

## BIOFORTIFICACIÓN CON ZINC EN GERMINADOS DE LENTEJA (*Lens culinaris* Medik.): EFECTO EN PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y BIOQUÍMICOS

### ZINC BIOFORTIFICATION IN LENTIL (*Lens culinaris* Medik.) SPROUTS: EFFECTS ON PRODUCTIVE AND BIOCHEMICAL PARAMETERS

Miguel A. Tipán Lema<sup>1a\*</sup>, Yessica Y. López Veloza<sup>1b</sup>, Patricia M. Rivera Mayo<sup>1c</sup> y Pablo A. Landázuri Abarca<sup>1d</sup>

<sup>1a</sup> Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Av. General Rumiñahui s/n y Ambato, Sangolquí 171103, Pichincha, Ecuador

<https://orcid.org/0009-0003-1804-700X>

<sup>1b</sup> Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Av. General Rumiñahui s/n y Ambato, Sangolquí 171103, Pichincha, Ecuador

<https://orcid.org/0009-0003-2402-7814>

<sup>1c</sup> Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Av. General Rumiñahui s/n y Ambato, Sangolquí 171103, Pichincha, Ecuador

<https://orcid.org/0009-0000-7241-8367>

<sup>1d</sup> Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Av. General Rumiñahui s/n y Ambato, Sangolquí 171103, Pichincha, Ecuador

<https://orcid.org/0000-0002-6697-0793>

\* Autor para correspondencia: [mtipanlema@gmail.com](mailto:mtipanlema@gmail.com)

### RESUMEN

El zinc es un micronutriente esencial involucrado en funciones biológicas como la activación enzimática y la síntesis proteica. Su deficiencia puede ocasionar desnutrición, debilitar el sistema inmunológico y reducir la tasa de crecimiento infantil. Por ello, la producción agrícola debe adoptar prácticas sostenibles que garanticen un aporte adecuado de zinc en los alimentos. En este contexto, la biofortificación con zinc en germinados de lenteja representa una estrategia viable para mejorar la nutrición humana sin afectar la salud. El objetivo del estudio evaluó el efecto de cinco concentraciones de sulfato de zinc (0, 25, 50, 100 y 200  $\mu\text{M L}^{-1}$ ) sobre la germinación, crecimiento inicial y composición bioquímica de plántulas de lenteja. Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con cuatro repeticiones, asignando aleatoriamente las unidades experimentales, cada una con 100 semillas en frascos de vidrio durante nueve días. El tratamiento con 50  $\mu\text{M L}^{-1}$  favoreció el crecimiento de los germinados, mejoró la biodisponibilidad de zinc y redujo el contenido de ácido fítico, aunque no alcanzó la mayor tasa de germinación. En contraste, las concentraciones de 100 y 200  $\mu\text{M L}^{-1}$  aumentaron la acumulación de zinc, pero disminuyeron el contenido de ácido indolacético (AIA), afectando el crecimiento de los germinados. Estos hallazgos sugieren que la biofortificación con zinc en germinados de lenteja mejora el perfil nutricional y productivo, constituyendo una alternativa práctica y sostenible en la alimentación humana.

**Palabras clave:** *Lens culinaris* Medik., sulfato de zinc, biodisponibilidad, ácido fítico.

## ABSTRACT

Zinc is an essential micronutrient involved in key biological functions, including enzyme activation and protein synthesis. Its deficiency can lead to malnutrition, impair immune function, and reduce growth rates in children. Therefore, agricultural production should adopt sustainable practices that ensure an adequate zinc supply within food systems. In this context, zinc biofortification of lentil (*Lens culinaris* Medik.) sprouts emerges as a viable strategy to improve human nutrition without apparent adverse effects. This study evaluated the effect of five zinc sulfate concentrations (0, 25, 50, 100 and 200  $\mu\text{M L}^{-1}$ ) on germination, early growth, and biochemical composition of lentil sprouts. A completely randomized design with four replicates was implemented, with experimental units randomly assigned, each containing 100 seeds placed in glass jars under controlled conditions for nine days. The 50  $\mu\text{M L}^{-1}$  treatment promoted sprout growth, improved zinc bioavailability, and reduced phytic acid content, although it did not achieve the highest germination rate. In contrast, the 100 and 200  $\mu\text{M L}^{-1}$  treatments increased zinc accumulation but reduced indoleacetic acid (IAA) content, negatively affecting sprout growth. These findings suggest that zinc biofortification in lentil sprouts can improve both nutritional quality and growth performance, representing a feasible and sustainable alternative for enhancing human nutrition.

**Keywords:** *Lens culinaris* Medik., zinc sulfate, bioavailability, phytic acid.

## INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, aproximadamente 2 mil millones de personas sufren deficiencia de zinc (Singh et al., 2023). En Ecuador, el 28,7% de niños y niñas menores de cinco años en zonas rurales padecen desnutrición crónica y retraso en el crecimiento (Willoughby y Bowen, 2014). La deficiencia de micronutrientes en la dieta, incluido el zinc, afecta negativamente en el sistema, gastrointestinal, nervioso e inmunológico, así como aparatos reproductivos, y está relacionada con patologías cardiovasculares y enfermedades renales (McAuliffe et al., 2020; Escudero et al., 2022; Maldonado-Alvarado et al., 2023). Además, la falta de zinc puede afectar el desarrollo cognitivo a largo plazo (Bhatnagar y Taneja, 2001). Por ello, es indispensable encontrar una forma natural de suplementación de este microelemento en la dieta, especialmente a través de la producción agrícola.

La agricultura en países de bajos ingresos han incrementado considerablemente su extensión y relevancia como medio de subsistencia y fuente de seguridad alimentaria; sin embargo, la fertilidad del suelo y el contenido nutricional de los alimentos han disminuido (Haddad et al., 2016). De hecho, los productos agrícolas de primera necesidad presentan bajos niveles de proteína, calcio, fósforo, hierro, selenio, zinc, y vitaminas A, C y D (Tong et al., 2016). Esta situación se origina desde las primeras etapas de producción en campo, donde un suministro inadecuado de zinc en las plantas altera los procesos metabólicos, limita las reacciones enzimáticas y reduce el rendimiento y calidad de los cultivos (Al Jabri et al., 2022). Además, la deficiencia de zinc en

las plantas afecta negativamente los procesos fisiológicos y las funciones metabólicas celulares (Kumar et al., 2022). Dado que el zinc contribuye a la integridad de las membranas radicales y participa en los procesos fotosintéticos, así como en la síntesis de aproximadamente 2.800 proteínas (Cakmak y Kutman, 2018), su deficiencia provoca mayor vulnerabilidad en las plantas. Por lo tanto, es fundamental identificar los requerimientos nutricionales de zinc en las plantas para mejorar los rendimientos agronómicos y, consecuentemente aumentar el contenido de este micronutriente en los alimentos que consumimos.

Para prevenir y mitigar los efectos de la malnutrición y la desnutrición en la dieta humana, se emplean estrategias como el aumento de la oferta alimentaria, la alimentación complementaria, las transferencias económicas condicionadas y procesos agros tecnológicos como la biofortificación (Galván y Amigo, 2007). Esta última, representa una alternativa eficiente, innovadora y de bajo costo para reducir la deficiencia de micronutrientes en humanos y animales. La biofortificación agronómica consiste en incrementar el contenido de micronutrientes con mayor déficit en las plantas, permitiendo su absorción y posterior consumo sin alterar su forma natural (Boccio y Monteiro, 2004). Este proceso mejora la absorción de microelementos en las plantas y aumenta el valor nutricional de los alimentos (Dhaliwal et al., 2022). En este contexto, la biofortificación de productos agrícolas de primera necesidad con zinc se considera una estrategia viable para mitigar la desnutrición (Prahara et al., 2021).

