

Synthesis and characterization of submicron iodinated polymer particles with biostimulant effect on the germination and vigor of corn seedlings

Síntesis y caracterización de partículas poliméricas yodadas submicrométricas con efecto bioestimulante en la germinación y vigor de plántulas de maíz

Lucía Marcial-Salvador¹; Julia Medrano-Macías^{1*};
Francisco Javier Enríquez-Medrano²; Adalberto Benavides-Mendoza¹

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calz. Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, C. P. 25315, MÉXICO.

²Centro de Investigación en Química Aplicada. Blvd. Enrique Reyna Hermosillo 140, San José de los Cerritos, Saltillo, Coahuila, C. P. 25294, MÉXICO.

*Corresponding author: jmedmac@gmail.com

Abstract

Current agriculture faces challenges caused by climate change, which induce states of stress in plants, reducing crop productivity. Micro- or nanomaterials are biostimulants that mitigate these adverse effects, having greater efficiency compared to conventional materials. Iodine, at low concentrations, improves plant growth and production. This study aimed to: 1) synthesize and characterize polymeric particles functionalized with submicron iodine (PI), 2) evaluate the impact of pretreatment of corn seeds with these particles on the germination rate and growth of the seedlings, and 3) quantify the iodine in the PI and in the seedlings. The synthesis of the PI was carried out by a chemical reaction from iohexol with a crosslinker and the addition of a polyethylene glycol coating. The average hydrodynamic diameter of the PIs determined by dynamic light scattering was 217 nm, and the iodine content in the synthesized PIs was 1.67 %. For the germination test, four PI concentrations (5, 10, 20, and 50 mg·L⁻¹) and a control (distilled water) were used; 50 seeds were imbibed in 10 mL of each solution and placed in a growth chamber at a temperature of 28 °C for 24 h. The results indicate that PIs do not negatively interfere with the seed germination process and the treatment with a concentration of 50 mg·L⁻¹ PI significantly favored some growth variables. The latter indicates that the synthesized PIs presented a biostimulant effect and may be a viable alternative as a biofortifier.

Keywords: biofortification, biostimulants, metabolism, submicron materials, seed pretreatment.

Resumen

La agricultura actual enfrenta retos causados por el cambio climático, que inducen estrés a las plantas y reducen la productividad de los cultivos. Los micro- o nanomateriales son bioestimulantes que mitigan estas adversidades y alcanzan mayor eficiencia en comparación con los materiales convencionales. El yodo, en concentraciones bajas, mejora el crecimiento y la producción de las plantas. Los objetivos de este estudio fueron: 1) sintetizar y caracterizar partículas poliméricas submicrométricas funcionalizadas con yodo (PI), 2) evaluar el impacto del pretratamiento de semillas de maíz con estas partículas sobre la tasa de germinación y el crecimiento de las plántulas, y 3) cuantificar el yodo en las PI y en las plántulas. La síntesis de las PI se llevó a cabo mediante reacción química a partir de iohexol con un reticulante y la incorporación de un recubrimiento de polietilenglicol. El diámetro hidrodinámico promedio de las PI determinado por dispersión de luz dinámica fue de 217 nm, y el contenido de yodo fue de 1.67 %. Se probaron cuatro concentraciones de PI (5, 10, 20 y 50 mg·L⁻¹) y un testigo (agua destilada) en la germinación de 50 semillas, las cuales se imbibieron en 10 mL de cada solución y se colocaron en una cámara de crecimiento a 28 °C durante 24 h. Las PI no interfirieron con el proceso de germinación de la semilla, y el tratamiento con 50 mg·L⁻¹ de PI favoreció significativamente algunas variables de crecimiento. Esto último indica que las PI presentaron un efecto bioestimulante, por lo cual pueden ser una alternativa viable como biofortificantes.

Palabras clave: biofortificación, bioestimulantes, metabolismo, materiales submicrométricos, pretratamiento de semillas.

Please cite this article as follows (APA 7): Marcial-Salvador, L., Medrano-Macías, J., Enríquez-Medrano, F. J., & Benavides-Mendoza, A. (2024). Synthesis and characterization of submicron iodinated polymer particles and with biostimulant effect on the germination and vigor of corn plants. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 30(3) 47–60. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2024.04.004>



Revista Chapingo
Serie Horticultura

Introduction

Currently agriculture faces challenges caused by climate change, such as irregular rainfall, extreme temperatures and soil degradation, which can induce stress in crops and decrease productivity. Corn cultivation is an essential part of food systems, and finding effective ways to counteract the adverse effects of environmental variations is a primary task (Grzanka et al., 2021). To mitigate these adverse effects, promoting the natural resilience system of plants, which constitutes the central element of biostimulation and is achieved through the use of biostimulants, has been favored (Sariñana-Aldaco et al., 2022).

A biostimulant is any substance or microorganism applied to plants with the aim of improving their nutritional efficiency, tolerance to abiotic stress or quality traits, regardless of their nutrient content (du Jardin, 2015). Pregermination biostimulation or seed priming is considered a technique for improving metabolic processes prior to germination and increases the germination rate, seedling strength and crop yield, both in the presence and absence of biotic and abiotic stress (Rhaman et al., 2020).

Iodine is a beneficial nutrient for plants and it is also considered a powerful biostimulant that at low concentrations shows positive effects on plants growth (García-Fuentes et al., 2022). Iodine is applied as iodide or iodate (Medrano-Macías et al., 2016), associated with polymers such as chitosan (Dávila-Rangel et al., 2020), or in the form of low molecular weight organic molecules containing iodine (Krzemińska et al., 2023). In addition, it has been reported that it specifically regulates the expression of several genes, which are mainly involved in the defense response of plants, which suggests that iodine can protect plants against biotic and abiotic stress (Kiferle et al., 2021).

In recent years, the use of micro- or nanomaterials as sources of fertilizers or biostimulants has been studied, revealing greater efficiency and effectiveness compared to conventional materials due to the improvement of some of their physicochemical characteristics, explained by their high area/volume ratio. The micro- and nanoforms of different nutrients, biostimulants and biocides have been tested, and the results are encouraging and applicable in terms of increasing agricultural productivity (Cartwright et al., 2020; Gudkov et al., 2020; Lira-Saldivar et al., 2018). To date, there are no reports about the use of iodine in micrometric or nanometric forms, which are forms of the element that, compared to ionic forms, could be more stable for use in the soil, in nutrient solutions or by spraying, and they may be more easily absorbed by plant structures (Morales-Díaz et al., 2017).

Introducción

Actualmente, la agricultura enfrenta desafíos originados por el cambio climático, como precipitaciones irregulares, temperaturas extremas y degradación del suelo, lo cual puede generar estrés en los cultivos y afectar negativamente la productividad. El cultivo del maíz es esencial en las cadenas alimentarias, por lo cual es necesario encontrar maneras efectivas para contrarrestar los efectos negativos de la variación medioambiental (Grzanka et al., 2021). Para mitigar los efectos adversos, se ha favorecido el sistema de resiliencia natural de las plantas, el cual constituye el eje principal de la bioestimulación y se alcanza mediante el uso de bioestimulantes (Sariñana-Aldaco et al., 2022).

Un bioestimulante es cualquier sustancia o microorganismo aplicado a las plantas con el propósito de mejorar su eficiencia nutricional, su tolerancia al estrés abiótico o sus características de calidad, independientemente de su contenido de nutrientes (du Jardin, 2015). La bioestimulación en pregerminación o pretratamientos de semilla se considera como una técnica para mejorar los procesos metabólicos previos a la germinación e incrementa la tasa de germinación, la viabilidad de la semilla y el rendimiento del cultivo, tanto en presencia como en la ausencia de estrés biótico y abiótico (Rhaman et al., 2020).

El yodo es un nutriente benéfico para las plantas y se considera un potente bioestimulante, el cual, a bajas concentraciones, genera efectos positivos sobre el crecimiento de las plantas (García-Fuentes et al., 2022). El yodo se aplica como yoduro o yodato (Medrano-Macías et al., 2016), asociado a polímeros como el quitosano (Dávila-Rangel et al., 2020) o en forma de moléculas orgánicas de bajo peso molecular que contienen yodo (Krzemińska et al., 2023). Además, se ha reportado que, específicamente, regula la expresión de varios genes involucrados en la respuesta de defensa de las plantas, lo cual sugiere que el yodo puede proteger a las plantas contra el estrés biótico y el abiótico (Kiferle et al., 2021).

