

Nanoparticles of ZnO and their effect as nanofertilizers: In vitro evaluation in *Chenopodium quinoa* seeds

David Asmat-Campos, Dr. ^{1, 2, *} [0000-0003-1144-1322], Luisa Juárez-Cortijo, MSc. ² [0000-0002-2468-3550], and Daniel Delfín-Narciso, MSc. ² [0000-0002-9766-4684]

¹ Dirección de Investigación, Innovación & Responsabilidad Social, Universidad Privada del Norte, Trujillo, Perú.
**davidasmat88@hotmail.com, david.asmat@upn.edu.pe*

² Grupo de investigación en Ciencias Aplicadas y Nuevas Tecnologías, Universidad Privada del Norte, Trujillo, Perú.

Abstract- *Nanotechnology has been showing potential applications in various areas of research, including crops where new mechanisms are being found to aid the plant in absorption processes resulting in a substantial improvement in growth kinetics, physiological and biochemical traits, and high biocompatibility. This research aimed to investigate the influence of biogenic zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) concentration on in vitro germination process in quinoa (Chenopodium quinoa) seeds. The used nanoparticles exhibited a spherical geometry and sizes of up to 5.36 nm. The results showed the stimulation of nanoparticle concentration on the germination rate among treatments, as well as a notable improvement in root development. No phytotoxicity was detected.*

Keywords- *Nanofertilizers, green synthesis, biogenic synthesis, zinc, Chenopodium quinoa.*

Digital Object Identifier: (only for full papers, inserted by LACCEI).

ISSN, ISBN: (to be inserted by LACCEI).

DO NOT REMOVE

Nanopartículas ZnO y su efecto como nanofertilizantes: Evaluación in vitro en semillas de *Chenopodium quinoa*

David Asmat-Campos, Dr.^{1, 2, *} [0000-0003-1144-1322], Luisa Juárez-Cortijo, MSc.² [0000-0002-2468-3550], and Daniel Delfín-Narciso, MSc.² [0000-0002-9766-4684]

¹ Dirección de Investigación, Innovación & Responsabilidad Social, Universidad Privada del Norte, Trujillo, Perú.
**davidasm88@hotmail.com*, *david.asmat@upn.edu.pe*

² Grupo de investigación en Ciencias Aplicadas y Nuevas Tecnologías, Universidad Privada del Norte, Trujillo, Perú.

Resumen— *La nanotecnología viene mostrando potenciales aplicaciones en diversas áreas de la investigación, es así como a nivel de cultivos se están encontrando nuevos mecanismos que ayudan a la planta en los procesos de absorción y dan como resultado una mejora sustancial en los procesos de cinética de crecimiento, mejora de sus rasgos fisiológicos, bioquímicos y de alta biocompatibilidad. Esta investigación tuvo como objetivo investigar la influencia de la concentración de nanopartículas biogénicas de óxido de zinc (ZnO NP) sobre el proceso germinativo in vitro en semillas de quinua (*Chenopodium quinoa*). Las nanopartículas usadas mostraron una geometría de tipo esférica y con tamaños de hasta 5.36 nm. Los resultados muestran el estímulo de las nanopartículas en la tasa de germinación entre tratamientos, además de una notable y mejora en su desarrollo radicular. No se ha evidenciado muestras de fitotoxicidad.*

Keywords— *Nanofertilizantes, síntesis verde, síntesis biogénica, zinc, *Chenopodium quinoa*.*

I. INTRODUCCIÓN

La *Chenopodium quinoa* pertenece a la subfamilia *Chenopodioideae* de las amarantáceas, es un cultivo actualmente considerado con alta capacidad nutricional que se adapta a diferentes ecosistemas [1], [2]. Respecto a su valor nutricional podemos detallar que la quinua duplica el porcentaje de contenido de proteínas de los cereales como el trigo, arroz y cebada [3]; caracterizándose por una equilibrada composición de aminoácidos esenciales, en especial la lisina, la misma que no encontramos en otros cereales. También se considera como virtud de la quinua su carencia de gluten, lo cual la hace una excelente candidata para ser consumida por personas celíacas o alérgicas al trigo, así como materia prima para la industria alimentaria sin gluten. Además, la quinua es más rica que los cereales convencionales en minerales y vitaminas como Ca, P, K, Fe, Mg, B1, B9, E y C [4]–[6].

Un estudio indicó que es posible un alto rendimiento de grano bajo condiciones extremas de calor y aridez en el desierto del Sahara en temporadas específicas del año, identificándose genotipos de quinua singularmente acondicionados para esta región. Sin embargo, también se determinó que en condiciones experimentales cada genotipo expresa su potencial en términos de rendimiento o de calidad combinados con tolerancia a la sal

y a la sequía en climas secos y cálidos de todo el mundo [7]. Por lo tanto, los estudios relacionados con su masividad y procesos de cultivo resultan importantes al proporcionar alternativas de mayor acceso para los agricultores, así como reducir la intrusión de hongos, bacterias y virus [8].

En la actualidad la nanotecnología se utiliza en diversas aplicaciones, siendo la agricultura una de las más recientes propuestas [9]. La utilización de nanopartículas (NP) tiene un gran potencial como agentes que promueven la división y crecimiento celular e influye en el aumento de la actividad enzimática y antioxidante en el proceso de germinación [10], [11]. Concluyéndose que la capacidad sobre los patógenos de algunas nanopartículas le confiere capacidad de inmunidad sobre ciertas bacterias, hongos y virus [12]–[14]. Las investigaciones recientes están dirigidas a la producción de NP por métodos más respetuosos con el medio ambiente, económicos y con menor producción de residuos contaminantes. Entre los métodos “verdes” más utilizados se encuentran aquellos que utilizan extractos de algunas partes de las plantas como, frutos, tallos o raíces de plantas específicas cuya función dentro de la síntesis es cumplir un rol reductor reemplazando parcial o totalmente la utilización de químicos sintéticos responsables del proceso de reducción de un material precursor [15]–[18].

