

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE NP_sZnO Y MICROORGANISMOS RIZOSFÉRICOS
EN EL CRECIMIENTO DE PLANTAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

Tesis

Que presenta GUILLERMO VARGAS MARTÍNEZ
como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Saltillo, Coahuila

Julio 2022

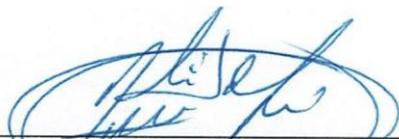
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



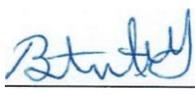
EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE NPsZnO Y MICROORGANISMOS RIZOSFÉRICOS
EN EL CRECIMIENTO DE PLANTAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

Tesis

Que presenta GUILLERMO VARGAS MARTÍNEZ
como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA



Dr. Alonso Méndez López
Director UAAAN



Dra. Rebeca Betancourt Galindo
Director Externo

Saltillo, Coahuila

Julio 2022

EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE NPsZnO Y MICROORGANISMOS RIZOSFÉRICOS
EN EL CRECIMIENTO DE PLANTAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

Tesis

Elaborada por GUILLERMO VARGAS MARTÍNEZ como requisito parcial para
obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA con la
supervisión y aprobación del Comité de Asesoría



Dr. Alonso Méndez López
Asesor Principal



Dr. Antonio Juárez Maldonado
Asesor



Dra. Rebeca Betancourt Galindo
Asesor



Dr. Alberto Sandoval Rangel
Asesor



Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente

AGRADECIMIENTOS

A Dios

Por qué nada soy sin ti, con profunda humildad gracias por darme la vida y por protegerme en cada momento a mí y mi familia, por permitirme seguir adelante llenándome de bendiciones.

A mi familia, mis padres, hermanos por estar siempre conmigo y brindarme su apoyo incondicional y confiar en mí, sin ustedes nada esto hubiera sido posible

A mi Alma Terra Mater.

Gracias por abrirme las puertas y darme la oportunidad de seguir creciendo, por ser mi segundo hogar, darme las herramientas para seguir adelante y crecer profesionalmente, vivir una de mis mejores experiencias gracias a mi Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por haberme permitido ser becario para la maestría en ciencias en horticultura y darme la facilidad de hacer mi posgrado de calidad de tiempo completo con su apoyo y facilidades.

A mi asesor principal **Dr. Alonso Méndez López** por haber permitido ser parte de su equipo. Por guiarme en todo momento resolviendo mis dudas e inquietudes, así como acompañarme en el proceso y desarrollo de la maestría con su apoyo y paciencia.

Al MC. Raúl Morales Meléndez por su apoyo, dedicación y comprensión en el trabajo de investigación, así como la confianza depositada en mí.

A la **MC. Guadalupe Magdaleno García** por su apoyo, sus consejos y comprensión en el trabajo de investigación, así como la confianza depositada en mí.

A la **Dra. Rebeca Betancourt Galindo**, por su conocimiento y el apoyo para la revisión de literatura y la síntesis de las nanopartículas de óxido de zinc.

Al **Dr. Antonio Juárez Maldonado** por su conocimiento y el apoyo para la revisión de literatura.

Al **Dr. Alberto Sandoval Rangel** por su conocimiento y el apoyo para la revisión de literatura.

A los investigadores y colaboradores que apoyaron en este trabajo que sin su ayuda no hubiera sido posible. A los profesores del programa de la Maestría en Ciencias en Horticultura por sus enseñanzas y orientación durante la realización de mis estudios en la Maestría.

DEDICATORIA

A mi esposa Ivonn Meléndez Trejo, a nuestra hija “La campeona” Elsa Corina Vargas Meléndez

Por acompañarme en los altibajos que juntos hemos enfrentado, darme ánimo y apoyarme incondicionalmente, gracias a dios por haberme dado la oportunidad de compartir nuestras vidas, vivir momentos inolvidables y hacerme mejor persona cada día ¡los amo!

A mis padres y hermanos

Gracias por darme su apoyo incondicional por sus buenos consejos y estar conmigo sin importar el momento. Los aprecio por la confianza que has depositado en mí.

A cada uno de mis amigos

Por brindarme su amistad, apoyo y motivación en este trayecto de crecimiento profesional y aprendizaje.

Índice General

AGRADECIMIENTOS	IV
DEDICATORIA	VI
ÍNDICE DE TABLAS	IX
ÍNDICE DE FIGURAS	X
RESUMEN	XII
ABSTRACT	XIV
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
OBJETIVO GENERAL.....	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
HIPÓTESIS	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
BIOESTIMULANTES	4
NANOTECNOLOGÍA	5
MORFOLOGÍA DE LAS NANOPARTÍCULAS	6
CAPTACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS	7
VÍA DE APLICACIÓN FOLIAR.....	7
VÍA DE APLICACIÓN DRENCH.....	8
FUNCIÓN DEL ZINC DENTRO DE PLANTA.....	8
NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC.....	8
MICROORGANISMOS PROMOTORES DEL CRECIMIENTO VEGETAL (PGPM)	9
MECANISMOS DE ACCIÓN DE (PGPM).....	10
CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE (HMA) Y <i>GLOMUS INTRARADICES</i>	11
<i>AZOSPIRILLUM</i> Y <i>AZOSPIRILLUM BRASILENSE</i>	12
TOMATE	12
INTERNACIONAL	13
NACIONAL	13
MATERIALES Y MÉTODOS	15
SITIO DE ESTUDIO.....	15
MANEJO DEL CULTIVO	15

DISEÑO EXPERIMENTAL	15
APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS	15
DETERMINACIÓN DEL CRECIMIENTO Y BIOMASA	16
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	16
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
ALTURA DE LA PLANTA	19
DIÁMETRO DE TALLO	20
NUMERO DE HOJAS	22
ÁREA FOLIAR	23
LONGITUD DE RAÍZ.....	25
VOLUMEN DE RAÍZ	26
BIOMASA TOTAL.....	28
CONCLUSIONES	31
REFERENCIAS	32

Índice de Tablas

TABLA1. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE VARIABLES AGRONÓMICAS DE PLANTA DE TOMATE (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) TRATADOS CON NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC A DIFERENTES DOSIS, POR DIFERENTES VÍAS DE APLICACIÓN Y COMBINADA CON MICROORGANISMOS RIZOSFÉRICOS.	18
---	-----------

Índice de Figuras

FIGURA 1. ALTURA DE PLANTA DE TOMATE (<i>SOLANUM LYCOPERSICUM</i> 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 ($P \leq 0.05$).....	20
FIGURA 2. DIÁMETRO DE TALLO DE TOMATE (<i>SOLANUM LYCOPERSICUM</i> 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 ($P \leq 0.05$).....	22
FIGURA 3. NÚMERO DE HOJAS DE TOMATE (<i>SOLANUM LYCOPERSICUM</i> 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 ($P \leq 0.05$).....	23
FIGURA 4. ÁREA FOLIAR (<i>SOLANUM LYCOPERSICUM</i> 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 ($P \leq 0.05$).....	24
FIGURA 5. LONGITUD DE RAÍZ DE TOMATE (<i>SOLANUM LYCOPERSICUM</i> 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 ($P \leq 0.05$).....	26
FIGURA 6. VOLUMEN DE RAÍZ DE TOMATE (<i>SOLANUM LYCOPERSICUM</i> 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 ($P \leq 0.05$).....	28

FIGURA 7. BIOMASA TOTAL DE TOMATE (*SOLANUM LYCOPERSICUM* 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 ($P \leq 0.05$)..... 30

RESUMEN

EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE NPsZnO Y MICROORGANISMOS RIZOSFÉRICOS
EN EL CRECIMIENTO DE PLANTAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

POR

GUILLERMO VARGAS MARTÍNEZ
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DR. ALONSO MÉNDEZ LÓPEZ – ASESOR

Saltillo, Coahuila

Julio 2022

La agricultura sustentable promueve el uso insumos de origen mineral y biológico 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. 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. Las dosis de nanopartículas se aplicaron a: 0, 10 y 30 mg·L⁻¹ y en los microorganismos 0 y 10 esporas·m·L⁻¹. Se evaluó: altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas, área foliar, longitud y volumen de raíz y biomasa total. 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 de nanopartículas y cuando se aplicó 30 mg·L⁻¹ de NPsZnO en interacción con el consocio microbiano. 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. 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 lycopersicum* L.; *Glomus intraradices*; *Azospirillum brasilense*; Nanopartículas.

ABSTRACT

EFFECT OF THE APPLICATION OF NPSZNO AND RHIZOSPHERIC
MICROORGANISMS ON THE GROWTH OF TOMATO PLANTS (*Solanum*
lycopersicum L.)

BY

GUILLERMO VARGAS MARTÍNEZ
MASTER OF SCIENCE IN HORTICULTURE

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DR. ALONSO MÉNDEZ LÓPEZ- ADVISER

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. To evaluate the effects of NPsZnO applied via foliar and drench, and of rhizospheric microorganisms on the vegetative growth and biomass of tomato plants. The doses of nanoparticles were applied at: 0, 10 and 30 mg·L⁻¹ and in microorganisms 0 and 10 spores·m·L⁻¹. The variables evaluated were: plant height, stem diameter, number of leaves, leaf area, root length and volume, and total biomass. 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. 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. 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 lycopersicum* L.; *Glomus intraradices*; *Azospirillum brasilense*; Nanoparticles.

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 Al^{3+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} y Zn^{2+} , 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 lycopersicum* 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 trabajo 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.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar el efecto de las nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) y su vía de aplicación, en interacción con un consorcio de microorganismos rizosféricos, sobre el crecimiento de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en condiciones de invernadero.

Objetivos específicos

- Aplicar dos diferentes dosis de NPsZnO en interacción *Glomus intraradices* y *Azospirillum brasilense* y determinar la mejor combinación sobre el crecimiento del cultivo de tomate.
- Evaluar el efecto de dos métodos de aplicación (foliar y drench) de las NPsZnO para definir el de mayor eficiencia sobre el crecimiento del cultivo de tomate.

HIPÓTESIS

La aplicación NPs de ZnO en dosis bajas y microorganismos rizosféricos, promoverá un efecto positivo en el crecimiento y la biomasa de la planta de tomate.

