments. *Plant Physiol. Biochem.* **2017**, *110*, 194–209. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Elmer, W.H.; White, J.C. The use of metallic oxide nanoparticles to enhance growth of tomatoes and eggplants in disease infested soil or soilless medium. *Environ. Sci. Nano.* **2016**, *3*, 1072–1079. [[CrossRef](#)]
4. Worrall, E.; Hamid, A.; Mody, K.; Mitter, N.; Pappu, H. Nanotechnology for plant disease management. *Agronomy* **2018**, *8*, 285. [[CrossRef](#)]
5. Maruyama, C.R.; Guilger, M.; Pascoli, M.; Bileshy-José, N.; Abhilash, P.C.; Fraceto, L.F.; De Lima, R. Nanoparticles based on chitosan as carriers for the combined herbicides imazapic and imazapyr. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 19768. [[CrossRef](#)]
6. He, Y.; Qian, L.; Liu, X.; Hu, R.; Huang, M.; Liu, Y.; Chen, G.; Losic, D.; Zhu, H. Graphene oxide as an antimicrobial agent can extend the vase life of cut flowers. *Nano Res.* **2018**, *11*, 6010–6022. [[CrossRef](#)]
7. Saha, N.; Gupta, S.D. Promotion of shoot regeneration of *Swertia chirata* by biosynthesized silver nanoparticles and their involvement in ethylene interceptions and activation of antioxidant activity. *Plant Cell Tissue Organ Culture* **2018**, *134*, 289–300. [[CrossRef](#)]
8. Thangavelu, R.M.; Gunasekaran, D.; Jesse, M.I.; Su, M.R.; Sundarajan, D.; Krishnan, K. Nanobiotechnology approach using plant rooting hormone synthesized silver nanoparticle as “nanobullets” for the dynamic applications in horticulture—An *in vitro* and *ex vitro* study. *Arab. J. Chem.* **2016**, *11*, 48–61. [[CrossRef](#)]

9. Hernández-Hernández, H.; González-Morales, S.; Benavides-Mendoza, A.; Ortega-Ortiz, H.; Cadenas-Pliego, G.; Juárez-Maldonado, A. Effects of chitosan-PVA and Cu nanoparticles on the growth and antioxidant capacity of tomato under saline stress. *Molecules* **2018**, *23*, 178. [[CrossRef](#)]
10. Avestan, S.; Ghasemnezhad, M.; Esfahani, M.; Byrt, C.S. Application of nano-silicon dioxide improves salt stress tolerance in strawberry plants. *Agronomy* **2019**, *9*, 246. [[CrossRef](#)]
11. Feregrino-Perez, A.A.; Magaña-López, E.; Guzmán, C.; Esquivel, K. A general overview of the benefits and possible negative effects of the nanotechnology in horticulture. *Sci. Hortic.* **2018**, *238*, 126–137. [[CrossRef](#)]
12. Haider, A.; Kang, I.K. Preparation of silver nanoparticles and their industrial and biomedical applications: A comprehensive review. *Adv. Mater. Sci. Eng.* **2015**. [[CrossRef](#)]
13. Zuverza-Mena, N.; Martínez-Fernández, D.; Du, W.; Hernandez-Viezcas, J.A.; Bonilla-Bird, N.; López-Moreno, M.L.; Komarek, M.; Peralta-Video, J.R.; Gardea-Torresdey, J.L. Exposure of engineered nanomaterials to plants: Insights into the physiological and biochemical responses-A review. *Plant Physiol. Biochem.* **2017**, *110*, 236–264. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Mehmood, A. Brief overview of the application of silver nanoparticles to improve growth of crop plants. *IET Nanobiotechnol.* **2018**, *12*, 701–705. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Parveen, A.; Rao, S. Effect of nanosilver on seed germination and seedling growth in *Pennisetum glaucum*. *J. Clust. Sci.* **2015**, *26*, 693–701. [[CrossRef](#)]
16. Jasim, B.; Thomas, R.; Mathew, J.; Radhakrishnan, E.K. Plant growth and diosgenin enhancement effect of silver nanoparticles in Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Saudi Pharm. J.* **2017**, *25*, 443–447. [[CrossRef](#)]
17. Gupta, S.D.; Agarwal, A.; Pradhan, S. Phytostimulatory effect of silver nanoparticles (AgNPs) on rice seedling growth: An insight from antioxidative enzyme activities and gene expression patterns. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2018**, *161*, 624–633. [[CrossRef](#)]
18. Latif, H.H.; Ghareib, M.; Tahon, M.A. Phytosynthesis of silver nanoparticles using leaf extracts from *Ocimum basilicum* and *Mangifera indica* and their effect on some biochemical attributes of *Triticum aestivum*. *Gesunde Pflanz.* **2017**, *69*, 39–46. [[CrossRef](#)]
19. Geisler-Lee, J.; Brooks, M.; Gerfen, J.; Wang, Q.; Fotis, C.; Sparer, A.; Ma, X.; Berg, R.H.; Geisler, M. Reproductive toxicity and life history study of silver nanoparticle effect, uptake and transport in *Arabidopsis thaliana*. *Nanomaterials* **2014**, *4*, 301–318. [[CrossRef](#)]
20. Vinković, T.; Novák, O.; Strnad, M.; Goessler, W.; Jurašin, D.D.; Paradiković, N.; Vrček, I.V. Cytokinin response in pepper plants (*Capsicum annuum* L.) exposed to silver nanoparticles. *Environ. Res.* **2017**, *156*, 10–18. [[CrossRef](#)]
21. Ke, M.; Qu, Q.; Peijnenburg, W.J.G.M.; Li, X.; Zhang, M.; Zhang, Z.; Lu, T.; Pan, X.; Qian, H. Phytotoxic effects of silver nanoparticles and silver ions to *Arabidopsis thaliana* as revealed by analysis of molecular responses and of metabolic pathways. *Sci. Total Environ.* **2018**, *644*, 1070–1079. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Allegra, V.; Zarba, A.S.; Muratore, F. The ornamental potted plants: Circular economy in agriculture. *Qual. Access Success* **2019**, *20*, 7–12.
23. Okubo, H.; Sochacki, D. Botanical and horticultural aspects of major ornamental geophytes. In *Ornamental Geophytes: From Basic Science to Sustainable Production*; Kamenetsky, R., Okubo, H., Eds.; CRC Press Taylor & Francis Group: Boca Raton, FL, USA, 2012; pp. 79–116. [[CrossRef](#)]
24. Beers, C.M.; Barba-Gonzalez, R.; van Silfhout, A.A.; Ramanna, M.S.; van Tuyl, J.M. Mitotic and meiotic polyploidization in lily hybrids for transferring *Botrytis* resistance. *Acta Hortic.* **2004**, *673*, 449–452. [[CrossRef](#)]
25. Conijn, C.G.M. Developments in the control of lily diseases. *Acta Hortic.* **2014**, *1027*, 213–229. [[CrossRef](#)]
26. Salachna, P.; Grzeszczuk, M.; Soból, M. Effects of chitoooligosaccharide coating combined with selected ionic polymers on the stimulation of *Ornithogalum saundersiae* growth. *Molecules* **2017**, *22*, 1903. [[CrossRef](#)]
27. Cristiano, G.; Pallozzi, E.; Conversa, G.; Tufarelli, V.; De Lucia, B. Effects of an animal-derived biostimulant on the growth and physiological parameters of potted snapdragon (*Antirrhinum majus* L.). *Front. Plant Sci.* **2018**, *9*, 861. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. De Lucia, B.; Vecchiotti, L. Type of bio-stimulant and application method effects on stem quality and root system growth in LA Lily. *Eur. J. Hortic. Sci.* **2012**, *77*, 10.
29. Shafiee-Masouleh, S.S.; Hatamzadeh, A.; Samizadeh, H.; Rad-Moghadam, K. Enlarging bulblet by magnetic and chelating structures of nano-chitosan as supplementary fertilizer in *Lilium*. *Hortic. Environ. Biot.* **2014**, *55*, 437–444. [[CrossRef](#)]

