

Capítulo 12

LA NANOTECNOLOGÍA EN EL CONTROL DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS E INSECTOS DE IMPORTANCIA ECONÓMICA

María Elena Sotelo Boyás¹, Silvia Bautista Baños^{1*}, Lucila Aldana Llanos¹,
Javier Solorza Feria¹, Antonio Jiménez Aparicio¹, Laura L. Barrera Necha¹, Guadalupe
Valverde Aguilar², Maribel Plascencia Jatomea³

¹ Instituto Politécnico Nacional. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Carr. Yautepec–
Jojutla, Km 6. CEPROBI 8, San Isidro, Yautepec, Morelos, México CP 62730.

² Instituto Politécnico Nacional - Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología
Avanzada. Legaria No. 694 Col. Irrigación, Delegación Miguel Hidalgo, México, D. F. CP 11500

³ Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Universidad de Sonora, Blvd. Luis
Encinas y Rosales s/n, Col. Centro, PO Box 1658, Hermosillo, Sonora México CP 83000

CONTENIDO

12.1	Introducción	297
12.2	Aplicaciones de la nanotecnología en la agricultura	297
	<i>12.2.1. Potencial de la nanotecnología en el control de hongos fitopatógenos</i>	
	<i>12.2.2. Potencial de la nanotecnología en el control de bacterias de importancia alimentaria</i>	
	<i>12.2.3. Actividad biológica de nanopartículas sintetizadas y/o combinadas con extractos botánicos en el desarrollo de bacterias patógenas</i>	
	<i>12.2.4. Actividad biológica de nanopartículas de quitosano contra bacterias y hongos</i>	
12.3	Aplicación de nanopartículas en el control de insectos de importancia económica	304
12.4	Riesgos del uso de nanomateriales	305
12.5	Conclusiones y perspectivas	306
	Referencias	306

* sbautis@ipn.mx

12.1 Introducción

Las llamadas nanociencias y nanotecnologías se han ido constituyendo en las principales áreas del desarrollo científico tecnológico en los últimos veinte años¹. La nanotecnología es una nueva ciencia que involucra la manipulación y uso de materiales con tamaños inferiores al micrómetro, la cual revela las propiedades, procesos y fenómenos de la materia en dimensiones nanométricas, teniendo la capacidad para controlar, manipular y fabricar nuevos materiales con numerosas aplicaciones, además, por su gran superficie en relación con la masa, las nanopartículas (NPs) son altamente reactivas².

La fortaleza de la nanotecnología reside básicamente en hacer productos más eficientes, multifuncionales y ahorradores de materia prima. Dentro del mercado mundial en nanotecnología está en aumento el interés por las NPs y nanocompuestos. Durante los últimos años se ha extendido el estudio de los llamados nanomateriales (NMs) y los materiales nanoestructurados, cuya característica principal radica, como se ha mencionado con anterioridad, en el tamaño de las fases involucradas, que se encuentran en el orden de los nanómetros. Se estima que hoy en día el grueso de la inversión en nanotecnología se enfoca en el desarrollo de herramientas o instrumental nanotecnológico, nuevos materiales, dispositivos novedosos e innovaciones nano-biotecnológicas.

12.2 Aplicaciones de la nanotecnología en la agricultura

Dentro de las aplicaciones que la nanotecnología está considerando en el sector agrícola se encuentran la producción agrícola y de alimentos, desarrollo de químicos como fertilizantes, herbicidas y reguladores de crecimiento, el monitoreo de las condiciones ambientales en los cultivos, como humedad, temperatura y niveles de nutrientes. Otras aplicaciones de la nanotecnología consideran la producción vegetal, i.e. nanosensores para la detección de patógenos de plantas y pesticidas y la utilización de NMs para la estabilización de bioplaguicidas entre otras^{3,4}. Además, incluye también el estudio de las interacciones físicas, químicas y biológicas entre organelos celulares y varias enfermedades causadas por patógenos. En lo que respecta a la producción agroindustrial, se habla, por un lado, de la nanoestructuración prácticamente de todo tipo de agroquímicos. Por otro lado, también se busca el diseño de materiales funcionales a aplicaciones puntuales como sistemas de irrigación mejorados o plásticos “inteligentes”. En un nivel más complejo, de lo que se habla es de “cultivos de precisión” (*precision farming*). Esto es, el uso conjunto de computadoras, sistemas de posicionamiento global y de micro/nanodispositivos sensoriales remotos para monitorear en tiempo real las condiciones ambientales y del suelo, así como del desarrollo de las plantaciones (incluyendo el estrés) y controlar los insumos empleados en las diversas etapas de la producción agrícola⁵.

12.3 Potencial de la nanotecnología en el control de hongos fitopatógenos

Los hongos fitopatógenos, pueden causar una amplia gama de enfermedades que afectan diferentes partes de las plantas cultivadas y generan grandes impactos económicos. Dentro de las investigaciones realizadas con NPs de metales para el control de fitopatógenos se citan las de Park *et al.*⁶, quienes investigaron la actividad de NPs de sílice-plata, para el control de *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Magnaporthe grisea*, *Pythium*

ultimum y *Rhizoctonia solani*, demostrando que dichas NPs fueron efectivas en inhibir el desarrollo de estos hongos a una concentración de 100 ppm; asimismo, en evaluaciones *in situ* controlaron el oídio de calabaza ya que los síntomas de la enfermedad desaparecieron de las hojas a los tres días después de aplicado el producto. Por su parte, Kim *et al.*⁷ estudiaron el efecto de la doble encapsulación de NPs de plata en solución coloidal para controlar el oídio en rosas causado por el hongo *Sphaerothe capannosa* var *rosae*. En dicho estudio se demostró que a la concentración de 5000 ppm se obtuvo un 95 % de efectividad a los dos días de aplicado sin presentar síntomas de la enfermedad durante una semana. En estudios subsecuentes⁸ se reportaron los efectos de este tipo de NPs contra el hongo *Raffaelea* sp., el cual causa la mortalidad de árboles de roble en Corea; los resultados demostraron que las NPs de plata inhibieron significativamente la presencia del hongo, independientemente de la concentración aplicada, presentando también efecto en las hifas y en el desarrollo de conidios.

