DEVELOPMENT OF NANO-ZINC BASED BIOFERTILIZER FOR AGRICULTURE APPLICATIONS USING GREEN CHEMISTRY APPROACH

AJAY KUMAR

CENTRE FOR RURAL DEVELOPMENT AND TECHNOLOGY

INDIAN INSTITUTE OF TECHNOLOGY DELHI

APRIL 2024

© Indian Institute of Technology Delhi (IITD), New Delhi, 2024

DEVELOPMENT OF NANO-ZINC BASED BIOFERTILIZER FOR AGRICULTURE APPLICATIONS USING GREEN CHEMISTRY APPROACH

by

AJAY KUMAR

CENTRE FOR RURAL DEVELOPMENT AND TECHNOLOGY

Submitted

In fulfilment of the requirements of the degree of Doctor of Philosophy

to the

INDIAN INSTITUTE OF TECHNOLOGY DELHI

APRIL 2024

Dedicated to my

GRAND PARENTS

And

PARENTS

CERTIFICATE

This is to certify that the thesis entitled "**Development of nano-zinc based biofertilizer for agriculture applications using green chemistry approach**" being submitted by **Mr. Ajay Kumar** to the **Indian Institute of Technology Delhi** for the award of **"Doctor of Philosophy"** is a record of bonafide research carried by him. He has worked under our supervision and guidance and has fulfilled the requirements for the submission of the thesis. To the best of our knowledge, the results presented in this thesis have not been submitted in part or full to any other institute or university for the award of any degree or diploma.

Dr. Satyawati Sharma

(Professor)

Centre for Rural Development and Technology
Indian Institute of Technology Delhi
Hauz Khas, New Delhi-110016 (INDIA)

Dr. Neetu Singh

(Associate Professor & Head)

Department of Biotechnology
Mewar Institute of Management
Vasundhara, Ghaziabad, UP. 201012 (INDIA)

ACKNOWLEDGEMENTS

I humbly express my gratitude to the Almighty for blessing me with the opportunity to complete my Ph.D. work successfully. It was the blessings of my grandparents & parents and the teachings of my mentors that provided me the guidance and path to achieve this goal. This research work compilation reflects the journey of my life, and I am indebted to all the people who have supported me.

I am honored to acknowledge the unwavering support of my supervisor, ***Prof. Satyawati Sharma****. I am very thankful for her guidance with a decade of knowledge and expertise, motherly affection, and putting a faith in me that always encouraged me to do my best in every situation. I feel blessed to have had her direction and support throughout my professional and personal journey. I also want to express my thankfulness to my co-supervisor,* ***Dr. Neetu Singh****, for her valuable guidance, critical assessment, and affection, which have contributed significantly to accomplishing this work. I am grateful for her constant support and guidance throughout this journey.*

I extend my sincere thanks to the esteemed members of my research committee: Prof. Anushree Malik (Chairperson, CRDT), Prof. B.J. Alappat (External expert, Department of Civil Engineering), and Late Dr. Ram Chandra (Internal expert, CRDT), for sparing their invaluable time, and extend support, encouragement, and provide informative suggestions, and recommendations throughout the study. I am also thankful to the faculty members of CRDT for their consistent support and encouragement during the work.

I express my gratitude to the laboratory, CRF, office, and administrative staff for facilitating their support and kindness in every possible way throughout the work. I acknowledge the support of CRF, IIT Delhi (for FTIR, FE-SEM, AFM, and TEM facilities), CIF, JMI University (New Delhi) (for XRD, FTIR, TGA/DTA, and Zeta sizer facilities), and JNU,

New Delhi (for GC-MS facility). I am thankful to Dr. Monica Verma, Dr. Anita Raj, Dr. Pratibha Yadav, and Dr. Kanika Chowdhary for their cooperation and timely suggestions. I am grateful to my lab mates Dr. Garima Singh, Dr. Sonal Singh, Dr. Mandira Kapri, Dr. Umesh Rawat, and Mr. Raju for their support and motivation. I must mention the support Dr. Himanshu Arora, Dr. Abhay Tiwari, Dr. Mohd. Aamir Khan, and Dr. Akansha Gupta extended to me throughout the study. A special thanks and appreciation to my dear friend and lab fellow, Mr. Lahur Mani Verma, who always stands with me and we have numerous deliberations regarding our workflow.

I thank my dear wife, Khushboo, for her incredible support in accomplishing this journey. She always stood with me, and her faith motivated me to work tirelessly. I am thankful to my seven years old son, Advit, for inculcating positive energy in me, which derives an inspiration cum sense of responsibility to do better and better in life.

This academic journey would not have been possible without the support and blessings of my dear grandparents, parents, cousins, friends, and other relatives. I am indebted for the blessings and great fortune that I have received from my paternal grandparents in heaven (Late Shri Moti Ram and Late Smt. Narayani Devi) and maternal grandparents (Late Shri Bijendra Singh and Late Smt. Bhanno Devi). Last but not least, I am deeply grateful to my beloved parents, Shri. Mahendra Singh and Smt. Shakuntala Devi, the central pillar in my life, who continually stand with me at every stretch of life and showers their blessings and unconditional support. Lastly, I acknowledge all the ones who have helped me throughout my journey of accomplishment.

(Ajay Kumar)

ABSTRACT

Zn is an essential element for all life forms. In the current scenario, the entire world is at high risk of Zn deficiency, for which declining pristine Zn deposits in the soil are one of the major causes. Also, studies mentioned that the major Zn fraction in the soil is present in unavailable forms that can consequently lead to decreasing Zn levels in plants. A reduction in soil-Zn levels has detrimental effects on plant growth, microbial community structure, and soil fertility. Therefore, it is imperative to understand this issue in the "soil-plant-animal-human continuum" context as, like other essential nutrients, most of the Zn requirement derives from dietary food intake. The consumption of Zn-deficient food crops can also cause Zn deficiency in humans, as a majority of the population relies on staple crops to meet the Zn requirements, like other nutrients. Biofortification of Zn in food crops is one of the preferred approaches to increase dietary Zn intakes, for which the optimal levels of Zn in agricultural soils are desired. The gap between Zn demands for humans and its supply through the food chain is big enough to necessitate revolutionizing the agriculture industry with innovative solutions.