30. Byczyńska, A.; Zawadzińska, A.; Salachna, P. Silver nanoparticles preplant bulb soaking affects tulip production. *Acta Agric. Scand. B Soil Plant* **2019**, *69*, 250–256. [[CrossRef](#)]
31. Arnon, D.I.; Allen, M.B.; Whatley, F.R. Photosynthesis by isolated chloroplasts IV. General concept and comparison of three photochemical reactions. *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.* **1956**, *20*, 449–461. [[CrossRef](#)]
32. Hager, A.; Meyer-Bertenrath, T. Die Isolierung und quantitative Bestimmung der Carotinoide und Chlorophylle von Blättern, Algen und isolierten Chloroplasten mit Hilfe Dünnschichtchromatographischer Methoden. *Planta* **1966**, *69*, 198–217. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Zuverza-Mena, N.; Armendariz, R.; Peralta-Videa, J.R.; Gardea-Torresdey, J.L. Effects of silver nanoparticles on radish sprouts: Root growth reduction and modifications in the nutritional value. *Front. Plant Sci.* **2016**, *7*, 90. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Byczyńska, A.; Zawadzińska, A.; Salachna, P. Effects of nano-silver on bulblet production from bulb scales of lily. *Propag. Ornament. Plants* **2018**, *18*, 104–106.
35. Gioi, D.H.; Huong, B.T.T.; Luu, N.T.B. The effects of different concentrations of nano silver on elimination of bacterial contaminations and stimulation of morphogenesis of Sorbonne lily in vitro culture. *Acta Hortic.* **2019**, *1237*, 227–234. [[CrossRef](#)]
36. Tung, H.T.; Nam, N.B.; Huy, N.P.; Luan, V.Q.; Hien, V.T.; Phuong, T.T.B.; Nhut, D.T. A system for large scale production of chrysanthemum using microponics with the supplement of silver nanoparticles under light-emitting diodes. *Sci. Hortic.* **2018**, *232*, 153–161. [[CrossRef](#)]
37. Al-Huqail, A.A.; Hatata, M.M.; Al-Huqail, A.A.; Ibrahim, M.M. Preparation, characterization of silver phyto nanoparticles and their impact on growth potential of *Lupinus termis* L. seedlings. *Saudi J. Biol. Sci.* **2018**, *25*, 313–319. [[CrossRef](#)]
38. Barabanov, P.V.; Gerasimov, A.V.; Blinov, A.V.; Kravtsov, A.A.; Kravtsov, V.A. Influence of nanosilver on the efficiency of *Pisum sativum* crops germination. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2018**, *147*, 715–719. [[CrossRef](#)]
39. Yin, L.; Colman, B.P.; McGill, B.M.; Wright, J.P.; Bernhardt, E.S. Effects of silver nanoparticle exposure on germination and early growth of eleven wetland plants. *PLoS ONE* **2012**, *7*, 47674. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Mehrian, S.K.; Heidari, R.; Rahmani, F.; Najafi, S. Effect of chemical synthesis silver nanoparticles on germination indices and seedlings growth in seven varieties of *Lycopersicon esculentum* Mill (tomato) plants. *J. Clust. Sci.* **2016**, *27*, 327–340. [[CrossRef](#)]
41. Das, P.; Barua, S.; Sarkar, S.; Karak, N.; Bhattacharyya, P.; Raza, N.; Bhattacharya, S. Plant extract-mediated green silver nanoparticles: Efficacy as soil conditioner and plant growth promoter. *J. Hazard. Mater.* **2018**, *346*, 62–72. [[CrossRef](#)]
42. Barbasz, A.; Kreczmer, B.; Oćwieja, M. Effects of exposure of callus cells of two wheat varieties to silver nanoparticles and silver salt (AgNO<sub>3</sub>). *Acta Physiol. Plant.* **2016**, *38*, 76. [[CrossRef](#)]
43. Lee, W.M.; Kwak, J.I.; An, Y.J. Effect of silver nanoparticles in crop plants *Phaseolus radiatus* and *Sorghum bicolor*: Media effect on phytotoxicity. *Chemosphere* **2012**, *86*, 491–499. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Syu, Y.Y.; Hung, J.H.; Chen, J.C.; Chuang, H.W. Impacts of size and shape of silver nanoparticles on *Arabidopsis* plant growth and gene expression. *Plant Physiol. Biochem.* **2014**, *83*, 57–64. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Krishnaraj, C.; Jagan, E.G.; Ramachandran, R.; Abirami, S.M.; Mohan, N.; Kalaichelvan, P.T. Effect of biologically synthesized silver nanoparticles on *Bacopa monnieri* (Linn.) Wettst. plant growth metabolism. *Process Biochem.* **2012**, *47*, 651–658. [[CrossRef](#)]
46. Calabrese, E.J.; Blain, R.B. Hormesis and plant biology. *Environ. Pollut.* **2009**, *157*, 42–48. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Juárez-Maldonado, A.; Ortega-Ortíz, H.; Morales-Díaz, A.; González-Morales, S.; Morelos-Moreno, Á.; Sandoval-Rangel, A.; Cadenas-Pliego, G.; Benavides-Mendoza, A. Nanoparticles and nanomaterials as plant biostimulants. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 162. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Mohamed, A.K.S.; Qayyum, M.F.; Abdel-Hadi, A.M.; Rehman, R.A.; Ali, S.; Rizwan, M. Interactive effect of salinity and silver nanoparticles on photosynthetic and biochemical parameters of wheat. *Arch. Agron. Soil Sci.* **2017**, *63*, 1736–1747. [[CrossRef](#)]
49. Iqbal, M.; Raja, N.I.; Hussain, M.; Ejaz, M.; Yasmeeen, F. Effect of silver nanoparticles on growth of wheat under heat stress. *Iran J. Sci. Technol. A* **2019**, *43*, 387–395. [[CrossRef](#)]

50. Morales, M.I.; Rico, C.M.; Hernandez-Viezcas, J.A.; Nunez, J.E.; Barrios, A.C.; Tafoya, A.; Flores-Marges, J.P.; Peralta-Videa, J.R.; Gardea-Torresdey, J.L. Toxicity assessment of cerium oxide nanoparticles in cilantro (*Coriandrum sativum* L.) plants grown in organic soil. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 6224–6230. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Bakshi, M.; Liné, C.; Bedolla, D.E.; Stein, R.J.; Kaegi, R.; Sarret, G.; Pradas Del Real, A.E.; Castillo-Michel, H.; Abhilash, P.C.; Larue, C. Assessing the impacts of sewage sludge amendment containing nano-TiO<sub>2</sub> on tomato plants: A life cycle study. *J. Hazard. Mater.* **2019**, *369*, 191–198. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



© 2019 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



## EFFECTS OF NANO-SILVER ON BULBLET PRODUCTION FROM BULB SCALES OF *LILIUM*

Andżelika Byczyńska, Agnieszka Zawadzińska, and Piotr Salachna\*

Department of Horticulture, West Pomeranian University of Technology, 3 Papieża Pawła VI str.,  
71-434 Szczecin, Poland, \*Fax: + 48 91 449 62 62, \*E-mail: piotr.salachna@zut.edu.pl

### Abstract

This study was focused on using nano-silver (nAg) as a biostimulator to improve the regenerative potential of three cultivars of lily: 'Little John', 'Mona Lisa', and 'Osasco'. Bulb scales were soaked in aqueous solutions of nAg (0, 25, 50, 100, and 150 mg l<sup>-1</sup>). nAg increased the number of bulblets at 50 mg l<sup>-1</sup> in the 'Mona Lisa' and 'Osasco', and enhanced the fresh weight of the bulblets and their roots, particularly at concentrations of 50 and 100 mg l<sup>-1</sup> in all researched cultivars.

**Key words:** geophytes, lily, nanomaterials, propagation, plant growth promoters

### INTRODUCTION

The unique properties of nanomaterials arouse great interest in many research areas, including horticulture (Feregrino-Perez et al. 2018). Nano-silver (nAg), with its high biological activity, is the metal most commonly used in nanotechnology (Zewde et al. 2016, Zuverza-Mena et al. 2017). nAg exhibits variable effects in higher plants - it may stimulate or inhibit seed germination, modify their growth and development, and affect metabolic and physiological processes and gene expression (Parveen and Rao 2015, Barabanov et al. 2018, Das et al. 2018). A few recent studies investigated the possibility of using nAg as a bioregulator of plant propagation both *in vitro* and *ex vitro* (Thangavelu et al. 2018, Tung et al. 2018).

Lilies (*Lilium* L., Liliaceae) are among the most important bulbous plants and are commonly grown by professionals and amateurs worldwide. Currently, there are over seven thousand registered lily cultivars, and each year about one hundred new cultivars appear (Okubo and Sochacki 2012). On the industrial scale lilies are propagated *in vitro* or simply and effectively by scaling. To increase the yield of bulblets, the scales may be treated with plant growth regulators (PGRs) (Dhiman and Sindhu 2007). PGRs used in the propagation of bulbous plants are increasingly being replaced with substances having biostimulating activity (Kanchanapoom et al. 2012, Salachna et al. 2015).

The available literature lacks information on about the use of nAg in the propagation of ornamental geophytes. Therefore, the purpose of this study was to

determine the effects of different concentrations of nAg on the reproductive capability of three lily cultivars.

### MATERIALS AND METHODS

#### Plant materials

The plant materials consisted of lily bulbs belonging to two cultivars of oriental hybrids ('Little John' and 'Mona Lisa'), and one cultivar of Asian hybrids ('Osasco') obtained from the 'Wiśniewski Jacek Junior Sp. z o.o.' company, Poland. The average bulb circumference of the respective cultivars was 10 cm ('Little John'), 12 cm ('Mona Lisa'), and 13 cm ('Osasco').

#### Experimental design

On September 30, 2015 the bulbs were divided into individual scales that were soaked for 30 min in aqueous solutions of nAg (Sigma-Aldrich, Spain) of the following concentrations: 0 (control, distilled water), 25, 50, 100, and 150 mg l<sup>-1</sup>. Each variant comprised a total of 100 scales and four repetitions. After drying (24 h) the scales were mixed with substrate consisting of perlite Perligran® Extra (Knauf Aquapanel, Germany) and acid peat pH 4.5 (Kronen, Poland) at the ratio of 1 : 1 by volume, and placed in 2 l plastic bags in batches of 25. Seedlings were stored in the dark at 20-22°C for 12 weeks and then at 2-4°C for 16 weeks. Then, the number and fresh weight of the resulting bulblets and roots were determined. The fresh weight was measured with an electronic scale (RADWAG PS 200/2000/C/2) with an accuracy of 0.001 g.

Received: August 18, 2018

Accepted: September 26, 2018

### Statistical analysis

The experiment was designed as a random block arrangement. The results were statistically verified with ANOVA for two-factor experiments using TIBCO Statistica™ Professional 13.3.0 software (TIBCO Software, USA). The significance of differences among mean was assessed by Tukey's multiple comparison test at  $p \leq 0.05$ .

### RESULTS

The number of bulblets per scale and the fresh weight of the bulblets and roots were affected significantly by experimental factors and their interaction effects (Table 1). A comparison of the investigated cultivars identified 'Mona Lisa' as the one producing a significantly ( $p \leq 0.05$ ) greater number of bulblets. The bulblets of 'Little John' and 'Mona Lisa' had essentially ( $p \leq 0.05$ ) greater fresh weight than those of 'Osasco', while the roots of the bulblets produced by 'Little John' had greatest fresh weight.

This study shows that the number of bulblets was maximally increased in the scales exposed to 50 mg l<sup>-1</sup> nAg, while no effect was observed with nAg

at concentrations of 150 mg l<sup>-1</sup> (Table 1). The ANOVA showed that nAg at 50 and 100 mg l<sup>-1</sup> provided the most favorable increase of bulblets and fresh root weight.

The greatest number of bulblets was produced by 'Mona Lisa', the scales of which were exposed to 50 mg l<sup>-1</sup> nAg (Table 1). The scales of 'Osasco' treated with distilled water produced the fewest number of bulblets. The bulblets with the greatest fresh weight were produced by 'Mona Lisa', whose scales were soaked in 50 mg l<sup>-1</sup> nAg. The bulblets and roots with the least fresh weight were formed in the control variant of 'Little John'.

### DISCUSSION

The study demonstrated a positive effect of nAg applied at 50 mg l<sup>-1</sup> on the number of bulblets produced by lily scales. We also proved that nAg increased the fresh weight of bulblets and their roots, particularly at concentrations of 50 and 100 mg l<sup>-1</sup>. Enhanced biomass and a stronger root system were observed *in vitro* in *Solanum tuberosum* L. (Homaee and Ehsanpour 2015) and *Chrysanthemum morifolium* Ramat. (Tung et al. 2018) following exposure to nAg. Thangavelu et al.

