

NANOFORMULACIONES DE BIOINSECTICIDAS BOTÁNICOS PARA EL CONTROL DE PLAGAS AGRÍCOLAS^a

NANOFORMULATIONS OF BOTANICAL INSECTICIDES FOR THE CONTROL OF AGRICULTURAL PESTS

FABIÁN HERNÁNDEZ-TENORIO^{b *}, FERNANDO OROZCO-SÁNCHEZ^{c *}

Recibido 31-07-2019, aceptado 23-11-2019, versión final 06-12-2019.

Artículo Revisión

RESUMEN: Las estrategias para controlar las plagas agrícolas en el planeta, son continuas durante la historia de la humanidad. Aun con la llegada de los insecticidas sintéticos, la comunidad científica y la industria agroquímica presentan interés en productos de origen vegetal a través de metabolitos con actividad insecticida, alta biodegradabilidad y bajos efectos residuales hacia el medio ambiente. Sin embargo, las dificultades que muestran las formulaciones de bioinsecticidas botánicos a gran escala, generaron la búsqueda y aplicación de nuevas tecnologías. En este contexto, el presente trabajo analiza el potencial de la nanotecnología en el desarrollo de bioinsecticidas botánicos, así como la caracterización de las nanoformulaciones y los posibles avances en Latinoamérica, una región considerada rica en productos naturales con alta capacidad para la exploración de nuevas formulaciones e ingredientes activos.

PALABRAS CLAVE: Nanotecnología; Nanoformulación; Latinoamérica; Caracterización; Bioinsecticidas.

ABSTRACT: The strategies in controlling pests in the world are constant. Even with the advent of synthetic insecticides, the scientific community and the agrochemical industry have focused on products of plant origin through metabolites with high insecticidal activity, high biodegradability and low effects on the environment. However, the difficulties presented by the formulations of botanical bioinsecticides in a large scale, have generated the search and application of new technologies. In this context, the present work analyzes the potential of nanotechnology in the development of botanical bioinsecticides, as well as the characterization of nanoformulations and the possible advances in Latin America, a rich region in natural products with high capacity for the exploration of new formulations and active ingredients.

KEYWORDS: Nanotechnology; Nanoformulation; Latin America; Characterization; Bioinsecticides.

^aHernández-Tenorio, F. & Orozco-Sánchez F. (2020). Nanoformulaciones de bioinsecticidas botánicos para el control de plagas agrícolas. *Rev. Fac. Cienc.*, 9 (1), 72–91. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v9n1.56684>

^bQuímico. Magister en Ingeniería, Universidad EAFIT - Escuela de Ingeniería, Medellín, Colombia.

* Autor para correspondencia: fhernandez@unal.edu.co

^cProfesor Asociado. Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín, Facultad de Ciencias, A.A. 3840, Medellín, Colombia.

* Autor para correspondencia: feorozco@unal.edu.co

1. INTRODUCCIÓN

Las plagas agrícolas son uno de los factores que amenazan la seguridad alimentaria en los continentes, originando pérdidas del 26-80 % de la producción (Lacasta, J. *et al.*, 2018). Estas cifras representan una gran preocupación a causa de uno de los mayores desafíos del planeta para el próximo siglo, el cual es duplicar la producción de alimentos que permitan satisfacer la demanda de una población que se encuentra en constante crecimiento (Reddy, P. P., 2015). Dada la situación, existe un creciente interés en implementar sistemas que ayuden a controlar y mitigar las plagas que afectan el sector de la agricultura. Se conocen aproximadamente 67.000 especies de organismos (hongos, bacterias, insectos, nematodos, entre otros) responsables del deterioro de las plantas, y 5.000 corresponden a especies de insectos considerados potencialmente dañinos para los cultivos (Campos, E. V. R. *et al.*, 2018). Los insectos pueden ocasionar la disminución de alrededor 20 a 30 % de la producción agrícola y en el peor de los casos la afectación total del cultivo (Singh, B., & Kaur, A, 2018). Por ejemplo, la especie *Spodoptera litura* o gusano de tabaco es capaz de alimentarse de más de 112 especies de plantas, manifestando pérdidas del 10 a 30 % en China, India y Japón (Kamaraj, C. *et al.*, 2018). Mientras tanto, *Myzus persicae* o también conocido pulgón verde de melocotonero, causa problemas importantes puesto que se alimenta de 40 familias de plantas, presentando un impacto negativo a nivel económico (Tang, Q. L., Ma, K. S., Hou, Y. M., & Gao, X. W., 2017). Del mismo modo, se registran pérdidas de 5.000 millones de dólares en todo el mundo debido a la presencia en los cultivos de *Helicoverpa armigera* o el gusano de algodón, ya que posee la capacidad de atacar 200 especies de 45 familias de plantas (Chinnaperumal *et al.*, 2018).

Los insecticidas sintéticos surgieron como una posible solución a los problemas ocasionados por las plagas agrícolas, pero lamentablemente en la actualidad su uso intensivo y extensivo ha generado diversos problemas ambientales. Se les asocia alta toxicidad en organismos no objetivos (mamíferos, aves e insectos beneficiosos), generación de resistencia en diversas plagas, contaminación de cuerpos de aguas y posibles impactos negativos en la salud humana a través de enfermedades endocrinas, cáncer, efectos neurotóxicos y dificultades reproductivas (Hayat, K. *et al.*, 2018); Singh, B., & Kaur, A (2018). Por tanto, se han buscado estrategias biodegradables, económicas y seguras para el medio ambiente, centrándose el interés en metabolitos secundarios de origen vegetal que exhiben actividades insecticidas. Algunos de los compuestos bioactivos sintetizados por las plantas frente al ataque de insectos incluyen nicotina, 1,8-cineol, limoneno, citronelal, carvacrol, piretrina, rotenona y azadiractina (De Oliveira, J., *et al.*, 2014). Si bien los insecticidas botánicos son biodegradables y contribuyen positivamente al medio ambiente, suelen ser inestables y sufrir procesos de descomposición en presencia de factores como la temperatura, luz y aire. Con el tiempo tienden a perder su efectividad a medida que los extractos se degradan y pueden estar expuestos a transformaciones químicas, reacciones de polimerización o daños oxidativos (Miresmailli, S., & Isman, M. B., 2014). Se encuentran pocos en uso comercial, lo que pone en evidencia la necesidad de implementar nuevas tecnologías de formulación que favorezcan el accionar de tales compuestos en aplicaciones de campo.

A lo largo de la historia las investigaciones acerca de formulaciones se desarrollaron según la escala de trabajo, lográndose avances importantes a escala macroscópica (10^{-2} m) y microscópica (10^{-6} m). Sin embargo, desde mediados del siglo XX el interés se centró en las propiedades a nanoescala (10^{-9} m), las cuales son dictaminadas por el comportamiento fundamental de los átomos (Ramsden, J. J., 2016). La nanotecnología o tecnología a nanoescala presenta el potencial de revolucionar sectores de la industria agrícola y alimentaria. Debido a la posibilidad de trabajar en regiones cercanas al nivel atómico, estos materiales exhiben propiedades interesantes, lo cual permite desarrollar nuevas formulaciones de bioinsecticidas que garantizan la liberación controlada del compuesto activo al organismo objetivo, mejorar la estabilidad fisicoquímica, prevenir la degradación del principio activo y evitar pérdidas por volatilización (De Oliveira, J., *et al.*, 2014). Por lo anterior, el presente estudio evalúa el potencial de la nanoformulación de bioinsecticidas, por medio de nanoencapsulación, nanoemulsiones y nanodispersiones para el control de plagas agrícolas. Además, se presenta un panorama sobre la caracterización de nanoformulaciones y los avances actuales en Latinoamérica, región conformada por países megadiversos biológicamente, que presentan un alto potencial y necesidad de desarrollar este tipo de productos.