Dentro de los mecanismos de acción de las NPs, Jo *et al.*⁹ mencionan que el mecanismo de la actividad antifúngica de las NPs de plata se basa en la posibilidad de que éstas se adhieran y penetren en la membrana celular causando un desbalance osmótico en las esporas, siendo efectivas contra los hongos patógenos como *Bipolaris sorokiniana* y *Magnaporthe grisea*. Gajbhiye *et al.*¹⁰ probaron la actividad antifúngica de NPs de plata en combinación con el fungicida fluconazol contra fitopatógenos como *Fusarium semitectum*, *Phoma herbarum*, *P. glomerata* y *Trichoderma* sp, en donde se reportó la inhibición máxima en *P. glomerata* (22 mm) y *Trichoderma* sp. (20 mm), mientras que no se observó actividad significativa contra *P. herbarum* (14 mm) y *F. semitectum* (14 mm). Aguilar-Méndez *et al.*¹¹ evaluaron también la actividad antifúngica de las NPs de plata mediante un método de reducción química contra *C. gloeosporioides*, causante de la antracnosis en una gran cantidad de frutas, como manzana, aguacate, mango y papaya, entre otras, y se reportó que en presencia de este tipo de NPs se inhibió hasta en un 90 % el crecimiento de este hongo. A la misma conclusión llegaron Lamsal *et al.*¹², quienes sugieren que las NPs de plata son efectivas para el control de *C. gloeosporioides*, reportando una inhibición de 84,5 % a una concentración de 50 ppm. Kim *et al.*¹³ realizaron un estudio *in vitro* en 18 hongos fitopatógenos, los cuales fueron tratados con este mismo material. Los resultados demostraron que a una concentración de 100 ppm las especies *Alternaria solani*, *F. solani*, *Monosporascus cannonballus* y *Pythium spinosum*, se inhibieron en un 100 % y el nivel más bajo de inhibición (62,4 %) se observó en *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, mientras que por su parte Krishnaraj *et al.*¹⁴ probaron diferentes concentraciones de NPs de plata para conocer los efectos en *A. alternata*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *B. cinerea* y *Curvularia lunata*, mostrando una excelente actividad inhibidora a una concentración de 15 mg contra *A. alternata* y *M. phaseolina* (2,3 cm) y una menor inhibición de *S. sclerotiorum* y *R. solani* (1,8 cm). En la tabla 12.1 se resumen los resultados de algunas investigaciones asociadas con el efecto de NMs sobre el control de hongos fitopatógenos.

12.2.1. Potencial de la nanotecnología en el control de bacterias de importancia alimentaria

El desarrollo de nuevos bactericidas es muy importante debido al reciente aumento de cepas de bacterias resistentes a los antibióticos. Actualmente, se han evaluado NPs de diversos elementos tales como el óxido de zinc, plata y oro en el desarrollo *in vitro* de numerosas

Tabla 12.1: Resumen del efecto de la aplicación de NMs en el control de hongos fitopatógenos.

NMs	Hongo	Nivel de control (%) / zona de inhibición (cm, mm)
Sílice-plata ⁶	<i>B. cinerea</i> , <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> <i>Magnaporthe grisea</i> , <i>Pythium ultimum</i> , <i>Rhizoctonia solani</i>	100 %
Plata ⁸	<i>Sphaerotheca pannosa var rosae</i>	95 %
Plata ⁹	<i>Bipolaris sorokiniana</i> <i>Magnaporthe grisea</i>	90 % 90 %
Plata y fluconazol ¹⁰	<i>Phoma glomerata</i> <i>Trichoderma</i> sp.	20 mm 22 mm
Plata ¹¹	<i>C. gloeosporioides</i>	90 %
Plata ¹²	<i>C. gloeosporioides</i>	84,5 %
Plata ¹³	<i>Alternaria alternata</i> <i>A. brassicicola</i> <i>A. solani</i> <i>B. cinerea</i> <i>Cladosporium cucumerinum</i> <i>Corynespora cassiicola</i> <i>Cylindrocarpon destructans</i> <i>Didymella bryoniae</i> <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i> <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> <i>F. oxysporum</i> <i>F. solani</i> <i>Fusarium</i> sp. <i>Glomerella cingulata</i> <i>Monosporascus cannonballus</i> <i>Pythium aphanidermatum</i> <i>Pythium spinosum</i> <i>Stemphylium lycopersici</i>	75,3 % 91,8 % 100 % 84,7 % 87,1 % 80,0 % 92,9 % 95,3 % 62,4 % 82,4 % 83,5 % 100 % 90,6 % 75,3 % 100 % 95,3 % 100 % 65,9 %
Plata ¹⁴	<i>A. alternata</i> <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> <i>Macrophomina phaseolina</i> <i>Rhizoctonia solani</i> <i>B. cinerea</i> <i>Curvularia lunata</i>	2,3 cm 1,8 cm 2,3 cm 1,8 cm 2,0 cm 1,8 cm

especies de bacterias patógenas, obteniéndose resultados alentadores (tabla 12.2). Respecto a las NPs de óxido de zinc, Narayanan *et al.*¹⁵ probaron su actividad antimicrobiana en un rango amplio de concentraciones (20-100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa*, reportando que la bacteria *P. aeruginosa* se inhibió notablemente en un rango de 25 a 30

mm, mientras que el crecimiento de *K. pneumoniae*, *E. coli* y *E. faecalis* se inhibió en un rango de 13 a 17 mm, dependiendo en ambos casos de la concentración aplicada. *S. aureus* mostró la máxima zona de inhibición de 21 mm a la concentración de 100 μg . En este mismo tenor, Tayel *et al.*¹⁶ evaluaron también el potencial bactericida de estas NPs en el desarrollo de *Salmonella typhimurium* y *S. aureus*. Se reportó una zona de inhibición de 21 y 31 mm a una concentración mínima inhibitoria de 22 y 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente. Las NPs de óxido de zinc demostraron mayor eficiencia en el control de bacterias Gram-negativas y Gram-positivas. Por su parte, Chaudhari *et al.*¹⁷ reportaron que las NPs de plata previnieron la formación de biopelículas de *S. aureus*. En otros trabajos, Amato *et al.*¹⁸ sintetizaron NPs de plata recubiertas biomiméticamente con cisteína y glutatión, las cuales se evaluaron contra *E. coli* y *S. aureus*.

