

Efecto de nanopartículas de hidroxiapatita en el desarrollo y germinación de *Cucumis Sativus* L.

Effect of hydroxyapatite nanoparticles on the development and germination of *Cucumis Sativus* L.

Guadalupe López-Martínez¹ ,
Norma Ruiz-Torres² ,
Enrique Díaz-Barriga-Castro³ ,
Ricardo Hugo Lira-Saldívar³ ,
Isaías López Hernández⁴ ,
Jesús Luna Anguiano¹ ,
Eduardo Arón Flores-Hernández^{1*} 

¹Departamento de Suelos-Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna. Periférico Raúl López Sánchez y Carretera a Santa Fe, CP. 27054. Torreón, Coahuila, México.

²Departamento de Fitomejoramiento-Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. CP. 25315. Saltillo, Coahuila, México.

³Centro de Investigación en Química Aplicada. Blvd. Enrique Reyna Hermosillo No. 140. CP. 25294. Saltillo, Coahuila, México.

⁴Departamento de Biología-Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna. Periférico Raúl López Sánchez y Carretera a Santa Fe. CP. 27054. Torreón, Coahuila, México.

*Autor de correspondencia: sica1208@hotmail.es

Artículo científico

Recibido: 28 de enero 2023

Aceptado: 04 de diciembre 2023

Como citar: López-Martínez G, Ruiz-Torres N, Díaz-Barriga-Castro E, Lira-Saldívar RH, López Hernández I, Luna-Anguiano J, Flores-Hernández EA (2023) Efecto de nanopartículas de hidroxiapatita en el desarrollo y germinación de *Cucumis Sativus* L. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios Núm. Esp. III: e3608. DOI: 10.19136/era.a10nIII.3608

RESUMEN. Las nanopartículas de hidroxiapatita (nHAp) tienen el potencial de estimular el crecimiento de plantas y actuar como nanofertilizante. El objetivo de este bioensayo fue evaluar el efecto de la nHAp sobre la germinación de semillas y algunos aspectos fisiológicos de plantulas de pepino (*Cucumis sativus* L). Los tratamientos consistieron en dosis crecientes de nHAp (0, 25, 50, 100, 200, 500, 1000 y 2000 mg L⁻¹). La utilización de la nHAp causó efectos significativos para las variables longitud de plúmula y biomasa seca. La longitud de radícula, germinación y vigor fue favorecida con la concentración de 25 mg L⁻¹; mientras que con 200 mg L⁻¹ se detectó una inhibición. La diferencias detectadas se atribuyen a la atracción electrostática entre nanopartículas, al observarse que concentraciones superiores a 200 mg L⁻¹ se aglomeraron formando micropartículas, lo que limita su absorción por la planta por las barreras de las paredes y membranas celulares.

Palabras clave: Agronotecnología, cucurbitáceas, nanofertilizantes, fisiología de semillas, fitotoxicidad.

ABSTRACT. Nanoparticles of hydroxyapatite (nHAp) have the potential to stimulate plant growth and act as a nanofertilizer. The objective of this bioassay was to evaluate the effect of nHAp on seed germination and some physiological aspects of cucumber (*Cucumis sativus* L) seedlings. The treatments consisted of increasing doses of nHAp (0, 25, 50, 100, 100, 200, 500, 1000 and 2000 mg L⁻¹). The use of nHAp caused significant effects on plumule length and dry biomass. Radicle length, germination, and vigor were favored at 25 mg L⁻¹, while at 200 mg L⁻¹, an inhibition was detected. The inhibitory effect is attributed to the electrostatic attraction between nanoparticles, since at concentrations higher than 200 mg L⁻¹ they agglomerated to form microparticles, which limits their absorption by the plant through the barriers of the cell walls and membranes.

Key words: Agronotechnology, cucurbits, nanofertilizers, seeds physiology, phytotoxicity.

INTRODUCCIÓN

La palabra nanotecnología (NT) derivada del vocablo griego “nanno” que significa enano y equivale a la mil millonésima parte de un metro (Ameen 2022), evoluciona a través de ideas y propuestas emanadas de la biología, química, física, ingeniería y medicina (Lira-Saldívar *et al.* 2018). Las nanopartículas (NPs) son partículas coloidales sólidas que varían en tamaño de 10 a 100 nm (Singh *et al.* 2021), mientras que la NT se enfoca al estudio de los materiales y sus múltiples aplicaciones, considerándose que esta ciencia representa ya la quinta revolución tecnológica (Yadav 2021). Las NPs diseñadas por medio de la NT tienen propiedades excepcionales, como su gran relación área superficial contra volumen, propiedades optoelectrónicas y fisicoquímicas mejoradas, en comparación con sus contrapartes de mayor tamaño (Raliya 2017), su aplicación en cualquier tipo de industria, así como en la agricultura y el procesamiento de alimentos se considera como una estrategia prometedora (Mishra *et al.* 2021), para contribuir a solucionar problemas que afectan la producción agropecuaria (Cerna-Chávez *et al.* 2023). Las inversiones y la investigación en estas áreas van en aumento debido a sus beneficios potenciales, como es el desarrollo de nanofertilizantes (NF) los cuales son calificados como la mejor alternativa a los fertilizantes químicos tradicionales (Babu *et al.* 2022), además cuando las NPs son encapsuladas en una matriz polimérica o mineral son liberadas gradual y lentamente, incrementando así su eficiencia de aplicación (Barman *et al.* 2022). Diferentes tipos de NPs derivados del carbón como el grafeno y los nanotubos de carbono de pared múltiple y sencilla, así como las NPs metálicas (Ag, Ce, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn, Si, Ti, entre otros) y sus formas en óxidos, han sido empleadas para elaborar nanoformulaciones de insumos agrícolas convencionales como fósforo, urea y azufre, que se han convertido en nanoplaguicidas (Bratovcic *et al.* 2021) y nanofertilizantes (Mahapatra *et al.* 2022), los cuales han mostrado resultados prometedores en la germinación de semillas, crecimiento de planta y producción (Chhipa 2017).

Se ha señalado que el éxito de la producción

de un cultivo está determinado por los componentes de calidad fisiológica de la semilla, los cuales predicen si la semilla tendrá altos índices de viabilidad (Ávila-Marioni *et al.* 2012), siendo la germinación y el vigor los principales indicadores de calidad fisiológica de semillas (González *et al.* 2014). La germinación inicia con la imbibición, proceso donde absorbe agua la semilla mediante su inmersión en soluciones osmóticas (Moreno *et al.* 2006), por lo que la calidad fisiológica se puede mejorar a través de la imbibición, utilizando soluciones con NPs disueltas (Artola *et al.* 2003, Marín *et al.* 2007). El uso de esta tecnología puede ayudar a solventar las necesidades fisiológicas de las semillas, incrementar la velocidad y porcentaje de germinación y reducir el porcentaje de plantas anormales (Soares *et al.* 2013, Alcalá-Rico *et al.* 2019).

