

Accepted Manuscript / Manuscrito Aceptado

Titlle Paper/Título del artículo:

Evaluación preliminar de los efectos asociados a la exposición de nanopartículas de plata en plantas de *Capsicum annuum*

Preliminary evaluation of the effects associated with exposure to silver nanoparticles in *Capsicum annuum* plants

Authors/Autores: García-Casillas, L.A., Rivera-Hernández, J.A., Lomelí-Rosales, D.A., Zamudio-Ojeda, A., Velázquez-Juárez, G.

ID: e1874

DOI: <https://doi.org/10.15741/revbio.13.e1874>

Received/Fecha de recepción: December 21th 2024

Accepted /Fecha de aceptación: December 17th 2025

Available online/Fecha de publicación: February 09th 2026

Please cite this article as/Como citar este artículo: García-Casillas, L.A., Rivera-Hernández, J.A., Lomelí-Rosales, D.A., Zamudio-Ojeda, A., Velázquez-Juárez, G. (2026). Preliminary evaluation of the effects associated with exposure to silver nanoparticles in *Capsicum annuum* plants. *Revista Bio Ciencias*, 13, e1874. <https://doi.org/10.15741/revbio.13.e1874>

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

Este archivo PDF es un manuscrito no editado que ha sido aceptado para publicación. Esto es parte de un servicio de Revista Bio Ciencias para proveer a los autores de una versión rápida del manuscrito. Sin embargo, el manuscrito ingresará a proceso de edición y corrección de estilo antes de publicar la versión final. Por favor note que la versión actual puede contener errores de forma.

Artículo original

Evaluación preliminar de los efectos asociados a la exposición de nanopartículas de plata en plantas de *Capsicum annuum*.

Preliminary evaluation of the effects associated with exposure to silver nanoparticles in *Capsicum annuum* plants.

Evaluación exposición nanopartículas en *Capsicum*

Evaluation of nanoparticles exposure in *Capsicum*

García Casillas, L.A.¹ (ID), Rivera Hernández, J.A.² (ID), Lomelí Rosales, D.A.¹ (ID), Zamudio Ojeda, A.³ (ID), Velázquez Juárez, G.^{1*} (ID)

Departamento de Química, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Universidad de Guadalajara. Blvd. Gral. Marcelino García Barragán, 1421, Olímpica. 44430, Guadalajara, Jalisco, México.

Departamento de Farmacobiología, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Universidad de Guadalajara. Blvd. Gral. Marcelino García Barragán, 1421, Olímpica. 44430, Guadalajara, Jalisco, México.

Departamento de Física, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Universidad de Guadalajara. Blvd. Gral. Marcelino García Barragán, 1421, Olímpica. 44430, Guadalajara, Jalisco, México

***Corresponding Author:**

Gilberto Velázquez-Juárez. Departamento de Química, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Universidad de Guadalajara. Blvd. Gral. Marcelino García Barragán, 1421, Olímpica. 44430, Guadalajara, Jalisco, México. Teléfono (000) 000 0000. E-mail: gilberto.velazquez@academicos.udg.mx

RESUMEN

El presente estudio evalúa los efectos de las nanopartículas de plata sobre *Capsicum annuum*, una planta de gran importancia económica y cultural en México. El objetivo fue determinar el impacto de estas nanopartículas en el estrés oxidativo, en la producción de metabolitos y en las capacidades antioxidantes de las plantas. Se aplicaron tres concentraciones de nanopartículas (10, 50 y 100 ppm) a cultivos de chile durante dos periodos de recolección (1 y 2 meses), y se analizaron tejidos mediante espectroscopía de fluorescencia de rayos X y ensayos bioquímicos (FRAP, DPPH, ABTS, polifenoles, flavonoides y taninos). Los resultados mostraron que las nanopartículas influyen en la absorción de elementos esenciales, como el calcio y el magnesio, e inducen cambios en la producción de metabolitos primarios y secundarios. En etapas tempranas, se observaron reducciones significativas de los polifenoles, mientras que los flavonoides y los taninos aumentaron con el tiempo. La actividad antioxidante y de enzimas peroxidasa presentó variaciones asociadas a las concentraciones de nanopartículas, indicando un periodo de adaptación metabólica. Estos hallazgos destacan la necesidad de estudios extensivos sobre las respuestas adaptativas de las plantas a largo plazo.

PALABRAS CLAVE:

Efecto, antioxidante, metabolitos, bioacumulación.

ABSTRACT

This study evaluates the effects of silver nanoparticles on *Capsicum annuum*, a plant of significant economic and cultural importance in Mexico. The objective was to assess the impact of these nanoparticles on oxidative stress, metabolite production, and antioxidant capacities in plants. Three nanoparticle concentrations were applied to chili crops during two harvest periods, and tissues were analyzed by spectroscopy and biochemical assays (FRAP, DPPH, ABTS, polyphenols, flavonoids and tannins). Results revealed that nanoparticles influence the absorption of essential elements, such as calcium and magnesium, and alter the production of primary and secondary metabolites. Significant reductions in polyphenols were observed in the early stages, while flavonoids and tannins increased over time. Antioxidant activity and peroxidase enzyme performance showed concentration-dependent variations, suggesting a metabolic adaptation period. These findings underscore the need for extensive studies on plants' long-term adaptive responses to nanoparticle exposure.

KEY WORDS:

Effect, antioxidant, metabolites, bioaccumulation.

Introducción

El chile (*Capsicum spp.*) se encuentra entre las principales hortalizas cultivadas a nivel internacional, con una producción anual estimada en 36.3 millones de toneladas ([“FAO Statistical Programme of Work 2020–2021,” 2020](#)). México, ocupa el cuarto lugar en cuanto a volumen de producción, alcanzando 2.6 millones de toneladas ([Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2022](#)). Además, este país es reconocido como el centro de origen de la especie *Capsicum annuum* (*C. annuum*), comúnmente identificada como chile ([Kraft et al., 2014](#)) y que posee un profundo arraigo cultural en la gastronomía y tradición mexicanas. Entre las especies de mayor trascendencia económica para México destaca precisamente *C. annuum*, debido a la diversidad de sus variedades y su amplio aprovechamiento. A nivel mundial, la nanotecnología ha permitido el desarrollo de diversos materiales innovadores, entre los que destacan las nanopartículas (partículas cuyas dimensiones en cualquiera de los tres ejes son menores de 100 nm). Estos materiales son ampliamente utilizados debido a sus propiedades únicas, no presentes en sus contrapartes macroscópicas ([Harish et al., 2022](#)). En especial, las nanopartículas de plata (AgNPs), se encuentran entre los nanomateriales más producidos y estudiados; poseen diversas áreas de aplicación mayormente como agentes antimicrobianos empleados en bioingeniería y medicina ([Duman et al., 2024](#)). Las AgNPs, también tienen uso como agentes de control de plagas en la agricultura ([Martínez-Cisterna et al., 2024](#)) e incluso como materiales promotores del crecimiento y de la germinación en plantas ([Khan et al., 2023](#)). La creciente producción y aumento de productos que contienen AgNPs han generado preocupación por su destino final en el medio ambiente, planteando inquietudes por los posibles efectos secundarios sobre la salud humana y los ecosistemas agrícolas ([Chen et al., 2023](#); [Ferdous & Nemmar, 2020](#); [Li & Cummins, 2022](#)). Tras el desecho de productos que contienen nanopartículas, como cosméticos, textiles antimicrobianos, dispositivos médicos y productos de cuidado personal, las AgNPs suelen terminar en sistemas de tratamiento de aguas residuales, estos sistemas están diseñados para remover sólidos y contaminantes químicos, sin embargo, las nanopartículas, debido a su reducido tamaño y propiedades químicas pueden eludir estos procesos ([Gottschalk et al., 2009](#)). A pesar de su creciente uso, aún no se ha evaluado a fondo el riesgo potencial de las AgNPs para el sector agrícola. Se desconocen detalles sobre su fitotoxicidad, posibles alteraciones en la germinación y el crecimiento de las plantas, así como sus efectos en el metabolismo primario y secundario, que podrían modificar la producción de compuestos y afectar el

rendimiento de los cultivos y la productividad ecológica. Estudios han indicado que concentraciones elevadas de AgNPs (superiores a 50 ppm) inhiben el crecimiento vegetal, alteran actividades fisiológicas, y aumentan la producción de especies reactivas de oxígeno (Jiang *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2020). Asimismo, se ha observado que las AgNPs, pueden dañar la integridad de la pared celular, lo que conduce a la inactivación de enzimas importantes mediante interacciones no controladas con los grupos tiol de las proteínas. Sin embargo, la información detallada es limitada, ya que la mayoría de los estudios evalúan una única etapa de crecimiento o concentración de AgNPs, y son escasos los trabajos que analizan simultáneamente diversas actividades antioxidantes y cambios en metabolitos primarios y secundarios. Este trabajo tiene como objetivo esclarecer, mediante un estudio preliminar, el impacto de la adición de AgNPs, en diversas concentraciones, en cultivos de chile (*C. annuum*) en dos etapas de crecimiento. Para ello, se determinaron las variaciones en la capacidad antioxidante, la producción de metabolitos primarios, las alteraciones en los metabolitos secundarios y la respuesta enzimática al estrés oxidativo.