**Table 1. Posttreatment effect of different nano-silver (nAg) concentrations on the number and fresh weight of bulblets of three lily cultivars.**

Treatments		Number of bulblets	Fresh weight (mg)	
			Bulblet	Root
Cultivar	'Little John'	1.0 ± 0.1 b	218.7 ± 55.4 a	112.0 ± 33.1 a
	'Mona Lisa'	1.5 ± 0.3 a	221.3 ± 40.0 a	97.6 ± 34.6 b
	'Osasco'	1.1 ± 0.1 b	190.0 ± 29.5 b	89.7 ± 19.0 b
nAg (mg l <sup>-1</sup> )	0	1.1 ± 0.2 c	156.6 ± 31.3 c	56.4 ± 8.2 c
	25	1.2 ± 0.3 b	195.6 ± 34.7 b	94.4 ± 18.1 b
	50	1.4 ± 0.5 a	248.9 ± 39.8 a	126.0 ± 26.2 a
	100	1.2 ± 0.2 b	238.9 ± 11.7 a	122.0 ± 11.5 a
	150	1.1 ± 0.2 c	211.1 ± 26.7 b	99.6 ± 20.1 b
Cultivar × nAg	'Little John' × 0 mg l <sup>-1</sup> nAg	1.0 ± 0.1 d	123.3 ± 15.3 f	51.3 ± 6.1 g
	'Little John' × 25 mg l <sup>-1</sup> nAg	1.1 ± 0.1 d	220.0 ± 50.0 b-d	113.0 ± 15.3 a-d
	'Little John' × 50 mg l <sup>-1</sup> nAg	1.0 ± 0.1 d	260.0 ± 10.0 ab	143.0 ± 12.1 a
	'Little John' × 100 mg l <sup>-1</sup> nAg	1.0 ± 0.1 d	246.7 ± 11.5 a-c	132.0 ± 10.4 a
	'Little John' × 150 mg l <sup>-1</sup> nAg	1.0 ± 0.1 d	243.3 ± 15.3 a-c	122.0 ± 12.6 ab
	'Mona Lisa' × 0 mg l <sup>-1</sup> nAg	1.3 ± 0.1 c	190.0 ± 10.0 de	53.0 ± 6.1 fg
	'Mona Lisa' × 25 mg l <sup>-1</sup> nAg	1.6 ± 0.1 b	200.0 ± 10.0 c-e	90.0 ± 10.0 c-e
	'Mona Lisa' × 50 mg l <sup>-1</sup> nAg	2.0 ± 0.1 a	286.7 ± 15.3 a	142.0 ± 12.6 a
	'Mona Lisa' × 100 mg l <sup>-1</sup> nAg	1.4 ± 0.3 bc	240.0 ± 10.0 a-d	120.0 ± 10.0 a-c
	'Mona Lisa' × 150 mg l <sup>-1</sup> nAg	1.4 ± 0.1 bc	190.0 ± 10.0 de	83.3 ± 15.3 d-f
	'Osasco' × 0 mg l <sup>-1</sup> nAg	0.9 ± 0.1 d	153.0 ± 15.3 ef	65.0 ± 5.0 e-g
	'Osasco' × 25 mg l <sup>-1</sup> nAg	1.1 ± 0.0 cd	166.7 ± 5.8 ef	80.0 ± 10.0 e-g
	'Osasco' × 50 mg l <sup>-1</sup> nAg	1.2 ± 0.1 c	200.0 ± 10.0 c-e	93.3 ± 5.8 b-e
	'Osasco' × 100 mg l <sup>-1</sup> nAg	1.1 ± 0.0 cd	230.0 ± 10.0 b-d	117.0 ± 11.5 a-c
	'Osasco' × 150 mg l <sup>-1</sup> nAg	1.1 ± 0.1 cd	200.0 ± 10.0 c-e	93.7 ± 7.1 b-e

For each treatment, means ± standard deviation within a column followed by the same letter are not significantly different according Tukey's multiple range test at  $p \leq 0.05$ .



(2018) showed that auxins (IAA and IBA) capped silver nanoparticles and stimulated rooting in *Nicotiana tabacum* L. and *Hibiscus rosa-sinensis* L. The positive effects of nAg on plant growth and root system development may be due to the fact that silver inhibits the biosynthesis of ethylene, which is abundantly produced after plant wounding. In this study, such a stress might have occurred during bulb scaling. Ethylene is known for inhibiting cell division and cell elongation, but silver ions inhibit ethylene activity (Khalid et al. 1991). This claim was confirmed by Godo et al. (1998), who found that silver thiosulfate added to enzyme solution improved the plating efficiency of *Lilium* × *formolongii* protoplasts. The beneficial effects of nAg on the weight of bulblet roots may also be caused by the antimicrobial activity of silver. According to Thangavelu et al. (2018) nAg restricts the negative effects of pathogens on root development, thus stimulating root elongation. Das et al. (2018) claim that nAg intensifies plant growth by improving the efficiency of nutrient uptake by roots.

#### REFERENCES

- BARABANOV P. V., GERASIMOV A. V., BLINOV A. V., KRAVTSOV A. A., KRAVTSOV V. A. (2018). Influence of nanosilver on the efficiency of *Pisum sativum* crops germination. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147: 715-719.
- DAS P., BARUA S., SARKAR S., KARAK N., BHATTACHARYYA P., RAZA N., BHATTACHARYA S. (2018). Plant extract-mediated green silver nanoparticles: efficacy as soil conditioner and plant growth promoter. *Journal of Hazardous Materials*, 346: 62-72.
- DHIMAN M. R., SINDHU S. S. (2007). Effect of propagation media and growth regulators on bulblet formation through scale propagation in *Lilium*. *Journal of Ornamental Horticulture*, 10: 181-183.
- FEREGRINO-PEREZ A. A., MAGAÑA-LÓPEZ E., GUZMÁN C., ESQUIVEL K. (2018). A general overview of the benefits and possible negative effects of the nanotechnology in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 238: 126-137.
- GODO T., KIDA T., MII M. (1998). Improved plating efficiency of lily (*Lilium* × *formolongi* hort.) protoplasts by silver thiosulfate added to enzyme solution. *Japanese Journal of Breeding*, 48: 159-161.
- HOMAEI M. B., EHSANPOUR A. A. (2015). Physiological and biochemical responses of potato (*Solanum tuberosum*) to silver nanoparticles and silver nitrate treatments under *in vitro* conditions. *Indian Journal of Plant Physiology*, 20: 353-359.
- KANCHANAPOOM K., PIMOLTHAI P., KANCHANAPOOM K. (2012). The effect of chitosan on regeneration of lily (*Lilium longiflorum* Thunb. 'Ester Lily') from bulb scale explants cultured *in vitro*. *Propagation of Ornamental Plants*, 12: 127-129.
- KHALID M., CHRAIBI B., LATSHE A., ROUSTAN J. P., FALLOT J. (1991). Stimulation of shoot regeneration from cotyledons of *Helianthus annuus* by the ethylene inhibitors, silver and cobalt. *Plant Cell Reports*, 10: 204-207.
- OKUBO H., SOCHACKI D. (2012). Botanical and horticultural aspects of major ornamental geophytes. In: Kamenetsky R., Okubo H. (Eds). *Ornamental geophytes: from basic science to sustainable production*, CRC Press Taylor & Francis Group: 79-116.
- PARVEEN A., RAO S. (2015). Effect of nanosilver on seed germination and seedling growth in *Pennisetum glaucum*. *Journal of Cluster Science*, 26: 693-701.
- SALACHNA P., ZAWADZIŃSKA A., WILAS J. (2015). The use of natural polysaccharides in *Eucomis autumnalis* propagation by twin-scale cuttings. *Acta Horticulturae*, 1104: 225-228.
- THANGAVELU R. M., GUNASEKARAN D., JESSE M. I., SU M. R., SUNDARAJAN D., KRISHNAN K. (2016). Nanobiotechnology approach using plant rooting hormone synthesized silver nanoparticle as "nanobullets" for the dynamic applications in horticulture – an *in vitro* and *ex vitro* study. *Arabian Journal of Chemistry*, 11: 48-61.
- TUNG H. T., NAM N. B., HUY N. P., LUAN V. Q., HIEN V. T., PHUONG T. T. B., NHUT D. T. (2018). A system for large scale production of chrysanthemum using microponics with the supplement of silver nanoparticles under light-emitting diodes. *Scientia Horticulturae*, 232: 153-161.
- ZEWDE B., AMBAYE A., STUBBS J., RAGHAVAN D. (2016). A review of stabilized silver nanoparticles-synthesis, biological properties, characterization, and potential areas of applications. *JSM Nanotechnology & Nanomedicine*, 4: 1043.
- ZUVERZA-MENA N., MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ D., DU W., HERNANDEZ-VIEZCAS J. A., BONILLA-BIRD N., LÓPEZ-MORENO M. L., KOMÁREK M., PERALTA-VIDEA J. R., GARDEA-TORRESDEY J. L. (2017). Exposure of engineered nanomaterials to plants: insights into the physiological and biochemical responses – a review. *Plant Physiology and Biochemistry*, 110: 236-264.

## Colloidal Silver Nanoparticles Enhance Bulb Yield and Alleviate the Adverse Effect of Saline Stress on Lily Plants

Andżelika Byczyńska<sup>1\*</sup>, Agnieszka Zawadzińska<sup>1</sup>, Piotr Salachna<sup>1</sup>

<sup>1</sup> The Faculty of Environmental Management and Agriculture, West Pomeranian University of Technology in Szczecin, ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin, Poland

\* Corresponding author's e-mail: angelikawoskowiak@wp.pl

### ABSTRACT

Salinity occurring in intensively used agricultural, industrialized, and urbanized areas is one of the main factors in soil degradation. The effect of silver nanoparticles (AgNPs) on plant growth under environmental stresses is still not fully understood. Two experiments were conducted on the response of Asiatic lilies to treatment with colloidal AgNPs. In Experiment I, the study aimed to evaluate the effect of treating 'Osasco' lily bulbs with colloidal AgNPs (0, 25, 50, 100, and 150 ppm) on growth, flowering, and bulb yield, as well as the production of bulblets. Compared with the control, the applied colloidal AgNPs at all concentrations caused an acceleration of flowering and an increase in bulb diameter and the fresh weight of the aboveground part of the plants and bulbs. In addition, treatment with colloidal AgNPs at concentrations of 100 and 150 ppm increased bulblets' number and fresh weight. In Experiment II, the effects of colloidal AgNPs (100 ppm) and NaCl stress (600 mM) on the growth parameters, assimilation pigment content, and chemical composition of 'Bright Pixi' lily leaves were evaluated. As a result of the application of colloidal AgNPs, plants flowered faster and had increased height, petal width, fresh bulb weight, bulb diameter, and several scales in the bulb. Under NaCl stress, plants had reduced fresh weight of the aboveground part and bulb, bulb diameter, number of scales in a bulb, and contents of assimilation pigments, N, K, Ca, Cu, Mn and Zn. Colloidal AgNPs offset the adverse effects of salinity on bulb yield by increasing fresh bulb, bulb diameter, and the number of scales in lily bulbs. In conclusion, using colloidal AgNPs can contribute to developing new methods of bulbous plants production and an effective strategy to protect plants from ever-increasing land salinization.