Estudios han demostrado la eficacia del método de síntesis verde, al obtener nanopartículas de plata esféricas (Ag NP) entre 20 y 40 nm a partir de la reducción de nitrato de plata utilizando extracto de arándano [19]. Así como del orujo de uva se sintetizó nanopartículas de plata esféricas de 30 nm aproximadamente [20]. Por otro lado, se determinó que algunos cítricos también pueden ser utilizados en la extracción de nanopartículas de plata como lo fueron, la mandarina, naranja y limón obteniendo diferentes características morfológicas para cada extracto [21], [22]. Las principales aplicaciones de estas nanopartículas aprovechan sus características bactericidas y han sido utilizados para el diseño de productos antimicrobianos [23].

Los avances en nanotecnología han permitido desarrollar nanomateriales de diferentes elementos o compuestos, y el desarrollo de ciertas aplicaciones han demostrado que las nanopartículas pueden influir positivamente en el proceso de

crecimiento de elementos vivos como algunas plantas [24], [25]. Una investigación in vitro demostró que las NP de óxido de zinc (ZnO NPs) obtenidas por síntesis verde mejoraron el crecimiento de raíces, brotes y en la producción de biomasa de la *Juniperus procera*. Así también los índices fisiológicos en comparación con plantas no tratadas fueron óptimos resultando en un mayor crecimiento de callos, clorofila, brotes, contenido total de proteína, fenoles, flavonoides y actividad enzimática. Simultáneamente este factor promotor del crecimiento puede causar efectos de estrés oxidativo en las células vegetales dependiendo de las concentraciones de nanopartículas de ZnO crecimiento [26]. En otra evaluación se determinó el efecto de las ZnONPs a diferentes concentraciones de 1, 3, 5, 7 y 9 mg/mL sobre el crecimiento de *Sesamum indicum*, concluyendo que a una concentración de 5 mg/mL se estimuló el crecimiento de raíces y brotes, mientras que, a concentraciones mayores, se observa una reducción de estas características. Estos estudios permiten indicar que las ZnO NPs pueden ser alternativa potencial en el diseño de nanofertilizantes [27].

Ante el presente requerimiento de un mejor entendimiento sobre la eficiencia de las nanopartículas en mejorar los procesos de cultivo y germinación de algunos productos agrícolas de gran demanda se planteó como objetivo de esta investigación determinar el efecto de nanopartículas de zinc producidas por un método de síntesis verde sobre las características germinativas de la *Chenopodium quinoa*.

II. METODOLOGÍA

1. Síntesis biogénica de nanopartículas ZnO

El acetato de zinc dihidratado ACS (n.º CAS 5970-45-6) se adquirió de Merck Millipore. Se utilizó durante todo el experimento agua ultrapura (Thermo Scientific, Barnstead Smart2Pure, MA, EE. UU.).

La metodología de síntesis de ZnO NP, fue previamente reportado por el equipo de investigadores de este manuscrito [28], con algunas modificaciones. Se partió del precursor acetato de zinc dihidratado $-(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn}_2\text{H}_2\text{O}-$, y se usó como agente reductor el extracto acuoso de *Coriandrum sativum*. Se consideró una concentración de precursor de 0.21 M diluido en agua ultrapura, a partir de ello se le añadió 20 mL de extracto de *C. sativum*. Finalmente, la mezcla se colocó en mufla por 2 horas a 700 °C para su calcinación.

2. Inoculación de ZnO NPs en semillas *C. quinoa*

El polvo de ZnO NP obtenido fue redispersado en agua ultrapura, y colocado durante 1 hora en ultrasonido a temperatura ambiente (~23 °C). Se consideraron tres grupos

para el tratamiento con nanopartículas, cada grupo con un total de 50 semillas de *C. quinoa*. Las concentraciones del coloide de ZnO NP se consideraron en base a su absorbancia óptica, el cual está vinculado al pico de excitón del nanomaterial (Figura 3). Las semillas fueron dispuestas en placas Petri previamente esterilizadas, y provistas con dos discos de papel filtro cuantitativo Whatman N° 42. El tratamiento consistió en la aplicación de 2 mL de coloide ZnO NP con un atomizador. Asimismo, se consideró una placa Petri adicional como control, en donde las semillas estuvieron en contacto con 2 mL de agua. La evaluación de la respuesta de las semillas ante el tipo de tratamiento se hizo en intervalos de tiempo de 12 horas, con un total de 5 datos, en donde se consideró la contabilización del número de germinados. Las muestras fueron codificadas en base a la diferencia de concentraciones de ZnO NP, siendo C1 el de mayor concentración, C2 concentración intermedia y C3 de menor concentración, como se mencionó líneas arriba, los valores fueron cuantificados en base a su valor de absorbancia óptica, y descritos en el apartado de resultados.

3. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el software Microsoft Excel, con su complemento RealStats. Los datos de las variables porcentaje de germinación se analizaron mediante el diseño ANOVA unifactorial con un 95% de nivel de confianza ($p < 0,05$). La evaluación de los resultados del proceso germinativo se presenta como el promedio estadístico acompañado de su desviación estándar.

III. RESULTADOS

Se demuestra el potencial efecto del extracto de *C. sativum* como agente reductor del precursor acetado de zinc dihidratado. La Figura 1 muestra el resultado por microscopía electrónica de transmisión (MET), en donde se evidencia zonas de configuración transparente con nanopartículas aglomeradas, geometría esférica definida y con tamaño promedio de 5.36 ± 1.2 nm, esto muy posiblemente vinculado a que tamaños reducidos aumenta de manera exponencial la superficie metálica expuesta y, por tanto, la susceptibilidad de interaccionar con los diferentes reactivos [29]. Por otro lado, encontramos zonas de mayor densidad con tamaño promedio de 37.4 ± 0.9 nm, y de geometría no definida, en transición con una posible modificación de estructura cristalina como efecto de la calcinación. La estructura electrónica presente en los metales a tamaño macroscópico suele convertirse en niveles discretos cuando se va disminuyendo el número de átomos, y por ende la reducción del tamaño de partícula.

