



IMPACTO DE NPsZnO Y MICROORGANISMOS RIZOSFÉRICOS EN EL CRECIMIENTO Y BIOMASA DEL TOMATE †

[IMPACT OF NPsZnO AND RHIZOSPHERIC MICROORGANISMS ON TOMATO GROWTH AND BIOMASS]

Guillermo Vargas-Martínez¹, Rebeca Betancourt-Galindo²,
Antonio Juárez-Maldonado¹, Miriam Sánchez-Vega³ Alberto Sandoval-Rangel¹
and Alonso Méndez López^{1*}

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro#1923. Buenavista. Saltillo, Coahuila. México. C.P.25315. E-mail: ikmemo76@gmail.com, juma841025@gmail.com; alonso1977@gmail.com, asandovalr16@gmail.com

²Centro de Investigación en Química Aplicada. Departamento de Materiales Avanzados. Blvd. Enrique Reyna Herosillo No. 140. Saltillo, Coahuila. México. C.P. 25294. rebeca.betancourt@ciga.edu.mx

³Cátedras CONACYT-UAAAN. Departamento de Parasitología. Calzada Antonio Narro#1923. Buenavista. Saltillo, Coahuila. México. C.P.25315.

mirisanve@gmail.com.

*Corresponding author

SUMMARY

Background. Sustainable agriculture promotes the use of mineral and biological origin inputs that act as plant growth stimulants, such as zinc oxide nanoparticles (NPsZnO) and rhizospheric microorganisms, which have positively intervened in the physiological response of plants, due to their unique properties. **Objective.** To evaluate the effects of NPsZnO applied via foliar and drench, and of rhizospheric microorganisms on the vegetative growth and biomass of tomato plants. **Methodology.** The doses of nanoparticles were applied at: 0, 10 and 30 mg·L⁻¹ and in microorganisms 0 and 10 spores·mL⁻¹. The variables evaluated were: plant height, stem diameter, number of leaves, leaf area, root length and volume, and total biomass. **Results.** It was observed that plant height, stem diameter and number of leaves were higher with the interaction of 10 mg·L⁻¹ of NPsZnO and the microbial consortium. The root length decreased 25.88% with the foliar application of 30 mg·L⁻¹ NPsZnO. Root volume decreased 18.49% with the drench application of 30 mg·L⁻¹ NPsZnO and decreased 29.55% with the foliar application of 10 mg·L⁻¹ NPsZnO. The total biomass increased 15.65% and 28.81%, respectively with the foliar application of 30 mg·L⁻¹ of nanoparticles and when 30 mg·L⁻¹ of NPsZnO was applied in interaction with the microbial consortium. **Implications.** Although root length and volume had a negative effect with the application of NPsZnO, plant height, stem diameter, number of leaves and total biomass structural components for fruit production in tomato plants were promoted by the application of NPsZnO in interaction with rhizospheric microorganisms by generating synergism. **Conclusion.** The dose of the nanoparticles, the application method and the microorganisms in the substrate showed positive synergism in the growth and biomass of tomato plants.

Keywords: *Solanum lycopersicon* L; *Glomus intraradices*; *Azospirillum brasilense*; Nanoparticles

RESUMEN

Antecedentes. La agricultura sustentable promueve el uso insumos de origen mineral y biológicos que actúen como estimulantes del crecimiento vegetal, como las nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) y microorganismos rizosféricos, que han intervenido en la respuesta fisiológica de las plantas de forma positiva, debido a sus propiedades únicas. **Objetivo.** Evaluar los efectos de las NPsZnO aplicados vía foliar y drench, y de microorganismos rizosféricos sobre el crecimiento vegetativo y la biomasa de plantas de tomate. **Metodología.** Las dosis de nanopartículas se aplicaron a: 0, 10 y 30 mg·L⁻¹ y en los microorganismos 0 y 10 esporas·mL⁻¹. Se evaluó: altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas, área foliar, longitud y volumen de raíz y biomasa total. **Resultados.** La altura de planta, diámetro de tallo y número de hojas fue mayor con la interacción de 10 mg·L⁻¹ de NPsZnO y microorganismos rizosféricos. La longitud de raíz disminuyó 25.88% con la aplicación foliar de 30 mg·L⁻¹ NPsZnO. El volumen de raíz disminuyó 18.49% con la aplicación drench de 30 mg·L⁻¹ NPsZnO y disminuyó 29.55% con la aplicación foliar de 10 mg·L⁻¹ NPsZnO. La biomasa total incremento 15.65% y 28.81%, respectivamente con la aplicación foliar de 30 mg·L⁻¹

† Submitted April 20, 2022 – Accepted September 19, 2022. <http://doi.org/10.56369/tsaes.4332>



Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ISSN: 1870-0462.

¹ de nanopartículas y cuando se aplicó 30 mg·L⁻¹ de NPsZnO en interacción con el consocio microbiano. **Implicaciones.** Si bien la longitud y volumen de raíz tuvo efecto negativo con la aplicación de las NPsZnO, la altura de planta, diámetro del tallo, número de hojas y biomasa total componentes estructurales para la producción de frutos en las plantas de tomate fueron promovidos por la aplicación de las NPsZnO en interacción con el consocio microbiano al generarse sinergismo. **Conclusiones.** La dosis de las nanopartículas, el método de aplicación y los microorganismos en el sustrato mostraron sinergismo positivo en el crecimiento y la biomasa de las plantas de tomate.

Palabras clave: *Solanum lycopersicon* L; *Glomus intraradices*; *Azospirillum brasilense*; Nanopartículas.

INTRODUCCIÓN

El uso de nanopartículas en la agricultura está creciendo vertiginosamente por sus aplicaciones en la agricultura como nanofertilizantes, reguladores del crecimiento o como nanopesticidas para tratar enfermedades de plantas y zoonóticas (Yusefi-Tanha *et al.*, 2020), entre otros. Estas aplicaciones son posibles principalmente a propiedades fisicoquímicas nanoespecíficas únicas, como una alta relación área superficial/volumen, mayor reactividad, alta conductividad eléctrica, alta resistencia mecánica y propiedades antimicrobianas (Pokhrel *et al.*, 2012; Hou *et al.*, 2018; Rajput *et al.*, 2018). En este sentido las nanopartículas pueden ser de una gran variedad de elementos y compuestos.

Las propiedades de las nanopartículas metálicas mejoran la biodisponibilidad y la absorción de micronutrientes para las plantas, promoviendo así el crecimiento general de las plantas (Baker *et al.*, 2017). Las nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO), se ha reportado que promueven el crecimiento y desarrollo de las plantas como resultado de su aplicación en cultivos como el maíz, la cebolla, el tomate, el pimiento y el trigo (De la Rosa *et al.*, 2013, Raskar y Laware, 2014; García-López *et al.*, 2018; Esper Neto *et al.*, 2020). Además, el zinc (Zn) es un microelemento esencial para las plantas, ya que desempeña un papel vital en muchas actividades fisiológicas, como en la biosíntesis de clorofila, proteínas y enzimas, incluidos los procesos metabólicos (Singh *et al.*, 2018).

