

Síntesis química de nanopartículas de óxido de zinc y su evaluación en plántulas de *Lactuca sativa*

Alma Patricia Galindo-Guzmán¹
Manuel Fortis-Hernández¹
Claudia Verónica De La Rosa-Reta¹
Héctor Zermeño-González¹
Magdalena Galindo-Guzmán^{2§}

¹Doctorado en Ciencias en Agua y Suelo-Tecnológico Nacional de México-Campus Instituto Tecnológico de Torreón. Carretera Torreón-San Pedro km 7.5, ejido Ana, Torreón, Coahuila, México. CP. 27170. (galindo@live.com; fortismanuel@hotmail.com; veronicadelarosa24@gmail.com; zermegon@yahoo.com.mx). ²Universidad Politécnica de la Región Laguna. Calle sin nombre, sin número, ejido Santa Teresa, San Pedro de las Colonias, Coahuila, México. CP. 27942.

§Autora para correspondencia: magda.galindo@uprl.edu.mx.

Resumen

En la actualidad existen investigaciones sobre los diferentes efectos de nanomateriales en la agricultura para mejorar la germinación y la productividad de los cultivos, con la finalidad de garantizar la sostenibilidad económica y el uso eficiente de los recursos de producción en la agricultura. Las nanopartículas de ZnO aplicadas en este estudio fueron sintetizadas por un método de precipitación química y su caracterización se realizó por (XRD), (SEM), espectroscopía UV-visible y (FTIR). Se determinó el efecto sobre la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) por medio de un diseño completamente al azar con cinco tratamientos de NPs-ZnO y un tratamiento control cada uno con cuatro repeticiones. Se midieron índices fisiológicos, se cuantificó el contenido de clorofila y carotenoides, y el contenido de compuestos fenólicos en las plántulas de lechuga. Los resultados indican que aplicando dosis de 50 mg L⁻¹ NPs-ZnO, se lograron mayores valores del porcentaje de germinación (36.97%), peso fresco de plúmula (23.91%), peso fresco de radícula (63.25%) y longitud de radícula (50.58%) respecto a los grupos control. Asimismo, se incrementó el contenido de fenoles totales (207.9%). Dosis superiores a 125 mg L⁻¹ NPs-ZnO disminuyen el contenido de clorofila, causando efectos fitotóxicos en las plántulas de *L. sativa*. En cuanto al contenido de carotenoides el mejor tratamiento fue de 100 mg L⁻¹ NPs-ZnO. El uso de NPs-ZnO sintetizadas a través de un método de precipitación química es una buena alternativa para ser utilizadas como inductores en la biosíntesis de compuestos bioactivos en plántulas de lechuga.

Palabras clave: *Lactuca sativa*, nanotecnología, toxicidad.

Recibido: junio de 2022

Aceptado: agosto de 2022

Introducción

La nanotecnología ha ganado una gran atención con el tiempo y promueve la aplicación de nanopartículas en una amplia gama de campos de la industria agrícola. Las nanopartículas (NPs) tienen un tamaño promedio <100 nm y se componen de carbono, metal, óxidos metálicos o materia orgánica (Hasan, 2015). Se pueden sintetizar por métodos, como el método sol-gel, deposición química de vapor, precipitación, descomposición térmica o síntesis hidrotermal (Salama *et al.*, 2019).

El tamaño de estos materiales permite que manifiesten propiedades físicas, químicas y biológicas diferentes a las del mismo material con tamaños de partícula mayores, debido principalmente a dos razones: las nanopartículas poseen mayor superficie específica por unidad de volumen y por tanto mayor reactividad (Ealia y Saravanakumar, 2017).

Las nanopartículas de óxido de zinc (NPs-ZnO) por sus propiedades opto-eléctricas, físicas y antimicrobianas presentan efectos positivos en las plantas (Faizan *et al.*, 2020). Varios estudios sugieren que las NPs-ZnO tienen la capacidad de mejorar el crecimiento en diferentes especies de plantas. En la germinación de semillas aumenta con la aplicación de NPs-ZnO en concentraciones bajas; sin embargo, en concentraciones altas sucede un efecto negativo en la germinación (Raskar y Laware, 2014; Afrayeem y Chaurasia, 2017). Por ejemplo, Lin y Xing. (2007) encontraron que la aplicación de dosis altas de NPs-ZnO $>2\ 000$ mg L⁻¹ inhibían la germinación de semillas de *Lolium perenne*. Dhoke *et al.* (2013) observó que las NPs-ZnO, como fertilizante de micronutrientes, mejoraron el crecimiento de plántulas de *Vigna radiata* y *Cicer arietinum* a concentraciones bajas en rangos de 1-20 mg L⁻¹.