Recientemente, se ha estudiado el uso de micro- o nanomateriales como fuente de fertilizantes o bioestimulantes. Estos materiales han mostrado una mayor eficiencia y eficacia en comparación con los convencionales debido a características fisicoquímicas, explicadas por su elevada relación área/volumen. Se han evaluado las micro y nanoformas de diferentes nutrientes, bioestimulantes y biocidas, y los resultados han sido alentadores y aplicables en términos de productividad agrícola (Cartwright et al., 2020; Gudkov et al., 2020; Lira-Saldivar et al., 2018). Hasta la fecha, no existen informes sobre el uso de yodo en forma micro o nanométrica, las cuales son estructuras del elemento que, en comparación con las formas iónicas,

Based on the above, this study aimed to: 1) synthesize and characterize polymeric particles functionalized with submicron iodine (PI), 2) evaluate the impact of pretreatment of corn seeds with the PI on the germination rate and growth of the seedlings, and 3) quantify the iodine in the PI and in the seedlings.

Materials and methods

This study was conducted in the Plant Physiology Laboratory of the Horticulture Department of Antonio Narro Autonomous Agrarian University (UAAAN). For the germination of seeds and the growth of the seedlings, a growth chamber with a temperature of 28 °C was used. The plants were illuminated with LED lamps containing white light and a photosynthetic irradiance of 90 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. The illumination period was 12 h per day.

Synthesis and characterization of iodinated particles (PI)

A mixture of 1 mmol of sodium periodate (NaIO_4) and 1 mmol of iohexol ($\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{I}_3\text{N}_3\text{O}_9$) was added to 200 mL of deionized water. The reaction was carried out using a 1:1 M ratio in a beaker with magnetic stirring for 30 min at room temperature. After this time, the sample was frozen for subsequent lyophilization in a lyophilizer (A65312906, Labconco™, Czech Republic) for 24 h. Then 10 mL of distilled water was added to the obtained residue, and the mixture was polymerized with 0.5 mmol of carbohydrazide. A mixture of 0.002 mmol of amino polyethylene glycol (PEG) was added, after which the mixture was allowed to react for 24 h without stirring at room temperature. To stop the reaction, 1.6 mmol of sodium borohydride was added, and the mixture was left to react for 3 h at room temperature. Afterwards, the mixture was frozen overnight and lyophilized again for 10 h to obtain the iodinated particles (Hainfeld et al., 2018). The reaction products were characterized by infrared spectroscopy using an FTIR spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, USA) in triplicate with a scan of 650 to 4,000 cm^{-1} and by proton nuclear magnetic resonance (^1H -NMR) spectroscopy in a spectrometer with a 5 mm multinuclear BBI-decoupling probe with Z grad (HD 400 MHz, Bruker Avance III™, USA), using D_2O as a solvent. The average diameter in number (Dn) of the iodinated particles was determined via dynamic light scattering (Nano-ZS90, Malvern Panalytica, United Kingdom) equipment at 25 °C and a measurement angle of 90°.

Iodine extraction method adapted from alkaline ash

A 500 mg sample of the synthesized PI was weighed, as well as the previously ground dry plant tissue (root and

podrían ser más estables para su uso en el suelo, en soluciones nutritivas o a través de aspersión, y pueden ser absorbidas más fácilmente por las estructuras vegetales (Morales-Díaz et al., 2017).

Con base en lo anterior, los objetivos de este estudio fueron: 1) sintetizar y caracterizar partículas poliméricas submicrométricas funcionalizadas con yodo (PI), 2) evaluar el impacto del pretratamiento de semillas de maíz con las PI sobre la tasa de germinación y el crecimiento de las plántulas y 3) cuantificar el yodo en las PI y en las plántulas.

Materiales y métodos

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Fisiología Vegetal del Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). Se usó una cámara de crecimiento a 28 °C para la germinación de las semillas y el crecimiento de las plántulas. Las plántulas se iluminaron con lámparas LED con luz blanca e irradiación fotosintética de 90 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. El periodo de iluminación fue de 12 h por día.

Síntesis y caracterización de partículas yodadas (PI)

Se adicionó 1 mmol de periodato de sodio (NaIO_4) y 1 mmol de iohexol ($\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{I}_3\text{N}_3\text{O}_9$) en 200 mL de agua desionizada. La reacción se llevó a cabo utilizando una proporción 1:1 M en un vaso de precipitado con agitación magnética durante 30 min a temperatura ambiente. Después, la muestra se congeló y se liofilizó (A65312906, Labconco™, República Checa) durante 24 h. Posteriormente, se añadieron 10 mL de agua destilada al residuo obtenido, y la mezcla se polimerizó con 0.5 mmol de carbohidrazida. Se agregó una mezcla de 0.002 mmol de amino-polietilenglicol (PEG) y se dejó reaccionar por 24 h sin agitar y a temperatura ambiente. Para detener la reacción, se agregaron 1.6 mmol de borohidruro de sodio y se dejó en reposo por 3 h a temperatura ambiente. Después de esto, la mezcla se congeló durante la noche y se liofilizó de nuevo durante 10 h para obtener las partículas yodadas (Hainfeld et al., 2018). Los productos de reacción se caracterizaron por triplicado mediante un espectrofotómetro FTIR (Thermo Fisher Scientific, EUA) con un escaneo de 650 a 4,000 cm^{-1} , y mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protones (^1H -NMR) en un espectrofotómetro con una sonda de desacoplamiento BBI multinuclear de 5 mm con graduación Z (HD 400 MHz, Bruker Avance III™, EUA), utilizando D_2O como solvente. El diámetro promedio en número (Dn) de las partículas yodadas se determinó mediante dispersión de luz dinámica (Nano-ZS90, Malvern Panalytica, Reino Unido) a 25 °C y ángulo de medición de 90°.

plumule) of the corn seedlings, from each repetition and treatment. Next, each sample was placed in a crucible, and then 2 mL of KOH at 2 M and 1 mL of KNO₃ were added at 2 M. Once the reagents had been added to the sample in the crucible, it was predigested in an oven at 100 °C for 2 h under a fume hood. Subsequently, the crucibles were placed in a muffle furnace at 580 °C for 3 h. After this time, the mixture was allowed to cool to room temperature, and the ashes were transferred to Eppendorf tubes for extraction with 2 mL of KOH at 2 mM. The tube samples were then centrifuged at $15,231 \times g$ for 15 min in a centrifuge (R Edison, Labnet Prism™, USA). The supernatants were collected with special care, from which 1 mL was taken and ground in a 10 mL flask with KOH at 2 M. The samples were subsequently transferred to conical tubes for later analysis via an inductively coupled plasma optical emission spectrometer (ICP-OES, Agilent 725, USA) (Fischer et al., 1986).

Biological material

The hybrid corn seed used was Francisco Márquez, which was collected during the autumn–winter cycle and provided by the Mexican Institute of Maize of the UAAAN. The germination rate of this batch of seeds was 100 %.

Germination and growth test

For the germination test, four concentrations of PI were used (5, 10, 20, and 50 mg·L⁻¹), and 10 mL of each solution was used for the imbibition of 50 seeds per treatment for 24 h at a temperature of 28 °C. After the indicated time, the seeds were extracted from the solution, and 10 seeds were placed in each of the five Petri dishes for each treatment in the growth chamber at 28 °C. A piece of filter paper was placed in each Petri dish that was constantly moistened with distilled water to ensure that the seeds were in a medium with water available. To determine the germination speed, the number of germinated seeds was visually counted every 12 h for 7 days. A seed was considered germinated when it showed a visible radicle of at least 1 mm long. After 7 days, the plants were collected, and the fresh weight of the roots and plumules of each plant was determined using a scale with a precision of 0.01 g. Subsequently, the plants were dried in a dehydrating oven at 70 °C for a period of 72 h to obtain the dry weight.

