

Utilización de nanopartículas de plata en la micropopagación de plantas

Use of silver nanoparticles in plant micropopagation

Jericó Jabín Bello-Bello* y **José Luis Spinoso-Castillo***

ABSTRACT: Micropropagation or *in vitro* propagation is the asexual propagation of plants using plant tissue culture (PTC) techniques. Despite the advantages of these techniques, the explants contamination, the asepsis in culture medium and the *in vitro* accumulation of ethylene in some species, have been a problem that affects the micropropagation. The recent application of silver nanoparticles (NPsAg) in micropropagation has become an effective tool for solving these issues. In addition, in laboratory studies it has been showed that NPsAg, at low concentrations, have a dose-respond effect on plant development, define as hormesis. In this article we reviewed the NPsAg effects on contamination reduction, inhibition of ethylene effects and development stimulation during micropropagation. Besides, they are an alternative to others applications in PTC and modern agriculture.

KEYWORDS: nanotechnology, silver nanoparticles, plant biotechnology, *in vitro* culture, hormesis.

RESUMEN: La micropopagación o propagación *in vitro* es la propagación asexual de plantas utilizando técnicas de cultivo de tejidos vegetales (CTV). A pesar de las ventajas de estas técnicas, la contaminación de explantes, la asepsia del medio de cultivo y la acumulación de etileno en algunas especies han sido un problema que afecta la micropropagación. La reciente aplicación de las nanopartículas de plata (NPsAg) en la micropropagación se ha convertido en una alternativa eficiente para la solución a estos inconvenientes. Además, en estudios de laboratorio se ha demostrado que las NPsAg, a bajas concentraciones, tiene un efecto dosis-respuesta sobre el desarrollo vegetal, conocido como hormesis. En este artículo revisamos los efectos de las NPsAg sobre la reducción de la contaminación, inhibir los efectos de etileno y promover el desarrollo durante la micropropagación. Además, son una alternativa para otras aplicaciones en el CTV y en la agricultura moderna.

PALABRAS CLAVE: nanotecnología, nanopartículas de plata, biotecnología vegetal, cultivo *in vitro*, hormesis.

Introducción

La micropopagación se refiere a la propagación asexual o clonación *in vitro* de plantas, utilizando técnicas de cultivo *in vitro* de CTV. Estas técnicas son una herramienta de la biotecnología vegetal que permite la conservación, manipulación, saneamiento y clonación de plantas bajo condiciones artificiales, controladas y asépticas (Ramírez-Mosqueda *et al.*, 2020). La clona-

Recibido: 27 de julio, 2021.

Aceptado: 5 de julio, 2022.

Publicado: 22 de agosto, 2022.

* Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México.

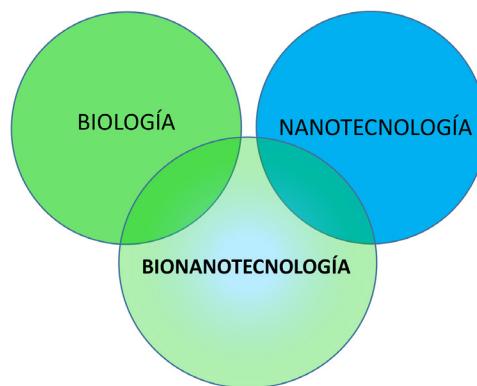
† Autor de correspondencia: jericobello@gmail.com



ción *in vitro* es una alternativa para la producción de plantas genéticamente homogéneas, vigorizadas, libres de plagas y enfermedades. Esto se logra cultivando los tejidos en un medio artificial rico en nutrientes y compuestos orgánicos para su multiplicación en condiciones de laboratorio.

En la actualidad, la micropagación de plantas cuenta con un gran potencial productivo; siendo explotada en laboratorios comerciales y de investigación, principalmente para la propagación de plantas ornamentales, de importancia agroalimentaria y forestal. Sin embargo, durante las etapas de la micropagación pueden ocurrir problemas asociados con la contaminación y problemas relacionados con la acumulación de etileno en los recipientes de cultivo (Aragón *et al.*, 2014; Bello-Bello *et al.*, 2021). Una alternativa para la solución a estos problemas es mediante el uso de bionanotecnología. La bionanotecnología es una ciencia que integra la biología y la nanotecnología para la producción, transformación y/o conservación desde biomoléculas hasta organismos utilizando nanomateriales (figura 1).

FIGURA 1. Bionanotecnología: integración de la biología y la nanotecnología.



Fuente: Elaboración de los autores.

La bionanotecnología ha permitido la aplicación de diferentes materiales a escala nanométrica (0-10 nm) como las nanopartículas de plata (NPsAg). Las NPsAg tienen aplicación para la eliminación de agentes microbianos contaminantes como los hongos y bacterias (Vázquez-Muñoz *et al.*, 2017; Acharya y Pal, 2020; Crisan *et al.*, 2021; Villarreal-Gómez *et al.*, 2021) y para disminuir los efectos de acumulación de etileno en los cultivos *in vitro* (Manh-Cuong *et al.*, 2021; Tung *et al.*, 2021a y 2021b). El uso de NPsAg en el CTV es parte del desarrollo de la bionanotecnología (Castro-González *et al.*, 2019; Salama *et al.*, 2021). Las NPsAg tienen las ventajas de poseer un amplio espectro microbicida, no generan resistencia antimicrobiana, son fáciles de adquirir, no son toxicas a concentraciones adecuadas y son económicas en comparación con otros productos. Además, las NPsAg se han utilizado en



plantas para inducir la germinación, aumentar el rendimiento de los cultivos y promover el desarrollo de los cultivos *in vitro* (Spinoso-Castillo *et al.*, 2017; Castro-González *et al.*, 2019; Manh-Cuong *et al.*, 2021; Salama *et al.*, 2021; Tung *et al.*, 2021b). Sin embargo, una de las desventajas es que debe evaluarse la concentración de las NPsAg para cada modelo de estudio, así como la citotoxicidad en diferentes organismos y su posible afectación a microrganismos benéficos en el ambiente.