La lechuga (*Lactuca sativa*) pertenece a la familia de las Asteráceas, y es uno de los principales cultivos del mundo considerada como la verdura de hoja más importante y conocida como la verdura fresca cortada más común (Abdalla *et al.*, 2021). Con base a lo anteriormente descrito, el objetivo de este estudio fue sintetizar y caracterizar nanopartículas de ZnO por un método convencional de precipitación química controlada, así mismo, evaluar el efecto de estas nanopartículas en la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*).

Materiales y métodos

El presente estudio fue desarrollado en la Universidad Politécnica de la Región Laguna, México. Localizada a una latitud 25° 46' 59.8" latitud norte, 103° 11' 30.1" longitud oeste.

Síntesis de nanopartículas de ZnO

Se sintetizaron mediante una modificación del método descrito por Aquino *et al.* (2018). Se utilizó acetato de zinc Zn(CH₃COO)₂ como precursor y la producción de nanopartículas consistió en una precipitación controlada con NaOH. Se disolvió NaOH 0.1 M en 250 ml bajo agitación constante y a una temperatura de 70 °C en una parrilla de calentamiento con agitación magnética Labnet. Luego de obtener la temperatura deseada se añadieron 25 ml de Zn(CH₃COO)₂ 0.5 M gota por gota con calentamiento y se continuó agitando durante 2 h. Se obtuvo una solución de color blanco. Este compuesto se filtró y se lavó varias veces con agua desionizada para eliminar cualquier impureza.

Se secó en una estufa a una temperatura de 70 °C durante 24 h. La muestra se llevó a calcinación a una temperatura de 500 °C por 3 h en una mufla Novatech MD-12-ESP. El polvo blanco resultante se trituró con un mortero para obtener NPs-ZnO.

Caracterización de nanopartículas de ZnO

Las NPs-ZnO sintetizadas se caracterizaron por medio de diversas técnicas analíticas que incluyen difracción de rayos X (XRD), microscopía electrónica de barrido (SEM), espectroscopía UV-visible y espectroscopía infrarroja transformada de Fourier (FTIR). El análisis XRD se llevó a cabo en un difractor de rayos-X PANalytical, Empyrean con radiación K_{α} de cobre con longitud de onda, $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ con el propósito de conocer la pureza de la muestra. El goniómetro se operó desde 5° hasta 90° en 2θ y la velocidad de barrido fue de 30 s con un paso de 0.026°. Las fases presentes se identificaron mediante las cartas de difracción ICSD (Inorganic Crystal Structure DataBase) y el software HighScore Plus.

Las imágenes para la determinación de la morfología superficial se realizaron con un microscopio electrónico de barrido TESCAN MIRA con emisión de campo FEG, la muestra se recubrió con oro-paladio mediante sputtering. Las propiedades ópticas de la muestra se estudiaron con un espectrofotómetro UV-visible Jenway 7305 utilizando agua como disolvente de referencia. El espectro FTIR se registró con un aparato Nicolet IR 100 Thermo Scientific en un intervalo de 4 000-400 cm usando la técnica de pastilla en KBr.

Prueba de germinación de semillas

Las pruebas se realizaron utilizando semillas de lechuga roja sangría (*Lactuca sativa*) de la compañía Rancho Los Molinos. Las semillas fueron desinfectadas con etanol al 75% durante 5 min y se lavaron con agua desionizada (Li *et al.*, 2019). Las pruebas de germinación se realizaron colocando 10 semillas por cada placa Petri de 90 mm de diámetro las cuales contenían papel filtro humedecido con 5 ml de cada solución preparada de NPs-ZnO.

Los tratamientos fueron divididos en: (control) agua desionizada, 25, 50, 75, 100 y 125 mg L⁻¹ de NPs-ZnO para probar cómo diferentes concentraciones pueden afectar la viabilidad de la semilla. Se prepararon cuatro réplicas por cada muestra respectivamente. Las placas Petri se sellaron con papel Parafilm y se colocaron en una cámara de crecimiento artificial Novatech CA-550 a 25 ± 2 °C con un ciclo día/noche de 12 h por un periodo de siete días (Liu *et al.*, 2016).