Tabla 12.2: Aplicación de NMs en el control de bacterias de importancia alimentaria.

NMs	Bacteria	Nivel de control (%) o zona de inhibición (mm)
Óxido de zinc ¹⁵	<i>S. aureus</i>	21 mm
	<i>E. coli</i>	17 mm
	<i>Enterococcus faecalis</i>	13 mm
	<i>P. aeruginosa</i>	16 mm
Óxido de zinc ¹⁶	<i>Salmonella typhimurium</i>	21 mm
	<i>Salmonella aureus</i>	31mm
Plata con cisteína y glutatión ¹⁸	<i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>	100 %
Plata ¹⁹	<i>Bacillus subtilis</i> ,	28 mm
	<i>B. cereus</i> ,	24 mm
	<i>P. aeruginosa</i>	20 mm
	<i>S. aureus</i> ,	18 mm
	<i>E. coli</i>	17 mm
Plata ²⁰	<i>E.coli</i> , <i>Serratia proteamaculans</i> ,	100%
	<i>P. aeruginosa</i>	
Plata y oro en TS-1 silicalita de titanio ²¹	<i>E. coli</i> ,	100%
	<i>Salmonella typhi</i>	
Oro ²²	<i>E. coli</i>	22 mm
Plata con quitosano ²³	<i>E. coli</i> , <i>K. pneumonia</i> , <i>Salmonella</i> sp., <i>S. aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i>	100%

La concentración mínima inhibitoria que se reportó fue de 15 y 180 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente, mientras que Maity *et al.*¹⁹ reportaron también un control significativo en un amplio rango de bacterias como *Bacillus subtilis*, *B. cereus* y *P. aeruginosa*. Por su parte, Radzing *et al.*²⁰ evaluaron la acción antibacteriana de las NPs de plata en la formación de biopelículas también en *E. coli*, *Serratia proteamaculans* y *P. aeruginosa*. Se observó que la inhibición mayor de las biopelículas bacterianas fue con las concentraciones de 4-5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 10-20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ y 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente. Guerra *et al.*²¹ evaluaron la aplicación de NPs de plata y oro dispersas en silicalita de titanio, como biocidas para *E. coli* y *S. typhi*. Los mejores resultados se reportaron con *S. typhi*, ya que la bacteria se eliminó al 100 % en un período no mayor a los 90 min de exposición, en comparación con las NPs de oro y plata donde estos microorganismos no se controlaron totalmente. Respecto a las NPs de oro,

Arshi *et al.*²² y Rodríguez-Argüelles *et al.*²³ observaron una alta actividad antibacteriana en *E. coli* con la aplicación de estos compuestos, con una zona de inhibición de 22 mm.

12.2.2. Actividad biológica de NPs sintetizadas y/o combinadas con extractos botánicos en el desarrollo de bacterias patógenas

Las plantas producen metabolitos secundarios que cumplen con funciones específicas tales como acción fungicida y pesticida. Actualmente, éstos también son utilizados para la síntesis, estabilización y fabricación de NPs (tabla 12.3). Al respecto, Mubarak Ali *et al.*²⁴ utilizaron el extracto de la menta (*Mentha piperita*) para la síntesis de NPs de oro y plata, las cuales se evaluaron en *S. aureus* y *E. coli* observándose que estos NMs tuvieron mayor actividad antibacteriana sobre la bacteria Gram negativa (*E. coli*) en comparación con la Gram positiva (*S. aureus*). Los autores mencionan que esto pudo deberse a la variación en la composición de la pared celular entre ambas bacterias; caso contrario sucedió en los estudios llevados a cabo por Kumar *et al.*²⁵ y Mohammad *et al.*²⁶ utilizando extractos de frutos de Haritaki (*Terminalia chebula*) y de hojas de eucalipto (*Eucalyptus chapmaniana*).

Tabla 12.3: Resumen de la actividad biológica bactericida de NPs sintetizadas a partir de especies botánicas.

NMs	Planta utilizada	Bacteria	Nivel de control (%) ó zona de inhibición (mm)
Poli (D, L-lactido-co-glicolida) ³¹	Haronga (<i>Harungana madagascariensis</i>)	<i>Micrococcus luteus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Moraxella</i> sp.	100%
Plata ³²	Chicalote (<i>Argemone mexicana</i>)	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Aspergillus flavus</i> ,	100%
Oro y plata ²⁴	Menta (<i>Mentha piperita</i>)	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>	100%
Plata ²⁷	Artemisia (<i>Artemisia nilagirica</i>)	<i>S. aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>Proteus subtilis</i>	2,8 mm 3,0 mm 2,0 mm 1,9 mm
Plata ²⁶	Eucalipto (<i>Eucalyptus chapmaniana</i>)	<i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>S. aureus</i> <i>Candida albicans</i>	23 mm 23 mm 23 mm 23 mm 27 mm 25 mm
Plata ²⁸	Mango (<i>Mangifera indica</i>)	<i>E.coli</i> , <i>S. aureus</i> <i>Bacillus subtilis</i>	13 mm 14,5 mm 11 mm
Plata ²⁹	Piñas de pino (<i>Pinusthunbergii</i>)	<i>Bacillus megaterium</i> , <i>Pseudomonas syringae</i> , <i>Burkholderia glumae</i> , <i>Xanthomonas oryzae</i> <i>Bacillus thuringiensis</i>	1,2 mm 8,9 mm 8,6 mm 4,2 mm 10 mm
Plata ³⁰	Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	<i>Pseudomonas eruginosa</i> <i>S. aureus</i>	95,52% 62,73%
Plata ³³	Vinca (<i>Vinca rosea</i>)	<i>S. aureus</i> , <i>Lactobacillus</i> <i>Pseudomona fluorescens</i>	12 mm 15 mm 13 mm