REVISIÓN DE LITERATURA

Bioestimulantes

Este término puede tener diferentes definiciones de acuerdo con la fuente que se consulte.

Por un lado, Du Jardin. (2015); define bioestimulante vegetal es cualquier sustancia o microorganismo aplicado a las plantas con el objetivo de mejorar la eficiencia nutricional, la tolerancia al estrés abiótico y/o los rasgos de calidad, independientemente de su contenido de nutrientes.

Por otro lado, Yakhin *et al.* (2017), en su revisión mencionan que “Un bioestimulante es un producto formulado de origen biológico que mejora la productividad de las plantas como consecuencia de las propiedades novedosas o emergentes del complejo de constituyentes, y no como consecuencia exclusiva de la presencia de nutrientes vegetales esenciales conocidos, reguladores.

En tanto la normativa de la Unión Europea (UE): bioestimulantes a determinadas sustancias, mezclas y productos de microorganismos, que serán un producto fertilizante, cuya función es estimular los procesos de nutrición de las plantas independientemente de la contenido de nutrientes con el único propósito de mejorar una o más de las siguientes características de la planta o la rizosfera de la planta : (a) eficiencia en el uso de nutrientes; (b) tolerancia al estrés abiótico; (c) rasgos de calidad; (d) disponibilidad de nutrientes confinados en el suelo o la rizosfera” (UE .2019).

Hay una gran variedad de sustancias naturales diversas y derivados químicos de compuestos naturales o sintéticos, así como microorganismos benéficos, están catalogados como bioestimulantes de plantas, incluyendo:

- 1) sustancias húmicas;
- 2) hidrolizados de proteínas de origen vegetal o animal;
- 3) extractos de macro y microalgas;
- 4) silicio;

5) hongos micorrízicos arbusculares (AMF); y rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) pertenecientes a los géneros *Azotobacter*, *Azospirillum* y *Rizhobium* spp.

De acuerdo con diferentes autores (Battacharyya *et al.*, 2015; Canellas *et al.*, 2015; López-Bucio *et al.*, 2015; Ruzzi y Aroca. 2015; Savvas y Ntatsi 2015; Rouphael *et al.*, 2015; Colla *et al.*, 2017; Chiaiese *et al.*, 2018).

Además, Kunicki *et al.* (2010) mencionan que, dependiendo de su contenido y composición, los bioestimulantes se pueden aplicar a las plantas en bajas concentraciones al suelo o a las hojas de las plantas. Por lo que se puede esperar diferentes respuestas de las plantas tratadas.

Nanotecnología

La nanotecnología es un campo prospectivo con múltiples aplicaciones en diversas áreas de la ciencia moderna, incluidas la física, la farmacología, la química, la informática, la agricultura y la ingeniería (Bayda *et al.*, 2019). La nanotecnología abarca la manipulación, la fabricación y la caracterización de estructuras y tamaños a nanoescala, como materiales naturales y artificiales que van desde 1 a 100 nm de longitud y estos materiales pueden ser compuestos orgánicos, inorgánicos o poliméricos (Shang *et al.*, 2019; Dash *et al.*, 2022). La reducción del tamaño de las partículas a nanoescala conduce a una amplia desviación de las propiedades físicas y químicas de las propiedades mostradas por las partículas con tamaños a escala macro o micro (Ranjan *et al.*, 2016).

La utilización de la nanotecnología en el sector agrícola se está investigando actualmente en la entrega de productos químicos para plantas, control de agua y semillas, nanocodificación de barras, transferencia de genes, liberación controlada de agroquímicos y nanosensores (Maluin *et al.*, 2020).

Después de la interacción de los nanomateriales con las plantas, se producen varios cambios morfológicos en las plantas según la concentración y la naturaleza del nanomaterial aplicado (Siddiqui *et al.*, 2015). Por lo tanto, la influencia de los nanomateriales en las plantas puede ser positiva o fitotóxica (Aslani *et al.*, 2014; Siddiqui *et al.*, 2015). Los nanoestimulantes del crecimiento

ayudan a mejorar la germinación de las semillas (Nadiminti *et al.*, 2013) y etapas de crecimiento posteriores (Aslani *et al.*, 2014). Algunas nanopartículas tienen efectos secundarios, incluida la inhibición de la germinación o la fitotoxicidad en las plántulas (Pelegrino *et al.*, 2020; Hayes *et al.*, 2020; Falco *et al.*, 2020). Estos efectos dependen de las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas, como el tamaño, la potencial zeta y la concentración, que son factores que determinan las respuestas biológicas (Pérez-de-Luque. 2017; Acharya *et al.*, 2019).

Morfología de las Nanopartículas

Las Nanopartículas se clasifican en función de su dimensionalidad, morfología, composición, uniformidad y aglomeración (Buzea *et al.*, 2007; Remédios *et al.*, 2012), ya estas pueden ser esféricas, tubulares, de forma irregular y también puede existir en formas fusionadas, agregadas o aglomeradas (Nowack y Bucheli. 2007; Remédios *et al.*, 2012).

Debido a que la forma o morfología de las nanopartículas son determinantes en sus propiedades, se clasifican en función de su número de dimensiones. Esta es una generalización del concepto de relación de aspecto propuesto por (Pokropivny y Skorokhod. 2007) y, en su revisión Barhoum *et al.* (2022) exponen lo siguiente:

- a) Nanomateriales de dimensión cero (0D): estos materiales tienen las tres dimensiones en la escala nanométrica (es decir, <100 nm). Algunos ejemplos son los puntos cuánticos de grafeno, los puntos cuánticos de carbono, los fullerenos, los puntos cuánticos inorgánicos, las nanopartículas magnéticas, las nanopartículas de metales nobles, las nanopartículas de conversión ascendente y las nanopartículas poliméricas.
- b) Nanomateriales unidimensionales (1D): estos materiales tienen solo una dimensión >100 nm. Los nanomateriales 1D de metal, óxidos de metal y carbono con una relación de aspecto alta (p. ej., nanotubos, nanocables y nanofibras) son excelentes fuentes de electrones que emiten electrones en un campo eléctrico bajo.

c) Nanomateriales bidimensionales (2D): Este tipo de materiales tiene dos dimensiones >100 nm. Tienen forma de placa y tienen capas delgadas con un espesor de al menos una capa atómica. Grafeno/óxido de grafeno/óxido de grafeno reducido, arcillas de silicato, hidróxidos dobles en capas, dicalcogenuros de metales de transición, óxidos de metales de transición, fósforo negro, nitruro de carbono grafitico, nitruro de boro hexagonal, antimonita, nanoláminas de boro y nanoláminas de telururo de estaño son algunos ejemplos de nanomateriales 2D.

d) Nanomateriales tridimensionales (3D): Estos materiales son materiales con tres dimensiones >100 nm. Esta clase incluye, entre otros, nanoestructuras de grafeno en forma de caja y haces de nanocables y nanotubos.

Captación de las nanopartículas

Las nanopartículas pueden penetrar estructuras de plantas vivas complejas con múltiples tejidos con diversas funciones y composición. Las NP pueden ingresar al tejido de la planta desde los tejidos de la raíz o los tejidos por encima del suelo (por ejemplo, cutículas, estomas, hidátodos y tricrómico), así como a través de la unión de la raíz y las regiones heridas (Ali *et al.*, 2021). Debido a esto hay métodos de aplicación para introducir nanopartículas a la planta y los principales son foliar y Drench (aplicación de raíz principalmente en suelo por empapamiento).

Vía de aplicación Foliar

La aplicación vía foliar aumenta la absorción de nanopartículas al evitar la cutícula, la barrera principal (Wang *et al.*, 2013), NPs >10 nm ingresan a través de las estomas, y su transporte celular se produce a través de rutas apoplásicas y simplásicas hacia el sistema vascular de la planta (Ruttkay-Nedecky *et al.*, 2017). Las NP internalizadas se transportan junto con el flujo de azúcar a través de los tubos cribosos del floema. Como resultado del transporte vascular por el floema, las NP pueden viajar bidireccionalmente y acumularse en raíces, tallos, frutos, granos y hojas tiernas en diversos grados porque estos órganos sirven como

potentes sumideros para la savia (Tripathi *et al.*, 2017, Wang *et al.*, 2013, Raliya *et al.*, 2016; Ruttkay-Nedecky *et al.*, 2017).

Vía de aplicación Drench

En cambio, la aplicación vía Drench, si son pequeñas NPs (diámetros varían de 3 a 5 nm) penetran en las raíces de las plantas junto con la presión osmótica, las fuerzas capilares o pasan directamente a través de las células epidérmicas de la raíz (Lin y Xing., 2008, Du *et al.*, 2011). Las células epidérmicas de la pared celular de la raíz son semipermeables y contienen pequeños poros que restringen las NP grandes. (Ali *et al.*, 2021). Algunas NP indujeron nuevos poros en la pared celular epidérmica, lo que facilitó su entrada (Lin y Xing., 2008, Du *et al.*, 2011). Una vez atravesados las paredes celulares, las NP 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).

Función del zinc dentro de planta

El zinc (Zn) es un micronutriente esencial para el desarrollo de las plantas, ya es necesario para una multitud de procesos fisiológicos y bioquímicos, como la fotosíntesis, la síntesis de proteínas, la función antioxidante, el mantenimiento de la integridad estructural y funcional de las membranas biológicas, la desintoxicación de radicales libres de oxígeno altamente tóxicos, la contribución a la síntesis de proteínas y la expresión génica en condiciones normales (Shaba *et al.*, 2021), la arquitectura de la cromatina, el rendimiento de los meristemas, la división celular, el ciclo celular y el metabolismo de las fitohormonas (Singh *et al.*, 2021). Así también el Zn es un componente de más de 300 enzimas vegetales y proteínas vitales (Laity *et al.*, 2001).

Nanopartículas de óxido de zinc

Las nanopartículas de óxido de zinc representan uno de los nanomateriales de óxidos metálicos importantes que se han aplicado ampliamente en la ciencia de

los materiales debido a sus propiedades físicas, químicas y biológicas únicas, como su naturaleza biocompatible, respetuosa con el medio ambiente, de bajo costo y no tóxica (Alwan *et al.*, 2015; Salahuddin *et al.*, 2015; Ruszkiewicz *et al.*, 2017).