Statistical analysis

The experimental design used was completely randomized, with five treatments and five repetitions. The Levene test was carried out to verify the homogeneity of variance, and the Shapiro-Wilk test was

Método de extracción de yodo adaptado a partir de cenizas alcalinas

Se pesó una muestra de 500 mg de PI sintetizadas, así como el tejido vegetal seco y molido (raíz y plúmula) de las plántulas de maíz, de cada repetición y tratamiento. Cada muestra se colocó en un crisol, y se añadieron 2 mL de KOH a 2 M y 1 mL de KNO₃ a 2 M. Posteriormente, se predigirieron en un horno a 100 °C durante 2 h bajo una campana de extracción. Después, los crisoles se colocaron en una mufla a 580 °C por 3 h, y al finalizar, la mezcla se dejó a temperatura ambiente y las cenizas se transfirieron a tubos Eppendorf para extracción con 2 mL de KOH a 2 mM. Los tubos con muestras se centrifugaron a $15,231 \times g$ durante 15 min (R Edison, Labnet Prism™, EUA). Los sobrenadantes se colectaron cuidadosamente, se colocó 1 mL en un matraz y se agregaron 10 mL de KOH a 2 M. Las muestras se transfirieron a tubos cónicos para su análisis en un espectrómetro de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente (ICP-OES, Agilent 725, EUA) (Fischer et al., 1986).

Material biológico

El maíz híbrido utilizado fue Francisco Márquez, el cual se recolectó en el ciclo otoño-invierno por el Instituto Mexicano del Maíz de la UAAAN. La tasa de germinación de este lote de semillas fue de 100 %.

Prueba de germinación y crecimiento

Se utilizaron cuatro concentraciones de PI para la prueba de germinación (5, 10, 20 y 50 mg·L⁻¹). De cada concentración se usaron 10 mL para la imbibición de 50 semillas por 24 h a 28 °C. Después, se retiraron de la solución, se colocaron 10 semillas de cada tratamiento en cajas Petri y se llevaron a la cámara de crecimiento a 28 °C. En cada caja Petri se colocó papel filtro, el cual se mantuvo húmedo con agua destilada para asegurar la disponibilidad de agua de las semillas. El número de semillas germinadas se contó visualmente cada 12 h durante 7 días para determinar la velocidad de germinación. Una semilla se consideró germinada cuando presentaba radícula visible de por lo menos 1 mm de longitud. Después de 7 días se recolectaron, y se midió el peso fresco de las raíces y las plúmulas de cada plántula utilizando una báscula con precisión de 0.01 g. Posteriormente, las plantas se secaron en un horno a 70 °C por 72 h para obtener el peso seco.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar, con cinco tratamientos y cinco repeticiones. Se realizó la prueba de Levene para verificar la homogeneidad de varianza, y la prueba de Shapiro-Wilk para la normalidad. Los resultados se sometieron a un análisis de la varianza y

performed to check for normality. The variables were analyzed by means of variance analysis and multiple range tests (Tukey, $P \leq 0.05$). For the data that were not normally distributed, a nonparametric analysis of variance was performed with the Kruskal-Wallis test using InfoStat version 2020 statistical software.

Results and discussion

Characterization of iodinated particles (PI)

Figure 1 shows the FTIR spectrum of the PI, as well as its expected general structure, in which aromatic groups containing iodine atoms can be observed and linked together by chains from the crosslinking agent, as well as the presence of polyethylene glycol (PEG) as a coating for PI. Additionally, Figure 1 notes the most representative bands that can be assigned to the infrared spectrum of the PI, in which those attributed to the carbonyl groups, amides and carbon-carbon double bonds of the aromatic groups stand out.

Figure 2 shows the $^1\text{H-NMR}$ spectrum of the water-soluble fraction of the PI. In the spectrum, some important signals can be assigned to functional groups of the expected structure of the PI (Figure 2b).

pruebas de rangos múltiples (Tukey, $P \leq 0.05$). Para los datos que no se distribuían normalmente, se realizó un análisis no paramétrico de la varianza con la prueba de Kruskal-Wallis utilizando el programa estadístico InfoStat, versión 2020.

Resultados y discusión

Caracterización de las partículas yodadas (PI)

La Figura 1 muestra el espectro FTIR de las PI, así como la estructura general esperada, en la cual se observan los grupos aromáticos que contienen átomos de yodo y están unidos entre sí por cadenas del agente reticulante, así como la presencia de polietilenglicol (PEG) utilizado para recubrir las PI. En la Figura 1c se observan las bandas más representativas, donde destacan las atribuidas a los grupos carbonilo, amidas y dobles enlaces carbono-carbono de los grupos aromáticos.

La Figura 2 muestra el espectro de $^1\text{H-NMR}$ de la fracción soluble al agua de las PI. Algunas señales importantes dentro del espectro se pueden relacionar con grupos funcionales de la estructura esperada de las PI (Figura 2b). Por ejemplo, la presencia de PEG como cobertura fue confirmada por la señal a δ 3.6 ppm, que

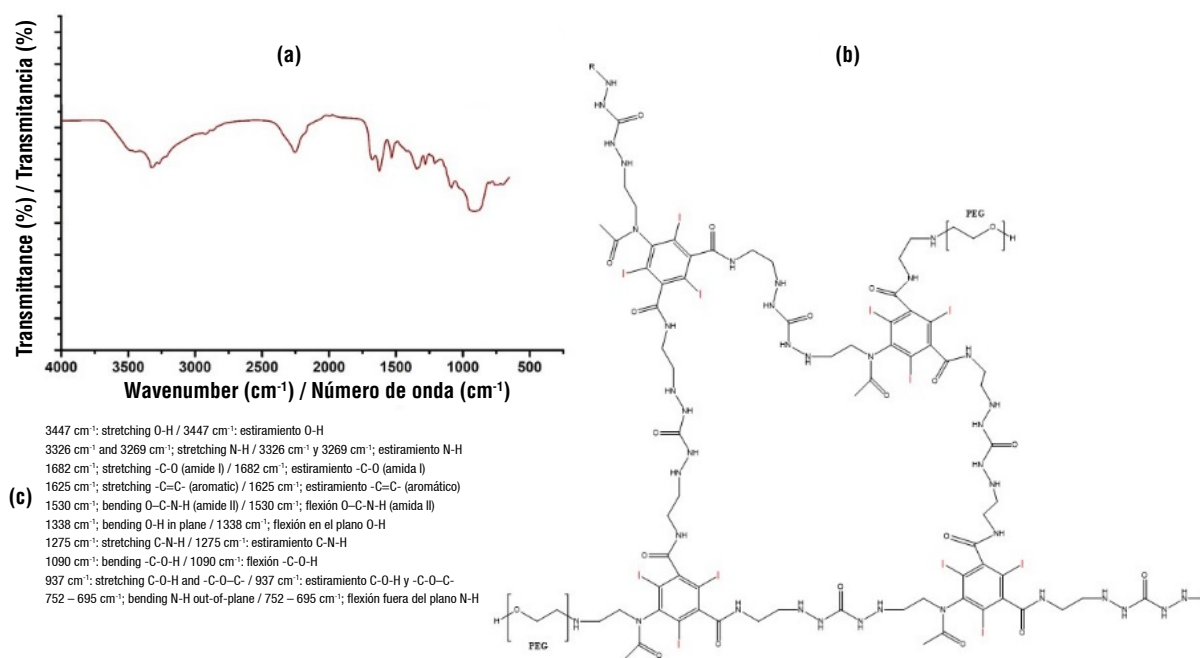


Figure 1. a) Infrared spectroscopy of iodinated particles, b) polymeric structure with triiodobenzene groups and characteristic functional groups according to the monomer used (iohexol), as well as hydroxyl, amide, and aromatic groups (Source: Hainfeld et al. [2018]), and c) assignment of important signals in the spectrum.

Figura 1. a) Espectroscopía infrarroja de las partículas yodadas, b) estructura polimérica con grupos triyodobenzeno y grupos funcionales característicos del monómero utilizado (iohexol), así como los grupos hidroxilo, amida y grupos aromáticos (Fuente: Hainfeld et al. [2018]) y c) distribución de marcadores importantes en el espectro.