The present research aims to develop a nano-ZnO-based biofertilizer formulation through a green chemistry route for Zn-biofortification and improve overall growth and development in crop plants. The green synthesis of ZnO NPs can offer an eco-friendly approach as it minimizes toxic solvents. Recent years have witnessed significant research exploring low-cost biotemplates, such as agricultural residues, industrial wastes, weed biomass, etc., for synthesizing metal-based NPs (like ZnO NPs). The current work entails biogas slurry (BGS) in ZnO NPs synthesis (B-ZnO NPs), coupled with utilization as a low-cost substrate for mass multiplication of beneficial microbes and further development of nano-ZnO-based biofertilizer formulation.

The study began with the green synthesis of ZnO NPs at different pH (8 to 13) utilizing an aqueous extract of BGS (aq. BGS). In FTIR analysis, major peak assignments indicate the presence of phenols and other bioactive compounds bearing functional groups like alcohols, carboxylic acids, aromatics, etc., in an aq. BGS. The quantitative analysis of BGS extract revealed significant levels of phenols and flavonoids. The GC-MS chromatogram of BGS extract indicated 57 peaks, and the identified compounds belong to fatty acids, esters, alcohols, aldehydes, terpenoids, ketones, and sterols. Overall, the FTIR and GC-MS results corroborated the existence of bioactive compounds in BGS extract that could act as a source of capping and stabilizing agents in ZnO NP synthesis. Further, the FTIR investigations

indicated the presence of organic molecules on the surface of the B-ZnO NPs and suggested the capping potential of bioactive compounds present in aqueous BGS extract.

UV-Vis spectra displayed λ_{max} at 360-380 nm, possibly due to the strong SPR effect of B-ZnO NPs. XRD crystallite size of B-ZnO NPs showed a decreasing trend with an increase in the reaction medium's pH (up to 11). The PDI for B-ZnO NP-11 was lower than B-ZnO NP-8, indicating less agglomeration of NPs at higher pH. ZnO NPs obtained at greater pH displayed higher band gap values than those obtained at lower pH, which could be due to the decrease in NPs size with increased pH. The peak positions in XRD diffractograms for synthesized ZnO NPs were in close agreement with the JCPDS standard (JCPDS file no. 01-079-0206). The strong and sharp peaks were attributed to the high degree of crystallinity, and recorded "Bragg reflections" further confirmed the hexagonal wurtzite symmetry of ZnO NPs. FE-SEM analysis showed mixed morphologies of ZnO NPs, predominantly spheroid, oval, and hexagonal. TEM studies also favored higher pH for synthesizing small-sized ZnO NPs. At pH=8 and 11, B-ZnO NPs were comparatively smaller than C-ZnO NPs. These observations supported the potential role of aq. BGS in synthesizing stabilized ZnO NPs. Surface roughness was studied through AFM, and the average height distribution followed the trend B-ZnO NP-8 > CMC-ZnO NP-11 > C-ZnO NP-11 > B-ZnO NP-11. EDX mapping exhibited strong signals for elemental Zinc and Oxygen with wt% of Zn varied from ~73 to 80% in synthesized ZnO NPs. B-ZnO NPs synthesized at pH=11 were screened for further experimental studies based on synthesis conditions, structural attributes, and recovery.

Furthermore, the study implicates tripartite interaction between synthesized ZnO NPs, beneficial microbes, and plants to develop nano-ZnO-based biofertilizer formulation. Firstly, the BGS and Neem DOC combination (60:40, w/w) was optimized for cultivation and mass multiplication of *T. harzianum* (MTCC 801) (TH), *A. vinelandii* (MTCC 124) (AV), and *P. fluorescens* (MTCC 9768) (PF). The combination (v/v) of BGS (60%) and Neem DOC (40%) aqueous extracts promoted seedling growth in *R. sativus*. Next, interaction studies of B-ZnO NP-11 with TH, AV, and PF were performed, and no inhibitory activity was recorded against any tested microbial culture up to 50 ppm concentrations. The results were comparable with other tested ZnO NPs (B-ZnO NP-8, C-ZnO NP-8, and C-ZnONP-11) up to 50 ppm treatments. The bacterial kinetics studies demonstrated the growth-promoting effects of B-ZnO NPs at lower concentrations.

The bipartite interaction of ZnO NPs and *R. sativus* seeds showed increased seedling growth at lower doses. The B-ZnO NPs up to 50 ppm treatment significantly improved germination indices. Overall, observing seedling length, phytobiomass content, and vigour indices, the growth-promoting effects of B-ZnO NP-11 were more pronounced than those of B-ZnO NP-8. The RL/PL and tolerance index (TI) indicated inhibitory effects of nano/bulk ZnO on seedling growth at higher doses, more evident at 500-1000 ppm. TI greater than one was obtained for germination indices at 50 ppm ZnO NPs and 200 ppm bulk ZnO treatments. The results suggested that the *R. sativus* seedling significantly tolerates higher doses of bulk-ZnO than nano-ZnO. However, the growth-promoting effects on *R. sativus* seedlings (SL, FWB, VI-1, and VI-2) were observed at lower doses (up to 50 ppm) and comparatively higher in the case of nano-ZnO (more prominent in B-ZnO NP-11) than its bulk form. Seed germination studies are imperative to establish the effective concentration of ZnO NPs that can vary with the plant type, NPs' treatment mode, and their structural properties (like size, morphology, etc.). Such investigations could further limit the NP's exposure and reduce the nanotoxicity risks.

Finally, the microbial cultures cultivated on an optimized combination of BGS and Neem DOCs (organic/bio-fertilizer mix, abbreviated as OBM) and different doses of ZnO NPs were combined to develop the nano-biofertilizer formulations and tested on wheat and spinach. The pot and micro-plot studies on wheat showed the highest biomass production, grain yield, and Zn contents in grains and straw in the case of T_3 formulation (B-ZnO NP-11 @50 mg/kg of soil + OBM). The mass balance studies on pre- and post-harvest soil showed higher Zn uptakes in nanoform. An analysis of the T_3 wheat harvest further confirmed the higher bioavailability of nano-Zn. Comparing the T_3 harvest with the positive control (T_7) demonstrated synergistic effects of B-ZnO NPs and microbial consortia on wheat growth. The pot experiments on spinach showed growth-prompting effects of B-ZnO NPs at lower doses (10-25 mg/kg of soil). The treatment formulation comprised of B-ZnO NP-11 (25 mg/kg of soil) exhibited significant improvement in the FWB of spinach, and higher MSI values indicated the potential role of B-ZnO NPs in drought resistance. However, further studies are required to get mechanistic insights into the role of ZnO NPs in alleviating abiotic stress. Overall, the present study's findings exhibited encouraging results, and the tripartite interaction of beneficial microbes/B-ZnO NPs/plants has been effectively materialized into nano-ZnO-based biofertilizer formulations to ameliorate soil health and plant productivity via sustainable routes.