Las semillas de leguminosas presentan alta eficiencia en procesos de biofortificación

agronómica, ya que, cuando se someten a una germinación controlada en presencia de fuentes de zinc, incrementan significativamente la biodisponibilidad de proteínas, minerales esenciales como el hierro, zinc, y compuestos bioactivos (Tymoszuk y Wojnarowicz, 2020). Además, los germinados biofortificados favorecen la digestibilidad total, tanto organoléptica como nutricional (Oduro-Yeboah et al., 2023). Asimismo, mejoran las características sensoriales, y son tecnologías económicamente viables y fáciles de implementar en cualquier temporada (Bączek-Kwinta et al., 2020). Con base en lo expuesto, se evaluó el efecto de cinco niveles de zinc sobre la germinación, crecimiento inicial y composición bioquímica de plántulas de lenteja (*Lens culinaris* Medik.), partiendo de la hipótesis de que la Biofortificación agronómica con concentraciones superiores a 25  $\mu\text{M L}^{-1}$  de zinc mejora la germinación, estimula el crecimiento inicial y aumenta la biodisponibilidad del mineral en el tejido vegetal mediante cambios en el contenido de zinc, en el ácido fítico y la relación molar ácido fítico:zinc.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización del área de estudio

La investigación se llevó a cabo en 2023 bajo condiciones controladas en el laboratorio de Fisiología Vegetal de la Carrera de Agropecuaria IASA I de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, ubicada en la Hacienda El Prado de la parroquia de San Fernando, Cantón Rumiñahui, Pichincha, Ecuador. El laboratorio se localiza a una altitud de 2748 msnm., en las coordenadas geográficas 0°23'4.77" S y 78°24'52.50" W.

### Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado (DCA) con cinco tratamientos y cuatro repeticiones. Las unidades experimentales fueron frascos de vidrio de 200 mL, cada uno con 100 semillas de lenteja (*L. culinaris* M.) obtenidas del Banco de Germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP); las semillas fueron desinfectadas mediante inmersión en etanol al 70% durante 30 seg, seguido de hipoclorito de sodio al 3% durante 12 min y cinco enjuagues con agua destilada estéril (Salas-Pérez et al., 2018). Luego, las semillas fueron inmersas en agua destilada estéril durante 24 h para inducir la germinación. Posteriormente, se eliminó el exceso de agua de las semillas y se preparó una solución de sulfato de zinc heptahidratado ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , pureza >99%). A partir de esta, se establecieron los tratamientos: T0: 0  $\mu\text{M L}^{-1}$ ; T1: 25  $\mu\text{M L}^{-1}$ ; T2: 50  $\mu\text{M L}^{-1}$ ; T3:

100  $\mu\text{M L}^{-1}$ ; T4: 200  $\mu\text{M L}^{-1}$ , incorporados en los frascos de 200 mL en los siguientes volúmenes: T0: 0 mL; T1: 0,5 mL; T2: 1,0 mL; T3: 2,0 mL y T4: 4,0 mL. Para el experimento se utilizó una cámara de germinación Mangersdorf TE-406 programada a una temperatura constante de 20°C y humedad relativa de 75%.

### Indicadores de germinación y crecimiento inicial

El porcentaje de germinación se determinó a los tres días de iniciado el ensayo, aplicando la ecuación estándar utilizada en pruebas de semillas, con una muestra de 100 semillas por unidad experimental, mientras que el tiempo de germinación se registró en función del periodo transcurrido hasta la emergencia de las plántulas.

$$\text{Porcentaje de Germinación \%} = \left( \frac{\# \text{ semillas germinadas}}{\text{semillas total}} \right) * 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

La longitud de los germinados se determinó a partir de imágenes capturadas con un teléfono Samsung Galaxy S23 equipado con cámara digital de 50 megapíxeles, tomadas a una distancia aproximada de 25 cm bajo condiciones de iluminación controlada. Las mediciones se realizaron mediante el software IMAGE J, registrando la distancia en milímetros desde el extremo de la radícula hasta el borde del hipocótilo en cada plántula germinada.

### Composición bioquímica de plántulas de lenteja

La concentración de ácido indolacético (AIA) en las raíces se determinó utilizando 10 radículas germinadas de lenteja por unidad experimental. El material vegetal se trituró en un mortero y, posteriormente, se transfirió a tubos de ensayo que contenían acetona al 80%, donde se maceró y mantuvo a  $-4^\circ\text{C}$  cubierto con papel aluminio durante 24 h. Luego, se extrajo un gramo de raíz triturada y se colocó en reactivo de Salkowski (0,5 M de cloruro ferroso, 49 mL de agua destilada estéril y 49 mL de ácido perclórico). Los tubos se cubrieron nuevamente con papel aluminio y se centrifugó a 530 rpm durante cinco min. Finalmente, la concentración de AIA se realizó por espectrofotometría a 535 nm, utilizando la metodología y la ecuación ajustada propuesta por Glickmann y Dessaux (1995).

$$\text{Concentración de AIA } (\mu\text{g/ml}) = \frac{Y - 0.002}{0.0009} \quad \text{Eq. (2)}$$

El contenido de ácido fítico se analizó a partir de 2,0 g de muestra liofilizada de los brotes, los cuales se mezclaron con 50 mL de ácido clorhídrico al 2%. La muestra se colocó en una

incubadora orbital (SHELL LAB) durante tres h a 120 rpm y 22 °C, posteriormente se colocó en papel filtro N°1. El filtrado se mezcló con 2,5 mL de reactivo de tiocianato de amonio al 0,3% y se completó con 27 mL de agua destilada. Seguidamente se realizó la titulación con cloruro férrico a una concentración de 1,95 mg·mL<sup>-1</sup>. La concentración final de ácido fítico se calculó mediante la ecuación de Abulude (2005).

$$IP6(mg/100gr) = vt \text{ (Valor de titulación)} * 1,95 \text{ Eq. (3)}$$

$$Fitato \left( \frac{mg}{100gr} \right) = IP6(Fitato \text{ de fósforo}) * 3,55 \text{ Eq. (4)}$$

### Contenido de zinc en semillas de lenteja

Para determinar el contenido de zinc, se utilizaron muestras secas de 1,0 g de cada unidad experimental. Las muestras fueron molidas y calcinadas en una mufla a 600 °C durante 4 h, y tras ese proceso, se añadió 10,0 mL de ácido clorhídrico y 2,0 mL de agua destilada, llevándose la mezcla a ebullición en estufa. Posteriormente, se filtró en matraces de 50,00 mL y se completó el volumen con agua destilada estéril. Finalmente, la mezcla se colocó en un filtro de membrana 0,22 µm y se determinó la concentración de zinc mediante espectrometría de absorción atómica.

La biodisponibilidad de zinc se calculó mediante la relación entre el contenido de zinc y ácido fítico, empleando la ecuación propuesta por Wei et al. (2012).

$$AF:Zn = \frac{mmol AF}{mmol Zn} \text{ Eq. (5)}$$

### Mapeo y composición elemental semicuantitativa

El mapeo y la composición elemental semicuantitativa de las radículas de los germinados de lenteja se realizaron mediante un microscopio electrónico de barrido (SEM) equipado con un detector Bruker X-Flash 6:30, siguiendo la metodología de Espectroscopia de Energía Dispersiva de Rayos X (EDS). Para el

análisis se utilizaron 20 raíces secas de las semillas germinadas del tratamiento correspondiente al control (T0: 0 µM L<sup>-1</sup>) y la dosis más alta de zinc (T4:200 µM L<sup>-1</sup>). La selección de estos extremos del gradiente experimental respondió al objetivo de maximizar el contraste en la acumulación y distribución del micronutriente minimizando la influencia de variaciones intermedias.