**Keywords:** nanomaterials, environmental stress, soil salinity, plant growth, colloidal silver.

### INTRODUCTION

Nanotechnology deals with the fabrication, design, and modification of nanoscale structures having at least one dimension smaller than 100 nm (Fincheira et al., 2021). Nanoparticles and nanomaterials are distinguished by unique physical, chemical, and biological properties due to their relatively low mass, large surface area relative to volume, quantum effect, enhanced adsorption and absorption capacity, and tendency to agglomerate rapidly (Wang et al., 2017). According to the Global Market Trajectory & Analytics Research and Markets Ltd. 2021 report, market demand for nanotechnology products is worth \$42.2 billion and is estimated to reach \$70.7 billion by

the end of 2026 (GMTAR 2023). Currently, approximately 1,300 nanoscale materials are available in a free state or as an aggregate or agglomerate. In agriculture and horticulture, nanomaterials are used in plant biotechnology, in producing fertilizers and plant protection products, and in storing and marketing agricultural products and food (Wang et al., 2016; Yashwant et al., 2022). However, the use of nanoparticles in agronomy compared to other branches is still small. Of the approximately 29,000 patents in nanotechnology granted worldwide, only 500 of them relate to agriculture and nutrition. Therefore, it is expedient to conduct research and development on a larger scale using nanoparticles in crop production (Yadav et al., 2019).



Silver nanoparticles (AgNPs) are various industries' most widely used nanomaterials. AgNPs are clusters of metallic silver Ag atoms, generally smaller than 100 nm and containing 20,000 to 15,000 silver atoms. It is estimated that AgNPs contain almost a quarter of all nanotechnology products (Yaqoob et al., 2020). AgNPs have well-documented bactericidal and fungicidal properties (Crisan et al., 2021). AgNPs are used in in vitro propagation, protection, fertilization, flower shelf life extension, and cut greens in horticulture. AgNPs exhibit a broad spectrum of biological activity and can affect plant growth and development (Byczyńska et al., 2019; Rana et al., 2021). However, the effect of AgNPs on plants is uneven and can be positive or negative (Cvjetko et al., 2017; Guzmán-Báez et al., 2021). AgNPs have been shown to have stimulatory or inhibitory effects on seed germination, plant organ development, flowering, water management, chlorophyll content, biomass, and plant yield. Individual species and even plant varieties differ in their response to AgNPs (Anjum et al., 2013; Byczyńska et al., 2019; Rana et al., 2021; Chen et al., 2023). Most experiments on the effects of AgNPs on plants are conducted under laboratory conditions, often in vitro, in phytotrons, on a small sample of plants, unaffected by environmental factors (Siddiqi and Husen, 2022). Among the few studies, there are such in which the effects of AgNPs on plant growth are evaluated under production conditions (Salachna et al., 2019). Additionally, plant responses' long-term effects to AgNPs are poorly understood.

Lilies (*Lilium* spp.) are ornamental, edible, and medicinal plants that have accompanied humans since ancient times (Zhou et al., 2021). Asiatic hybrids are the most crucial group of lilies in large-scale production for cut flowers and potted plants. These lilies have versatile uses in horticulture, so there is a high demand for their bulbs and new cultivation technologies. On a mass scale, lilies are propagated vegetatively from bulb scales (Tang et al., 2020). The formation process and yield of bulblets are mainly influenced by environmental factors, growth regulators, and biostimulants (Sochacki et al., 2018; Gioi et al., 2019; Li et al., 2023).

In cultivating lilies and other crops, soil salinity is an increasingly severe problem. Currently, up to 20% of all cultivated land is saline, and global climate change means the areas affected by excessive salinity are increasing (Butcher et al., 2016; Isayenkov and Maathuis 2019). Few

studies on lilies indicate that excessive salinity can lead to stunted growth, decreased biomass, and a marked reduction in flower quality (Ayad et al., 2019; Kang et al., 2021). The effect of salinity on lily bulb yield is far less well understood.

Recently, there has been emerging evidence that nanoparticles, due to their unique properties, can increase the tolerance of plants under abiotic stress conditions (Zhao et al., 2020; Zulfiqar and Ashraf, 2021). To date, no studies have described nanoparticles' effect on lily growth under extreme salinity conditions. This research evaluated colloidal AgNPs as a potential source of biostimulatory factors in cultivating Asian lily cultivars under both normal and saline conditions. The study aimed to determine the effects of colloidal AgNPs on (i) the growth, flowering, and bulb yield; (ii) the regeneration potential and yield of bulblets; and (iii) the growth and yield of lily bulbs grown under saline stress. It was hypothesized that colloidal AgNPs have long-term effects on the growth and yield of lily bulbs and alleviate salinity stress.

## MATERIALS AND METHODS

Two experiments were conducted at the West Pomeranian University of Technology in Szczecin (lat. 53°26'17" N, long. 14°32'32" E). Commercially available colloidal AgNPs (Sigma–Aldrich) of size 7 to 25 nm were used. Bulbs of two Asiatic hybrid lily varieties recommended for potting were used in the study: 'Osasco' with an average circumference of 14.6 cm from Ogrodnictwo Wiśniewski Jacek Junior (Poland) and 'Bright Pixi' with an average circumference of 12.9 cm from Benex (Poland). The bulbs were planted into plastic pots of 16 cm diameter and 2 dm<sup>3</sup> capacity into TS1 medium with pH 6.4, an electrical conductivity (EC) of 0.54 mS cm<sup>-1</sup> and the following composition (mg dm<sup>-3</sup>): N -NO<sub>3</sub> - 182; P - 131, K - 402, Ca - 1646, Mg - 172, Cl - 18. Plants were grown in 2015. (experiment 1) and 2016. (Experiment 2) from mid-March to mid-July under natural photoperiod conditions in an unheated plastic tunnel, where the vents opened when the air temperature exceeded 20 °C.

### Experiment 1

'Osasco' lily bulbs were soaked for 1 h in AgNP solutions of 0 (control), 25, 50, 100, and 150 ppm before planting. Deionized water was

used to prepare the solutions. After 24 h, the dried bulbs were planted individually into pots. There were 20 bulbs in each variant, 5 in repetition. The number of days from planting the bulbs to the beginning and end of the flowering of the plants was calculated. The beginning of flowering was set as the development of the first flower on the plant. The moment when the petals fell off at the last flower on the plant was taken as the end of flowering. Plant height and petal length were determined when the first flower was developed. Leaves and flowers were counted, and the fresh weight of plants and bulbs was determined.

The dug bulbs 4 weeks after flowering were used for propagation by scales. For this purpose, 4 mother bulbs from each variant (0, 25, 50, 100, and 150 ppm colloidal AgNPs) were divided into scales. All scales from a single bulb were repeated (an average of 52.1 scales per bulb). Scales from individual bulbs were placed separately in 2 l plastic bags filled with the moist substrate (50% acid peat and 50% perlite). The bags with the substrate mixed with the scales were stored in the dark at 20–22 °C for 12 weeks and then at 3–5 °C for 16 weeks under high relative humidity (RH > 90%). After this period, the number of bulblets formed on the scales from one bulb and the fresh weight of total bulblets was determined using a balance with a reading accuracy of 0.001 g. Their percentage yield structure was calculated based on the results obtained for the fresh weight of individual bulblets.

## Experiment 2

The following treatments were applied to ‘Bright Pixi’ lilies: (i) control - untreated plants, (ii) bulbs soaked before planting in a solution of 100 ppm colloidal AgNPs, (iii) plants watered with 600 mM NaCl solution, and (iv) bulbs soaked before planting in a solution of 100 ppm colloidal AgNPs and plants watered with 600 mM NaCl solution. In each experimental variant, 20 bulbs were planted, 5 in each repetition. Bulbs in the colloidal AgNP solution were soaked for 1 h. Watering the plants with 600 mM NaCl solution with electrolytic conductivity (EC) = 2.32 mS cm<sup>-1</sup> was started 35 days after planting the bulbs during the vegetative stage. Salting was carried out thrice, every 5 days, using 100 ml of NaCl solution for each plant. Nonsalted plants were watered with tap water with an EC of 0.25 mS cm<sup>-1</sup>. The concentration of 100 ppm colloidal AgNPs

was chosen based on the results of experiment 1, where bulb quality was best at this concentration. The concentration of 600 mM NaCl was chosen based on the preliminary experiment, where an apparent adverse effect on the biomass of lily plants was shown at this concentration. Measurements of morphological characteristics were carried out analogously to experiment 1. Fresh leaves collected from the middle part of the plants at the flowering stage were used for analysis. The assimilation pigment content was determined using a SPEKOL 11 spectrophotometer (Carl Zeiss Jena, Jena, Germany) in fresh leaves according to the method described in an earlier paper (Salachna et al., 2019). Macro (P, K, Ca, Mg, Na) and micronutrient (B, Cu, Fe, Mn, Zn) contents were determined in dried (48 hours, 60 °C) and ground leaves using inductively coupled plasma–optical emission spectrometry (ICP–OES) with the Optima 2000 DV sequential spectrometer (Perkin-Elmer, Boston, MA, USA). Nitrogen content was determined by the Kjeldahl method (the Kjeldahl apparatus Vapodest, Königswinter, Germany). Analyses were performed according to the methods (Zawadzińska et al., 2022). The assimilation pigment and mineral contents were determined in 3 replicates.

The experiments were set up in a random sub-block design. The results were verified by analysis of variance (ANOVA) for a single classification. The classification factor for experiment 1 was the level of colloidal AgNPs (0, 25, 50, 100, and 150 ppm), and for the second experiment, four treatments (control, AgNPs, NaCl stress, and AgNPs + NaCl stress) were used. Before proceeding to the variance analysis, the variances’ homogeneity and normality of the distributions were checked. The Tukey HSD test was used to compare means. The Excel spreadsheet and TIBCO Statistica™ Professional 13.3.0 software package (TIBCO Software, USA) were used for statistical analysis.