Por otro lado, los nutrientes de tamaño nanométrico se pueden absorber, translocar y retener de manera más eficiente en las plantas (Navarro *et al.* 2008) y debido a su tamaño, pueden fácilmente penetrar a través de los poros de la célula vegetal (aproximadamente 30 nm), incluso, a través de la cutícula de la semilla (Jiang *et al.* 2014). En el presente trabajo se ha utilizado nano hidroxiapatita (nHAp) como material de prueba, debido a que contiene P y Ca. Es bien sabido que el P es un fertilizante muy importante, ya que coadyuva en el crecimiento, producción de biomasa y rendimiento, su deficiencia limita el crecimiento y el rendimiento de los cultivos (Ogawa *et al.* 2014). Como la deficiencia de P en el suelo es uno de los principales factores que limitan el rendimiento de los cultivos, se requiere más investigación para maximizar la eficiencia de uso de este nutriente (Wu *et al.* 2021). Por su parte, el Ca es necesario en gran medida para producir nuevos pelos absorbentes en la raíz (White y Broadley 2003). Debido a eso la síntesis y caracterización de nHAp ha sido objeto de estudio para generar nanomateriales que puedan tener un uso práctico en la agricultura (Flores-Hernández *et al.* 2020).

Las nHAp han generado un interés creciente de aplicaciones agronómicas, se considera que las nHAp pueden tener un impacto significativo en la germinación de la semilla y la actividad metabólica de

la planta, además del potencial uso como nanofertilizante (Flores-Hernández *et al.* 2021, Wang *et al.* 2016). Por ejemplo, Liu y Lal (2014) mostraron que las nHAp incrementaron el rendimiento de *Glycine max* en 33% comparado contra un fertilizante de P convencional. Por otro lado, las nHAp son conocidas por su biocompatibilidad intrínseca y biodegradabilidad (Ravichandran *et al.* 2012).

Se seleccionó el cultivo de pepino (*Cucumis sativus* L.) por ser utilizado en todo el mundo (Wehner y Maynard 2003), se le considera de alto valor nutricional además de los beneficios económicos asociados con esta cucurbitácea (Dingal *et al.* 2018). Las exportaciones de México a los Estados Unidos de pepinos y pepinillos frescos o refrigerados fueron de \$587.34 millones de dólares durante 2019 (Trading Economics 2020). En este mismo año, México sembró 10 424 ha de las cuales se cosecharon 10 403 ha con una producción de 578 949 ton, obteniendo un rendimiento promedio de 56.081 ton ha⁻¹ (SIAP 2020). Por lo antes señalado, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de nanopartículas de hidroxiapatita en aspectos fisiológicos del pepino para determinar la viabilidad de usarla como promotora de crecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se utilizó semilla de pepino variedad Poinsett 76 (SAKATA[®], México, Zapopan Jalisco), de crecimiento anual indeterminado, estructura suelta, polinización abierta y producción precoz.

Nanopartículas de hidroxiapatita (nHAp)

Se usaron nanopartículas de hidroxiapatita sintetizadas y caracterizadas según el procedimiento descrito por Flores-Hernández *et al.* (2020). La reacción química utilizada fue por precipitación húmeda y se ejecutó de acuerdo con la siguiente ecuación:



Posterior a la reacción química húmeda se obtiene un precipitado, el cual se pasó por estufa de

secado a 70 °C por 24 h para eliminar el exceso de agua, resultando una delgada capa de material sólido.

Caracterización de nHAp por potencial Zeta (PZ)

Se determinó el PZ utilizando un equipo microtrac ZETA-check de Colloid Metrix Company[®] 2021 (Microtrac Retsch GmbH, Duesseldorf, Germany), el cual es un analizador de dispersión dinámica de luz (DLS) que proporciona información sobre el tamaño de las partículas, el potencial Zeta, concentración y peso molecular. Permite mediciones rápidas con tecnología confiable, precisión y exactitud. El potencial Zeta determina la carga superficial de las nanopartículas al medir su potencial eléctrico, esto representa la cantidad de repulsión o atracción electrostática (o carga) entre las capas que rodean a la partícula (Cano-Sarmiento *et al.* 2018). Este parámetro indica cómo se afecta la estabilidad de las NPs en una suspensión y proporciona información sobre las causas de la dispersión, agregación o floculación (Mikolajczyk *et al.* 2015).

Tratamientos aplicados de nHAp

Se utilizó nHAp con tamaño entre 10 y 45 nm. La concentración inicial fue de 5 000 mg L⁻¹, la cual fue suspendida en agua desionizada estéril y dispersada durante 30 min con un sonicador Tianjing Autoscience (AS2060 Instrumental Factory, Tianjing, China). Se realizaron los cálculos correspondientes para diluir la solución inicial y obtener siete concentraciones diferentes. Los tratamientos evaluados fueron a 25, 50, 100, 200, 500, 1 000 y 2 000 mg L⁻¹ y un control con agua destilada

Germinación de semillas y crecimiento de plántulas

Se utilizaron lotes de 100 semillas para cada tratamiento, con pinzas de disección se realizó la distribución de las semillas en cajas Petri de 100 x 15 mm. En la etapa de imbibición se agregó cada tratamiento con una pipeta, la dosis fue de 10 mL de suspensión de nHAp. Posteriormente, las semillas se mantuvieron durante 4 h en una cámara de crecimiento, modelo Equitec EGCS 3S, 301 3SHR

(Equitek, Guadalajara, México), programada a 25 °C ± 2 °C con fotoperíodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad.

Posterior al período de imbibición, se seleccionaron 75 semillas al azar por tratamiento, las cuales se sembraron en tres repeticiones de 25 semillas distribuidas horizontalmente sobre papel Anchor (Seedburo Equipment Company, Hidalgo, TX, U.S.A.), previamente humedecido con agua destilada. Se tomó en cuenta la dirección del embrión colocándolo hacia abajo; posteriormente se humedeció otro papel anchor del mismo tamaño para cubrir la semilla, al estar unidos los dos papeles anchor se procedió a enrollarlos para después colocarlos en bolsas de plástico, las cuales a su vez se acomodaron en cestas de polietileno de 20 cm de ancho x 45 cm de altura, en seguida se introdujeron en la cámara de crecimiento durante siete días bajo las mismas condiciones de temperatura y fotoperíodo.

Variables evaluadas

Las variables de vigor de semilla (V%), porcentaje de germinación (G %), longitud de plúmula y radícula (LP y LR) y peso seco (PS), se evaluaron de acuerdo con las normas del ISTA (2004). También se determinaron el índice de germinación normalizado (IGN) e índice de elongación de la radícula (IER) de acuerdo con indicado por Bagur-González *et al.* (2011).