En la célula vegetal, las NPsZnO se transforman en iones Zn^{2+} y regula la actividad de la anhidrasa carbónica para la fijación de CO_2 a los carbohidratos (Ali *et al.*, 2021). La aplicación de NPsZnO mejora la acumulación de prolina y aminoácidos libres, la absorción de agua y nutrientes, y la actividad de enzimas antioxidantes como catalasa, glutatión reductasa, nitrato reductasa, superóxido dismutasa y peroxidasa, que mejoran la tolerancia de la planta a condiciones extremas (Elsakhawy *et al.*, 2018). Aumentan la biomasa (Faizan *et al.*, 2018; Vafaie *et al.*, 2022), mejoraron la tasa de germinación y crecimiento (Pandey *et al.*, 2010), las NP de ZnO mitigaron el riesgo asociado con diversas condiciones de estrés abiótico (Frio, salinidad) (Song *et al.*, 2021) y biótico (Faizan *et al.*, 2021), mejoró la producción de metabolitos secundarios (aceites esenciales, fenoles, alcaloides y fenilpropanoides (Babajani *et al.*, 2019; Shahhoseini *et al.*, 2020; Pejam *et al.*, 2021; Vafaie *et al.*, 2022), y mejorar el rendimiento (Bandyopadhyay *et al.*, 2015).

Por otro lado, también hay reportes de efectos tóxicos de las nanopartículas de óxido de zinc en las plantas reducción de la germinación y biomasa (Bandyopadhyay *et al.*, 2015; Mousavi *et al.* 2015), reducción del crecimiento y el contenido de clorofila (Wang *et al.*, 2016), el efecto tóxico sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas (Nair y Chung. 2017; Wan *et al.*, 2019).

Las NPs interactúan a nivel celular y subcelular con las plantas, después de la entrada, promoviendo cambios en los estados morfológicos y fisiológicos (Khan *et al.*, 2019), las interacciones pueden dar resultados positivos y negativos, dependiendo de la naturaleza fisicoquímica de las NPs y de la especie vegetal.

Microrganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPM)

La rizosfera, la endosfera y la filosfera pueden estar compuestas por microbios patógenos, neutrales y beneficiosos, en relación con la planta (Backer *et al.*,

2018; Sánchez-Cañizares *et al.*, 2017). Y estos microorganismos se asocian epífita y endofíticamente con las plantas, en el suelo de la rizosfera y en la mayor parte del suelo que esté 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). Los microorganismos que ejercen efectos beneficiosos sobre la planta se denominan microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPM). En general, se puede clasificar en dos clases: (1) rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) y (2) hongos promotores del crecimiento vegetal (PGPF) (Bakhshandeh *et al.*, 2020).

Los PGPM suelen representar del 1 al 2% del total de microorganismos que viven en/sobre la planta, el suelo y la zona de la rizosfera con actividades de promoción del crecimiento vegetal y protección de cultivos (Mishra *et al.*, 2017; Bakhshandeh *et al.*, 2017; Araújo *et al.* 2018). El uso de inoculantes microbianos podría ser una alternativa amigable para la planta, en la promoción del crecimiento vegetal.

Mecanismos de acción de (PGPM)

Los PGPM pueden mejorar el crecimiento de las plantas, mejorar la absorción de nutrientes, inducir resistencia sistemática y aumentar la tolerancia al estrés a través de uno o más de los siguientes mecanismos:

Mejorando la disponibilidad de nutrientes esenciales (fijación de N₂ y solubilización de P y K), regulación del crecimiento a través de fitohormonas (auxinas, giberelinas y citoquininas) bajo mecanismos directos exhibidos por los PGPM hacia las plantas de cultivos agrícolas (Dubey *et al.*, 2016).

Promoviendo la producción de antibióticos contra patógenos vegetales (butirolactonas, zwittermicina A, kanosamina, oligomicina A, oomicina A, fenazina-1-ácido carboxílico, pioluteorina, pirrolnitrina, viscosinamida, xantobacina, fenazinas, 2,4diacetilfloroglucinol, compuestos de pirrol y lipopéptidos cíclicos) (Keswani *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2016). Resistencia al estrés inducido y protección frente a agentes abióticos (sequía, salinidad y temperatura),

mediante la producción de metabolitos primarios y secundarios (trehalosa, proteínas anticongelantes y desaminasas, IAA y ACC) (Kaushal y Wani. 2016), se consideran actividades indirectas de los PGPM para la protección de plantas. Además, ya sea en suelos fértiles y bien regados o no, la demanda y la cantidad de entrada de fertilizantes y los aditivos químicos aliados se pueden reducir a la mitad del original cuando se emplean PGPM (Yobo *et al.*, 2009).

No obstante, el éxito de la aplicación de PGPM depende no solo de su adaptación a los cambios ambientales, sino también de su capacidad para colonizar un nicho y competir con otros miembros del microbioma vegetal (p. ej., bacterias, hongos, etc.) (Shameer y Prasad 2018; Rilling *et al.*, 2019).

Clasificación taxonómica de (HMA) y *Glomus intraradices*

La siguiente clasificación taxonómica actual de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) fue propuesta por SCHÜBLER *et al.*, (2001).

Dominio: Eukarya

Reino: Fungi

División: *Glomeromycota*

Clase: *Glomeromycetes*

Orden:

Familia

Archeosporales *Archaeosporaceae* y *Geosiphonaceae*

Diversisporales *Acaulosporaceae*, *Diversisporaceae* y *Gigasporaceae*

Paraglomales *Paraglomaceae*

Glomerales *Glomeraceae*, *Glomus-grupo A* y *Glomus tipo B*

Y la especie *Glomus intraradices* pertenece a este 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 liberan ácido carbónico y ácidos orgánicos de bajo peso molecular, que se unen a los iones metálicos en la solución del suelo, incluidos los iones Al, Ca, Cu, Fe,

Mg, Mn y Zn, lo que promueve la meteorización mineral y permite su absorción por las hifas y transporte a las raíces de las plantas (Kleinert *et al.*, 2018). Aumentan la resistencia de las plantas frente al estrés abiótico o biótico (Islas *et al.*, 2016) y promueven el crecimiento de las plantas y aumentan los compuestos bioactivos de estas (Chen *et al.*, 2017).

Azospirillum* y *Azospirillum brasilense

Azospirillum es un bacilo curvo gramnegativo, microaerófilo, no fermentativo y quimioorganotrofo que pertenece a la clase Alphaproteobacteria (Mehnaz, 2015). Son bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico (N₂), se encuentran en asociación con raíces de pastos y cereales de diferentes regiones del mundo (Bashan y Holguin, 1997). Estos microorganismos encajan en el grupo de diazótrofos endofíticos facultativos, ya que colonizan tanto el interior de las raíces, donde sus células pueden penetrar en el interior de la célula, así como en la parte externa de las raíces, encontrándose en el mucigel presente en la rizosfera de las plantas (Baldani *et al.*, 1997; Bashan y De-Bashan, 2005; Licea-Herrera *et al.*, 2020).

Azospirillum brasilense, se asocian a las raíces de las plantas y destacan por su capacidad de fijación de nitrógeno 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). Estas fitohormonas son solubilizadoras de K, P y Zn más eficaces (Meena *et al.*, 2016), promoviendo el crecimiento de las raíces y en consecuencia incrementando la absorción de agua, nutrientes por parte de las plantas y aumentando el crecimiento de las plantas (Vejan *et al.*, 2016).

Tomate

El tomate, cuyo nombre científico (*Solanum lycopersicum* L.) y pertenece a la familia *Solanaceae*. Dentro de esta familia, *Solanum* es el género más grande y

posiblemente el más económicamente importante, que incluye papas y tomates (Peralta y Spooner, 2001; Peralta y Spooner, 2007).

El origen del tomate se ubica en la región andina que ahora abarca parte de Bolivia, Chile, Colombia, Ecuador y Perú (Peralta *et al.*, 2008; Blanca *et al.*, 2012). Esos materiales fueron luego llevados a Mesoamérica y fue allí donde ocurrió la verdadera domesticación (Blanca *et al.*, 2012), y la evidencia de la diversidad del tomate cultivado sugiere que el tomate fue originalmente domesticado en México (Jenkins, 1948; Rick *et al.*, 1974), creando así las tradicionales variedades de tomate de frutos grandes. De allí, los españoles llevaron tomates a España e Italia, y de allí se extendieron al resto del mundo (Blanca *et al.*, 2012).

Internacional

El cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una de las hortalizas con mayor importancia a nivel internacional, esto se debe a su disponibilidad tanto como fruta fresca como procesada, también es comercialmente importante en todo el mundo (Shah *et al.*, 2015; Giuliani y Gatta, 2017). En el 2020, la producción internacional de tomate fue de 251,687,023 millones de toneladas (FAO. 2020). Y posiblemente la producción siga en aumento, conforme la demanda aumente y se mejoren las técnicas de producción.

Nacional

México aporta 1.7% de la producción mundial de tomate, por debajo de China, China Continental, India y Estados Unidos de América, entre otros, contribuye 19% de volumen de las exportaciones a nivel mundial, ubicándolo como el principal país exportador por arriba de España (14%) y Países Bajos (13%) (FAO. 2020; Méndez *et al.*, 2021). El tomate se considera uno de los productos estratégicos para el desarrollo del sector agrícola, debido a su importancia económica a nivel local, regional, estatal, nacional por su amplia generación de empleos (León-Andrade *et al.*, 2022). De allí la importancia de buscar alternativas para incrementar la producción y una de las alternativas, es el uso de

bioestimulantes, en este estudio es el uso de nanopartículas de óxido de zinc y microorganismos.

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 lycopersicum* 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

La unidad experimental fue una maceta, 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. 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 m·L⁻¹).

Aplicación de los tratamientos

Las nanopartículas de óxido de zinc utilizadas eran esféricas 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 mg·L 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 que contiene una concentración de: *Glomus intraradices* 1000 esporas m·L⁻¹ y *Azospirillum brasilense* 10 millones de UFC/m·L⁻¹, se preparó previamente la solución con las concentraciones especificadas (0 y 10 esporas m·L⁻¹) en agua destilada, de la solución resultante se aplicó 20 mg·L 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 hrs, 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, No. De hojas, Área foliar total y Volumen de raíz (Tabla 1). La altura de la planta (AP) mostró una disminución con la dosis de $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 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 lycopersicum* 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.