सार

जिंक सभी जीवन रूपों के लिए एक आवश्यक तत्व है। वर्तमान परिदृश्य में, संपूर्ण विश्व जिंक की कमी के उच्च जोखिम से गुजर रहा है, जिसके लिए मृदा में आरम्भिक जिंक भंडार में गिरावट प्रमुख कारणों में से एक है। इसके अलावा, जैसा की अध्ययनों में उल्लेख किया गया है कि मृदा में प्रमुख जिंक अंश अनुपलब्ध रूपों में मौजूद है जिसके परिणामस्वरूप पौधों में जिंक का स्तर कम हो सकता है। मृदा-जिंक स्तर में कमी से पौधों की वृद्धि, सूक्ष्मजीव समुदाय संरचना और मृदा की उर्वरता पर हानिकारक प्रभाव पड़ता है। इसलिए, इस समस्या को "मिट्टी-पौधे-पशु-मानव सातत्य" के संदर्भ में समझना जरूरी है, क्योंकि अन्य आवश्यक पोषक तत्वों की तरह, जिंक की अधिकांश आवश्यकता आहार संबंधी भोजन के सेवन से होती है। जिंक-कमी वाली खाद्य फसलों के सेवन से भी मनुष्यों में जिंक की कमी हो सकती है, क्योंकि अधिकांश आबादी अन्य पोषक तत्वों की तरह जिंक आवश्यकताओं को पूरा करने के लिए मुख्य फसलों पर निर्भर करती है। खाद्य फसलों में जिंक का बायोफोर्टिफिकेशन आहार जिंक सेवन बढ़ाने के अधिमानित तरीकों में से एक है, जिसके लिए कृषि मृदा में जिंक का इष्टतम स्तर वांछित है। मनुष्यों के लिए जिंक की मांग और खाद्य श्रृंखला के माध्यम से इसकी आपूर्ति के बीच का अंतर इतना बड़ा है कि कृषि उद्योग में नवीन समाधानों के साथ क्रांति लाने की आवश्यकता है।

वर्तमान शोध का उद्देश्य जिंक ऑक्साइड-बायोफोर्टिफिकेशन के लिए हरित रसायन मार्ग के माध्यम से नैनो-जिंक ऑक्साइड-आधारित जैवउर्वरक फॉर्मूलेशन विकसित करना और फसल पौधों में समग्र वृद्धि और विकास करना है। जिंक ऑक्साइड नैनोकणों का हरित संश्लेषण पर्यावरण-अनुकूल दृष्टिकोण प्रदान कर सकता है क्योंकि यह विषाक्त विलायकों का उपयोग कम करता है। हाल के वर्षों में धातु-आधारित नैनोकणों (जैसे जिंक ऑक्साइड) को संश्लेषित करने के लिए कृषि अवशेष, औद्योगिक अपशिष्ट, खरपतवार बायोमास, इत्यादि जैसे कम लागत वाले बायोटेम्प्लेट की खोज में महत्वपूर्ण शोध देखा गया है। वर्तमान कार्य में जिंक ऑक्साइड नैनोकणों के संश्लेषण (बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकण) में बायोगैस स्लरी (बीजीएस)शामिल है, साथ ही लाभकारीका सूक्ष्मजीवो के बड़े पैमाने पर बहुलीकरण के लिए कम लागत वाले अधःस्तर के रूप में और नैनो-जिंक ऑक्साइड-आधारित जैवउर्वरक फॉर्मूलेशन के निर्माण मैं इसका उपयोग शामिल है।

अध्ययन बीजीएस के जलीय अर्क (जलीय बीजीएस) का उपयोग करके विभिन्न पीएच (आठ से तेरह) पर जिंक ऑक्साइड नैनोकणों के हरित संश्लेषण के साथ प्रारंभ किया गया। जलीय बीजीएस के फूरियर रूपांतरण अवरक्त स्पेक्ट्रोस्कोपी (एफटीआईआर) विश्लेषण में प्रमुख शिखर असाइनमेंट फिनोल तथा अल्कोहॉल, कार्बोक्जिलिक एसिड, एरोमैटिक्स इत्यादि जैसे कार्यात्मक समूहों वाले बायोएक्टिव यौगिकों की उपस्थिति का संकेत प्राप्त हुआ। बीजीएस अर्क के मात्रात्मक विश्लेषण से फिनोल तथा फ्लेवोनोइड के महत्वपूर्ण स्तर का पता चला। बीजीएस अर्क के गैस क्रोमैटोग्राफी-मास स्पेक्ट्रोमेट्री (जीसी-एमएस) क्रोमैटोग्राम ने सत्तावन चोटियों का संकेत दिया, और पहचाने गए यौगिक फैटी एसिड, एस्टर, अल्कोहल, एल्डिहाइड, टेरपेनोइड्स , केटोन्स और स्टेरोल्स से संबंधित थे। कुल मिलाकर, एफटीआईआर तथा जीसी-एमएस परिणामों ने बीजीएस अर्क में जैवसक्रिय यौगिकों के अस्तित्व की पुष्टि की जो जिंक ऑक्साइड नैनोकण संश्लेषण में कैपिंग और स्थिरीकरण के स्रोत के रूप में मुख्य भूमिका निभा सकते हैं। इसके अलावा, एफटीआईआर जांच ने बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकणों की सतह पर कार्बनिक अणुओं की उपस्थिति तथा जलीय बीजीएस अर्क में मौजूद बायोएक्टिव यौगिकों की कैपिंग क्षमता का संकेत दिया।