2. BIOINSECTICIDAS BOTÁNICOS Y NANOTECNOLOGÍA

Los bioplaguicidas son compuestos utilizados para controlar plagas agrícolas por medio de efectos biológicos específicos. Se clasifican de acuerdo con su forma de obtención, en bacterianos, fúngicos, virales, botánicos, entre otros. Los bioplaguicidas bacterianos se consideran pesticidas convencionales. Algunos se utilizan como insecticidas afectando el sistema digestivo, al producir endotoxinas que a menudo son específicas de la plaga. Los fúngicos se usan para controlar insectos y enfermedades de las plantas, incluidos hongos, nematodos, malezas y bacterias. El modo de acción es variado y depende del hongo pesticida y de la plaga objetivo. De igual forma que las bacterias y los hongos, los bioplaguicidas virales desempeñan un papel importante en antagonizar los patógenos, especialmente las bacterias en forma de bacteriófagos. Los virus son específicos del huésped e infectan solo una o unas pocas especies estrechamente relacionadas, por lo que ofrecen impactos mínimos fuera del objetivo (Arora, N. K., 2015).

Los bioinsecticidas botánicos se caracterizan por ser formulaciones realizadas a partir de metabolitos secundarios obtenidos de plantas. Estos presentan actividad biocida contra insectos, debido a la presencia de compuestos químicos que se biosintetizan en su mayoría a través de las rutas metabólicas de los alcaloides y terpenoides. Algunas plantas empleadas para la formulación de bioinsecticidas tienen un efecto insectistático más que insecticida, es decir, generan la inhibición del comportamiento y desarrollo del organismo objetivo (Dimetry, N. Z., 2014). La obtención de metabolitos de plantas se realiza principalmente en forma de extractos, mediante la utilización de solventes orgánicos. Entre algunos compuestos usados como bioinsecticidas botánicos se encuentran las piretrinas, que se caracterizan por generar la apertura de los canales de Na^+ en las membranas nerviosas de los insectos, originando hiperactividad y convulsiones. Por su parte las rotenonas actúan a manera de veneno mitocondrial, bloqueando el flujo de electrones de los centros de

Fe-S del complejo I hasta la coenzima Q₁₀. La azadiractina produce envenenamiento sistémico e inhibición de la síntesis de ubiquitina y ecdesis, llevando a un retraso o interrupción en el desarrollo post embrionario (Velasques, J. *et al.*, 2017).

El campo de la nanotecnología surge como una de las tecnologías emergentes del siglo XXI encargada del diseño, producción, caracterización y aplicación de estructuras, sistemas y dispositivos, mediante el control del tamaño de partículas en un intervalo de 1 a 100 nm. Los nanomateriales muestran propiedades físicas y químicas diferentes de los materiales a granel, como resultado del incremento del área superficial. Estas diferencias incluyen fuerza física, reactividad química, magnetismo, conductancia eléctrica y efectos ópticos (Villena De Francisco, E., & García-estepa, R. M., 2018). Dentro de los usos y enfoques de la nanotecnología en la agricultura sobresale el manejo de plagas de insectos, por medio de formulaciones de bioinsecticidas basados en nanomateriales, favoreciendo a la reducción de la dosis del ingrediente activo y a una menor residualidad y carga de contaminantes en el ambiente. La forma, carga y tamaño de las distintas partículas pueden afectar sus propiedades cinéticas (absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad).

En investigaciones realizadas por Nenaah, G. E. *et al.* (2015) se formularon nanoemulsiones de aceites esenciales obtenidos de tres plantas *Ageratum conyzoides*, *Achillea fragrantissima* y *Tagetes minuta* desarrolladas por la técnica de homogenización a alta presión, con el propósito de controlar la especie *Callosobruchus maculatus* responsable de causar hasta el 100% de pérdidas de semillas de caupi. Los bioensayos en huevos y adultos de *C. maculatus* indicaron un aumento de la toxicidad de los aceites a nanoescala (LC₅₀ de 16.1 - 40.5 µL/L de aire y 4.5 - 24.3 µL/L de aire, respectivamente) en comparación con las microemulsiones (LC₅₀ de 71.6 - 161.9 µL/L de aire y 19.2 - 77.8 µL/L de aire). Papanikolaou, N. E. *et al.* (2018) resaltaron la mejora de la actividad insecticida de piretrinas naturales nanoformuladas a partir de dos sistemas de microemulsiones, destinadas a mitigar la plaga áfido *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). De acuerdo con los autores se lograron resultados eficaces a dosis más bajas que las formulaciones convencionales de emulsiones. También se reveló baja toxicidad de la nanoformulación en los depredadores no objetivos, haciéndolos productos útiles para el manejo integral de plagas.

3. NANOFORMULACIÓN

Recientemente las nanoformulaciones de bioinsecticidas presentan un interés a modo de estrategia para la mitigación de insectos causantes de pérdidas económicas en la agricultura. A través de la formulación de sistemas como nanoemulsiones, nanoencapsulaciones y nanodispersiones (Figura 1)) se superan limitaciones que manifiestan los bioplaguicidas tradicionales, garantizándose un aumento significativo de la velocidad de disolución, la solubilidad en agua y la uniformidad de dispersión en la aplicación. Si bien no se realiza ninguna alteración química de las moléculas de interés, disminuir el tamaño de partículas a nanoescala, permite analizar novedosas propiedades útiles para la producción de nuevos productos (Kumar,

S. *et al.*, 2019; Margulis-Goshen, K., & Magdassi, S., 2013).

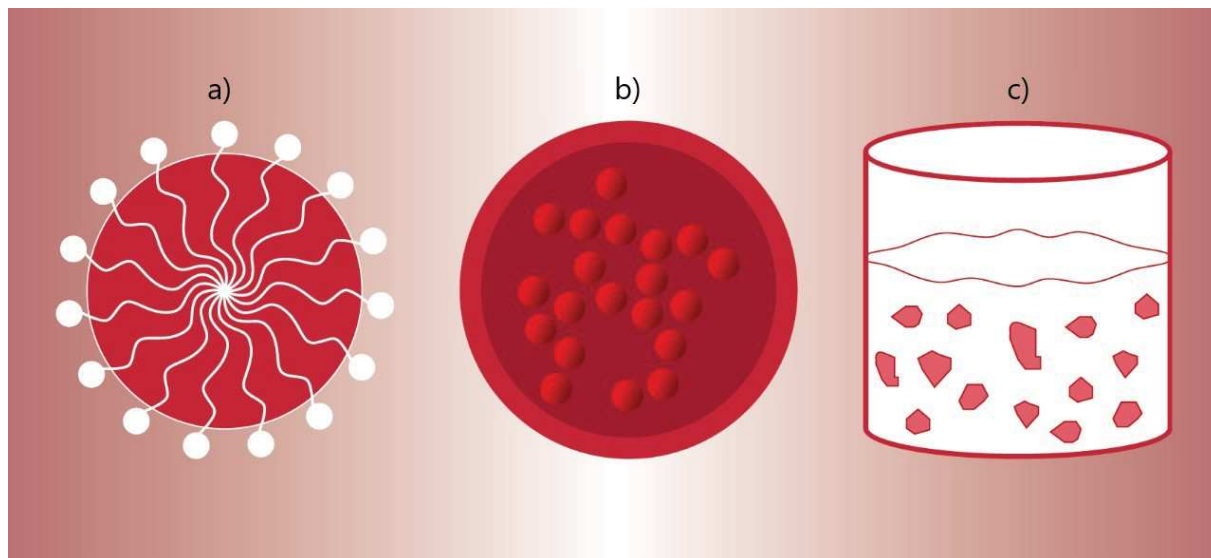


Figura 1: Representación esquemática de nanoformulaciones, a) nanoemulsión; b) nanoencapsulación; c) nanodispersión.

Adaptado de (Hayles, J. *et al.*, 2017, p. 282).

3.1. Nanoemulsiones

Las nanoemulsiones son sistemas cinéticamente estables conformados por la dispersión de dos líquidos inmiscibles, estabilizados mediante un surfactante apropiado, cuyos tamaños de gotas estimados son alrededor de 10 a unos cientos de nanómetros (Wani, T. A. *et al.*, 2019). Según la distribución relativa de las fases y componentes, las nanoemulsiones se clasifican en bifásicas y múltiples. Entre las características importantes de las nanoemulsiones se encuentra la dinámica de las gotas, en la cual se considera el efecto de cizalla sobre el tamaño de gotas. Otro factor es el efecto del surfactante, por su función de estabilizar las gotas recién formadas durante un largo periodo de tiempo. Las viscosidades relativas de la fase continua y dispersa también tienen influencia en el proceso de reducción del tamaño de gotas (Singh, Y. *et al.*, 2017).