para la síntesis de NPs de oro y plata, respectivamente. Los primeros autores probaron la acción bactericida en *E. coli* y *S. aureus* mientras que los segundos, además de probar su efectividad en *P. aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* y *Candida albicans*, reportaron una mayor inhibición en *S. aureus* y *C. albicans* con el uso de estos dos NMs, ambas bacterias Gram positivas. Otras especies botánicas utilizadas para la síntesis de NPs han sido la hierba de San Juan (*Artemisia nilagirica*), mango (*Mangifera indica*), piña de pino (*Pinus thunbergii*) y romero (*Rosmarinus officinalis*). En el primer caso, Vijayakumar *et al.*²⁷ obtuvieron NPs de plata a partir de la hierba de San Juan obteniendo la mayor zona de inhibición en *Bacillus subtilis* (3,0 mm), seguida de *S. aureus* (2,8 mm), *E. coli* (2,0 mm) y *P. subtilis* (1,9 m). Yang y Li²⁸ también sintetizaron NPs de plata pero con el extracto de la cáscara de mango, con la finalidad de probar su efecto en *E. coli*, *S. aureus* y *B. subtilis*. Se observó una zona de inhibición para cada patógeno de 13, 14,5 y 11 mm, respectivamente, lo que demuestra que los residuos frutícolas pueden ser utilizados para una síntesis consistente y rápida de NPs de este tipo.

En el caso del extracto de piña de pino, éste fue utilizado para reaccionar con iones de nitrato de plata y servir como una matriz y estabilizar las NPs, la cuales presentaron una zona de inhibición significativa sólo en dos de cinco bacterias probadas: *Burkholderia glumae* y *Xanthomonas oryzae*²⁹. Das y Velusamy³⁰ sintetizaron NPs de plata a partir del extracto de romero y evaluaron su efecto en *P. aeruginosa* y *S. aureus*. Los resultados fueron notables ya que el crecimiento de *P. aeruginosa* se inhibió hasta un 95,5 % mientras que *S. aureus* se redujo en un 62,7 % a la concentración de 20 µg.mL⁻¹.

El desarrollo de NMs combinados con extractos de plantas también se ha evaluado en una diversidad de bacterias patógenas. Al respecto, Moulari *et al.*³¹ reportan una actividad bactericida significativa con el extracto de la hoja de la Haronga (*Harungana madagascariensis*) incorporado a NPs de poli (D, L-lactida-co-glicolida) en *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Moraxella* sp. Los resultados demostraron un 100 % de inhibición en el desarrollo de estas bacterias con la aplicación de esta combinación. En otra investigación relacionada, Singh *et al.*³² observaron un efecto antibacterial notable contra *E. coli* y *Pseudomona aeruginosa* con NPs de plata y el extracto de hojas de chicalote (*Argemone mexicana*).

En otras investigaciones también se ha evaluado el posible efecto de NPs de especies vegetales, tal es el estudio reportado por Kotakadi *et al.*³³, quienes sintetizaron NPs de vinca (*Vinca rosea*) para su evaluación contra *S. aureus*, *Lactobacillus* sp. y *Pseudomona fluorescens*. Los resultados mostraron una zona de inhibición significativa de 12, 15 y 13 mm respecto al control, respectivamente.

12.2.3. Actividad biológica de NPs de quitosano en microorganismos patógenos

Otro compuesto natural que se ha estado utilizando en la síntesis de NPs es el quitosano, que es una biomacromolécula ampliamente estudiada, la cual se deriva típicamente de la quitina (2-acetamido-2-desoxi-β-1-4-D-glucano), un componente principal del exoesqueleto de insectos y crustáceos. El quitosano tiene amplio espectro de actividad y una alta tasa de control en hongos fitopatógenos y bacterias Gram positivas y Gram negativas^{34,35,36}. Shi *et al.*³⁷ realizaron estudios *in vitro* para reducir el desarrollo de *S. aureus* y *S. epidermidis*. Se

observó una reducción de 103 veces el número de células bacterianas viables al momento de ponerlas en contacto con este tipo de NPs. En estudios subsecuentes, Ali *et al.*³⁸ sintetizaron NPs de quitosano mediante el método de gelificación iónica, probando su efecto también sobre *S. aureus*. Los resultados indicaron que el tamaño de la partícula, la concentración y el pH influyeron en la actividad antibacteriana. Por otro lado, el estudio de la combinación del quitosano con NPs de plata se ha reportado en varios trabajos. Así, Sanpui *et al.*³⁹ sintetizaron NPs de plata y quitosano y evaluaron su efecto en *E. coli*. Los resultados demostraron que la bacteria se inhibió en su totalidad a una concentración mínima de 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. En un estudio similar, Wei *et al.*⁴⁰ sintetizaron NPs de plata mediante la reducción de sales de nitrato de plata y la incorporación de quitosano, observándose una actividad antibacteriana significativa en una concentración mínima inhibitoria de 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Los resultados también indican que las NPs de plata con quitosano tuvieron doble mecanismo de acción: efecto bactericida de las NPs de plata y efecto catiónico del quitosano, lo que puede resultar útil para una amplia variedad de aplicaciones biológicas. Otros autores⁴¹ evaluaron el efecto de NPs de quitosano con cobre en el desarrollo de *E. coli*, *S. choleraesuis*, *S. typhimurium* y *S. aureus*, las cuales se inhibieron notablemente a concentraciones mínimas de 2 y 4 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Por su parte, Vimala *et al.*⁴² elaboraron películas de quitosano impregnadas con NPs de plata las cuales demostraron tener un amplia inhibición en *E. coli*, *Bacillus* sp. y *Klebsiella pneumoniae* mientras que Rodríguez-Arguelles *et al.*²³ demostraron una concentración mínima inhibitoria de 1,3 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para *E. coli* y 2,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para *K. pneumoniae*, *Salmonella* sp., *S. aureus* y *Bacillus cereus* con estas NPs. Por su parte, Du *et al.*⁴³ realizaron estudios con diferentes iones metálicos como nitrato de plata, sulfato de cobre, sulfato de zinc, sulfato de manganeso y sulfato férrico adicionados a NPs de quitosano. Se reportó que la combinación quitosano/plata tuvo mayor actividad antibacteriana sobre *E. coli* y *S. aureus*, con una concentración mínima inhibitoria de 3 y 6 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente.