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 lycopersicum* L.) tratados con nanopartículas de óxido de zinc por diferentes vías de aplicación y combinada con microorganismos rizosféricos.

Tabla1. Comparación de medias de variables agronómicas de planta de tomate (*Solanum lycopersicum* 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 (mm ²)	LR (cm)	VR (cm ³)	BT (gr)
NPsZnO (mg L⁻¹)							
0	154.34a	6.90 ^a	18.88a	4347.19	63.38	29.00	31.32b
10	148.65b	6.47b	18.19b	3861.64	60.13	27.00	33.76a
30	155.27a	7.08 ^a	19.13a	4669.10	58.26	27.50	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	154.61	7.05 ^a	18.63	3706.30	53.68b	29.14	33.27
Drench	150.90	6.59b	18.83	4878.99	67.49a	26.53	33.75
ANOVA	p≤0.0854	p≤0.0025	p≤0.3945	p≤0.0674	p≤0.0001	p≤0.1631	p≤0.6225
Micr (m·L⁻¹)							
0	147.68b	6.62b	18.58	3940.42	58.39b	27.97	32.03b
10	157.82a	7.01 ^a	18.88	4644.87	62.78a	27.69	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).

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 lycopersicum* 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 m·L⁻¹ 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 alta, se observó un efecto de las NPs. 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.

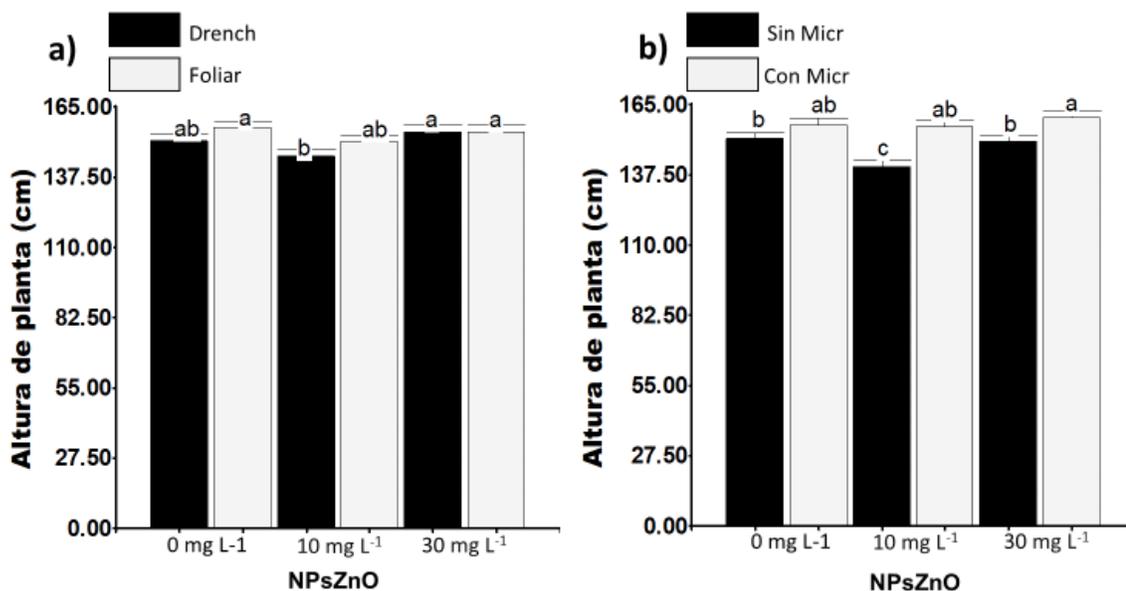


Figura 1. Altura de planta de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) tratados con nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) por diferentes vías de aplicación(a) y combinada con microorganismos rizosféricos (b). Letras diferentes entre columnas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$).

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 mostro 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 $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 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 la diferencia 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 $40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; estos resultados son correspondientes con los encontrados en este trabajo con la dosis $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, por lo que, el efecto adverso de estas nanopartículas puede ser recurrentes incluso a dosis bajas.

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.

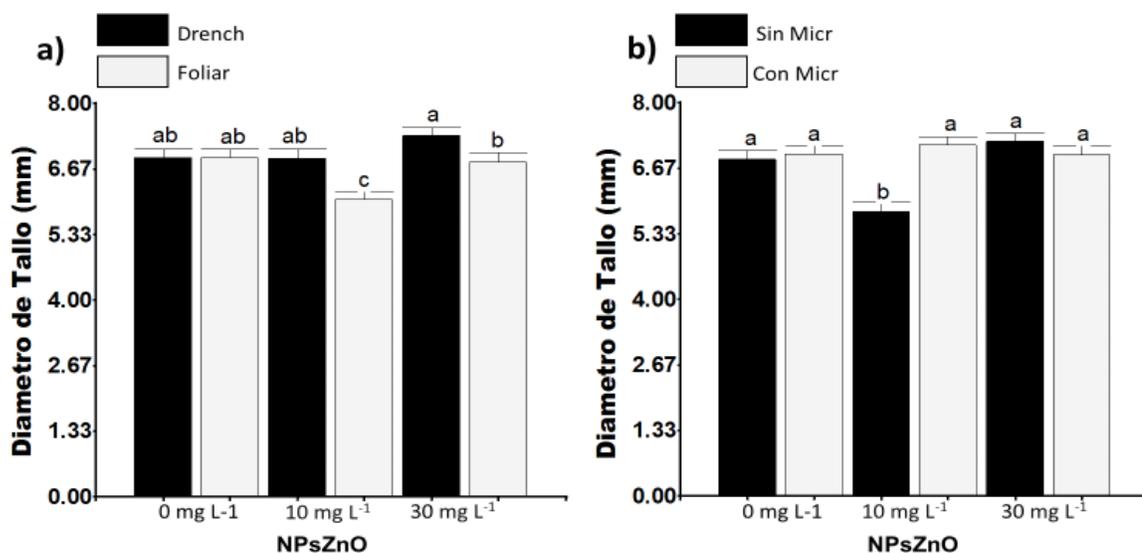


Figura 2. Diámetro de Tallo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) tratados con nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) por diferentes vías de aplicación(a) y combinada con microorganismos rizosféricos (b). Letras diferentes entre columnas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$).

Numero de hojas

El número de hojas no mostró diferencias significativas, en los tratamientos con nanopartículas de óxido de zinc por diferentes vías de aplicación (Figura 3a), pero mostró un efecto negativo en la dosis $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ vía de aplicación foliar en una disminución en 4.64% respecto al control. En cambio, se observó una diferencia significativa en la interacción de nanopartículas de óxido de zinc y combinada con microorganismos rizosféricos, en la dosis $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ sin usar microorganismos, tuvo una disminución en el número de hojas en un 9.21% (Figura 3b) respecto al control.

Estos resultados tienen cierta relación respecto al por qué a ciertas dosis de NPs las plantas tratadas responden diferente. Según (Mahajan *et al.*, 2011) reportan que en garbanzos y mungo a una concentración óptima de ZnO NP, el crecimiento de raíces y brotes mejoró, mientras que se observaron efectos negativos después de una cierta concentración.

Por lo tanto, la influencia de los nanomateriales en las plantas puede ser positiva o fitotóxica (Aslani *et al.*, 2014) y en este trabajo el efecto observado fue negativo.

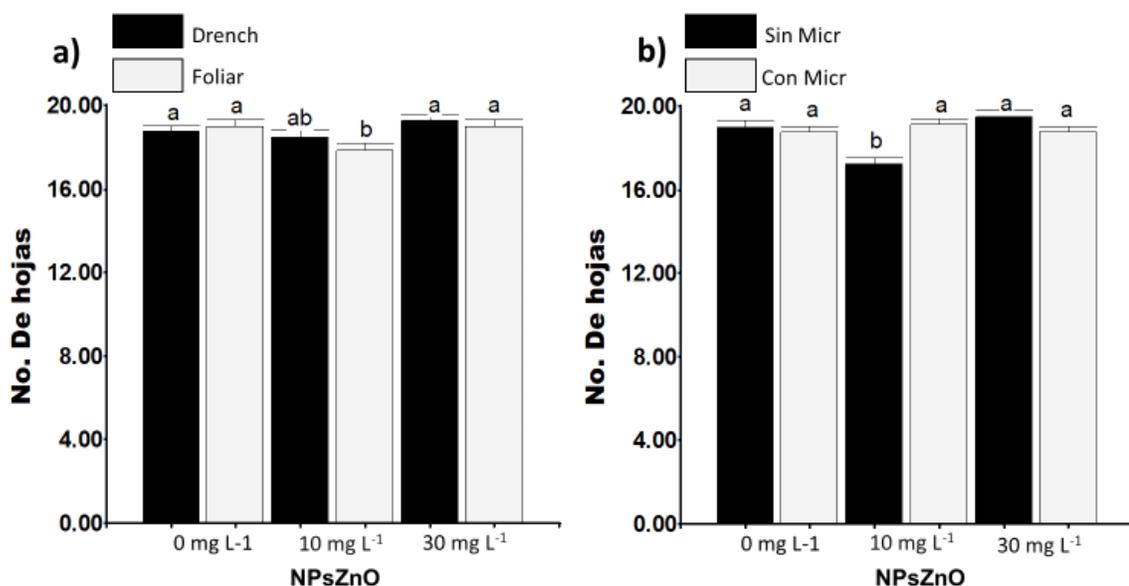


Figura 3. Número de hojas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) tratados con nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) por diferentes vías de aplicación(a) y combinada con microorganismos rizosféricos (b). Letras diferentes entre columnas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$).

El resultado obtenido de este trabajo contrasta con los efectos benéficos por uso de microorganismos rizosféricos, que mencionan (Singh & Singh 2009) que las bacterias fijadoras de nitrógeno y los biorreguladores exhiben un efecto significativo en las características de crecimiento en las plantas de fresa. Ellos observaron el máximo crecimiento en cuanto a altura de planta, número de hojas, área foliar, copas/planta y biomasa total de plantas de fresa con la inoculación de tratamiento compuesto por *Azotobacter* + *Azospirillum*.