Algunos estudios en plantas se han enfocado en descubrir los efectos de las NPsAg sobre la actividad microbicida (Sarmast y Salehi, 2016; Spinoso-Castillo *et al.*, 2017; Kale *et al.*, 2021), inhibición de etileno e inducción de hormesis bajo condiciones *in vitro* (Bello-Bello *et al.*, 2017; Ramírez-Mosqueda *et al.*, 2020; Hu y Xianyu, 2021; Manh-Cuong *et al.*, 2021; Tung *et al.*, 2021a). La hormesis se caracteriza por estimular el desarrollo por bajas concentraciones e inhibición por concentraciones elevadas (Calabrese, 2008; Calabrese y Mattson, 2011; Calabrese *et al.*, 2021). Debido a la importancia que tiene la micropropagación, es importante estudiar los efectos que tienen las NPsAg para este sistema de producción *in vitro* de plantas. En esta revisión se describe el uso de las NPsAg como agente microbicida, inhibidor de efectos de etileno y como estimulador del desarrollo de las plantas en laboratorio.

Metodología para la sección bibliográfica

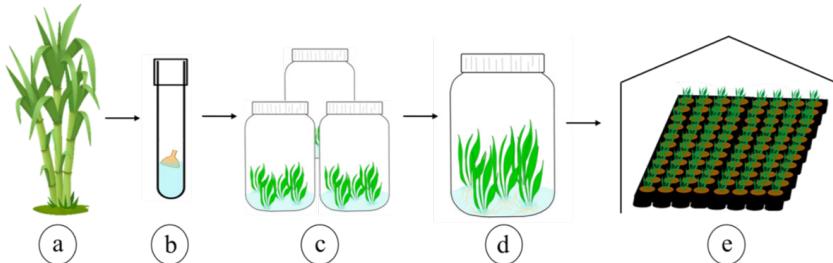
La búsqueda sistemática para esta revisión se realizó considerando artículos publicados en texto completo y en idioma inglés. También se consideraron artículos con estudios en plantas *in vitro* sobre actividad antimicrobiana de NPsAg. Se incluyeron artículos de información científica en bases de datos como: Science Direct, PubMed y Web of Science. Las palabras clave utilizadas fueron: nanotecnología, nanopartículas de plata, biotecnología vegetal, cultivo *in vitro* y hormesis. Para la selección de artículos adecuados al tema, se revisaron los títulos y después la información que aporta el resumen, así como en los criterios de inclusión. La concentración de nanopartículas empleada en otros estudios fue utilizada para comparar la efectividad antimicrobiana y el efecto hormético en la micropropagación de plantas. Adicionalmente, se incluyeron artículos científicos, de divulgación y comunicaciones personales de los autores para interpretar de manera clara la difusión de este artículo.

Micropropagación de plantas

Para comprender las diferentes aplicaciones de las NPsAg durante la micropropagación de plantas es importante conocer las diferentes etapas de esta técnica de producción de plantas. La micropropagación es un proceso que consta de cinco fases o etapas básicas: 0) selección de la planta madre, 1) establecimiento, 2) multiplicación, 3) elongación y enraizamiento, y, 4) aclimatación (figura 2). A continuación, se describen cada una de estas:



FIGURA 2. Etapas de la micropropagación: a) selección de la planta madre, b) establecimiento, c) multiplicación, d) elongación y enraizamiento y e) aclimatación.



Fuente: Elaboración de los autores.

Fase 0: Selección de la planta madre. En esta etapa se incluyen dos aspectos fundamentales: la selección adecuada de la especie y pretratamientos de la planta madre. La selección consiste en la identificación taxonómica correcta de la especie, accesión, cultivo o variedad que se necesita para su establecimiento. El material vegetal de partida se llama explante, que puede ser cualquier parte de la planta, y proviene de una planta élite seleccionada. El pretratamiento de la planta madre consiste en el crecimiento de la planta en cuarentena bajo condiciones estrictas de sanidad para reducir los riesgos de contaminación.

Fase I: Establecimiento. El comienzo de los cultivos *in vitro* consiste en la selección del explante y asepsia del mismo para iniciar el cultivo aséptico en un medio de cultivo artificial. En esta etapa se requiere del uso de agentes químicos que garanticen la asepsia de los explantes como son: alcohol, hipoclorito de sodio, cloruro de mercurio, peróxido de hidrógeno, NPsAg, entre otros. El objetivo de esta etapa es establecer cultivos limpios y fisiológicamente viables para, posteriormente, iniciar el proceso de multiplicación.

Fase II: Multiplicación. El objetivo de esta fase es la producción del mayor número posible de brotes a partir de los propágulos establecidos. Los brotes deben multiplicarse durante un número definido de subcultivos para evitar posibles mutaciones y mantener un coeficiente de multiplicación estable a través del tiempo. En la fase de multiplicación, las NPsAg pueden tener un efecto hormético que promueva un mayor número de brotes por explante.