Medición de índices fisiológicos

Se realizó la medición de índices fisiológicos que incluye el vigor de semillas (%), el porcentaje de germinación (%), la longitud de la radícula (mm), peso fresco de plúmula y radícula (mg) (Li *et al.*, 2019). El peso fresco de la plúmula y la radícula se pesaron en una balanza analítica AND HR-250AZ y se reportó en miligramos por plúmula.

Porcentaje de germinación. Después de siete días, se registró el número total de semillas germinadas, y el resultado se expresó como se muestra en la siguiente ecuación: porcentaje de germinación = $\left(\frac{\text{número de semillas germinadas}}{\text{número de semillas incubadas}} \right) \times 100$).

Vigor de semillas. Al cuarto día después de la siembra, se realizó el primer conteo para la toma de datos de semillas germinadas (plántulas que tienen bien desarrolladas la radícula y la plúmula, con desarrollo total de 2 cm en promedio) (Ramírez-Rodríguez *et al.*, 2021). Para determinar el vigor de la semilla, expresando el resultado en porcentaje según la ecuación: vigor de semilla = $\left(\frac{\text{plántulas normales}}{\text{número de semillas incubadas}}\right) \times 100$ (2).

Determinación del contenido de clorofila (Chl) y carotenoides

Se determinó clorofila a (Chl_a) y b (Chl_b) y carotenoides (Car) después de la aparición de 3 a 4 hojas verdaderas a los 20 días del desarrollo de las plántulas por el método de Lichtenthaler y Wellburn (1983) suspendiendo 0.5 g de muestra fresca en 10 ml alcohol etílico al 95%. El homogeneizado se centrifugó a 1500 ×g durante 20 min y se recogió el sobrenadante. Luego se registraron las lecturas de absorbancia a 665, 649 y 470 nm en un espectrofotómetro UV-visible Jenway 7305. El contenido se reportó según las ecuaciones (Lichtenthaler y Wellburn, 1983): Chl_a = 13.95 A₆₆₅ - 6.88 A₆₄₉ (3); Chl_b = 24.96 A₆₄₉ - 7.32 A₆₆₅ (4); Car = (1 000 A₄₇₀ - 2.05 Chl_a - 114.8 Chl_b)/245 (5).

Contenido total de fenoles

Se mezclaron 2 g de muestra fresca (hojas verdaderas) en 10 ml de etanol al 80%, y se dejaron en agitación constante por 24 h a 70 rpm y 5 °C. El extracto fue centrifugado a 3 000 rpm durante 5 min y el sobrenadante fue extraído para los análisis (Salas-Pérez *et al.*, 2016). Los compuestos fenólicos totales se cuantificaron por el método de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999). Los resultados se reportaron en mg de ácido gálico equivalente por 100 g de peso fresco (mg equiv AG 100 g⁻¹ PF).

Análisis estadístico

El experimento se realizó mediante un diseño completamente al azar con seis tratamientos y cuatro repeticiones. La normalidad y la homogeneidad varianzas de los datos para cada variable de respuesta se verificó con la prueba de Bartlett y Kolmogorov-Smirnov. Los resultados obtenidos se analizaron mediante análisis de varianza y comparación de medias con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) utilizando el paquete estadístico Statistical Analysis System Institute (SAS) versión 9.4. Las variables que se reportan en porcentaje (vigor y germinación) se normalizaron aplicando la transformación de arcoseno y raíz cuadrada.

Resultados y discusión

Síntesis de nanopartículas de ZnO

La síntesis de las NPs-ZnO se llevó a cabo siguiendo el mecanismo de precipitación. El Zn(CH₃COO)₂ puede convertirse en Zn(OH)₂ coloidal bajo una solución alcalina (pH = 13-14). Durante el proceso hidrotérmico, parte del Zn(OH)₂ coloidal se disocia a Zn²⁺ y OH⁻. Cuando la concentración de Zn²⁺ y OH⁻ alcanzan el grado de súper saturación, se forman núcleos de ZnO (Aquino *et al.*, 2018). La calcinación a 500 °C favorece la formación del ZnO, además de la cristalización y el crecimiento de las nanopartículas.

Caracterización de nanopartículas de ZnO

De acuerdo con el difractograma obtenido mediante difracción de rayos X (Figura 1a) no se detectaron impurezas en este patrón, la muestra contiene solo óxido de zinc en su fase zincita, cuya estructura es hexagonal (ICSD, 98-005-7478), lo que implica que se obtuvieron NPs-ZnO puras.