## RESULTS

Table 1 shows the effect of soaking bulbs before planting in a solution of colloidal AgNPs on the growth and morphological parameters of ‘Osasco’ lilies. The application of colloidal AgNPs at concentrations of 25, 50, 100, and 150 ppm accelerated the flowering of plants by 3.1, 4.8, 5.5, and 5.8 days, respectively, compared to control plants. It was shown that plants from

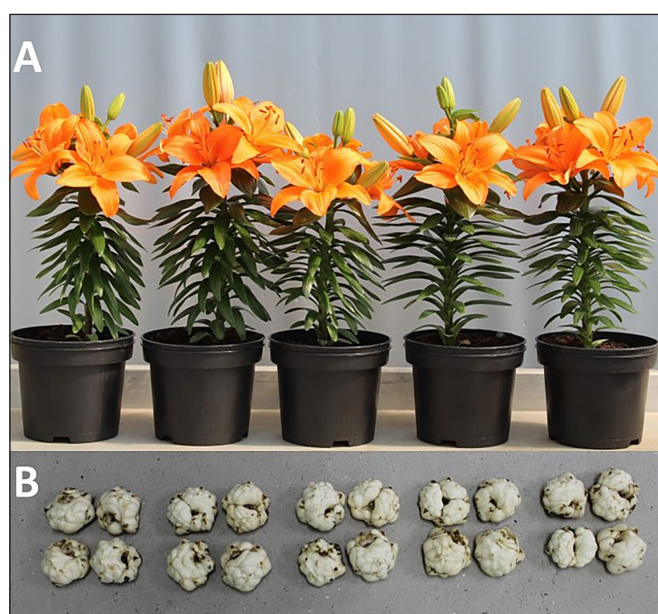
bulbs treated with colloidal AgNPs flowered slightly longer. The most extended flowering period (21.8 days) was characterized by lilies treated with 150 ppm AgNPs. None of the four colloidal AgNP concentrations caused a significant difference compared to the control for plant height, number of flowers, petal length, and width. Treatment with colloidal AgNPs at all concentrations increased the fresh weight of the above-ground parts of the plants from 21.5% to 32.0% and the fresh weight of the bulbs from 36.3% to 64.0% compared to the control. Applying colloidal AgNPs also significantly increased the bulb diameter from 19.9% to 22.0%. Plants treated

with colloidal AgNPs at a concentration of 100 ppm had the highest fresh weight of aboveground and bulb parts, bulb diameter, and the number of scales in the bulb. No signs of colloidal AgNP-induced phytotoxicity were observed on leaves, flowers, and bulbs (Figure 1).

‘Osasco’ lily scales formed bulblets with adventitious roots at the base of the adaxial and abaxial parts of the scales (Figure 2). There was a significant effect of colloidal AgNPs on the number and total fresh weight of bulblets (Figures 2, 3). Scales from parent bulbs treated with colloidal AgNPs at 100 and 150 ppm yielded more bulblets by 15.1 and 23.6%, respectively, which at the

**Table 1.** Effect of AgNPs on days to anthesis (DA), flower longevity (FL), flower number (FN), tepal length (TL), tepal width (TW), plant height (PH), above-ground part fresh weight (AGPFW), bulb fresh weight (BFW), scales number (SN), and bulb diameter (BD) of lily ‘Osasco’ plants. Values for each parameter followed by differing letters are significantly different at  $p \leq 0.05$  (ANOVA and Tukey’s test)

Traits	AgNPs concentration				
	Control	25 ppm	50 ppm	100 ppm	150 ppm
DA (days)	90.3 ± 2.00 a	87.2 ± 1.15 b	85.5 ± 1.08 b	84.8 ± 0.50 b	84.5 ± 2.25 b
FL (days)	17.6 ± 1.39 b	19.2 ± 1.71 ab	20.0 ± 1.34 ab	18.9 ± 0.39 ab	21.8 ± 1.52 a
FN	7.63 ± 0.48 a	7.50 ± 1.08 a	8.50 ± 1.78 a	8.50 ± 0.41 a	8.13 ± 0.25 a
TL (cm)	7.48 ± 0.09 a	7.65 ± 0.24 a	7.53 ± 0.17 a	7.49 ± 0.17 a	7.64 ± 0.49 a
TW (cm)	4.79 ± 0.14 a	4.84 ± 0.24 a	4.65 ± 0.34 a	4.69 ± 0.14 a	4.88 ± 0.25 a
PH (cm)	33.5 ± 0.76 a	34.4 ± 0.80 a	33.9 ± 0.78 a	33.8 ± 0.88 a	34.7 ± 1.75 a
AGPFW (g)	78.7 ± 5.19 c	95.6 ± 4.66 b	101 ± 7.95 ab	104 ± 11.6 a	103 ± 3.99 a
BFW (g)	30.0 ± 1.10 c	41.4 ± 5.03 ab	42.8 ± 2.44 ab	49.2 ± 6.90 a	40.9 ± 3.16 b
SN	47.2 ± 1.26 b	54.0 ± 3.46 ab	51.2 ± 2.02 ab	58.0 ± 4.54 a	50.2 ± 5.57 b
BD (mm)	46.3 ± 1.40 b	56.3 ± 3.44 a	56.5 ± 4.47 a	57.1 ± 4.24 a	55.5 ± 2.45 a



**Figure 1.** Appearance of flowering plants (A) and parent bulb (B) of lily ‘Osasco’ treated with colloidal AgNPs: from left 0 (control), 25, 50, 100, and 150 ppm AgNPs



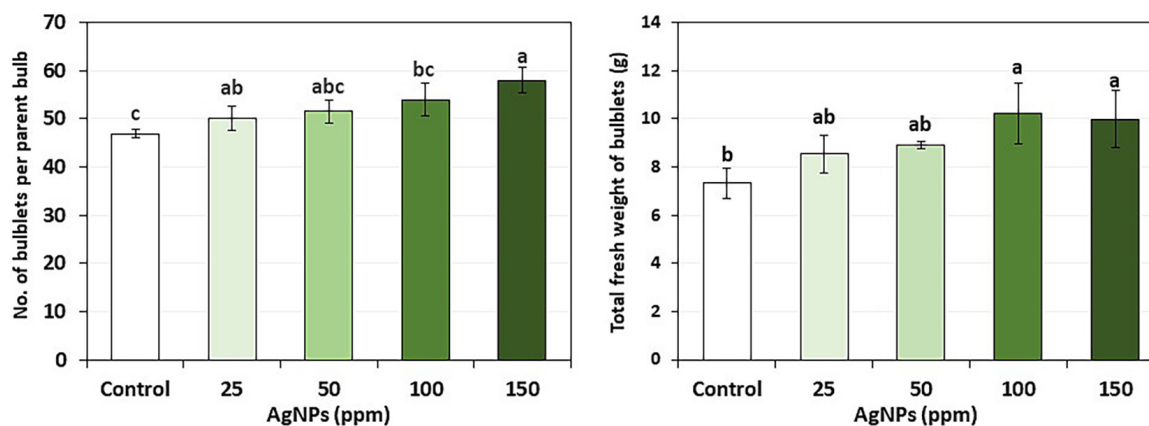
same time had increased fresh weight by 39.6 and 36.5% compared to the control. Analysis of the yield structure of bulblets (Figure 4) shows that bulblets with a weight of 0.01-0.20 g accounted for the largest share in each variant. The highest proportion of bulblets weighing 0.01-0.20 g was observed in the control (79.3%), and the lowest

proportion was observed in the 25 ppm colloidal AgNP variant (54.8%).

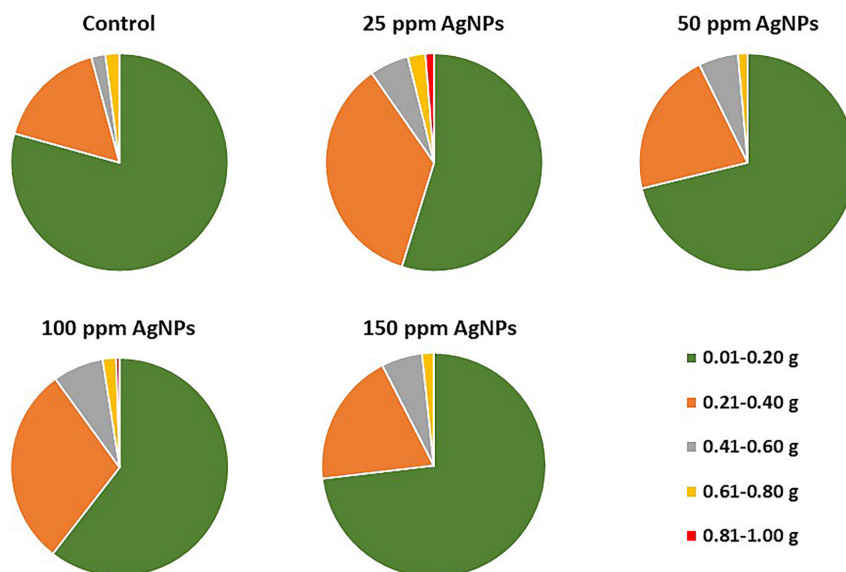
The application of colloidal AgNPs for bulb soaking positively affected most of the evaluated morphological traits of ‘Bright Pixi’ lilies (Table 2). As a result of the application of colloidal AgNPs, plants flowered faster by 3.3 days



**Figure 2.** Formation of bulblets on ‘Osasco’ lily scales (A); Yield of bulblets obtained from bulb scales soaked in a solution of colloidal AgNPs: from left 0 (control), 25, 50, 100 and 150 ppm AgNPs (B)



**Figure 3.** Number of bulblets (A) and fresh weight (FW) of total bulblets produced by scales from one parent bulb (B) treated with colloidal AgNPs. Data are mean ± SD. Different letters above the error bars indicate significant differences for  $p < 0.05$



**Figure 4.** Percentage of bulblets with different fresh weights depending on treatment with colloidal AgNPs

and had increased height (by 8.0%), petal width (13.5%), fresh bulb weight (13.9%), bulb diameter (14.3%) and the number of scales in the bulb (12.3%) compared to plants not treated with colloidal AgNPs. NaCl stress caused a slight delay in flowering and shortened flowering length, as well as a slight reduction in flower petal length and plant height. A much stronger negative effect of NaCl stress was shown by analyzing biomass and bulb yield data. As a result of NaCl stress, plants had reduced fresh weight of the aboveground part (by 36.5%), fresh weight of bulbs (32.5%), bulb diameter (13.0%), and the number of scales in the bulb (40.8%) compared to nonsalted plants. Plants treated with colloidal AgNPs under NaCl stress conditions had a similar number of days to flowering, number of flowers, petal length and width, and fresh weight of the aboveground part compared to NaCl-only plants. Nevertheless, using colloidal AgNPs reduced the harmful effects of NaCl stress on plant height and bulb quality. Plants treated with both colloidal AgNPs and NaCl were characterized by increased height (by 7.6%), fresh bulb weight (42.3%), number

of scales per bulb (46.9%), and bulb diameter (13.7%) compared to NaCl-stressed plants.

The analyses show that applying colloidal AgNPs and NaCl stress significantly affected changes in the pigment content of ‘Bright Pixi’ lily leaves (Table 3). The highest amounts of Chl a, Chl b, Chl a+b, and Car were found in plants treated with AgNPs. Significantly lower amounts of Chl a, Chl b, Chl a+b, and Car were found in plants treated only with NaCl. Compared to the control, there was a marked decrease in nitrogen, potassium, and calcium in the leaves of plants treated only with NaCl (by 19.1%, 36.6%, and 25.1%, respectively) and in the leaves of plants treated with colloidal AgNPs and NaCl (by 21.3%, 29.9% and 20.9%) (Table 4). At the same time, it was shown that under the influence of salinity in the NaCl and colloidal AgNP + NaCl variants, there was a marked increase in Na content (by 4.1 times and 3.6 times, respectively). In the variants of colloidal NaCl stress, and colloidal AgNPs + NaCl stress, there was a decrease in Cu, Mn, and Zn content compared to untreated plants.