Al igual que las emulsiones convencionales, las nanoemulsiones sufren mecanismos de inestabilidad. Se generan aumentos del tamaño de gotas, polidispersidad y en el peor de los casos separación de las fases. Uno de los mecanismos de inestabilidad es la agregación de gotas, que origina el crecimiento de estas a través del incremento de la sumatoria de las interacciones electrostáticas, hidrofóbicas, esféricas y de van der Waals. El segundo mecanismo es la maduración de Ostwald, que explica el fenómeno de engrosamiento de la emulsión. Por último, se encuentra la coalescencia, es decir, la fusión mecánica de dos gotas debido a la colisión. Las nanoemulsiones pueden ser obtenidas mediante métodos de alta energía, baja energía o combinación de ambos. La ultrasonificación y homogenización a alta presión se clasifican en métodos de alta energía y se caracterizan por suministrar fuerzas disruptivas capaces de reducir el tamaño de gotas. De baja

energía se destacan las técnicas de temperatura de inversión de fase, autoemulsificación y transición de fase (Hayles, J. *et al.*, 2017; Helgeson, M. E., 2016)

Hashem, A. S. *et al.* (2018) desarrollaron una nanoemulsión con tamaño de gota de 198.9 nm, formulada con aceite esencial de *Pimpinella anisum* (Apiaceae) que contenía 81.2% de E-anetol. La evaluación de la toxicidad y daño morfológico e histológico se realizó en adultos de la especie *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). La nanoemulsión mostro toxicidad en el organismo objetivo con un efecto significativo en su progenie ($LC_{50} = 9.3\% \text{ v/v}$). En general, los resultados encontrados permiten establecer la mejora de la estabilidad del metabolito de interés y la contribución a reducir el uso de insecticidas sintéticos. Choupanian, M., *et al.* (2017) investigaron la mejora de la eficacia del limonoide azadiractina, a través de nanoemulsiones de aceite de neem, contra dos especies de plagas *Sitophilus oryzae* y *Tribolium castaneum*. Se eligieron cuatro formulaciones con tamaños de partículas de 208-507 nm. Los resultados mostraron excelente mortalidad por contacto después de dos días de exposición en *Sitophilus oryzae* y *Tribolium castaneum* con valores de 85-100% y 74-100% respectivamente, por lo que sugieren un aumento significativo de la mortalidad en comparación con la formulación comercial Neemix (17% mortalidad) y el aceite de neem no formulado (0% mortalidad). En otro trabajo, Asib, N., Omar, D., & Muhamad, R. (2015) analizaron el desarrollo de nanoemulsiones de rotenona obtenida de extractos de *Derris elliptica*, preparadas utilizando diagramas de fases ternarios. Las formulaciones seleccionadas presentaron un tamaño de partícula menor a 100 nm y estabilidad a 25 °C durante dos meses. Los bioensayos de dosis-mortalidad evaluados por la técnica de inmersión foliar arrojaron 100% de mortalidad contra *Plutella xylostella* 72 horas después del tratamiento a una concentración de 273 µg/mL. Así mismo, los valores de LC_{50} de las nanoformulaciones se encontraron entre 0.02 - 66.39 µg/mL, utilizando como control Saphyr (LC_{50} 82.68 µg/mL). Los autores resaltaron la toxicidad y estabilidad a temperatura ambiente de las nanoemulsiones formuladas de extractos de rotenona.

3.2. Nanoencapsulación

La nanoencapsulación se refiere al empaquetamiento de sustancias activas dentro de otro material, donde el tamaño de las nanocápsulas se encuentra comprendido en un intervalo de 1 a 100 nm en al menos una dimensión. Las partículas encapsuladas son denominadas fase interna o núcleo activo y el material de encapsulación es conocido como cubierta o fase externa. La importancia de las nanoencapsulaciones, se basa en el hecho de garantizar que la especie encapsulada no sea afectada por el entorno externo, al mismo tiempo favorecer la estabilidad, el manejo seguro de materiales tóxicos, y la liberación controlada y dirigida de metabolitos activos. Los métodos utilizados para la nanoencapsulación de especies activas se fundamentan en procesos químicos, fisicoquímicos y físico-mecánicos. Los procesos químicos se distinguen por sintetizar nanocápsulas de alta pureza a través de técnicas de nucleación. La combinación de métodos químicos y físicos implican las técnicas de complejos de inclusión, inversión de fase, coacervación y separación de fases. Mientras que los procesos físico-mecánicos incluyen secado por pulverización, evaporación/extracción de solventes y electroencapsulación. La selección de los materiales para nanoencapsular bioinsecticidas

dependerá de las propiedades del metabolito, algunos de estos son nanopartículas de lípidos sólidos, nanomateriales a base de polímeros, hidróxidos-LDH entre otros (Cano-Sarabia, M., & MasPOCH, D., 2016; Nuzzaman, M. *et al.*, 2016). Ebadollahi, A. *et al.* (2017) evaluaron la composición química y toxicidad de los aceites esenciales aislados de las hojas de *Thymus eriocalyx* y *Thymus kotschyanus* en adultos de *Tetranychus urticae*. Los aceites esenciales fueron nanoencapsulados en el material mesoporoso MCM-41 con tamaños de partículas de 40 - 100 nm. A partir de los resultados se observó incremento de la estabilidad y persistencia extendida de 18 y 20 días. Además, la mortalidad de individuos de *T. urticae* aumentó de 80 a 230 ácaros para *T. eriocalyx* y de 58 a 186 ácaros para *T. kotschyanus*. En consecuencia, los aceites esenciales nanoencapsulados de *T. eriocalyx* y *T. kotschyanus* a través de un material mesoporoso ampliamente conocido, MCM-41, pueden ser un método potencial para su aplicación en el manejo de *T. urticae*.

Pasquoto-Stigliani, T. *et al.* (2017) prepararon y caracterizaron nanocápsulas de policaprolactona cargadas de aceite de neem y ácido oleico, con el propósito de evaluar el potencial citotóxico y genotóxico, así como su acción contra las bacterias del ciclo del nitrógeno y su fitotoxicidad hacia las plantas de maíz. Las formulaciones se desarrollaron por el método de evaporación de emulsión/solvente, obteniendo nanocápsulas de distribución de tamaño de 400 nm y estabilidad durante 120 días. Los ensayos de genotoxicidad demostraron que las células HeLa presentaron la mayor sensibilidad a las formulaciones. Las líneas celulares HaCat y V79-4 expuestas a las formulaciones no mostraron diferencias significativas en el daño causado al ADN, en comparación con el control. Las células 3T3 evidenciaron un daño mayor cuando se expusieron a las nanocápsulas que contenían solo ácido oleico, de igual forma se observó un comportamiento similar para las células HeLa. Entretanto las células 3T3 y HeLa sometidas al tratamiento con NC_20 (formulación sin ácido oleico y 200 mg de aceite de neem) no mostraron daños significativos. Por otro lado, los análisis de citotoxicidad y fitotoxicidad indicaron que la formulación NC_20 fue la de menor toxicidad en los parámetros fisiológicos. Según el estudio, los resultados demostraron que se pueden obtener sistemas menos perjudiciales para el medio ambiente y la salud humana por técnicas de nanoencapsulación.

Fahmi, M. Z. *et al.* (2017) estudiaron la actividad insecticida de las nanocápsulas de quitosano cargadas con extracto de neem en la especie *Riptortus linearis*. Reportando tamaños de partículas de las nanocápsulas menores a 300 nm y estabilidad por 50 minutos a la radiación UV. Los bioensayos arrojaron mayor susceptibilidad de *Riptortus linearis* bajo los tratamientos con las nanocápsulas, manifestando valores de 75.2 - 66.7 % de inmortalidad de larva en concentraciones de extracto de 15 y 20 % respectivamente, mientras que el extracto de neem sin nanoformular presentó 94.0 - 88.3 % de inmortalidad de larva. De acuerdo con los resultados se pudo concluir que la nanoencapsulación puede ser considerada una estrategia viable para incrementar la actividad insecticida de metabolitos de interés.