Las micrografías SEM de las NPs-ZnO (Figura 1b) se exhibieron de manera muy uniforme presentando una morfología semiesférica y poligonal compatible con la naturaleza cristalina del ZnO, cuyo tamaño oscila entre 67.37 y 71.1 nm. Las propiedades ópticas de las NPs-ZnO estudiadas por espectroscopia UV-visible (Figura 1c) muestran un pico de absorción centrado en 378 nm, característico de la estructura hexagonal de ZnO. Las NPs-ZnO sintetizadas sometidas a FTIR (Figura 1d) indican los picos característicos del grupo funcional presente, se infiere que la primera banda se observa a partir de 400 a 500 cm^{-1} debido a las vibraciones del enlace Zn-O.

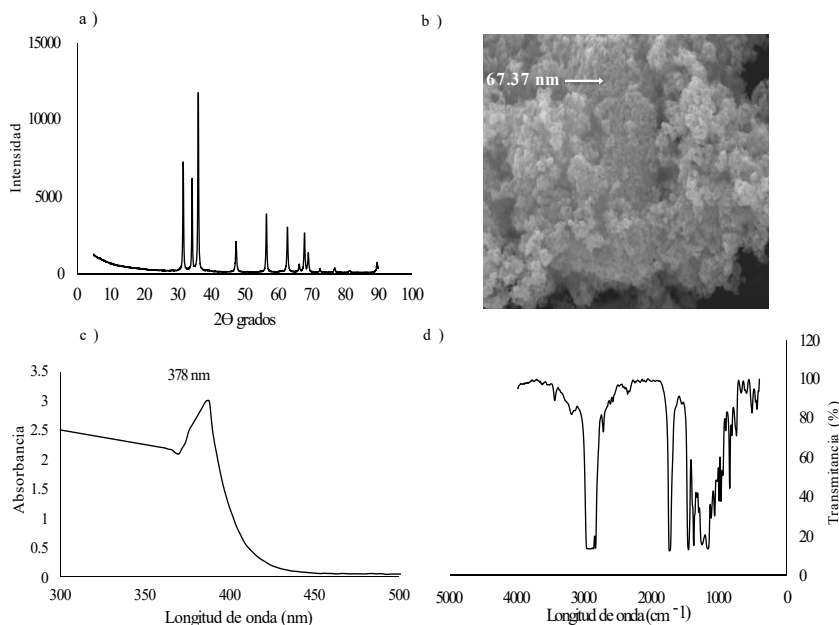


Figura 1. Caracterización de NPs-ZnO, a) difractograma de rayos X; b) imagen SEM; c) espectro UV-visible; y d) espectro FTIR.

Efecto de las NPs-ZnO en la germinación de semillas

Índices fisiológicos

El Cuadro 1 muestra el efecto de la exposición de NPs-ZnO en la germinación de las semillas de *L. sativa*. La aplicación de NPs-ZnO tuvo efectos significativos entre los tratamientos y el control ($p \leq 0.05$). En el parámetro de vigor, podemos observar que se obtuvieron resultados positivos al aplicar concentraciones de 25 mg L^{-1} . Mientras que al aplicar 50 mg L^{-1} se mostró una disminución del 9.32% respecto al control, esta pequeña reducción se puede considerar como un efecto inhibitor del crecimiento relacionado con un elevado potencial osmótico por las dosis de NPs (Hojjat *et al.*, 2017; Tovar-Jimenez *et al.*, 2020). En el porcentaje de germinación, los tratamientos aumentaron respecto al control, a excepción del tratamiento de 125 mg L^{-1} el cual no mostró diferencia

significativa. El mejor tratamiento fue el de 50 mg L⁻¹ incrementando hasta 36.97%. En cuanto al peso fresco de la plúmula y el peso fresco de radícula incremento significativamente en comparación con los otros tratamientos/grupo control, con la dosis de 50 mg L⁻¹.

Cuadro 1. Comparación de medias en la germinación, vigor, peso fresco de plúmula, radícula y la longitud de la radícula cuando se aplican NPs-ZnO.