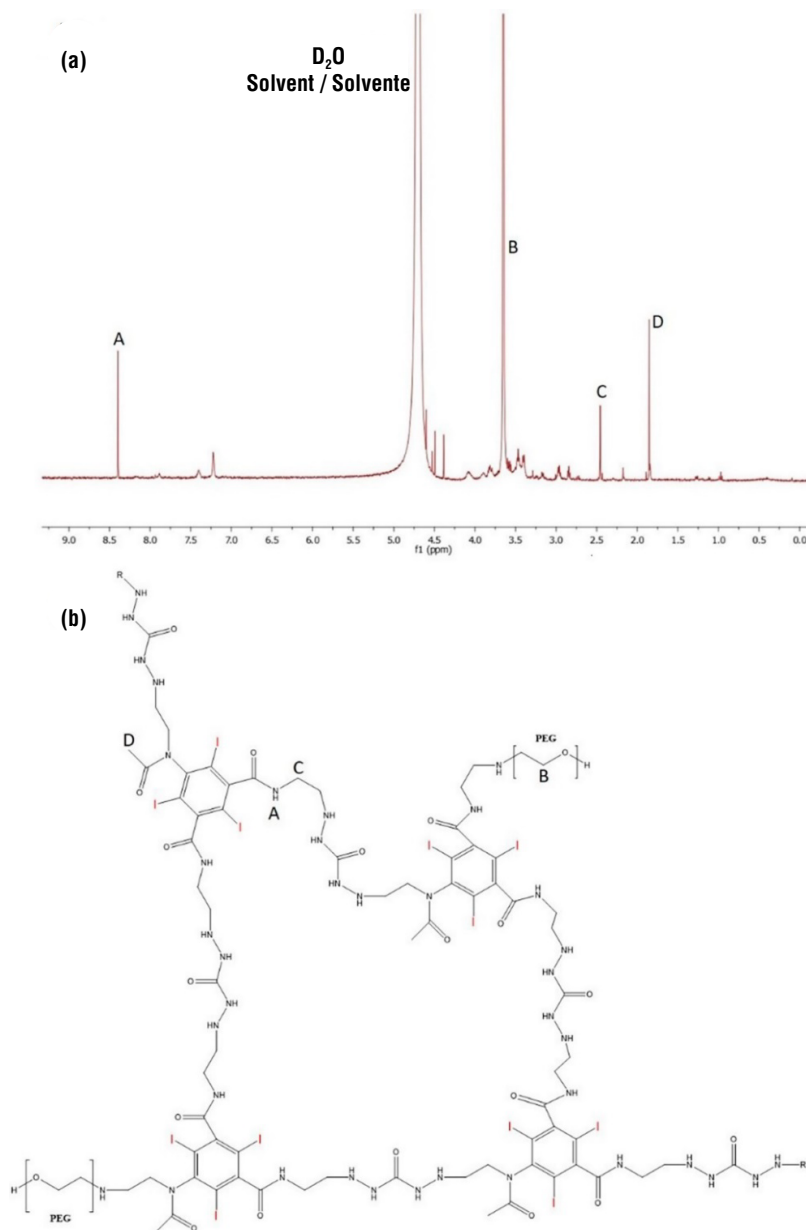


Figure 2. a) Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy of iodinated particles, and b) polymeric structure with triiodobenzene groups and characteristic functional groups according to the monomer used (iohexol) (Source: Hainfeld et al. [2018]).

Figura 2. a) Espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protones de las partículas yodadas y b) estructura polimérica con grupos triyodobenceno y grupos funcionales característicos conforme al monómero utilizado (iohexol) (Fuente: Hainfeld et al. [2018]).

For example, the presence of PEG as a coating was confirmed by the signal at δ 3.6 ppm, which was assigned to an ether group; signals were also observed at approximately δ 8.5 ppm, attributed to the amide groups, and at δ 1.8 ppm, associated with the acetate groups of the structure.

Figure 3 shows the particle size distribution curve determined by dynamic light scattering. The average diameter in number (Dn) of the PI obtained for this

fue asignada a un grupo éter; asimismo, se observaron señales a δ 8.5 ppm, aproximadamente, atribuidas a los grupos amida, y a δ 1.8 ppm, asociadas con los grupos acetatos de la estructura.

La Figura 3 muestra la curva de distribución de los tamaños de las partículas determinados por dispersión de luz dinámica. El diámetro promedio en número (Dn) de las PI fue de 217 nm, con polidispersión de 0.278, razón por la cual las partículas se clasificaron como

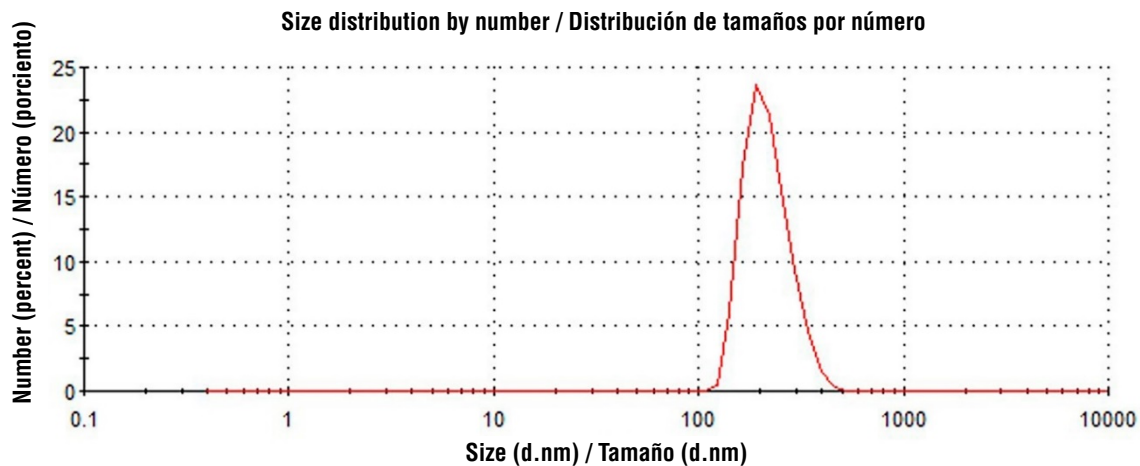


Figure 3. Dynamic light scattering of the iodinated particles.

Figura 3. Dispersión de luz dinámica de las partículas yodadas.

analysis was 217 nm, with a polydispersity of 0.278, which is why these particles were called submicrons. The shape of the curve is monomodal and narrow.

Germination and growth test

Once the PIs were characterized, they were tested as a biostimulant for the germination and vigor of corn plants. The germination percentage did not significantly differ between the treatments and controls. This is positive, since PIs do not negatively interfere with the seed germination process; however, at the appropriate concentration they accelerate germination. It should be noted that all treatments began to germinate 12 h after the plants were placed in Petri dishes (Figure 4). As a function of time, there were statistically significant differences at 12 h and later at 36 h between the treatments, reaching the final germination percentage at 48 h (Table 1). It is important to mention that seed pretreatment has the potential to improve germination and seed establishment by initiating germination metabolism without radicle protrusion (Adhikari et al., 2022). Seed germination

submicrométricas. La forma de la curva es monomodal y estrecha.

Prueba de germinación y crecimiento

Una vez que las PI se caracterizaron, se probaron como un bioestimulante para la germinación y el vigor de las plántulas de maíz. El porcentaje de germinación no evidenció diferencia estadística significativa entre los tratamientos y el testigo. Lo anterior es positivo, ya que las PI no interfirieron negativamente en el proceso de germinación de las semillas; por el contrario, la concentración adecuada acelera la germinación. Cabe señalar que todos los tratamientos iniciaron su germinación 12 h después de colocar las semillas en las cajas Petri (Figura 4). En función del tiempo, hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos a las 12 y 36 h. Todos los tratamientos alcanzaron el porcentaje final de germinación a las 48 h (Cuadro 1). Es importante mencionar que el pretratamiento tiene el potencial de mejorar la germinación y el establecimiento de la semilla, al iniciar el metabolismo germinativo sin protrusión de la radícula

Table 1. Effects of different iodinated particle concentrations on the percentage of germinated corn seeds.

Cuadro 1. Efecto de diferentes concentraciones de partículas yodadas sobre el porcentaje de germinación de semillas de maíz.