### Análisis estadístico

El análisis de datos se realizó con el software R (versión 4.4.2). Para determinar diferencias significativas entre tratamientos, se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) bajo un DCA, seguido de la prueba de Tukey para la comparación de medias, con un nivel de significancia de 0,05, en los casos en que los datos cumplieron con los supuestos de normalidad y homocedasticidad. Cuando los datos no se ajustaron a los supuestos de la estadística paramétrica, se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis, seguida del test de Dunn.

## RESULTADOS

### Días y porcentaje de germinación

Los días de germinación variaron significativamente entre tratamientos, según la prueba de Kruskal-Wallis ( $\chi^2=20,30$ ;  $p=4,36 \times 10^{-04}$ ) (Tabla 1). El tratamiento 25 µM L<sup>-1</sup> (T2) presentó la menor mediana de días de germinación, mostrando diferencias significativamente respecto a los tratamientos con 100 µM L<sup>-1</sup> (T3) ( $p=1,76 \times 10^{-03}$ ) y 200 µM L<sup>-1</sup> (T4) ( $p=0,03$ ). Además, las semillas tratadas con 100 µM L<sup>-1</sup> (T3) germinaron significativamente más tarde en comparación con el control (0 µM L<sup>-1</sup>, T0) ( $p=0,02$ ).

En cuanto al porcentaje de germinación, se observaron diferencias significativas entre tratamientos ( $p<0,05$ ). Las semillas tratadas con 0 µM L<sup>-1</sup> (T0) obtuvieron un porcentaje significativamente menor respecto a todos los tratamientos, mientras que las semillas tratadas con 200 µM L<sup>-1</sup> (T4) alcanzaron un porcentaje significativamente superior al resto, pero con valores estadísticamente similares al tratamiento de 100 µM L<sup>-1</sup> (T3).

**Tabla 1. Número de días y porcentaje de germinación de brotes de *L. culinaris* M.**  
**Table 1. Number of days and germination percentage of sprouts of *L. culinaris* M.**

Tratamiento (µM L <sup>-1</sup> )	Germinación (días)	Germinación (%)
T0: 0	4,50	25 ± 5,77 a
T1: 25	5,00	42 ± 5,00 b
T2: 50	4,00	45 ± 2,89 b
T3: 100	5,50	50 ± 8,16 bc
T4: 200	5,00	60 ± 8,16 c

### Longitud del germinado

Los tratamientos tuvieron un efecto estadísticamente significativo en la longitud de germinación de *L. culinaris* M. ( $p < 0,001$ ). En la Fig. 1 se muestran los grupos que difieren entre sí. Según la prueba de comparación de medias de Tukey los germinados con  $50 \mu\text{M L}^{-1}$  (T2) presentaron una media significativa mayor respecto a la longitud de los tratamientos  $0 \mu\text{M L}^{-1}$  (T0),  $25 \mu\text{M L}^{-1}$  (T1) y  $200 \mu\text{M L}^{-1}$  (T4). En contraste, los tratamientos con  $0 \mu\text{M L}^{-1}$  (T0) y  $100 \mu\text{M L}^{-1}$  (T3) no presentan diferencias significativas entre sí, registrando menores medias de longitud de los germinados.

### Composición bioquímica de plántulas de lenteja

#### Contenido de ácido indolacético (AIA) y ácido fítico (AF)

El contenido de AIA, en germinados de lenteja mostró diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0,001$ ) (Fig. 2A). Según la prueba post-hoc de Tukey, todos los tratamientos difirieron significativamente respecto al control, el cual presentó la menor concentración de AIA.

El tratamiento con  $50 \mu\text{M L}^{-1}$  (T2) registró la mayor media de AIA en los germinados ( $433,89 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), superando significativamente el tratamiento con  $100 \mu\text{M L}^{-1}$  (T3). Los tratamientos con  $25 \mu\text{M L}^{-1}$  (T1) y  $50 \mu\text{M L}^{-1}$  (T2) fueron iguales estadísticamente, pero superiores al control (T0) ( $p < 0,001$ ). El tratamiento  $200 \mu\text{M L}^{-1}$  (T4) mostró niveles mayores al control (T0), pero menores al de  $50 \mu\text{M L}^{-1}$ . Las semillas tratadas con  $100 \mu\text{M L}^{-1}$  (T3) presentaron la menor concentración de AIA cercano al control. Estos resultados sugieren que las concentraciones moderadas de zinc favorecen la síntesis de AIA, mientras que dosis más altas podrían inhibir o mermar la producción.

Por otro lado, todos los tratamientos presentaron diferencias significativas, en relación al control, que presentó la mayor concentración en el contenido de ácido fítico en los germinados de lenteja ( $p < 0,001$ ) (Fig. 2B). En contraste, la menor media se registró en los germinados tratados con  $50 \mu\text{M L}^{-1}$  (T2).

Además, el contenido de ácido fítico en los germinados del tratamiento  $50 \mu\text{M L}^{-1}$  (T2) fue significativamente diferente al de  $0 \mu\text{M L}^{-1}$  (T1) y

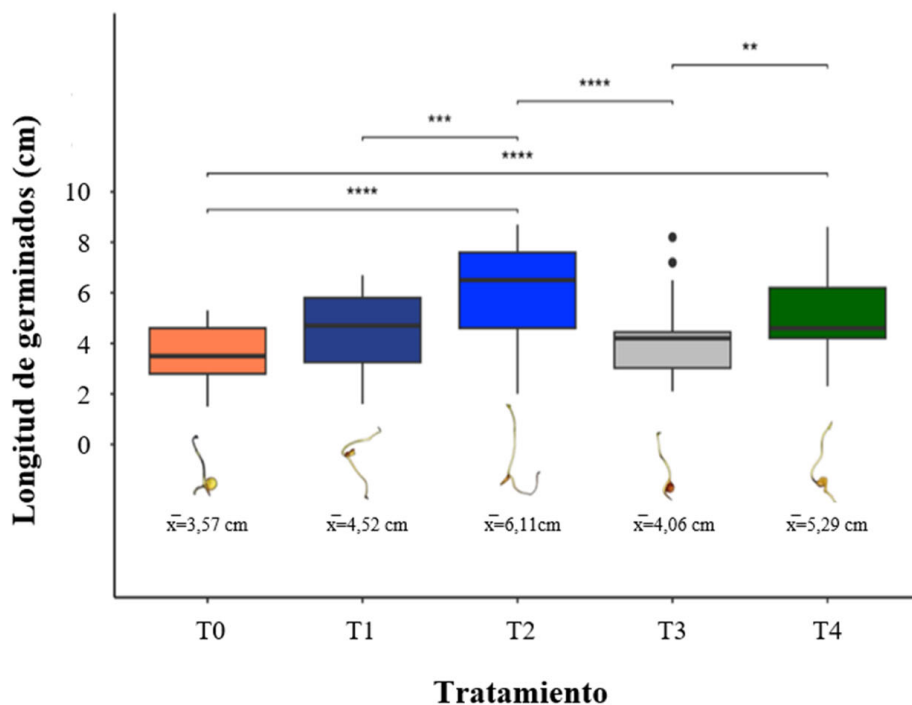


Fig. 1. Longitud promedio de los germinados de lenteja (*L. culinaris* M.) bajo diferentes concentraciones de zinc: T0:  $0 \mu\text{M L}^{-1}$ ; T1:  $25 \mu\text{M L}^{-1}$ ; T2:  $50 \mu\text{M L}^{-1}$ ; T3:  $100 \mu\text{M L}^{-1}$ ; y T4:  $200 \mu\text{M L}^{-1}$ . \* ( $p < 0,05$ ), \*\* ( $p < 0,01$ ), \*\*\* ( $p < 0,001$ ), \*\*\*\* ( $p < 0,0001$ ).