Material y Métodos

Germinación y Cultivo

En esta investigación se emplearon semillas de *Capsicum annuum*, variedad *Criollo de Morelos 334*, proporcionadas por el área de fitopatología del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, ubicado en Texcoco, Estado de México. Las semillas fueron germinadas en charolas de poliestireno de 128 cavidades, empleando musgo de turba como sustrato.

Con fines de investigación, se incorporaron nanopartículas de plata (AgNPs) en tres concentraciones diferentes (10, 50 y 100 mg/kg) a un suelo agrícola de características franco-arenosas, utilizando una suspensión de 218.18 ppm. El sustrato homogeneizado se distribuyó en bolsas de cultivo de polietileno con una capacidad de 4.3 L.

Tras 38 días de germinación, las plántulas se trasplantaron a las bolsas asignadas a los distintos tratamientos. Cada tratamiento incluyó 12 réplicas biológicas, divididas en dos grupos de 6 para los distintos tiempos de recolección.

Transcurridos 34 días posteriores al trasplante, se colectaron las hojas de 6 plantas correspondientes a cada uno de los tratamientos, se congelaron en el momento y se sometieron a un proceso de liofilización a 0.052 mBar y -52 °C durante 24 h. Los tejidos secos fueron pulverizados y homogeneizados con un mortero de porcelana, y luego almacenados en ausencia de luz y de humedad.

La segunda colecta se realizó 65 días después de la trasplantación, bajo las mismas condiciones descritas anteriormente.

Determinación de Ag en los tejidos por Espectroscopía de Absorción Atómica.

Mediante análisis de espectroscopía de absorción atómica (AAS) se detectó plata en 3 cantidades de muestra distintas (100 mg, 200 mg y 500 mg) de la población tratada con 50 ppm de AgNPs de la segunda colecta. Para ello, el tejido seco se digirió con 3 mL de ácido nítrico al 65 % y se calentó a 300 °C durante 1 hora. El residuo obtenido se filtró y se aforó con agua destilada hasta 10 mL. Se realizaron lecturas por quintuplicado.

Se empleó una curva de calibración en un rango de concentraciones de 0 a 2 ppm de Ag preparada a partir de una solución estándar de 100 ppm de Ag, y los resultados se expresaron como mg de Ag/kg de peso seco.

Determinación de elementos en los tejidos por Fluorescencia de rayos X.

Se realizó el análisis de fluorescencia de rayos X (XRF) en los tejidos pulverizados utilizando un espectrómetro portátil *TRACER 5i* de *Bruker®*, operado de acuerdo con las especificaciones

recomendadas por el fabricante para materiales de baja densidad. Para el análisis se tomaron 25 mg de cada uno de los tratamientos y se colocaron sobre un portaobjetos. Las mediciones se llevaron a cabo en modo semicuantitativo, empleando una energía de excitación de 40 kV y una corriente de 10 μ A. A partir de las señales obtenidas de los espectros (Br: 1.48; Si: 1.74; S: 2.31; Cl: 2.62; Ag: 2.98; K: 3.31; Ca: 3.69; Fe: 6.41; Co: 6.93; Ni: 7.48; Cu: 8.05; y Zn: 8.64 keV), se determinó la abundancia relativa de los elementos presentes en cada muestra de tejido en comparación con el grupo control. Para ello, se identificaron las señales en los espectros y se calculó el área bajo la curva mediante integración manual con eliminación de la línea base, utilizando el software *OriginPro*[®]. Posteriormente, se calculó la relación entre la intensidad obtenida en cada tratamiento y la del control. Con estos datos, se construyó un mapa de calor en el software *GraphPad Prism*[®], para visualizar y analizar los cambios de manera directa y simplificada.

Determinación de actividades antioxidantes.

Para la cuantificación de polifenoles totales, flavonoides, taninos y la determinación de las actividades antioxidantes se realizó el macerado de 20 ± 0.2 mg del tejido liofilizado de *C. annuum* de cada uno de los tratamientos con 10 mL de metanol al 80 % (v/v) durante 24 horas en ausencia de luz con agitación orbital.

Actividad captadora del radical ABTS. La actividad antioxidante mediante el radical ABTS^{•+} se determinó siguiendo la metodología descrita por [Zielińska et al. \(2017\)](#). Para ello, se preparó una solución stock de ABTS^{•+} mediante la oxidación del ABTS con persulfato de potasio, y luego se ajustó la absorbancia de la solución a 0.72 (DO a 734 nm). El análisis se llevó a cabo en una microplaca de 96 pocillos, colocando 280 μ L de la solución de ABTS^{•+} y 20 μ L de la muestra o del estándar, en triplicado técnico. La absorbancia se midió a 734 nm en modo cinético utilizando un espectrofotómetro de microplacas.

Se empleó una curva de calibración de Trolox como estándar antioxidante en un rango de 0 a 350 μ mol/L. Los resultados se expresaron como equivalentes de Trolox (mmol) por mg de muestra seca y porcentaje de inhibición.

Capacidad antioxidante por DPPH. La actividad antioxidante basada en el radical DPPH[•] se determinó siguiendo la metodología descrita por [Baliyan et al. \(2022\)](#). Como reactivo de trabajo, se preparó una solución metanólica del radical a una concentración del 0.004 % m/v. El análisis se llevó a cabo en una microplaca de 96 pocillos, en la que se añadieron 180 μ L de la solución de trabajo y 20 μ L de la muestra o del estándar, en triplicado técnico. Las muestras se incubaron en oscuridad a temperatura ambiente durante 5 minutos para prevenir la degradación fotoquímica del DPPH. Posteriormente, se midió la absorbancia a 515 nm utilizando un espectrofotómetro de microplacas.

Para la cuantificación, se utilizó una curva de calibración basada en Trolox como estándar antioxidante, con un rango de concentraciones de 0 a 350 μ mol/L. Los resultados se expresaron como equivalentes de Trolox (mmol) por mg de muestra seca y porcentaje de inhibición.

Poder de reducción antioxidante del ion férrico (FRAP). El ensayo FRAP se realizó siguiendo el método descrito por [Gohari et al. \(2011\)](#). Alícuotas de 40 μ L de muestra o del punto de la curva se colocaron en una microplaca de 96 pozos, junto con 40 μ L de acetato de sodio a 300 mM a pH 3.6, y luego se añadieron 150 μ L de reactivo FRAP. Este reactivo se preparó previamente mezclando 10 partes de solución buffer de acetato sódico a 300 mM a pH 3.6, 1 parte de TPZT a 10 mM y 1 parte de FeCl₃ hexahidratado a 20 mM. La mezcla resultante se incubó durante 30 min a 37°C y luego se midió la absorbancia a 593 nm en un espectrofotómetro de microplacas.

Los resultados se expresaron como equivalentes de Trolox (mmol) por mg de muestra seca. Se empleó una curva de calibración de Trolox como estándar en un rango de concentración de 0 a 350 μ mol/L.

Cuantificación de fitoquímicos.