Forim, M. R. *et al.* (2013) desarrollaron un nuevo método para la nanoencapsulación de extractos de semillas de neem. Las nanopartículas se prepararon por suspensión coloidal y secado por pulverización. Los resultados indicaron estabilidad, capacidad para disolverse en medio acuoso y porcentaje de mortalidad

larvaria de 100 % en *Plutella xylostella*. Adicionalmente, las nanoformulaciones no perdieron su eficacia durante un periodo de seis meses. Por tanto, el método implementado para formular nanocapsulas de extractos de neem puede ser considerado para el control de plagas de insectos. Yang, F. L. *et al.* (2009) formularon nanocápsulas de polietilenglicol cargadas con aceite esencial de ajo y determinaron su toxicidad en adultos de *Tribolium castaneum*. Las nanopartículas se prepararon por el método de dispersión por fusión y se caracterizaron mediante microscopia electrónica de transmisión y dispersión dinámica de la luz. Los resultados mostraron diámetro promedio menor a 240 nm, así mismo la eficacia de la nanoformulación contra *T. castaneum* cuya concentración fue de 8000 mg/kg, presentó aumento de la mortalidad con valor de 80 % después de cinco meses del tratamiento en comparación con el aceite esencial de ajo libre (sin formular) que fue solo del 11 %. Esto indica que es posible utilizar las nanocápsulas de polietilenglicol con aceite esencial de ajo para controlar la especie *T. castaneum*.

3.3. Nanodispersiones

La formulación de nanodispersiones sucede por la dispersión de nanocristales en medios líquidos. Los nanocristales suelen ser 100 % el compuesto activo en forma de partículas cristalinas o amorfas. Los sistemas cubren un diámetro de partícula de 10-200 nm, y, en consecuencia, es posible aplicar las teorías generales de estabilidad coloidal para sus estudios. El objetivo principal de las nanodispersiones es maximizar el área superficial con el fin de aumentar la saturación de solubilidad del metabolito activo y la velocidad de disolución. La dispersión puede formarse transparente, translúcida o turbia, teniendo en cuenta tres factores, la partícula o el radio de la gota, la fracción de volumen de la fase dispersa y la diferencia en el índice de refracción entre la fase dispersa y el medio de dispersión (Shah, M. R., Imran, M., & Ullah, S., 2017). Las nanodispersiones son utilizadas en industrias farmacéuticas, catálisis, sistemas antioxidantes y formulación de insecticidas sintéticos, de tal manera se logró desarrollar nuevos fundamentos teóricos y tecnológicos que pueden suministrar estrategias que aumenten la estabilidad, solubilidad, difusión y vida útil de los metabolitos en la preparación de bioinsecticidas.

En un trabajo reciente, Kumar, N. *et al.* (2018) informaron sobre la caracterización y evaluación de la bioeficacia de nanoformulaciones de fipronil frente a la plaga *Nilaparvata lugens*. Donde la mortalidad media indicó que todos los tratamientos con insecticidas fueron significativamente superiores al control no tratado. Además, se observaron porcentajes de reducción en la población de *N. lugens* cuyos valores fueron 93.47 %, 86.89 % y 80.47 % en las nanodispersiones, dispersión monolítica y formulación comercial de fipronil respectivamente. Por otra parte, Yang, D. *et al.* (2017) investigaron la nanodispersión sólida de benzoato de emamectina con tamaño de partícula de 96.6 ± 1.7 nm formulada por el método de solidificación de nanoemulsión sobre la acción de *Plutella xylostella* y *Myzus persicae*. El bioensayo mostró que la composición de la nanodispersión sólida (SND) incremento el contenido de benzoato de emamectina, evidenciándose mejora de la actividad biológica en *P. xylostella* con valor de LC_{50} 0.1838 $\mu\text{g/mL}$ en comparación con las formulaciones convencionales ME-B, WDG-A, WDG-B y WDG-C (LC_{50} 0.2270, 0.2667, 0.3332 y 0.3440 $\mu\text{g/mL}$). Así mismo, en *M. persicae* las formulaciones WDG-A y

WDG-B mostraron toxicidades significativamente más bajas (LC_{50} 575.3891 y 710.7140 $\mu\text{g/mL}$) que la nanoformulación SND (LC_{50} 268.2333 $\mu\text{g/mL}$). A partir del estudio se logró proporcionar una perspectiva para aumentar la biodisponibilidad y disminuir la contaminación residual del producto.

4. CARACTERIZACIÓN DE NANOFORMULACIONES

La formulación de bioinsecticidas a nanoescala representa el estudio de novedosas propiedades. Dada la naturaleza del tamaño de partículas, se exhiben sistemas con comportamientos diferentes a los habituales. Por esta razón, es crucial caracterizar las nanopartículas mediante diferentes técnicas y métodos (Tabla 1) teniendo en cuenta las propiedades físicas, químicas y biológicas.

Tabla 1: Técnicas o métodos para la caracterización de nanoformulaciones.

Técnica o métodos	Determinación de propiedades o parámetros	Referencias
Microscopia avanzada	Morfología, topografía, tamaño de partículas y distribución de tamaños	(Da Costa, J. T., <i>et al.</i> , 2014; Forim, M. R. <i>et al.</i> , 2013)
Dispersión dinámica de la luz	Forma y distribución de tamaño de partículas	Gundewadi, G. <i>et al.</i> (2018); Osanloo, M. <i>et al.</i> (2017)
Espectroscopia infrarroja y resonancia magnética nuclear	Estructura molecular y estereoquímica del metabolito	(Pant, M. <i>et al.</i> , 2014; Pinto, N. de O. F. <i>et al.</i> , 2016)
Espectroscopia de correlación de fotones	Índice de polidispersidad	Ghosh, V., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2016); Hashem, A. S. <i>et al.</i> (2018)
Potencial zeta	Cargas superficiales y estabilidad de nanopartículas	(Fernandes, C. P. <i>et al.</i> , 2014); (Volpato, A. <i>et al.</i> , 2018)
Difracción de rayos X	Grado de cristalinidad de nanopartículas	(Abduz Zahir, A. <i>et al.</i> , 2012)

Algunas técnicas se describen a continuación: el análisis de la morfología y topografía de nanopartículas puede realizarse mediante las técnicas de microscopia electrónica de barrido según sus siglas en inglés SEM, microscopia de fuerza atómica (AFM) y microscopia electrónica de transmisión (TEM). El microscopio electrónico de barrido posee la capacidad de permitir la observación y modificación a nanoescala de superficies de partículas. Se utiliza para detectar e interpretar señales emitidas durante la interacción del haz de electrones con la muestra (electrones Auger, electrones secundarios, y electrones retrodispersados). La información que suministra producto de las interacciones facilitan la caracterización en términos de morfología de la superficie, organización estructural y composición química (Pereira-Da-Silva, A. M., & Ferri, F. A., 2017).

Christofoli, M., *et al.* (2015) formularon y evaluaron el efecto insecticida de nanoesferas biodegradables de aceites esenciales de *Zanthoxylum rhoifolium* en poblaciones de *Bemisia tabaci*. Estas se prepararon por nanoprecipitación del polímero poli- ϵ -caprolactona (PCL) preformado y las superficies fueron caracterizadas por microscopia electrónica de barrido. Los resultados de morfología indicaron la presencia de nanopartículas esféricas, sin diferencias significativas en el tamaño entre las nanoesferas vacías y las que contenían el metabolito. De igual manera, Kamaraj, C. *et al.* (2018) caracterizaron la morfología de nanoformulaciones de aceite de neem por SEM (modelo JFC-1600, JEOL) y estudiaron la actividad biológica en *Helicoverpa armigera* y *Spodoptera litura*. Las nanoformulaciones mostraron distribuciones uniformes con formación de nanopartículas agregadas, morfologías de superficies finas y tamaños de partícula de 20.00 a 43.83 nm. La actividad insecticida presentó valores de LC_{50} de 10.20 - 12.49 ppm y LC_{90} de 32.68 - 36.68 ppm en *H.*

armígera y *S. litura* respectivamente. Teniendo en cuenta los resultados, la investigación sugiere el posible uso de aceite de neem para la preparación de nuevas formulaciones como bioplaguicidas.