Otros compuestos reportados que incrementaron la actividad bacteriana de las NPs de quitosano, fueron conservadores de alimentos como la eritrosina y la nisina. Al respecto, Chueh-Pin *et al.*⁴⁴ investigaron la capacidad bactericida de este tipo de NPs con eritrosina para potenciar su actividad contra *Streptococcus mutans*, *P. aeruginosa* y *Candida albicans*, mediante la evaluación por inactivación fotodinámica. Los resultados demostraron que las bacterias expuestas a intervalos de oscuridad no mostraron toxicidad, en comparación con los expuestos a la luz, donde se observó una disminución significativa de las células viables, demostrando que las NPs combinadas con la eritrosina mejoraron el efecto antimicrobiano. Por su parte, Zohri *et al.*⁴⁵ también investigaron el efecto de las NPs de quitosano con nisina en el control de *S. aureus* y *Listeria monocytogenes*, observándose una reducción en la población bacteriana a los 7 días de la aplicación, con menos de 106 unidades formadoras de colonias.

Pocos estudios se han reportado en NPs de quitosano en el control de hongos fitopatógenos; sin embargo, Chookhongkha *et al.*⁴⁶ evaluaron su efecto en el control de algunos de ellos como *Rhizopus* sp, *Colletotrichum capsici*, *C. gloeosporioides* y *Aspergillus niger*. Se observó un crecimiento micelial mínimo de 2,8; 2,2; 2,4 y 5,5; respectivamente, con la concentración de 0,6 % (w/v). En la tabla 12.4 se resumen los efectos de la aplicación de algunas combinaciones de quitosano en el desarrollo de hongos y bacterias patógenas.

Tabla 12.4: Resumen del efecto de la aplicación de NPs de quitosano en el control de hongos y bacterias.

NMs	Bacteria/hongo	Nivel de control (%) o zona de inhibición (mm)
Quitosano ⁴⁶	<i>Rhizopus</i> sp, <i>Colletotrichum capsici</i> , <i>C. gloeosporioides</i> , <i>Aspergillus niger</i>	95 %
Quitosano ³⁷	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i>	100 %
Quitosano ³⁸	<i>S. aureus</i>	90 %
Plata y quitosano ^{39,40}	<i>E. coli</i>	100 %
Plata y quitosano ⁴²	<i>E. coli</i>	20 mm
	<i>Bacillus</i> sp	22 mm
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	17 mm
Plata y quitosano ²³	<i>K. pneumonia</i> , <i>Salmonella</i> sp.	100 %
	<i>S. aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i>	
Quitosano y eritrosina ⁴⁴	<i>Streptococcus mutans</i> ,	85 %
	<i>P. aeruginosa</i>	90 %
	<i>Candida albicans</i>	90 %
Quitosano y nisina ⁴⁵	<i>S. aureus</i>	90 %
	<i>Listeria monocytogenes</i>	90 %

12.3 Aplicación de NPs en el control de insectos de importancia económica

En relación al desarrollo de NPs y su aplicación en el control de insectos el extracto de hojas de la rosa de china (*Hibiscus rosasinensis*) se utilizó para evaluar la actividad biológica en combinación con NPs de plata contra la larva del mosquito tigre de Asia (*Aedes albopictus*). En este estudio, el compuesto combinado a concentración de 5 mg L⁻¹ causó una mortalidad larval del 100 % en un tiempo máximo de 3 h⁴⁷. Por su parte, Kumar *et al.*⁴⁸ utilizaron extractos de té limón (*Cymbopogon citratus*) para la síntesis de NPs de oro en el control de *Culex quinquefasciatus* y de las cinco concentraciones utilizadas (0,2; 0,4; 0,8; 1,6 y 3,2 ppm) se observó una mortalidad del 100 % a la concentración de 3,2 ppm. Según Soni *et al.*⁴⁹ el control de *C. quinquefasciatus* y del mosquito vector de la malaria *Anopheles stephensi* fue significativo mediante la aplicación de NPs de oro y plata. En el estudio, se observó mayor efectividad de las NPs de oro en larvas del primer y segundo estadio de *A. stephensi* con un 100 % de mortalidad con la concentración de 12 ppm, mientras que las larvas del primer y segundo estadio de *C. quinquefasciatus* fueron más susceptible a las NPs de plata con un 100 % de mortalidad a 6 ppm. Rajakumar y Rahuman⁵⁰ reportaron resultados significativos con la aplicación de NPs a partir de extractos botánicos. Los investigadores valoraron la actividad larvicida en cuatro estadios de *C. quinquefasciatus* y de *A. subpictus* de NPs de plata sintetizadas con el extracto de la falsa margarita (*Eclipta prostrata*). Los resultados mostraron una alta efectividad en una concentración de 10 mg.L⁻¹ obteniéndose 100 % de mortalidad larval en ambas especies. Santhoshkumar *et al.*⁵¹ evaluaron la actividad del extracto del tallo de vid hiedra (*Cissus quadrangularis*) para la síntesis de NPs de plata contra moscas adultas (*Hippobos camaculata*), los resultados indicaron una mortalidad de las moscas del 100 % a una concentración de 25 mg.L⁻¹.

En relación a los insectos plaga de importancia agrícola, pocos estudios se han reportado. Al respecto, Debnath *et al.*⁵² evaluaron el efecto de NPs de sílice contra *Sitophilus oryzae*, insecto que ataca al arroz, frijol y sorgo, observando una mortalidad del 90 % de los adultos de *S. oryzae* a los dos días con una dosis de 2 g.Kg⁻¹. En estudios posteriores, Zahir *et al.*⁵³ sintetizaron NPs de plata usando extracto de hojas de hierba de la golondrina (*Euphorbia prostrata*), el estudio se basó en evaluar la actividad y efectividad sobre esta plaga, demostrándose que la síntesis de NPs de plata y *E. prostrata* fue efectiva. causando 100 % de mortalidad en adultos de *S. oryzae* a los siete días del tratamiento. Por su parte Rouhani *et al.*⁵⁴ evaluaron el efecto insecticida de NPs de plata y plata-zinc en *Aphis nerii*, calculando el valor de LC₅₀ en 424,67 mg.mL⁻¹ y 539,46 mg.mL⁻¹, respectivamente, concluyendo que las NPs de plata pueden ser usadas en programas de manejo de plagas. En la tabla 12.5 se resumen los efectos de algunos NMs en el control de insectos.