Para determinar la actividad de la enzima peroxidasa y cuantificar las especies fitoquímicas (excepto los polifenoles, flavonoides y taninos), se realizó una extracción asistida por ultrasonido a

partir de tejido liofilizado. El proceso empleó un tampón compuesto por 0.1 mol/L de fosfato de potasio (pH 7.5), 0.5 mmol/L de EDTA, 2 % m/v de polivinilpirrolidona y 0.5 % v/v de Triton X-100.

Concentración de proteína total. Se empleó el método del ácido bicinonínico para determinar la concentración total de proteínas. Se utilizó el *Pierce™ BCA Protein Assay Kit* de *ThermoFisher™*, siguiendo las directrices del fabricante para el procedimiento en microplaca. Las concentraciones de proteínas se determinaron utilizando una curva de calibración basada en la albúmina sérica bovina (BSA) en un rango de 0 a 250 µg/mL y se expresaron posteriormente como equivalentes de BSA (mg) por gramo de muestra seca.

Estimación de aminoácidos libres. El contenido de aminoácidos libres en los extractos se estimó utilizando la técnica descrita por [Sun et al. \(2006\)](#), con algunas modificaciones. Para ello, se colocaron 200 µL de muestra y 100 µL de reactivo de ninhidrina en un microtubo, y a continuación se calentó la mezcla de reacción a 90°C durante 3 minutos. Posteriormente, se diluyeron 15 µL de la mezcla de reacción con 185 µL de etanol en una microplaca de 96 pocillos, y se midió la densidad óptica a 570 nm. Se empleó una curva de calibración de glicina que iba de 0 a 1.5 mmol/L, y los resultados se expresaron como equivalentes de glicina (mg) por gramo de muestra seca.

Azúcares reductores. La cuantificación de azúcares reductores se llevó a cabo mediante el método del ácido dinitrosalicílico (DNS), siguiendo los procedimientos descritos por [Miller \(1959\)](#). Se estableció una curva de calibración de glucosa de 0 a 1.0 mg/mL. Una solución al 1 % de DNS sirvió como reactivo de trabajo.

Se mezclaron 250 µL de muestra o punto de calibración con un volumen igual de reactivo DNS al 1 % y se calentó a 99°C durante 5 minutos. Tras el enfriamiento, se transfirieron 15 µL de cada mezcla de reacción a una microplaca de 96 pocillos y se diluyeron con 185 µL de agua antes de medir la densidad óptica a 575 nm. Los resultados se expresaron en términos de equivalentes de glucosa (mg) por gramo de muestra seca.

Contenido total de polifenoles. El contenido de polifenoles se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu ([Ainsworth & Gillespie, 2007](#)). Se combinaron 20 µL de muestra con 100 µL de reactivo Folin-Ciocalteu en una microplaca de 96 pozos. Posteriormente, tras 60 segundos, se añadieron 75 µL de solución de Na₂CO₃ (10 % p/v). Tras un período de incubación de 120 minutos en la oscuridad, se midió la densidad óptica a 750 nm. Los resultados se calcularon utilizando una curva de calibración de ácido gálico de 0 a 100 µg/mL y se expresaron como equivalentes de ácido gálico (µg) por g de muestra seca.

Cuantificación de Flavonoides. El contenido total de flavonoides se determinó mediante un análisis espectrofotométrico basado en la formación de un complejo entre los iones Al³⁺ con los flavonoides, siguiendo la metodología descrita por [Chandra et al. \(2014\)](#). Para ello, se añadieron 50 µL del extracto de muestra o estándar, 100 µL de cloruro de aluminio al 5 % m/v (disuelto en etanol al 80 % v/v) y 100 µL de acetato de sodio 1 M. La mezcla se llevó a un volumen final de 5 mL con metanol y se dejó incubar en la oscuridad durante 30 minutos. La absorbancia se midió a 425 nm utilizando un espectrofotómetro de microplacas. Se utilizó una curva de calibración con quercetina como estándar, en un rango de 0 a 150 mg/L, y los resultados se expresaron como equivalentes de quercetina (mg) por gramo de peso seco.

Contenido de Taninos. La cuantificación de taninos se realizó según la metodología descrita por [Broadhurst & Jones \(1978\)](#). Para ello, se preparó una solución de vainillina al 4 % m/v en metanol. Se mezclaron 1.2 mL de esta solución con 200 µL del extracto (1 mg/mL) y 600 µL de ácido clorhídrico concentrado. La mezcla se homogeneizó y se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente. La cuantificación se realizó mediante una curva estándar con catequina en un rango de 0 a 100 µmol/L. Al finalizar la incubación, se colocaron 200 µL de la mezcla en triplicado en una microplaca de 96 pozos y se midió la absorbancia a 500 nm mediante un espectrofotómetro de microplacas. Los resultados se expresaron como equivalente de catequina (mmol) por gramo de peso seco.

Actividad de la enzima peroxidasa. La actividad de la enzima peroxidasa (EC 1.11.1.7) se determinó midiendo el incremento de la absorbancia a 470 nm debido a la formación de tetraguayacol ([Castillo et al., 1984](#)). Para ello, en una microplaca de 96 pozos se colocaron 10 µL del extracto enzimático junto con 190 µL de la solución de trabajo, que contenía 50 mM de buffer de fosfato (pH

6.1), 16 mM de guayacol y 2 mM de H₂O₂. La cuantificación se realizó utilizando el coeficiente de extinción ($\epsilon = 26.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), y la actividad específica se expresó en μmol de tetraguayacol formado por minuto por mg de proteína.

Resultados y Discusión

Determinación de Ag en los tejidos

Para cuantificar el contenido de Ag en los tejidos, se utilizó el método de absorción atómica (AAS). Los límites de cuantificación y de detección para Ag fueron de 0.264 ppm y 0.113 ppm, respectivamente. Es importante mencionar, que las colectas fueron realizadas en plantas que apenas habían crecido 34 y 65 días, por lo que la cantidad de biomasa obtenida de las hojas colectadas y liofilizadas no superaba el gramo en la mayoría de las muestras. Debido a ello, se buscó estandarizar la masa mínima requerida para la cuantificación. Elegimos las muestras de las plantas tratadas con 50 ppm que cumplían dos requisitos: tenían la mayor cantidad de biomasa colectada y la concentración de Ag probablemente era cuantificable mediante el método de AAS. Para estandarizar este ensayo, se tomaron tres diferentes masas (100 mg, 200 mg y 500 mg) de la población tratada con 50 ppm de AgNPs de la segunda colecta. Para ello, el tejido liofilizado fue digerido con ácido nítrico y el residuo obtenido fue filtrado y aforado en un volumen de 10 mL y leído por quintuplicado. Una vez analizadas estas muestras, con la curva de calibración en el rango de 0-2 ppm de Ag. Encontramos que solamente la masa 500 mg, era suficiente para ser cuantificada por AAS, y las masas de 100 y 200 mg, se encontraban cercanas al límite de detección, pero no era viable cuantificarlas dado que estaban por debajo del límite de cuantificación. Dadas las restricciones de biomasa obtenida en el resto de las colectas, decidimos optar por una técnica alternativa, no destructiva y semicuantitativa, para comprobar la presencia de Ag en los tejidos y completar el resto de los análisis. La técnica elegida fue la de fluorescencia de rayos X (XRF) en un dispositivo portátil, que permite la identificación de diversos metales in situ (es decir, directamente en el tejido), generando señales con intensidades relativas al contenido total de elementos en el área analizada. En la figura 1, se observa alrededor de 2.98 keV una señal correspondiente a la plata, la cual se identificó con mayor intensidad en el tejido de las muestras con el tratamiento de 100 ppm de AgNPs (línea morada, señalada como Ag L α). En los tejidos de las muestras tratadas con 10 y 50 ppm de AgNPs, encontramos señales con poca intensidad en los 2.9 keV, lo que sugiere que, aunque hay presencia de plata en los tejidos, esta se encuentra en menor proporción. Estos resultados sugieren una posible limitación en el transporte de iones de plata a través de la raíz. En nuestros experimentos, las AgNPs fueron colocadas directamente en el sustrato de crecimiento, por lo que es posible considerar que si encontramos trazas de Ag en los tejidos aéreos, esta probablemente tuvo que haber sido transportada mediante la raíz. Existen diversos estudios que convergen en la idea de que las AgNPs, pueden ser transportadas a través de las raíces desde el suelo a las partes aéreas, pero que éstos procesos deben de ir acompañados de diversos pasos, como la adsorción, la penetración y la translocación. Todos esos procesos, están en función del tamaño y la morfología de las nanopartículas. Los hallazgos de este trabajo están en concordancia con los de [Geisler-Lee et al., \(2013\)](#), donde ellos analizan igualmente el tejido foliar, encontrando que es en este donde se acumula mayormente la plata. Mientras que, en las raíces, es complicado discernir si la plata que se cuantifica es la plata adsorbida (sólo adherida en la superficie), si son restos de plata que están en el sustrato remanente, o bien si en realidad son bioacumuladas en la raíz. Los resultados obtenidos con la XRF también se correlacionan con la menor cantidad de hojas observadas en las plantas tratadas con 100 ppm de AgNPs. La mayor abundancia de plata detectada en este tejido sugiere un mayor transporte y acumulación, lo que probablemente contribuyó a una mayor afectación del crecimiento y una disminución general del tejido foliar.