La pureza elemental del nanomaterial en un proceso de síntesis destaca la eficiencia del proceso de reducción, además del grado de reducción del precursor. Es así como, en la Figura 2,

se presenta la caracterización por análisis elemental de espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDS) de la muestra C1, pues en este caso no se considera influencia de la concentración con algún tipo de cambio en los elementos presentes en la muestra, debido a que se trató de tres diluciones a partir de una muestra stock, lo cual sugiere ser lo mismo.

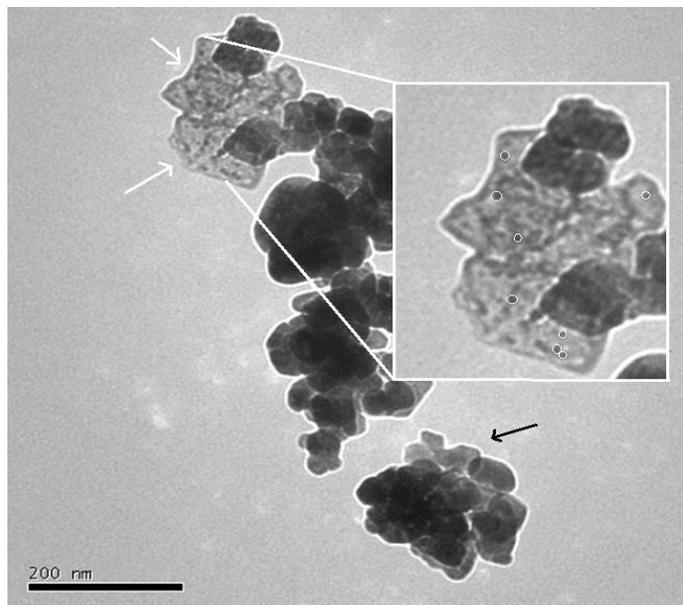


Figura 1. Microscopía electrónica de transmisión de las nanopartículas de ZnO.

Nótese la intensidad de los picos correspondientes al zinc. Los demás elementos están vinculados a trazas incorporadas ante el uso de los detectores del microscopio SEM. No son atribuibles a trazas orgánicas del extracto debido a que el nanomaterial pasó por un proceso de calcinación.

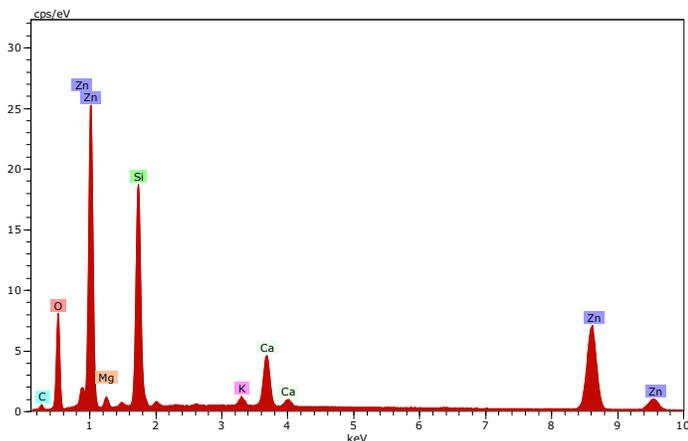


Figura 2. Análisis elemental por EDS, de las nanopartículas de ZnO.

Tal como se comentó en el apartado metodológico, se han considerado un total de tres concentraciones para las ZnO NP. Estas concentraciones se lograron a partir de una muestra coloidal stock en base a diluciones. La Figura 3 muestra los espectros de absorbancia de las diluciones consideradas para este experimento, con valores de C1=0.14 u.a, C2=0.053 u.a., C3= 0.035 u.a. Asimismo, se puede evidenciar el pico de excitón por alrededor de 300 nm, esto muy posiblemente debido a defectos en la estructura cristalina del nanomaterial.

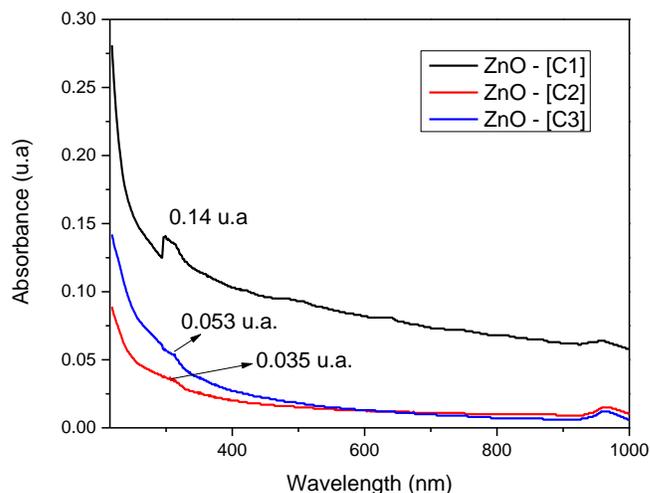


Figura 3. Análisis por espectrofotometría UV vis de las ZnO NP, a las tres concentraciones.