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño del experimento fue completamente al azar con ocho tratamientos y tres repeticiones por tratamiento. La unidad experimental consistió de 25 semillas. Los datos de las variables porcentaje de germinación y porcentaje de vigor se transformaron mediante arcoseno para cumplir con los supuestos de normalidad. Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza, se utilizó la comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$) por medio del software SAS Versión 9.4.

RESULTADOS

Nanopartículas de hidroxiapatita (nHAp)

El polvo obtenido para la síntesis de nHAp, se analizó por medio de difractómetro de rayos X, la lectura obtenida se comparó contra el patrón estándar de la hidroxiapatita pura, comprobándose que el polvo obtenido corresponde a la hidroxiapatita (Figura 1a). Para comprobar el tamaño de partícula se realizó una micrografía por microscopio electrónico de transmisión (TEM, Figura 1b). El tamaño aproximado de las partículas fue de entre 25 y 40 nm.

Potencial zeta (PZ)

El potencial zeta determina la carga superficial de las nanopartículas al medir su potencial eléctrico, esto representa la cantidad de repulsión o atracción electrostática (o carga) entre las capas que rodean a la partícula. Este parámetro indica cómo se afecta la estabilidad de las NPs en una suspensión y proporciona información sobre las causas de la dispersión, agregación o floculación. En el análisis del PZ de las nHAp, presentó una lectura de -20 mV, lo cual indica que el PZ de las nanopartículas es muy bajo, no existe repulsión entre ellas y es fácil su aglomeración.

Germinación y vigor de semillas

El porcentaje de germinación mostró diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$) en todos los tratamientos, orientados a una inhibición en la germinación, resultando las concentraciones de 200 y 2 000 mg L⁻¹ el menor porcentaje de germinación (38.67 ± 07.48 y 24.00 ± 4.64), al reducirse 56.06 y 72.73% con respecto al control (88.00 ± 17.03). La utilización de la nHAp afectó negativamente el vigor. La concentración de 200 mg L⁻¹ fue la más perjudicial (49.33 ± 7.21), observándose una disminución del 35.09% (Tabla 1) con respecto al tratamiento control (76.00 ± 11.11).

Longitud de plúmula y radícula

La longitud de plúmula no fue afectada por las distintas concentraciones de la nHAp. Con respecto a la longitud de radícula, la concentración de 100 y 200 mg L⁻¹ presentó un efecto inhibitorio de crecimiento

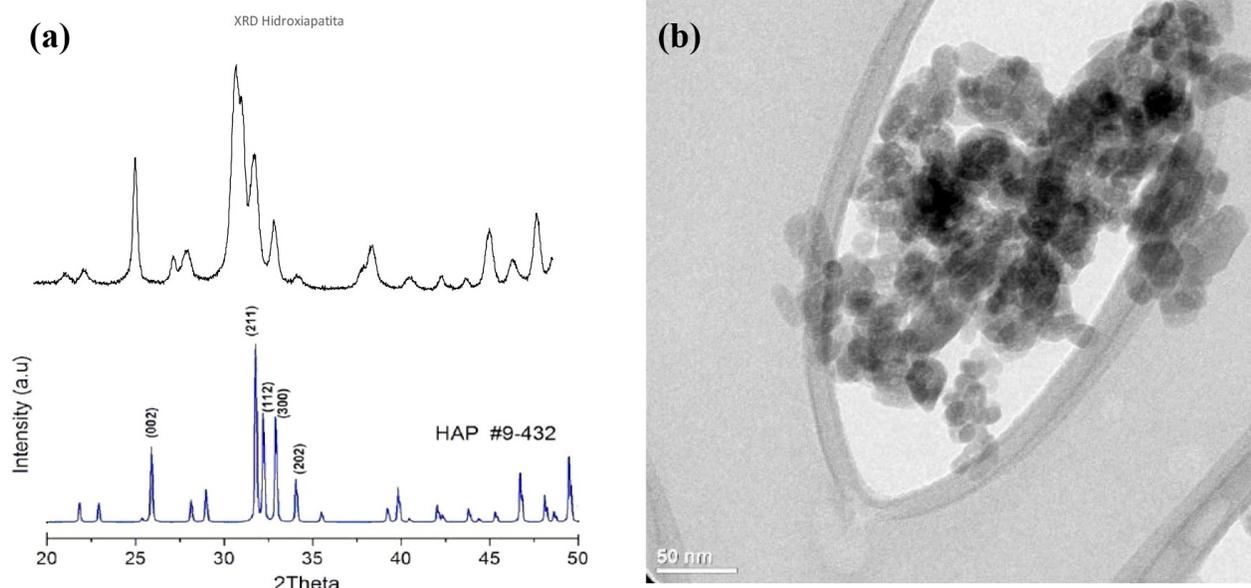


Figura 1. (a) Patrón de difracción XRD. (b) Imagen TEM.

Tabla 1. Comparación de medias para variables de calidad de semilla de *Cucumis sativa* tratadas con nanopartículas de hidroxiapatita.

Concentración aplicada (mg L ⁻¹)	Germinación (%)	Vigor (%)	LP (cm)	LR (cm)	PS (mg plántula ⁻¹)
0	88.00(± 17.03) ^a	76.00(± 11.11) ^a	6.02(± 1.18) ^a	10.98(± 2.93) ^b	10.74(± 0.95) ^a
25	74.67(± 14.45) ^{ab}	70.67(± 10.33) ^{ab}	6.35(± 1.25) ^a	13.15(± 3.51) ^a	12.06(± 1.06) ^a
50	78.67(± 15.20) ^{ab}	70.67(± 10.33) ^{ab}	5.83(± 1.15) ^a	11.77(± 3.14) ^{ab}	11.39(± 1.00) ^a
100	52.00(± 10.06) ^{bcd}	57.33(± 08.38) ^{ab}	5.85(± 1.15) ^a	10.68(± 2.85) ^b	11.15(± 0.98) ^a
200	38.67(± 07.48) ^{cd}	49.33(± 07.21) ^b	5.55(± 1.09) ^a	08.43(± 2.25) ^c	10.27(± 0.90) ^a
500	58.67(± 11.35) ^{abc}	61.33(± 08.97) ^{ab}	6.04(± 1.19) ^a	11.90(± 3.18) ^{ab}	11.74(± 1.03) ^a
1000	62.67(± 12.13) ^{abc}	50.67(± 07.41) ^{ab}	6.03(± 1.19) ^a	12.44(± 3.32) ^{ab}	10.81(± 0.95) ^a
2000	24.00(± 04.64) ^d	61.33(± 08.97) ^{ab}	5.86(± 1.15) ^a	11.23(± 3.00) ^{ab}	12.39(± 1.09) ^a

LP: Longitud de plúmula, LR: Longitud de radícula, PS: Biomasa Seca. Los valores son el promedio de tres repeticiones. Medias (n = 3) ± desviación estándar. Las diferentes letras son estadísticamente diferentes (Tukey, p ≤ 0.05) y representan las diferencias entre tratamientos.

al reducir 2.73 y 23.22%, con respecto al control, en cambio las concentraciones de 25, 50, 500, 1000 y 2000 mg L⁻¹ aumentaron la longitud en 19.76, 7.19, 8.38, 13.29 y 2.27% respectivamente en relación al tratamiento control (Tabla 1).