Los microorganismos se asocian epífita y endofíticamente con las plantas, en el suelo de la rizosfera y en la mayor parte del suelo que está cerca del sistema de raíces de las plantas, y pueden promover el crecimiento de las plantas a través de la producción de fitohormonas y sideróforos, la fijación de nitrógeno y la solubilización de fosfato (Abdallah *et al.*, 2019). La especie *Glomus intraradices* pertenece a un grupo llamado hongos micorrízicos arbusculares (HMA) estos forman asociaciones simbióticas mutualistas con las raíces de aproximadamente el 80-90 % de las plantas superiores del planeta y en todos los hábitats de la tierra (Van Der Heijden *et al.*, 2015). La planta proporciona al hongo productos de la fotosíntesis y el hongo libera ácidos orgánicos de bajo peso molecular, que se unen a los iones metálicos en la solución del

suelo, incluidos los iones Al³⁺, Ca²⁺, Cu²⁺, Fe³⁺, Mg²⁺, Mn²⁺ y Zn²⁺, así como fósforo, lo que promueve la meteorización mineral y permite su absorción por las hifas y transporte a las raíces de las plantas (Cardoso *et al.*, 2017; Kleinert, 2018). Aumentan la resistencia de las plantas frente al estrés abiótico o biótico (Islas *et al.*, 2016), promueven el crecimiento de las plantas y aumentan los compuestos bioactivos de estas (Chen *et al.*, 2017). Por otro lado, *Azospirillum brasilense*, se asocia a las raíces de las plantas y destacan por su capacidad de fijación de N atmosférico, seguida de beneficios en la promoción del crecimiento de las plantas a través de la síntesis de fitohormonas (auxinas, giberelinas y citoquininas), que puede conferir a las plantas tolerancia a los estreses abióticos y bióticos (Fukami *et al.*, 2018; Domingues *et al.*, 2020).

El jitomate (tomate rojo) *Solanum lycopersicon* L., pertenece a la familia de las solanáceas, es una de las hortalizas más importantes de México y del mundo, tanto por su importancia económica como por ser fuente de vitaminas, minerales y antioxidantes (SADER, 2020), por lo que, se busca promover su crecimiento vegetal y por ende mayor rendimiento. En este estudio nuestro objetivo fue determinar el efecto de las NPsZnO y su vía de aplicación en interacción con *Glomus intraradices* y *Azospirillum brasilense* sobre el crecimiento vegetativo de plantas de tomate condición de invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio

El estudio se llevó a cabo en el invernadero tipo túnel con cubierta de fibra de vidrio de la Dirección de Investigación de la UAAAN, Sede Saltillo, Coahuila, México. Localizada geográficamente en las coordenadas 25°21'19.7" LN y 101°01'51.5" LO, 1720 m.

Manejo del cultivo

Se utilizaron semillas de tomate híbrido de crecimiento Indeterminado (El CID F1) tipo saladette (*Solanum lycopersicon* L). Se germinaron en charolas de poliestireno de 200 cavidades con una mezcla de sustrato de peatmos + perlita en relación 1:1 (v/v) donde se crecieron durante 32 días. El trasplante se hizo en bolsas polietileno negro de 10 L de capacidad con la mezcla de sustrato antes indicada. La nutrición

de las plántulas y del cultivo se hizo con solución nutritiva (Steiner, 1961), dosificada de acuerdo con la etapa de crecimiento y demanda de la planta. Las plantas se manejaron a un solo tallo con tutorado tipo holandés, la densidad de plantación fue de 6 plantas por m² y el cultivo se mantuvo por 100 días para posteriormente cortar las plantas.

Diseño experimental

El ensayo se estableció bajo un diseño experimental de bloques completos al azar con arreglo factorial 3x2x2 para un total de 12 tratamientos con 8 repeticiones cada uno, considerando una maceta como unidad experimental. La aplicación de NPsZnO fue (0, 10 y 30 mg·L⁻¹), dos vías de aplicación (foliar y drench) y dos concentraciones de microorganismos (0 y 10 esporas mL⁻¹).

Aplicación de los tratamientos

Las nanopartículas de óxido de zinc utilizadas eran esférica con tamaño promedio de 30 nm fueron sintetizadas en el Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA). Las diluciones de las NPsZnO se ajustaron las concentraciones estipuladas (0, 10 y 30 mg·L⁻¹) en agua destilada y fueron dispersadas con un sonicador (VEVOR Ultrasonic CLeaner) por 30 minutos. Las aplicaciones se iniciaron siete días después del trasplante y se repitieron con intervalos de siete días hasta completar siete aplicaciones. La aplicación foliar de las nanopartículas de óxido de zinc se realizó con un atomizador manual cubriendo toda la planta. Para la aplicación vía drench se aplicó 20 mL planta⁻¹ de la solución a la dosis ajustada con una probeta alrededor de la base del tallo de cada una de las plantas de tomate.

Para el consorcio de microorganismos rizosféricos se usó el producto comercial (Biogea Plantek ®) que contiene una concentración de: *Glomus intraradices* 1000 esporas mL⁻¹ y *Azospirillum brasilense* 10 millones de UFC/mL⁻¹, se preparó previamente la solución con las concentraciones especificadas (0 y 10 esporas mL⁻¹) en agua destilada, de la solución resultante se aplicó 20 mL planta⁻¹, estos fueron aplicados sobre la base del tallo de las plantas de tomate a los 15, 30, 45 y 60 días después del trasplante.

Determinación del crecimiento y biomasa

Al finalizar el periodo de evaluación, a los 100 días después del trasplante, se hizo un muestreo destructivo

de las plantas para hacer las mediciones de altura de planta (flexómetro), área foliar total (LI-COR modelo LI-300, Lincoln, Nebraska, USA), número de hojas, longitud de raíz (flexómetro), volumen de raíz (probeta graduada) y para obtener la biomasa total (hojas, tallo, raíz), primero se midió peso fresco, se procedió a secar en una estufa a una temperatura constante de 60° por 48 h, luego se pesó seco con una balanza analítica en ambos casos, al final se calculó: Biomasa total=peso fresco*100/peso seco, por cada variable.

Análisis estadístico

El análisis de los datos se realizó mediante análisis de varianza y una prueba de comparación de medias LSD Fisher (P≤0.05). Se utilizó el paquete estadístico InfoStat versión 2021.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La dosis de las nanopartículas y la presencia de microorganismos en el sustrato de crecimiento afectaron significativamente el crecimiento y la biomasa de las plantas de tomate, mientras que el método de aplicación no tuvo efecto en la altura, número de hojas, Área foliar total y Volumen de raíz (Tabla 1). La altura de la planta (AP) mostró una disminución con la dosis de 10 mg·L⁻¹ respecto al control, mientras que el método de aplicación no afectó la altura de la planta, la aplicación de microorganismos mostró diferencias significativas. Para este parámetro no se observó diferencias significativas de la interacción entre los factores evaluados.

El diámetro de tallo (DT) no mostró diferencias con la dosis más alta en comparación con la dosis de cero, en tanto que la vía de aplicación y la presencia de microorganismos en el sustrato de crecimiento tuvieron diferencias significativas (Tabla 1). Además, se observó diferencias significativas en el diámetro de tallo de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) tratados con nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) por diferentes vías de aplicación y combinada con microorganismos rizosféricos.

El número de hojas no tuvo efecto en las dosis de nanopartículas utilizadas, ni el método de aplicación, ni la aplicación de microorganismos afectaron significativamente este parámetro (Tabla 1). Sin embargo, se observó una interacción en la utilización de nanopartículas a diferentes vías de aplicación y combinada con microorganismos rizosféricos.