Tabla 12.5: Resumen de la aplicación de NMs sintetizados a partir de especies botánicas en el control de insectos de importancia económica.

NMs	Planta utilizada	Insecto	Nivel de control
NPs de plata ⁴⁷	Rosa de china (<i>Hibiscus rosasinensis</i>)	Mosquito tigre de Asia (<i>Aedes albopictus</i>)	100%
NPs de plata ⁵³	Hierba de la golondrina (<i>Euphorbia prostrata</i>)	Gorgojo del arroz (<i>Sitophilus oryzae</i>)	100%
NPs de plata ⁵⁰	Falsa margarita (<i>Eclipta prostrata</i>),	Vector de la filariasis (<i>Culex quinquefasciatus</i>); vector de la malaria (<i>Anopheles subpictus</i>)	100%
NPs de oro ²⁵	Hierba limón (<i>Cymbopogon citratus</i>)	<i>C. quinquefasciatus</i>	100%
NPs de plata ⁵¹	Vid hiedra (<i>Cissus quadrangularis</i>)	Mosca (<i>Hippobosca maculata</i>)	100%

12.4 Riesgos del uso de NMs

Mientras que la nanotecnología al parecer ofrece muchas oportunidades de innovación en el campo de la fitosanidad, el uso de los NMs se cuestiona ya que aún se desconoce su impacto en el medio ambiente lo cual obliga a la necesidad de un análisis del ciclo de vida completo de éstas, realizando las investigaciones adecuadas sobre su toxicología. Es importante analizar los impactos que tendría la liberación de NPs ¿Dónde se depositarán? ¿Con qué se combinarán y qué reacciones químicas pudieran detonar con otros elementos, en los organismos y en el ambiente? Según Kalpana *et al.*⁵⁵ existen tres tipos de riesgos que se pudieran derivar de la aplicación de esta tecnología: los ambientales, derivados de los procesos de preparación y aplicación de los NMs en suelo y agua; riesgos sociales, derivados de los altos costos de esta tecnología, la cual pudiera estar restringida a un sector privado; y riesgos a la salud humana, debido al tamaño tan pequeño de las NPs y a la gran superficie de contacto, ya que éstas se dispersan con facilidad y se pudieran unir a los tejidos humanos. De acuerdo a Elliott⁵⁶, en su forma libre o formando parte de una sustancia, las NPs se pueden liberar al aire o a agua o como subproductos de desecho para finalmente acumularse en el suelo y agua, conformando tal vez una nueva clase de contaminantes.

12.5 Conclusiones y perspectivas

El estudio de los NMs y su efecto ha involucrado principalmente aspectos de control *in vitro*, por lo que es necesaria la extensión de estas evaluaciones al campo práctico del control. La identificación de nuevos NMs y su desarrollo y aplicación como nanofungicidas y nanoplaguicidas es una línea que debe continuar. El diseño, caracterización y aplicación de NMs solos o en combinación con otros compuestos naturales (extractos y aceites botánicos, quitosano, metabolitos secundarios etc.), previamente reportados con excelentes propiedades antimicrobianas también debe considerarse en investigaciones futuras ya que actualmente se cuestiona el uso de algunos NMs de carácter inorgánico. Debido a que actualmente esta tecnología es aún incipiente en el campo de la fitosanidad, será necesario evaluar el riesgo tóxico que pudiera existir con el uso de los nuevos NMs, necesiéndose evaluar el ciclo de vida completo de éstas. Asimismo, la aplicación de NMs en el campo del control de microorganismos patógenos e insectos debería también generar reglamentos necesarios para su aplicación.

Referencias

1. J Gulín-González. Tercer seminario internacional de nanociencias y nanotecnologías. **Rev. CENIC Ciencias Quím.**, **41(2)**, 144-145 (2010).
2. J Mazo-Zuluaga. Una mirada al estudio y las aplicaciones tecnológicas y biomédicas de la magnetita. Escuela de Ingeniería de Antioquia, Medellín (Colombia). **Rev. EIA**, **16**, 207-223 (2011).
3. H Chen, R Yada. Nanotechnologies in agriculture: New tools for sustainable development. **Trends Food Tech.**, **22**, 85-594 (2011).
4. V Ghormade, M Deshpande, K Paknikar. Perspectives for nano-biotechnology enable protection of plants. **Biotechnol. Adv.**, **29**,792-803 (2011).
5. S Neethirajan, D Jayas. Nanotechnology for the food and bioprocessing industries. **Food Bioprocess. Tech.**, **4**, 39-47 (2010).
6. H Park, S Kim, H Kim, S Choi. A new composition of nanosized silica-silver for control of various plant diseases. **J. Plant Pathol.**, **22**, 295-302 (2006).
7. H Kim, H Kang, G Chu, G Byun. Antifungal effectiveness of nanosilver colloid against rose powdery mildew in greenhouses. **Solid State Phenom.**, **153**, 15-18 (2008).
8. S Kim, K Kim, K Lamsal, Y Kim, S Kim, M Jung, S Sim, H Kim, S Chang, J Kim, Y Lee. An *in vitro* study of the antifungal effect of silver nanoparticles on oak wilt pathogen *Raffaelea* sp. **J. Microbiol. Biotechnol.**, **19**, 760-764 (2009).
9. Y Jo, B Kim, G Jung. Antifungal activity of silver ions and nanoparticles on phytopathogenic fungi. **Plant Dis.**, **94**, 1037-1043 (2009).
10. M Gajbhiye, J Kesharwani, A Ingle, A Gade, M Rai. Fungus mediated synthesis of silver nano-particles and its activity against pathogenic fungi in combination of fluconazole. **Nanomedicine**, **5**, 282-286 (2009).
11. MA Aguilar-Méndez, E San Martín-Martínez, L Ortega-Arroyo, G Cobián-Portillo, E Sánchez-Espíndola. Synthesis and characterization of silver nanoparticles: effect on phytopathogen *Colletotrichum gloeosporioides*. **J. Nanopart. Res.**, **13**, 2525-2532 (2010).
12. K Lamsal, S Kim, J Jungi, Y Kim, K Kim, Y Lee. Application of silver nanoparticles for the control of *Colletotrichum* Species *in vitro* and pepper anthracnose disease in field. **Mycobiol.**, **39**, 194-199 (2011).