Producción de biomasa seca

Las nHAp no tuvieron afectación de forma significativa (p ≤ 0.05) en la producción de biomasa en ningún tratamiento, como se indica en el Tabla 1, sin embargo, el tratamiento de 25 mg L⁻¹ presenta el valor numérico más alto en comparación contra el tratamiento control con una diferencia de 5.17%, mientras que el tratamiento de 200 mg L⁻¹

mostro el valor numérico más bajo, representado por un 12.59% en comparación contra el control.

Índice de germinación normalizado y de elongación de radícula

La comparación de medias del IGN indica que los concentraciones de 25 y 50 mg L⁻¹ presentaron baja toxicidad; en cambio los tratamientos con 100, 500 y 1 000 mg L⁻¹ presentaron una toxicidad moderada y los tratamientos de 200 y 2 000 mg L⁻¹ de nHAp presentaron alta toxicidad (-0.5605 y -0.7272, respectivamente), según se muestra en el Tabla 2. Para el IER, los tratamientos de 100 y 200 mg L⁻¹ presentaron una baja toxicidad, al obtenerse

Tabla 2. Escala de toxicidad de las nHAp en pepino de acuerdo con el Índice de germinación normalizado (IGN) y el índice de Elongación Radicular (IER)

Dosis aplicada (mg L ⁻¹)	IGN	Toxicidad	IER	Toxicidad
25	-0.1515	Baja	0.1976	promoción
50	-0.1060	Baja	0.0719	promoción
100	-0.4091	Moderado	-0.0273	baja
200	-0.5606	Alto	-0.2322	baja
500	-0.3333	Moderado	0.0838	promoción
1000	-0.2878	Moderado	0.1330	promoción
2000	-0.7273	Alto	0.0228	promoción

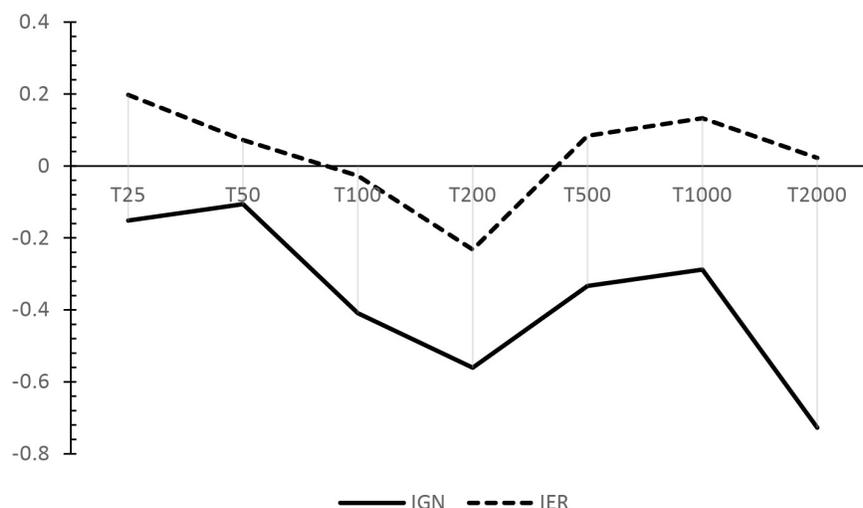


Figura 2. Índice de germinación normalizado y elongación de la radícula de *Cucumis sativus*.

valores negativos de acuerdo con los cálculos realizados (-0.0273 y -0.2322, respectivamente). El resto de los tratamientos tuvieron valores positivos superiores de cero (Figura 2), lo que indica un efecto promotor en el crecimiento de las semillas. El tratamiento de 25 mg L⁻¹ presentó el índice de ER más alto (0.1976), mientras que el tratamiento de 2 000 mg L⁻¹ presentó el índice ER más bajo (0.0227), estos resultados concuerdan con el fenómeno de la hormesis, caracterizado por una estimulación en dosis bajas y una inhibición en dosis altas.

DISCUSIÓN

Germinación y vigor de las semillas

Según Baz *et al.* (2020), la germinación es una fase crítica en el desarrollo de plantas y la producción de cultivos, por tal motivo se han evaluado diferentes tipos de NPs, con efectos positivos (Xin

et al. 2020, Bayat *et al.* 2022) pero los resultados en este bioensayo no concuerdan con esta afirmación. Se han reportado efectos fitotóxicos de diversos nanomateriales en distintos cultivos (Ruttkay-Nedecky *et al.* 2017, Jogaiah *et al.* 2021). Verma *et al.* (2021) explica que este efecto puede deberse principalmente al tipo de NPs analizada y la actividad fotocatalítica de las mismas, las cuales difirieron tanto en tamaño como en la morfología. Por otro lado, Guo *et al.* (2022) concluyen que se debe tener en cuenta la composición química, tamaño y forma de las NPs, los métodos de síntesis, su forma de exposición, así como las especies de plantas utilizadas, debido a que los efectos varían entre especies diferentes. Lo anterior, indica que una misma NPs pueda promover la germinación o causar fitotoxicidad de acuerdo al tipo de semilla/cultivo analizado. Al respecto, trabajos previos con nHAp no mostraron respuesta en germinación, por ejemplo, Ortiz *et al.* (2017) mencionan

que en semillas de lechuga no se detectaron efectos en dosis de hasta 8 000 mg L⁻¹, efectos similares fueron observados por Marchiol *et al.* (2019) quienes reportan que el aumento en las concentraciones de nHAp no presentaron fitotoxicidad en tomate.