Tabla 1. Comparación de medias de variables agronómicas de planta de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) tratados con nanopartículas de óxido de zinc a diferentes dosis, por diferentes vías de aplicación y combinada con microorganismos rizosféricos.

	AP (cm)	DT (mm)	No. Hojas	AF (cm ²)	LR (cm)	VR (cm ³)	BT (gr)
NPsZnO (mg L⁻¹)							
0	154.34a	6.90a	18.88a	4347.19a	63.38a	29.00a	31.32b
10	148.65b	6.47b	18.19b	3861.64a	60.13ab	27.00a	33.76a
30	155.27a	7.08a	19.13a	4669.10a	58.26b	27.50a	35.45a
ANOVA	p ≤ 0.0293	p ≤ 0.0032	p ≤ 0.0091	p ≤ 0.5408	p ≤ 0.1103	p ≤ 0.6403	p ≤ 0.0049
Vía de aplicación							
Foliar	154.61a	7.05a	18.63a	3706.30a	53.68b	29.14a	33.27a
Drench	150.90a	6.59b	18.83a	4878.99a	67.49a	26.53a	33.75a
ANOVA	p ≤ 0.0854	p ≤ 0.0025	p ≤ 0.3945	p ≤ 0.0674	p ≤ 0.0001	p ≤ 0.1631	p ≤ 0.6225
Micr (ml⁻¹)							
0	147.68b	6.62b	18.58a	3940.42a	58.39b	27.97a	32.03b
10	157.82a	7.01a	18.88a	4644.87a	62.78a	27.69a	34.99a
ANOVA	p ≤ 0.0001	p ≤ 0.0083	p ≤ 0.2355	p ≤ 0.2505	p ≤ 0.0446	p ≤ 0.8791	p ≤ 0.0041
Interacciones							
NPs*Vía	p ≤ 0.4729	p ≤ 0.0572	p ≤ 0.3441	p ≤ 0.7096	p ≤ 0.1492	p ≤ 0.1155	p ≤ 0.0057
NPs*Micr	p ≤ 0.1568	p ≤ 0.0001	p ≤ 0.0002	p ≤ 0.7032	p ≤ 0.1781	p ≤ 0.0101	p ≤ 0.0001
Vía*Micr	p ≤ 0.3982	p ≤ 0.2939	p ≤ 0.1296	p ≤ 0.8991	p ≤ 0.0684	p ≤ 0.7155	p ≤ 0.0171
NPs*Vía*Micr	p ≤ 0.1830	p ≤ 0.2750	p ≤ 0.7669	p ≤ 0.5450	p ≤ 0.0865	p ≤ 0.9138	p ≤ 0.1675

NPsZnO= nanopartículas de óxido de zinc, Micr=Microorganismos, AP=altura de planta, DT=diámetro de tallo, No. hojas= Número de hojas, AF=Área foliar (AF), LR= Longitud de raíz, VR= volumen de raíz, BT=biomasa total.: Medias con letras diferentes en la misma columna hay diferencias significativas (LSD Fisher p ≤ 0.05).

La longitud de raíz (LR) fue menor cuando se aplicó la dosis más alta de nanopartículas, sin embargo, este parámetro fue afectado significativamente por la vía de aplicación y la presencia de microorganismos en el sustrato de crecimiento (Tabla 1). En este parámetro no se observó interacción entre los factores.

La biomasa total (BT) aumentó cuando se aplicaron las nanopartículas, este parámetro también fue afectado significativamente por la aplicación de microorganismo rizosféricos, en tanto que el método de aplicación no tuvo efecto significativo sobre la biomasa total de la planta (Tabla 1), además se observaron diferencias significativas en la biomasa total de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) tratados con nanopartículas de óxido de zinc por diferentes vías de aplicación y combinada con microorganismos rizosféricos.

Los parámetros área foliar y volumen de raíz no se vieron afectados en forma significativa por la dosis de

nanopartículas ni por el método de aplicación, en estas variables tampoco mostro efecto la presencia de microorganismos en el sustrato de crecimiento (Tabla 1). Sin embargo, se observó diferencias significativas en el área foliar de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) tratados con nanopartículas de óxido de zinc por diferentes vías de aplicación y combinada con microorganismos rizosféricos.

Altura de la planta

La altura de la planta no mostro diferencias significativas, en los tratamientos con nanopartículas de óxido de zinc por diferentes vías de aplicación (Figura 1a). Sin embargo, se presentó una tendencia positiva al utilizar el consorcio de microorganismos al sustrato de crecimiento sin importar la dosis de nanopartículas aplicadas (Figura 1b) siendo la dosis de 30 mg·L⁻¹ de nanopartículas en combinación con 10 mL⁻¹ de microorganismos la que promovió 5.53% de incremento respecto al control. Por otro lado, la altura

de la planta fue menor 3.97% cuando se aplicó 10 mg·L⁻¹ de nanopartículas vía drench (Figura 1a), este efecto negativo en la altura de la planta fue mayor (disminución de 7.08%) al aplicar la misma dosis de 10 mg·L⁻¹ de nanopartículas, pero sin aplicar microorganismos al sustrato de crecimiento (Figura 1b). Aun con esta tendencia positiva, estos resultados no fueron estadísticamente significativos, y difieren con Sheoran *et al.* (2021) quienes reportan que la concentración de 80 mg·L⁻¹ de NPsZnO, provocó un aumento en la altura de la planta, el rendimiento y la acumulación de biomasa en *Triticum aestivum*, aunque la dosis que utilizaron fue más alto, se observó un efecto de las NP. Madhaiyan *et al.* (2010) reportaron que al inocular semillas de tomate y pimiento rojo con *A. brasilense*, la longitud de la raíz fue de 9.68 y 6.76 cm, mientras que los tratamientos controles presentaron 7.21 y 6.20 cm respectivamente, además se observó aumento en el área foliar de las plantas inoculadas. En otro estudio, Gunina *et al.* (2017) reportaron que las inoculaciones con consorcios microbianos benéficos tuvieron resultados significativos sobre las inoculaciones simples o individuales, debido a que al aumentar la biomasa microbiana se promueve el crecimiento de la planta de varias maneras, particularmente por la mejor asimilación de fósforo y nitrógeno. Además, esta interacción entre planta y microorganismos tiene efecto positivo en la salud y productividad de los cultivos (Laili *et al.*, 2017). En nuestro caso los resultados que obtuvimos respecto al efecto del consorcio microbiano contrastan con lo reportado por los autores citados.

Diámetro de Tallo

En el diámetro de tallo, aunque se observó tendencias en el comportamiento de los tratamientos, no se presentaron diferencias significativas en los tratamientos con nanopartículas de óxido de zinc por diferentes vías de aplicación (Figura 2a), la interacción entre nanopartículas con el consorcio de microorganismos, tampoco mostró un efecto positivo (Figura 2b). No obstante, este parámetro disminuyó 15.47% al aplicar la dosis de 10 mg·L⁻¹ de nanopartículas, pero cuando no se aplicó microorganismos al sustrato de crecimiento con respecto al control correspondiente (Figura 2b). Los efectos positivos de las nanopartículas han sido reportados por Sharma y Singh (2021), quienes trataron semillas de arroz (*Oryza sativa*) con 20 mg·L⁻¹ de NPsZnO, los resultados mostraron un incremento mayor de 50% del peso seco, absorción relativa de agua de las semillas y longitud de la radícula de la plántula, lo que podemos sugerir de este trabajo, es que las diferencias de las especies responden diferente a los tratamientos. Tarafdar *et al.* (2014) reportaron que las NPsZnO promovieron el crecimiento en el cultivo de sorgo (*Pennisetum americanum*), sobre todo la longitud del tallo presentó un incremento significativo en comparación con las plantas del tratamiento control. Por otro lado, Raskar y Laware (2014), reportaron que las NPsZnO afectaron en forma negativa la longitud y la biomasa de los brotes y las raíces de plántulas de cebolla tras la exposición a concentraciones de 10, 20, 30 y 40 mg·L⁻¹, estos resultados son correspondientes con los encontrados en este trabajo con la dosis 10 mg·L⁻¹, por lo que, el efecto adverso de estas nanopartículas puede ser recurrentes incluso a dosis bajas.