Fig. 1. Mean length of lentil (*Lens culinaris* Medik.) sprouts grown under different zinc concentrations: T0:  $0 \mu\text{M L}^{-1}$ ; T1:  $25 \mu\text{M L}^{-1}$ ; T2:  $50 \mu\text{M L}^{-1}$ ; T3:  $100 \mu\text{M L}^{-1}$ ; and T4:  $200 \mu\text{M L}^{-1}$ . \* ( $p < 0,05$ ), \*\* ( $p < 0,01$ ), \*\*\* ( $p < 0,001$ ), \*\*\*\* ( $p < 0,0001$ ).



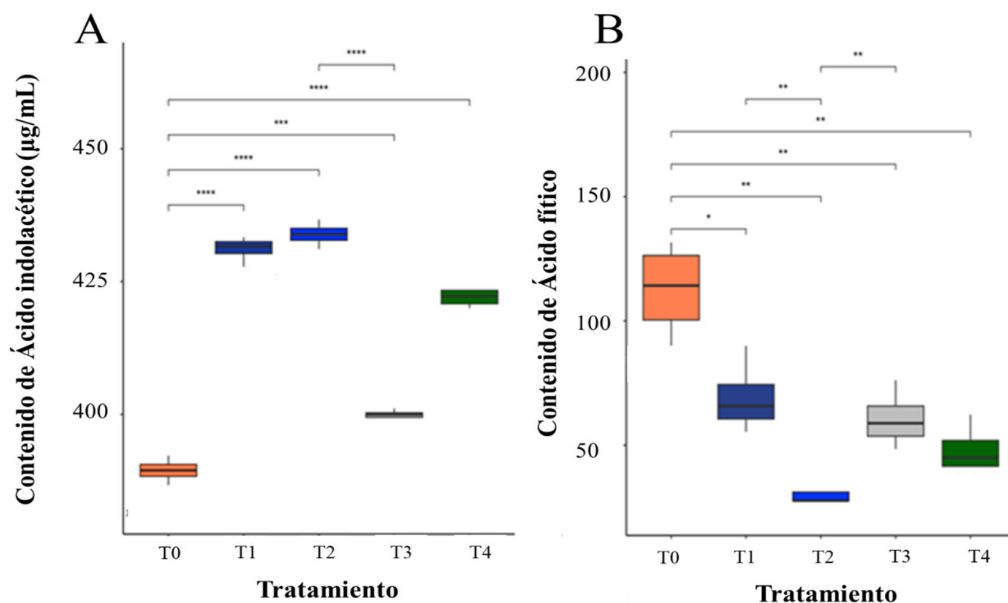


Fig. 2. A) Contenido de ácido indolacético. B) Contenido de ácido fítico en germinados de lenteja (*L. culinaris* M.). \* ( $p < 0,05$ ), \*\* ( $p < 0,01$ ), \*\*\* ( $p < 0,001$ ), \*\*\*\* ( $p < 0,0001$ ).

Fig. 2. A) Indoleacetic acid content. B) Phytic acid content in lentil sprouts (*L. culinaris* M.). \* ( $p < 0,05$ ), \*\* ( $p < 0,01$ ), \*\*\* ( $p < 0,001$ ), \*\*\*\* ( $p < 0,0001$ ).

100  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T3), mientras que estos dos últimos no mostraron diferencias entre sí. Por su parte, el contenido de ácido fítico en los germinados de 200  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T4) no presentó diferencias significativas con 25  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T1) ni 100  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T3).

Se identificó una correlación negativa moderada y significativa entre el contenido de ácido fítico y el contenido de ácido indolacético ( $r = -0,71$ ;  $p < 0,001$ ) (Fig. 2).

#### Variación del contenido de zinc, ácido fítico y la relación molar AF:Zn en los diferentes tratamientos

Respecto al contenido de zinc en los germinados, no hubo diferencias significativas entre tratamientos ( $p = 0,2188$ ); sin embargo, se observó una tendencia hacia valores más altos en los tratamientos con mayores concentraciones de zinc. Los germinados con 100  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T3) presentaron el mayor contenido de zinc (35,20  $\text{mg kg}^{-1}$ ), seguidos por los germinados con 200  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T4) (32,66  $\text{mg kg}^{-1}$ ).

La biodisponibilidad de zinc, estimada por la relación molar ácido fítico: zinc (AF:Zn) (Fig. 3), mostró diferencias significativas ( $p = 0,0001$ ), y todos los tratamientos difirieron del control.

La Fig. 3 muestra la evolución del contenido de zinc (mMol), el contenido de ácido fítico (uMol) y la relación molar AF:Zn en función

de los tratamientos aplicados a los germinados de lenteja. Se observa que, a medida que se incrementa la concentración de zinc en los tratamientos 100  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T3) y 200  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T4), la biodisponibilidad del zinc mejora, ya que la relación molar AF:Zn disminuye.

#### Mapeo semicuantitativo

La detección de zinc en la radícula de germinados de *L. culinaris* M., observada por microscopía electrónica, se presenta en la Fig. 4. Se muestran diferencias en la distribución de zinc entre los germinados del testigo (Fig. 4A - 4B) y aquellos tratados con 200  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T4) (Fig. 4C - 4D).

Cuando se encuentra zinc en la muestra, la ubicación del elemento se focaliza en un solo lugar (Fig. 5), al contrario del testigo, que produce blancos en el rastreo (Fig. 4C). En los germinados del control (Fig. 4A - 4B), la señal de zinc es dispersa, indicando una mínima o nula acumulación del mineral. Mientras que, en los germinados tratados con la mayor dosis de zinc del ensayo (T4), (Fig. 4C - 4D), se observan acumulaciones focalizadas de zinc, lo que demuestra una absorción y retención localizada del elemento en la radícula.