Resulta fundamental investigar la posible acumulación de plata en los tejidos vegetales, ya que la exposición de cultivos a nanopartículas de plata induce respuestas variables y dependientes de la dosis. Se ha documentado tanto la reducción de la tasa de germinación, la inhibición del crecimiento y la disminución de la biomasa ([Budhani et al., 2019](#); [Siddiqi & Husen, 2022](#)), como el estímulo en la

longitud de raíces, el aumento en el número de hojas y la acumulación de biomasa ([Sadak, 2019](#)). Por lo tanto, la concentración y el modo de aplicación de las AgNPs son factores determinantes en la respuesta del cultivo.

Se decidió utilizar únicamente el tejido foliar, ya que estudios previos ([Geisler-Lee et al., 2013](#)) indican que la acumulación de plata ocurre principalmente en raíces y hojas. En este estudio, la raíz se excluyó debido a la dificultad para distinguir la plata proveniente del sustrato residual, de la adsorción superficial o la bioacumulación.

Decidimos ampliar la búsqueda de elementos presentes en las muestras mediante XRF, analizando el espectro completo de los tejidos vegetales. En la Figura 2 se presenta un mapa de calor (heatmap) de estos resultados, construido a partir de las intensidades de los espectros de los elementos detectados. Los valores se compararon con la intensidad de señal de las plantas de control. La escala del mapa de calor indica la abundancia relativa del elemento en las muestras tratadas en comparación con el control, mostrando cuántas veces mayor o menor fue la señal. Mediante este análisis, encontramos diferencias importantes en las abundancias relativas de los elementos analizados en la segunda colecta, pero muy pocos cambios en la primera. De hecho, en la primera colecta, solo se observó un incremento de 1.5 veces en la abundancia de Zn en el tratamiento con 100 ppm de AgNPs. Por otra parte, en la segunda colecta los cambios son mucho más evidentes; por ejemplo, la presencia de azufre y zinc se ve incrementada 2.7 veces en las plantas de la segunda colecta en el tratamiento con 100 ppm AgNPs, mientras que elementos como el potasio, bromo y cobre disminuyeron significativamente. El hierro y el cobalto presentaron una disminución gradual en función del aumento de la concentración de AgNPs, en los tratamientos. En conjunto, estos datos sugieren una posible interacción entre el tratamiento con las AgNPs, y la absorción de elementos, especialmente en la concentración de 100 ppm. Se ha reportado en otros cultivos que las AgNPs pueden afectar la fluidez y la permeabilidad de la membrana y, en consecuencia, influir en la absorción de agua y nutrientes. [Molina-Roco et al. \(2020\)](#), demostraron que la exposición a AgNPs en brotes de rábano (*Raphanus sativus*) causaba una disminución en el contenido de agua de manera dependiente de la dosis; el contenido de nutrientes (Ca, Mg, B, Cu, Mn y Zn) también se redujo significativamente, lo que sugería que las AgNPs podían afectar el crecimiento de las plantas al cambiar el contenido de agua y nutrientes.

Determinación de Capacidades Antioxidantes.

La actividad antioxidante se evaluó mediante tres métodos distintos (Figura 3): DPPH, FRAP y ABTS. En todas las determinaciones se utilizaron las mismas unidades y molécula de referencia (Trolox), los valores se expresaron como mmol de Trolox/g de peso seco. Adicionalmente, en cada gráfica se presentan los resultados obtenidos para el control (plantas sin tratamiento) y para las plantas expuestas a diversas concentraciones de AgNPs, en los dos periodos colectados. En general, los tres métodos mostraron una tendencia similar en la actividad antioxidante. En la primera colecta, casi no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos y el control, excepto en el método FRAP, donde sí se observó una diferencia. Sin embargo, en la segunda colecta, en todos los métodos evaluados, se observó la tendencia de que el control presenta una mayor capacidad antioxidante que cualquiera de los tratamientos con nanopartículas. Esta comparación sugiere que las plantas requieren un periodo de adaptación para manifestar un efecto directo tras la aplicación de las nanopartículas. En las plantas de chile cultivadas bajo este sistema, parece necesario que transcurra al menos un mes desde la aplicación de las AgNPs para observar un cambio notable en la actividad antioxidante.

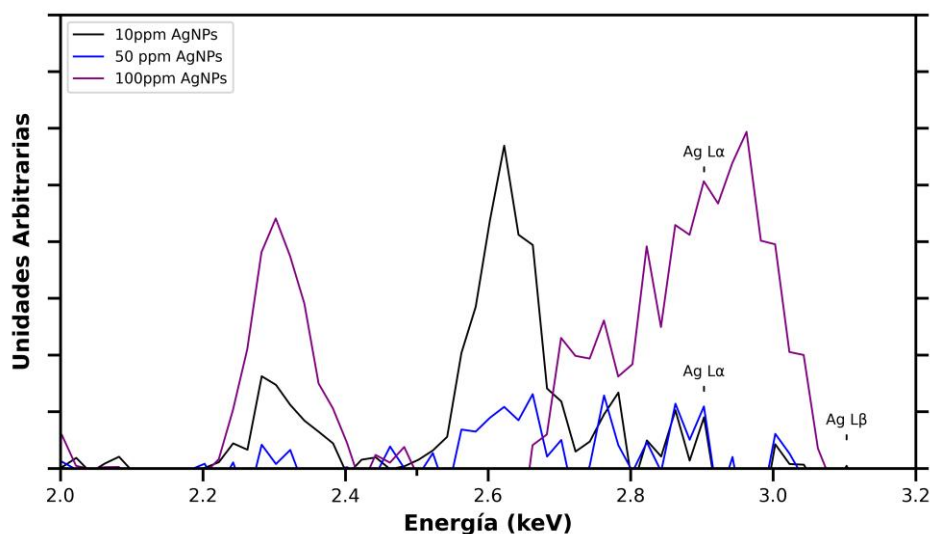


Figura 1. Sección de espectros de fluorescencia de rayos X de tejidos vegetales de las plantas tratadas con AgNPs. Línea negra: espectro obtenido del tratamiento con 10 ppm de AgNPs; línea azul: espectro obtenido del tratamiento con 50 ppm de AgNPs; y línea morada: espectro obtenido del tratamiento con 100 ppm de AgNPs. Fuente: Elaboración propia a partir de datos experimentales.