13. S Kim, J Jung, K Lamsal, Y Kim, J Min, Y Lee. Antifungal effects of silver nanoparticles (AgNPs) against various plant pathogenic fungi. **Mycobiol.**, **40**, 53-58 (2012).
14. C Krishnaraj, R Ramachandran, K Mohan, P Kalaichelvan. Optimization for rapid synthesis of silver nanoparticles and its effect on phytopathogenic fungi. **Spectrochim. Acta Part A**, **93**, 95- 99 (2012).
15. P Narayanan, W Wilson, A Abraham, M Sevanan. Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles against human pathogens. **BioNanoSci.**, **2**, 329-335 (2012).
16. A Tayel, W El-Tras, S Moussa, A El-Baz, H Mahrous, M Salem, L Brimer. Antibacterial action of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens. **J. Food Saf.**, **31**, 211-218. (2011).
17. P Chaudhari, S Masurkar, V Shidore, S Kamble. Effect of biosynthesized silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus* biofilm quenching and prevention of biofilm formation. **Int. J Pharm. BioSci.**, **3**, 222-229 (2012).
18. E Amato, Y Diaz-Fernandez, A Taglietti, P Pallavicini, L Pasotti, L Cucca, C Milanese, P Grisoli, C Dacarro, J Fernandez-Hechavarria, V Necchi. Synthesis, characterization and anti-bacterial activity against gram positive and gram negative bacteria of biomimetically coated silver nanoparticles. **Langmuir**, **27**, 9165-9173 (2011).
19. D Maity, M Mollick, D Mondal, B Bhowmick, M B ain, K Bankura, J Sarkar, K Acharya, D Chattopadhyay. Synthesis of methylcellulose–silver nanocomposite and investigation of mechanical and antimicrobial properties. **Carbohydr. Polym.**, **90**, 1818-1825 (2012).
20. M Radzig, V Nadochenko, O Koksharova, J Kiwi, V Lipasova, I Khmel. Antibacterial effects of silver nanoparticles on gram-negative bacteria: Influence on the growth and biofilms formation, mechanisms of action. **Colloids Surf B.**, **102**, 300-306 (2013).
21. R Guerra, E Lima, A Guzmán. Antimicrobial supported nanoparticles: Gold versus silver for the cases of *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. **Micropor. Mesopor. Mat.**, **170**, 62-66 (2013).
22. N Arshi, F Ahmed, S Kumar, M.S Anwar, J Lu, B Koo, C Lee. Microwave assisted synthesis of gold nanoparticles and their antibacterial activity against *Escherichia coli* (*E. coli*). **Curr. Appl. Phys.**, **11**, S360-S363 (2011).
23. M Rodríguez-Argüelles, C S ieiro, R Ca o, L Nasi. Chitosan and silver nanoparticles as pudding with raisins with antimicrobial properties. **J. Colloid Inter. Sci.**, **364**, 80-84 (2011).
24. D Mubarak-Ali, N Thajuddin, K Jeganathan, M Gunasekaran. Plant extract mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and its antibacterial activity against clinically isolated pathogens. **Colloids Surf. B.**, **85**, 360-365 (2011).
25. K Kumar, B Kumar, M Sinha, V Krishnakumar. *Terminalia chebula* mediated green and rapid synthesis of gold nanoparticles. **Spectrochim. Acta Part A**, **86**, 490- 494 (2012).
26. G Mohammad, W Mohammed, T Marzoog, A Al-Amiery, A Kadhum, A Mohamad. Green synthesis, antimicrobial and cytotoxic effects of silver nanoparticles using *Eucalyptus chapmaniana* leaves extract. **Asian Pac. J. Trop. Biomed.**, **3**, 58-63 (2013).
27. M Vijayakumar, K Priya, F Nancy, A Noorlidah, A Ahmed. Biosynthesis, characterisation and antibacterial effect of plant-mediated silver nanoparticles using *Artemisia nilagirica*. **Ind. Crop. Prod.**, **41**, 235-240 (2013).
28. N Yang, WH Li. Mango peel extract mediated novel route for synthesis of silver nanoparticles and antibacterial application of silver nanoparticles loaded onto non-woven fabrics. **Ind. Crop. Prod.**, **48**, 81-88 (2013).
29. P Velmurugan, L Sang-Myung, M Iydroose, L Kui-Jae, O Byung-Taek. Pine cone-mediated green synthesis of silver nanoparticles and their antibacterial activity against agricultural pathogens. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, **97**, 361-368 (2013).