Fase III: Elongación y enraizamiento. En esta fase, los brotes obtenidos durante la etapa de multiplicación crecen hasta desarrollar un sistema radical y una altura adecuada que les permite ser transferidos a un sustrato en condiciones de invernadero para su aclimatización. Las NPsAg, también pueden inducir un desarrollo durante esta etapa.

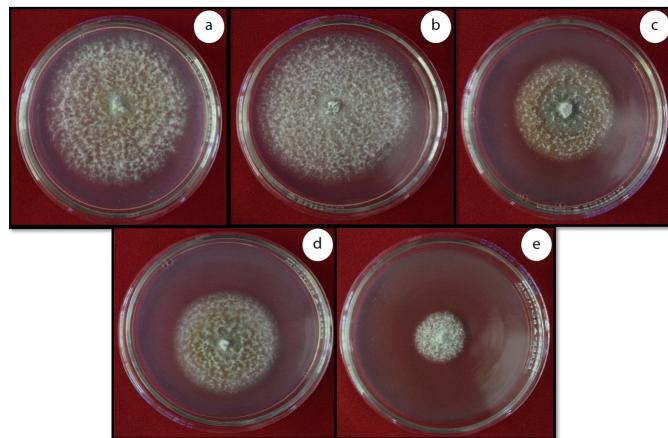
Fase IV: Aclimatización. Los objetivos de esta fase son lograr la supervivencia de las plantas al momento del trasplante y el inicio del crecimiento bajo condiciones de invernadero. La aclimatización es importante para la rentabilidad de un sistema de micropagación. Esto debido a que si las plantas no sobreviven se pueden llegar a tener cuantiosas pérdidas económicas.

Efecto microbicida de las NPsAg

La contaminación en la micropropagación de plantas puede deberse a microrganismos endófitos (habitan entre los tejidos de la planta), manipulación, tolerancia de microrganismos a la esterilización por calor en autoclave, resistencia a antibióticos y fungicidas. Los contaminantes *in vitro* pueden afectar el crecimiento de los explantes compitiendo por agua, luz, espacio y nutrientos. La contaminación es un problema grave durante la micropropagación, ya sea a pequeña escala o de manera comercial. Una alternativa para eliminar los contaminantes son la utilización de NPsAg, las cuales en adecuadas concentraciones tienen la capacidad de eliminar hongos, bacterias y virus, sin ocasionar efectos que limiten el desarrollo de los explantes. Existen diferentes mecanismos de acción de NPsAg sobre los contaminantes: 1) la liberación de iones Ag⁺ genera estrés oxidativo y más adelante apoptosis o muerte celular; 2) el contacto directo de las NPsAg con las paredes celulares de los microrganismos ocasionando la destrucción de la integridad celular; 3) la generación de especies reactivas de oxígeno ocasiona daños en la estructura del ADN de los microrganismos (Juárez-Moreno *et al.*, 2016; Guo *et al.*, 2020; Hu y Xianyu, 2021) e inhibe la replicación en virus (Almanza-Reyes *et al.*, 2021). Debido a su mecanismo de acción sobre algunos microrganismos, las NPsAg no generan resistencia a bactericidas y fungicidas, esta característica las convierte en una de las mejores alternativas para el control de la contaminación durante la micropropagación (Borrego *et al.*, 2016; Vázquez-Muñoz *et al.*, 2017; Villarreal-Gómez *et al.*, 2021). Las NPsAg pueden ser aplicadas de dos formas: durante la desinfección de explantes en una solución acuosa y/o agregadas al medio de cultivo. En la micropropagación, las NPsAg se han utilizado para disminuir la contaminación en pino (*Araucaria excelsa* R. Br.) var. Glauca, vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews), almendro x melocotonero (*Prunus amygdalus* L. x *Prunus persica* L.) y clavel (*Dianthus caryophyllus* L.) (Sarmast *et al.*, 2011; Arab *et al.*, 2014; Ahmadian *et al.*, 2015; Pastelín-Solano *et al.*, 2020). Además, las NPsAg han tenido diversas aplicaciones, han sido utilizadas para la eliminación del virus causante de la fiebre del valle del rift (Rift Valley Fever Virus, RVFV) con una concentración de 12 µg mL⁻¹, inhibición de bacterias Gram negativas y Gram positivas como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* a una concentración mínima inhibitoria de 12 µg mL⁻¹, eliminación de *Candida albicans* con una concentración de 18 µg mL⁻¹, inhibición del crecimiento de microalgas (*Rhodomonas* sp.) con una concentración de 4 µg mL⁻¹ y de igual manera para líneas de células animal y líneas de células de cáncer en humano a concentraciones que van desde los 7.5 a 10 µg mL⁻¹ (HeLa: MDA-MB-231) (Vázquez-Muñoz *et al.*, 2014 y 2017; Borrego *et al.*, 2016; Castañeda-Yslas *et al.*, 2021).

En la figura 3 se puede observar la inhibición del crecimiento del hongo *Sordaria tomento-alba* en PDA (agar papa y dextrosa) suplementado con diferentes concentraciones de NPsAg.

FIGURA 3. Inhibición del crecimiento del hongo *Sordaria tomento-alba* en agar papa y dextrosa (PDA) suplementado con diferentes concentraciones de NPsAg después de 21 días de incubación: a) 0, b) 25, c) 50, d) 100 y e) 200 mg L⁻¹ de NPsAg.