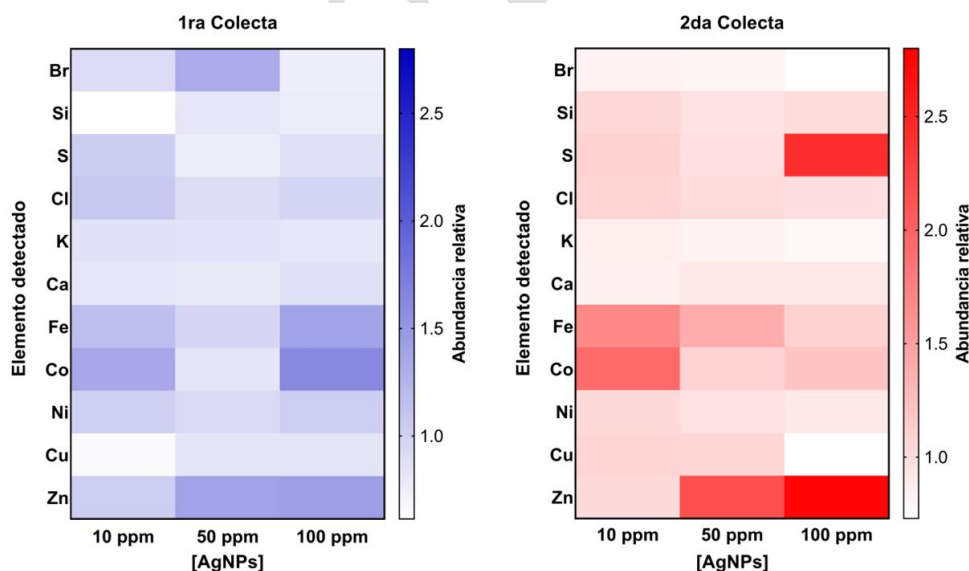


Figura 2. Mapa de calor de la abundancia relativa de los elementos analizados mediante fluorescencia de rayos X calculada a partir de la relación a las intensidades de los elementos detectados en los tejidos de cada uno de los tratamientos con respecto al control. Los resultados de la primera colecta se representan en azul, mientras que los de la segunda colecta se muestran en rojo.

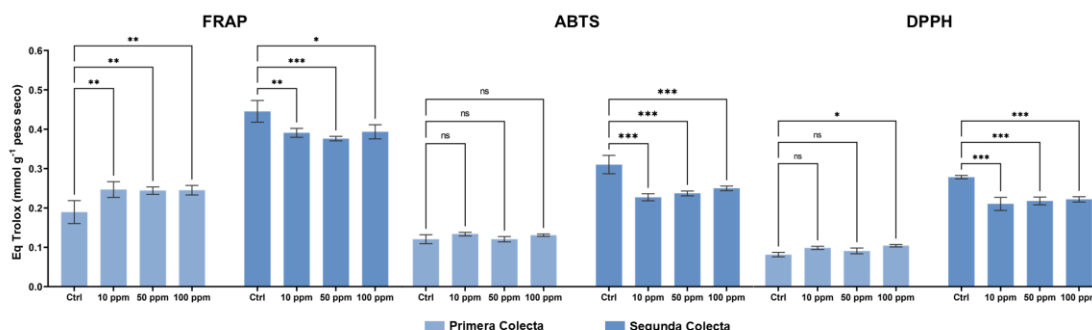


Figura 3. Capacidad antioxidante evaluada por tres métodos diferentes en plantas cosechadas. De izquierda a derecha, las determinaciones FRAP, ABTS y DPPH, de color azul claro, corresponden a la primera cosecha, mientras que las barras de color azul oscuro corresponden a la segunda cosecha. Se muestra la media (n=3), y las barras de error representan el error estándar. Se realizó un análisis estadístico para comparar los grupos, y las diferencias significativas se indican con asteriscos: * $p < 0,033$, ** $p < 0,002$, * $p < 0,001$. Fuente: Elaboración propia a partir de datos experimentales.**

En el caso de nuestros resultados, pudimos observar que, en las plantas de la segunda colecta, el método que reportó mayor capacidad antioxidante fue el de FRAP con un valor de 0.445 ± 0.028 mmol Trolox / g, para el control, mientras que ABTS y DPPH reportaron: 0.311 ± 0.023 mmol Trolox / g y 0.279 ± 0.023 mmol TROLOX / g, respectivamente. La disminución de la capacidad antioxidante fue más pronunciada en las determinaciones de ABTS y DPPH en el tratamiento con 10 ppm de AgNPs, con reducciones del 27 % y 24 %, respectivamente. El tratamiento de 50 ppm mostró reducciones del 24 % (ABTS) y del 22 % (DPPH), mientras que el de 100 ppm presentó reducciones del 19 % (ABTS) y del 20 % (DPPH). Esto indica que el tratamiento de 10 ppm en la segunda colecta podría *afectar* de manera más significativa la producción de metabolitos asociados a la capacidad antioxidante. En cambio, la determinación mediante FRAP reportó únicamente una disminución del 12 % al 16 % en los diversos tratamientos. Finalmente, se midió el porcentaje de inhibición del radical mediante la determinación de ABTS y DPPH para los distintos tratamientos. Se encontró que un extracto de 1 mg/mL, inhibió aproximadamente el 75 % \pm 5.7 % del radical ABTS y el 68 % \pm 0.9 % del radical DPPH en la planta control. Los resultados completos de las mediciones se presentan en la Tabla 1.

La disminución observada en la actividad antioxidante durante el segundo periodo de colecta podría indicar una menor producción de moléculas clave para la defensa frente a diversas fuentes de estrés. Esta reducción en las especies antioxidantes se ha asociado con efectos negativos como alteraciones en el desarrollo y la anatomía de las plantas, así como una disminución en la actividad fotosintética (Kumar *et al.*, 2023).

Tabla 1. Datos de la determinación de la actividad antioxidante.

	Método	ABTS		DPPH		FRAP
		mmol Trolox / peso seco	% Inhibición	mmol Trolox / peso seco	% Inhibición	mmol Trolox / peso seco
1ra Colecta	Control	0.121 ± 0.011	29 ± 2.8	0.082 ± 0.006	22 ± 0.1	0.189 ± 0.029
	10 ppm	0.134 ± 0.005	32 ± 1.1	0.099 ± 0.004	26 ± 1.4	0.247 ± 0.020

	50 ppm	0.121 ± 0.007	29 ± 1.6	0.091 ± 0.007	24 ± 2.1	0.244 ± 0.009
	100 ppm	0.131 ± 0.003	31 ± 0.7	0.104 ± 0.003	25 ± 1.3	0.245 ± 0.012
2da Colecta	Control	0.311 ± 0.023	75 ± 5.7	0.279 ± 0.004	68 ± 0.9	0.445 ± 0.028
	10 ppm	0.227 ± 0.009	54 ± 2.2	0.211 ± 0.017	52 ± 3.8	0.391 ± 0.011
	50 ppm	0.237 ± 0.006	57 ± 1.5	0.218 ± 0.010	54 ± 2.2	0.376 ± 0.006
	100 ppm	0.250 ± 0.006	60 ± 1.4	0.222 ± 0.007	55 ± 1.5	0.394 ± 0.018

Cuantificación de Metabolitos Primarios.

Tras evaluar la capacidad antioxidante, cuantificamos la concentración de tres metabolitos primarios esenciales en las plantas: proteínas, aminoácidos libres y azúcares reductores (Figura 4). El objetivo fue comprender los efectos fisiológicos y metabólicos del tratamiento a lo largo del tiempo. Interesantemente, en la primera colecta observamos que la concentración de proteína aumenta en el tratamiento con 10 ppm de AgNPs, pero no en los demás tratamientos. No obstante, en la segunda colecta se observó una disminución de la concentración de proteína en todos los tratamientos. Un estudio de ([Ansari et al., 2023](#)) reportó que la aplicación foliar de bajas concentraciones de AgNPs (5-15 ppm) en dos variedades de tomate promovió un aumento en el contenido de proteínas. En contraste, concentraciones más elevadas (20-50 ppm) provocaron una disminución proporcional a la dosis, lo cual coincide con nuestros resultados.