Treatments / Tratamientos	12 h	24 h	36 h	48 h
T1 (Control: distilled water) / T1 (Testigo: agua destilada)	28 a	76 a	92 ab	92 a
T2 (5 mg·L ⁻¹)	2 c	56 a	72 b	82 a
T3 (10 mg·L ⁻¹)	8 bc	64 a	76 b	82 a
T4 (20 mg·L ⁻¹)	4 bc	62 a	82 b	92 a
T5 (50 mg·L ⁻¹)	16 ab	76 a	98 a	98 a

Means with the same letters within each column do not differ statistically (Kruskal-Wallis, $P \leq 0.05$).

Medias con letras iguales dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Kruskal-Wallis, $P \leq 0.05$).

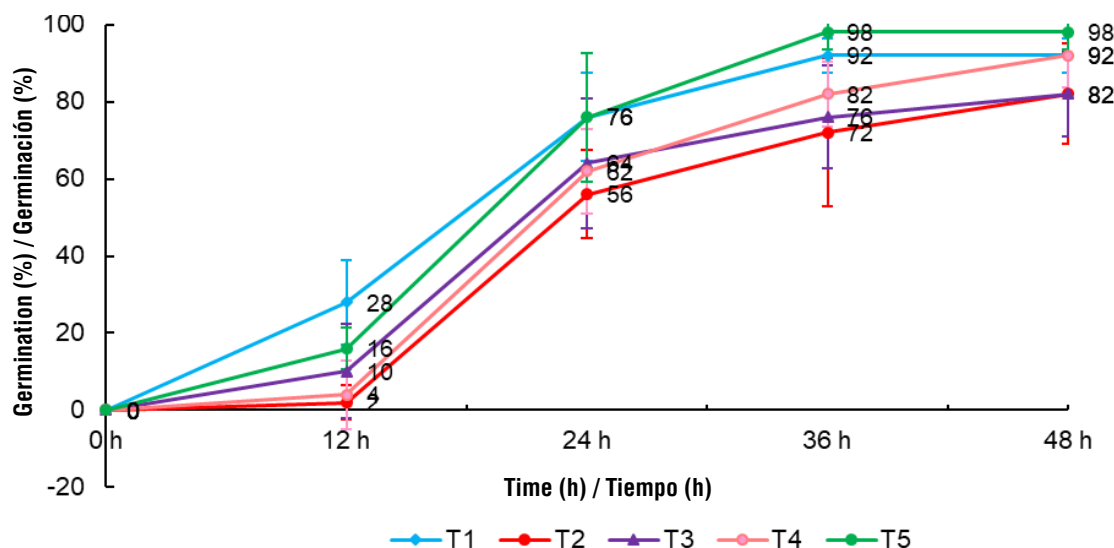


Figure 4. Corn seed germination curve treated with different concentrations of iodinated particles. T1 = control (distilled water); T2 = 5 mg·L⁻¹; T3 = 10 mg·L⁻¹; T4 = 20 mg·L⁻¹; T5 = 50 mg·L⁻¹.

Figura 4. Curva de germinación de semillas de maíz tratadas con diferentes concentraciones de partículas yodadas. T1 = testigo (agua destilada); T2 = 5 mg·L⁻¹; T3 = 10 mg·L⁻¹; T4 = 20 mg·L⁻¹; T5 = 50 mg·L⁻¹.

is one of the most vulnerable processes in a plant's life cycle, since it favors the healthy and vigorous development of seedlings, which is greatly affected by internal and external changes; in addition, it has been shown that low crop productivity is related to uneven seed germination (Salehi et al., 2023).

In terms of the growth curve of the root system, the emerging of the radicle began on the second day after sowing in all treatments, and the growth of the main root progressed continuously but increased in intensity throughout its development. In addition, when analyzing the growth pattern of this variable (Figure 5), a small increase was observed on the third and fourth days, during which the growth pattern increased considerably beginning on the fifth day of the experiment. Similarly, the plumule stage (Figure 6) occurred on the third day after sowing, during which the height accelerated from the fifth day in all treatments. For both variables, treatment five presented better development than the other treatments, including the control.

The results shows that treatment five, (50 mg·L⁻¹ PI), significantly increased the height and dry weight of the plumules, as well as the dry weight of the roots, compared to the control and other treatments. Therefore, seedling growth was stimulated by the addition of 50 mg·L⁻¹ PI. According to the data reported in Table 2, radicle length and fresh weight did not significantly differ from the control.

(Adhikari et al., 2022). La germinación de las semillas es uno de los procesos más vulnerables en el ciclo de vida de una planta, ya que influye en el desarrollo y vigor de las plántulas, el cual se ve muy afectado por cambios internos y externos. Además, se ha demostrado que la baja productividad de los cultivos está relacionada con la germinación desigual de las semillas (Salehi et al., 2023).

En cuanto a la curva de crecimiento del sistema radicular, la emergencia inició al segundo día de la siembra en todos los tratamientos, y el crecimiento de la raíz principal progresó continuamente a lo largo de su desarrollo. Al analizar el patrón de crecimiento de esta variable (Figura 5), se observó un pequeño incremento en el tercer y cuarto día, y para el quinto día el patrón de crecimiento aumentó considerablemente. De manera similar, la plúmula (Figura 6) tuvo lugar al tercer día de la siembra, e incrementó la altura de manera acelerada a partir del quinto día en todos los tratamientos. En ambas variables, el tratamiento cinco presentó un mejor desarrollo, incluyendo al testigo.

Los resultados muestran que el tratamiento cinco (50 mg·L⁻¹ de PI) incrementó significativamente la altura y el peso seco de las plúmulas, así como el peso seco de las raíces, en comparación con el testigo y los otros tratamientos. Por lo tanto, el crecimiento de las plántulas se estimuló con la adición de 50 mg·L⁻¹ de PI. De acuerdo con los datos reportados en el Cuadro 2, la longitud de la radícula y el peso fresco no difirieron significativamente entre los tratamientos.

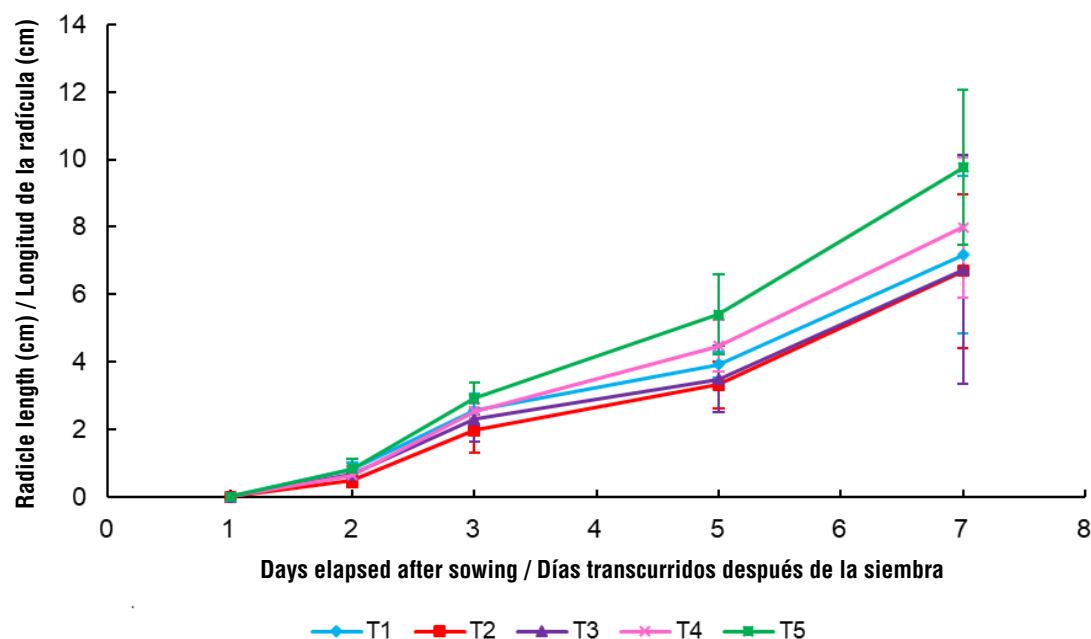


Figure 5. Length of the radicle of corn seedling treated with different concentrations of iodinated particles. T1 = control (distilled water); T2 = 5 mg·L⁻¹; T3 = 10 mg·L⁻¹; T4 = 20 mg·L⁻¹; T5 = 50 mg·L⁻¹.