Los hallazgos encontrados sobre estas ZnO NP usadas en esta investigación, y publicado por los mismos autores en un primer manuscrito [28], no consideraron a profundidad los hallazgos encontrados sobre nuevos resultados respecto al valor de ‘band gap’ de este tipo de nanomaterial. La evaluación del espectro de absorbancia para el cálculo del ‘band gap’ es posible gracias a la gráfica TAUC, como método válido [30]. Se sabe que los valores normales del ‘band gap’ para el ZnO NP están en el rango de 2.8 – 3.5 eV [31]. Asimismo, se ha reportado que los procesos de síntesis verde poseen una influencia respecto al ‘band gap’ del nanomaterial, presentándose una ligera disminución del valor en mención, significando una menor energía para excitar los electrones de la banda de valencia a la banda de conducción, lo cual afecta a actividades de aplicación como la fotocatalisis [32].

Por el contrario, las nanopartículas obtenidas en esta investigación tienen una característica muy especial, poseen un valor de ‘band gap’ por encima de lo normal, 4.82 eV (Figura 4). Con respecto a esto, Wang et al [33] informó que sí es posible obtener este tipo de valores, siempre y cuando el tamaño (diámetro) de las ZnO NP tengan valores comparables con el radio de excitón de Bohr (≈ 2.3 nm), lo cual implica un desplazamiento del ‘band gap’ hacia el azul (respecto a valores de ≈ 3.37 eV), lográndose gracias a fuertes confinamientos

cuánticos, que para efectos prácticos, es muy difícil sintetizar nanopartículas con dimensiones por debajo del radio de Bohr. En tal sentido, estaríamos hablando de la presencia de puntos cuánticos por las diminutas dimensiones. Otro manuscrito reporta el haber obtenido valores de 4.06 eV para diámetros de 5 nm en ZnO NP. Los resultados mostrados en la Figura 1, muestran valores de 5.36 nm. -en la zona resaltada-, muy posiblemente -debido a la baja resolución de la imagen- sea posible encontrar nanomateriales con dimensiones que estén por debajo del radio de Bohr, lo que implicaría corroborar el valor de ‘band gap’ obtenido.

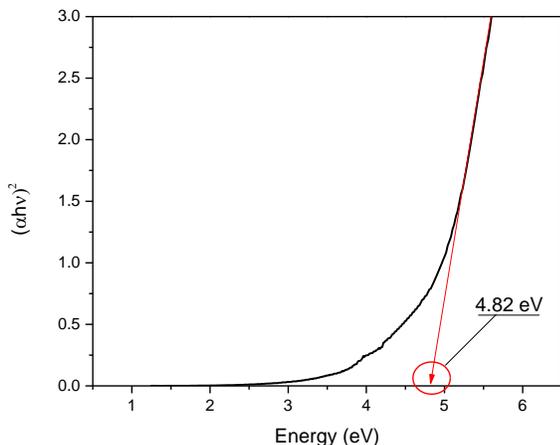


Figura 4. Gráfica TAUC, para el cálculo de ‘band gap’ de las ZnO NP.

Porcentaje de germinación:

Se determinó el porcentaje de germinación (Figura 5), a las 12 horas de iniciado el tratamiento (barras azules), y finalmente a las 60 horas (barras rojas) en función a la variación de la concentración del coloide nanoparticulado, el margen de tiempo se consideró hasta cuando las semillas ya no presentaron desarrollo radicular. Inicialmente, la muestra control mostró un 86% de semillas germinadas, hasta llegar a 96% a las 60 horas. El mejor tratamiento de semillas con tratamiento fue para la concentración C2, con un valor inicial de 76% y final de 92%. Los cálculos estadísticos revelan -en general- diferencia significativa entre la muestra control y las semillas con tratamientos (en todos los casos), sin embargo, no se evidencia una influencia entre tratamientos. En tal sentido, es importante señalar que la cubierta de la semilla juega un papel importante en la protección del embrión frente a factores externos que pueden causar daño, a su vez, la cubierta puede tener permeabilidad selectiva [34], lo que posiblemente explica la diferencia no significativa en la germinación basada sobre la variación de la concentración del coloide ZnO NP.

También se consideró la medida del tamaño de radícula, en donde sí ha mostrado diferencia significativa entre todas las

muestras, siendo la muestra C1 (de mayor concentración coloidal) aquella que ha logrado una longitud radicular final mayor (50.05 mm), respecto a la muestra control (44.95 mm).

La aplicación de nanopartículas en semillas, evidencian mejores resultados, puesto que estimula una mayor absorción de nutrientes [35]. Se sabe también que la velocidad de germinación está condicionada por la energía de germinación, además de factores ambientales, sin embargo, la aplicación de nanopartículas mejora las características en la velocidad y mejor desarrollo radicular, lo cual está directamente vinculado a la siguiente etapa de emergencia, lo que podría significar un mejor desarrollo al emerger en un medio de cultivo (suelo), siendo una antesala hacia un mejor desarrollo de la planta.

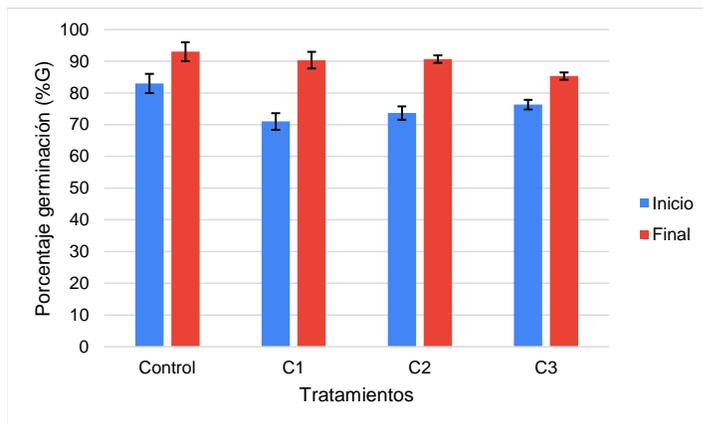


Figura 5. Porcentaje de germinación de semillas de *C. quinoa*.