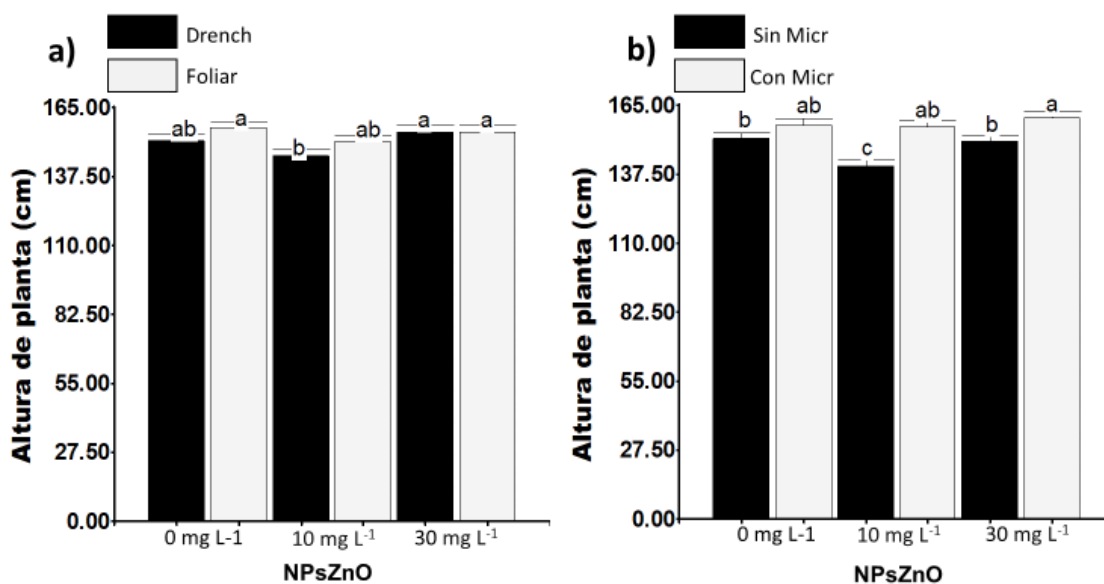


Figura 1. Altura de planta de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) tratados con nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) por diferentes vías de aplicación(a) y combinada con microorganismos rizosféricos (b). Letras diferentes entre columnas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$).

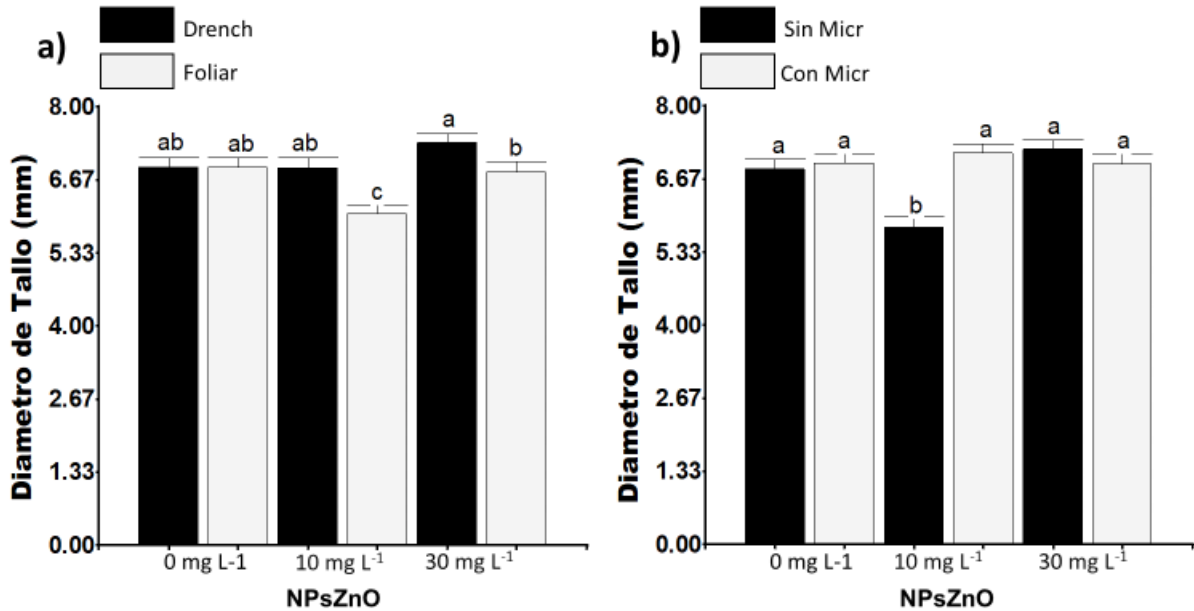


Figura 2. Diámetro de Tallo de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) tratados con nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) por diferentes vías de aplicación(a) y combinada con microorganismos rizosféricos (b). Letras diferentes entre columnas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$).

Por otro lado, los microorganismos tienen efecto positivo sobre el crecimiento de las plantas ya sea aplicados en forma independiente o combinado, en nuestro caso no se observó ningún efecto significativo. En este contexto, se ha reportado efectos positivos por la aplicación de *Azospirillum* sp., al promover el crecimiento de las raíces y aumentar el grosor de tallo, incrementar la absorción de agua y nutrientes, y del crecimiento general de las plantas (Vejan *et al.*, 2016). A su vez, *Gloumus* sp., promueve el crecimiento y aumenta los componentes bioactivos en las plantas tratadas (Chen *et al.*, 2017). El uso de nanopartículas puede haber afectado el resultado esperado por sí solo de la inoculación del consorcio de microorganismos.

Longitud de raíz

La longitud de raíz no presentó diferencias significativas, en los tratamientos con nanopartículas de óxido de zinc por diferentes vías de aplicación (Figura 3a). Este efecto de las nanopartículas también se observó en interacción con el consorcio de microorganismos rizosféricos (Figura 3b). Además, la longitud de raíz fue menor cuando se utilizó la dosis de 30 mg·L⁻¹ nanopartículas vía de aplicación foliar en un 25.88% que cuando esta concentración se aplicó vía drench (Figura 3a) y disminuyó 14.32% cuando no se aplicó microorganismos al sustrato de crecimiento (Figura 3b).

La longitud de raíz mostró una tendencia negativa al aplicar por vía folia las NPsZnO, en cambio la aplicación drench no mostró este efecto negativo, y puede estar relacionado con el tamaño de las NPs, en este trabajo se utilizó NPsZnO con diámetro 30 nm., Se ha reportado que algunas NPs indujeron nuevos poros en la pared celular epidérmica y facilitó su entrada a la raíz (Lin y Xing, 2008, Du *et al.*, 2011), una vez atravesadas las paredes celulares, las NPs se transportan de forma apoplástica a través de los espacios extracelulares hasta que alcanzan el cilindro vascular central, lo que permite que la xilema se mueva unidireccionalmente hacia arriba (Ali *et al.*, 2021), lo que podría sugerir que las NPsZnO aplicadas por vía drench al estar en contacto directo con las raíces son absorbidas directamente y estimulan su desarrollo.