Los resultados encontrados se pueden deber al fenómeno denominado hormesis (Mattson 2008), caracterizado por la estimulación de dosis baja e inhibición de dosis alta. La hormesis se ha observado con frecuencia en estudios diseñados apropiadamente y su manifestación es independiente del agente químico/físico, modelo biológico y criterio de valoración (Jalal *et al.* 2021). Mientras que García-López *et al.* (2018) indican que la etapa de germinación es sensible a condiciones de estrés causadas por elevadas concentraciones de nanopartículas provocando inhibición del crecimiento y reducción en la producción de biomasa. Lo que ocurrió en la germinación, vigor y longitud de radícula de la concentración de 200 mg L⁻¹ que tuvo el mayor efecto toxico. En la literatura actual no hay referencias al efecto toxico de las nHAp, pero hay evidencia del efecto toxico de NPs metálicas, con las cuales podemos hacer comparativo (Stampoulis *et al.* 2009). Por ejemplo, Escobedo *et al.* (2020) en estudios con *Allium cepa* L. encontraron que a mayor concentración de nanopartículas el índice mitótico disminuye y el índice de anomalías aumenta, además que los nanomateriales podrían tener un efecto tóxico no sólo en las plantas, sino también en varios microorganismos del suelo, incluidas levaduras, bacterias y hongos (Rajput *et al.* 2018). Mientras que Corredor *et al.* (2009) indican que las NPs son capaces de penetrar tejidos y dirigirse a diferentes partes de las plantas causando toxicidad. Por lo tanto, es importante prestar atención a este efecto, el cual aún no ha sido explorado y no existe una propuesta para su macro consumo (Maghsoodi *et al.* 2020).

Longitud de plúmula y radícula

Los nuevos productos agroquímicos a base de nanotecnología han demostrado ser prometedores en la agronomía (Lira-Saldivar *et al.* 2018). Para el caso de la nHAp, se han reportado efectos positivos en diferentes cultivos, por ejemplo, Bala *et al.* (2014)

obtuvieron incremento en el crecimiento de radícula de *Cicer arietinum*, debido al aumento de la actividad de la giberelina. Mientras que Marchiol *et al.* (2019) aplicaron nHAp en plántulas de tomate, observando un incremento de la longitud radicular con las concentraciones de 200 y 500 mg L⁻¹ de un 64 y 97%, con respecto al control. En otro trabajo con plantas de *Raphanus sativus* sembradas con nHAp, se reporta un incremento significativo en el alargamiento del brote, alargamiento de las raíces y biomasa seca (Madanayake *et al.* 2020). Los resultados del presente trabajo difieren con los efectos promotores de crecimiento mencionados por Marchiol *et al.* (2019) y Madanayake *et al.* (2020), debido a que la variable longitud de plúmula no tuvo efecto estadístico significativo bajo ningún tratamiento. Con respecto a la longitud de radícula, la concentración de 200 mg L⁻¹ presentó un efecto inhibitorio de crecimiento en un 23% con respecto al control (Tabla 1). En cambio, se encontró similitud con la investigación de Jiang *et al.* (2014), quienes trabajaron con semillas de frijol mungo y nHAp a diferentes tamaños de partícula y concentración; con resultados de una fuerte tendencia de inhibición en la longitud del hipocótilo (HL) a concentraciones de 5 mg mL⁻¹, con nHAp de tamaño menor al poro de la pared vegetal (aproximadamente 30 nm), lo que permitiría penetrar fácilmente la célula. El efecto de inhibición se debilitó a concentración de 10 mg mL⁻¹, debió a que las nHAp más allá de cierta cantidad, pueden aglomerarse y formar partículas grandes, cuyo tamaño excede el tamaño del poro de la célula. La aglomeración de partículas es posible que ocurra durante el proceso de síntesis de nHAp. De acuerdo con Salimi *et al.* (2012), se deben atender diversas condiciones de la reacción que pueden afectar el tamaño de partícula, sin embargo, la velocidad de agitación y la temperatura son los principales factores para controlar. Una temperatura elevada genera una disminución en la viscosidad de la solución que acelera la tasa de colisión de los núcleos y, por lo tanto, resulta en partículas más pequeñas, por otra parte, velocidades de agitación altas evitan la formación de aglomerados. Para determinar la posibilidad de aglomerarse de las NPs se utiliza el potencial Zeta (PZ), el cual indica la afinidad

electrostática o la facilidad para formar agregados en solución. NPs en suspensión con carga de ± 30 mV (milivoltios) o superior generan mayor repulsión por su carga superficial, lo que evita su agregación, por otro lado, cuando el PZ se encuentra en el rango de 10 - 20 mV disminuye la repulsión y facilita la unión entre partículas. Por lo tanto, cuando el PZ se acerca a cero, la aglomeración de las partículas es favorecido (Lorenzo-Acosta 2006 y Flores-Hernández *et al.* 2020).

El análisis del PZ de las nHAp utilizadas en este estudio fue de -20 mV, esto significa que prácticamente no existe repulsión entre las nHAp en solución y fácilmente pueden generar agregados de tamaño superior al poro de la célula vegetal, impidiendo su paso y alterando el efecto de las nHAp. Los datos antes descritos del PZ ofrecen una explicación a la ausencia de efecto en la longitud de plúmula y el comportamiento de la radícula, similar al descrito por Jiang *et al.* (2014), los resultados obtenidos de esta variable mostraron que los tratamientos de 100 y 200 mg L⁻¹ disminuyeron la longitud en 2.73 y 23.22% con respecto al control, lo que evidencia el efecto inhibitor, mientras que los tratamientos de 25, 50, 500, 1 000 y 2 000 mg L⁻¹ aumentaron la longitud en 19.76, 7.19, 8.38, 13.29 y 2.27%, con respecto al control. Este comportamiento concuerda con el encontrado por Jiang *et al.* (2014), por lo que podemos suponer que a concentración mayor de 200 mg L⁻¹ provoca aglomerados grandes de las nanopartículas de HAp, los cuales por su tamaño no podrían ingresar a las células, impidiendo visualizar el efecto de las NPs.

Producción de biomasa seca

En relación con la biomasa, Liu y Lal (2014) mencionan que la aplicación de nHAp en soya mejoró la producción de biomasa en un 18.2% (sobre el suelo) y un 41.2% (bajo tierra) en comparación con las plantas fertilizadas con una fuente de P soluble en agua convencional. Mientras que Montalvo *et al.* (2015) encontraron que la aplicación de fertilizantes a base de nHAp en trigo presentaron un aumento significativo de la materia seca vegetal en comparación con los tratamientos control, además de

mayor absorción de fósforo por la planta. Pero las nHAp no influyeron en los procesos de acumulación de biomasa seca en las plantas de pepino, pudiendo estar relacionado con las necesidades fisiológicas de la semilla, o una aglomeración de nHAp pudo inhibir la penetración en células por el tamaño de los aglomerados, evitando que se pudiese apreciar un efecto evidente.