La tasa de germinación (Figura 6) es un parámetro enteramente vinculado al parámetro anteriormente presentado, en donde se puede evidenciar en todos los casos como la tasa de germinación decae a partir de las 24 horas, manteniéndose casi constante hasta lograr las 60 horas. Para el caso de la muestra C1, su tasa de germinación se mantiene ligeramente constante desde las 24 hasta las 48 horas, con un mecanismo parejo de germinación, respecto al control con valores de decadencia constante, y los demás tratamientos ligeramente menores. Por lo que se puede comprobar el efecto de una mayor concentración de NP para sostener un mejor criterio de tasa estadística muestral.

Otros autores confirmaron el efecto prometedor de ZnO NP en los parámetros de germinación para otros tipos de semillas [36], [37].

Germinación diaria media (GDM):

La GDM es un indicador del vigor germinativo, sinónimo de velocidad y uniformidad de la germinación [38], [39] (Figura 7).

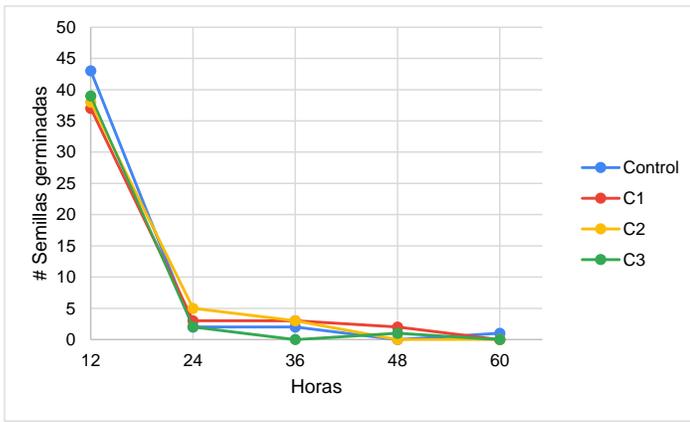


Figura 6. Tasa de germinación.

Autores han reportado que el uso de nanopartículas entre 5 y 20 nm suele tener mayor capacidad de penetración y movimiento a través de plasmodesmos, en comparación con las nanopartículas de 30 nm, que eran utilizados durante la fase experimental [40], [41].

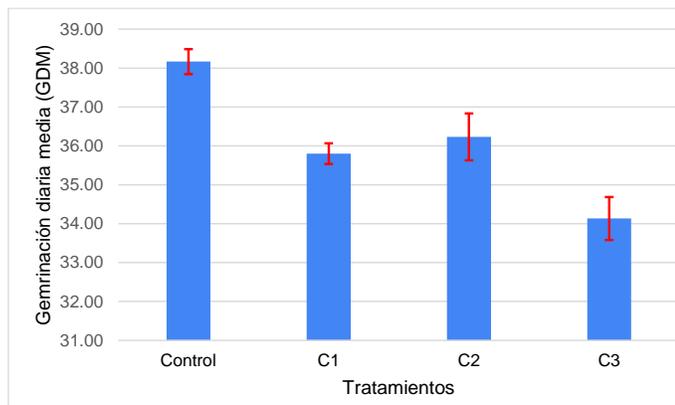


Figura 7. Germinación media diaria.

Índice de germinación

Este parámetro provee una medida del tiempo de germinación en relación con la capacidad de germinación. Constituye un indicador de la interacción de los factores que promueven o inhiben la germinación, así como de los respectivos factores que favorecen o impiden el crecimiento de la radícula. La ecuación 1, representa la cuantificación de este parámetro.

$$IG = \frac{\sum(n_i t_i)}{N} \quad (1)$$

En donde, IG = índice de germinación, n_i = número de semillas germinadas del día 'i', t_i = número de días después de la siembra, N = total de semillas sembradas.

La Figura 8, representa el índice de germinación en función a la variación de concentración de ZnO NP, cabe mencionar que se considera semilla germinada aquella que presenta un desarrollo radicular visible, y el primer parámetro fue evaluado a las 12 horas de iniciado el proceso. Los resultados evidencian que la muestra control presentó un mayor IG (0.43), presentándose diferencia significativa respecto a los tratamientos con nanopartículas de ZnO. La evaluación entre muestras con tratamiento mostró diferencia significativa entre la C1 y C3, siendo esta última la que mostró mayor índice de germinación (0.39) lo cual evidencia que a menor concentración de coloide ZnO NP mejora la capacidad germinativa, esto muy posiblemente vinculado a un estrés en la semilla por la influencia del compuesto químico. La evaluación se realizó hasta en cuatro tiempos posteriores, con 12 horas de diferencia cada una. La gráfica muestra que a partir de las 24 horas el IG de la muestra control disminuyó notoriamente, mientras que las semillas con tratamiento mejoraron, destacándose la muestra con tratamiento C2 (0.1). A las 60 horas, la muestra control fue la única que presentó actividad germinativa.

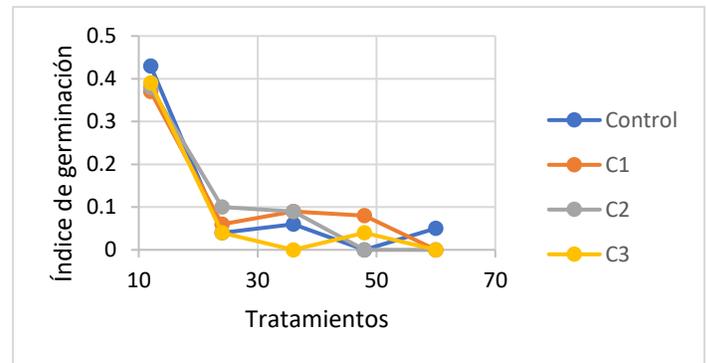


Figura 8. Índice de germinación.