Figura 5. Longitud de la radícula de plántulas de maíz tratadas con diferentes concentraciones de partículas yodadas. T1= testigo (agua destilada); T2 = 5 mg·L⁻¹; T3 = 10 mg·L⁻¹; T4 = 20 mg·L⁻¹; T5 = 50 mg·L⁻¹.

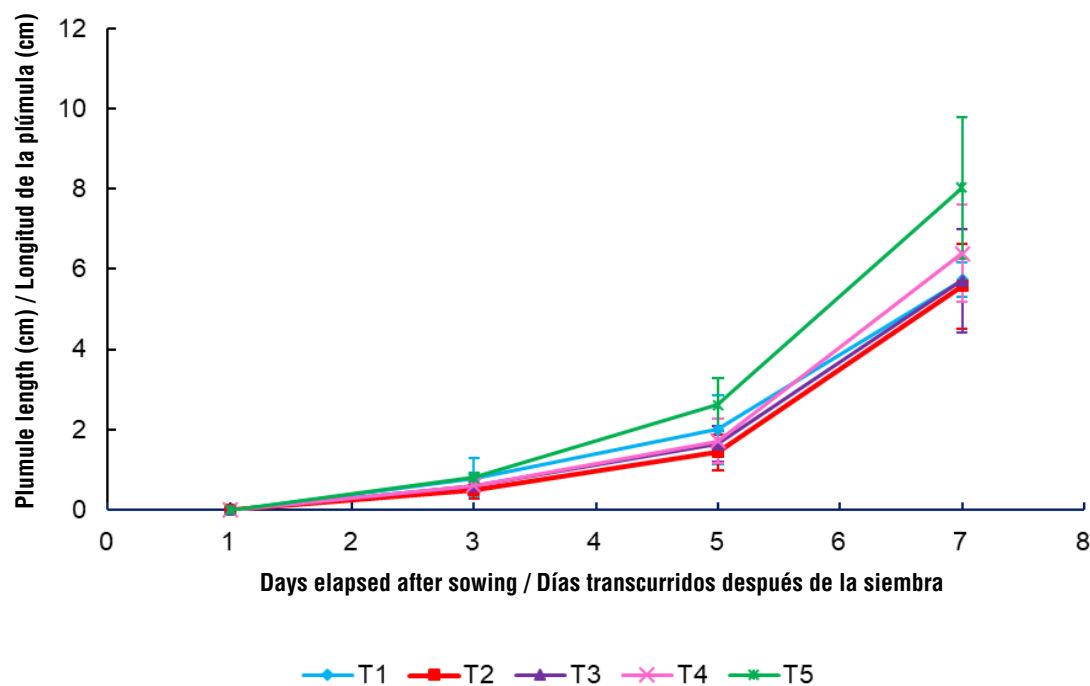


Figure 6. Height of the plumule of corn seedling treated with different concentrations of iodinated particles. T1 = control (distilled water); T2 = 5 mg·L⁻¹; T3 = 10 mg·L⁻¹; T4 = 20 mg·L⁻¹; T5 = 50 mg·L⁻¹.

Figura 6. Altura de la plúmula de plántulas de maíz tratadas con diferentes concentraciones de partículas yodadas. T1= testigo (agua destilada); T2 = 5 mg·L⁻¹; T3 = 10 mg·L⁻¹; T4 = 20 mg·L⁻¹; T5 = 50 mg·L⁻¹.

Table 2. Response of the variables evaluated at different concentrations of iodinated particle.
Cuadro 2. Respuesta de las variables evaluadas a diferentes concentraciones de partículas yodadas.

Treatments/ Tratamientos	Radicle length (cm)/ Longitud de la radícula (cm)	Plumule height (cm)/ Altura de la plúmula (cm)	Radicle fresh weight (g)/ Peso fresco de la radícula (g)	Radicle dry weight (g)/ Peso seco de la radícula (g)	Plumule fresh weight (g)/ Peso fresco de la plúmula (g)	Plumule dry weight (g)/ Peso seco de la plúmula (g)
T1 (Control: distilled water)/ T1 (Testigo: agua destilada)	7.18 a	5.73 ab	0.23 a	0.02 b	0.25 a	0.04 b
T2 (5 mg·L ⁻¹)	6.69 a	5.57 b	0.22 a	0.02 b	0.26 a	0.04 b
T3 (10 mg·L ⁻¹)	6.74 a	5.72 ab	0.24 a	0.02 ab	0.25 a	0.04 ab
T4 (20 mg·L ⁻¹)	7.98 a	6.40 ab	0.27 a	0.02 ab	0.27 a	0.04 ab
T5 (50 mg·L ⁻¹)	9.76 a	8.03 a	0.37 a	0.03 a	0.34 a	0.05 a
HSD/DMSH	4.764	2.330	0.151	0.009	0.108	0.013

HSD = honestly significant difference. Means with the same letters within each column do not differ statistically (Tukey, $P \leq 0.05$).
DMSH = diferencia mínima significativa honesta. Medias con letras iguales dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

These results are consistent with those of previous rice cultivation experiments in which zinc oxide nanoparticles were used at different concentrations (0, 5, 10, 15, 25, and 50 ppm), where increases in height and the fresh and dry weights of the plants were obtained (Waqas-Mazhar et al., 2022). In the same way, in studies carried out with corn seeds, using different pretreatment techniques with different solutions significantly improved the performance of the corn plant by increasing the germination rate of the seeds, the biomass of the seedlings and the yield of the seeds. However, the response varies with solution and concentrations (Tian et al., 2014). The above results show that seed pretreatment stimulated several signaling cascades during the early growth phase, producing faster and more efficient defense responses in the crop, thus tending to favor better synchronization of crop growth by increasing both fresh and dry biomass (Adhikari et al., 2022).

Seeing these results, and regardless of the possibility of iodine toxicity in plants, it has been described that low iodine concentrations increase yield, biomass production and qualitative parameters of plants (Duborská et al., 2018; Medrano-Macías et al., 2016). Thus, the different concentrations of PI used can be considered to be appropriate since they significantly improved the growth and development of the plants, by strengthening their immune system and protecting them from oxidative stress since they act as a form of controlled release of iodine in the plant, which improves the absorption of the nutrient by the plants and this, in turn, has a direct impact on the growth variables, by stimulating the regulators of cell division, accelerating the production of photosynthetic pigments and playing a role in the enlargement of the roots (Rahman et al., 2023).

Estos resultados concuerdan con experimentos previos realizados en arroz, en los cuales usaron diferentes concentraciones de nanopartículas de óxido de zinc (0, 5, 10, 15, 25 y 50 ppm), y se obtuvieron plantas con aumentos en altura, así como en pesos fresco y seco (Waqas-Mazhar et al., 2022). Del mismo modo, en estudios realizados con semillas de maíz, el uso de diversas técnicas de pretratamiento con diferentes soluciones mejoró significativamente el desempeño de las plantas al incrementar la tasa de germinación, la biomasa de las plántulas y el rendimiento de las semillas. Sin embargo, la respuesta varía con el tipo de solución y las concentraciones (Tian et al., 2014). Los resultados anteriores demuestran que los pretratamientos de semillas estimulan varios puntos de señalización durante la fase temprana de crecimiento, lo cual genera respuestas de defensa más rápidas y eficientes en el cultivo; por lo tanto, tienden a favorecer la sincronización del crecimiento del cultivo al aumentar la biomasa fresca y seca (Adhikari et al., 2022).

Considerando los resultados, e independientemente de la posibilidad de toxicidad por yodo en las plantas, se ha mencionado que bajas concentraciones de yodo aumentan el rendimiento, la producción de biomasa y los parámetros cualitativos de la planta (Duborská et al., 2018; Medrano-Macías et al., 2016). Por lo tanto, las diferentes concentraciones de PI utilizadas se pueden considerar apropiadas, ya que mejoraron significativamente el crecimiento y desarrollo de las plantas, al fortalecer su sistema inmune y protegerlas del estrés oxidativo mediante la liberación controlada de yodo en la planta. Este mecanismo mejora la absorción de nutrientes por la planta e impacta directamente en las variables de crecimiento, al estimular los reguladores de la división celular, acelerar

The favorable results obtained are largely due to the absorption capacity of iodine in the cells of the root, leaf or stem. This implies that the concentration of gradients is the third force in transporting iodine, migrating it from the root to the stem and leaves by diffusion, in addition to transpiration and root pressure (both advection movements); however, the absorption capacity is different for different plant species (Weng et al., 2013). Iodine transport from roots to shoots could be regulated by transporters (Kato et al., 2013). Iodine has been reported to potentially play a nutritional role in plants, as the application of small amounts (micromolar) enhances their growth and development. This treatment not only stimulates biomass production but also promotes early flowering. Such effects cannot be replicated with similar halogens, such as bromine, due to iodine's role as a structural component of various proteins (Kiferle et al., 2021). Recent studies consider that iodine may not be an essential element, but it is beneficial like silicon (Si), selenium (Se), sodium (Na) and others (Medrano-Macías et al., 2021; Nascimento et al., 2022).