NPs-ZnO (mg L ⁻¹)	Vigor (%)	Germinación (%)	Peso fresco de plúmula (mg)	Peso fresco de radícula (mg)	Longitud de radícula (mm)
Control	46.44 ±2.88 cd	50.76 ±0 c	9.2 ±0.38 cd	1.66 ±0.29 c	21.25 ±0.5 d
25	60.11 ±3.83 a	60.11 ±3.83 b	8.32 ±0.3 d	1.16 ±0.06 d	25.5 ±1 b
50	42.11 ±3.33 d	69.53 ±4.06 a	11.4 ±0.56 a	2.71 ±0.09 a	32 ±0.81 a
75	52.27 ±3.01 bc	65.46 ±4.06 ab	9.78 ±0.14 bc	2.1 ±0.11 b	25 ±0.81 b
100	53.77 ±3.47 ab	65.46 ±4.06 ab	9.79 ±0.52 bc	1.23 ±0.15 d	23.25 ±0.5 c
125	46.44 ±2.88 cd	50.76 ±0 c	10.22 ±0.4 b	1.29 ±0.27 cd	10.25 ±0.5 e

Valores con letras distintas dentro de una misma columna, indican diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Los valores son el promedio de cuatro repeticiones. Medias (n= 24) ± desviación estándar.

Dicho efecto podría atribuirse con un aumento en el nivel de Zn dentro de las semillas de lechuga y su interacción en los procesos bioquímicos (Rawashdeh *et al.*, 2020). En la longitud de la radícula también hubo diferencia significativa y el mejor tratamiento fue el de 50 mg L⁻¹ respecto a los tratamientos/grupo control. Sin embargo, debido a la forma, el tamaño, la carga superficial, la composición química y la concentración de las nanopartículas pueden provocar diferentes impactos en la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas (Szöllösi *et al.*, 2020).

Los resultados obtenidos en este estudio señalan que el mejor tratamiento de aplicación de NPs-ZnO fue de 50 mg L⁻¹, comparado con otros autores que señalan una respuesta positiva al aplicar 25 mg L⁻¹ NPs-ZnO sobre la germinación y la biomasa en semillas de *L. sativa* reportado por Rawashdeh *et al.* (2020). Las semillas de lechuga embebidas en NPs pueden mostrar un crecimiento acelerado en comparación con las semillas de control no tratadas. Una vez que los iones están dentro de las semillas, modulan la síntesis y el metabolismo de proteínas, el contenido de carbohidratos y mayor actividad de enzimas antioxidantes (Rawashdeh *et al.*, 2020).

Clorofila y carotenoides

Se cuantificó el contenido de clorofilas incluyendo Chl_a y Chl_b de las plántulas tratadas con NPs-ZnO como se muestra en la Figura 2a. El análisis estadístico de los resultados de la variable de Chl_a del presente trabajo no mostró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en concentraciones de 0, 25, 50, 75 y 100 mg L⁻¹ de las NPs-ZnO aplicadas; sin embargo, se observa un cambio con 125 mg L⁻¹ NPs-ZnO que redujo hasta 40.49% Chl_a respecto al control.

Además, la aplicación de NPs-ZnO cambió significativamente ($p \leq 0.05$) el contenido de Chl_b, las comparaciones de medias mostraron que la Chl_b más alta se encontró en el tratamiento de 50 mg L⁻¹ NPs-ZnO, incluso las concentraciones de 25 y 75 mg L⁻¹ NPs-ZnO superaron al control. Sin embargo, a 100 y 125 mg L⁻¹ NPs-ZnO disminuyó el contenido de Chl_b en las plántulas alrededor de 31.25% y 37.5%, respectivamente.

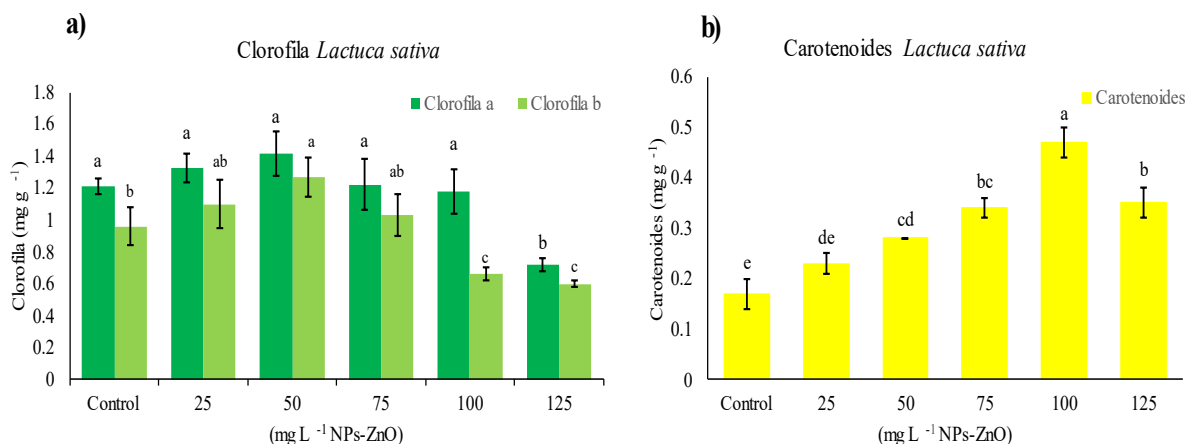


Figura 2. Contenido de clorofila (a) y contenido de carotenos (b) de *L. sativa* después de cada tratamiento. Los datos se muestran como medias ($n=24$) \pm desviación estándar. Valores con letras distintas indican diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