Complementando el análisis visual obtenido mediante microscopía electrónica de

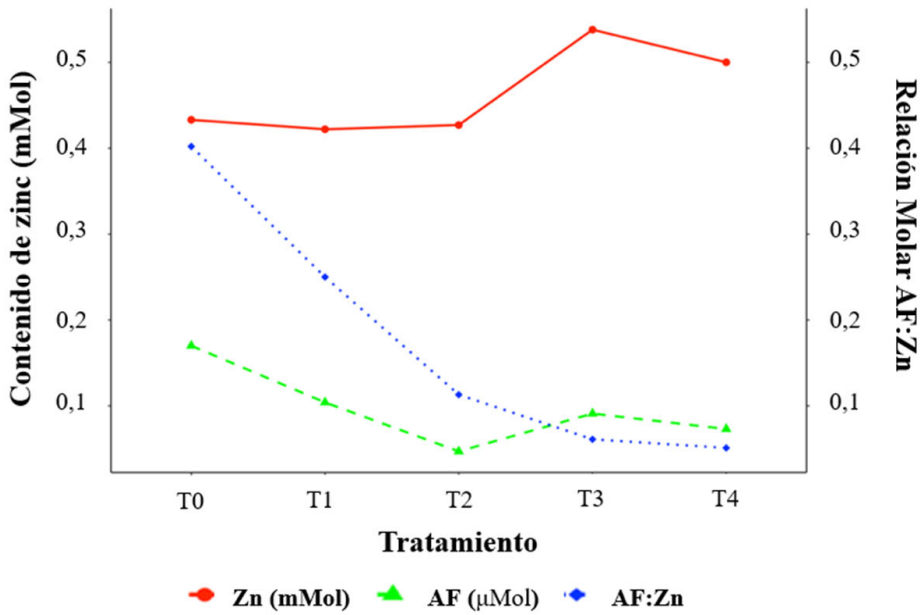


Fig. 3. Variación del contenido de zinc (mMol), ácido fítico (AF,  $\mu\text{Mol}$ ) y relación molar AF:Zn en germinados de lenteja (*L. culinaris* M.) sometidos a cinco tratamientos: T0: 0  $\mu\text{M L}^{-1}$ ; T1: 25  $\mu\text{M L}^{-1}$ ; T2: 50  $\mu\text{M L}^{-1}$ ; T3: 100  $\mu\text{M L}^{-1}$ ; y T4: 200  $\mu\text{M L}^{-1}$

Fig. 3. Variation in zinc content (mMol), phytic acid (AF,  $\mu\text{Mol}$ ), and AF:Zn molar ratio in lentil (*L. culinaris* M.) sprouts subjected to five treatments: T0: 0  $\mu\text{M L}^{-1}$ ; T1: 25  $\mu\text{M L}^{-1}$ ; T2: 50  $\mu\text{M L}^{-1}$ ; T3: 100  $\mu\text{M L}^{-1}$ ; and T4: 200  $\mu\text{M L}^{-1}$

barrido (SEM), se encontró que el espectro B, correspondiente al tratamiento control T0 (0  $\mu\text{M L}^{-1}$ ), la señal del Zn presenta una baja intensidad, evidenciando una presencia mínima de este elemento (Fig. 5B). En contraste, el espectro A, del tratamiento con 200  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T4) de Zn, muestra un incremento notable en la concentración relativa de zinc, lo que confirma acumulación en tejidos radiculares (Fig. 5A). El análisis EDS revela diferencias claras en la distribución de los elementos entre tratamientos, indicando que la aplicación de 200  $\mu\text{M L}^{-1}$  de Zn promovió una acumulación del micronutriente en comparación al control, lo que demuestra la efectividad del tratamiento en la absorción y retención de zinc en germinados de lenteja.

## DISCUSIÓN

### Días y porcentaje de germinación

En comparación con el grupo control, todos los tratamientos que incluyeron zinc mostraron incrementos significativos en el porcentaje de germinación, evidenciando que la adición del micronutriente, incluso en las bajas concentraciones, favorece la germinación de semillas de lenteja. Kayata et al. (2024)

destacan que el zinc desempeña un papel clave en el equilibrio fitohormonal, favoreciendo el desarrollo radicular, el crecimiento de tallos y la floración de lenteja. Además, participa en la actividad de la nitrogenasa, enzima clave en la fijación biológica del nitrógeno.

Diversos estudios destacan el uso del sulfato de zinc como una estrategia efectiva para promover la germinación de *L. culinaris* M.; Toklu (2015) evaluó el efecto de  $\text{ZnSO}_4$  al 5% en semillas de lenteja, obteniendo un 97% de germinación en condiciones de laboratorio (22°C y 75% Humedad relativa). El presente estudio se realizó bajo condiciones similares, lo que permitió establecer una comparación directa en la interpretación de los resultados. De manera similar, Mondal et al. (2024) trataron semillas de *L. culinaris* M., con  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , y observaron un incremento significativo en la germinación, alcanzando entre 89 a 100% hasta 96 h después de la siembra en campo, utilizando una concentración de 2 mM. Estos hallazgos, evidencian que el sulfato de zinc reduce el tiempo de latencia y mejora el porcentaje de germinación de *L. culinaris* M.

Este estudio, indica que la dosis de 50  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T2) presentó un 45% de germinación en el menor tiempo registrado, diferenciándose de

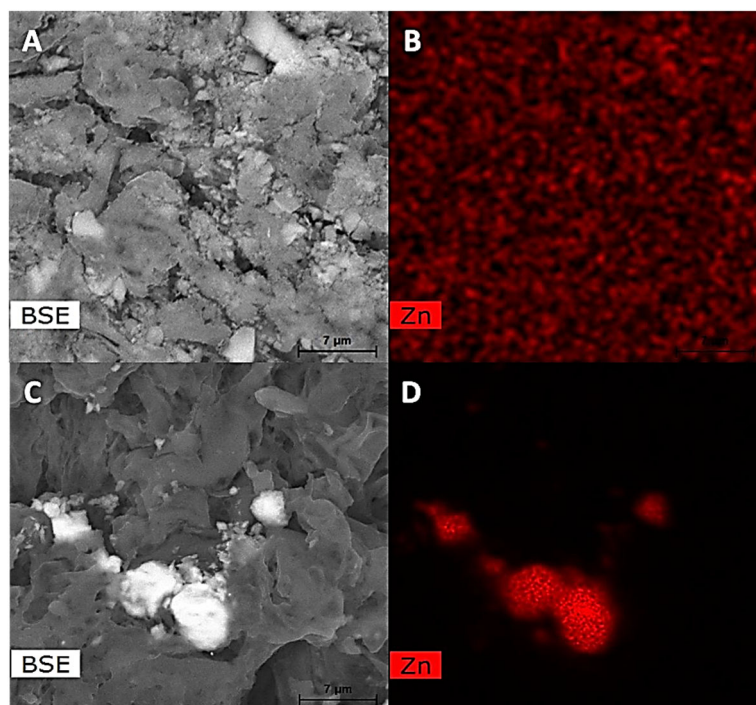


Fig. 4. Detección de zinc en germinados de lenteja (*L. culinaris* M.) por microscopía. A) Distribución de zinc en grupo control T0 (SEM). B) Distribución de zinc en grupo control T0 (EDS). C) Señal de Zinc focalizada en la radícula con T4 (SEM). D) Señal de Zinc focalizada en la radícula con T4 (EDS).

Fig. 4. Zinc detection in lentil (*L. culinaris* M.) sprouts by microscopy. A) Zinc distribution in the control group (SEM). B) Zinc distribution in the control group (EDS). E) Localized zinc signal in the radicle under T4 treatment (SEM). D) Localized zinc signal in the radicle under T4 treatment (EDS).