Fuente: Elaboración de los autores.

Reducción de efectos de etileno en los cultivos *in vitro*

El etileno (C_2H_4) es una hormona vegetal que se encuentra en estado gaseoso con actividad biológica a bajas concentraciones (Manh-Cuong *et al.*, 2021). En el CTV, en algunas especies, el etileno afecta el crecimiento y diferenciación de las células, tejidos y órganos durante la micropropagación (figura 4).

FIGURA 4. Efectos del etileno *in vitro* sobre el tallo de estevia (*Stevia rebaudiana* B.); a) formación de callo en la base del tallo, b) absolución de hojas hasta defoliación completa en plantas *in vitro*, c) formación de callo a lo largo del tallo y d) formación de callo en hoja.



Fuente: Elaboración de los autores.

El papel del etileno en el CTV no está completamente dilucidado. En algunas especies como el arroz (*Oriza sativa* L.), rosa (*Rosa hybrida* L.) y ginseng (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv), el etileno *in vitro* promueve la regeneración de plantas (Da Costa y Sharma, 2016; Ngan *et al.*, 2020; Manh-Cuong *et al.*, 2021). Sin embargo, especies como papa (*Solanum tuberosum* L.), estevia (*Stevia rebaudiana* B.), todas las especies de chile y algunos forestales, presentan alta sensibilidad a este gas. La adición de compuestos como cloruro de cobalto (CoCl_2) o nitrato de plata (AgNO_3), pueden inhibir la síntesis o percepción de etileno, respectivamente (Giridhar *et al.*, 2004). El AgNO_3 ha sido utilizado para contrarrestar los síntomas de etileno en plantas (Cardoso, 2019; Manh-Cuong *et al.*, 2021). En el CTV, se ha utilizado AgNO_3 para inhibir los efectos de este gas durante la embriogénesis somática (Fuentes *et al.*, 2000; Giridhar *et al.*, 2004), inducción de brotes (Cardoso, 2019) y enraizamiento *in vitro* (Steinitz *et al.*, 2010). Sin embargo, las NPsAg son una alternativa para inhibir la percepción de etileno durante el cultivo de tejidos vegetales en algunas especies (Thao *et al.*, 2015). El modo de acción mediante el cual las NPsAg reducen los efectos del etileno en cultivos *in vitro* se debe a la liberación de iones de plata que se unen a los receptores a etileno a través de la competencia con el ion de cobre (Cu^+), el cual funciona como cofactor y que normalmente interactúa con el etileno en el citosol alrededor de las membranas externas del retículo endoplásmico para formar un complejo de etileno-cofactor (Rodríguez *et al.*, 1999; Taiz *et al.*, 2015; Park *et al.*, 2016; Manh-Cuong *et al.*, 2021). Este cofactor de Cu^+ es fundamental, al permitir la unión del complejo etileno-cofactor con el dímero de histidina quinasa del gen *ETHYLENE RECEPTOR 1* (*ETR1*), el cual funciona como receptor primario de etileno y se encuentra incrustado en la membrana del retículo endoplásmico (Rodríguez *et al.*, 1999; Taiz *et al.*, 2015; Sarmast y Salehi, 2021). Por lo tanto, esto permitiría el desarrollo de los explantes o plántulas dentro de los contenedores de cultivo sin presentar síntomas de etileno. Además, se ha demostrado que las NPsAg pueden ser agregadas al medio de cultivo sin requerir esterilización en autoclave (Tung *et al.*, 2021b). Esto permite la reducción de costos de energía ocasionados por esterilización. En la figura 5 se observa el efecto de las NPsAg sobre el desarrollo *in vitro* de papa.

Además de las NPsAg, algunas nanoestructuras y nanopartículas como el dióxido de silicio (SiO_2 -NPs), cobre (Cu-NPs) y nanotubos de carbono (CNTs) pueden llegar a tener un efecto favorable sobre el desarrollo en plantas, también conocido como efecto hormético (Iavicoli *et al.*, 2018; Acharya y Pal, 2020; Jalal *et al.*, 2021; Sorcia-Morales *et al.*, 2021). Las plantas, para su óptimo desarrollo requieren pequeñas cantidades de metales esenciales (Fe, Mn, Zn, Cu, Mg, Mo y Ni) y no esenciales (Cd, Sb, Cr, Se), muchos de estos iones actúan como cofactores, que son necesarios para la acción de una enzima; sin embargo, la presencia en exceso puede conducir a una reducción o inhibición del crecimiento en plantas. La hormesis en las plantas puede ser inducida por factores físicos o químicos como radiación, temperatura, gases, iones metálicos y herbicidas (Agathokleous *et al.*, 2019; Jalal *et al.*, 2021).



FIGURA 5. Efecto de las nanopartículas de plata sobre el desarrollo *in vitro* de papa después de cuatro semanas de cultivo. a) 0, b) 25, c) 50, d) 100 y e) 200 mg L⁻¹ de NPsAg.