El Zn es un elemento pesado y, al igual que otros metales pesados, en grandes cantidades es tóxico para muchas plantas, y la degradación de la clorofila en estas circunstancias es evidente (Mohsenzadeh y Moosavian, 2017). Estos resultados demuestran que las NPs-ZnO a altas concentraciones disminuyen drásticamente el contenido de clorofila, parece que tal vez la reducción en la cantidad de clorofila se deba a la prevención o degradación de los precursores de estos pigmentos.

El contenido de clorofila se considera un índice importante de la cantidad total de complejo captador de luz y los componentes de transporte de electrones, se relaciona positivamente con la tasa fotosintética (Li *et al.*, 2019), por lo que puede usarse como un indicador para medir el grado de estrés causado por las NPs (Yan *et al.*, 2021). La fotosíntesis de los cloroplastos se altera, lo que hace que el oxígeno se convierta en un aceptor de electrones y se produzcan especies reactivas de oxígeno (Yan *et al.*, 2021). Por otra parte, el tratamiento con NPs-ZnO incrementó significativamente ($p \leq 0.05$) el contenido de carotenoides en las plántulas de *L. sativa* (Figura 2b). El contenido de carotenoides más alto se encontró en la concentración de 100 mg L⁻¹ NPs-ZnO, con un aumento de hasta 176.4% respecto al control.

Los carotenoides están presentes en los plastos de los tejidos vegetales y en el estrés ambiental desencadenan el estrés oxidativo, son los encargados de proteger los tejidos fotosintéticos, especialmente la clorofila. Según los resultados obtenidos en este estudio, parece que cierta cantidad de zinc induce estrés oxidativo y provoca la síntesis de carotenoides (Mohsenzadeh y Moosavian, 2017). Lo que sugiere que la reducción en la fotosíntesis es causada por la reducción del contenido de clorofilas. Los resultados corroboran los hallazgos encontrados por Wang *et al.* (2016) de la exposición de NPs-ZnO en la acumulación de biomasa y la fotosíntesis en *Arabidopsis*.

Fenoles

En este estudio, la aplicación de concentraciones de 75 y 125 mg L⁻¹ NPs-ZnO no mostraron diferencia significativa en el contenido de fenoles totales de las plántulas de *L. sativa*. Mientras que la aplicación de 25, 50 y 100 mg L⁻¹ NPs-ZnO incrementaron significativamente respecto al

tratamiento control ($p \leq 0.05$) (Figura 3). El papel del zinc en el uso del carbono para producir compuestos fenólicos en el ciclo del ácido shikímico y el acetato puede ser una de las razones de este aumento (Misra *et al.*, 2006). El zinc induce el estrés oxidativo y conducirá a la producción de radicales libres en la planta, la planta conducirá al estrés y superará a estas especies.

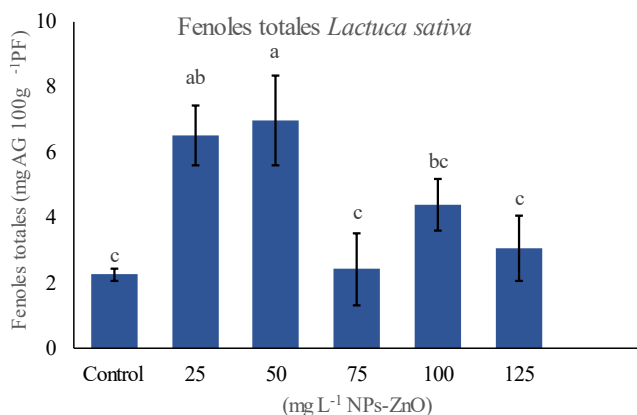


Figura 3. Contenido de compuestos fenólicos totales de *L. sativa* después de cada tratamiento. Los datos se muestran como medias ($n = 24$) \pm desviación estándar. Valores con letras distintas indican diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

En respuesta a este estrés, las plantas liberan varios compuestos defensivos conocidos como metabolitos secundarios antioxidantes incluyendo diferentes grupos de polifenoles (Paramo *et al.*, 2020). Así, mejora este parámetro relacionado con el sistema antioxidante de las plántulas, lo cual concuerda con lo reportado por otros autores (Faizan *et al.*, 2018; Paramo *et al.*, 2020; Ramírez-Rodríguez *et al.*, 2021).