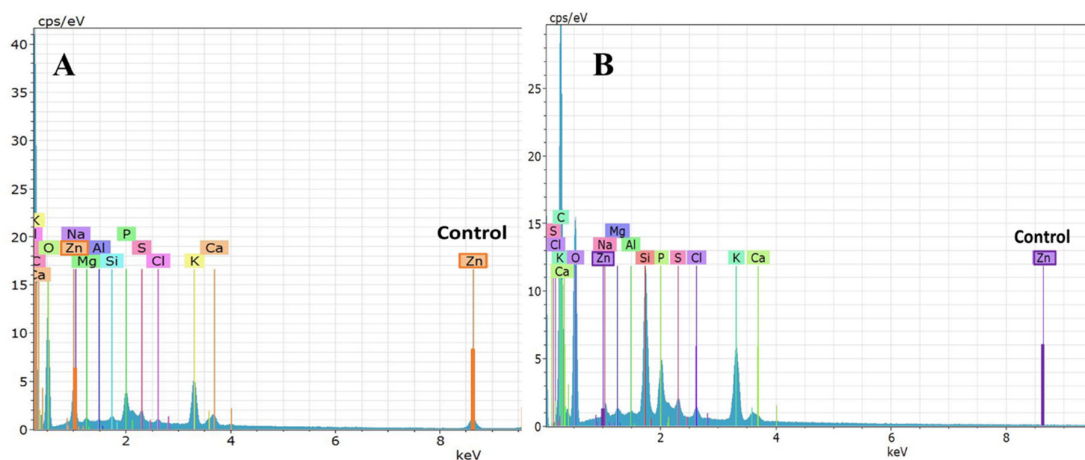


Fig 5. A) Espectro de espectroscopia de dispersión de razón x (EDS) en radículas de lenteja (*L. culinaris* M.), tratadas con  $200 \mu\text{M L}^{-1}$  de zinc (T4). B) Tratamiento control (T0,  $0 \mu\text{M L}^{-1}$ ) sin detección de zinc.

Fig. 5. A) Energy dispersive X ray spectroscopy (EDS) spectrum of lentil (*L. culinaris* M.) radicles treated with  $200 \mu\text{M L}^{-1}$  zinc (T), showing a distinct Zn. B) control treatment (T0,  $0 \mu\text{M L}^{-1}$ ) with no detectable zinc signal.



100  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T3) y 200  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T4), que alcanzaron 50% de germinación en 5,5 días y un 60% en 5 días, respectivamente. También, se observó que las semillas tratadas con dosis intermedias y altas de zinc, lograron mayores porcentajes de germinación, aunque con un retraso en su inicio.

Además, se evidenció que los germinados tratados con dosis de 25  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T1) y 200  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T4) compartieron la misma mediana de días para germinar, aunque T1 no mostró diferencias significativas con 50  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T2). A partir de estos resultados, se destacan dos puntos clave: (1) concentraciones más elevadas de zinc podrían favorecer la germinación, pero no reducir el tiempo requerido para completarla; (2) podría existir un umbral donde el aumento en la concentración de zinc genere un retraso en la germinación sin afectar la viabilidad de las semillas. Asimismo, los tratamientos 25  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T1) y 200  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T4) mostraron la misma mediana, los que sugiere que una dosis mayor de zinc no provocó un mayor retraso significativo en la germinación comparado con la dosis más baja.

Mondal et al. (2024) analizaron el uso de sulfato de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  en varias dosis en *L. culinaris* Medik., y demostraron que, a medida que la concentración aumentaba de 2 mM hasta 8 mM o más, el porcentaje de germinación y el crecimiento de las plántulas se reducían. De hecho, al utilizar dosis más elevadas (15, 20 y 30 mM), hubo una considerable reducción de los porcentajes de germinación y se retrasó el crecimiento de las plántulas. Considerando estos resultados, es importante definir la variedad fenotípica intra-varietal dado que diferencias en características como la dureza de la testa o la permeabilidad de la semilla pueden influir en la respuesta germinativa frente a concentraciones elevadas.

En el estudio, un mayor porcentaje de germinación no representó un mejor crecimiento inicial; por el contrario, se evidenció que una concentración intermedia optimizó el crecimiento, aunque con una menor tasa de germinación. Se encontró que, a concentraciones de zinc de 100  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T3) y 200  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T4), la longitud de los germinados disminuyó significativamente. Aunque el tratamiento con 200  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T4), la dosis más alta de zinc, presentó el mayor porcentaje de germinación del estudio, su longitud media fue significativamente menor en comparación con el grupo tratado con 50  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T2), el cual alcanzó la mayor longitud promedio, pero con un porcentaje de germinación inferior.

La eficiencia del uso del zinc en el crecimiento inicial de los germinados de lenteja ha sido evaluada en estudios previos. Por ejemplo, Toklu (2015) demostró que el sulfato de zinc (0,05%) fue

uno de los mejores tratamientos en cuanto a la longitud del brote y de la raíz de lenteja. Por su parte, el estudio de Maqsood et al. (2016) mostró que la adición de zinc mejoró el rendimiento de *L. culinaris* M., en suelos con baja materia orgánica y pH alto, pero que, en suelos con alta disponibilidad de zinc, el rendimiento del grano disminuyó. Kayata et al. (2024) evidenciaron que el impacto de los reguladores del crecimiento vegetal y los elementos traza sobre la nodulación y desarrollo de lentejas depende totalmente de la concentración. De hecho, registraron longitudes significativamente mayores en tallo y raíz con  $\text{ZnSO}_4$  a 50 ppm y ácido bórico a 50 ppm, en contraste con  $\text{ZnSO}_4$  a 100 ppm y el control, lo que coincide con los resultados de la presente investigación respecto al efecto de concentraciones intermedias de zinc. Además, la reducción de la longitud a concentraciones más altas de zinc en el presente estudio, podría indicar una respuesta fisiológica frente a dichas concentraciones. Ibrahim y Shabbir (2014) señalan que niveles elevados de zinc en los tejidos de las plantas afectan la actividad enzimática y otros procesos metabólicos fundamentales, como la reducción de la tasa de fotosíntesis y del contenido de proteínas. Asimismo, pueden inducir estrés oxidativo, causando la muerte celular al dañar los lípidos de las membranas y ácidos nucleicos. Con base en estos hallazgos, la concentración del tratamiento con 50  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T2) parece ser la más óptima en el presente estudio, ya que favoreció el crecimiento, aunque no registró la mayor tasa de germinados.

### Composición bioquímica de plántulas de lenteja

Alcántara Cortes et al. (2019) indican que el contenido de AIA está directamente involucrado en la elongación celular y el desarrollo vegetal, por lo que su medición en relación a otros factores es fundamental. Los resultados bioquímicos del presente estudio indican que el zinc influyó en la síntesis de AIA. De hecho, el tratamiento control con 0  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T0) presentó los niveles más bajos de esta fitohormona, mientras que el tratamiento con 50  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T2) registró la mayor concentración de AIA (433,89  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), diferenciándose significativamente de 100  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T3). En el estudio realizado por Su et al. (2020) se demostró que el zinc es esencial para la biosíntesis de auxinas y puede mejorar la absorción y eficacia de AIA en las plantas, favoreciendo el desarrollo radicular cuando se usa, por ejemplo, como parte de un sistema de nanopartículas (Karakeçili et al., 2019).

Además, el zinc puede mejorar otros factores, como el contenido de proteínas, azúcares solubles totales, actividad del nitrato reductasa

y contenido de carotenoides (Chandan y Vijai, 2018). Bajo estas consideraciones, la ausencia de zinc en el tratamiento control  $0 \mu\text{M L}^{-1}$  (T0) pudo haber limitado la producción de AIA.

Si bien los germinados de los tratamientos  $25 \mu\text{M L}^{-1}$  (T1),  $50 \mu\text{M L}^{-1}$  (T2) y  $200 \mu\text{M L}^{-1}$  (T4) no difirieron significativamente en el contenido de AIA, esto sugiere que cualquiera de ellos podría favorecer la síntesis de esta hormona. La concentración intermedia de zinc en el tratamiento  $50 \mu\text{M L}^{-1}$  (T2) parece ser una alternativa viable para la biofortificación de germinados para consumo humano, considerando su alto contenido de AIA y su efecto positivo en los parámetros productivos descritos previamente.