Área foliar

El área foliar, no se presentaron diferencias significativas en los tratamientos con nanopartículas de óxido de zinc por diferentes vías de aplicación, pero se observó

una tendencia negativa en la dosis 10 mg·L⁻¹, donde la variable área foliar disminuyó en 31.55% (Figura 4a) respecto al control.

La interacción entre nanopartículas con el consorcio de microorganismos tampoco mostró una diferencia significativa (Figura 4b).

El efecto positivo al utilizar NPs por diferentes vías de aplicación no se observó en este trabajo y esto difiere con, (Faizan *et al.* 2017) la aplicación de NPsZnO vía Drench aumentó en la longitud de brotes y raíces, masa seca de brotes y raíces, área foliar y parámetros fotosintéticos de *Solanum lycopersicum* después de su tratamiento. A sí también la aplicación foliar de NPsZnO en plantas de frijol en racimo, mejoró el crecimiento general de la planta respecto al control (Raliya y Tarafdar. 2013).

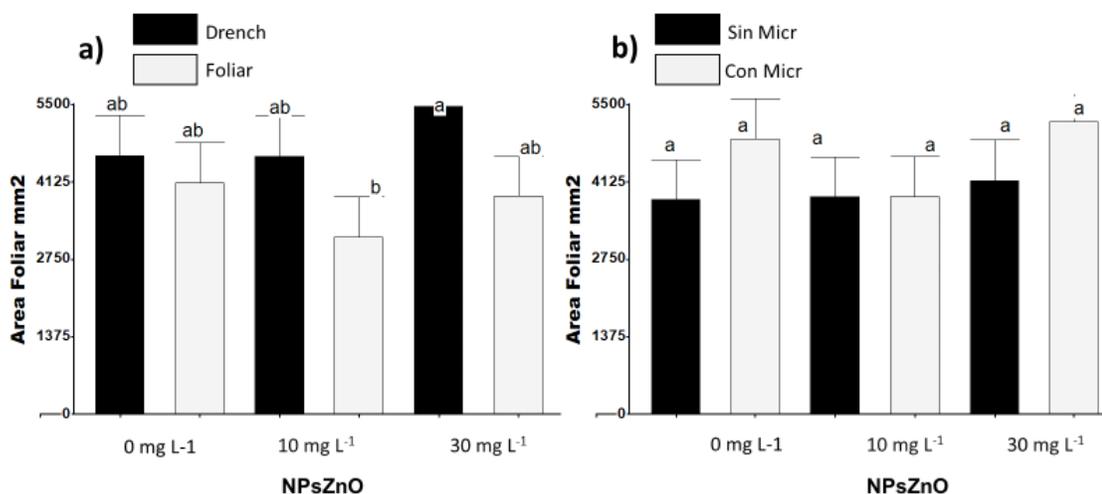


Figura 4. Área foliar (*Solanum lycopersicum* L.) tratados con nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) por diferentes vías de aplicación(a) y combinada con microorganismos rizosféricos (b). Letras diferentes entre columnas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$).

Madhaiyan *et al.* (2010) reportaron que al inocular semillas de tomate y pimiento rojo con *A. brasilense* se observó un aumento en el área foliar de las plantas inoculadas respecto a las no inoculadas. Y Lira-Saldívar *et al.* (2014) mencionan que la Coinoculación de semillas con *A. brasilense* y *G. intraradices* más dos

aplicaciones de Az + Gi a los 15 y 30 días después del trasplante incrementaron en promedio 6% altura de planta, 11% área foliar, 10.5% biomasa seca y 16% rendimiento de tomate cherry en comparación con la fertilización tradicional. Y esto contrasta con el resultado obtenido en este trabajo, pudiera deberse al antagonismo entre las nanopartículas de óxido de zinc y el consorcio de microorganismos rizosféricos, ya que de acuerdo Kaftelen *et al.* (2012) las NPsZnO actúan como agentes antimicrobianos.

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 5a). Este efecto de las nanopartículas también se observó en interacción con el consorcio de microorganismos rizosféricos (Figura 5b). 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 5a) y disminuyó 14.32% cuando no se aplicó microorganismos al sustrato de crecimiento (Figura 5b).

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.

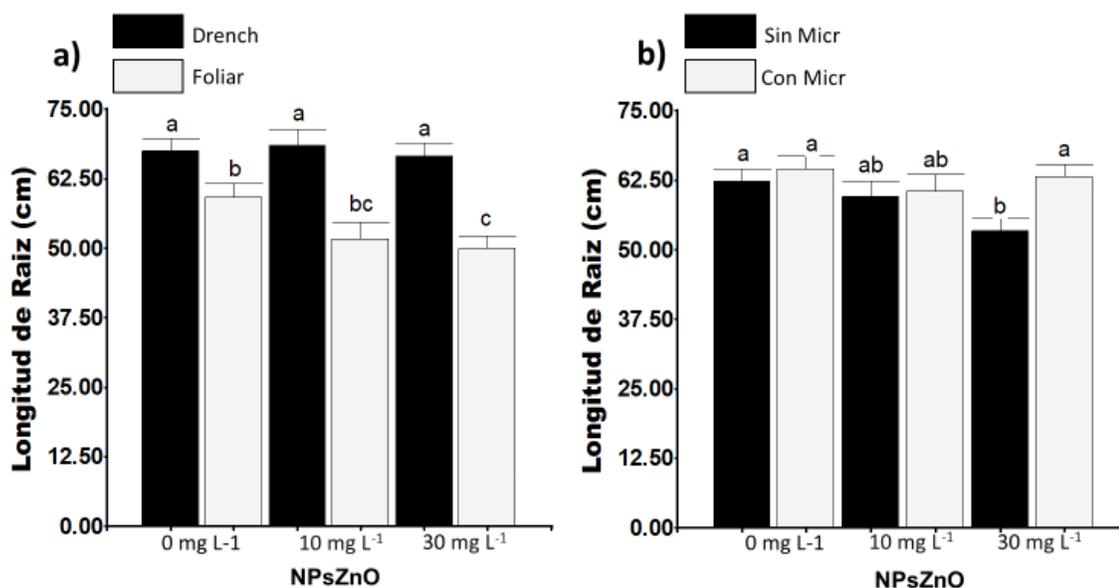


Figura 5. Longitud de raíz de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) tratados con nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) por diferentes vías de aplicación(a) y combinada con microorganismos rizosféricos (b). Letras diferentes entre columnas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$).

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 30mg·L⁻¹ por vía foliar (Figura 6a) 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 $100 \mu\text{g m}\cdot\text{L}^{-1}$ 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. Los efectos observados en los tratamientos con microorganismos (Figura 6b) 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.

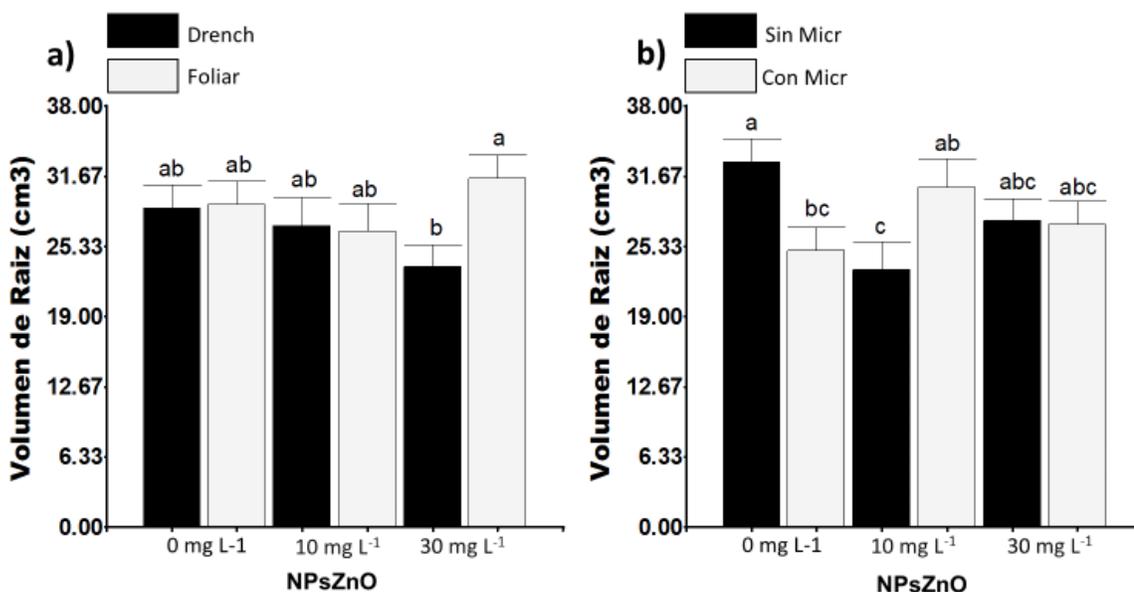


Figura 6. Volumen de raíz de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) tratados con nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) por diferentes vías de aplicación(a) y combinada con microorganismos rizosféricos (b). Letras diferentes entre columnas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$).

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 7a). También la interacción con el consorcio microbiano afecta positivamente la biomasa total, este incremento (28.81%) cuando se aplicó de 30 mg·L⁻¹ de nanopartículas en interacción con el consorcio microbiano en el sustrato de crecimiento, comparado con el control (Figura 7b). 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 *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 las 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).

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.