Conclusiones

La caracterización realizada demostró que la síntesis de NPs-ZnO mediante un proceso químico permitió obtener tamaños de partícula de 67.31-71.1 nm. Este estudio analizó soluciones de NPs-ZnO en un rango de concentraciones de 25 a 125 mg L⁻¹ en plántulas de lechuga y proporciona datos valiosos y evidencia para aumentar la productividad de cultivos al aumentar la concentración de compuestos útiles, como antioxidantes y metabolitos secundarios. Las NPs-ZnO podrían ser una buena alternativa para mejorar la calidad de las plántulas; sin embargo, se necesita más investigación para aclarar los efectos de los NPs-ZnO ya que existen factores que dependen de la especie y la concentración.

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por el Tecnológico Nacional de México (TecNM). Proyecto: 13989.22-P-Campus Instituto Tecnológico de Torreón (2022). Alma Patricia Galindo Guzmán agradece el apoyo económico brindado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) de México para estudios de posgrado.

Literatura citada

- Abdalla, M. A.; Li, F.; Wenzel-Storjohann, A.; Sulieman, S.; Tasdemir, D. and Mühling, K. H. 2021. Comparative metabolite profile, biological activity, and overall quality of three lettuce (*Lactuca sativa* L., Asteraceae) cultivars in response to sulfur nutrition. *Pharmaceutics*. 5(13):713. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13050713>.
- Afrayeem, S. M. and Chaurasia, A. K. 2017. Effect of zinc oxide nanoparticles on seed germination and seed vigour in chilli (*Capsicum annum* L.). *J. Pharmacogn. Phytochem.* 6(5):1564-1566.
- Aquino, P.; Osorio, A. M.; Ninán, E. y Torres, F. 2018. Caracterización de nanopartículas de ZnO sintetizadas por el método de precipitación y su evaluación en la incorporación en pinturas esmalte. *Rev. de la Sociedad Química del Perú*. 84(1):5-17.
- Dhoke, S. K.; Mahajan, P.; Kamble, R. and Khanna, A. 2013. Effect of nanoparticles suspension on the growth of mung (*Vigna radiata*) seedlings by foliar spray method. *Nanotechnol. Development*. 3(1):e1-e1. <https://doi.org/10.4081/nd.2013.e1>.
- Dziki, D.; Gawlik-Dziki, U.; Kordowska-Wiater, M. and Domań-Pytka, M. 2015. Influence of elicitation and germination conditions on biological activity of wheat sprouts. *J. Chem.* 2015:1-8. <https://doi.org/10.1155/2015/649709>.
- Ealia, A. M. and Saravanakumar, M. P. 2017. A review on the classification, characterization, synthesis of nanoparticles and their application. In *IOP Conference series: materials science and engineering*. 263(3):032019 <https://doi.org/10.1088/1757-899X/263/3/032019>.
- Faizan, M.; Faraz, A.; Yusuf, M.; Khan, S. T. and Hayat, S. 2018. Zinc oxide nanoparticle-mediated changes in photosynthetic efficiency and antioxidant system of tomato plants. *Photosynthetica*. 56(2):678-686. <https://doi.org/10.1007/s11099-017-0717-0>.
- Faizan, M.; Hayat, S. and Pichtel, J. 2020. Effects of zinc oxide nanoparticles on crop plants: a perspective analysis. *Sustainable Agriculture Reviews*. (41):83-99. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-33996-8-4>.
- Hasan, S. 2015. A review on nanoparticles: their synthesis and types. *Res. J. Recent Sci.* 4 (ISC-2014):9-11.
- Hojjat, S. S. and Kamyab, M. 2017. The effect of silver nanoparticle on Fenugreek seed germination under salinity levels. *Russian Agric. Sci.* 43(1):61-65. <https://doi.org/10.3103/S1068367417010189>.
- Li, R.; He, J.; Xie, H.; Wang, W.; Bose, S. K.; Sun, Y.; Hu, J. and Yin, H. 2019. Effects of chitosan nanoparticles on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Inter. J. Biol. Macromol.* 126:91-100. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.118>.
- Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. 11(5):591-592. <https://doi.org/10.1042/bst0110591>.
- Lin, D. and Xing, B. 2007. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution*. 150(2):243-250. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.01.016>.
- Liu, R.; Zhang, H. and Lal, R. 2016. Effects of stabilized nanoparticles of copper, zinc, manganese, and iron oxides in low concentrations on lettuce (*Lactuca sativa*) seed germination: nanotoxicants or nanonutrients? *Water Air and Soil Pollution*. 227(1):1-14. <https://doi.org/10.1007/s11270-015-2738-2>.