Otra técnica elegida para la caracterización geométrica y superficial fina, es la microscopia de fuerza atómica AFM. Los microscopios de fuerza atómica proporcionan una reconstrucción tridimensional de las topografías de superficie con una resolución lateral y vertical sub-nanométrica, en un tamaño que normalmente no es más grande que unas pocas decenas o cientos de micrómetros. La AFM pertenece a la rama de la microscopía que permite obtener imágenes de superficies, mediante una sonda física que analiza la superficie de la muestra sin causarle daño, empleando los modos de contacto y no contacto. Entre tanto, la microscopia electrónica de transmisión TEM, proporciona información sobre el interior de las partículas en lugar de la superficie. Se caracteriza por detectar el haz de luz de electrones que se transmite debajo de la muestra, para lo que es necesario altos voltajes de aceleración de electrones de hasta 300 kV. Esta condición da como resultado resoluciones muy altas que facilitan la obtención de imágenes de nanopartículas de pequeños tamaños (Marrinello, F., 2014; Schwaferts, C. *et al.*, 2019)). Estudios realizados por Campos, E. V. R. *et al.* (2018) prepararon y caracterizaron nanopartículas de quitosano funcionalizadas con β -ciclodextrina que contenían carvacrol y linalol. Las morfologías de los diferentes sistemas se analizaron por microscopia electrónica de transmisión y microscopia de fuerza atómica. Para los ensayos de TEM se utilizó un microscopio Zeiss Leo 906, mientras los de AFM se empleó un Nanosurf Easy Scan 2 Basic en modo contacto equipado con un cantilever TapAl-G. Los resultados mostraron nanopartículas esféricas lisas con distribuciones de tamaño promedio 197.9 ± 16.8 y 194.6 ± 22.7 nm medidas por TEM y AFM respectivamente.

La evaluación del tamaño de partículas es fundamental en el análisis de las propiedades de los sistemas a nanoescala. Para este propósito se utiliza la técnica de dispersión dinámica de la luz, la cual se fundamenta en el cálculo de la forma y distribución del tamaño de las partículas en suspensión a través del movimiento browniano y el desplazamiento Doppler. Cuando una suspensión de partículas en movimiento browniano es excitada por un rayo láser monocromático, la longitud de onda de la luz entrante cambia después de golpear las partículas en movimiento, lo que origina un desplazamiento Doppler, que es un pequeño cambio de frecuencia en la luz dispersada en comparación con la luz no dispersada. Este cambio brinda información sobre el tamaño, la distribución y forma de las partículas (Sakho, E. H. M. *et al.*, 2017). Ahmadi, Z. *et al.* (2018) determinaron la toxicidad y caracterización de nanocápsulas de quitosano cargadas con aceite esencial de *Achillea millefolium* en adultos de *Tetranychus urticae* Koch. Los resultados de dispersión dinámica de luz revelaron que los tamaños promedio de las nanopartículas estaban influenciados por las condiciones de pH en la preparación. Los diámetros promedio de las nanocapsulas de quitosano cargadas con el componente activo se encontraron en intervalos de 42 - 220 y 70 - 600 nm, con valores de pH de 5.5 y 3.5 respectivamente.

Las medidas del potencial zeta o también denominado potencial electrocinético presentan importancia en las nanoformulaciones a modo de herramienta simple y reproducible para determinar las cargas superficiales de las partículas. El método consiste en una medida de la carga eléctrica generada en la interfaz cuando una

superficie sólida se pone en contacto con una solución acuosa. Como resultado, los iones libres locales en la solución tienden a reorganizarse de tal manera que existe una región delgada de densidad de carga neta distinta de cero cerca de la interfaz. También se considera un parámetro valioso para predecir la estabilidad de las dispersiones coloidales durante el almacenamiento (Bhattacharjee, S., 2016; Shah, M. R., Imran, M., & Ullah, S., 2017). Malaikozhundan, B., & Vinodhini, J. (2018) sintetizaron y evaluaron la actividad biológica de nanopartículas de óxido de zinc recubiertas con extracto de *Pongamia pinnata* (Pp-ZnO NP) en *Callosobruchus maculatus*. Las nanopartículas se caracterizaron mediante la medida del potencial zeta utilizando un sistema Zetasizer Nano Z. El valor determinado del potencial zeta (-12.45 mV) mostró que las nanopartículas Pp-ZnO estaban cargadas negativamente y eran moderadamente estables. Es de resaltar que la magnitud del potencial zeta (-30 mV a +30 mV) indica la estabilidad potencial del sistema coloidal.

El índice de polidispersidad (PDI) es otro parámetro medido en nanoformulaciones, principalmente en nanoemulsiones para establecer las variaciones en los tamaños de gotas. El PDI caracteriza el ancho de la distribución del tamaño de partículas y por lo tanto la homogeneidad de la formulación. Un valor de PDI menor que 0.2 es indicativo de una distribución estrecha del tamaño de gota (uniformidad), mientras que los valores cercanos a 1.0 se encuentran en formulaciones que exhiben heterogeneidad del tamaño de gotas. La técnica frecuentemente empleada para medir el índice de polidispersidad es la espectroscopia de correlación de fotones (PCS). Mide la amplitud de la distribución de tamaño derivada del análisis acumulativo de la dispersión dinámica de la luz (Bourbon, A. I. *et al.*, 2018; Shah, M. R., Imran, M., & Ullah, S., 2017). Pant, M. *et al.* (2014)) analizaron la formulación de nanoemulsiones preparadas a partir de aceite de eucalipto y filtrados acuosos de *Pongamia glabra* y *Jatropha curcas* para el control de *Tribolium castaneum*. Los valores de LC₅₀ registrados para las nanoemulsiones con y sin filtrados acuosos fueron 0.1646 mg/L y 5.4872 mg/L, lo que evidenció una mayor toxicidad para la nanoemulsión que contenía filtrado acuoso. Además, se calculó el índice de polidispersidad, con resultados de uniformidad del tamaño de gotas para la nanoemulsión formulada usando filtrado acuoso, en el cual se encontró que la dispersión media era de 0.23 en comparación con la formulación de nanoemulsión que contenía agua destilada cuyo valor de dispersión promedio fue de 0.85.

5. POTENCIAL USO DE NANOFORMULACIONES DE BIOINSECTICIDAS BOTÁNICOS EN LATINOAMÉRICA

Las investigaciones asociadas a los bioplaguicidas están estrechamente relacionadas con el mercado de productos orgánicos. De acuerdo con un análisis bibliométrico de Isman, M. B., & Grieneisen, M. L. (2014), se dio un aumento de publicaciones científicas sobre insecticidas botánicos, pasando de un 2 % en 1980 a más del 21 % en 2011, aunque estas cifras no reflejan su comercialización en el mercado. La presencia de los productos botánicos en el mercado estadounidense tuvo sus inicios en 1990, mediante la aprobación por parte de la agencia de protección ambiental de los Estados Unidos (EPA) del ingrediente activo de neem, convirtiéndose en el primer mercado agroquímico fuera de la India en hacerlo. En 2011 la EPA aprobaría

Requiem, un insecticida basado en un extracto rico en terpenoides de la planta *Dysphania ambrosioides* y se le atribuiría como el primer insecticida botánico aprobado después de aproximadamente 20 años de la comercialización de azadiractina. Luego en 2014 la EPA aprobó Captiva, un insecticida formulado de extracto de oleorresina y aceite de ajo, producido por Ecoflora Agro en Colombia. Entre otros mercados encargados de impulsar el uso de insecticidas botánicos se encuentra la unión Europea, con el registro de aprobación de tres ingredientes botánicos como piretrinas, azadiractina y aceite de cascara de naranja. En India se comercializan con aprobación del Ministerio de Agricultura aparte de extractos de neem y ajo, los extractos de las siguientes plantas *Milletia pinnata*, *Cymbopogon spreng*, *Sophora spp*, *Annona Squamosa L*, *Tripterygium wilfordii*, *Apocynum venetum* y *Eucalyptus globulus Labill*. Mientras tanto en China se cuenta con nueve insecticidas botánicos aprobados por el Ministerio de Agricultura desde 2013. Dentro de estos se tienen piperina, rotenona, nicotina y azadiractina. Otros extractos son obtenidos de *Sophora flavescens*, *Veratrum nigrum*, *Eucalyptus globulus Labill*, *Cinnamomun camphora* y *Celastrus angulatus*. Por su parte en Brasil, pese a la enorme biodiversidad de la flora y campos de investigación muy activos en temas de insecticidas botánicos, no se evidencian los registros de productos botánicos en igual proporción. Esta situación puede ser explicada por los esquemas regulatorios que posee el país a través de tres sistemas gubernamentales (Isman, M. B., 2015).