El ácido fítico es la principal forma de almacenamiento de fósforo en semillas de legumbres y al unirse a minerales como el zinc, inhibe su disponibilidad (Erdal et al., 2002). En la presente investigación el contenido de ácido fítico mostró un patrón inverso a diferencia de AIA. Todos los tratamientos con aplicación de zinc difirieron significativamente del control ( $0 \mu\text{M L}^{-1}$  T0), el cual presentó mayores concentraciones de ácido fítico, en contraste con los valores más bajos registrados en los germinados tratados con  $50 \mu\text{M L}^{-1}$  (T2).

Asimismo, Zhao et al. (2022) investigaron la influencia de la fertilización con zinc en las concentraciones de ácido fítico y fósforo en semillas de diferentes cultivares de trigo, demostrando que la fertilización con zinc redujo significativamente las concentraciones de ambos compuestos en todas las semillas. En el tratamiento control del presente estudio, con  $0 \mu\text{M L}^{-1}$  (T0), la ausencia de zinc pudo haber limitado la movilización del fósforo almacenado, lo que resultó en el aumento del contenido de ácido fítico. En contraste, el tratamiento con  $50 \mu\text{M L}^{-1}$  (T2), correspondiente a una concentración intermedia de zinc, mostró una reducción significativa en los niveles de ácido fítico, alcanzando el menor valor de este compuesto en comparación todos los tratamientos. Esto indica que la biodisponibilidad moderada de zinc favoreció la degradación de ácido fítico y liberación del fósforo.

Por otro lado, la correlación negativa y significativa entre el ácido fítico y el AIA, sugiere que, a mayor concentración de ácido fítico, menor es el contenido de AIA. Cabe recalcar que tanto el AIA como el ácido fítico están relacionados con la regulación del fósforo en la planta. Al respecto, Zhao et al. (2022) demostraron que el gen *IAA27* (regulador en la señalización de auxinas), modula la respuesta a la deficiencia de fósforo, promoviendo el desarrollo de raíces adventicias en manzano.

Bajo este contexto, se puede suponer que los niveles más altos de AIA podrían estar promoviendo el uso de fósforo y, en consecuencia, reduciendo la acumulación de ácido fítico.

Aunque no se observaron diferencias significativas en el contenido de zinc entre los tratamientos, las concentraciones altas de zinc ( $100 \mu\text{M L}^{-1}$  (T3) y  $200 \mu\text{M L}^{-1}$  (T4) tendieron a presentar valores superiores en los germinados. Sin embargo, Erdal et al. (2002), demostraron que la fertilización con zinc incrementa las concentraciones de este elemento en las semillas de trigo.

Por otro lado, todos los tratamientos mostraron diferencias significativas con el grupo control T0 ( $0 \mu\text{M L}^{-1}$ ) en términos de biodisponibilidad de zinc. El tratamiento con  $50 \mu\text{M L}^{-1}$  (T2) registró una de las menores relaciones (AF:Zn) (0,113), coincidiendo con la mayor reducción de ácido fítico, por ello, consolidándose como la concentración más efectiva para optimizar la absorción de zinc, sin los efectos adversos asociados a niveles más altos. Al respecto, Erdal et al. (2002) también encontraron una disminución significativa de la relación molar de AF:Zn en semillas de cultivares de trigo, lo que implica una mayor biodisponibilidad de zinc.

Finalmente, con la Fig. 3 compuesta, que muestra la evolución del contenido de zinc (Zn), ácido fítico (AF) y la relación molar AF:Zn en respuesta a los tratamientos aplicados a los germinados de lenteja, esta respalda varios de los puntos clave discutidos, especialmente que la adición de zinc reduce el ácido fítico, mejorando la disponibilidad del zinc. El mapeo cuantitativo evidenció la acumulación de zinc en la radícula, lo que es positivo desde el punto de vista fisiológico de la planta como desde el alimenticio. Por todos estos aspectos, es importante valorar la dosificación equilibrada de zinc para optimizar la absorción de nutrientes en los germinados.

## CONCLUSIONES

Los resultados de la investigación respaldaron la hipótesis de estudio, demostrando que la biofortificación agronómica con zinc tiene un impacto significativo en la germinación, crecimiento inicial y composición bioquímica de plántulas de lenteja. Particularmente, el tratamiento T2 ( $50 \mu\text{M L}^{-1}$ ), aunque no presentó el mayor porcentaje de germinación, mostró diferencias significativas respecto al control y se destacó por favorecer el desempeño fisiológico de los germinados de lenteja. Esta concentración incrementó la longitud de los germinados, aumento el contenido de AIA, mejoró la biodisponibilidad del zinc y promovió

la reducción de ácido fítico, evidenciando un equilibrio positivo entre el crecimiento y la calidad bioquímica. Además, esta misma dosis no provocó efectos adversos en el metabolismo de las auxinas ni indujo una acumulación excesiva de zinc en los tejidos. En contraste, las concentraciones más altas de zinc en los tratamientos con 100  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T3) y 200  $\mu\text{M L}^{-1}$  (T4) favorecieron un mayor contenido del mineral en los germinados; sin embargo, se evidenció una reducción en el contenido de AIA, menor crecimiento de los germinados y acumulación no homogénea de zinc en las radículas. Por lo tanto, es importante establecer una concentración óptima de zinc para la biofortificación de germinados, especialmente si están destinados al consumo humano, donde es fundamental que el mineral se distribuya homogéneamente para garantizar su asimilación.

Por ello, estudios futuros deberían enfocarse en evaluar la estabilidad del zinc durante el almacenamiento y su biodisponibilidad en humanos, así como en realizar análisis bromatológicos para determinar la composición nutricional de los germinados. Esto permitirá validar su efectividad como alimento funcional.

### AGRADECIMIENTOS

A la Carrera Agropecuaria IASA 1 de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE (Ecuador), por permitir el desarrollo de esta investigación en sus instalaciones, especialmente en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de IASA I y en el Laboratorio de Nanotecnología. Reconocemos el financiamiento proporcionado a través del uso de estos laboratorios y los reactivos necesarios para la ejecución del proyecto. Expresamos también nuestro especial agradecimiento al Ingeniero Pablo Landázuri, director del Laboratorio de Fisiología Vegetal, y al equipo del Laboratorio de Nanotecnología, quienes brindaron apoyo técnico y científico invaluable.