- Misra, A.; Dwivedi, S.; Srivastava, A. K.; Tewari, D. K.; Khan, A. and Kumar, R. 2006. Low iron stress nutrition for evaluation of Fe-efficient genotype physiology, photosynthesis, and essential monoterpene oil (s) yield of *Ocimum sanctum*. *Photosynthetica*. 44(3):474-477. <https://doi.org/10.1007/s11099-006-0054-1>.
- Mohsenzadeh, S. and Moosavian, S. S. 2017. Zinc sulphate and nano-zinc oxide effects on some physiological parameters of *Rosmarinus officinalis*. *Am. J. Plant Sci.* 8(11):2635-2649. <https://doi.org/10.4236/ajps.2017.811178>.
- Paramo, L. A.; Feregrino-Pérez, A. A.; Guevara, R.; Mendoza, S. and Esquivel, K. 2020. Nanoparticles in agroindustry: applications, toxicity, challenges, and trends. *Nanomaterials*. 10(9):1-19. <https://doi.org/10.3390/nano10091654>.
- Ramírez-Rodríguez, S. C.; Ortega-Ortiz, H.; Fortis-Hernández, M.; Nava-Santos, J. M.; Orozco-Vidal, J. A. y Preciado-Rangel, P. 2021. Nanopartículas de quitosano mejoran la calidad nutracéutica de germinados de triticale. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 12(4):579-589. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i4.2929>.
- Raskar, S. V. and Laware, S. L. 2014. Effect of zinc oxide nanoparticles on cytology and seed germination in onion. *Inter. J. Current Microbiol. Appl. Sci.* 3(2):467-473.
- Rawashdeh, R. Y.; Harb, A. M. and AlHasan, A. M. 2020. Biological interaction of zinc oxide nanoparticles; lettuce seed as case of study. *Heliyon*. 6(5):e03983. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03983>.
- Salama, D. M.; Osman, S. A.; Abd El-Aziz, M. E.; Abd-Elwahed, M. S. A. and Shaaban, E. A. 2019. Effect of zinc oxide nanoparticles on the growth, genomic DNA, production and the quality of common dry bean (*Phaseolus vulgaris*). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. (18):101083. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101083>.
- Salas-Pérez, L.; Gaucín-Delgado, J. M.; Preciado-Rangel, P.; Fortis-Hernández, M.; Valenzuela-García, J. R. y Ayala-Garay, A. V. 2016. Efecto del ácido benzoico en la capacidad antioxidante de germinados de trigo. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 3(17):3397-3404.
- Singleton, V. L.; Orthofer, R. and Lamuela-Raventós, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299(7):152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).
- Szöllősi, R.; Molnár, Á.; Kondak, S. and Kolbert, Z. 2020. Dual effect of nanomaterials on germination and seedling growth: Stimulation vs phytotoxicity. *Plants*. 9(12):1745. <https://doi.org/10.3390/plants9121745>.
- Tovar-Jimenez, G. I.; Flores, S.; Suarez, J.; González, G. and Briceño, S. 2020. Biogenic synthesis of iron oxide nanoparticles using *Moringa oleifera* and chitosan and its evaluation on corn germination. *Environmental Nanotechnology, Monitoring Management*. (14):100350. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2020.100350>.
- Wang, X.; Yang, X.; Chen, S.; Li, Q.; Wang, W.; Hou, C.; Gao, X.; Wang, L. and Wang, S. 2016. Zinc oxide nanoparticles affect biomass accumulation and photosynthesis in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*. (6):1243. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01243>.
- Yan, S.; Wu, F.; Zhou, S.; Yang, J.; Tang, X. and Ye, W. 2021. Zinc oxide nanoparticles alleviate the arsenic toxicity and decrease the accumulation of arsenic in rice (*Oryza sativa* L.). *BMC Plant Biology*. 21(1):1-11. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-02929-3>.