Posteriormente, se analizó el contenido de aminoácidos libres en los tejidos, considerando que estudios previos ([Yang et al., 2018](#)) han reportado que la exposición a AgNPs puede alterar la concentración de diversos aminoácidos. En la primera colecta no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos y el control. Sin embargo, en la segunda colecta, solo el tratamiento con 50 ppm produjo una disminución del 20 % en la concentración de aminoácidos libres. Finalmente, en cuanto a los azúcares reductores, se observó una disminución únicamente en la primera colecta con el tratamiento a 100 ppm. En contraste, en la segunda colecta se observó una estimulación de la producción de azúcares reductores en todos los tratamientos. En conjunto, estos resultados sugieren que las concentraciones de azúcares reductores y proteínas son las más afectadas por la adición de nanopartículas en las plantas de chile, particularmente en periodos de cultivo superiores a 40 días (segunda colecta). Aunque la literatura sobre los efectos en metabolitos primarios es limitada, [Sadak \(2019\)](#) reportó un incremento en el rendimiento de carbohidratos y proteínas tras la aplicación foliar de AgNPs (60 mg/L), entre otros parámetros. Estos resultados concuerdan con nuestros hallazgos, a pesar de que en nuestro estudio la aplicación se realizó sobre el sustrato.

Variación de Metabolitos Secundarios (Polifenoles, Flavonoides y Taninos).

Una vez analizados los metabolitos primarios, exploramos la variación en algunas familias de metabolitos secundarios (Figura 5). Detectamos disminuciones significativas en la cantidad total de polifenoles tanto en la primera como en la segunda colecta. En la primera colecta, mientras que el control presentó 0.505 ± 0.012 mg de ácido gálico por gramo de peso seco, el tratamiento con 100 ppm de AgNPs disminuyó la concentración de estas especies hasta 0.142 ± 0.010 mg de ácido gálico por gramo de peso seco, lo que implica una reducción de casi el 72 % de contenido de polifenoles totales. Por otro lado, en la segunda colecta, la disminución de polifenoles se observó únicamente a partir del tratamiento con 50 ppm, con un porcentaje de disminución de la producción de polifenoles del 12 % y del 24 % en el tratamiento con 100 ppm de AgNPs. En conjunto, esto sugiere que las AgNPs pueden tener un efecto directo en la disminución de la producción de polifenoles en las etapas tempranas de la planta. Estos datos concuerdan con los resultados de la actividad antioxidante observada en este estudio. Si bien, en la revisión realizada por [Selvakesavan et al. \(2023\)](#), la mayoría

de las nanopartículas inducen la acumulación de metabolitos secundarios, existen algunos reportes como el de [Kruszka et al. \(2020\)](#), donde sí se reportó una disminución de los polifenoles con el tratamiento con nanopartículas. Es importante reconocer que el tipo de tratamiento, la concentración de la nanopartícula y la forma de aplicación influyen significativamente en los resultados obtenidos.

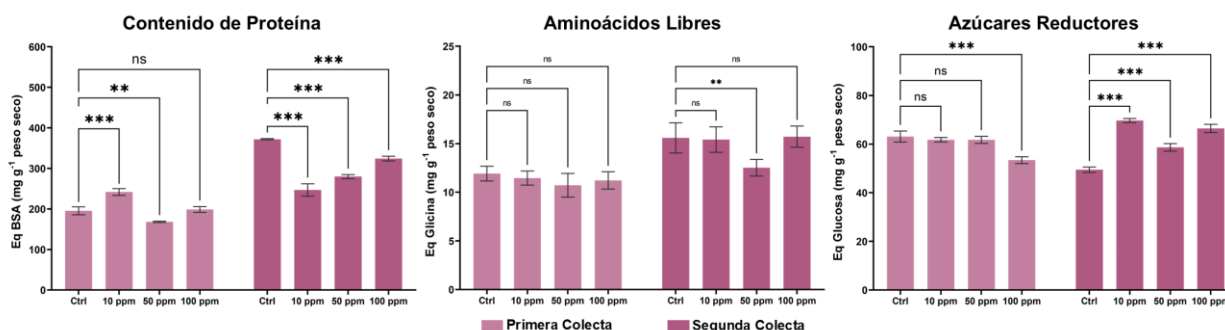


Figura 4. Determinación de metabolitos primarios, contenido total de proteína, aminoácidos libres y azúcares reductores de izquierda a derecha, en las plantas cosechadas. Los resultados de la primera cosecha se muestran en rosa claro y los de la segunda en rosa oscuro. Se muestra la media (n=3) y las barras de error representan el error estándar. Se realizó un análisis estadístico para comparar los grupos y las diferencias significativas se indican con asteriscos: * $p < 0.033$, ** $p < 0.002$, *** $p < 0.001$. Fuente: elaboración propia a partir de datos experimentales.

Por otro lado, una vez que la planta establece un proceso de adaptación a las nanopartículas, parece sobrellevar mejor el estrés generado por su adición. Aunque la concentración de polifenoles aún se ve disminuida, el efecto es menos drástico que el reportado en las etapas tempranas (primera colecta). En cuanto a la cuantificación de flavonoides, se observó que durante la primera colecta todos los tratamientos afectaron la producción de estos metabolitos, disminuyéndola en aproximadamente un 50 %. De forma contrastante, en la segunda colecta, la producción de flavonoides se estimuló en los tratamientos de 10 ppm y 50 ppm de AgNPs, produciendo un aumento del 94 % con respecto al control, llegando hasta 0.524 ± 0.024 y 0.505 ± 0.011 mg de quercetina/g de peso seco, respectivamente. No sorprende que los cambios en los flavonoides parezcan contrarios a los observados en los polifenoles. Si bien los flavonoides son un tipo de polifenoles, poseen una vía biosintética específica que puede estimularse de manera diferencial en comparación con otras especies de polifenoles.

Finalmente, en la cuantificación de taninos, observamos un incremento en la concentración de estas especies en el tratamiento con 100 ppm de AgNPs tanto en la primera como en la segunda colecta. Los valores reportados fueron, para la primera colecta, de 0.752 ± 0.070 mg de catequina/g de peso seco en el control, mientras que para el tratamiento de 100 ppm de AgNPs, fueron de 1.26 ± 0.16 mg de catequina/g de peso seco en el control. Por otra parte, los valores reportados para la segunda colecta de: 1.02 ± 0.112 mg de Catequina / g peso seco en el control, mientras que para el tratamiento de 100 ppm de AgNPs, fue de 1.71 ± 0.15 mg de Catequina / g peso seco en el control. Para el tratamiento con 100 ppm de AgNPs, el incremento en la producción de taninos fue de casi el 67 % tanto en la primera como en la segunda colecta. De manera general, en la mayoría de los trabajos, se reporta que el tratamiento con nanopartículas de plata genera un incremento importante en la concentración de metabolitos secundarios, como el ejemplo de ([Chung et al., 2018](#)) donde se reporta un aumento en el contenido de fenoles y flavonoides tras el tratamiento con AgNPs.

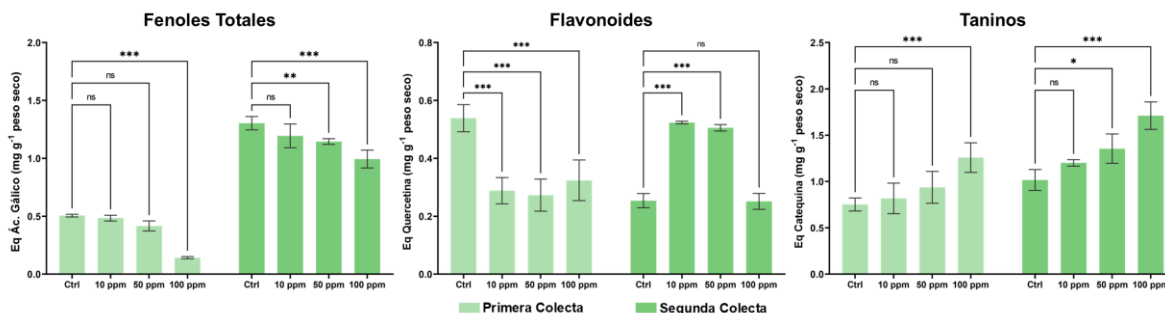


Figura 5. Cuantificación de metabolitos fenólicos. De izquierda a derecha: contenido fenólico total, flavonoides y taninos; en verde claro, los resultados de la primera cosecha; y en verde oscuro, los de la segunda cosecha. Se muestra la media ($n=3$) y las barras de error representan el error estándar. Se realizó un análisis estadístico para comparar los grupos y las diferencias significativas se indican con asteriscos: $*p < 0.033$, $**p < 0.002$, $***p < 0.001$. Fuente: elaboración propia a partir de datos experimentales.