पराबैंगनी-दृश्यमान स्पेक्ट्रा ने लैम्ब्डा मैक्स को तीन सौ साठ से तीन सौ अस्सी नैनोमीटर पर प्रदर्शित किया, संभवतः बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकणों के मजबूत सतह प्लास्मोनिक अनुनाद प्रभाव के कारण। बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकणों के एक्सआरडी क्रिस्टलीय आकार में पीएच वृद्धि (ग्यारह तक) के साथ गिरावट देखी गई। बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकण-ग्यारह के लिए बहुविक्षेपण सूचकांक बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकण-आठ से कम था, जो उच्च पीएच पर नैनोकणों के कम संचय का संकेत देता है। अधिक पीएच पर प्राप्त जिंक ऑक्साइड नैनोकणों ने कम पीएच पर प्राप्त जिंक ऑक्साइड नैनोकणों की तुलना में उच्च बैंड गैप मान प्रदर्शित किया, जो कि बढ़े हुए पीएच के साथ नैनोकणों के आकार में कमी के कारण हो सकता है। संश्लेषित जिंक ऑक्साइड नैनोकणों के लिए एक्सआरडी डिफ्रेक्टोग्राम में शीर्ष स्थिति जेसीपीडीएस मानक (जेसीपीडीएस फ़ाइल संख्या 01-079-0206) के अनुरूप थी। मजबूत तथा स्पष्ट श्रृंग क्रिस्टलीयता को दर्शाता है, और रिकॉर्ड किए गए "ब्रैग प्रतिबिंब " ने जिंक ऑक्साइड नैनोकणों की षटकोणि वर्टज़ाइट समरूपता की पुष्टि की। क्षेत्र उत्सर्जन स्कैनिंग इलेक्ट्रॉन माइक्रोस्कोपी विश्लेषण ने जिंक ऑक्साइड नैनोकणों की मिश्रित आकृति को दर्शाया, मुख्य रूप से गोलाकार, अंडाकार तथा हेक्सागोनल। संचरण इलेक्ट्रॉन माइक्रोस्कोप अध्ययनों ने भी छोटे आकार के जिंक ऑक्साइड नैनोकणों

को संश्लेषित करने के लिए उच्च पीएच का समर्थन किया। पीएच आठ और ग्यारह पर, बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकण तुलनात्मक रूप से सी-जिंक ऑक्साइड नैनोकणों से छोटे प्राप्त हुए। इन प्रेक्षणों ने स्थिर जिंक ऑक्साइड नैनोकणोंक संश्लेषित करने में जलीय बी.जी.एस की संभावित भूमिका का समर्थन किया। परमाण्विक बल माइक्रोस्कोपी के माध्यम से सतह के खुरदरेपन का अध्ययन किया गया, तथा औसत ऊंचाई वितरण ने बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकण-आठ > जिंक ऑक्साइड नैनोकण-ग्यारह > सी-जिंक ऑक्साइड नैनोकण-ग्यारह > बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकण-ग्यारह रुझान को दर्शाया। ईडीएक्स मानचित्रण ने तात्त्विक जिंक और ऑक्सीजन के लिए मजबूत संकेत प्रदर्शित किए, जिसमें संश्लेषित जिंक ऑक्साइड नैनोकणों में जिंक का वजन प्रतिशत लगभग तिहत्तर से अस्सी तक था। पीएच ग्यारह पर संश्लेषित बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकणों को संश्लेषण स्थितियों, संरचनात्मक विशेषताओं और पुनर्प्राप्ति के आधार पर अग्रिम प्रायोगिक अध्ययन के लिए चयनित किया गया।

इसके अलावा, अध्ययन नैनो-जेडएनओ-आधारित जैवउर्वरक फॉर्मूलेशन विकसित करने के लिए संश्लेषित जिंक ऑक्साइड नैनोकण, लाभकारी सूक्ष्म जीवों और पौधों के बीच त्रिपक्षीय अंतःक्रिया को दर्शाता है। सर्व प्रथम, बीजीएस और नीम तेल रहित केक (नीम डीओसी) संयोजन (साठ अनुपात चालीस, वजन/वजन) को *टी. हाज़ियानम* (एमटीसीसी 801) (टी.एच), *ए. विनलैंडी* (एमटीसीसी 124) (एवी), तथा *पी फ्लोरेसेंस* (एमटीसीसी 9768) (पी.एफ)को बड़े पैमाने पर गुणन के लिए अनुकूलित किया गया था। बीजीएस (साठ प्रतिशत) तथा नीम डीओसी (चालीस प्रतिशत) जलीय अर्क के संयोजन (मात्रा/मात्रा) ने *रफ़ानस सैटिवस* में अंकुर वृद्धि को बढ़ावा दिया। इसके पश्चात, टी.एच, ए.वी और पी.एफ के साथ बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकण-ग्यारह के पारस्परिक प्रभाव का अध्ययन किया गया, तथा पचास भाग प्रति दस लाख (पीपीएम) सांद्रता तक किसी भी परीक्षण किए गए सूक्ष्मजीव संवर्धन के विरुद्ध कोई निरोधात्मक गतिविधि दर्ज नहीं की गई। परिणाम पचास पीपीएम उपचार तक अन्य परीक्षण किए गए जिंक ऑक्साइड नैनोकणों (बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकण-आठ, सी-जिंक ऑक्साइड नैनोकण-आठ, तथा सी-जिंक ऑक्साइड नैनोकण-ग्यारह) के साथ तुलनीय थे। ग्रोथ कैनेटीक्स अध्ययनों ने भी कम सांद्रता में बैक्टीरिया के विकास पर बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकणों के सकारात्मक प्रभावों का प्रदर्शन किया।

जिंक ऑक्साइड नैनोकण तथा *रफ़ानस सैटिवस* बीजों की द्विपक्षीय अंतःक्रिया ने कम खुराक पर अंकुर में वृद्धि देखी। पचास पीपीएम उपचार तक बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकणों ने अंकुरण सूचकांक में काफी