Previamente se ha reportado el efecto positivo de las nanopartículas aplicadas por vía drench sobre la longitud de raíz. Faizan *et al.* (2018) expusieron raíces de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) a NPsZnO a concentraciones de 2, 4, 8 y 16 mg·L⁻¹ durante 15, 30 y 45 min., el máximo incremento de la longitud de raíz en las plantas expuestas se obtuvo con 8 mg·L⁻¹ de NPsZnO durante 30 min con 28.6% comparado con el control, además mejoró los valores de longitud de brotes (35.8 %), peso fresco y seco de brotes (21.9 y 27.6%, respectivamente) y peso fresco y seco de raíces (19.9 y 27.7%, respectivamente) fueron más altos en comparación con el control, esto contrasta con los resultados obtenidos en este trabajo.

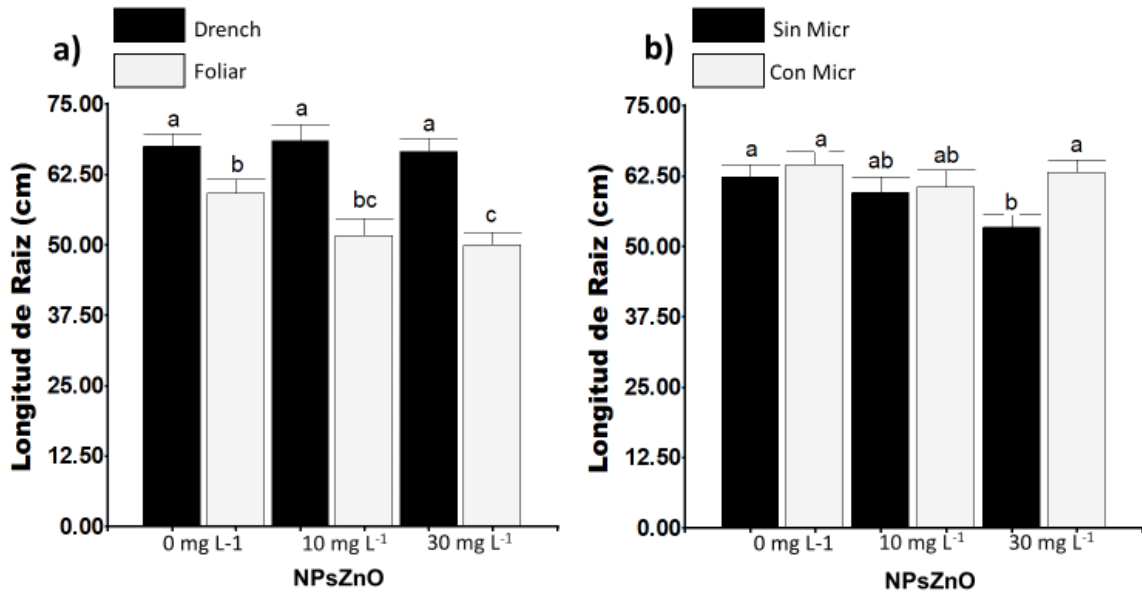


Figura 3. Longitud de raíz de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) tratados con nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) por diferentes vías de aplicación (a) y combinada con microorganismos rizosféricos (b). Letras diferentes entre columnas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$).

Volumen de raíz

El volumen de raíz fue menor 18.49% con la dosis de nanopartículas a 30 mg·L⁻¹ y la vía drench respecto al control, no obstante, este parámetro incremento 9.26% con la aplicación de nanopartículas a 30 mg·L⁻¹ por vía foliar (Figura 4a) respecto al control. No obstante, también se han reportado efectos negativos por la aplicación de NP de ZnO en cebolla, mostaza india y colza (Raskar y Laware, 2014; Rao y Shekhawat, 2014; Mousavi Kouhi *et al.*, 2015).

La vía de aplicación drench de NP a ciertas concentraciones puede tener un efecto adverso al esperado. En este sentido, Mousavi Kouhi *et al.* (2015) reportan que las NP de ZnO <50 nm de tamaño a una exposición de 100 µg mL⁻¹ en hidroponía disminuyeron el crecimiento y la biomasa de colza y el volumen de raíz se vio afectado por la vía de aplicación drench, a la vez que la dosis podría marcar la diferencia entre los efectos positivo o negativos dependiendo de la respuesta de la planta a estas concentraciones y su capacidad para asimilarlas.

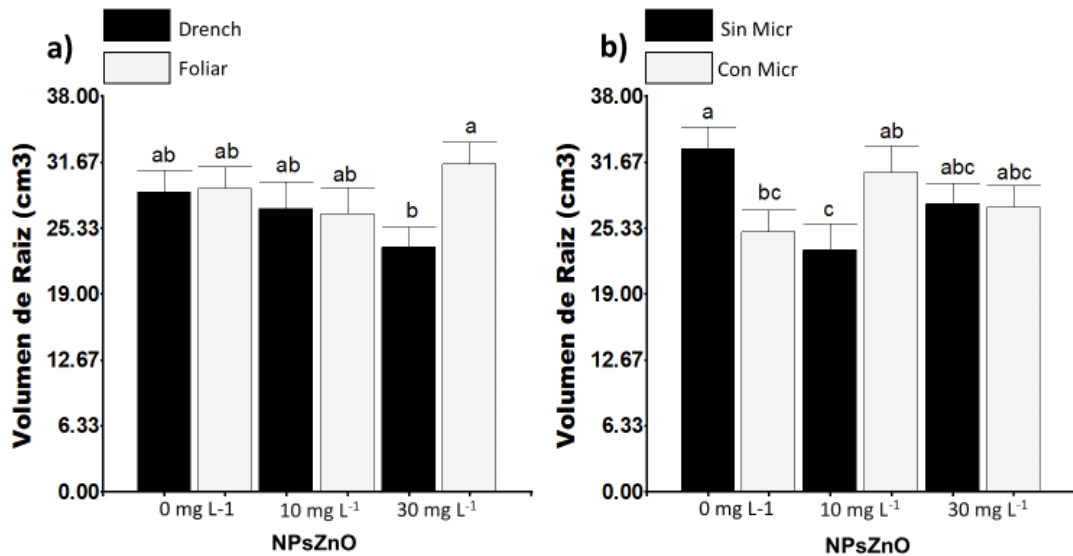


Figura 4. Volumen de raíz de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) tratados con nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) por diferentes vías de aplicación (a) y combinada con microorganismos rizosféricos (b). Letras diferentes entre columnas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$).

Los efectos observados en los tratamientos con microorganismos (Figura 4b) contrastan con lo reportado por (Dal Cortivo *et al.*, 2017) quienes aplicaron un consorcio de PGPR y bacterias fijadoras de N el resultado fue que las bacterias aumentaron el número de puntas de raíces y ramificaciones en un 65% en comparación de control no inoculado. Sin embargo, los valores del volumen de raíz pueden estar influenciados por el método de separación de la raíz del sustrato, ya que el crecimiento de raíces en contenedores generalmente se caracteriza por una extensa colonización de raíces en el borde del contenedor (Cannavo *et al.*, 2011). Asimismo, la mayor diferenciación hacia raíces muy finas < 0.2 mm de diámetro está restringida por la precisión del lavado de raíces y la resolución del análisis de imágenes (Himmelbauer *et al.*, 2004): al realizar el lavado de raíz puede haber roturas en raíces con diámetros más pequeños, y es posible que con el lavado e incluso en el almacenamiento de muestras de raíces se produzcan pérdidas, y en consecuencia afecta el resultado del volumen de raíz.