Cuantificación de la Actividad de la Enzima Peroxidasa.

Como última técnica de caracterización, decidimos cuantificar la actividad de la enzima peroxidasa. Esta enzima participa en la detoxificación de los radicales peróxidos en el sistema de defensa antioxidante de las plantas. Los resultados (Figura 6) muestran un incremento significativo en la actividad de la enzima peroxidasa en la primera colecta para los tratamientos con 50 ppm y 100 ppm de AgNPs (cerca del doble y del cuádruple, respectivamente), pero se observa una disminución considerable en el tratamiento con 10 ppm de AgNPs. En contraste, en la segunda colecta se observó una disminución de aproximadamente un 10 % en la actividad de esta enzima en los tratamientos con 10 y 50 ppm de AgNPs. No obstante, cuando la concentración alcanza 100 ppm, la actividad enzimática se ve afectada drásticamente, con una reducción de casi el 90 %. En conjunto, estos resultados sugieren que existe un periodo de transición en la adaptación de la planta. Durante este periodo, la concentración de nanopartículas empleada en el tratamiento podría estimular el estrés oxidativo, lo que incrementaría la actividad de la enzima peroxidasa. Sin embargo, parece existir un umbral en el que la planta se adapta y, a menos que se aplique un tratamiento con una concentración elevada, la actividad de esta enzima disminuye notablemente, como si el estrés oxidativo se redujera. Estos resultados están en concordancia con los trabajos de [Sharma et al. \(2012\)](#) y [Tymoszyk \(2021\)](#).

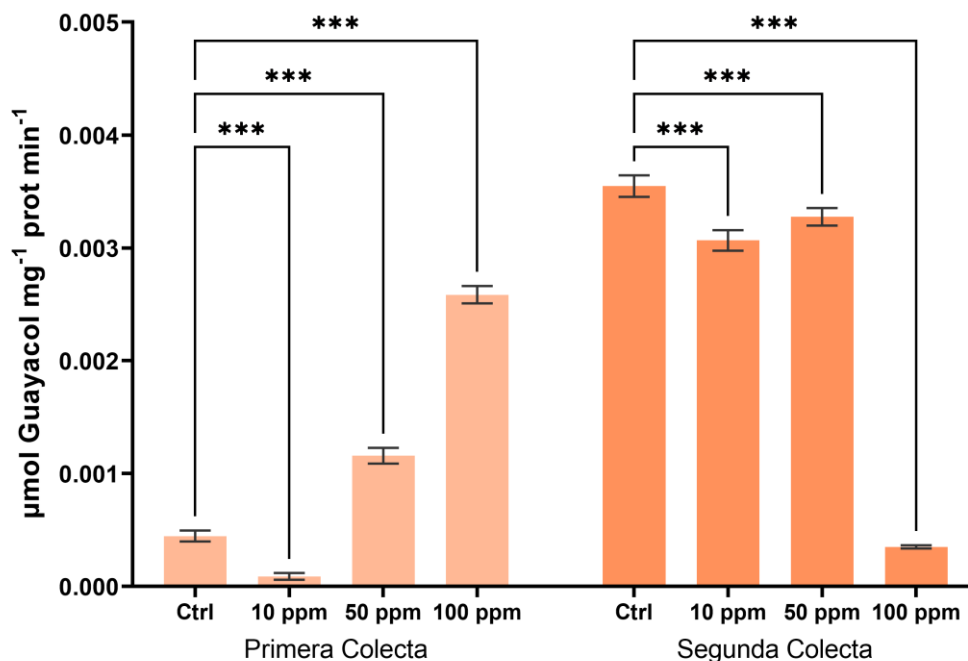


Figura 6. Determinación de la actividad peroxidasa. Los resultados de la primera cosecha se muestran en naranja claro y los de la segunda en naranja oscuro. Se muestra la media (n=5) y las barras de error representan el error estándar. Se realizó un análisis estadístico para comparar los grupos y las diferencias significativas se indican con asteriscos: * $p < 0.033$, ** $p < 0.002$, * $p < 0.001$. Fuente: elaboración propia a partir de datos experimentales.**

Conclusiones

En este estudio preliminar se caracterizaron los efectos de la exposición a tres concentraciones de AgNPs en plantas de *C. annuum* durante dos periodos de cosecha distintos. Entre los efectos más destacados se encuentra la estimulación de taninos y flavonoides en el tratamiento con la mayor concentración de nanopartículas (100 ppm). Asimismo, se observó una disminución drástica en la actividad de la peroxidasa, lo cual concuerda con los resultados obtenidos para flavonoides y taninos. En las condiciones de este estudio y con el tejido foliar colectado, la presencia de plata solo pudo confirmarse mediante fluorescencia de rayos X. Adicionalmente, se observó un estímulo en la abundancia de los elementos esenciales calcio y magnesio, principalmente en la segunda colecta. Como líneas futuras de investigación, queda pendiente realizar una caracterización exhaustiva de metabolitos específicos en plantas de chile expuestas a AgNPs. Además, sería interesante estudiar las adaptaciones metabólicas en plantas maduras (con más de dos meses de crecimiento), que podrían disponer de más tiempo para su adecuación metabólica.

Contribución de los autores

Conceptualización del trabajo, VJG & GCLA. Desarrollo de la metodología, RHJA. Análisis de resultados, LRDA & ZOA. Escritura y preparación del manuscrito, VJG & GCLA. Adquisición de fondos, VJG. Todos los autores de este manuscrito han leído y aceptado la versión publicada del mismo.

Financiamiento

Esta investigación fue financiada por Conahcyt, proyecto de frontera 2023: “Impacto de las nanopartículas en el cultivo del chile (*Capsicum annum*, L.)”, número de convenio CF-2023-G-728.

Declaraciones éticas

No aplica.

Declaración de consentimiento informado

No aplica.

Agradecimientos

Agradecimientos especiales al L.Q. Bruno Villanueva por su apoyo con el análisis de resultados de espectroscopía de fluorescencia de rayos X.

Luis Alberto García Casillas es estudiante de la maestría en ciencias en química del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías de la Universidad de Guadalajara (UdeG) y recibió beca (1267544) del CONAHCYT.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Referencias

- Ainsworth, E. A., & Gillespie, K. M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature Protocols* 2007, 2(4), 875–877. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.102>
- Ansari, M., Ahmed, S., Abbasi, A., Khan, M. T., Subhan, M., Bukhari, N. A., Hatamleh, A. A., & Abdelsalam, N. R. (2023). Plant mediated fabrication of silver nanoparticles, process optimization, and impact on tomato plant. *Scientific Reports* 2023, 13(1), 1–19. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-45038-x>
- Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R. P., & Chang, C. M. (2022). Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative Phytochemical Analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*, 27(4). <https://doi.org/10.3390/molecules27041326>
- Broadhurst, R. B., & Jones, W. T. (1978). Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29(9), 788–794. <https://doi.org/10.1002/JSFA.2740290908>
- Budhani, S., Egboluche, N. P., Arslan, Z., Yu, H., & Deng, H. (2019). Phytotoxic effect of silver nanoparticles on seed germination and growth of terrestrial plants. *Journal of Environmental Science and Health. Part C, Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews*, 37(4), 330–355. <https://doi.org/10.1080/10590501.2019.1676600>