Cabe mencionar que el zinc es un elemento esencial para las plantas ya que promueve la actividad enzimática y hormonal de la planta. A su vez, el zinc estimula la síntesis de triptófano, que estimula la génesis de auxinas, citoquininas y giberelinas, todas ellas hormonas implicadas en el crecimiento y desarrollo de las plantas [28], [42], [43].

En términos generales, existe diferencia significativa entre los tratamientos de semillas con nanopartículas y el control. Es importante destacar que las semillas son capaces de sintetizar de forma más eficiente nuevos materiales nutritivos, en tal sentido, el tamaño es importante para una correcta absorción, considerando que el nanomaterial agregado ha tenido dimensiones de hasta 5.36 nm, facilitando la transferencia de este nuevo producto al eje embrionario. Una investigación preliminar del equipo de investigadores de este manuscrito, con

semillas de *L. esculentum* [28] determinó un comportamiento similar, pero con mayor incidencia en el proceso de emergencia, en donde se notó el efecto del nanomaterial, correlacionando la tasa de crecimiento con el desarrollo vegetativo, observándose efectos de mejora.

IV. CONCLUSIONES

La síntesis biogénica usando extracto de *C. sativum* como agente reductor orgánico, mostró ser eficiente en la formación de nanoestructuras de diámetros de hasta 5.36 nm, lo cual ha sido corroborado con el valor del ‘band gap’. Como nanofertilizante, el tamaño de nanopartícula ha mostrado tener un rol importante en el mecanismo de absorción en la semilla, lo cual facilita la transferencia del nuevo producto al embrión. Asimismo, hay una influencia de la concentración de nanomaterial usado en la aplicación, el análisis estadístico muestra diferencias significativas, muy posiblemente basado en que las semillas suelen ser capaces de sintetizar eficientemente nuevos materiales nutritivos, además, no se ha mostrado un efecto de fitotoxicidad, por el contrario, las medidas de la longitud radicular muestran un notable efecto para la muestra tratada con nanopartículas de la mayor concentración (C1), esto como consecuencia de la estimulación de la síntesis de triptófano.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a LANOTEC-CeNAT por contribuir a la caracterización de nanopartículas por TEM - EDS. Asimismo, a la Dirección de Investigación, Innovación & Responsabilidad Social (DIIRS) de la Universidad Privada del Norte, por el apoyo en la gestión y financiamiento para la participación en este evento internacional. Por último, y no menos importante, agradecemos a los revisores por sus correcciones y sugerencias.

REFERENCIAS

[1] S. Jaikishun, W. Li, Z. Yang, and S. Song, “Quinoa: In Perspective of Global Challenges,” *Agronomy* 2019, Vol. 9, Page 176, vol. 9, no. 4, p. 176, Apr. 2019, doi: 10.3390/AGRONOMY9040176.

[2] Z. Farajzadeh - First author, A. Shakerian-Corresponding author, E. Rahimi, and M. Bagheri, “Chemical, Antioxidant, Total Phenolic and Flavonoid Components and Antimicrobial Effects of Different Species of Quinoa Seeds,” *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, vol. 51, no. 1, pp. 43–54, Jun. 2020, doi: 10.21608/EJVS.2019.17122.1098.

[3] K. B. Ruiz *et al.*, “Quinoa biodiversity and sustainability for food security under climate change. A review,” *Agron Sustain Dev*, vol. 34, no. 2, pp. 349–359, Nov. 2014, doi: 10.1007/S13593-013-0195-0/METRICS.

[4] S. Chillo, V. Cívica, M. Iannetti, N. Suriano, M. Mastromatteo, and M. A. del Nobile, “Properties of quinoa and oat spaghetti loaded with carboxymethylcellulose sodium salt and pregelatinized starch as structuring agents,” *Carbohydr Polym*, vol. 78, no. 4, pp. 932–937, Nov. 2009, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2009.07.013.

[5] M. Reguera *et al.*, “The impact of different agroecological conditions on the nutritional composition of quinoa seeds,” *PeerJ*, vol. 6, no. 3, 2018, doi: 10.7717/PEERJ.4442.

[6] E. Pereira, C. Encina-Zelada, L. Barros, U. Gonzales-Barron, V. Cadavez, and I. C.F.R. Ferreira, “Chemical and nutritional characterization of *Chenopodium quinoa* Willd (quinoa) grains: A good alternative to nutritious food,” *Food Chem*, vol. 280, pp. 110–114, May 2019, doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2018.12.068.

[7] M. Oustani, S. Mehda, M. T. Halilat, and H. Chenchouni, “Yield, growth development and grain characteristics of seven Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) genotypes grown in open-field production systems under hot-arid climatic conditions,” *Scientific Reports* 2023 13:1, vol. 13, no. 1, pp. 1–18, Feb. 2023, doi: 10.1038/s41598-023-29039-4.

[8] E. López Medina, A. López Zavaleta, and A. de la Cruz Castillo, “Efecto del ácido giberélico en la propagación in vitro de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, ‘estevia,’” *Arnaldoa*, vol. 24, no. 2, pp. 599–608, Dec. 2017, doi: 10.22497/ARNALDOA.242.24211.

[9] K. S. Iliger *et al.*, “Copper nanoparticles: Green synthesis and managing fruit rot disease of chilli caused by *Colletotrichum capsici*,” *Saudi J Biol Sci*, vol. 28, no. 2, pp. 1477–1486, Feb. 2021, doi: 10.1016/J.SJBS.2020.12.003.

[10] D. Asmat-Campos *et al.*, “ZnO Nanoparticles Obtained by Green Synthesis as an Alternative to Improve the Germination Characteristics of *L. esculentum*,” *Molecules* 2022, Vol. 27, Page 2343, vol. 27, no. 7, p. 2343, Apr. 2022, doi: 10.3390/MOLECULES27072343.