सुधार किया। कुल मिलाकर, अंकुर की लंबाई, फाइटोबायोमास सामग्री तथा शक्ति (विगोर) सूचकांकों के विकास को बढ़ावा देने वाले प्रभावों को देखते हुए, बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकण-ग्यारह, बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकण-आठ की तुलना में अधिक कारगर थे। आर.एल/पी.एल और सहनशीलता सूचकांक (टी.आई) ने उच्च खुराक पर अंकुर वृद्धि में नैनो/बल्क जिंक ऑक्साइड के निरोधात्मक प्रभाव का संकेत दिया, जो पांच सौ से एक हजार पीपीएम पर स्पष्ट था। पचास पीपीएम जिंक ऑक्साइड नैनोकण और दो सौ पीपीएम थोक जिंक ऑक्साइड उपचार पर अंकुरण सूचकांक के लिए एक से अधिक टी.आई प्राप्त किया गया था। परिणामों ने इंगित किया कि *रफ़ानस सैटिवस* अंकुर नैनो-जिंक ऑक्साइड की तुलना में बल्क-जिंक ऑक्साइड की उच्च खुराक को सहन कर सकते हैं। हालाँकि, *रफ़ानस सैटिवस* अंकुरों (एस.एल, एफ.डब्ल्यू.बी, वी.आई-एक, तथा वी.आई-दो) पर विकास को बढ़ावा देने वाले प्रभाव कम खुराक (पचास पीपीएम तक) पर देखे गए और नैनो-जिंक ऑक्साइड (बी-जेडएनओ एनपी-ग्यारह में अधिक प्रमुख) के संदर्भ में इसके प्रभाव तुलनात्मक रूप से थोक जिंक ऑक्साइड से अधिक थे। बीज अंकुरण अध्ययन जिंक ऑक्साइड नैनोकणों की प्रभावी सांद्रता स्थापित करने के लिए आवश्यक है, जो पौधे के प्रकार, नैनोकणों के उपचार साधन तथा उनके संरचनात्मक गुणों (जैसे आकार, आकृति, आदि) के साथ भिन्न हो सकते हैं। इस तरह की जांच नैनोकणों और नैनोटॉक्सिसिटी के जोखिमों को सीमित करने में लाभकारी हो सकती है।

अंत में, बीजीएस और नीम डी.ओ.सी (जैविक/जैव-उर्वरक मिश्रण, संक्षेप में ओ.बी.एम) के अनुकूलित संयोजन पर सूक्ष्मजीवो को संवृद्धि किया गया और जिंक ऑक्साइड नैनोकणों की विभिन्न खुराकों को इसमे मिलकार विकसित नैनो-जैवउर्वरक फॉर्मूलेशनो का गेहूं और पालक पर परीक्षण किया गया। गेहूं पर पॉट और माइक्रो-प्लॉट अध्ययन में टी-तीन फॉर्मूलेशन (बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकण-ग्यारह की दर पचास मिलीग्राम/किग्रा मृदा प्लस ओ.बी.एम) में सबसे अधिक बायोमास उत्पादन, अनाज की उपज और भूसे में जिंक की मात्रा प्राप्त हुई। कटाई से पहले और बाद की मृदा पर द्रव्यमान संतुलन अध्ययनों से पता चलता है कि नैनो रूप में पौधों द्वारा जिंक ग्रहण की मात्रा अधिक है। टी-तीन गेहूं की फसल के विश्लेषण ने नैनो-जिंक ऑक्साइड की उच्च जैवउपलब्धता की पुष्टि की। सकारात्मक नियंत्रण (टी-सात) के साथ टी-तीन फसल की तुलना करने पर गेहूं की वृद्धि पर बी-नैनो-जिंक ऑक्साइड और सूक्ष्मजीव संघ के सहक्रियात्मक प्रभाव का प्रदर्शन हुआ। पालक पर पॉट प्रयोगों में बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकणों की कम

खुराक (दस से पच्चीस मिलीग्राम/किग्रा मिट्टी) पर विकास-प्रेरित प्रभाव दिखायी दिये। बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकण-ग्यारह (पच्चीस मिलीग्राम/किग्रा मृदा) से युक्त उपचार फॉर्मूलेशन ने पालक के ताजा वजन बायोमास में महत्वपूर्ण सुधार दिखाया, और उच्च झिल्ली स्थिरता सूचकांक मूल्यों ने सूखा प्रतिरोध में बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकणों की संभावित भूमिका का संकेत दिया। हालाँकि, अजैविक तनाव को कम करने में जिंक ऑक्साइड नैनोकणों की भूमिका में यंत्रवत अंतर्दृष्टि प्राप्त करने के लिए आगे के अध्ययन की आवश्यकता है। कुल मिलाकर, वर्तमान अध्ययन के निष्कर्षों ने उत्साहजनक परिणाम प्रदर्शित किए हैं, और लाभकारी सूक्ष्मजीवो, बी-जिंक ऑक्साइड नैनोकणों, एवं पौधों की त्रिपक्षीय अंतःक्रिया को नैनो-जिंक ऑक्साइड-आधारित जैवउर्वरक फॉर्मूलेशन के रूप में मृदा स्वास्थ्य और फसलों की उत्पादकता में सुधार लाने के लिए भविष्य में सतत एवं प्रभावी विकल्प साबित हो सकता है।

TABLE OF CONTENTS

Certificate		i
Acknowledgements		ii
Abstract		iv
सार		vii
Table of Contents		xii
List of Figures		xvi
List of Tables		xxi
List of Abbreviations		xxiii
Chapter-1	**Introduction**	1-9
1.1	Background of the study	1
1.2	Scope of the study	3
1.2.1	Importance of Zinc in the living system: Need for Biofortification	3 4
1.2.2	Green synthesis of ZnO nanoparticles	6
1.2.3	Valorization of Biogas Slurry	8
1.3	Outline of the thesis	
Chapter-2	**Review of Literature**	10-55
2.1	Zinc: Importance and consequences of a deficiency in the living system	10
2.2	Zinc uptake and translocation in plants	14
2.3	Available strategies for Zn-biofortification	16
2.4	Nanotechnology in agriculture	19
2.4.1	Metal-based Nanoparticles in agriculture	19
2.4.2	Synthesis of ZnO Nanoparticles	22
2.4.3	Green synthesis of ZnO Nanoparticles	24

2.4.4	Agricultural applications of ZnO Nanoparticles	32
2.4.5	Limitations of Nano-Agri inputs in agriculture	35
2.5	Integrated approaches for developing nanoformulations	38
2.5.1	Agriculturally important microbes	38
2.5.2	Deoiled Cakes	43
2.5.3	Biogas Slurry	47
2.5.4	Nanobiofertilizer formulations	53
2.6	Research gaps and Objectives	54
Chapter-3	**Material and Methods**	56-76
3.1	Chemicals and Glasswares	56
3.2	Research Design	56
3.3	Procurement of BGS and Neem DOC	58
3.4	Synthesis of ZnO NPs	59
3.5	Characterization of ZnO NPs	61
3.5.1	Spectroscopy	61
3.5.2	X-ray Diffraction (XRD) crystallography	63
3.5.3	Microscopic analysis	64
3.5.4	Zeta potential	64
3.5.5	Thermo gravimetric analysis	64
3.6	Development of ZnO NPs-based biofertilizer formulation	66
3.6.1	Selection and procurement of microorganism	66
3.6.2	Maintenance of Microbial cultures	66
3.6.3	Compatibility studies among selected microbial cultures	67
3.6.4	Mass multiplication of microbial cultures	67
3.6.5	Interaction of ZnO NPs with microbial cultures	67
3.6.6	Seed germination assay	68