En general el efecto de nHAp en las plantas difiere por el tipo de planta y la concentración de nHAp, por lo que se requieren más estudios para entender los mecanismos involucrados con la absorción de nHAp en varias plantas y células (Maghsoodi *et al.* 2020). Lo que concuerda con lo reportado por Siddiqui *et al.* (2015) quienes mencionan que las nanopartículas interactúan con las plantas y causan diversos cambios fisiológicos y morfológicos debido a las diferentes propiedades fisicoquímicas. Además de que cada especie vegetal presenta un mecanismo fisiológico específico para la absorción de nutrientes (Rafique *et al.* 2018).

Índice de germinación normalizado e índice de elongación de la radícula

Bagur-González *et al.* (2011) indican que el IGN y el IER son estimadores de fitotoxicidad. Al respecto, Rodríguez *et al.* (2014) recomienda usar ambos índices de toxicidad para generar respuestas a diferentes factores. Los resultados obtenidos de IGN e IER son inesperados por su variabilidad, pero la aglomeración de las nanopartículas explicada anteriormente puede afectar también la respuesta de estos índices. Existen pocos reportes sobre la fitotoxicidad de la nHAp, existen reportes sobre la fitotoxicidad de NPs metálicas (Asli *et al.* 2009, Ruffini *et al.* 2010, Kim *et al.* 2013); sin embargo los resultados no son concluyentes debido a que se reportan efectos positivos y negativos de las NPs de óxidos metálicos en diferentes plantas. Incluso, los efectos en la misma planta por el mismo tipo de NPs de óxido metálico puede mostrar resultados opuestos, como los descritos por Ruffini *et al.* (2010) que trabajo con nTiO₂ y obtuvo inhibición en la germinación de maíz, contra lo encontrado por Burke *et al.* (2014) quien trabajo con la misma NP y no encontró efecto

significativo en maíz. Según Yang *et al.* (2015) estas conclusiones opuestas pudieron ser causadas por la divergencia y combinación de factores como: métodos de síntesis de las NPs, concentraciones utilizadas y el medio donde se aplican (suelo, hidroponía). Por lo tanto, se insta a investigar sistemáticamente la fitotoxicidad de una amplia variedad de NP de óxidos metálicos en plantas de cultivo.

CONCLUSIONES

Las nHAp a una concentración 25 mg L⁻¹ mejora la germinación, el vigor y longitud de radícula de pepino; en cambio la concentración de 200 mg L⁻¹ mostro los mayores efectos inhibidores, por lo que no es recomendable como promotora de crecimiento para el cultivo de pepino. Para trabajos futuros, es

recomendable utilizar nHAp en solución, antes del proceso de secado y reducción de tamaño y llevar un experimento con diversas variedades de cultivo para identificar claramente el efecto de la nHAp.

AGRADECIMIENTOS

Al proyecto No. 268 de Fronteras de la Ciencia-CONACYT, al Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) y al Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) por el apoyo otorgado al facilitar sus instalaciones para realizar esta investigación. A Joelis Rodríguez Hernández, Bertha A. Puente Urbina, Beatriz Reyes Vielma y Gladys de los Santos Villarreal, a todos ellos por su valiosa ayuda.

LITERATURA CITADA

- Alcalá-Rico JSGJ, López-Benítez A, Vázquez-Badillo ME, Sánchez-Aspeytia D, Rodríguez-Herrera SA, Pérez-Rodríguez MÁ, Ramírez-Godina F (2019) Seed Physiological Potential of *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* Genotypes and Their Answers to Pre-Germination Treatments. *Agronomy* 9(6): 325. DOI: 10.3390/agronomy9060325.
- Ameen AG (2022) Nanotechnology; the science of present and future (principle and applications). *NTU Journal of Pure Sciences* 1: 32-39.
- Artola A, Carrillo-Castaneda G, De los Santos GG (2003) Hydropriming: A strategy to increase *Lotus corniculatus* L. seed vigor. *Seed Science and Technology*. 31: 455-463.
- Asli S, Neumann PM (2009) Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport. *Plant, cell & environment* 32: 577-584.
- Ávila-Marioni MR, Jacobo-Cuellar JL, Rosales-Serna R, Espinoza-Arellano JJ, González-Ramírez H, Pajarito-Ravelero A (2012) Influencia de la calidad de semilla en la producción de frijol en el norte centro de México. *Tecnociencia Chihuahua* 6: 158-164.
- Babu S, Singh R, Yadav D, Rathore SS, Raj R, Avasthe R, Singh VK (2022) Nanofertilizers for agricultural and environmental sustainability. *Chemosphere* 292: 133451. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.133451.
- Bagur-González MG, Estepa-Molina C, Martín-Peinado F, Morales-Ruano S (2011) Toxicity assessment using *Lactuca sativa* L. bioassay of the metal (loid) s As, Cu, Mn, Pb and Zn in soluble-in-water saturated soil extracts from an abandoned mining site. *Journal of Soils and Sediments* 11: 281-289.
- Bala N, Dey A, Das S, Basu R, Nandy P (2014) Effect of hydroxyapatite nanorod on chickpea (*Cicer arietinum*) plant growth and its possible use as nano-fertilizer. *Iran Journal Plant Physiology* 4: 1061-1069.
- Barman M, Mishra R, Trivedi V (2022) Advances in micronutrient fertilizer production and efficacy in plant nutrition. 1st ed. In: Mandal N, Dey A, Rakshit R (Eds) *Soil management for sustainable agriculture: New research and strategies*. Apple Academic Press. New York, EEUU. pp: 485-502.