**Table 2.** Effect of AgNPs, NaCl stress and AgNPs + NaCl stress on days to anthesis (DA), flower longevity (FL), flower number (FN), tepal length (TL), tepal width (TW), plant height (PH), above-ground part fresh weight (AGPFW), bulb fresh weight (BFW), scales number (SN), and bulb diameter (BD) of lily ‘Bright Pixi’ plants. Values for each parameter followed by differing letters are significantly different at  $p \leq 0.05$  (ANOVA and Tukey’s test)

Traits	Treatments			
	Control	AgNPs	NaCl stress	AgNPs+NaCl stress
DA (days)	71.0 ± 1.00 a	67.7 ± 1.15 b	70.3 ± 1.53 ab	68.3 ± 1.15 ab
FL (days)	11.5 ± 0.50 bc	13.0 ± 0.00 a	10.7 ± 0.58 c	11.7 ± 0.58 b
FN	2.17 ± 0.29 a	2.50 ± 0.50 a	1.83 ± 0.29 a	1.83 ± 0.29 a
TL (cm)	7.18 ± 0.19 ab	7.58 ± 0.13 a	6.66 ± 0.14 b	6.68 ± 0.51 b
TW (cm)	3.92 ± 0.06 b	4.45 ± 0.13 a	3.79 ± 0.12 b	3.78 ± 0.06 b
PH (cm)	36.2 ± 0.29 bc	39.1 ± 1.66 a	35.4 ± 0.51 c	38.1 ± 0.38 ab
AGPFW (g)	31.2 ± 2.60 a	34.4 ± 2.46 a	19.8 ± 1.91 b	20.0 ± 1.65 b
BFW (g)	37.5 ± 1.5 b	42.7 ± 1.8 a	25.3 ± 2.2 c	36.0 ± 0.4 b
SN	65.9 ± 10.0 ab	74.0 ± 5.77 a	39.0 ± 6.25 c	57.3 ± 8.25 b
BD (mm)	53.8 ± 0.4 b	61.5 ± 5.3 a	46.8 ± 2.1 c	53.2 ± 3.0 b

**Table 3.** Effect of AgNPs, NaCl stress and AgNPs + NaCl stress on photosynthetic pigment concentrations (mg kg<sup>-1</sup> fresh weight) in leaves of lily ‘Bright Pixi’ plants. Values for each parameter followed by differing letters are significantly different at  $p \leq 0.05$  (ANOVA and Tukey’s test)

Traits	Treatments			
	Control	AgNPs	NaCl stress	AgNPs+NaCl stress
Chl a	718 ± 27.8 ab	850 ± 63.6 a	580 ± 4.10 c	607 ± 11.7 bc
Chl b	337 ± 26.9 ab	379 ± 20.9 a	275 ± 1.60 c	280 ± 2.20 bc
Chl a + b	1055 ± 54.7 ab	1228 ± 84.6 a	855 ± 5.70 c	887 ± 9.60 bc
Car	344 ± 13.4 ab	420 ± 34.3 a	282 ± 6.70 c	293 ± 3.50 bc

**Table 4.** Effect of AgNPs, NaCl stress and AgNPs + NaCl stress on macronutrient (% dry weight) and micronutrient (mg kg<sup>-1</sup> dry weight) concentrations in leaves of lily ‘Bright Pixi’ plants. Values for each parameter followed by differing letters are significantly different at  $p \leq 0.05$  (ANOVA and Tukey’s test)

Nutrient	Treatments			
	Control	AgNPs	NaCl stress	AgNPs+NaCl stress
N	2.72 ± 0.09 ab	2.85 ± 0.09 a	2.20 ± 0.06 b	2.14 ± 0.07 b
P	0.19 ± 0.03 a	0.19 ± 0.01 a	0.15 ± 0.02 a	0.17 ± 0.01 a
K	3.17 ± 0.01 a	3.20 ± 0.05 a	2.01 ± 0.03 b	2.22 ± 0.01 b
Ca	1.91 ± 0.08 a	2.18 ± 0.07 a	1.43 ± 0.04 b	1.51 ± 0.02 b
Mg	0.46 ± 0.01 a	0.47 ± 0.01 a	0.48 ± 0.02 a	0.46 ± 0.01 a
Na	0.18 ± 0.03 b	0.23 ± 0.05 b	0.74 ± 0.09 a	0.66 ± 0.02 a
B	89.2 ± 1.36 a	85.9 ± 3.33 a	87.7 ± 3.01 a	81.9 ± 4.66 a
Cu	2.72 ± 0.09 ab	2.85 ± 0.09 a	2.20 ± 0.06 b	2.14 ± 0.07 b
Fe	0.19 ± 0.03 a	0.19 ± 0.01 a	0.15 ± 0.02 a	0.17 ± 0.01 a
Mn	3.17 ± 0.01 a	3.20 ± 0.05 a	2.01 ± 0.03 b	2.22 ± 0.01 b
Zn	1.91 ± 0.08 a	2.18 ± 0.07 a	1.43 ± 0.04 b	1.51 ± 0.02 b

## DISCUSSION

Nanoparticles can affect plants’ growth and metabolic processes and, therefore, can be classified as a potential source of biostimulants. In the present study, soaking the bulbs of Asian lilies ‘Osasco’ and ‘Bright Pixi’ before planting in a solution of colloidal AgNPs induced mainly biostimulant effects on bulb yield. As a result of the application of colloidal AgNPs, lily bulbs had increased fresh weight, number of scales, and diameter. The results obtained confirm, in part, our previous studies, where under the influence of AgNPs at concentrations ranging from 25 to 150 ppm, oriental lilies ‘Mona Lisa’ and ‘Littel John’ had increased fresh bulb weight. Similarly, Alcac et al. (2022) showed a positive effect of soaking bulbs in AgNP solutions with concentrations of 50-150 ppm on the bulb yield of ‘Santander’ lilies. The favorable effects of better-quality lily bulbs may be due to the biostimulatory effect of colloidal AgNPs on the biosynthesis of assimilatory pigments, as demonstrated in Experiment 2. It is known that assimilatory pigments are one of the most important chemical compounds in plants affecting the intensity of photosynthesis and, consequently, biomass production (Simkin et al., 2022). The stimulating effect of AgNPs at 100 ppm on chlorophyll and carotenoid content was confirmed by previous studies (Salachna et al., 2019). The explanation for the beneficial effect of colloidal AgNPs on lily bulb yield observed in our study may also be the application method and the protective effect of silver against pathogens (Gupta et al., 2018). In most studies, AgNPs

are applied foliar or by watering the plants. Our previous study (Salachna et al., 2019) found that soaking lily bulbs in a solution of AgNPs was a more effective application method than watering or spraying. Therefore, the present study applied AgNPs by soaking lily bulbs. Compared to spraying the leaves or watering the plants, this treatment ensures limited penetration of AgNPs into the ecosystem, which is crucial in discussing the safety of nanoparticle application (Levard et al., 2012; León-Silva et al., 2016). The advantage of using AgNPs to treat seeds or bulbs is that the nanoparticles affect plants from the moment they start growing. Because silver compounds have bactericidal, fungicidal, and virucidal properties, plants treated with AgNPs are less susceptible to pathogens. Wojdyla et al. (2022) showed that treating *Hyacinthus orientalis* ‘Blue Pearl’ bulbs with a formulation containing a solution of hydrogen peroxide enriched with colloidal silver (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Ag<sup>+</sup>) significantly reduced fungal growth on the bulbs and in the growing medium. The cited authors also found that H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Ag<sup>+</sup> at 2–10% increased the leaf greening index and, depending on the concentration, the width of petals and inflorescences, number of flowers, length and length and width of leaves, and fresh and dry weight of hyacinth plants.

In the present study, colloidal AgNPs in both lily cultivars affected the time from bulb planting to the start of flowering. However, colloidal AgNPs were not observed to have a stimulating effect on flower number and petal length. In earlier studies, the Oriental lilies ‘Mona Lisa’ and ‘Little John’ had increased flower numbers due to AgNP

application (Salachna et al., 2019). The uneven effect of AgNPs on lily flower yield is perhaps related to the different responses of the genotype, the size of the nanoparticles, the influence of environmental factors, and the hormesis effect (Guzmán-Báez et al., 2021; Chen et al., 2023). According to many researchers, nanoparticles can stimulate plant growth at low doses and inhibit plant growth at high doses (Salachna et al., 2021; Chen et al., 2023).

Despite numerous studies on the issue of propagation of bulbous plants by scale, few works have addressed the effect of nanoparticles on the yield of bulblets. In our previous study (Byczyńska et al., 2018), we showed that soaking the scales of three lily cultivars (Little John', 'Mona Lisa' and 'Osasco') in a solution of AgNPs at a concentration of 25–100 ppm had a stimulating effect on the number of bulblets. Moreover, treatment of lily scales with AgNPs at a 25–150 ppm concentration increased the fresh weight of bulblets and their roots. In this study, we demonstrated for the first time that colloidal AgNPs can have a concentration-dependent long-term stimulating effect on the formation of bulblets on lily scales. Applying colloidal AgNPs at a concentration of 150 ppm was particularly beneficial, as most bulblets were obtained simultaneously and characterized by increased biomass. The beneficial effect of nanosilver at a concentration of 4 ppm added to the *in vitro* medium on bulblet formation from bulb scales was also demonstrated by Gioi et al. (2019), who propagated the OT lily 'Sorbonne'. The effect of AgNPs on the process of bulb formation may be related to the effect of AgNPs on plant hormones (Sun et al., 2017). While the biostimulatory effects of AgNPs on plants are increasingly understood, their mechanism remains unexplained.