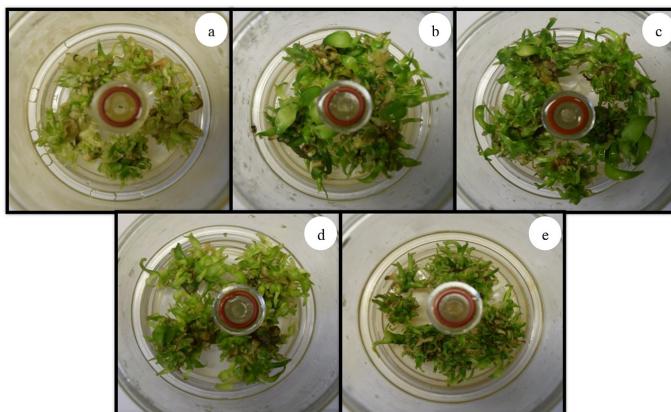
Fuente: Elaboración de los autores.

Efecto hormético de las NPsAg durante la microporpagación

Además de sus propiedades antimicrobianas e inhibición de los síntomas de etileno, recientemente se ha demostrado que las NPsAg tienen gran influencia en la germinación, crecimiento y desarrollo de las plantas (Ma *et al.*, 2010; Spinoso-Castillo *et al.*, 2017; Hu y Xianyu, 2021; Tung *et al.*, 2021b). El efecto hormético o también llamado hormesis se caracteriza por estimular el desarrollo a concentraciones bajas e inhibición a concentraciones altas. El estímulo sobre el desarrollo depende de las características fisicoquímicas de las nanopartículas a utilizar como el tamaño, forma, agente estabilizante (recubrimiento) y concentración del metal (Agathokleous *et al.*, 2020; Jalal *et al.*, 2021). Además, cada tipo de nanopartícula debe ser evaluada para cada especie de planta. Esto debido a que no se puede generalizar un efecto esperado de las nanopartículas a una concentración determinada. Se ha reportado que algunos tipos de nanopartículas pueden inducir hormesis en plantas (Spinoso-Castillo *et al.*, 2017). En trabajos previos a través de técnicas de CTV, se ha demostrado el efecto hormético en un rango de concentraciones de 25-200 mg L⁻¹ de NPsAg en especies como vainilla (*V. planifolia*), caña de azúcar (*Saccharum spp.*) y estevia (*S. rebaudiana*) (Spinoso-Castillo *et al.*, 2017; Bello-Bello *et al.*, 2017; Castro-González *et al.*, 2019). El efecto para estimular el desarrollo en estas especies se encontró en concentraciones de 25 a 50 mg L⁻¹ de NPsAg; mientras que el efecto de inhibición del desarrollo ocurrió en un rango de 100 a 200 mg L⁻¹ de NPsAg. En otras especies, concentraciones menores a 25 mg L⁻¹ de NPsAg han aumentado el crecimiento y diferenciación *in vitro* de pasto

chino (*Pennisetum alopecuroides* L.), suculenta (*Caralluma tuberculata* R.Br.) y rosa (*Rosa hybrida* L.) var. Baby Love (Parzymies *et al.*, 2019; Ali *et al.*, 2019; Ngan *et al.*, 2020). En la figura 6 se muestra el efecto de las NPsAg sobre la multiplicación *in vitro* de vainilla (*V. planifolia*).

FIGURA 6. Efecto de las NPsAg sobre la multiplicación *in vitro* de vainilla (*V. planifolia*) después de 30 días de cultivo en un sistema de inmersión temporal cada 6 h. a) 0, b) 25, c) 50, d) 100 y e) 200 mg L⁻¹ de NPsAg.



Fuente: Elaboración de los autores.

Discusión

El uso de la bionanotecnología contribuye a la solución de problemas relacionados con la producción, transformación y conservación de productos en la agricultura (Castro-González *et al.*, 2019; Acharya y Pal, 2020; Hu y Xianyu, 2021). De manera general, las NPsAg poseen un gran potencial para su uso en la agricultura; sin embargo, debemos considerar que el tamaño de partícula, forma, agente de recubrimiento, el tiempo de exposición, los niveles de agregación y la concentración de plata podría ocasionar efectos diferentes en plantas (Castro-González *et al.*, 2019; Shaikhhaldein *et al.*, 2020; Jalal *et al.*, 2021). Además, es importante realizar la caracterización de las NPsAg utilizadas y estudiar los mecanismos de acción fisiológicos, bioquímicos y genéticos a nivel de nanopartículas en plantas. Así como analizar los posibles efectos genotóxico y citotóxico en plantas, debido a que las NPsAg de menor tamaño se internalizan en las células con efectos sobre la división y reparación celular (Panda *et al.*, 2016; Bello-Bello *et al.*, 2018; Castro-González *et al.*, 2019). Esto contribuye a determinar sus futuras aplicaciones para la elaboración de nanopesticidas, nanofertilizantes, nanorreguladores del crecimiento, y nanomateriales para mejorar la producción en la agricultura actual (Shang *et al.*, 2019; García-Sánchez *et al.*, 2021). La utilización de las NPsAg

tiene gran potencial en el CTV para la sanidad vegetal, conservación *in vitro* de germoplasma, producción de metabolitos, mejoramiento genético biotecnológico y la micropagación.

Conclusiones

Las NPsAg tienen aplicaciones en la micropagación para reducir la contaminación de los cultivos *in vitro*, inhibir los efectos de etileno ocasionados por el cierre hermético de los recipientes de cultivo y promover el desarrollo durante la micropagación, también conocido como hormesis. Además, las NPsAg tienen una aplicación potencial en agricultura para la eliminación de enfermedades causadas por virus, hongos y bacterias. Sin embargo, se requieren estudios sobre sus efectos genotóxico y citotóxico en plantas cuando son aplicadas a concentraciones elevadas y sus posibles efectos en microorganismos benéficos que habitan en el medio ambiente. Por último, el uso de las NPsAg podría tener aplicaciones futuras al medio ambiente sobre la reducción de la contaminación del agua y suelo.