- Bayat M, Zargar M, Murtazova KMS, Nakhaev MR, Shkurkin SI (2022) Ameliorating seed germination and seedling growth of nano-primed wheat and flax seeds using seven biogenic metal-based nanoparticles. *Agronomy* 12: 811. DOI: 10.3390/agronomy12040811.
- Baz H, Creech M, Chen J, Gong H, Bradford K, Huo H (2020) Water-Soluble carbon nanoparticles improve seed germination and post-germination growth of lettuce under salinity stress. *Agronomy* 10(8): 1192. DOI: 10.3390/agronomy10081192.
- Bratovic A, Hikal WM, Said-Al HA, Tkachenko KG, Baeshen RS, Sabra AS, Sany H (2021) Nanopesticides and nanofertilizers and agricultural development: scopes, advances and applications. *Open Journal of Ecology* 11: 301-316.
- Burke DJ, Zhu S, Pablico-Lansigan MP, Hewins CR, Samia ACS (2014) Titanium oxide nanoparticle effects on composition of soil microbial communities and plant performance. *Biology and Fertility of Soils* 50: 1169-1173.
- Cano-Sarmiento CTDI, Téllez-Medina DI, Viveros-Contreras R, Cornejo-Mazón M, Figueroa-Hernández CY, García-Armenta E, Gutiérrez-López GF (2018) Zeta potential of food matrices. *Food Engineering Reviews* 10: 113-138.
- Cerna-Chávez E, Malacara-Herrera IR, Ochoa-Fuentes YM, Hernández-Juárez A (2023) Evaluación *in vitro* de extractos vegetales adicionados con nanopartículas para el control de *Fusarium oxysporum*. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 10(2):e3424. DOI: 10.19136/era.a10n2.3424.
- Chhipa H (2017) Nanofertilizers and nanopesticides for agriculture. *Environmental Chemistry Letters* 15: 15-22.
- Corredor E, Testillano PS, Coronado MJ, González P, Fernández R, Marquina C, Ibarra MR, De la Fuente JM, Rubiales D, Pérez A, Risueño MC (2009) Nanoparticle penetration and transport in living pumpkin plants: in situ subcellular identification. *BMC Plant Biology* 9(1): 1-11. DOI: 10.1186/1471-2229-9-45.
- Dingal DK, Patil SS, Birada MS, Mantur SM (2018) Influence of different protected conditions on growth and yield of parthenocarpic cucumber (*Cucumis sativus*) hybrids. *International Journal Current Microbiology Application Science* 7: 1619-1624.
- Escobedo CR, Rodríguez JC, Contreras M, Aspajo C, Calderón A, León E, Cornejo BE, Aldama CW, Agreda J, Valverde M (2020) Citotoxicidad y genotoxicidad de nanopartículas de cobre sobre *Allium cepa* L. (Amaryllidaceae). *Arnaldoa* 27(1): e108-e112. DOI: 10.22497/arnaldoa.271.27110.
- Flores-Hernández EA, Lira-Saldivar RH, Acosta-Ortiz R, Méndez-Arguello B, García-López JI, Díaz-Barriga-Castro E, García-Carrillo M (2020) Synthesis and characterization of calcium phosphate nanoparticles and effect of the agitation type on particles morphology. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 19: 285-298.
- Flores-Hernández EA, Lira-Saldivar RH, Díaz-Barriga E, González-Torres A, García-Carrillo M (2021) Efectos del tamaño y morfología de nanopartículas de hidroxiapatita en la germinación y crecimiento de plántulas de *Raphanus sativus*. *Ecosistemas y Recursos. Agropecuarios* 8(1): e2747. DOI: 10.19136/era.a8n1.2747.
- García-López JI, Zavala-García F, Olivares-Sáenz E, Lira-Saldivar RH, Díaz Barriga-Castro E, Ruiz-Torres NA, Ramos-Cortez E, Vázquez-Alvarado R, Niño-Medina G (2018) Zinc oxide nanoparticles boosts phenolic compounds and antioxidant activity of *Capsicum annum* L. during germination. *Agronomy* 8(10): 215. DOI: 10.3390/agronomy8100215.
- González RF, León D, Borges L, Pinzón L, Magaña M, Sanguines R, Urrestarazu M (2014) Envejecimiento acelerado sobre la calidad de semilla de maíz para producir germinados para forraje alternativo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 5(SPE8): 1487-1493.

- Guo H, Liu Y, Chen J, Zhu Y, Zhang Z (2022) The effects of several metal nanoparticles on seed germination and seedling growth: a meta-analysis. *Coatings* 12(2): 183. DOI: 10.3390/coatings12020183.
- ISTA (2004) 2 International Rules for Seed Testing. 243p.
- Jalal A, De Oliveira JC, Ribeiro J, Fernandes C, Mariano G, Trindade V, Dos-Reis A (2021) Hormesis in plants: physiological and biochemical responses. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 207: 111225. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111225.
- Jiang H, Liu JK, Wang JD, Lu Y, Zhang M, Yang XH, Hong DJ (2014) The biotoxicity of hydroxyapatite nanoparticles to the plant growth. *Journal of Hazardous Materials*. 270: 71-81.
- Jogaiah S, Paidi MK, Venugopal K, Geetha N, Mujtaba M, Udikeri SS, Govarthan M (2021) Phytotoxicological effects of engineered nanoparticles: An emerging nanotoxicology. *Science of the Total Environment* 801: 149809. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.149809.
- Kim S, Sin H, Lee S, Lee I (2013) Influence of metal oxide particles on soil enzyme activity and bioaccumulation of two plants. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 23: 1279-1286.
- Lira-Saldívar RH, Méndez-Arguello B, De los Santos-Villarreal G, Vera-Reyes I (2018) Potencial de la nanotecnología en la agricultura. *Acta Universitaria* 28: 9-24.
- Liu R, Lal R (2014) Synthetic apatite nanoparticles as a phosphorus fertilizer for soybean (*Glycine max*). *Scientific Reports* 4(1): 1-6. DOI: 10.1038/srep05686.
- Lorenzo-Acosta Y (2006) Estado del arte del tratamiento de aguas por coagulación-floculación. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar* 40: 10-17.
- Madanayake NH, Adassooriya NM, Salim N (2020) The effect of hydroxyapatite nanoparticles on *Raphanus sativus* with respect to seedling growth and two plant metabolites. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management* 15: 100404. DOI: 10.1016/j.enmm.2020.100404.
- Maghsoodi MR, Ghodszad L, Lajayer BA (2020) Dilemma of hydroxyapatite nanoparticles as phosphorus fertilizer: Potentials, challenges and effects on plants. *Environmental Technology & Innovation*. 19: 100869. DOI: 10.1016/j.eti.2020.100869.
- Mahapatra DM, Satapathy KC, Panda B (2022) Biofertilizers and nanofertilizers for sustainable agriculture: Phycoproprospects and challenges. *Science of the Total Environment* 803: 149990. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.149990.
- Marchiol L, Filippi A, Adamiano A, Degli-Esposti L, Iafisco M, Mattiello A, Petrusa E, Braidot E (2019) Influence of hydroxyapatite nanoparticles on germination and plant metabolism of tomato (*Solanum lycopersicum* L.): Preliminary evidence. *Agronomy* 9(4): 161. DOI: 10.3390/agronomy9040161.
- Marín SJ, Mejía CJA, Hernández LA, Peña LA, Carballo CA (2007) Acondicionamiento osmótico de semillas de tomate de cáscara. *Agricultura técnica en México* 33: 115-123.
- Mattson MP (2008) Hormesis defined. *Ageing Research Reviews* 7(1): 1-7. DOI: 10.1016/j.arr.2007.08.007.
- Mikolajczyk A, Gajewicz A, Rasulev B, Schaeublin N, Maurer-Gardner E, Hussain S, Puzyn T (2015) Zeta potential for metal oxide nanoparticles: a predictive model developed by a nano-quantitative structure-property relationship approach. *Chemistry of Materials* 27: 2400-2407.
- Mishra M, Pandey AK, Pandey K, Dixit S, Zohra F, Seth A, Singh S (2021) Exploring the Potential of Nanotechnology in Agriculture: Current Research and Future Prospects. In: Amit S, Pramod KS, Hee WR (ed)