We investigated the effects of a pre-plant application of colloidal AgNPs of lily bulbs before being grown under salt stress induced by NaCl. In general, NaCl stress negatively affected bulb biomass, yield, pigment, and mineral content. Similar detrimental effects of salinity (3 and 6 dS m<sup>-1</sup>) on the fresh weight of leaves and shoots were demonstrated in two Asian lilies, 'Fangio' and 'El Divo' (Ayad et al., 2019). Then, a marked reduction in chlorophyll content as a result of salinity (from 35 to 140 mM NaCl) was found in ten lily hybrids (Bai et al., 2021). The deleterious effects of salinity are mainly due to a decrease in water availability for plants, leading to inhibition of

cell length growth. In addition, excess Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> ions cause disturbances in the ion balance and affect the uptake of ions such as K<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup> (Salachna et al., 2016; Salachna et al., 2019). A study showed that AgNPs stimulated the growth of the fresh weight of bulbs and the number of scales in bulbs and positively affected the diameter of lily bulbs when applied under salt-stress conditions. It means that AgNPs effectively mitigated the adverse effects of salinity in lilies. The protective effect of colloidal AgNPs may also have been influenced by the antimicrobial effect of colloidal AgNPs protecting the bulbs from the beginning of growth. The plants grown from bulbs treated with colloidal AgNPs were most likely *a priori* prepared for possible environmental stress. This is because, according to recent discoveries, AgNPs can be a vaccine that induces stress/immune responses in plants, thereby increasing resistance to biotic and abiotic stresses (Yan et al., 2022). The results allow the development of technologies for producing lily bulbs and perhaps other plants on degraded, saline land using saline water for irrigation. Using AgNPs as a biostimulant to improve bulb yield without additional fertilizer can help reduce the use of high fertilizer doses that negatively impact the environment.

## CONCLUSIONS

In conclusion, colloidal AgNPs can be used to increase the quality of lily bulb yield and raise the efficiency of plant propagation through scales. Salinity stress in lily cultivation leads to a marked reduction in bulb yield. The application of AgNPs can mitigate its negative impact on the quality of lily bulbs. Given the concern for the environment and the insufficiently understood impact of nanoparticles on ecosystems and human health, further research should be conducted on the safety of AgNPs application.

## REFERENCES

1. Alkaç O.S., Öcalan O.N., Güneş M. 2022. Effect of Silver Nanoparticles Treatments on Some Characteristics of "Santander" Lily Cultivar. *TURJAF*, 10(2), 125–128.
2. Anjum N.A., Gill S.S., Duarte A.C., Pereira E., Ahmad I. 2013. Silver nanoparticles in soil–plant systems. *J. Nanopart. Res.*, 15, 1–26.



3. Available online: <https://www.globenewswire.com/news-release/2022/05/16/2444012/0/en/Global-Nanotechnology-Market-to-Reach-70-7-Billion-by-2026.html> (accessed on 25 March 2023)
4. Ayad J., Othman Y., Al Antary T. 2019. Irrigation water salinity and potassium enrichment influenced growth and flower quality of Asiatic lily. *Fresenius Environ. Bull.*, 28(11A), 8900–8905.
5. Bai R., Lin Y., Jiang Y. 2021. Diverse genotypic variations of photosynthetic capacity, transpiration and antioxidant enzymes of lily hybrids to increasing salinity stress. *Sci. Hortic.*, 280, 109939.
6. Butcher K., Wick A.F., DeSutter T., Chatterjee A., Harmon J. 2016. Soil salinity: A threat to global food security. *Agron. J.*, 108(6), 2189–2200.
7. Byczyńska A., Zawadzińska A., Salachna P. 2018. Effects of nano-silver on bulblet production from bulb scales of lily. *Propag. Ornam. Plants*, 18(3), 104–106.
8. Byczyńska A., Zawadzińska A., Salachna P. 2019. Silver nanoparticles preplant bulb soaking affects tulip production. *Acta Agric. Scand. B Soil Plant Sci.*, 69(3), 250–256.
9. Chen S., Yan X., Peralta-Videa J.R., Su Z., Hong J., Zhao L. 2023. Biological Effects of AgNPs on Crop Plants: Environmental Implications and Agriculture Applications. *Environ. Sci.: Nano*, 10, 62–71.
10. Crisan C.M., Mocan T., Manolea M., Lasca L.I., Tăbăran F.A., Mocan L. 2021. Review on silver nanoparticles as a novel class of antibacterial solutions. *Appl. Sci.*, 11(3), 1120.
11. Cvjetko P., Milošić A., Domijan A.M., Vrček I.V., Tolić S., Štefanić P.P., Letofsky-Papst I., Tkalec M., Balen B. 2017. Toxicity of silver ions and differently coated silver nanoparticles in *Allium cepa* roots. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 137, 18–28.
12. Fincheira P., Tortella G., Seabra A.B., Quiroz A., Diez M.C., Rubilar O. 2021. Nanotechnology advances for sustainable agriculture: current knowledge and prospects in plant growth modulation and nutrition. *Planta*, 254, 1–25.
13. Gioi D.H., Huong B.T.T., Luu N.T.B. 2019. The effects of different concentrations of nano silver on elimination of bacterial contaminations and stimulation of morphogenesis of Sorbonne lily in vitro culture. *Acta Hortic.*, 1237, 227–234.
14. Gupta N., Upadhyaya C.P., Singh A., Abd-El-salam K.A., Prasad R. 2018. Applications of silver nanoparticles in plant protection. *Nanobiotechnology applications in plant protection*, 247–265.
15. Guzmán-Báez G.A., Trejo-Téllez L.I., Ramírez-Olivera S.M., Salinas-Ruiz J., Bello-Bello J.J., Alcántar-González G., Hidalgo-Contreras J.V., Gómez-Merino F.C. 2021. Silver nanoparticles increase nitrogen, phosphorus, and potassium concentrations in leaves and stimulate root length and number of roots in tomato seedlings in a hormetic manner. *Dose-Response*, 19(4), 15593258211044576.
16. Isayenkov S.V., Maathuis F.J. 2019. Plant salinity stress: many unanswered questions remain. *Front. Plant Sci.*, 10, 80.
17. Kang Y.I., Choi Y.J., Lee Y.R., Seo K.H., Suh J.N., Lee H.R. 2021. Cut flower characteristics and growth traits under salt stress in lily cultivars. *Plants*, 10(7), 1435.
18. León-Silva S., Fernández-Luqueño F., López-Valdez F. 2016. Silver nanoparticles (AgNP) in the environment: a review of potential risks on human and environmental health. *Water Air Soil Pollut.*, 227(9), 306.
19. Levard C., Hotze E.M., Lowry G.V., Brown Jr, G.E. 2012. Environmental transformations of silver nanoparticles: impact on stability and toxicity. *Environ. Sci. Technol.*, 46(13), 6900–6914.
20. Li K., Ren H., Zhao W., Zhao X., Gan C. 2023. Factors affecting bulblet multiplication in bulbous plants. *Sci. Hortic.*, 312, 111837.
21. Rana R.A., Siddiqui M., Skalicky M., Brestic M., Hossain A., Kayesh E., Popov M., Hejnak V., Gupta D.R., Mahmud N.U., Islam T. 2021. Prospects of nanotechnology in improving the productivity and quality of horticultural crops. *Horticulturae*, 7(10), 332.
22. Salachna P., Byczyńska A., Zawadzińska A., Piechocki R., Mizielińska M. 2019. Stimulatory effect of silver nanoparticles on the growth and flowering of potted oriental lilies. *Agronomy*, 9(10), 610.
23. Salachna P., Grzeszczuk M., Meller E., Mizielińska M. 2019. Effects of gellan oligosaccharide and NaCl stress on growth, photosynthetic pigments, mineral composition, antioxidant capacity and antimicrobial activity in red perilla. *Molecules*, 24(21), 3925.
24. Salachna P., Mizielińska M., Płoszaj-Witkowska B., Jaszczak A. 2021. Zinc oxide nanoparticles enhanced biomass and zinc content and induced changes in biological properties of red *Perilla frutescens*. *Materials*, 14(20), 6182.
25. Salachna P., Zawadzińska A., Podsiadło C. 2016. Response of *Ornithogalum saundersiae* Bak. to salinity stress. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*, 15(1), 123–134.
26. Siddiqi K.S., Husen A. 2022. Plant response to silver nanoparticles: a critical review. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 42(7), 973–990.
27. Simkin A.J., Kapoor L., Doss C.G.P., Hofmann T.A., Lawson T., Ramamoorthy S. 2022. The role of photosynthesis related pigments in light harvesting, photoprotection and enhancement of photosynthetic yield in planta. *Photosynth. Res.*, 152(1), 23–42.
28. Sochacki D., Woźniak E., Marciniak P. 2018. The effect of selected factors on micropropagation efficacy



- and on the first bulb yield in *Hippeastrum × chmielii* Chm. and *H. hybridum* ‘Double Roma’. Propag. Orn. Plants, 18(3), 87–96.
29. Sun J., Wang L., Li S., Yin L., Huang J., Chen C. 2017. Toxicity of silver nanoparticles to Arabidopsis: Inhibition of root gravitropism by interfering with auxin pathway. Environ. Toxicol. Chem., 36, 2773–2780.
  30. Tang N., Ju X., Hu Y., Jia R., Tang D. 2020. Effects of Temperature and Plant Growth Regulators on the Scale Propagation of *Lilium davidii* var. unicolor. HortScience, 55(6), 870–875.
  31. Wang P., Lombi E., Sun S., Scheckel K.G., Malyshewa A., McKenna B.A., Menzies N.W, Zhao F.-J., Kopittke P.M. 2017. Characterizing the uptake, accumulation and toxicity of silver sulfide nanoparticles in plants. Environ. Sci., 4, 448–460.
  32. Wang P., Lombi E., Zhao F.J., Kopittke, P.M. 2016. Nanotechnology: a new opportunity in plant sciences. Trends Plant Sci., 21(8), 699–712.
  33. Wojdyła A.T., Nowak J.S., Bocianowski J., Wiśniewski J., Waszkiewicz E. 2022. Effect of Hyacinth Treatment by Hydrogen Peroxide Stabilized with Silver and Some Fungicides on the Fungal Infection of Substrate and Bulbs and on Plant Growth and Development. Agronomy, 12(11), 2894.
  34. Yadav S.K., Lal S., Yadav S., Laxman J., Verma B., Sushma M., Choudhary R., Singh P.K., Singh S.P., Sharma V. 2019. Use of nanotechnology in agri-food sectors and apprehensions: an overview. Seed Res., 47(2), 99–149.
  35. Yan X., Chen S., Pan Z., Zhao W., Rui Y., Zhao L. 2023. AgNPs-Triggered Seed Metabolic and Transcriptional Reprogramming Enhanced Rice Salt Tolerance and Blast Resistance. ACS Nano, 17(1), 492–504.
  36. Yaqoob A.A., Umar K., Ibrahim M.N.M. 2020. Silver nanoparticles: various methods of synthesis, size affecting factors and their potential applications—a review. Appl. Nanosci., 10, 1369–1378.
  37. Yashwant Y.S., Deepika D.C., Tansukh T.B. 2022. Impact of nanotechnology on environment and their role in agronomy and food stuffs production: an overview: role of nanotechnology in agronomy. Biomaterials, 1(2), 1–4.
  38. Zawadzińska A., Salachna P., Nowak J.S., Kowalczyk W., Piechocki R., Łopusiewicz Ł., Pietrak A. 2022. Compost based on pulp and paper mill sludge, fruit-vegetable waste, mushroom spent substrate and rye straw improves yield and nutritional value of tomato. Agronomy, 12(1), 13.
  39. Zhao L., Lu L., Wang A., Zhang H., Huang M., Wu H., Xing B., Wang Z., Ji R. 2020. Nano-biotechnology in agriculture: use of nanomaterials to promote plant growth and stress tolerance. J. Agric. Food Chem., 68(7), 1935–1947.
  40. Zhou J., An R., Huang X. 2021. Genus *Lilium*: A review on traditional uses, phytochemistry and pharmacology. J. Ethnopharmacol., 270, 113852.
  41. Zulfiqar F., Ashraf M. 2021. Nanoparticles potentially mediate salt stress tolerance in plants. Plant Physiol. Biochem., 160, 257–268.