30. J Das, P Velusamy. Antibacterial effects of biosynthesized silver nanoparticles using aqueous leaf extract of *Rosmarinus officinalis* L. **Mater. Res. Bull.**, **48(11)**, 4531-4537 (2013).
31. B Moulari, H Lboutounne, Y Pellequer, Y Guillaume, J Millet, F Piro. Vectorization of *Harungana madagascariensis* Lam. Ex Poir. (Hypericaceae) ethanolic leaf extract by using LG nanoparticles: Antibacterial activity assessment. **Drug Dev. Res.**, **65**, 26-33 (2005).
32. N Singh, D Jain, M Upadhyay, N Khandelwal, H Verma. Green synthesis of silver nanoparticles using *Argemone mexicana* leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities. **Dig. J. Nanomater. Bios.**, **5**, 483-489 (2010).
33. VS Kotakadi, YS Rao, SA Gaddam, TN Prasad, AV Reddy, DV Gopal. Simple and rapid biosynthesis of stable silver nanoparticles using dried leaves of *Catharanthus roseus*. Linn. G. Donn and its anti microbial activity. **Colloids Surf. B**, **105**, 194-198 (2013).
34. A Martínez-Camacho, M Cortez-Rocha, J Ezquerro-Brauer, A Graciano-Verdugo, F Rodríguez-Félix, M Castillo-Ortega, M Yépiz-Gómez, M Plascencia-Jatomea. Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal properties. **Carbohydr. Polym.**, **82**, 305-315 (2010).
35. A Martínez-Camacho, M Cortez-Rocha, M Castillo-Ortega, A Burgos-Hernández, J Ezquerro-Brauer, M Plascencia-Jatomea. Antimicrobial activity of chitosan nanofibers obtained by electro-spinning. Review. **Polym. Int.**, **60**, 1663-1669 (2011).
36. O Cota-Arriola, M Cortez-Rocha, A Burgos-Hernández, J Ezquerro-Brauer, M Plascencia-Jatomea. Controlled release matrices and micro/nanoparticles of chitosan with antimicrobial potential: development of new strategies for microbial control in agriculture. Review. **J. Sci. Food Agric.**, **93**, 1525-1536 (2013).
37. Z Shi, K Neoh, E Kang, W Wang. Antibacterial and mechanical properties of bone cement impregnated with chitosan nanoparticles. **Biomater.**, **27**, 2440-2449 (2006).
38. S Ali, M Joshi. Synthesis and characterization of chitosan nanoparticles with enhanced anti-microbial activity. **Int. J. Nanosci.**, **10**, 979-984 (2011).
39. P Sanpui, A Murugadoss, P Durga, S Sankar, A Chattopadhyay. The antibacterial properties of a novel chitosan-Ag-nanoparticle composite. **Int. J. Food Microbiol.**, **124**, 142-146 (2008).
40. D Wei, W Sun, W Qian, Y Ye, X Xiaoyuan. The synthesis of chitosan-based silver nano-particles and their antibacterial activity. **Carbohydr. Res.**, **344**, 2375-2382 (2009).
41. L Qi, Z Xu, X Jiang, C Hu, X Zou. Preparation and antibacterial activity of chitosan nano-particles. **Carbohydr. Res.**, **339**, 2693-2700 (2004).
42. K Vimala, Y Murali Mohan, K Samba Sivudu, K Varaprasad, S Ravindra, N Narayana Reddy, Y Padma, B Sreedhar, K Mohana Raju. Fabrication of porous chitosan films impregnated with silver nanoparticles: A facile approach for superior antibacterial application. **Colloids Surf. B**, **76**, 248-258 (2010).
43. WL Du, SS Niu, YL Xu, ZR Xu, CL Fan. Antibacterial activity of chitosan tripolyphosphate nanoparticles loaded with various metal ions. **Carbohydr. Polym.**, **75**, 385-389 (2009).
44. C Chueh-Pin, C Chin-Tin, T Tsuimin. Chitosan nanoparticles for antimicrobial photo-dynamic inactivation: characterization and *in vitro* investigation. **J. Photochem. Photobiol.**, **88**, 570-576 (2012).
45. M Zohri, M Alavidjeh, S Mirdamadi, H Behmadi, S Nasr, S Gonbaki, M Ardestani, A Arabzadeh. Nisin-loaded chitosan/ alginate nanoparticles: A hopeful hybrid biopreservative. **J. Food Saf.**, **33**, 40-49 (2013).
46. N Chookhongkha, T Spondilok, S Photchanachai. Effect of chitosan and chitosan nanoparticles on fungal growth and chilli seed quality. **Acta Hort.**, **973**, 231-237 (2013).
47. SJ Sareen, R Pillai, N Chandramohanakumar, M Balagopalan. Larvicidal potential of biologically synthesised silver nanoparticle against *Aedes albopictus*. **Res. J. Recent Sci.**, **1**, 52-56 (2012).

48. N Kumar, T Jeyalalitha, K Murugan, P Madhiyazhagan. Bioefficacy of plant-mediated gold nanoparticles and *Anthocepholus cadamba* on filarial vector, *Culex quinquefasciatus* (Insecta: Diptera: Culicidae). **Parasitol. Res.**, **112**, 1053-1063 (2013).
49. N Soni, S Prakash. Entomopathogenic fungus generated nanoparticles for enhancement of efficacy in *Culex quinquefasciatus* and *Anopheles stephensi*. **Asian Pac. J. Trop. Dis.**, S356-S361 (2012).
50. G Rajakumar, A Rahuman. Larvicidal activity of synthesized silver nanoparticles using *Eclipta prostrata* leaf extract against filariasis and malaria vectors. **Acta Trop.**, **118**, 196-203 (2011).
51. T Santhoshkumar, A Rahuman, A Bagavan, S Marimuthu, C Jayaseelan, A Vishnu Kirthi, C Kamaraj, G Rajakumar, A Zahir, G Elango, K Velayutham, M Iyappan, C Siva, L Karthik, K Venkata, B Rao. Evaluation of stem aqueous extract and synthesized silver nanoparticles using *Cissus quadrangularis* against *Hippobosca maculata* and *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Exp. Parasitol.**, **132**, 156-165 (2012).
52. N Debnath, S Das, D Seth, R Chandra, S Bhattacharya, A Goswami. Entomotoxic effect of silica nanoparticles against *Sitophilus oryzae* (L.). **J. Pest Sci.**, **84**, 99-105 (2011).
53. A Zahir, A Bagavan, C Kamaraj, G Elango, A Arruman. Efficacy of plant-mediated synthesized silver nanoparticle against *Sitophilus oryzae*. **J. Biopest.**, **5**, 95-102 (2012).
54. M Rouhani, M Samih, S Kalantari. Insecticide effect of silver and zinc nanoparticles against *Aphis nerii* Boyer of fonscolombe (Hemiptera: Aphididae). **Chil. J. Agr. Res.**, **72**, 15-22 (2012).
55. SR Kalpana, HB Rashmi, NH Rao, SM Ilyas. Integrating nanotechnology into agri-food systems research in India: A conceptual framework. **Technol. Forecast Soc. Change**, **77**, 639-648 (2010).
56. K Elliott. Risk, precaution and nanotechnology. En: Ethics and emerging technology. R Sandler (Ed.). Palgrave Macmillan. USA. Pag. 409-423 (2013).