3.7	Root ion leakage	69
3.8	Pot and micro-plot studies	69
3.9	Physicochemical, elemental, and biochemical analysis	71
3.9.1	Physicochemical analysis	71
3.9.2	Elemental analysis	72
3.9.3	Biochemical analysis	72
3.9.4	Non-enzymatic and enzymatic antioxidant capacity	75
3.10	Statistical Analysis	76
Chapter-4	**Results and Discussion**	77-172
4.1	Physicochemical and Biochemical characteristics of BGS	77
4.2	Green synthesis of ZnO nanoparticles	81
4.3	Characteristics of ZnO nanoparticles	83
4.3.1	UV-Vis Spectroscopy	83
4.3.2	XRD	87
4.3.3	FTIR	101
4.3.4	FESEM-EDX, TEM, and AFM	107
4.3.5	Zeta potential and Polydispersity Index	116
4.3.6	Thermogravimetric analysis / Differential thermal analysis	119
4.4	Cultivation of microbial cultures on organic substrates	121
4.5	Interaction of ZnO NPs with microbial cultures	123
4.5.1	Growth Kinetics study	127
4.5.2	Plausible routes of ZnO NPs and microbial interaction	128
4.6	Seed germination studies	130
4.6.1	Phytotoxicity evaluation of organic extracts	130
4.6.1.1	Effect on seedling length	130
4.6.1.2	Effect on biomass content and vigour indices	132

4.6.1.3	TI, RL/PL ratio, and RIL analysis	134
4.6.2	Bipartite interaction of ZnO nanoparticles and *R. sativus* seeds	136
4.6.2.1	Effect on seedling length	136
4.6.2.2	Effect on biomass content and vigour indices	142
4.6.2.3	TI, RL/PL ratio, and RIL analysis	148
4.6.3	Biopriming studies	155
4.7	Pot and micro-plot studies	160
4.7.1	Pot studies on Wheat	160
4.7.1.1	Effect on growth and development	161
4.7.1.2	Phytopigment analysis	164
4.7.1.3	Non-enzymatic and enzymatic antioxidants	165
4.7.1.4	Pot Vs Micro-plot studies: Yield trait analysis and mass balance studies	167
4.7.2	Pot studies on Spinach	171
Chapter-5	**Conclusions and Future Directives**	173-177
5.1	Conclusions	173
5.2	Future Directives	176
References		178
Biodata		224

LIST OF FIGURES

Fig. No.	Title	Page No.
1.1	Strategies to mitigate Zn deficiency in the soil-plant continuum.	2
1.2	Different approaches to nanoparticle synthesis.	5
1.3	Different applications of Biogas Slurry in agriculture	7
1.4	Challenges associated with utilizing Biogas Slurry for agriculture applications.	8
2.1	Importance of Zn in plants and humans.	11
2.2	Deficiency symptoms of Zn in plants and humans.	12
2.3	Factors causing Zn deficiency in Soil and Plants.	13
2.4	General mechanism of uptake and transport of Zn in plants.	15
2.5	Targeted Zn concentration (dry matter basis) in cereal grains under HarvestPlus program.	16
2.6	Different strategies of Zn-biofortification in plants.	18
2.7	Agricultural applications of metal-based nanoparticles.	20
2.8	Wurtzite hexagonal symmetry of ZnO.	22
2.9	Different methods of synthesis of ZnO NPs.	23
2.10	Emerging issues associated with the frequent applications of nanoparticles.	36
3.1	Schematic view highlighting the methodology and strategies adopted in a Research design.	57 57
3.2	Procurement of Biogas slurry.	58
3.3	Procurement of Deoiled Neem cake.	59
3.4	Schematic view showing steps involved in BGS-inspired ZnO NPs synthesis.	60
3.5	Schematic view showing a mechanism of green synthesis of ZnO NPs using aqueous BGS extract.	62
3.6	Application of different techniques used for characterization of ZnO nanoparticles.	65
3.7	A representation of CRD adopted in Pot and micro-plot studies.	71
4.1	UV-Vis spectrum of aqueous BGS extract.	77

4.2	FTIR spectrum of aqueous BGS extract.	78
4.3	GC-MS chromatogram of BGS extract.	80
4.4	The recovery of ZnO NPs synthesized at different pH.	81
4.5	The utilization of aqueous sodium hydroxide solution consumed during the synthesis of ZnO NPs at different pH.	82
4.6	UV-Vis spectra of (a) B-ZnO NPs, (b) C-ZnO NPs, and (c) CMC-ZnO NPs synthesized at different pH.	84
4.7	UV-Vis spectra showing optical stability of B-ZnO NPs after (a) 30, (b) 180, and (c) 365 days of storage.	86
4.8	XRD patterns of B-ZnO NPs synthesized at (a) pH=8, (b) pH=9, (c) pH=10, (d) pH=11, (e) pH=12, and (f) pH=13.	90
4.9	XRD patterns of C-ZnO NPs synthesized at (a) pH=8, (b) pH=9, (c) pH=10, (d) pH=11, (e) pH=12, and (f) pH=13.	93
4.10	XRD patterns of CMC-ZnO NPs synthesized at (a) pH=11, (b) pH=12, and (c) pH=13.	95
4.11	XRD pattern of standard JCPDS File no. 01-079-0206.	95
4.12	XRD crystallite size of B-ZnO, C-ZnO, and CMC-ZnO NPs synthesized at different pH.	96
4.13	Interplanar spacing values of B-ZnO, C-ZnO, and CMC-ZnO NPs recorded from XRD data.	97
4.14	Lattice constant ratio of B-ZnO, C-ZnO, and CMC-ZnO NPs recorded from XRD data.	98
4.15	Lattice constant ratio of B-ZnO, C-ZnO, and CMC-ZnO NPs recorded from XRD data.	98
4.16	VHUC (in $Å^3$) of B-ZnO, C-ZnO, and CMC-ZnO NPs recorded from XRD data.	99
4.17	Dislocation density ($\delta \times 10^{-4}$ nm^{-2}) of B-ZnO, C-ZnO, and CMC-ZnO NPs recorded from XRD data.	99
4.18	Microstrain ($\varepsilon \times 10^{-3}$) analysis of B-ZnO, C-ZnO, and CMC-ZnO NPs recorded from XRD data.	100
4.19	Stress (σ) analysis of B-ZnO, C-ZnO, and CMC-ZnO NPs recorded from XRD data.	101
4.20	FTIR spectrum of (a) C-ZnO NP-8, and (b) C-ZnO NP=11.	102