[11] Y. A. Selim, M. A. Azb, I. Ragab, and M. H. M. Abd El-Azim, “Green Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using Aqueous Extract of *Deverra tortuosa* and their Cytotoxic Activities,” *Scientific Reports* 2020 10:1, vol. 10, no. 1, pp. 1–9, Feb. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-60541-1.

[12] M. El-Shetehy *et al.*, “Silica nanoparticles enhance disease resistance in *Arabidopsis* plants,” *Nature Nanotechnology* 2020 16:3, vol. 16, no. 3, pp. 344–353, Dec. 2020, doi: 10.1038/s41565-020-00812-0.

[13] V. F. Consolo, A. Torres-Nicolini, and V. A. Alvarez, “Mycosinthesized Ag, CuO and ZnO nanoparticles from a promising *Trichoderma harzianum* strain and their antifungal potential against important phytopathogens,” *Scientific Reports* 2020 10:1, vol. 10,

- no. 1, pp. 1–9, Nov. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-77294-6.
- [14] S. Mishra, B. R. Singh, A. H. Naqvi, and H. B. Singh, “Potential of biosynthesized silver nanoparticles using *Stenotrophomonas* sp. BHU-S7 (MTCC 5978) for management of soil-borne and foliar phytopathogens,” *Scientific Reports* 2017 7:1, vol. 7, no. 1, pp. 1–15, Mar. 2017, doi: 10.1038/srep45154.
- [15] P. Singh and I. Mijakovic, “Green synthesis and antibacterial applications of gold and silver nanoparticles from *Ligustrum vulgare* berries,” *Scientific Reports* 2022 12:1, vol. 12, no. 1, pp. 1–12, May 2022, doi: 10.1038/s41598-022-11811-7.
- [16] D. Asmat-Campos, R. Nazario-Naveda, D. Delfin-Narciso, and L. Juárez-Cortijo, “Reuse of organic waste from *Eucalyptus globulus* extract with high reducing potential in the green synthesis of silver nanoparticles,” *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*, vol. 897, no. 1, p. 012013, Nov. 2021, doi: 10.1088/1755-1315/897/1/012013.
- [17] I. A. M. Ali, A. ben Ahmed, and H. I. Al-Ahmed, “Green synthesis and characterization of silver nanoparticles for reducing the damage to sperm parameters in diabetic compared to metformin,” *Scientific Reports* 2023 13:1, vol. 13, no. 1, pp. 1–15, Feb. 2023, doi: 10.1038/s41598-023-29412-3.
- [18] I. Y. Younis, S. S. El-Hawary, O. A. Eldahshan, M. M. Abdel-Aziz, and Z. Y. Ali, “Green synthesis of magnesium nanoparticles mediated from *Rosa floribunda* charisma extract and its antioxidant, antiaging and antibiofilm activities,” *Scientific Reports* 2021 11:1, vol. 11, no. 1, pp. 1–15, Aug. 2021, doi: 10.1038/s41598-021-96377-6.
- [19] D. Asmat-Campos *et al.*, “Unraveling the Active Biomolecules Responsible for the Sustainable Synthesis of Nanoscale Silver Particles through Nuclear Magnetic Resonance Metabolomics,” *ACS Sustain Chem Eng*, vol. 8, no. 48, pp. 17816–17827, Dec. 2020, doi: 10.1021/ACSSUSCHEMENG.0C06903/SUPPL_FILE/SC0C06903_SI_001.PDF.
- [20] D. Asmat-Campos, D. Delfin-Narciso, L. Juárez-Cortijo, and R. Nazario-Naveda, “Ecological and sustainable synthesis of silver nanoparticles from alcoholic extract of *Eucalyptus globulus*: Evaluation of alcoholic solvent influence (70° and 96°),” *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*, vol. 897, no. 1, p. 012014, Nov. 2021, doi: 10.1088/1755-1315/897/1/012014.
- [21] Y. Khane *et al.*, “Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Aqueous Citrus limon Zest Extract: Characterization and Evaluation of Their Antioxidant and Antimicrobial Properties,” *Nanomaterials* 2022, Vol. 12, Page 2013, vol. 12, no. 12, p. 2013, Jun. 2022, doi: 10.3390/NANO12122013.
- [22] S. A. Alsakhawy, H. H. Baghdadi, M. A. El-Shenawy, and L. S. El-Hosseiny, “Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Phytosynthesized by Citrus Fruit Peel Extracts,” *Bionanoscience*, vol. 12, no. 4, pp. 1106–1115, Dec. 2022, doi: 10.1007/S12668-022-01030-9/METRICS.
- [23] A. K. Giri *et al.*, “Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Eugenia roxburghii* DC. extract and activity against biofilm-producing bacteria,” *Scientific Reports* 2022 12:1, vol. 12, no. 1, pp. 1–9, May 2022, doi: 10.1038/s41598-022-12484-y.
- [24] Z. Javed, G. D. Tripathi, M. Mishra, M. Gattupalli, and K. Dashora, “Cow dung extract mediated green synthesis of zinc oxide nanoparticles for agricultural applications,” *Scientific Reports* 2022 12:1, vol. 12, no. 1, pp. 1–12, Nov. 2022, doi: 10.1038/s41598-022-22099-y.
- [25] N. Sedefoglu, Y. Zalaoglu, and F. Bozok, “Green synthesized ZnO nanoparticles using *Ganoderma lucidum*: Characterization and In Vitro Nanofertilizer effects,” *J Alloys Compd*, vol. 918, p. 165695, Oct. 2022, doi: 10.1016/J.JALLCOM.2022.165695.
- [26] A. M. Salih *et al.*, “Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using *Phoenix dactylifera* and their effect on biomass and phytochemical compounds in *Juniperus procera*,” *Scientific Reports* 2021 11:1, vol. 11, no. 1, pp. 1–12, Sep. 2021, doi: 10.1038/s41598-021-98607-3.
- [27] M. Arumugam *et al.*, “Green synthesis of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) using *Syzygium cumini*: Potential multifaceted applications on antioxidants, cytotoxic and as nanonutrient for the growth of *Sesamum indicum*,” *Environ Technol Innov*, vol. 23, p. 101653, Aug. 2021, doi: 10.1016/J.ETI.2021.101653.
- [28] D. Asmat-Campos *et al.*, “ZnO Nanoparticles Obtained by Green Synthesis as an Alternative to Improve the Germination Characteristics of *L. esculentum*,” *Molecules* 2022, Vol. 27, Page 2343, vol. 27, no. 7, p. 2343, Apr. 2022, doi: 10.3390/MOLECULES27072343.
- [29] M. Haruta, S. Tsubota, T. Kobayashi, H. Kageyama, M. J. Genet, and B. Delmon, “Low-Temperature Oxidation of CO over Gold Supported on TiO₂, α -Fe₂O₃, and Co₃O₄,” *J Catal*, vol. 144, no. 1, pp. 175–192, Nov. 1993, doi: 10.1006/JCAT.1993.1322.
- [30] B. D. Viezbicke, S. Patel, B. E. Davis, and D. P. Birnie, “Evaluation of the Tauc method for optical absorption edge determination: ZnO thin films as a model system,” *physica status solidi (b)*, vol. 252, no. 8, pp. 1700–1710, Aug. 2015, doi: 10.1002/PSSB.201552007.
- [31] D. K. Singh, D. K. Pandey, R. R. Yadav, and D. Singh, “A study of nanosized zinc oxide and its nanofluid,” *Pramana - Journal of Physics*, vol. 78, no. 5, pp. 759–766, May 2012, doi: 10.1007/S12043-012-0275-8/METRICS.