Si bien en la actualidad se tienen formulaciones de bioinsecticidas botánicos en el mercado global, la comercialización de estos productos mediante nanoformulaciones es escaso. Una posible razón de ello es la falta de legislación, estándares de evaluación de los productos y poca información de los impactos ambientales de la nanotecnología en la agricultura (Margulis-Goshen, K., & Magdassi, S., 2013). Sin embargo, en regiones ricas en flora como Latinoamérica, ya se está optando por aprovechar las ventajas de aumentar el área superficial y la solubilidad acuosa de los metabolitos, al reducir el tamaño de partículas. Entre las investigaciones se destacan reportes realizados en Brasil. Por ejemplo, Oliveira, A. P *et al.* (2017) determinaron la toxicidad de nanoformulaciones cargadas del aceite esencial de *Lippia sidoides* en poblaciones de *Sitophilus zeamais*. Las dosis letales de nanoformulaciones de aceite esencial y timol necesarias para matar el 50% de las poblaciones variaron de 26.4 a 35.9 $\mu\text{g}/\text{mg}$ y de 20.7 a 27.7 $\mu\text{g}/\text{mg}$ respectivamente. Conforme a los resultados los investigadores demostraron que los prototipos de nanoformulaciones son prometedores para el control de *S. zeamais*.

Giongo, A. M. M. *et al.* (2016) desarrollaron nanoformulaciones de neem con el fin de reducir la biodegradación de los compuestos activos y mejorar su efecto residual. Las formulaciones se realizaron en nanocápsulas compuestas de una capa polimérica (poli-caprolactona, poli- β -hidroxibutirato y polimetilmetacrilato) que recubría una mezcla de aceite comercial de neem y extracto de semilla, y nanoesferas conformadas de una matriz polimérica cargada solo del extracto de semilla. La corta duración de la eficacia de las nanoformulaciones sugirió que hubo poca o ninguna liberación de neem por parte de las nanopartículas, pese a que los polímeros utilizados han demostrado ser efectivos para la producción de nanopartículas que contienen neem. Dado lo anterior los autores recomendaron más estudios para mejorar la velocidad de liberación de la

azadiractina. En otra investigación De Carvalho., *et al.* (2015) evaluaron la actividad insecticida sistémica y el efecto residual de las nanoformulaciones de neem sobre las ninfas de *Bemisia tabaco* biotipo B en tomate. Las formulaciones se prepararon a partir de nanocapsulas cargadas con productos derivados de neem usando polímeros biodegradables (poli-caprolactona y poli- β -hidroxibutirato). Los autores sugirieron que la acción sistémica de las nanoformulaciones depende de las condiciones ambientales en que se apliquen. Además, las nanocápsulas se encontraron bioactivas cerca de 30 días después de la aplicación.

Ferreira, F. T. R., Vendramim, J. D., & Forim, M. R. (2012) evaluaron nanoformulaciones de neem en la plaga *Tuta absoluta* considerada la más importante en tomate. Los bioensayos se realizaron sobre 22 nanoformulaciones, de las cuales NC40 acuosa y NC40 polvo (NC40 = nanocápsulas de poli- β -hidroxibutirato) exhibieron resultados prometedores para el control de *T. absoluta*. Por otra parte, en Argentina Werdin González, J. O. *et al.* (2019) caracterizaron y determinaron la actividad insecticida residual de nanopartículas de poli-etilenglicol que contenían aceites esenciales de *Geranium sp* y *Citrus reticulata* en *Blattella germanica*. Las nanopartículas ocasionaron un aumento en la toxicidad residual por contacto, posiblemente debido a la liberación lenta y persistente de los terpenos activos. Los resultados indicaron que los nuevos sistemas basados en nanopartículas podrían desarrollarse como agentes de control de *B. germánica*. En Colombia, aun no se conocen investigaciones orientadas a la nanoformulación de bioinsectidas botánicos.

6. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

En este trabajo se discutió el potencial de la nanotecnología en el desarrollo de formulaciones de bioinsectidas botánicos para el control de plagas agrícolas. A partir de las ventajas que presentan los sistemas a nanoescala fue posible analizar el aporte de esta tecnología en la solución de problemas que se evidencian en las formulaciones a gran escala. De este modo, su aplicación será importante para comercializar en un futuro productos que beneficien tanto el medio ambiente como la acción insecticida de los metabolitos. Tanto a nivel mundial como en Latinoamérica, los desarrollos pueden considerarse aún pocos, todavía se requieren realizar más investigaciones que favorezcan el desarrollo de nuevos productos nanoformulados. Latinoamérica con su gran biodiversidad, tiene un enorme potencial no aprovechado, para nanoformular bioinsectidas botánicos. Haciéndolo, podría aportarse considerablemente a la seguridad alimentaria de la región, disminución de enfermedades y efectos ambientales adversos. Para alcanzar este propósito, será necesario establecer legislaciones que regulen la aplicación de la nanotecnología. La presente revisión puede contribuir y motivar a la realización de estudios en Latinoamérica, para el desarrollo de nanoformulaciones de bioinsectidas, aprovechando los recursos genéticos.

Referencias

- Abduz Zahir, A., Bagavan, A., Kamaraj, C., Elango, G., & Abdul Rahuman, A. (2012). Efficacy of plant-mediated synthesized silver nanoparticles against *Sitophilus oryzae*. *Journal of Biopesticides*, 5, 95-102
- Ahmadi, Z., Saber, M., Bagheri, M., & Mahdavinia, G. R. (2018). *Achillea millefolium* essential oil and chitosan nanocapsules with enhanced activity against *Tetranychus urticae*. *Journal of Pest Science*, 91(2), 837-848. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0912-6>
- Arora, N. K. (2015). Plant microbes symbiosis: Applied facets. *Plant Microbes Symbiosis: Applied Facets*. New Delhi: *Springer India*. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2068-8>
- Asib, N., Omar, D., & Muhamad, R. (2015). Preparation, characterization and toxicity of nano-emulsion formulations of rotenone extract of *Derris elliptica* Improving the quality of herbicide applications to oil palm in Malaysia using the CFValve-A constant flow valve View project Nano emulsion for. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*, 5(4), 3989-3997. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/32515863>
- Bhattacharjee, S. (2016). DLS and zeta potential - What they are and what they are not? *Journal of Controlled Release*, 235, 337-351. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.017>
- Bourbon, A. I., Gonçalves, R. F. S., Vicente, A. A., & Pinheiro, A. C. (2018). Characterization of Particle Properties in Nanoemulsions. In *Nanoemulsions: Formulation, Applications, and Characterization* (pp. 519-546). *Elsevier*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811838-2.00016-3>
- Bourbon, A. I., Gonçalves, R. F. S., Vicente, A. A., & Pinheiro, A. C. (2018). Characterization of Particle Properties in Nanoemulsions. In *Nanoemulsions: Formulation, Applications, and Characterization* (pp. 519-546). *Elsevier*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811838-2.00016-3>
- Buhroo, A. A., Nisa, G., Asrafuzzaman, S., Prasad, R., Rasheed, R., & Bhattacharyya, A. (2017). Biogenic silver nanoparticles from *Trichodesma indicum* aqueous leaf extract against *Mythimna separata* and evaluation of its larvicidal efficacy. *Journal of Plant Protection Research*, 57(2), 194-200. <https://doi.org/10.1515/jppr-2017-0026>
- Campos, E. V. R., Proença, P. L. F., Oliveira, J. L., Bakshi, M., Abhilash, P. C., & Fraceto, L. F. (2018). Use of botanical insecticides for sustainable agriculture: Future perspectives. *Ecological Indicators*, *In press*. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.04.038>
- Campos, E. V. R., Proença, P. L. F., Oliveira, J. L., Pereira, A. E. S., De Moraes Ribeiro, L. N., Fernandes, F. O. & Fraceto, L. F. (2018). Carvacrol and linalool co-loaded in β -cyclodextrin-grafted chitosan nanoparticles as sustainable biopesticide aiming pest control. *Scientific Reports*, 8, 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26043-x>