### LITERATURA CITADA

- Abulude, F. 2005. Effect of processing on nutritional composition, phytate and functional properties of rice (*Oryza sativa* L.) flour. *Nigerian Food Journal* 22(1). <https://doi.org/10.4314/nifo.v22i1.33573>
- Al Jabri, H., M. H. Saleem, M. Rizwan, I. Hussain, K. Usman, and M. Alsafran. 2022. Zinc oxide nanoparticles and their biosynthesis: Overview. *Life* 12(4): 594. <https://doi.org/10.3390/life12040594>
- Bączek-Kwinta, R., A. Baran, M. Simlat, J. Lang, M. Bieniek, and B. Florek. 2020. Enrichment of different plant seeds with zinc and assessment of health risk of Zn-fortified sprouts consumption. *Agronomy* 10(7): 937. <https://doi.org/10.3390/agronomy10070937>
- Bhatnagar, S. and S. Taneja. 2001. Zinc and cognitive development. *British Journal of Nutrition* 85(S2): S139–S145. <https://doi.org/10.1079/bjn2000306>
- Boccio, J. y J.B. Monteiro. 2004. Fortificación de alimentos con hierro y zinc: pros y contras desde un punto de vista alimenticio y nutricional. *Revista de Nutrição* 17(1): 71–78. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732004000100008>
- Cakmak, I., and U. B. Kutman. 2018. Agronomic biofortification of cereals with zinc: a review. *European Journal of Soil Science* 69(1): 172–180. <https://doi.org/10.1111/ejss.12437>
- Chandan, S., and C. P. Vijai. 2018. Biochemical responses of lentil (*Lens culinaris* Medik) to zinc and iron nutrition in zinc deficient soil. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 7(4).
- Dhaliwal, S. S., V.Sharma, A. K. Shukla, V. Verma, M. Kaur, Y. S. Shivay, S. Nisar, A. Gaber, M. Brestic, V. Barek, M. Skalicky, P. Ondrisik, and A. Hossain. 2022. Biofortification. A frontier novel approach to enrich micronutrients in field crops to encounter the nutritional security. *Molecules* 27(4): 1340. <https://doi.org/10.3390/molecules27041340>
- Erdal, I., A. Yilmaz, S. Taban, S. Eker, B. Torun, and I. Cakmak. 2002. Phytic acid and phosphorus concentrations in seeds of wheat cultivars grown with and without Zinc fertilization. *Journal of Plant Nutrition* 25(1): 113–127. <https://doi.org/10.1081/PLN-100108784>
- Escudero, V., D. Ferreira Sánchez, I. Abreu, S. Sopena-Torres, N. Makarovskiy-Saavedra, M. Bernal, U. Krämer, D. Grolimund, M. González-Guerrero, and L. Jordá. 2022. *Arabidopsis thaliana*  $\text{Zn}^{2+}$ - efflux ATPases HMA2 and HMA4 are required for resistance to the necrotrophic fungus *Plectosphaerella cucumerina* BMM. *Journal of Experimental Botany* 73(1): 339–350. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab400>
- Galván, M. y H. Amigo. 2007. Programas destinados a disminuir la desnutrición crónica: Una revisión en América Latina. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 57(4).

- Glickmann, E., and Y. Dessaux. 1995. A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 61(2): 793–796. <https://doi.org/10.1128/aem.61.2.793-796.1995>
- Haddad, L., C. Hawkes, P. Webb, S. Thomas, J. Beddington, J. Waage, and D. Flynn. 2016. A new global research agenda for food. *Nature* 540(7631): 30–32. <https://doi.org/10.1038/540030a>
- Ibrahim, S., and S. Shabbir. 2014. Effect of Zinc on Lentil (*Lens culinaris* L.) Metabolites and Antioxidant Enzyme Activities. *Environmental Science, Agricultural and Food Sciences* 5: 20–24.
- Karakeçili, A., S. Korpaveyev, H. Dumanoglu, and S. Alizadeh. 2019. Synthesis of indole-3-acetic acid and indole-3-butyric acid loaded zinc oxide nanoparticles: Effects on rhizogenesis. *Journal of Biotechnology* 303: 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.07.004>
- Kayata, R., K. Saharan, K. C. Kumawat, and R. D. Agrawal. 2024. Effect of foliar application of trace elements and growth regulators on plant biomass and symbiotic efficiency of *Lens culinaris* M. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 58(10): 31–69. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103169>
- Kumar, D., A. Punetha, P. Verma, and R. C., Padalia. 2022. Micronutrient based approach to increase yield and quality of essential oil in aromatic crops. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 26(10): 03–61. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2021.100361>
- Maldonado-Alvarado, P., D. J. Pavón-Vargas, J. Abarca-Robles, S. Valencia-Chamorro, and C. M. Haros. 2023. Effect of germination on the nutritional properties, phytic acid content, and phytase activity of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Foods* 12(2): 389. <https://doi.org/10.3390/foods12020389>
- Maqsood, M. A., J. Schoenau, and A. Vandenberg. 2016. Zinc fertilization of lentil for grain yield and grain zinc concentration in ten Saskatchewan soils. *Journal of Plant Nutrition* 39(6): 866–874. <https://doi.org/10.1080/01904167.2015.1090606>
- McAuliffe, S., S. Ray, E. Fallon, J. Bradfield, T. Eden, and M. Kohlmeier. 2020. Dietary micronutrients in the wake of COVID-19: an appraisal of evidence with a focus on high-risk groups and preventative healthcare. *BMJ Nutrition, Prevention & Health* 3(1): 93–99. <https://doi.org/10.1136/bmjnp-2020-000100>
- Mondal, S., Mondal, S., and K. Pramanik. 2024. Effect of Nutripriming with boric acid, zinc sulphate heptahydrate and its combination on germination physiology of lentil (*Lens culinaris* L.) cv. HUL 57. *Agricultural Science Digest* 44(4): 611–617. <https://doi.org/10.18805/ag.D-5584>
- Oduro-Yeboah, C., R. Sulaiman, M. A. Uebersax, and K. D. Dolan. 2023. A review of lentil (*Lens culinaris* Medik) value chain: Postharvest handling, processing, and processed products. *Legume Science* 5(2). <https://doi.org/10.1002/leg3.171>
- Praharaj, S., M. Skalicky, S. Maitra, P. Bhadra, T. Shankar, M. Brestic, V. Hejnak, P. Vachova, and A. Hossain. 2021. Zinc biofortification in food crops could alleviate the zinc malnutrition in human health. *Molecules* 26(12): 3509. <https://doi.org/10.3390/molecules26123509>
- Salas-Pérez, L., J. M. Gaucín Delgado, P. Preciado-Rangel, J. A. Gonzales Fuentes, A. V. Ayala Garay, y M. Á. Segura Castruita. 2018. Aplicación de ácido cítrico incrementa la calidad y capacidad antioxidante de germinados de lenteja. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 20. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i20.999>
- Singh, A., V. D. Rajput, D. Pandey, R. Sharma, K. Ghazaryan, and T. Minkina. 2023. Nano Zinc-enabled strategies in crops for combatting zinc malnutrition in human health. In *Frontiers in Bioscience Landmark IMR Press Limited* 28(8). <https://doi.org/10.31083/j.fbl2808158>
- Toklu, F. 2015. Effects of different priming treatments on seed germination properties, yield components and grain yield of lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 43(1): 153–158. <https://doi.org/10.15835/nbha4319832>
- Tong, S., H. L. Berry, K. Ebi, H. Bambrick, W. Hu, D. Green, E. Hanna, Z. Wang, and C. D. Butler. 2016. Climate change, food, water and population health in China. *Bulletin of the World Health Organization* 94(10): 759–765. <https://doi.org/10.2471/BLT.15.167031>
- Tymoszek, A., and J. Wojnarowicz. 2020. Zinc oxide and zinc oxide nanoparticles impact on in vitro germination and seedling growth in *Allium cepa* L. *Materials* 13(12): 2784. <https://doi.org/10.3390/ma13122784>
- Wei, Y., M. J. I. Shohag, Y. Wang, L. Lu, C. Wu, and X. Yang. 2012. Effect of zinc sulfate fortification in germinated brown rice on seed zinc concentration, bioavailability, and seed germination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60(7): 1871–1879. <https://doi.org/10.1021/jf205025b>

- Willoughby, J. L., and C. N. Bowen. 2014. Zinc deficiency and toxicity in pediatric practice. In *Current Opinion in Pediatrics* Lippincott Williams and Wilkins 26(5): 579–584. <https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000132>
- Zhao, S., X. Zhao, X. Xu, Z. Han, and C. Qiu. 2022. Transcription factor iaa27 positively regulates p uptake through promoted adventitious root development in apple plants. *International Journal of Molecular Sciences* 23(22). <https://doi.org/10.3390/ijms232214029>