- [32] A. Villegas-Fuentes, H. E. Garrafa-Gálvez, R. v. Quevedo-Robles, M. Luque-Morales, A. R. Vilchis-Nestor, and P. A. Luque, "Synthesis of semiconductor ZnO nanoparticles using Citrus microcarpa extract and the influence of concentration on their optical properties," *J Mol Struct*, vol. 1281, p. 135067, Jun. 2023, doi: 10.1016/J.MOLSTRUC.2023.135067.
- [33] N. Wang, Y. Yang, and G. Yang, "Great blue-shift of luminescence of ZnO nanoparticle array constructed from ZnO quantum dots," *Nanoscale Res Lett*, vol. 6, no. 1, pp. 1–6, Apr. 2011, doi: 10.1186/1556-276X-6-338/FIGURES/5.
- [34] M. S. Wierzbicka and J. Obidzińska, "The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species," *Plant Science*, vol. 137, no. 2, pp. 155–171, Oct. 1998, doi: 10.1016/S0168-9452(98)00138-1.
- [35] P. G. Lawson, D. Daum, R. Czuderna, H. Meuser, and J. W. Härtling, "Soil versus foliar iodine fertilization as a biofortification strategy for field-grown vegetables," *Front Plant Sci*, vol. 6, no. JUNE, pp. 1–11, Jun. 2015, doi: 10.3389/FPLS.2015.00450/BIBTEX.
- [36] M. Hussain *et al.*, "In vitro germination and biochemical profiling of citrus reticulata in response to green synthesised zinc and copper nanoparticles," *IET Nanobiotechnol*, vol. 11, no. 7, pp. 790–796, Oct. 2017, doi: 10.1049/IET-NBT.2016.0256.
- [37] L. Regni, D. del Buono, M. Micheli, S. L. Facchin, C. Tolisano, and P. Proietti, "Effects of Biogenic ZnO Nanoparticles on Growth, Physiological, Biochemical Traits and Antioxidants on Olive Tree In Vitro," *Horticulturae 2022, Vol. 8, Page 161*, vol. 8, no. 2, p. 161, Feb. 2022, doi: 10.3390/HORTICULTURAE8020161.
- [38] H. T. García-Osuna, L. E. Bocardo, V. Robledo-Torres, A. B. Mendoza, and F. R. Godina, "Germinación y micropropagación de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa*) tetraploide," *Rev Mex De Cienc Agric*, no. 12, pp. 2301–2311, Jan. 2015, doi: 10.29312/REMEXCA.V0I12.763.
- [39] M. O. Adu, T. Cobbinah, P. A. Asare, D. O. Yawson, and K. J. Taah, "Demucilaging Freshly Stored Seeds of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Improves Seedling Emergence and Growth," *J Bot*, vol. 2017, 2017, doi: 10.1155/2017/1938359.
- [40] J. C. Tarafdar, X. YuJie, W. N. Wang, Q. Dong, and P. Biswas, "Standardization of size, shape and concentration of nanoparticle for plant application.," *Appl Biol Res*, vol. 14, no. 2, pp. 138–144, 2012.
- [41] R. H. Lira-Saldivar, B. M. Argüello, G. D. los S. Villarreal, and I. V. Reyes, "Potencial de la nanotecnología en la agricultura," *Acta Univ*, vol. 28, no. 2, pp. 9–24, Jun. 2018, doi: 10.15174/AU.2018.1575.
- [42] D. S. Auld, "Zinc coordination sphere in biochemical zinc sites," *BioMetals*, vol. 14, no. 3–4, pp. 271–313, 2001, doi: 10.1023/A:1012976615056/METRICS.
- [43] K. Kornarzyński, A. Sujak, G. Czernel, and D. Wiącek, "Effect of Fe₃O₄ nanoparticles on germination of seeds and concentration of elements in *Helianthus annuus* L. under constant magnetic field," *Scientific Reports 2020 10:1*, vol. 10, no. 1, pp. 1–10, May 2020, doi: 10.1038/s41598-020-64849-w.