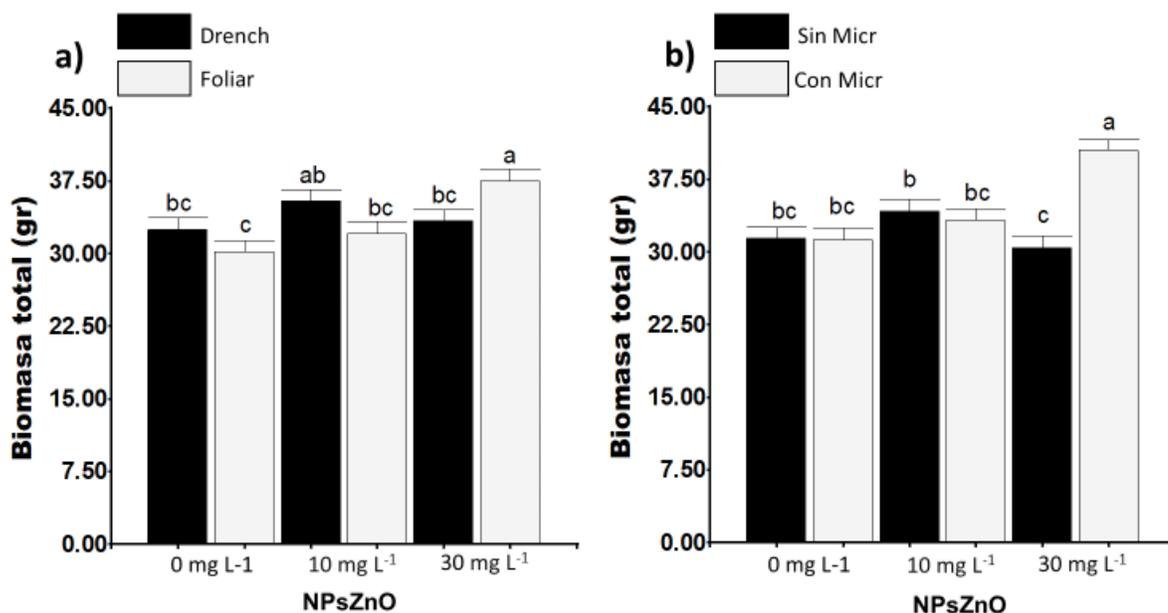


Figura 7. Biomasa total de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) tratados con nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) por diferentes vías de aplicación(a) y combinada con microorganismos rizosféricos (b). Letras diferentes entre columnas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$).

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.

REFERENCIAS

- Abdallah, Y., Yang, M., Zhang, M., Masum, M. M., Ogunyemi, S. O., Hossain, A., ... & Li, B. (2019). Plant growth promotion and suppression of bacterial leaf blight in rice by *Paenibacillus polymyxa* Sx3. *Letters in applied microbiology*, 68(5), 423-429. DOI: 10.1111/lam.13117
- Abdelkhalek, A., & Al-Askar, A. A. (2020). Green synthesized ZnO nanoparticles mediated by *Mentha spicata* extract induce plant systemic resistance against Tobacco mosaic virus. *Applied Sciences*, 10(15), 5054. DOI: 10.3390/app10155054
- Acharya, P., Jayaprakasha, G. K., Crosby, K. M., Jifon, J. L., & Patil, B. S. (2019). Green-synthesized nanoparticles enhanced seedling growth, yield, and quality of onion (*Allium cepa* L.). *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7(17), 14580-14590. DOI: 10.1021/acssuschemeng.9b02180
- Ali, S., Mehmood, A., & Khan, N. (2021). Uptake, translocation, and consequences of nanomaterials on plant growth and stress adaptation. *Journal of Nanomaterials*, 2021. DOI: 10.1155/2021/6677616
- Alwan, R. M., Kadhim, Q. A., Sahan, K. M., Ali, R. A., Mahdi, R. J., Kassim, N. A., & Jassim, A. N. (2015). Synthesis of zinc oxide nanoparticles via sol-gel route and their characterization. *Nanoscience and Nanotechnology*, 5(1), 1-6. DOI: 10.5923/j.nn.20150501.01
- Araújo, G. C., Sousa, N. R., & Castro, P. M. (2018). The effect of fungal-bacterial interaction on the phenolic profile of *Pinus pinea* L. *Plant Growth Regulation*, 86(3), 465-475. DOI: 10.1007/s10725-018-0445-x
- Aslani, F., Bagheri, S., Muhd Julkapli, N., Juraimi, A. S., Hashemi, F. S. G., & Baghdadi, A. (2014). Effects of engineered nanomaterials on plants growth: an overview. *The Scientific World Journal*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/641759>
- Babajani, A., Iranbakhsh, A., Oraghi Ardebili, Z., & Eslami, B. (2019). Differential growth, nutrition, physiology, and gene expression in *Melissa officinalis* mediated by zinc oxide and elemental selenium nanoparticles. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(24), 24430-24444. DOI: 10.1007/s11356-019-05676-z
- Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., ... & Smith, D. L. (2018). Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in plant science*, 1473. DOI: 10.3389/fpls.2018.01473

- 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, 10-17. DOI: 10.1016/j.etap.2017.04.012
- Bakhshandeh, E., Gholamhosseini, M., Yaghoubian, Y., & Pirdashti, H. (2020). Plant growth promoting microorganisms can improve germination, seedling growth and potassium uptake of soybean under drought and salt stress. *Plant Growth Regulation*, 90(1), 123-136. DOI: 10.1007/s10725-019-00556-5
- Bakhshandeh, E., Pirdashti, H., & Lendeh, K. S. (2017). Phosphate and potassium-solubilizing bacteria effect on the growth of rice. *Ecological Engineering*, 103, 164-169. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2017.03.008
- Baldani, J., Caruso, L., Baldani, V.L., Goi, S.R., Döbereiner, J. 1997, Recent advances in BNF with non-legume plants, *Soil Biology and Biochemistry*, 29(5-6), 911-922.
- Bandyopadhyay, S., Plascencia-Villa, G., Mukherjee, A., Rico, C. M., José-Yacamán, M., Peralta-Videa, J. R., & Gardea-Torresdey, J. L. (2015). Comparative phytotoxicity of ZnO NPs, bulk ZnO, and ionic zinc onto the alfalfa plants symbiotically associated with *Sinorhizobium meliloti* in soil. *Science of the Total Environment*, 515, 60-69. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.02.014
- Barhoum, A., García-Betancourt, M. L., Jeevanandam, J., Hussien, E. A., Mekkawy, S. A., Mostafa, M., ... & Bechelany, M. (2022). Review on Natural, Incidental, Bioinspired, and Engineered Nanomaterials: History, Definitions, Classifications, Synthesis, Properties, Market, Toxicities, Risks, and Regulations. *Nanomaterials*, 12(2), 177. DOI: 10.3390/nano12020177
- Bashan, Y., & De-Bashan, L. E. (2005). Plant growth-promoting. *Encyclopedia of soils in the environment*, 1, 103-115.
- Bashan, Y., & Holguin, G. (1997). Azospirillum–plant relationships: environmental and physiological advances (1990–1996). *Canadian Journal of Microbiology*, 43(2), 103- DOI: 10.1139/m97-015
- Battacharyya, D., Babgohari, M. Z., Rathor, P., & Prithiviraj, B. (2015). Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 39-48. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.09.012
- Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., & Rizzolio, F. (2019). The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical–physical applications to nanomedicine. *Molecules*, 25(1), 112. DOI: 10.3390/molecules25010112

- Blanca, J., Cañizares, J., Cordero, L., Pascual, L., Diez, M. J., & Nuez, F. (2012). Variation revealed by SNP genotyping and morphology provides insight into the origin of the tomato. *PLoS one*, 7(10), e48198. DOI: 10.1371/journal.pone.0048198
- Buzea, C., Pacheco, I. I., & Robbie, K. (2007). Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases*, 2(4), MR17-MR71. DOI: 10.1116/1.2815690
- Canellas, L. P., Olivares, F. L., Aguiar, N. O., Jones, D. L., Nebbioso, A., Mazzei, P., & Piccolo, A. (2015). Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Scientia horticulturae*, 196, 15-27. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.09.013
- Cannavo, P., Hafdhi, 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), 1394-1399. DOI: 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. DOI: 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, 931. DOI: 10.3389/fpls.2017.00931
- Chiaiese, P., Corrado, G., Colla, G., Kyriacou, M. C., & Rouphael, Y. (2018). Renewable sources of plant biostimulation: microalgae as a sustainable means to improve crop performance. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1782. DOI: 10.3389/fpls.2018.01782
- Colla, G., Hoagland, L., Ruzzi, M., Cardarelli, M., Bonini, P., Canaguier, R., & Rouphael, Y. (2017). Biostimulant action of protein hydrolysates: Unraveling their effects on plant physiology and microbiome. *Frontiers in plant science*, 8, 2202. DOI: 10.3389/fpls.2017.02202
- Dal Cortivo, C., Barion, G., Visioli, G., Mattarozzi, M., Mosca, G. and Vameralli, 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, 396-408. DOI: 10.1016/j.agee.2017.07.006.
- Dash, KK, Deka, P., Bangar, SP, Chaudhary, V., Trif, M. y Rusu, A. (2022). Aplicaciones de nanopartículas inorgánicas en el envasado de alimentos:

una revisión exhaustiva. *Polímeros*, 14 (3), 521. MDPI AG. Obtenido de DOI: 10.3390/polym14030521

- 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), 2161-2174. DOI: 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), 223-240. DOI: 10.22319/rmcp.v11i1.4951
- Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3-14. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.09.021
- 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), 822-828. DOI: 10.1039/C0EM00611D
- Dubey, R. K., Tripathi, V., Dubey, P. K., Singh, H. B., & Abhilash, P. C. (2016). Exploring rhizospheric interactions for agricultural sustainability: the need of integrative research on multi-trophic interactions. *Journal of Cleaner Production*, 115, 362-365. DOI: 10.1016/j.jclepro.2015.12.077
- Elsakhawy, T., Omara, A. E. D., Alshaal, T., & El-Ramady, H. (2018). Nanomaterials and plant abiotic stress in agroecosystems. *Environment, Biodiversity and Soil Security*, 2(2018), 73-94.
- 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), 307. DOI: 10.3390/agronomy10020307
- Faizan, M., Bhat, J. A., Chen, C., Alyemeni, M. N., Wijaya, L., Ahmad, P., & Yu, F. (2021). Zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) induce salt tolerance by improving the antioxidant system and photosynthetic machinery in tomato. *Plant Physiology and Biochemistry*, 161, 122-130. DOI: 10.1016/j.plaphy.2021.02.002
- Faizan, M., Faraz, A., Yusuf, M., Khan, S. T., & Hayat, S. (2018). Zinc oxide nanoparticle-mediated changes in photosynthetic efficiency and antioxidant system of tomato plants. *Photosynthetica*, 56(2), 678-686. DOI: 10.1007/s11099-017-0717-0