Referencias

- Acharya, A. y Pal, P. K. (2020). Agriculture nanotechnology: translating research outcome to field applications by influencing environmental sustainability. *NanoImpact*, 19: 100232.
- Agathokleous, E., Feng, Z. y Peñuelas, J. (2020). Chlorophyll hormesis: are chlorophylls major components of stress biology in higher plants? *Sci Total Environ*, 1: 38637. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138637>.
- Agathokleous, E., Kitao, M. y Calabrese, E. J. (2019). Hormesis: a compelling platform for sophisticated plant science. *Trends Plant Sci*, 4: 318-327. <https://doi.org/10.1016/j.tplsants.2019.01.004>.
- Ahmadian, M., Babaei, A. R., Shokri, S., Hessami, S. y Arab, M. M. (2015). Controlling the *in vitro* contamination of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) single nodes explant by Nano-silver. *International Journal of Agriculture and Biosciences*, 4: 167-170.
- Ali, A., Mohammad, S., Khan, M. A., Raja, N. I., Arif, M., Kamil, A. y Mashwani, Z. U. R. (2019). Silver nanoparticles elicited *in vitro* callus cultures for accumulation of biomass and secondary metabolites in *Caralluma tuberculata*. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 47(1): 715-724. <https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1577884>.
- Almanza-Reyes, H., Moreno, S., Plascencia-López, I., Alvarado-Vera, M., Patrón-Romero, L., Borrego, B. et al. (2021). Evaluation of silver nanoparticles for the prevention of SARS-CoV-2 infection in health workers: *In vitro* and *in vivo*. *PLoS ONE*, 16(8): e0256401. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256401>.
- Arab, M. M., Yadollahi, A., Hosseini-Mazinani, M. y Bagheri, S. (2014). Effects of antimicrobial activity of silver nanoparticles on *in vitro* establishment of GN15



- (hybrid of almond peach) rootstock. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 12: 103-110.
- Aragón, C. E., Sánchez, C., González-Olmedo, J., Escalona, M., Carvalho, L. y Amâncio, S. (2014). Comparison of plantain plantlets propagated in temporary immersion bioreactors and gelled medium during *in vitro* growth and acclimatization. *Biol Plant*, 58: 29-38. <https://doi.org/10.1007/s10535-013-0381-6>.
- Bello-Bello, J. J., Schettino-Salomón, S., Ortega-Espinoza, J. et al. (2021). A temporary immersion system for mass micropropagation of pitahaya (*Hylocereus undatus*). *3 Biotech*, 11: 437. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02984-5>.
- Bello-Bello, J. J., Chávez-Santoscoy, R. A., Lecona-Guzmán, C. A. et al. (2017). Hormetic response by silver nanoparticles on *in vitro* multiplication of sugarcane (*Saccharum* spp. Cv. Mex 69-290) using a temporary immersion system. *Dose-Response*, <https://doi.org/10.1177/1559325817744945>.
- Bello-Bello, J. J., Spinoso-Castillo, J. L., Arano-Ávalos, S., Martínez-Estrada, E., Arellano-García, M. E., Pestryakov, A., Toledano-Magaña, Y., García-Ramos, J. C. y Bogdanchikova, N. (2018). Cytotoxic, genotoxic, and polymorphism effects on *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews after long-term exposure to Argovit® silver nanoparticles. *Nanomaterials*, 8, 754. <https://doi.org/10.3390/nano8100754>.
- Borrego, B., Lorenzo, G., Mota-Morales, J. D., Almanza-Reyes, H., Mateos, F., y López-Gil, E. et al. (2016). Potential application of silver nanoparticles to control the infectivity of Rift Valley fever virus *in vitro* and *in vivo*. *Nanomedicine Nanotechnology Biol Med*, 12. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2016.01.021>.
- Calabrese, E. J. (2008). Converging concepts: adaptive response, preconditioning, and the Yerkes-Dodson law are manifestations of hormesis. *J Ageing Res Rev*, 7: 8-20.
- Calabrese, E. J. y Mattson, M. P. (2011). Hormesis provides a generalized quantitative estimate of biological plasticity. *J Cell Commun Signal*, 5: 25-38. <https://doi.org/10.1007/s12079-011-0119-1>.
- Calabrese, E. J., Agathokleous, E., Kapoor, R., Dhawan, G. y Calabrese, V. (2021). Luteolin and hormesis. *Mechanisms of Ageing and Development*, 199: 111559.
- Cardoso, J. C. (2019). Silver nitrate enhances *in vitro* development and quality of shoots of *Anthurium andraeanum*. *Scientia Horticulturae*, 253: 358-363.
- Castañeda-Yslas, I. Y., Torres-Bugarín, O., García-Ramos, J. C., Toledano-Magaña, Y., Radilla-Chávez, P., Bogdanchikova, N., Pestryakov, A., Ruiz-Ruiz, B. y Arellano-García, M. E. (2021). AgNPs Argovit™ modulates cyclophosphamide-induced genotoxicity on peripheral blood erythrocytes *in vivo*. *Nanomaterials*, 11: 2096. <https://doi.org/10.3390/nano11082096>.
- Castro-González, C. G., Sánchez-Segura, L., Gómez-Merino, F. C. y Bello-Bello, J. J. (2019). Exposure of stevia (*Stevia rebaudiana* B) to silver nanoparticles *in vitro*: transport and accumulation. *Scientific Reports*, 9: 10372. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46828-y>.
- Crisan, C. M., Mocan, T., Manolea, M., Lasca, L. I., Tabaran, F. A. y Mocan, L. (2021). Review on silver nanoparticles as a novel class of antibacterial solutions. *Applied Sciences*, 11: 1120. <https://doi.org/10.3390/app11031120>.