- Composite Materials: Properties, Characterization, and Applications. CRC Press. Boca Raton, Florida. EEUU. pp: 223-241.
- Montalvo D, McLaughlin MJ, Degryse F (2015) Efficacy of hydroxyapatite nanoparticles as phosphorus fertilizer in andisols and oxisols. *Soil Science Society of America Journal* 79: 551-558.
- Moreno FG, Plaza P, Magnitskiy S (2006) Efecto de la testa sobre la germinación de semillas de caucho (*Hevea brasiliensis* Muell.). *Agronomía de Colombia* 24: 290-295.
- Navarro E, Baun A, Behra R, Hartmann NB, Filser J, Miao AJ, Sigg L (2008) Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. *Ecotoxicology* 17: 372-386.
- Ogawa S, Gómez M, Fernando AJ, Lorieux M, Ishitani M, McCouch S, Arbilaez JD (2014) N- and P-mediated seminal root elongation response in rice seedlings. *Plant and Soil* 375: 303-315.
- Ortiz CG, Carrillo-González R, González-Chávez MCA, López LJ (2017) Síntesis de nanopartículas de hidroxiapatita y su toxicidad en lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Agroproductividad* 10: 98-106.
- Rafique R, Zahra Z, Virk N, Shahid M, Pinelli E, Park TJ, Kallerhoff J, Arshad M (2018) Dose-dependent physiological responses of *Triticum aestivum* L. to soil applied TiO₂ nanoparticles: Alterations in chlorophyll content, H₂O₂ production, and genotoxicity. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 255: 95-101.
- Rajput VD, Minkina T, Sushkova S, Tsitsuashvili V, Mandzhieva S, Gorovtsov A, Nevidomskaya D, Gromakova N (2018) Effect of nanoparticles on crops and soil microbial communities. *Journal of Soils and Sediments* 18: 2179-2187.
- Raliya R, Saharan V, Dimkpa C, Biswas P (2017) Nanofertilizer for precision and sustainable agriculture: current state and future perspectives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66: 6487-6503.
- Ravichandran R, Sundarrajan S, Venugopal JR, Mukherjee S, Ramakrishna S (2012) Advances in polymeric systems for tissue engineering and biomedical applications. *Macromol Biosciences* 12: 286-311.
- Rodríguez AJ, Robles CA, Ruíz RA, López E, Sedeño JE, Rodríguez A (2014) Índices de germinación y elongación radical de *Lactuca sativa* en el biomonitorio de la calidad del agua del río Chalma. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 30: 307-316.
- Ruffini Castiglione M, Giorgetti L, Geri C, Cremonini R (2010) The effects of nano-TiO₂ on seed germination, development and mitosis of root tip cells of *Vicia narbonensis* L. and *Zea mays* L. *Journal of Nanoparticle Research* 13: 2443-2449.
- Ruttkay-Nedecky B, Krystofova O, Nejd L, Adam V (2017) Nanoparticles based on essential metals and their phytotoxicity. *Journal of Nanobiotechnology* 15(1): 1-19. DOI: 10.1186/s12951-017-0268-3.
- Salimi MN, Bridson RH, Grover LM, Leeke GA (2012) Effect of processing conditions on the formation of hydroxyapatite nanoparticles. *Power Technology* 218: 109-118.
- SIAP (2020) Avances de siembras y cosechas. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. México. <https://www.gob.mx/siap>. Fecha de consulta: 18 de noviembre de 2020.
- Siddiqui MH, Al-Whaibi MH, Firoz M, Al-Khaishany MY (2015) Role of nanoparticles in plants. In: Siddiqui M, Al-Whaibi M, Mohammad F (eds) *Nanotechnology and plant sciences*. Springer. Cham. pp: 19-35.
- Singh R, Sharma I, Sharma P, Gupta M, Singhal P, Goyal S, Upadhyay SK (2021) Nanoparticles and nanotechnology: from source, properties, types, synthesis to multifaceted functional potential in agriculture. *Bio Science Research Bulletin-Biological Sciences* 37: 23-34.

- Soares VN, Peil RMN, Duarte TS (2013) Produção de mudas em recipientes sistema protegido. En: Schuch LMO, Vieira JF, Rufino CA, Abreu Júnior JS (ed) Sementes: Produção, qualidade e inovações tecnológicas. Pelotas: Editora e Gráfica Universitária. Brasil. pp: 459-482.
- Stampoulis D, Sinha SK, White JC (2009) Assay-dependent phytotoxicity of nanoparticles to plants. *Environmental science & technology* 43: 9473-9479.
- Trading Economics (2020) United States Imports from Mexico of Cucumbers and gherkins, fresh or chilled. Trading Economics. EE.UU. <https://tradingeconomics.com/united-states/imports/mexico/cucumbers-gherkins-fresh-chilled>. Fecha de consulta: 22 de noviembre de 2020.
- Verma DK, Patel S, Kushwah KS (2021) Effects of nanoparticles on seed germination, growth, phytotoxicity and crop improvement. *Agricultural Reviews* 42: 1-11. Doi 10.18805/ag.R-1964.
- Wang D, Xie Y, Jaisi DP, Jin Y (2016) Effects of low-molecular-weight organic acids on the dissolution of hydroxyapatite nanoparticles. *Environmental Science Nano* 3: 768-779.
- Wehner TC, Maynard DN (2003) Cucumbers, melons, and other cucurbits. Volume 1. *Encyclopedia of food and culture*. New York, USA. pp: 474-479.
- White PJ, Broadley MR (2003) Calcium in plants. *Annual Botanic* 92: 487-511.
- Wu K, Ali I, Xie H, Ullah S, Iqbal A, Wei S, Jiang L (2021) Impact of fertilization with reducing in nitrogen and phosphorous application on growth, yield and biomass accumulation of rice (*Oryza sativa* L.) under a dual cropping system. *PeerJ* 9: e11668. DOI: 10.7717/peerj.11668.
- Xin X, Zhao F, Rho JY, Goodrich SL, Sumerlin BS, He Z (2020) Use of polymeric nanoparticles to improve seed germination and plant growth under copper stress. *Science of the Total Environment* 745: 141055. 10.1016/j.scitotenv.2020.141055.
- Yadav AN (2021) Nanotechnology for agro-environmental sustainability. *Journal of Applied Biology and Biotechnology* 9(4). DOI: 10.7324/JABB.2021.94ed.
- Yang Z, Chen J, Dou R, Gao X, Mao C, Wang L (2015) Assessment of the phytotoxicity of metal oxide nanoparticles on two crop plants, maize (*Zea mays* L.) and rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Environmental Research and Public Health* 12: 15100-15109.