Biomasa total

La biomasa total fue estadísticamente diferente, en donde hubo un incremento 15.65% con la aplicación foliar de la dosis de 30 mg·L⁻¹ de nanopartículas, comparado con el control drench (Figura 5a). También la interacción con el consorcio microbiano afecta positivamente la biomasa total, este incrementó (28.81%) cuando se aplicó 30 mg·L⁻¹ de nanopartículas en interacción con el consorcio microbiano en el sustrato de crecimiento, comparado con el control (Figura 5b). El efecto sobre la biomasa total se vio afectada positivamente de acuerdo con la dosis y la vía de aplicación de nanopartículas de ZnO

y por la presencia de microorganismos en el medio de crecimiento. En este sentido, Sheoran *et al.* (2021) indicaron que la concentración de 80 mg·L⁻¹ de NPsZnO, provocó un aumento en la altura de la planta, las semillas por espiga, el peso de la semilla, el rendimiento y la acumulación de biomasa en trigo (*Triticum aestivum*), y (Palacio-Márquez *et al.*, 2021) reportaron que la aplicación foliar de 25 mg·L⁻¹ de nanopartículas de ZnO y 50 mg·L⁻¹ de nitrato de zinc favorecieron la acumulación y producción de biomasa en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*), además indican que dosis más bajas afectan esta variable. Así mismo, Ghani *et al.* (2022) aplicaron vía foliar nanopartículas de óxido de zinc a (25 y 100 mg·L⁻¹) en pepino sometido a estrés por sequía. Las nanopartículas aplicadas en condiciones normales dieron como resultado un crecimiento significativo y una mejora en la biomasa, al tiempo que reducían el declive inducido por la sequía. Estos resultados son similares con los encontrados en este trabajo y sugiere que la dosis de 30 mg·L⁻¹ de nanopartículas de ZnO es adecuada para estimular el crecimiento vegetativo del tomate.

El efecto estimulante del crecimiento vegetativo en el tomate se atribuye al zinc (Zn) debido a que es un elemento vital en muchos procesos fisiológicos, como en la biosíntesis de clorofila, proteínas y enzimas, incluidos los procesos metabólicos (Singh *et al.*, 2018). Además, el zinc se puede utilizar como cofactor de varias enzimas, como la catalasa y el superóxido dismutasa, para prevenir el daño oxidativo de las células vegetales (Raliya *et al.*, 2016). Las plantas absorben las NPsZnO a un ritmo más alto y con mayor viabilidad en comparación con el tamaño macro (Prasad *et al.*, 2012).

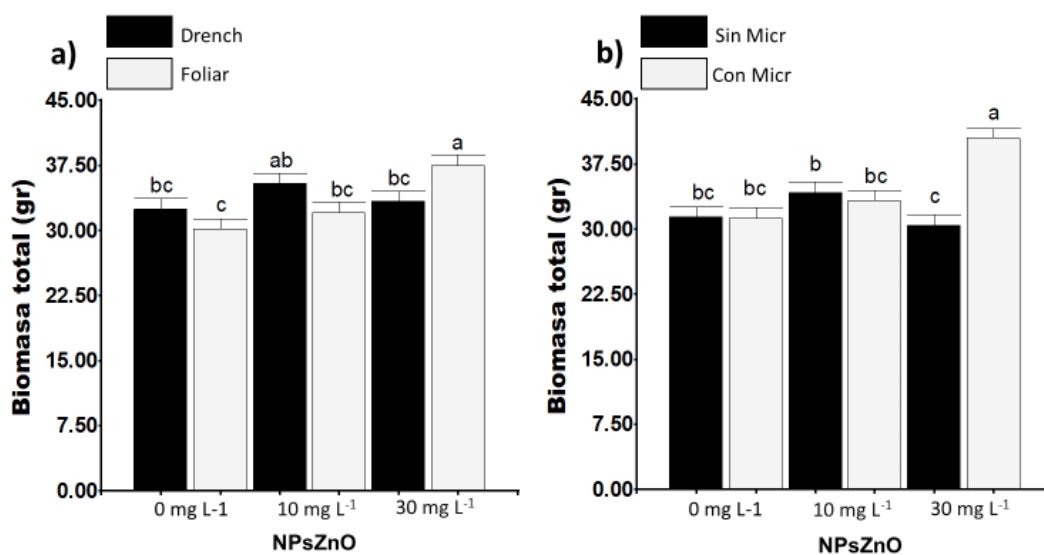


Figura 5. Biomasa total de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) tratados con nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) por diferentes vías de aplicación(a) y combinada con microorganismos rizosféricos (b). Letras diferentes entre columnas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$).

Por otro lado, se ha comprobado que NPsZnO en la rizosfera del frijol mungo aumenta significativamente la forma disponible de P, y la población microbiana del suelo (Mahajan *et al.*, 2011). Esto se confirma por el aumento de la actividad deshidrogenasa, que es una medida de la actividad microbiana y la absorción de P en el suelo por parte de las plantas (Ali *et al.*, 2021) y este resultado podría sugerir un sinergismo en la combinación de nanopartículas de ZnO y microorganismos, como el que se observó en el presente trabajo. Por otro lado, el efecto adverso sobre la variable de biomasa total puede deberse a la concentración de nanopartículas y la vía de aplicación. Wang *et al.* (2018) ha propuesto que los efectos tóxicos de las nanopartículas de ZnO son ocasionados por un contenido reducido de clorofila y un sistema fotoquímico dañado, lo que a su vez limita la fotosíntesis y por ende la reducción de la acumulación de biomasa.

Creo que las próximas investigaciones deberían considerarse mayores dosis, ya que la mayoría de los resultados no tienen diferencias significativas y no se ve el efecto promotor, el efecto que es claro en la biomasa es la aplicación de 30 mg y con el consorcio de microorganismos., por lo que no son del todo consistentes con los reportados previamente para cultivos como maíz, cebolla, tomate, pimiento y trigo (De la Rosa *et al.*, 2013; Raskar y Laware., 2014; García-López *et al.*, 2018; Esper Neto *et al.*, 2020).

CONCLUSIONES

Las nanopartículas de ZnO en interacción con el consorcio microbiano (*Glomus intraradices* y *Azospirillum brasilense*) promovieron el crecimiento vegetativo y acumulación de biomasa de las plantas de tomate. Se observó efectos positivos en la altura de la planta, el grosor del tallo y la longitud de la raíz con la aplicación vía drench de 30 mg·L⁻¹ de NPsZnO en combinación con el consorcio de microorganismos rizosféricos en el medio de crecimiento. El volumen de raíz y la biomasa total se vio afectada positivamente por la aplicación foliar de 30 mg·L⁻¹ de NPsZnO, sin embargo, el impacto en estos parámetros fue mayor cuando hubo interacción con el consorcio microbiano, evidenciando sinergismo positivo entre estos bioestimulantes.