Szczecin, 9.05.2023 r.

**Mgr inż. Andżelika Byczyńska**

Katedra Ogrodnictwa

Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

ul. Słowackiego 17

71-434 Szczecin

### OŚWIADCZENIE WSPÓLAUTORA

Oświadczam, że w pracy „**Byczyńska A.**, Zawadzińska A., Salachna P. 2019. Silver Nanoparticles preplant bulb soaking affects tulip production. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science, 69(3), 250–256, doi: 10.1080/09064710.2018.1545863”

mój udział polegał na współautorstwie koncepcji badań, prowadzeniu nadzoru nad przebiegiem eksperymentu, zebraniu wyników i opracowaniu statystycznym, napisaniu manuskryptu i finalnej korekcie manuskryptu po recenzji, co określam jako **70%** wkładu w przygotowanie ww. publikacji.

**Procentowy udział wszystkich współautorów w publikacji: Byczyńska A. 70%; Zawadzińska A. 15%; Salachna P. 15%.**

Oświadczam, że: w pracy „Salachna P., **Byczyńska A.**, Zawadzińska A., Piechocki R., Mizieleńska M. 2019. Stimulatory effect of silver nanoparticles on the growth and flowering of potted oriental lilies. Agronomy, 9, 610, doi:10.3390/agronomy9100610”

mój udział polegał na współautorstwie koncepcji i zaplanowaniu eksperymentu, prowadzeniu nadzoru nad przebiegiem eksperymentu, zebraniu wyników, opracowaniu statystycznym wyników i napisaniu manuskryptu, co określam jako **60%** wkładu w przygotowanie ww. publikacji.

**Procentowy udział wszystkich współautorów w publikacji: Byczyńska A. 60%; Salachna P. 15%; Zawadzińska A. 15%; Piechocki R. 5%; Mizieleńska M. 5%.**

Oświadczam, że w pracy: „Byczyńska A., Zawadzińska A., **Salachna P.** 2018. Effects of nano-silver on bulblet production from bulb scales of Lilium. Propagation of Ornamental Plants, 18(3), 104–106”

mój udział polegał na współautorstwie koncepcji i zaplanowaniu eksperymentu, przeprowadzeniu eksperymentu, zebraniu wyników i napisaniu manuskryptu, co określam jako **70%** wkładu w przygotowanie ww. publikacji.

**Procentowy udział wszystkich współautorów w publikacji: Byczyńska A. 70%; Zawadzińska A. 15%; Salachna P. 15%.**

Oświadczam, że w pracy: „**Byczyńska A.**, Zawadzińska A., Salachna P. 2023. Colloidal Silver Nanoparticles Enhance Bulb Yield and Alleviate the Adverse Effect of Saline Stress on Lily Plants. Journal of Ecological Engineering, 24(6), 338–347, doi.org/10.12911/22998993/163173”

mój udział polegał na współautorstwie koncepcji i zaplanowaniu eksperymentu, prowadzeniu nadzoru nad przebiegiem eksperymentu, zebraniu wyników, opracowaniu statystycznym wyników i napisaniu manuskryptu, co określam jako **60%** wkładu w przygotowanie ww. publikacji.

**Procentowy udział wszystkich współautorów w publikacji: Byczyńska A. 60%; Zawadzińska A. 20%; Salachna P. 20%.**

podpis

Andżelika Byczyńska

Szczecin, 9.05.2023 r.

**Dr hab. inż. Agnieszka Zawadzińska, prof. ZUT**  
Katedra Ogrodnictwa  
Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa  
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie  
ul. Słowackiego 17  
71-434 Szczecin

### OŚWIADCZENIE WSPÓLAUTORA

Oświadczam, że w pracy „Byczyńska A., **Zawadzińska A.**, Salachna P. 2019. Silver Nanoparticles preplant bulb soaking affects tulip production. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science, 69(3), 250–256, doi: 10.1080/09064710.2018.1545863”

mój udział polegał na współautorstwie koncepcji badań oraz zebraniu i opracowaniu części wyników badań, co określam jako **15%** wkładu w przygotowanie ww. publikacji.

Oświadczam, że: w pracy „Salachna P., Byczyńska A., **Zawadzińska A.**, Piechocki R., Mizielińska M. 2019. Stimulatory effect of silver nanoparticles on the growth and flowering of potted oriental lilies. Agronomy, 9, 610, doi:10.3390/agronomy9100610”

mój udział polegał na współautorstwie koncepcji i zaplanowaniu eksperymentu, interpretacji części wyników badań, co określam jako **15%** wkładu w przygotowanie ww. publikacji.

Oświadczam, że w pracy: „Byczyńska A., **Zawadzińska A.**, Salachna P. 2018. Effects of nano-silver on bulblet production from bulb scales of Lilium. Propagation of Ornamental Plants, 18(3), 104–106”

mój udział polegał na współautorstwie koncepcji i zaplanowaniu eksperymentu i interpretacji części wyników badań, co określam jako **15%** wkładu w przygotowanie ww. publikacji.

Oświadczam, że w pracy: „Byczyńska A., **Zawadzińska A.**, Salachna P. 2023. Colloidal Silver Nanoparticles Enhance Bulb Yield and Alleviate the Adverse Effect of Saline Stress on Lily Plants. Journal of Ecological Engineering, 24(6), 338–347, doi.org/10.12911/22998993/163173”

mój udział polegał na współautorstwie koncepcji i zaplanowaniu eksperymentu, interpretacji części wyników pomiarów i finalnej korekcie manuskryptu, co określam jako **20%** wkładu w przygotowanie ww. publikacji.

Jednocześnie wyrażam zgodę, na przedłożenie ww. prac przez mgr inż. Andżelikę Byczyńską, jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopiśmie naukowych.

Podpis



Szczecin, 9.05.2023 r.

**Dr hab. inż. Piotr Salachna, prof. ZUT**

Katedra Ogrodnictwa

Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

ul. Słowackiego 17

71-434 Szczecin

### OŚWIADCZENIE WSPÓLAUTORA

Oświadczam, że w pracy „Byczyńska A., Zawadzińska A., **Salachna P.** 2019. Silver Nanoparticles preplant bulb soaking affects tulip production. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, 69(3), 250–256, doi: 10.1080/09064710.2018.1545863”

mój udział polegał na współautorstwie koncepcji badań, finalnej korekcie manuskryptu i pełnieniu funkcji autora korespondencyjnego, co określam jako **15%** wkładu w przygotowanie ww. publikacji.

Oświadczam, że: w pracy „**Salachna P.**, Byczyńska A., Zawadzińska A., Piechocki R., Mizielińska M. 2019. Stimulatory effect of silver nanoparticles on the growth and flowering of potted oriental lilies. *Agronomy*, 9, 610, doi:10.3390/agronomy9100610”

mój udział polegał na współautorstwie koncepcji i zaplanowaniu eksperymentu, interpretacji części wyników i pełnieniu funkcji autora korespondencyjnego, co określam jako **15%** wkładu w przygotowanie ww. publikacji.

Oświadczam, że w pracy: „Byczyńska A., Zawadzińska A., **Salachna P.** 2018. Effects of nano-silver on bulblet production from bulb scales of *Lilium*. *Propagation of Ornamental Plants*, 18(3), 104–106”

mój udział polegał na współautorstwie koncepcji i zaplanowaniu eksperymentu i interpretacji części wyników i finalnej korekcie manuskryptu, co określam jako **15%** wkładu w przygotowanie ww. publikacji.

Oświadczam, że w pracy: „Byczyńska A., Zawadzińska A., **Salachna P.** 2023. Colloidal Silver Nanoparticles Enhance Bulb Yield and Alleviate the Adverse Effect of Saline Stress on Lily Plants. *Journal of Ecological Engineering*, 24(6), 338–347, doi.org/10.12911/22998993/163173”

mój udział polegał na współautorstwie koncepcji i zaplanowaniu eksperymentu, interpretacji części wyników i finalnej korekcie manuskryptu, co określam jako **20%** wkładu w przygotowanie ww. publikacji.

Jednocześnie wyrażam zgodę, na przedłożenie ww. prac przez mgr inż. Andżelikę Byczyńską, jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopiśmie naukowych.

Podpis

Szczecin, 9.05.2023 r.

**Mgr inż. Rafał Piechocki**

Katedra Ogrodnictwa

Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

ul. Słowackiego 17

71-434 Szczecin

### OŚWIADCZENIE WSPÓLAUTORA

Oświadczam, że:

w pracy „Salachna P., Byczyńska A., Zawadzińska A., **Piechocki R.**, Mizelińska M. 2019. Stimulatory effect of silver nanoparticles on the growth and flowering of potted oriental lilies. *Agronomy*, 9, 610, doi:10.3390/agronomy9100610”,

mój udział polegał na zebraniu i interpretacji części wyników pomiarów, co określam jako **5%** wkładu w przygotowanie ww. publikacji.

Jednocześnie wyrażam zgodę, na przedłożenie ww. pracy przez mgr inż. Andżelikę Byczyńską, jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.



podpis

Szczecin, 9.05.2023 r.

**Dr hab. Małgorzata Mizielińska, prof. ZUT**

Centrum Bioimmobilizacji i Innowacyjnych Materiałów Opakowaniowych  
Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa  
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie  
ul. Klemensa Janickiego 35  
71-270 Szczecin

### OŚWIADCZENIE WSPÓLAUTORA

Oświadczam, że:

w pracy „Salachna P., Byczyńska A., Zawadzińska A., Piechocki R., **Mizielińska M.** 2019. Stimulatory effect of silver nanoparticles on the growth and flowering of potted oriental lilies. *Agronomy*, 9, 610, doi:10.3390/agronomy9100610”,

mój udział polegał na zebraniu wyników i interpretacji analizy FTIR oraz na finalnej korekcie manuskryptu, co określam jako **5%** wkładu w przygotowanie ww. publikacji.

Jednocześnie wyrażam zgodę, na przedłożenie ww. pracy przez mgr inż. Andżelikę Byczyńską jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopiśmie naukowych.

Podpis