- Castillo, F. J., Penel, C., & Greppin, H. (1984). Peroxidase Release Induced by Ozone in *Sedum album* Leaves: Involvement of Ca^{2+} . *Plant Physiology*, 74(4), 846. <https://doi.org/10.1104/PP.74.4.846>
- Chandra, S., Khan, S., Avula, B., Lata, H., Yang, M. H., Elsohly, M. A., & Khan, I. A. (2014). Assessment of Total Phenolic and Flavonoid Content, Antioxidant Properties, and Yield of Aeroponically and Conventionally Grown Leafy Vegetables and Fruit Crops: A Comparative Study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine : ECAM*, 2014, 253875. <https://doi.org/10.1155/2014/253875>
- Chen, S., Yan, X., Peralta-Videa, J. R., Su, Z., Hong, J., & Zhao, L. (2023). Biological effects of AgNPs on crop plants: environmental implications and agricultural applications. *Environmental Science: Nano*, 10(1), 62–71. <https://doi.org/10.1039/D2EN00801G>
- Chung, I. M., Rajakumar, G., & Thiruvengadam, M. (2018). Effect of silver nanoparticles on phenolic compounds production and biological activities in hairy root cultures of *Cucumis anguria*. *Acta Biologica Hungarica*, 69(1), 97–109. <https://doi.org/10.1556/018.68.2018.1.8>
- Duman, H., Eker, F., Akdaşçı, E., Witkowska, A. M., Bechelany, M., & Karav, S. (2024). Silver Nanoparticles: A Comprehensive Review of Synthesis Methods and Chemical and Physical Properties. *Nanomaterials* 2024, 14(18), 1527. <https://doi.org/10.3390/NANO14181527>
- FAO Statistical Programme of Work 2020–2021. (2020). *FAO Statistical Programme of Work 2020–2021*. <https://doi.org/10.4060/CA9734EN>
- Ferdous, Z., & Nemmar, A. (2020). Health Impact of Silver Nanoparticles: A Review of the Biodistribution and Toxicity Following Various Routes of Exposure. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(7), 2375. <https://doi.org/10.3390/IJMS21072375>
- Geisler-Lee, J., Wang, Q., Yao, Y., Zhang, W., Geisler, M., Li, K., Huang, Y., Chen, Y., Kolmakov, A., & Ma, X. (2013). Phytotoxicity, accumulation and transport of silver nanoparticles by *Arabidopsis thaliana*. *Nanotoxicology*, 7(3), 323–337. <https://doi.org/10.3109/17435390.2012.658094>
- Gohari, A. R., Hajimehdipour, H., Saeidnia, S., Ajani, Y., & Hadjiakhoondi, A. (2011). Antioxidant activity of some medicinal species using FRAP assay. *Journal of Medicinal Plants*, 10(37), 165–170. <https://jmp.ir/article-1-233-en.pdf>
- Gottschalk, F., Sonderer, T., Scholz, R. W., & Nowack, B. (2009). Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO_2 , ZnO, Ag, CNT, fullerenes) for different regions. *Environmental Science and Technology*, 43(24), 9216–9222. <https://doi.org/10.1021/ES9015553>
- Harish, V., Tewari, D., Gaur, M., Yadav, A. B., Swaroop, S., Bechelany, M., & Barhoum, A. (2022). Review on Nanoparticles and Nanostructured Materials: Bioimaging, Biosensing, Drug Delivery, Tissue Engineering, Antimicrobial, and Agro-Food Applications. *Nanomaterials* 2022, 12(3), 457. <https://doi.org/10.3390/NANO12030457>
- Jiang, H. S., Yin, L. Y., Ren, N. N., Zhao, S. T., Li, Z., Zhi, Y., Shao, H., Li, W., & Gontero, B. (2017). Silver nanoparticles induced reactive oxygen species via photosynthetic energy

- transport imbalance in an aquatic plant. *Nanotoxicology*, 11(2), 157–167. <https://doi.org/10.1080/17435390.2017.1278802>
- Khan, S., Zahoor, M., Sher Khan, R., Ikram, M., & Islam, N. U. (2023). The impact of silver nanoparticles on the growth of plants: The agriculture applications. *Heliyon*, 9(6), e16928. <https://doi.org/10.1016/J.HELİYON.2023.E16928>
- Kraft, K. H., Brown, C. H., Nabhan, G. P., Luedeling, E., De Jesús Luna Ruiz, J., D'Eeckenbrugge, G. C., Hijmans, R. J., & Gepts, P. (2014). Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annuum*, in Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(17), 6165–6170. <https://doi.org/10.1073/pnas.1308933111>
- Kruszka, D., Sawikowska, A., Kamalabai Selvakesavan, R., Krajewski, P., Kachlicki, P., & Franklin, G. (2020). Silver nanoparticles affect phenolic and phytoalexin composition of *Arabidopsis thaliana*. *Science of The Total Environment*, 716, 135361. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.135361>
- Kumar, S., Masurkar, P., Sravani, B., Bag, D., Sharma, K. R., Singh, P., Korra, T., Meena, M., Swapnil, P., Rajput, V. D. & Minkina T. (2023). A review on phytotoxicity and defense mechanism of silver nanoparticles (AgNPs) on plants. *Journal of Nanoparticle Research* 2023, 25(4), 1–25. <https://doi.org/10.1007/S11051-023-05708-3>
- Li, Y., & Cummins, E. (2022). Probabilistic risk assessment of AgNPs for human health through dietary consumptions of crops. *Environmental Science: Nano*, 9(8), 3049–3065. <https://doi.org/10.1039/D2EN00149G>
- Martínez-Cisterna, D., Rubilar, O., Tortella, G., Chen, L., Chacón-Fuentes, M., Lizama, M., Parra, P., & Bardehle, L. (2024). Silver Nanoparticles as a Potent Nanopesticide: Toxic Effects and Action Mechanisms on Pest Insects of Agricultural Importance—A Review. *Molecules* 2024, 29(23), 5520. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES29235520>
- Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426–428. <https://doi.org/10.1021/AC60147A030>
- Molina-Roco, M., Fernández, C., Mercado, C., Manquían-Cerda, K., & Arancibia-Miranda, N. (2020). Efecto de nanoparticulas de plata sobre el crecimiento de trigo (*triticum aestivum* L.) y la disponibilidad de fósforo en presencia/ausencia de fertilización fosfatada en un andisol. *Convibra*. <https://www.convibra.org/publicacao/18664/>
- Sadak, M. S. (2019). Impact of silver nanoparticles on plant growth, some biochemical aspects, and yield of fenugreek plant (*Trigonella foenum-graecum*). *Bulletin of the National Research Centre* 2019, 43(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/S42269-019-0077-Y>
- Selvakesavan, R. K., Kruszka, D., Shakya, P., Mondal, D., & Franklin, G. (2023). Impact of Nanomaterials on Plant Secondary Metabolism. *Nanomaterial Interactions with Plant Cellular Mechanisms and Macromolecules and Agricultural Implications*, 133–170. https://doi.org/10.1007/978-3-031-20878-2_6
- Sharma, P., Bhatt, D., Zaidi, M. G. H., Saradhi, P. P., Khanna, P. K., & Arora, S. (2012). Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and Antioxidant Status of *Brassica juncea*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 167(8), 2225–2233. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9759-8>

- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2022). *Producción agrícola: Chile verde (Capsicum annuum)*. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. www.gob.mx
- Siddiqi, K. S., & Husen, A. (2022). Plant response to silver nanoparticles: a critical review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 42(7), 973–990. <https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1975091>
- Sun, S. W., Lin, Y. C., Weng, Y. M., & Chen, M. J. (2006). Efficiency improvements on ninhydrin method for amino acid quantification. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(2–3), 112–117. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2005.04.006>
- Tymoszek, A. (2021). Silver nanoparticles effects on in vitro germination, growth, and biochemical activity of tomato, radish, and kale seedlings. *Materials*, 14(18). <https://doi.org/10.3390/ma14185340>
- Wu, J., Wang, G., Vijver, M. G., Bosker, T., & Peijnenburg, W. J. G. M. (2020). Foliar versus root exposure of AgNPs to lettuce: Phytotoxicity, antioxidant responses and internal translocation. *Environmental Pollution*, 261, 114117. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2020.114117>
- Yang, J., Jiang, F., Ma, C., Rui, Y., Rui, M., Adeel, M., Cao, W., & Xing, B. (2018). Alteration of Crop Yield and Quality of Wheat upon Exposure to Silver Nanoparticles in a Life Cycle Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(11), 2589–2597. <https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.7B04904>
- Zielińska, E., Baraniak, B., & Karaś, M. (2017). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Hydrolysates and Peptide Fractions Obtained by Enzymatic Hydrolysis of Selected Heat-Treated Edible Insects. *Nutrients*, 9(9), 970. <https://doi.org/10.3390/nu9090970>