- Falco, W. F., Scherer, M. D., Oliveira, S. L., Wender, H., Colbeck, I., Lawson, T., & Caires, A. R. (2020). Phytotoxicity of silver nanoparticles on *Vicia faba*: evaluation of particle size effects on photosynthetic performance and leaf gas exchange. *Science of the Total Environment*, 701, 134816. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.134816
- FAO. Cultivos primarios: Tomates, frescos. 2020. Disponible en línea: <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL> (consultado el 27 de abril de 2022).
- Fukami, J., Cerezini, P. and Hungria, M. (2018). *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. *Amb Express*, 8(1), 1-12. DOI: 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 annuum* L. during germination. *Agronomy*, 8(10), 215. DOI: 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. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.133202
- Giuliani, Marcella Michela, *et al.* "Deficit irrigation and partial root-zone drying techniques in processing tomato cultivated under Mediterranean climate conditions." *Sustainability* 9.12 (2017): 2197. DOI: 10.3390/su9122197
- 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), 357-368. DOI: 10.1007/s11104-016-3073-0
- Hayes, K. L., Mui, J., Song, B., Sani, E. S., Eisenman, S. W., Sheffield, J. B., & Kim, B. (2020). Effects, uptake, and translocation of aluminum oxide nanoparticles in lettuce: A comparison study to phytotoxic aluminum ions. *Science of the Total Environment*, 719, 137393. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.137393
- Himmelbauer, M. L. (2004). Estimating length, average diameter and surface area of roots using two different image analyses systems. *Plant and soil*, 260(1), 111-120. DOI: 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, 852-860. DOI: 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* DOI: 10.1016/j.apsoil.2016.01.005
- Jenkins, J. A. (1948). The origin of the cultivated tomato. *Economic Botany*, 2(4), 379-392. DOI: 10.1007/BF02859492
- Kaftelen, H., Ocakoglu, K., Thomann, R., Tu, S., Weber, S., & Erdem, E. (2012). EPR and photoluminescence spectroscopy studies on the defect structure of ZnO nanocrystals. *Physical Review B*, 86(1), 014113. DOI: 10.1103/PhysRevB.86.014113
- Kaushal, M., & Wani, S. P. (2016). Plant-growth-promoting rhizobacteria: drought stress alleviators to ameliorate crop production in drylands. *Annals of Microbiology*, 66(1), 35-42. DOI: 10.1007/s13213-015-1112-3
- Keswani, C., Mishra, S., Sarma, B. K., Singh, S. P., & Singh, H. B. (2014). Unraveling the efficient applications of secondary metabolites of various *Trichoderma* spp. *Applied microbiology and biotechnology*, 98(2), 533-544. DOI: 10.1007/s00253-013-5344-5
- Khan, M. R., Adam, V., Rizvi, T. F., Zhang, B., Ahamad, F., Joško, I., ... & Mao, C. (2019). Nanoparticle–plant interactions: two-way traffic. *Small*, 15(37), 1901794.
- Kleinert, A., Benedito, V. A., Morcillo, R. J. L., Dames, J., Cornejo-Rivas, P., Zuniga-Feest, A., ... & Muñoz, G. (2018). Morphological and symbiotic root modifications for mineral acquisition from nutrient-poor soils. In *Root Biology* (pp. 85-142). Springer, Cham. DOI: 10.1007/978-3-319-75910-4_4
- Kunicki, E., Grabowska, A., Sękara, A., & Wojciechowska, R. (2010). The effect of cultivar type, time of cultivation, and biostimulant treatment on the yield of spinach (*L.*). *Folia Horticulturae*, 22(2), 9-13.
- 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), 277-282.

- Laity, J. H., Lee, B. M., & Wright, P. E. (2001). Zinc finger proteins: new insights into structural and functional diversity. *Current opinion in structural biology*, 11(1), 39-46. DOI: 10.1016/S0959-440X(00)00167-6
- Lee, S., Choi, S., Bac, S. K., Lee, H., Yoo, T., Lee, S., ... & Furdyna, J. K. (2016). Temperature-induced transition of magnetic anisotropy between in-plane and out-of-plane directions in GaMnAs film. *Solid State Communications*, 244, 7-11. DOI: 10.1016/j.ssc.2016.06.009
- León-Andrade, M., González, F. G., Canales, J. M. V., & Lara, T. I. B. (2022). Efectos del comercio internacional en la especialización y competitividad de jitomate (*Solanum Lycopersicum* Mill.) en México (1980-2016). Paradigma económico. *Revista de economía regional y sectorial*, 14(1), 181-206.
- Licea-Herrera, J. I., Quiroz-Velásquez, J. D., & Hernández-Mendoza, J. L. (2020). Impact of *Azospirillum Brasilense*, a rhizobacterium stimulating the production of indole-3-acetic acid as the mechanism of improving plants' grow in agricultural crops. *Rev. Boliviana Quim*, 37, 34-39. DOI:10.34098/2078-3949.37.1.5
- Lin, D. and Xing, B. (2008). Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles. *Environmental science & technology*, 42(15), 5580-5585. DOI: 10.1021/es800422x
- Lira-Saldivar, RH, Hernández, A., Valdez, LA, Cárdenas, A., Ibarra, L., Hernández, M., & Ruiz, N. (2014). La coinoculación con *Azospirillum brasilense* y *Glomus intraradices* estimula el crecimiento y rendimiento de tomate cherry. *Phyton (Buenos Aires)* , 83 (1), 133-138.
- López-Bucio, J., Pelagio-Flores, R., & Herrera-Estrella, A. (2015). *Trichoderma* as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. *Scientia horticulturae*, 196, 109-123. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.08.043
- 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), 2490-2495. DOI: 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. DOI: 10.1155/2011/696535

- Maluin, F. N., Hussein, M. Z., Azah Yusof, N., Fakurazi, S., Idris, A. S., Zainol Hilmi, N. H., & Jeffery Daim, L. D. (2020). Chitosan-based agronanofungicides as a sustainable alternative in the basal stem rot disease management. *Journal of agricultural and food chemistry*, 68(15), 4305-4314. DOI: 10.1021/acs.jafc.9b08060
- Meena, V. S., Maurya, B. R., Verma, J. P., & Meena, R. S. (Eds.). (2016). Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture (Vol. 331). New Delhi: Springer. DOI: 10.1007/978-81-322-2776-2
- Mehnaz, S. (2015). Azospirillum: a biofertilizer for every crop. In *Plant microbes symbiosis: Applied facets* (pp. 297-314). Springer, New Delhi. DOI: 10.1007/978-81-322-2068-8_15
- Méndez, I. E. M., Patrón, I. N. V., & López, K. V. V. (2021). Competitividad del tomate rojo de México en el mercado internacional: análisis 2003-2017. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(7), 1185-1197. DOI: 10.29312/remexca.v12i7.2531
- Mishra, J., Singh, R., & Arora, N. K. (2017). Plant growth-promoting microbes: diverse roles in agriculture and environmental sustainability. In *Probiotics and plant health* (pp. 71-111). Springer, Singapore. DOI: 10.1007/978-981-10-3473-2_4
- Mousavi Kouhi, S. M., Lahouti, M., Ganjeali, A., & 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), 10733-10743. DOI: 10.1007/s11356-015-4306-0
- Nadiminti, P. P., Dong, Y. D., Sayer, C., Hay, P., Rookes, J. E., Boyd, B. J., & Cahill, D. M. (2013). Nanostructured liquid crystalline particles as an alternative delivery vehicle for plant agrochemicals. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 5(5), 1818-1826. DOI: 10.1021/am303208t
- Nair, P. M. G., & Chung, I. M. (2017). Regulation of morphological, molecular and nutrient status in *Arabidopsis thaliana* seedlings in response to ZnO nanoparticles and Zn ion exposure. *Science of the Total Environment*, 575, 187-198. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.10.017
- Nowack, B., & Bucheli, T. D. (2007). Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environmental pollution*, 150(1), 5-22. DOI: 10.1016/j.envpol.2007.06.006
- 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. DOI: 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, 110297. DOI: 10.1016/j.scienta.2021.110297
- Pandey, A. C., S. Sanjay, S., & S. Yadav, R. (2010). Application of ZnO nanoparticles in influencing the growth rate of *Cicer arietinum*. *Journal of Experimental nanoscience*, 5(6), 488-497. DOI: 10.1080/17458081003649648
- Pejam, F., Ardebili, Z. O., Ladan-Moghadam, A., & Danaee, E. (2021). Zinc oxide nanoparticles mediated substantial physiological and molecular changes in tomato. *Plos one*, 16(3), e0248778. DOI: 10.1371/journal.pone.0248778
- Pelegriño, M. T., Kohatsu, M. Y., Seabra, A. B., Monteiro, L. R., Gomes, D. G., Oliveira, H. C., ... & Lange, C. N. (2020). Effects of copper oxide nanoparticles on growth of lettuce (*Lactuca sativa* L.) seedlings and possible implications of nitric oxide in their antioxidative defense. *Environmental Monitoring and Assessment*, 192(4), 1-14 DOI: 10.1007/s10661-020-8188-3
- Peralta, I. E., & Spooner, D. M. (2001). Granule-bound starch synthase (GBSSI) gene phylogeny of wild tomatoes (*Solanum* L. section *Lycopersicon* [Mill.] Wettst. subsection *Lycopersicon*). *American Journal of botany*, 88(10), 1888-1902. DOI: 10.2307/3558365
- Peralta, I. E., & Spooner, D. M. (2007). History, origin and early cultivation of tomato (Solanaceae). *Genetic improvement of solanaceous crops*, 2, 1-27.
- Peralta, I. E., Spooner, D. M., & Knapp, S. (2008). Taxonomy of wild tomatoes and their relatives (*Solanum* sect. *Lycopersicoides*, sect. *Juglandifolia*, sect. *Lycopersicon*; Solanaceae). *Systematic botany monographs*, 84.
- Pérez-de-Luque, A. (2017). Interaction of nanomaterials with plants: what do we need for real applications in agriculture?. *Frontiers in Environmental Science*, 5, 12. DOI: 10.3389/fenvs.2017.00012
- 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, 414-422. DOI: 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. DOI: 10.1371/journal.pone.0259380
- Pokropivny, V. V., & Skorokhod, V. V. (2007). Classification of nanostructures by dimensionality and concept of surface forms engineering in nanomaterial science. *Materials Science and Engineering: C*, 27(5-8), 990-993. DOI: 10.1016/j.msec.2006.09.023
- Prasad, T. N. V. K. V.; Sudhakar, P.; Sreenivasulu, Y.; Latha, P.; Munaswamy, V.; Reddy, K. R.; Sreepasad T.S.; Sajanalal 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), 905-927. DOI: 10.1080/01904167.2012.663443
- Rajput, V., Minkina, T., Fedorenko, A.; Sushkova, S., Mandzhieva, S., Lysenko, V., Duplii N., Fedorenko G., Dvadnenko K. and Ghazaryan, K. (2018). Toxicity of copper oxide nanoparticles on spring barley (*Hordeum sativum* distichum). *Science of the Total Environment*, 645, 1103-1113. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.07.211.
- Raliya, R., & Tarafdar, J. C. (2013). ZnO nanoparticle biosynthesis and its effect on phosphorous-mobilizing enzyme secretion and gum contents in Clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba* L.). *Agricultural Research*, 2(1), 48-57. DOI: 10.1007/s40003-012-0049-z
- Raliya, R., Franke, C., Chavalmane, S., Nair, R., Reed, N., & Biswas, P. (2016). Quantitative understanding of nanoparticle uptake in watermelon plants. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1288. DOI: 10.3389/fpls.2016.01288
- Ranjan, S., Dasgupta, N., & Lichtfouse, E. (Eds.). (2016). *Nanoscience in food and agriculture* (Vol. 20). Cham: Springer International Publishing. DOI: 10.1007/978-3-319-58496-6
- 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), 105-114. DOI: 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. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 3(2), 467-473.
- Remédios, C., Rosário, F., & Bastos, V. (2012). Environmental nanoparticles interactions with plants: morphological, physiological, and genotoxic aspects. *Journal of Botany*, 2012. DOI: 10.1155/2012/751686