La información disponible sobre el efecto promotor del crecimiento de la planta tomate de los microorganismos rizosféricos actuando en interacción con las NPsZnO actualmente es nula o muy limitada, por lo que, este trabajo podría representar un parteaguas para el estudio sobre el sinergismo entre estos dos bioestimulantes.

Acknowledgement

To the Autonomous Agrarian University Antonio Narro (UAAAN), for all the facilities to carry out the study.

Funding. National Council of Science and Technology (CONACYT), for the scholarship granted to carry out my studies of Masters of Science in Horticulture.

Conflict of interests. The authors declare that this document has no conflicts of interest.

Compliance with ethical standards. Due to the nature of the work, it does not require the approval of a bioethics committee.

Data availability. The data presented in this contribution is available in its entirety, upon reasonable request from the corresponding author.

Author contribution statement (CRediT). **A. Méndez-López** Conceptualization, supervision, formal analysis and writing of the original draft., **G. Vargas-Martínez** Conceptualization, formal analysis, writing of the original draft., **R. Betancourt-Galindo** Acquisition, writing-revision and edition., **A. Juárez-Maldonado** drafting-revision and editing., **M. Sánchez-Vega** drafting-revision and editing., **A. Sandoval-Rangel** drafting-revision and editing.

REFERENCIAS

- Abdallah, Y., Yang, M., Zhang, M., Masum, M.M., Ogunyemi, S.O., Hossain, A., An, Q., Yan, C. and Li, B., 2019. Plant growth promotion and suppression of bacterial leaf blight in rice by *Paenibacillus polymyxa* Sx3. *Letters in Applied Microbiology*, 68(5), pp. 423-429. <https://doi.org/10.1111/lam.13117>
- Ali, S., Mehmood, A. and Khan, N., 2021. Uptake, translocation, and consequences of nanomaterials on plant growth and stress adaptation. *Journal of Nanomaterials*, vol. 2021, Article ID 6677616, 17 p., 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6677616>
- Baker, S., Volova, T., Prudnikova, S. V., Satish, S. and Prasad, N., 2017. Nanoagroparticles emerging trends and future prospect in modern agriculture system. *Environmental toxicology and pharmacology*, 53, pp. 10-17. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2017.04.012>
- Cannavo, P., Hafidhi, H. and Michel, J.C., 2011. Impact of root growth on the physical properties of peat substrate under a constant water regimen. *HortScience*, 46(10), pp. 1394-1399.

- <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.46.10.1394>
- Cardoso, E.J., Nogueira, M.A. and Zangaro, W., 2017. Importance of mycorrhizae in tropical soils. In *Diversity and Benefits of Microorganisms from the Tropics*, pp. 245-267. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-55804-2_11
- Chen, M., Yang, G., Sheng, Y., Li, P., Qiu, H., Zhou, X., Huang L. and Chao, Z., 2017. *Glomus mosseae* inoculation improves the root system architecture, photosynthetic efficiency and flavonoids accumulation of liquorice under nutrient stress. *Frontiers in Plant Science*, 8, pp. 931. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00931>
- Dal Cortivo, C., Barion, G., Visioli, G., Mattarozzi, M., Mosca, G. and Vamerli, T., 2017. Increased root growth and nitrogen accumulation in common wheat following PGPR inoculation: Assessment of plant-microbe interactions by ESEM. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 247, pp. 396-408. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.07.006>
- De la Rosa, G., López-Moreno, M.L., de Haro, D., Botez, C.E., Peralta-Videa, J.R. and Gardea-Torresdey, J.L., 2013. Effects of ZnO nanoparticles in alfalfa, tomato, and cucumber at the germination stage: root development and X-ray absorption spectroscopy studies. *Pure and Applied Chemistry*, 85(12), pp. 2161-2174. <https://doi.org/10.1351/pac-con-12-09-05>
- Domingues, D.C.F., Cecato, U., Trento Biserra, T., Mamédio, D. and Galbeiro, S., 2020. *Azospirillum* spp. en gramíneas y forrajeras. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 11(1), pp. 223-240. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i1.4951>
- Du, W., Sun, Y., Ji, R., Zhu, J., Wu, J. and Guo, H., 2011. TiO₂ and ZnO nanoparticles negatively affect wheat growth and soil enzyme activities in agricultural soil. *Journal of Environmental Monitoring*, 13(4), pp. 822-828. <https://doi.org/10.1039/C0EM00611D>
- Esper Neto, M., Britt, D.W., Lara, L.M., Cartwright, A., dos Santos, R.F., Inoue, T.T. and Batista, M.A., 2020. Initial development of corn seedlings after seed priming with nanoscale synthetic zinc oxide. *Agronomy*, 10(2), pp. 307. <https://doi.org/10.3390/agronomy10020307>
- 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), pp. 678-686. <https://doi.org/10.1007/s11099-017-0717-0>
- Fukami, J., Cerezini, P. and Hungria, M., 2018. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. *Ambio Express*, 8(1), pp. 1-12. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0608-1>
- García-López, J.I., Zavala-García, F., Olivares-Sáenz, E., Lira-Saldívar, R.H., Díaz Barriga-Castro, E., Ruiz-Torres, N.A., Ramos-Cortez E., Vázquez-Alvarado R. and Niño-Medina, G., 2018. Zinc oxide nanoparticles boosts phenolic compounds and antioxidant activity of *Capsicum annum* L. during germination. *Agronomy*, 8(10), pp. 215. <https://doi.org/10.3390/agronomy8100215>
- Ghani, M.I., Saleem, S., Rather, S.A., Rehmani, M.S., Alamri, S., Rajput, V.D., Kalaji H.M., Sial T.A. and Liu, M., 2022. Foliar application of zinc oxide nanoparticles: An effective strategy to mitigate drought stress in cucumber seedling by modulating antioxidant defense system and osmolytes accumulation. *Chemosphere*, 289, 133202. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133202>
- Gunina, A., Smith, A.R., Godbold, D.L., Jones, D.L. and Kuzyakov, Y., 2017. Response of soil microbial community to afforestation with pure and mixed species. *Plant and Soil*, 412(1), pp. 357-368. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-3073-0>
- Himmelbauer, M.L., 2004. Estimating length, average diameter and surface area of roots using two different image analyses systems. *Plant and soil*, 260 (1), pp. 111-120. <https://doi.org/10.1023/B:PLSO.0000030171.28821.55>
- Hou, J., Wu, Y., Li, X., Wei, B., Li, S. and Wang, X., 2018. Toxic effects of different types of zinc oxide nanoparticles on algae, plants, invertebrates, vertebrates and microorganisms. *Chemosphere*, 193, pp. 852-860. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.077>