- Da Costa, M. V. J., y Sharma, P. K. (2016). Effect of copper oxide nanoparticles on growth, morphology, photosynthesis, and antioxidant response in *Oriza sativa*. *Photosynthetica*, 54(1): 110-119. <https://doi.org/10.1007/s11099-015-0167-5>.
- Fuentes, S. R. L., Calheiros, M. B. P., Manetti-Filho, J. y Vieira, L. G. E. (2000). The effects of silver nitrate and different carbohydrate sources on somatic embryogenesis in *Coffea canephora*. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 60(1): 5-13.
- García-Sánchez, S., Gala, M. y Žoldák, G. (2021). Nanoimpact in plants: Lessons from the transcriptome. *Plants*, 10: 751. <https://doi.org/10.3390/plants10040751>.
- Giridhar, P., Indu, E. P., Vinod, K., Chandrashekhar, A. y Ravishankar, G. A. (2004). Direct somatic embryogenesis from *Coffea arabica* L. and *Coffea canephora* P ex Fr. under the influence of ethylene action inhibitor-silver nitrate. *Acta Physiologiae Plantarum*, 26(3): 299-305.
- Guo, W., Liu, W., Xu, L., Feng, P., Zhang, Y. R., Yang, W. J. y Shuai, C. J. (2020). Halloysite nanotubes loaded with nano silver for the sustained-release of antibacterial polymer nanocomposite scaffolds, *J. Mater. Sci. Technol*, 46: 237-247. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2019.11.019>.
- Hu, J. y Xianyu Y. (2021). When nano meets plants: A review on the interplay between nanoparticles and plants. *Nano Today*, 38: 101143. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2021.101143>.
- Jalal, A., Oliveira Junior, J. C., Ribeiro, J. S., Fernandes, G. C., Mariano, G. G., Trindade, V. y Reis, A. (2021). Hormesis in plants: Physiological and biochemical responses. *Ecotoxicology and environmental safety*, 207: 111225. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111225>.
- Juárez-Moreno, K. O., González, E. B., Giron-Vázquez, N., Chávez, A., Mota-Morales, J. D., Pérez-Mozqueda, L. L., García-García, M. R., Pestryakov, A., Bogdanchikova, N. (2016). Comparison of cytotoxicity and genotoxicity effects of silver nanoparticles on human cervix and breast cancer cell lines. *Human Exper Toxicol*, 36(9): 031-948. <https://doi.org/10.1177/0960327116675206>.
- Kale, S., Parishwad, G.V., Husainy, A. S. N. y Patil, A. S. (2021). Emerging agriculture applications of silver nanoparticles. *Engineered Science Food and Agroforestry*, 3: 17-22. <https://dx.doi.org/10.30919/esfaf438>.
- Iavicoli, I., Leso, V., Fontana, L. y Calabrese, E. J. (2018). Nanoparticle exposure and hormetic dose-responses: An update. *Int. J. Mol. Sci.*, 19: 805. <https://doi.org/10.3390/ijms19030805>.
- Ma, Y., Kuang, L., He, X., Bai, W., Ding, Y., Zhang, Z., Zhao, Y. y Chai, Z. (2010). Effects of rare earth oxide nanoparticles on root elongation of plants. *Chemosphere*, 78: 273-279.
- Manh-Cuong, D., Cong Du, P., Tung, H. T. et al. (2021). Silver nanoparticles as an effective stimulant in micropropagation of *Panax vietnamensis* – a valuable medicinal plant. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02095-2>.
- Ngan, H. T. M., Cuong, D. M., Tung, H. T., Nghiep, N. D., Le, B. V. y Nhut, D. T. (2020). The effect of cobalt and silver nanoparticles on overcoming leaf abscission and enhanced growth of rose (*Rosa hybrid* L. ‘Baby Love’) plantlets cultu-