Iodine content

The iodine content in the synthesized PI was 1.67 %. Although there were no differences in the content of I among the treatments, the highest concentration (205.96 mg·kg⁻¹ dry weight) was found in the corn plants subjected to 50 mg·L⁻¹ (Table 3). The absence of differences in the iodine content among the treatments is likely the result of contamination when the plants were grown in the same growth chamber, possibly caused by the volatilization of iodine from the seedlings (Gonzali et al., 2017). This assumption is based on the fact that the iodine concentrations in the biomass of the plants are well above the normal values found in the plants, especially for cereal grains for which maximum values of 128 µg·kg⁻¹ are reported

la producción de pigmentos y favorecer el alargamiento de las raíces (Rahman et al., 2023).

En gran medida, los resultados favorables se debieron a la capacidad de absorción de yodo en las células de raíz, hoja o tallo. Esto implica que los gradientes de concentración es la tercera fuerza en el transporte de yodo (al migrarlo de la raíz hacia el tallo y las hojas mediante difusión), además de la transpiración y la presión radicular (ambos movimientos de advección); sin embargo, la capacidad de absorción es variable entre especies vegetales (Weng et al., 2013). El transporte de yodo desde las raíces hasta los brotes se podría regular mediante transportadores (Kato et al., 2013). Se ha reportado que el yodo podría desempeñar un papel nutricional en las plantas, ya que la aplicación de pequeñas cantidades (micromolares) mejora su crecimiento y desarrollo. Este tratamiento no solo estimula la producción de biomasa, sino que también adelanta la floración. Dichos efectos no se pueden replicar con halógenos similares, como el bromo, debido a la participación del yodo como componente estructural de varias proteínas (Kiferle et al., 2021). Estudios recientes consideran que el yodo no es un elemento esencial, pero es considerado benéfico al igual que el silicio (Si), el selenio (Se), el sodio (Na) y otros (Medrano-Macías et al., 2021; Nascimento et al., 2022).

Contenido de yodo

El contenido de yodo en las PI sintetizadas fue de 1.67 %. Aunque no hubo diferencias en el contenido de I entre tratamientos, la concentración más alta (205.96 mg·kg⁻¹ de peso seco) se encontró en las plántulas de maíz tratadas con 50 mg·L⁻¹ (Cuadro 3). La inexistencia de diferencias estadísticas en el contenido de yodo entre los tratamientos probablemente es el resultado de alguna contaminación en la cámara de crecimiento, causada por la volatilización del yodo desde las semillas

Table 3. Iodine content in the biomass of the plants in the different treatment.

Cuadro 3. Contenido de yodo en la biomasa de las plantas en los diferentes tratamientos.

Treatment / Tratamiento	Iodine content (mg·kg ⁻¹) / Contenido de yodo (mg·kg ⁻¹)
T1 (Control: distilled water)	157.95 a
T2 (5 mg·L ⁻¹)	136.59 a
T3 (10 mg·L ⁻¹)	189.08 a
T4 (20 mg·L ⁻¹)	164.06 a
T5 (50 mg·L ⁻¹)	205.96 a
HSD / DMSH	86.342

HSD = honestly significant difference. Means with the same letters within each column do not differ statistically (Tukey, $P \leq 0.05$).

DMSH = diferencia mínima significativa honesta. Medias con letras iguales dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

(Dávila-Rangel et al., 2019). Therefore, these results are promising since, in addition to its biostimulant impact, PI could be used as a material for the biofortification of crops to increase the daily intake of iodine (Duborská et al., 2020). With the results obtained when iodine microparticles were used as agents for seed priming, we agree with the findings of other authors who point to iodine as a biostimulant nutrient (Blasco et al., 2008).

The results obtained suggest that the application of these particles functionalized with iodine represent a promising system to be used in the formulation of new crop biofortification strategies, since they positively influenced the development of corn seedlings, as well as the absorption and greater amassing of iodine. However, more research is needed to verify whether the iodine-functionalized submicron particles produced can show the same positive effects in other plant species.

Conclusions

Iodine-functionalized submicrometric particles with an average diameter of 217 nm were synthesized. With different concentrations of these particles as a pretreatment for corn seeds, no effects were observed on germination; however, a biostimulant effect was evident on the growth and development of seedlings, as the 50 mg·L⁻¹ treatment significantly increased biomass. Finally, the presence of iodine in the dry biomass of the seedlings and 1.67 % iodine in the synthesized particles was found.

Acknowledgments

This study was supported by Antonio Narro Autonomous Agrarian University and the National Council of Humanities, Sciences and Technologies (CONAHCYT) through a scholarship granted for the doctoral studies of Lucía Marcial Salvador.

End of English version

References / Referencias

- Adhikari, B., Olorunwa, O. J., & Barickman, T. C. (2022). Seed priming enhances seed germination and morphological traits of *Lactuca sativa* L. under salt stress. *Seeds*, 1(2), 74-86. <https://doi.org/10.3390/seeds1020007>
- Blasco, B., Rios, J. J., Cervilla, L. M., Sánchez-Rodríguez, E., Ruiz, J. M., & Romero, L. (2008). Iodine biofortification and antioxidant capacity of lettuce: potential benefits for cultivation and human health. *Annals of Applied Biology*, 152(3), 289-299. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2008.00217.x>

(Gonzali et al., 2017). Esta suposición se basa en el hecho de que las concentraciones de yodo en la biomasa de las plántulas se encuentran sobre los valores normales encontrados en las plantas, especialmente en los granos de cereales donde los valores máximos reportados son de 128 µg·kg⁻¹ (Dávila-Rangel et al., 2019). Por lo tanto, los resultados son prometedores ya que, además de su efecto bioestimulante, las PI podrían ser utilizadas como material para la biofortificación de cultivos para incrementar la ingesta diaria de yodo (Duborská et al., 2020). Los resultados alcanzados con PI como agentes para el pretratamiento de semillas concuerdan con los hallazgos de otros autores que identifican al yodo como un nutriente bioestimulante (Blasco et al., 2008).

Los resultados sugieren que la aplicación de estas partículas funcionalizadas con yodo representan un sistema prometedor para su uso en la formulación de nuevas estrategias de biofortificación de cultivos, ya que influyeron de manera positiva en el desarrollo de plántulas de maíz, así como la absorción y acumulación de yodo. Sin embargo, se necesitan más investigaciones para verificar si las partículas submicrométricas funcionalizadas con yodo muestran los mismos efectos positivos en otras especies vegetales.

Conclusiones

Se sintetizaron partículas submicrométricas funcionalizadas con yodo de 217 nm. Con diferentes concentraciones de estas partículas como pretratamiento en semillas de maíz, no se observaron efectos en la germinación; sin embargo, fue evidente un efecto bioestimulante sobre el crecimiento y el desarrollo de las plántulas, ya que el tratamiento con 50 mg·L⁻¹ incrementó significativamente la biomasa. Finalmente, se detectó yodo en la biomasa seca de las plántulas y 1.67 % de yodo en las partículas sintetizadas.

Agradecimientos

Este estudio fue apoyado por la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) y el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) a través de la beca otorgada para los estudios de doctorado de Lucía Marcial Salvador.