- Cano-Sarabia, M., & Maspoch, D. (2016). Nanoencapsulation. In *Encyclopedia of Nanotechnology* (pp. 2356-2369). *Dordrecht: Springer Netherlands*. https://doi.org/10.1007/978-94-017-9780-1_50
- Choupanian, M., Omar, D., Basri, M., & Asib, N. (2017). Preparation and characterization of neem oil nanoemulsion formulations against *Sitophilus oryzae* and *Tribolium castaneum* adults. *Journal of Pesticide Science*, 42(4), 158-165. <https://doi.org/10.1584/jpestics.D17-032>
- Christofoli, M., Candida-Costa, E. C., Bicalho, K. U., de Cássia Domingues, V., Peixoto, M. F., Fernandes-Alves, C. C., ... de Melo Cazal, C. (2015). Insecticidal effect of nanoencapsulated essential oils from *Zanthoxylum rhoifolium* (Rutaceae) in *Bemisia tabaci* populations. *Industrial Crops and Products*, 70, 301-308. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.025>
- Da Costa, J. T., Forim, M. R., Costa, E. S., De Souza, J. R., Mondego, J. M., & Boiça Junior, A. L. (2014). Effects of different formulations of neem oil-based products on control *Zabrotes subfasciatus* (Boheman, 1833) (Coleoptera: Bruchidae) on beans. *Journal of Stored Products Research*, 56, 49-53. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2013.10.004>
- Carvalho, S. S., Vendramim, J. D., De Sá, I. C. G., Da Silva, M. F. D. G. F., Ribeiro, L. D. P., & Forim, M. R. (2015). Efeito inseticida sistêmico de nanoformulações à base de nim sobre *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) biótipo B em tomateiro. *Bragantia*, 74(3), 298-306. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.0404>
- De Oliveira, J., Campos, E. V. R., Bakshi, M., Abhilash, P. C., & Fraceto, L. F. (2014). Application of nanotechnology for the encapsulation of botanical insecticides for sustainable agriculture: Prospects and promises. *Biotechnology Advances*, 32(8), 1550-1561. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.10.010>
- Dimetry, N. Z. (2014). Different Plant Families as Bioresource for Pesticides. In *Advances in Plant Biopesticides* (pp. 1-20). New Delhi: Springer India. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2006-0_1
- Ebadollahi, A., Sendi, J. J., & Aliakbar, A. (2017). Efficacy of Nanoencapsulated *Thymus erio-calyx* and *Thymus kotschyanus* Essential Oils by a Mesoporous Material MCM-41 Against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 110(6), 2413-2420. <https://doi.org/10.1093/jee/tox234>
- Fahmi, M. Z., Suwito, H., Susilo, A., Joeniarti, E., Jaswidi, A. M. R., & Indrasari, N. (2017). Chitosan-based neem seed extract nanocapsules: A new approach on enhancing its effectiveness as an insecticide delivery agent. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, 52(6), 1129-1134.
- Fernandes, C. P., de Almeida, F. B., Silveira, A. N., Gonzalez, M. S., Mello, C. B., Feder, D., ... Falcão, D. Q. (2014). Development of an insecticidal nanoemulsion with *Manilkara subsericea* (Sapotaceae) extract. *Journal of Nanobiotechnology*, 12(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-12-22>

- Ferreira, F. T. R., Vendramim, J. D., & Forim, M. R. (2012). Bioatividade de nanoformulações de nim sobre a traça-do-tomateiro. *Ciência Rural*, 42(8), 1347-1353. <https://doi.org/10.1590/s0103-84782012000800003>
- Forim, M. R., Costa, E. S., Da Silva, M. F. D. G. F., Fernandes, J. B., Mondego, J. M., & Boiça Junior, A. L. (2013). Development of a new method to prepare nano-/microparticles loaded with extracts of *Azadirachta indica*, their characterization and use in controlling *Plutella xylostella*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 9131-9139. <https://doi.org/10.1021/jf403187y>
- Ghosh, V., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2016). Formulation and Characterization of Plant Essential Oil Based Nanoemulsion : Evaluation of its Larvicidal Activity. *Asian Journal of Chemistry*, 25, 321-323.
- Giongo, A. M. M., Vendramim, J. D., Forim, M. R., Giongo, A. M. M., Vendramim, J. D., & Forim, M. R. (2016). Evaluation of neem-based nanoformulations as alternative to control fall armyworm. *Ciência e Agrotecnologia*, 40(1), 26-36. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542016000100002>
- Gundewadi, G., Sarkar, D. J., Rudra, S. G., & Singh, D. (2018). Preparation of basil oil nanoemulsion using *Sapindus mukorossi* pericarp extract: Physico-chemical properties and anti-fungal activity against food spoilage pathogens. *Industrial Crops and Products*, 125, 95-104. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.076>
- Hashem, A. S., Awadalla, S. S., Zayed, G. M., Maggi, F., & Benelli, G. (2018). *Pimpinella anisum* essential oil nanoemulsions against *Tribolium castaneum* insecticidal activity and mode of action. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 18802-18812. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2068-1>
- Hayat, K., Afzal, M., Aqueel, M. A., Ali, S., Khan, Q. M., & Ashfaq, U. (2018). Determination of insecticide residues and their adverse effects on blood profile of occupationally exposed individuals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 163, 382-390. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.004>
- Hayles, J., Johnson, L., Worthley, C., & Losic, D. (2017). 5 - Nanopesticides: a review of current research and perspectives. In Elsevier (Ed.), *New Pesticides and Soil Sensors* (pp. 193-225). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804299-1.00006-0>
- Helgeson, M. E. (2016). Colloidal behavior of nanoemulsions: Interactions, structure, and rheology. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 25, 39-50. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2016.06.006>
- Isman, M. B. (2015). A renaissance for botanical insecticides? *Pest Management Science*, 71(12), 1587-1590. <https://doi.org/10.1002/ps.408>
- Isman, M. B., & Grieneisen, M. L. (2014). Botanical insecticide research: Many publications, limited useful data. *Trends in Plant Science*, 19(3), 140-145. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.11.005>

- Chinnaperumal, K., Govindasamy, B., Paramasivam, D., Dilipkumar, A., Dhayalan, A., Vadivel, A., Sengodan, K., Pachiappan, P. (2018). Bio-pesticidal effects of *Trichoderma viride* formulated titanium dioxide nanoparticle and their physiological and biochemical changes on *Helicoverpa armigera* (Hub.). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 149, 26–36. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.05.005>.
- Kamaraj, C., Gandhi, P. R., Elango, G., Karthi, S., Chung, I. M., & Rajakumar, G. (2018). Novel and environmental friendly approach; Impact of Neem (*Azadirachta indica*) gum nano formulation (NGNF) on *Helicoverpa armigera* (Hub.) and *Spodoptera litura* (Fab.). *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 59-69. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.145>
- Kumar, N., Kumar, R., Shakil, N. A., Sarkar, D. J., & Chander, S. (2018). Evaluation of fipronil nanoformulations for effective management of brown plant hopper (*Nilaparvata lugens*) in rice. *International Journal of Pest Management*, 61(1), 86-93. <https://doi.org/10.1080/09670874.2018.1468046>
- Kumar, S., Nehra, M., Dilbaghi, N., Marrazza, G., Aly Hassan, A., & Kim, K.-H. (2019). Nano-based smart pesticide formulations: Emerging opportunities for agriculture. *Journal of Controlled Release*, 294, 131-153. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.12.012>
- Lacasta, J., Lopez-Pellicer, F. J., Espejo-Garcia, B., Nogueras-Iso, J., & Zarazaga-Soria, F. J. (2018). Agricultural recommendation system for crop protection. *Computers and Electronics in Agriculture*, 152, 82-89. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2018.06.049>
- Malaikozhundan, B., & Vinodhini, J. (2018). Nanopesticidal effects of *Pongamia pinnata* leaf extract coated zinc oxide nanoparticle against the Pulse beetle, *Callosobruchus maculatus*. *Materials Today Communications*, 14, 106-115. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2017.12.01>
- Margulis-Goshen, K., & Magdassi, S. (2013). Nanotechnology: An Advanced Approach to the Development of Potent Insecticides. In *Advanced Technologies for Managing Insect Pests* (pp. 295-314). *Dordrecht: Springer Netherlands*. https://doi.org/10.1007/978-94-007-4497-4_15
- Margulis-Goshen, K., & Magdassi, S. (2013). Nanotechnology: An Advanced Approach to the Development of Potent Insecticides. In *Advanced Technologies for Managing Insect Pests* (pp. 295-314). *Dordrecht: Springer Netherlands*. https://doi.org/10.1007/978-94-007-4497-4_1
- Marrinello, F. (2014). Atomic force Microscopy. In *CIRP Encyclopedia of Production Engineering* (pp. 3-39). Berlin. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-35950-7>
- Miresmailli, S., & Isman, M. B. (2014). Botanical insecticides inspired by plant - herbivore chemical interactions. *Trends in Plant Science*, 19(1), 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.10.002>
- Nenaah, G. E., Ibrahim, S. I. A., & Al-Assiuty, B. A. (2015). Chemical composition, insecticidal activity and persistence of three Asteraceae essential oils and their nanoemulsions against *Callosobruchus maculatus* (F.). *Journal of Stored Products Research*, 61, 9-16. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2014.12.007>