4.21	FTIR spectrum of (a) CMC-ZnO NP-11, (b) CMC-ZnO NP=12, and (c) CMC-ZnO NP-13.	104
4.22	FTIR spectrum of (a) B-ZnO NP-8, and (b) B-ZnO NP=11.	106
4.23	FE-SEM micrographs of (a) C-ZnO NP-8, (b) C-ZnO NP-11, (c) B-ZnO NP-8, (d) B-ZnO NP-11, and (e) CMC-ZnO NP-11 recorded at 1,00,000 x magnification.	108
4.24	TEM micrographs of (a) C-ZnO NP-8 (20,000 x mag.), (b) C-ZnO NP-11, (20,000 x mag.) (c) B-ZnO NP-8 (15,000 x mag.), (d) B-ZnO NP-11 (25,000 x mag.), and (e) CMC-ZnO NP-11 (30,000 x mag.).	109
4.25	Micrographs showing selected area electron diffraction (SAED) patterns of (a) B-ZnO NP-8, (b) B-ZnO NP-11, (c) C-ZnO NP-8, (d) C-ZnO NP-11, and (e) CMC-ZnO NP-11.	110
4.26	Comparative analysis of ZnO NPs sizes estimated from XRD, FE-SEM, and TEM.	111
4.27	AFM micrographs (scan area 5 μm x 5 μm) of (a) B-ZnO NP-8, (b) B-ZnO NP-11, (c) C-ZnO NP-11, and (d) CMC-ZnO NP-11.	113
4.28	A graphical representation of RMS-roughness, maximum height, and average height distribution in ZnO NPs.	114
4.29	A graphical representation of RMS-roughness, maximum height, and average height distribution in ZnO NPs.	115
4.30	Zeta potential of (a) B-ZnO NP-11, and (b) B-ZnO NP-8.	118
4.31	(a) TGA, and (b) DTA curve of B-ZnO NP-11.	120
4.32	Different combinations of BGS and Neem DOCs used in microbial cultivation (BGS: Neem DOC).	123
4.33	Effect of ZnO NPs treatment on microbial cultures (a) *P. fluorescens,* (b) *A. vinelandii*, and (c) *T. harzianum*.	125
4.34	Photographs showing the effect of ZnO NPs treatment on (a) and (b) PF, and (c) and (d) AV.	126
4.35	Bacterial growth Kinetics in the presence of ZnO NPs (a) B-ZnO NP-8, (b) B-Zno NP-11, (c) C-ZnO NP-8, and (d) C-ZnO NP-11 (10, 25, 50, and 100 are ZnO NPs conc. in ppm).	128

4.36	Schematic view demonstrating plausible routes of ZnO NPs and microbial interaction	129
4.37	Effect of BGS and Neem DOC treatments on seed germination of *R. sativus*.	131
4.38	Effect of BGS and Neem DOC treatments on biomass content of *R. sativus* seedlings.	132
4.39	Vigour indices of BGS, and Neem DOC treated *R. sativus* seedlings.	133
4.40	Effect of ZnO treatment on seed germination of *R. sativus* (a) B-ZnO NP-8, (b) B-ZnO NP-11, (c) C-ZnO NP-8, (d) C-ZnO NP-11, and (e) ZnO Bulk	141
4.41	Effect of ZnO treatment on biomass content of *R. sativus* seedlings (a) B-ZnO NP-8, (b) B-ZnO NP-11, (c) C-ZnO NP-8, (d) C-ZnO NP-11, and (e) ZnO Bulk	145
4.42	Effect of ZnO biopriming on seed germination of *R. sativus*.	156
4.43	Effect of ZnO biopriming on biomass content of *R. sativus* seedlings.	157
4.44	Effect of developed formulations on different growth parameters in wheat.	162
4.45	Dry weight biomass of harvested wheat crop in different treatments and control.	162
4.46	Pictorial representation of wheat growth during pot experiments (a and b) before maturity and (c) spikes collected after maturity.	163
4.47	Effect of developed formulations on phytopigment content in wheat leaves.	164
4.48	Antioxidant activity of wheat leaves (a) Lipid peroxidation assay, (b) Hydrogen peroxide assay, and (c) Phenol and Flavonoid contents.	167
4.49	Effect of developed formulations on yield-related traits in matured wheat harvested from pot experiments (a) number of grains per spike, and (b) weight of 100 grains (in g).	168

4.50	Effect of developed formulations on yield-related traits in matured wheat harvested from micro-plot experiments (a) number of grains per spike, and (b) weight of 100 grains (in g).	169
4.51	Pot experiments indicating spinach growth at different treatments of developed formulations	172

LIST OF TABLES

Table No.	Title	Page No.
2.1	Phytoinspired synthesis of ZnO NPs.	25
2.2	Green synthesis of ZnO NPs using Algae.	26
2.3	Green synthesis of ZnO NPs using Bacteria.	27
2.4	Green synthesis of ZnO NPs using Fungus.	27
2.5	Green synthesis of ZnO NPs using Yeast.	28
2.6	Green synthesis of ZnO NPs using Actinomycetes.	29
2.7	Green synthesis of ZnO NPs using Plant and Animal wastes.	30
2.8	Current developments in the application of ZnO NPs in agriculture.	33
2.9	Microorganisms reported for nutrient enrichment in soil and uptake in plants.	40
2.10	Nutrient composition of various DOCs.	41
2.11	Agricultural applications of NEDOCs inspired biofertilizer formulations.	44
2.12	Bioactive compounds produced by microbial inoculants multiplied on DOCs.	45
2.13	Microorganisms reported for nutrient enrichment in soil and uptake in plants.	46
2.14	Applications of BGS derived from different biodegradable feedstocks in plant growth and development.	48
2.15	Agricultural applications of enriched biogas slurry.	50
3.1	Agriculturally important microbes procured from MTCC, IMTECH (Chandigarh).	66
4.1	Polydispersity Index (PDI) values reported for green synthesized ZnO NPs.	117
4.2	Different combinations of BGS and Neem DOCs used in microbial cultivation (BGS: Neem DOC).	122
4.3	Effect of BGS, and Neem DOC treatment on tolerance index of *R. sativus*.	135
4.4	Effect of B-ZnO NP-8 treatment on TI of *R. sativus*.	146