- Islas, A.T., Guijarro, K.H., Eyherabide, M., Rozas, H.S., Echeverria, H.E. and Covacevich, F., 2016. Can soil properties and agricultural land use affect arbuscular mycorrhizal fungal communities indigenous from the Argentinean Pampas soils?. *Applied Soil Ecology*, 101, pp. 47-56. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.01.005>
- Kleinert, A., Benedito, V.A., Morcillo, R.J.L., Dames, J., Cornejo-Rivas, P., Zuniga-Feest, A., Delgado M. and Muñoz, G., 2018. Morphological and symbiotic root modifications for mineral acquisition from nutrient-poor soils. In *Root Biology*, pp. 85-142. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-75910-4_4
- Laili, N.S., Radziah, O. and Zaharah, S.S., 2017. Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their effects on growth of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.). *Bangladesh Journal of Botany*, 46(1), pp. 277-282. <http://www.bdbotsociety.org/.../04.pdf>
- Lin, D. and Xing, B., 2008. Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles. *Environmental Science & Technology*, 42(15), pp. 5580-5585. <https://doi.org/10.1021/es800422x>
- Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Kwon, S.W. and Sa, T.M., 2010. *Bacillus methylotrophicus* sp. nov., a methanol-utilizing, plant-growth-promoting bacterium isolated from rice rhizosphere soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(10), pp. 2490-2495. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.015487-0>
- Mahajan, P., Dhoke, S.K. and Khanna, A.S., 2011. Effect of nano-ZnO particle suspension on growth of mung (*Vigna radiata*) and gram (*Cicer arietinum*) seedlings using plant agar method. *Journal of Nanotechnology*, 2011. <https://doi.org/10.1155/2011/696535>
- Mousavi Kouhi, S.M., Lahouti, M., Ganjeali, A. and Entezari, M.H., 2015. Long-term exposure of rapeseed (*Brassica napus* L.) to ZnO nanoparticles: anatomical and ultrastructural responses. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(14), pp. 10733-10743. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4306-0>
- Oliveira, R.G., Noordwijk, M.V., Gaze, S.R., Brouwer, G., Bona, S., Mosca, G. and Hairiah, K., 2000. Auger sampling, ingrowth cores and pinboard methods. In *Root Methods*, pp. 175-210. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-04188-8_6
- Palacio-Márquez, A., Ramírez-Estrada, C.A., Gutiérrez-Ruelas, N.J., Sánchez, E., Ojeda-Barrios, D.L., Chávez-Mendoza, C. and Sida-Arreola, J.P., 2021. Efficiency of foliar application of zinc oxide nanoparticles versus zinc nitrate complexed with chitosan on nitrogen assimilation, photosynthetic activity, and production of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Scientia Horticulturae*, 288, pp. 110297. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110297>
- Pokhrel, L.R., Silva, T., Dubey, B., El Badawy, A.M., Tolaymat, T.M. and Scheuerman, P.R., 2012. Rapid screening of aquatic toxicity of several metal-based nanoparticles using the MetPLATE™ bioassay. *Science of the Total Environment*, 426, pp. 414-422. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.03.049>
- Pokluda, R., Ragasová, L., Jurica, M., Kalisz, A., Komorowska, M., Niemiec, M. and Sekara, A., 2021. Effects of growth promoting microorganisms on tomato seedlings growing in different media conditions. *PLoS One*, 16(11), e0259380. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0259380>
- Prasad, T.N.V.K.V., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Reddy, K.R., Sreeprasad T.S., Sajanlal P.R. and Pradeep, T., 2012. Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of Plant Nutrition*, 35(6), pp. 905-927. <https://doi.org/10.1080/01904167.2012.663443>
- Rajput, V., Minkina, T., Fedorenko, A., Sushkova, S., Mandzhieva, S., Lysenko, V., Duplii N., Fedorenko G., Dvadenko K. and Ghazaryan, K., 2018. Toxicity of copper oxide nanoparticles on spring barley (*Hordeum sativum* distichum). *Science of the Total Environment*, 645, pp. 1103-1113. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.211>

- Raliya, R., Franke, C., Chavalmane, S., Nair, R., Reed, N. and Biswas, P., 2016. Quantitative understanding of nanoparticle uptake in watermelon plants. *Frontiers in Plant Science*, 7, pp. 1288. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01288>
- Rao, S. and Shekhawat, G.S., 2014. Toxicity of ZnO engineered nanoparticles and evaluation of their effect on growth, metabolism and tissue specific accumulation in *Brassica juncea*. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(1), pp. 105-114. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2013.11.029>
- Raskar, S.V. and Laware, S.L., 2014. Effect of zinc oxide nanoparticles on cytology and seed germination in onion. *International Journal Current Microbiology Applied Science*, 3(2), pp. 467-473.
- Ruttkey-Nedecky, B., Krystofova, O., Nejd, L. and Adam, V., 2017. Nanoparticles based on essential metals and their phytotoxicity. *Journal of nanobiotechnology*, 15(1), pp. 1-19. <https://doi.org/10.1186/s12951-017-0268-3>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020. El jitomate, hortaliza mexicana de importancia mundial. Recuperado de: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/el-jitomate-hortaliza-mexicana-de-importancia-mundial?idiom=es#:~:text=El%20jitomate%20es%20uno%20de,B1%2C%20B2%2C%20y%20C.>
- Sharma, D., Afzal, S. and Singh, N.K., 2021. Nanopriming with phytosynthesized zinc oxide nanoparticles for promoting germination and starch metabolism in rice seeds. *Journal of Biotechnology*, 336, pp. 64-75. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2021.06.014>
- Sheoran, P., Grewal, S., Kumari, S. and Goel, S., 2021. Enhancement of growth and yield, leaching reduction in *Triticum aestivum* using biogenic synthesized zinc oxide nanofertilizer. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 32, pp. 101938. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.101938>
- Singh, A., Singh, N.Á., Afzal, S., Singh, T. and Hussain, I., 2018. Zinc oxide nanoparticles: a review of their biological synthesis, antimicrobial activity, uptake, translocation and biotransformation in plants. *Journal of Materials Science*, 53(1), pp. 185-201. <https://doi.org/10.1007/s10853-017-1544-1>
- Steiner, A.A., 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and Soil*, 15(2), pp. 134-154. <https://doi.org/10.1007/BF01347224>
- Tarafdar, J. C., Raliya, R., Mahawar, H. and Rathore, I., 2014. Development of zinc nanofertilizer to enhance crop production in pearl millet (*Pennisetum americanum*). *Agricultural Research*, 3(3), pp. 257-262. <https://doi.org/10.1007/s40003-014-0113-y>
- Van der Heijden, M.G., Martin, F.M., Selosse, M.A. and Sanders, I.R., 2015. Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. *New phytologist*, 205(4), pp. 1406-1423. <https://doi.org/10.1111/nph.13288>
- Van Noordwijk, M. and Floris, J., 1979. Loss of dry weight during washing and storage of root samples. *Plant and Soil*, pp. 239-243. <http://www.jstor.org/stable/42934958>
- Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S. and Nasrulhaq Boyce, A., 2016. Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability-A Review. *Molecules* (Basel, Switzerland), 21(5), pp. 573. <https://doi.org/10.3390/molecules21050573>
- Wang, W.N., Tarafdar, J.C. and Biswas, P., 2013. Nanoparticle synthesis and delivery by an aerosol route for watermelon plant foliar uptake. *Journal of nanoparticle research*, 15(1), pp. 1-13. <https://doi.org/10.1007/s11051-013-1417-8>
- Wang, X.P., Li, Q.Q., Pei, Z.M. and Wang, S.C., 2018. Effects of zinc oxide nanoparticles on the growth, photosynthetic traits, and antioxidative enzymes in tomato plants. *Biologia Plantarum*, 62(4), pp. 801-808. <https://doi.org/10.1007/s10535-018-0813-4>
- Yusefi-Tanha, E., Fallah, S., Rostamnejadi, A. and Pokhrel, L.R., 2020. Zinc oxide nanoparticles (ZnONPs) as nanofertilizer: Improvement on seed yield and antioxidant defense system in soil grown soybean (*Glycine max* cv. Kowsar). *BioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.04.13.0396>