- Nuruzzaman, M., Rahman, M. M., Liu, Y., & Naidu, R. (2016). Nanoencapsulation, Nano-guard for Pesticides: A New Window for Safe Application. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 1447-1483. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05214>
- Oliveira, A. P., Santana, A. S., Santana, E. D. R., Lima, A. P. S., Faro, R. R. N., Nunes, R. S., ... Bacci, L. (2017). Nanoformulation prototype of the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol to population management of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Industrial Crops and Products*, 107, 198-205. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.046>
- Osanloo, M., Amani, A., Sereshti, H., Abai, M. R., Esmaceli, F., & Sedaghat, M. M. (2017). Preparation and optimization nanoemulsion of Tarragon (*Artemisia dracunculus*) essential oil as effective herbal larvicide against *Anopheles stephensi*. *Industrial Crops and Products*, 109, 214-219. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.08.037>
- Pant, M., Dubey, S., Patanjali, P. K., Naik, S. N., & Sharma, S. (2014). Insecticidal activity of eucalyptus oil nanoemulsion with karanja and jatropa aqueous filtrates. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 91, 119-127. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.11.019>
- Papanikolaou, N. E., Kalaitzaki, A., Karamaouna, F., Michaelakis, A., Papadimitriou, V., Dourtoglou, V., & Papachristos, D. P. (2018). Nano-formulation enhances insecticidal activity of natural pyrethrins against *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) and retains their harmless effect to non-target predators. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 10243-10249. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8596-2>
- Papanikolaou, N. E., Kalaitzaki, A., Karamaouna, F., Michaelakis, A., Papadimitriou, V., Dourtoglou, V., & Papachristos, D. P. (2018). Nano-formulation enhances insecticidal activity of natural pyrethrins against *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) and retains their harmless effect to non-target predators. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 10243-10249. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8596-2>
- Pasquoto-Stigliani, T., Campos, E. V. R., Oliveira, J. L., Silva, C. M. G., Bilesky-José, N., Guilger, M., ... De Lima, R. (2017). Nanocapsules Containing Neem (*Azadirachta indica*) Oil: Development, Characterization, and Toxicity Evaluation. *Scientific Reports*, 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06092-4>
- Pereira-Da-Silva, A. M., & Ferri, F. A. (2017). 1 - Scanning Electron Microscopy. In *Elsevier (Ed.), Nanocharacterization Techniques* (pp. 1-35). <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-49778-7/00001-1>
- Pinto, N. de O. F., Rodrigues, T. H. S., Pereira, R. de C. A., Silva, L. M. A. e., Cáceres, C. A., Azeredo, H. M. C. de, Canuto, K. M. (2016). Production and physico-chemical characterization of nanocapsules of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. *Industrial Crops and Products*, 86, 279-288. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.013>

- Ramsden, J. J. (2016). The nanoscale. In *Elsevier (Ed.), Nanotechnology* (pp. 19-40). <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-39311-9.00008-x>
- Reddy, P. P. (2015). Climate resilient agriculture for ensuring food security. *Climate Resilient Agriculture for Ensuring Food Security*. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2199-9>
- Sakho, E. H. M., Allahyari, E., Oluwafemi, O. S., Thomas, S., & Kalarikkal, N. (2017). Dynamic Light Scattering (DLS). Thermal and Rheological Measurement Techniques for Nanomaterials Characterization (Vol. 3). *Elsevier Inc.* <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46139-9.00002-5>
- Schwaferts, C., Niessner, R., Elsner, M., & Ivleva, N. P. (2019). Methods for the analysis of submicrometer- and nanoplastic particles in the environment. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 112, 52-65. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2018.12.014>
- Shah, M. R., Imran, M., & Ullah, S. (2017a). Nanoemulsions. In *Lipid-Based Nanocarriers for Drug Delivery and Diagnosis* (pp. 117-137). *Elsevier*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-52729-3.00004-4>
- Shah, M. R., Imran, M., & Ullah, S. (2017b). *Solid lipid nanoparticles*. In *Elsevier (Ed.), Lipid-Based Nanocarriers for Drug Delivery and Diagnosis* (pp. 1-35). *William Andrew Publishing*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-52729-3.00001-9>
- Singh, B., & Kaur, A. (2018). Control of insect pests in crop plants and stored food grains using plant saponins: A review. *LWT - Food Science and Technology*, 87, 93-101. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.077>
- Singh, Y., Meher, J. G., Raval, K., Khan, F. A., Chaurasia, M., Jain, N. K., & Chourasia, M. K. (2017). Nanoemulsion: Concepts, development and applications in drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 252, 28-49. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.03.008>
- Tang, Q. L., Ma, K. S., Hou, Y. M., & Gao, X. W. (2017). Monitoring insecticide resistance and diagnostics of resistance mechanisms in the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) in China. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 143, 39-47. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.09.013>
- Velasques, J., Henrique, M., Abrantes, G., Emanuel, B., Luiz, O., & Migliolo, L. (2017). The rescue of botanical insecticides : A bioinspiration for new niches and needs. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 143, 14-25. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.10.003>
- Villena De Francisco, E., & García-estepa, R. M. (2018). Nanotechnology in the agrofood industry. *Journal of Food Engineering*, 238, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.05.024>
- Volpato, A., Baretta, D., Zortéa, T., Campigotto, G., Galli, G. M., Glombowsky, P., Da Silva, A. S. (2016). Larvicidal and insecticidal effect of *Cinnamomum zeylanicum* oil (pure and nanostructured) against

- mealworm (*Alphitobius diaperinus*) and its possible environmental effects. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 19(4), 1159-1165. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2016.10.008>
- Wani, T. A., Masoodi, F. A., Baba, W. N., Ahmad, M., Rahmanian, N., & Jafari, S. M. (2019). Nanoencapsulation of Agrochemicals, Fertilizers, and Pesticides for Improved Plant Production. In *Advances in Phytotechnology* (pp. 279-298). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815322-2.00012-2>
- Werdin González, J. O., Stefanazzi, N., Murray, A. P., Ferrero, A. A., & Fernández Band, B. (2014). Novel nanoinsecticides based on essential oils to control the German cockroach. *Journal of Pest Science*, 88(2), 393-404. <https://doi.org/10.1007/s10340-014-0607-1>
- Yang, D., Cui, B., Wang, C., Zhao, X., Zeng, Z., Wang, Y., Sun, C., Liu, G., Cui, H. (2017). Preparation and Characterization of Emamectin Benzoate Solid Nanodispersion. *Journal of Nanomaterials*, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2017/6560780>
- Yang, F. L., Li, X. G., Zhu, F., & Lei, C. L. (2009). Structural characterization of nanoparticles loaded with garlic essential oil and their insecticidal activity against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(21), 10156-10162. <https://doi.org/10.1021/jf9023118>