4.5	Effect of B-ZnO NP-11 treatment on tolerance index of *R. sativus*.	149
4.6	Effect of C-ZnO NP-8 treatment on tolerance index of *R. sativus*.	150
4.7	Effect of C-ZnO NP-11 treatment on tolerance index of *R. sativus*.	151
4.8	Effect of Bulk ZnO treatment on tolerance index of *R. sativus*.	152
4.9	Vigor indices of ZnO treated *R. sativus* seedlings.	
4.10	Effect of biopriming treatment on tolerance index of *R. sativus.*	159
4.11	Composition of different formulations tested on wheat.	160
4.12	Variation in CSI, MSI, and PPQ in wheat leaves.	165

ABBREVIATIONS

$[Zn(OH)_4]^{2-}$	Tetrahydroxidozincate (II)
%	Percent
RDA	Recommended daily allowance
3D	Three dimensional
Å	Angstrom
AD	Anaerobic digestion
ADG	Anaerobic digester
AFM	Atomic force microscopy
AIM	Agriculturally important microbes
AV	*Azotobacter vinelandii*
BGS	Biogas slurry
B-ZnO NPs	Green synthesized nanoparticles
C	Carbon
C/N	Carbon to Nitrogen ratio
CB	Conduction band
CD	Cow dung
CFs	Chemical fertilizers
CFU	Colony forming unit
CH_3COONa	Sodium acetate
CM	Cattle manure
cm	Centimeter
CMC	Carboxymethyl cellulose
COD	Co-digestion
CRDT	Centre for Rural Development and Technology
CRF	Central Research Facility
CS	Crystallite size
CSPs	Crystal structure parameters
d	Interplanar spacing
D	Crystallite size
DBS	Digested biogas slurry
DOC	Deoiled cake

DOM	Dissolved organic matter
DONC	Deoiled neem cake
DS	Debye-Scherrer
DV	Volume-averaged true crystallite size
DW	Distilled water
DWB	Dry weight biomass
e^-	Electrons
EC	Electrical conductivity
EDS	Energy dispersive X-Ray spectroscopy
E_g	Optical band gap
EU	European Union
eV	Electron volt
FAO	Food and Agriculture Organization
Fig.	Figure
FTIR	Fourier transform infrared spectroscopy
FWB	Fresh weight biomass
FWHM	Full width at half-maximum
FYM	Farmyard manure
g	Gram
GCMS	Gas chromatography mass spectrophometer
GHGs	Greenhouse gases
gL^{-1}	Gram per litre
Gram –ve	Gram-negative
Gram +ve	Gram-positive
GRAS	Generally recognized as safe
h	Hour
h^+	Holes
H_2O	Water
H_2O_2	Hydrogen peroxide
Ha	Hectare
$HO_2^{\cdot}$	Perhydroxyl radicals
HR	High resolution
ICPMS	Inductively coupled plasma mass spectrometry

K-DOC	Karanja deoiled cake
Kg	Kilogram
KJm^{-3}	Kilo joule per meter cube
LFD	Liquid fraction of the digestate
LSS	Livestock slurry
M	Molar
m/z	Mass/charge
MBNPs	Metal-based nanoparticles
MCNs	Micronutrients
meV	Mega electron volt
mg	Milligram
mg/day	Milligram per day
mgL^{-1}	Milligram per litre
Min	Minutes
mL	Milliliter
mM	Millimolar
mm	Millimeter
MMTs	Million metric tons
MONPs	Metal oxide nanoparticles
MPa	Mega Pascal
mS/m	Milli Siemens/ meter
MT	Million ton
MTCC	Microbial type culture collection
mV	Megavolt
NaCl	Sodium chloride
NaOH	Sodium hydroxide
NBM	Nutrient broth media
NEDOCs	Non-edible deoiled cakes
NM	Nanomaterial
NP	Nanoparticle
NPK	Nitrogen-Phosphorus-Potassium
NPT	Nanoparticle treatment
O_2^-	Superoxide anions

^{o}C	Degree centigrade
OD	Optical density
OH^{-}	Hydroxyl ions
$OH^{\cdot}$	Hydroxyl radicals
PDA	Potato dextrose agar
PDI	Polydispersity index
PF	*Pseudomonas fluorescens*
PGP	Plant growth-promoting
PGPR	Plant growth promoting rhizobacteria
PL	Plumule length
ppm	Parts per million
r	Pearson correlation coefficient
RDA	Recommended daily allowance
RL	Radicle length
RMS	Root mean square strain
ROS	Reactive oxygen species
rpm	Rotations per minute
RT	Root ion leakage
s	Seconds
SC	Slurry compost
SD	Standard deviation
SEL	Seedling length
SEM	Scanning electron microscopy
SOC	Soil organic carbon
SPR	Surface plasmonic resonance
SSF	Stress and stacking fault
SV	Seed vigour
TEM	Transmission electron microscopy
Temp.	Temperature
TGA	Thermogravimetric analysis
TH	*Trichoderma harzianum*
TPC	Total phenolic content
UDM	Uniform deformation model

UDS	Uniform deformation stress
US FDA	United States Food and Drug Administration
USDM	Uniform stress deformation model
UV/VIS	Ultraviolet-Visible
v/v	Volume/volume
VB	Valence band
VESTA	Visualization for electronic and structural analysis
VHUC	Volume of the hexagonal unit cell
VI	Vigour index
VS	Volatile solids
W-H	Williamson-Hall
w/v	Weight/volume
WHO	World Health Organizations
XRD	X-ray diffraction
Y_{hkl}	Young modulus of elasticity
Zn	Zinc
$Zn(CH_3COO)_2.2H_2O$	Zinc acetate dihydrate
$Zn(OH)_2$	Zinc hydroxide
Zn^{2+}	Zinc ions
ZnO	Zinc oxide
ZnO_2^{-2}	Sodium zincate
ZOI	Zone of Inhibition
ZP	Zeta potential
ZSRB	Zn-solubilizing rhizobacteria
δ	Dislocation density
ε	Strain
εa	Microstrain
θ	Theta
λ	Wavelength
μg	Microgram
μl	Microlitre
σ	Stress