Fin de la versión en español

- Cartwright, A., Jackson, K., Morgan, C., Anderson, A., & Britt, D. W. (2020). A review of metal and metal-oxide nanoparticle coating technologies to inhibit agglomeration and increase bioactivity for agricultural applications. *Agronomy*, 10(7), 1-20. <https://doi.org/10.3390/agronomy10071018>
- Dávila-Rangel, I. E., Leija-Martínez, P., Medrano-Macías, J., Fuentes-Lara, L. O., González-Morales, S., Juárez-Maldonado, A., & Benavides-Mendoza, A. (2019). Iodine biofortification of crops. In Jaiwal, P. K., Chhilar, A. K., Chaudhary, D., & Jaiwal, R. (eds.), *Nutritional quality improvement in plants, concepts and strategies in plant sciences* (pp. 79-113). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-95354-0_4
- Dávila-Rangel, I. E., Trejo-Téllez, L. I., Ortega-Ortiz, H., Juárez-Maldonado, A., González-Morales, S., Companioni-González, B., Cabrera-de la Fuente, M., & Benavides-Mendoza, A. (2020). Comparison of iodide, iodate, and iodine-chitosan complexes for the biofortification of lettuce. *Applied Sciences*, 10(7), 2378. <https://doi.org/10.3390/app10072378>
- du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3-14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
- Duborská, E., Urík, M., & Kubová, J. (2018). Interaction with soil enhances the toxic effect of iodide and iodate on barley (*Hordeum vulgare* L.) compared to artificial culture media during initial growth stage. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 64(1), 46-57. <https://doi.org/10.1080/03650340.2017.1328104>
- Duborská, E., Urík, M., & Šeda, M. (2020). Iodine biofortification of vegetables could improve iodine supplementation status. *Agronomy*, 10(10), 1574. <https://doi.org/10.3390/agronomy10101574>
- Fischer, P. W., L'Abbé, M. R., & Giroux, A. (1986). Colorimetric determination of total iodine in foods by iodide-catalyzed reduction of Ce^{+4} . *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 69(4), 687-689. <https://doi.org/10.1093/jaoac/69.4.687>
- García-Fuentes, J. E., Herrera-Castellanos, B. F., Rivas-Martínez, E. N., Narváez-Ortiz, W. A., Benavides-Mendoza, B., & Medrano-Macías, J. (2022). Outcomes of foliar iodine application on growth, minerals and antioxidants in tomato plants under salt stress. *Folia Horticulturae*, 34(1), 27-37. <https://doi.org/10.2478/fhort-2022-0003>
- Gonzali, S., Kiferle, C., & Perata, P. (2017). Iodine biofortification of crops: agronomic biofortification, metabolic engineering and iodine bioavailability. *Current Opinion in Biotechnology*, 44, 16-26. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.10.004>
- Grzanka, M., Smoleń, S., Skoczylas, Ł., & Grzanka, D. (2021). Biofortification of sweetcorn with iodine: Interaction of organic and inorganic forms of iodine combined with vanadium. *Agronomy*, 11(9), 1720. <https://doi.org/10.3390/agronomy11091720>
- Gudkov, S. V., Shafeyev, G. A., Glinushkin, A. P., Shkirin, A. V., Barmina, E. V., Rakov, I. I., Simakin, A. V., Kislov, A. V., Astashev, M. E., Vodenev, V. A., & Kalinichenko, V. P. (2020). Production and use of selenium nanoparticles as fertilizers. *ACS Omega*, 5(28), 17767-17774. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c02448>
- Hainfeld, J. F., Ridwan, S. M., Stanishvskiy, Y., Smilowitz, N. R., Davis, J., & Smilowitz, H. M. (2018). Small, long blood half-life iodine nanoparticle for vascular and tumor imaging. *Scientific Reports*, 8(1), 13803. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31940-2>
- Kato, S., Wachi, T., Yoshihira, K., Nakagawa, T., Ishikawa, A., Takagi, D., Tezuka, A., Yoshida, H., Yoshida, S., Sekimoto, H., & Takahashi, M. (2013). Rice (*Oryza sativa* L.) roots have iodate reduction activity in response to iodine. *Frontiers in Plant Science*, 4, 1-11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00227>
- Kiferle, C., Martinelli, M., Salzano, A. M., Gonzali, S., Beltrami, S., Salvadori, P. A., Hora, K., Holwerda, H. T., Scaloni, A., & Perata, P. (2021). Evidences for a nutritional role of iodine in plants. *Frontiers in Plant Science*, 12, 1-18. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.616868>
- Krzemińska, J., Smoleń, S., Kowalska, I., Pitala, J., Sularz, O., & Koronowicz, A. (2023). Effect of biofortification with iodine by 8-hydroxy-7-iodo-5-quinolinesulfonic acid and 5-chloro-7-iodo-8-quinolinol on the chemical composition and antioxidant properties of potato tubers (*Solanum tuberosum* L.) in a pot experiment. *Applied Sciences*, 13(8), 4659. <https://doi.org/10.3390/app13084659>
- Lira-Saldivar, R. H., Méndez-Argüello, B., Vera-Reyes, I., & de los Santos-Villarreal, G. (2018). Agronanotechnology: A new tool for modern agriculture. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 50(2), 395-411. <https://revistas.uncu.edu.ar/ojs3/index.php/RFA/article/view/3067>
- Medrano-Macías, J., Leija-Martínez, P., González-Morales, S., Juárez-Maldonado, A., & Benavides-Mendoza, A. (2016). Use of iodine to biofortify and promote growth and stress tolerance in crops. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1-20. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01146>
- Medrano-Macías, J., López-Caltzontzit, M. G., Rivas-Martínez, E. N., Narváez-Ortiz, W. A., Benavides-Mendoza, A., & Martínez-Lagunes, P. (2021). Enhancement to salt stress tolerance in strawberry plants by iodine products application. *Agronomy*, 11(3), 602. <https://doi.org/10.3390/agronomy11030602>
- Morales-Díaz, A. B., Ortega-Ortiz, H., Juárez-Maldonado, A., Cadenas-Pliego, G., González-Morales, S., & Benavides-Mendoza, A. (2017). Application of nanoelements in plant nutrition and its impact in ecosystems. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 8(1), 013001. <https://doi.org/10.1088/2043-6254/8/1/013001>
- Nascimento, V. L., Souza, B. C., Lopes, G., & Guilherme, L. R. (2022). On the role of iodine in plants: a commentary on benefits of this element. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1-4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.836835>
- Rahman, M. S., Chakraborty, A., Kibria, A., & Hossain, M. J. (2023). Effects of silver nanoparticles on seed germination and growth performance of pea (*Pisum sativum*). *Plant Nano Biology*, 5, 100042. <https://doi.org/10.1016/j.plana.2023.100042>

- Rhaman, M. S., Rauf, F., Tania, S. S., & Khatun, M. (2020). Seed priming methods: application in field crops and future perspectives. *Asian Journal of Research in Crop Science*, 5(2), 8-19. <https://doi.org/10.9734/ajrcs/2020/v5i230091>
- Salehi, H., Cheheregani-Rad, A., Raza, A., Djalovic, I., & Varaprasad, P. V. (2023). The comparative effects of manganese nanoparticles and their counterparts (bulk and ionic) in *Artemisia annua* plants via seed priming and foliar application. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1-16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1098772>
- Sariñana-Aldaco, O., Benavides-Mendoza, A., Robledo-Olivo, A., & González-Morales, S. (2022). The biostimulant effect of hydroalcoholic extracts of sargassum spp. in tomato seedlings under salt stress. *Plants*, 11(22), 3180. <https://doi.org/10.3390/plants11223180>
- Tian, Y., Guan, B., Zhou, D., Yu, J., Li, G., & Lou, Y. (2014). Responses of seed germination, seedling growth, and seed yield traits to seed pretreatment in maize (*Zea mays* L.). *The Scientific World Journal*, 2014, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2014/834630>
- Waqas-Mazhar, M., Ishtiaq, M., Hussain, I., Parveen, A., Hayat-Bhatti, K., Azeem, M., Thind, S., Ajaib, M., Maqbool, M., Sardar, T., Muzammil, K., & Nasir, N. (2022). Seed nano-priming with zinc oxide nanoparticles in rice mitigates drought and enhances agronomic profile. *PLoS One*, 17(3), e0264967. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264967>
- Weng, H., Hong, C., Xia, T., Bao, L., Liu, H., & Li, D. (2013). Iodine biofortification of vegetable plants - An innovative method for iodine supplementation. *Chinese Science Bulletin*, 58(17), 2066-2072. <https://doi.org/10.1007/s11434-013-5709-2>