- red *in vitro*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 141(2): 393-405. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01796-4>.
- Panda, K. K., Achary, V. M. M., Phaomie, G., Sahu, H. K., Parinandi, N. L. y Panda, B. B. (2016). Polyvinyl polypyrrolidone attenuates genotoxicity of silver nanoparticles synthesized via green route, tested in *Lathyrus sativus* L. root bioassay. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.*, 806: 11-23.
- Park, J. S., Naing, A. H. y Kim, C. K. (2016). Effects of ethylene on shoot initiation, leaf yellowing, and shoot tip necrosis in roses. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 127: 425-431. <https://doi.org/10.1007/s11240-016-1066-6>.
- Parzymies, M., Pudelska, K. y Poniewozik, M. (2019). The use of nano-silver for disinfection of *Pennisetum alopecuroides* plant material for tissue culture. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 18(3): 127-135. <https://doi.org/10.24326/asphc.2019.3.12>.
- Pastelín-Solano, M. C., Ramírez-Mosqueda, M. A., Bogdanchikova, N., Castro-González, C. G. y Bello-Bello, J. J. (2020). Las nanopartículas de plata afectan la micropropagación de vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews). *Agrociencia*, 54: 1-13.
- Ramírez-Mosqueda, M. A., Sánchez-Segura, L., Hernández-Valladolid, S. L. et al. (2020). Influence of silver nanoparticles on a common contaminant isolated during the establishment of *Stevia rebaudiana* Bertoni culture. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 143: 609-618. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01945-9>.
- Rodríguez, F. I., Esch, J. J., Hall, A. E., Binder, B. M., Schaller, G. E. y Bleeker, A. B. (1999). A copper cofactor for the ethylene receptor ETR1 from *Arabidopsis*. *Science*, 283: 996-998.
- Salama, D. M., Abd El-Aziz, M. E., Rizk, F. A. y Abd Elwahed, M. S. A. (2021). Applications of nanotechnology on vegetable crops. *Chemosphere*, 266: 129026.
- Sarmast, M. K., Salehi, H. y Khosh-Khui, M. (2011). Nano silver treatment is effective in reducing bacterial contaminations of *Araucaria excelsa* R. Br. var. *Glaucha* explants. *Acta Biologica Hungarica*, 62: 477-484.
- Sarmast, M. K. y Salehi, H. (2016). Silver nanoparticles: An influential element in plant nanobiotechnology. *Mol Biotechnol*, 58: 441-449. <https://doi.org/10.1007/s12033-016-9943-0>.
- Sarmast, M. K. y Salehi, H. (2021). Sub-lethal concentrations of silver nanoparticles mediate a phytostimulatory response in tobacco via the suppression of ethylene biosynthetic genes and the ethylene signaling pathway. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant*. <https://doi.org/10.1007/s11627-021-10193-1>.
- Shaikhhaldein, H.O., Al-Qurainy, F., Nadeem, M. et al. (2020). Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Ochradenus arabicus* and their physiological effect on *Maerua oblongifolia* raised *in vitro*. *Sci Rep*, 10: 17569. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74675-9>.
- Shang, Y., Hasan, M. K., Ahammed, G. J., Li, M., Yin, H. y Zhou, J. (2019). Applications of nanotechnology in plant growth and crop protection: A review. *Molecules*, 24: 2558. <https://doi.org/10.3390/molecules24142558>.
- Soria-Morales, M., Gómez-Merino, F. C., Sánchez-Segura, L., Spinoso-Castillo, J. L. y

- Bello-Bello, J. J. (2021). Multi-walled carbon nanotubes improved development during *in vitro* multiplication of sugarcane (*Saccharum* spp.) in a semi-automated bioreactor. *Plants*, 10: 2015. <https://doi.org/10.3390/plants10102015>.
- Spinoso-Castillo, J. L., Chávez-Santoscoy, R. A., Bogdanchikova, N., Pérez-Sato, J. A., Morales-Ramos, V. y Bello-Bello, J. J. (2017). Antimicrobial and hormetic effects of silver nanoparticles on *in vitro* regeneration of vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) using a temporary immersion system. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 129: 195-207. <https://doi.org/10.1007/s11240-017-1169-8>.
- Steinitz, B., Barr, N., Tabib, Y., Vaknin, Y. y Bernstein, N. (2010). Control of *in vitro* rooting and plant development in *Corymbia maculata* by silver nitrate, silver thiosulfate and thiosulfate ion. *Plant Cell Rep*, 29(11): 1315-1323.
- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M. y Murphy, A. (2015). *Plant physiology and development*. Sinauer Associates, Inc., 761.
- Thao, N. P., Khan, M. I. R., Thu, N. B. A., Hoang, X. L. T., Asgher, M., Khan, N. A. y Tran, L. S. P. (2015). Role of ethylene and its cross talk with other signaling molecules in plant responses to heavy metal stress. *Plant Physiology*, 169(1): 73-84.
- Tung, H. T., Bao, H. G., Cuong, D. M. et al. (2021b). Silver nanoparticles as the sterilant in large-scale micropropagation of chrysanthemum. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, <https://doi.org/10.1007/s11627-021-10163-7>.
- Tung, H. T., Thuong, T. T., Cuong, D. M. et al. (2021a). Silver nanoparticles improved explant disinfection, *in vitro* growth, runner formation and limited ethylene accumulation during micropropagation of strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 145: 393-403. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02015-4>.
- Vázquez-Muñoz, R., Ávalos-Borja, M. y Castro-Longoria, E. (2014). Ultrastructural analysis of *Candida albicans* when exposed to silver nanoparticles. *PLoS ONE*, 9: e108876. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108876>.
- Vázquez-Muñoz, R., Borrego, B., Juárez-Moreno, K., García-García, M., Mota Morales, J. D., Bogdanchikova, N. y Huerta-Saquero, A. (2017). Toxicity of silver nanoparticles in biological systems: Does the complexity of biological systems matter? *Toxicology letters*, 276: 11-20. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2017.05.007>.
- Villarreal-Gómez, L. J., Pérez-González, G. L., Bogdanchikova, N., Pestryakov, A., Nimaev, V., Soloveva, A., Cornejo-Bravo, J. M., y Toledoño-Magaña, Y. (2021). Antimicrobial effect of electrospun nanofibers loaded with silver nanoparticles: Influence of Ag incorporation method. *Journal of Nanomaterials*. <https://doi.org/10.1155/2021/9920755>.