- Rick, C. M., Zobel, R. W., & Fobes, J. F. (1974). Four peroxidase loci in red-fruited tomato species: genetics and geographic distribution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 71(3), 835-839. <https://doi.org/10.1073/pnas.71.3.835>
- Rilling, J. I., Acuña, J. J., Nannipieri, P., Cassan, F., Maruyama, F., & Jorquera, M. A. (2019). Current opinion and perspectives on the methods for tracking and monitoring plant growth-promoting bacteria. *Soil Biology and Biochemistry*, 130, 205-219. DOI: 10.1016/j.soilbio.2018.12.012
- Rouphael, Y., Franken, P., Schneider, C., Schwarz, D., Giovannetti, M., Agnolucci, M., ... & Colla, G. (2015). Arbuscular mycorrhizal fungi act as biostimulants in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 196, 91-108. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.09.002
- Ruszkiewicz, J. A., Pinkas, A., Ferrer, B., Peres, T. V., Tsatsakis, A., & Aschner, M. (2017). Neurotoxic effect of active ingredients in sunscreen products, a contemporary review. *Toxicology reports*, 4, 245-259. DOI: 10.1016/j.toxrep.2017.05.006
- 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
- Ruzzi, M., & Aroca, R. (2015). Plant growth-promoting rhizobacteria act as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 124-134. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.08.042
- SADER. (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.\(Fecha de consulta 1 de febrero del 2022\)](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.(Fecha de consulta 1 de febrero del 2022))
- Salahuddin, N. A., El-Kemary, M., & Ibrahim, E. M. (2015). Synthesis and characterization of ZnO nanoparticles via precipitation method: effect of annealing temperature on particle size. *Nanosci. Nanotechnol*, 5(4), 82-88. DOI: 10.5923/jnn.2015050402
- Sánchez-Cañizares, C., Jorrín, B., Poole, P. S., & Tkacz, A. (2017). Understanding the holobiont: the interdependence of plants and their microbiome. *Current Opinion in Microbiology*, 38, 188-196. DOI: 10.1016/j.mib.2017.07.001
- Savvas, D., & Ntatsi, G. (2015). Biostimulant activity of silicon in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 66-81. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.09.010

- SCHÜßLER, A., Schwarzott, D., & Walker, C. (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological research*, 105(12), 1413-1421. DOI: 10.1017/S0953756201005196
- Shaba, E. Y., Jacob, J. O., Tijani, J. O., & Suleiman, M. A. T. (2021). A critical review of synthesis parameters affecting the properties of zinc oxide nanoparticle and its application in wastewater treatment. *Applied Water Science*, 11(2), 1-41. DOI: 10.1007/s13201-021-01370-z
- Shah, M. A., Khan, A. I., Awan, F. S., Sadaqat, H. A., Bahadur, S., Rasheed, A., & Baloch, F. S. (2015). Genetic diversity of some tomato cultivars and breeding lines commonly used in Pakistani breeding program. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 3(3), 126-132. DOI: 10.24925/turjaf.v3i3.126-132.249
- Shahhoseini, R., Azizi, M., Asili, J., Moshtaghi, N., & Samiei, L. (2020). Effects of zinc oxide nanoelicitors on yield, secondary metabolites, zinc and iron absorption of Feverfew (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 42(4), 1-18. DOI: 10.1007/s11738-020-03043-x
- Shameer, S., & Prasad, T. N. V. K. V. (2018). Plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agricultural practices with special reference to biotic and abiotic stresses. *Plant Growth Regulation*, 84(3), 603-615. DOI: 10.1007/s10725-017-0365-1
- Shang, Y., Hasan, M., Ahammed, G. J., Li, M., Yin, H., & Zhou, J. (2019). Applications of nanotechnology in plant growth and crop protection: a review. *Molecules*, 24(14), 2558. DOI: 10.3390/molecules24142558
- Sharma, D., Afzal, S. and Singh, N. K. (2021). Nanoprimering with phytosynthesized zinc oxide nanoparticles for promoting germination and starch metabolism in rice seeds. *Journal of Biotechnology*, 336, 64-75. DOI: 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, 101938. DOI: 10.1016/j.bcab.2021.101938
- Siddiqui, M. H., Al-Whaibi, M. H., Firoz, M., & Al-Khaishany, M. Y. (2015). Role of nanoparticles in plants. *Nanotechnology and plant sciences*, 19-35. DOI: 10.1007/978-3-319-14502-0_2
- Singh, A., & Singh, J. N. (2009). Effect of biofertilizers and bioregulators on growth, yield and nutrient status of strawberry cv. Sweet Charlie. *Indian Journal of Horticulture*, 66(2), 220-224.

- 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), 185-201. DOI: 10.1007/s10853-017-1544-1
- Singh, V. P., Singh, S., Tripathi, D. K., Prasad, S. M., & Chauhan, D. K. (2021). *Plant Responses to Nanomaterials*. Springer International Publishing. DOI: 10.1007/978-3-030-36740-4
- Song, Y., Jiang, M., Zhang, H., & Li, R. (2021). Zinc oxide nanoparticles alleviate chilling stress in rice (*Oryza sativa* L.) by regulating antioxidative system and chilling response transcription factors. *Molecules*, 26(8), 2196. DOI: 10.3390/molecules26082196
- Steiner, A. A. (1961). A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and soil*, 15(2), 134-154. DOI: 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), 257-262. DOI: 10.1007/s40003-014-0113-y
- Tripathi, D. K., Singh, S., Singh, V. P., Prasad, S. M., Dubey, N. K., & Chauhan, D. K. (2017). Silicon nanoparticles more effectively alleviated UV-B stress than silicon in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 110, 70-81. DOI: 10.1016/j.plaphy.2016.06.026
- UE. 2019. Reglamento 1009 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 5 de junio de 2019, por el que se establecen normas sobre la comercialización de productos fertilizantes de la UE y se modifican los Reglamentos (CE) n.º 1069/2009 y (CE) n.º 1107/ 2009 y por el que se deroga el Reglamento 2019 (CE) n.º 2003/2003. Apagado. J. 2019 , L107/1 , 1–114.
- Vafaie Moghadam, A., Iranbakhsh, A., Saadatmand, S., Ebadi, M., & Oraghi Ardebili, Z. (2022). New insights into the transcriptional, epigenetic, and physiological responses to zinc oxide nanoparticles in datura stramonium; potential species for phytoremediation. *Journal of Plant Growth Regulation*, 41(1), 271-281. DOI: 10.1007/s00344-021-10305-6
- 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), 1406-1423. DOI: 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*, 239-243. <http://www.jstor.org/stable/42934958>
- Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., & Nasrulhaq Boyce, A. (2016). Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability-A Review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21(5), 573. DOI: 10.3390/molecules21050573
- Wan, J., Wang, R., Wang, R., Ju, Q., Wang, Y., & Xu, J. (2019). Comparative physiological and transcriptomic analyses reveal the toxic effects of ZnO nanoparticles on plant growth. *Environmental science & technology*, 53(8), 4235-4244. DOI: 10.1021/acs.est.8b06641
- 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), 1-13. DOI: 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), 801-808. DOI: 10.1007/s10535-018-0813-4
- Wang, X., Yang, X., Chen, S., Li, Q., Wang, W., Hou, C., ... & Wang, S. (2016). Zinc oxide nanoparticles affect biomass accumulation and photosynthesis in *Arabidopsis*. *Frontiers in plant science*, 6, 1243. DOI: 10.3389/fpls.2015.01243
- Yakhin, O. I., Lubyantsev, A. A., Yakhin, I. A., & Brown, P. H. (2017). Biostimulants in plant science: a global perspective. *Frontiers in plant science*, 7, 2049. DOI: 10.3389/fpls.2016.02049
- Yobo, K. S., Laing, M. D., & Hunter, C. H. (2009). Effects of single and dual applications of selected *Trichoderma* and *Bacillus* isolates on performance of dry bean seedlings grown in composted pine bark growth medium under shadehouse conditions. *Journal of plant nutrition*, 32(8), 1271-1289. DOI: 10.1080/01904160903005996
- 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*. DOI: 10.1101/2020.04.13.0396