



Formulación y caracterización fisicoquímica de microemulsiones aceite en agua (O/W), con actividad anti-insecto, para el control de la hormiga arriera (*Atta cephalotes*) a partir de extractos de semilla de guanábana (*Annona muricata*)

Edinson Forero Uni

Trabajo de grado presentado para optar al título de
Magíster en Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente

Asesor
Walter Murillo Arango
Doctor en Ciencias Químicas

Asesores de recursos académicos: Diego Alejandro Soto Herrera (asesor bibliográfico), Elvia Lucía Sánchez García (asesora de integridad académica)

Universidad de Manizales
Facultad de Ciencias Contables, Económicas y Administrativas
Maestría en Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente
Manizales, Caldas, Colombia
2026

Citar/How to cite	(Forero Uni, 2026)
Referencia/Reference	Forero Uni, E. (2026). Formulación y caracterización fisicoquímica de microemulsiones aceite en agua (O/W), con actividad anti-insecto, para el control de la hormiga arriera (<i>Atta cephalotes</i>) a partir de extractos de semilla de guanabana [Trabajo de grado, Universidad de Manizales]. RIDUM: Repositorio Institucional Universidad de Manizales.
Estilo/Style: APA 7ma ed. (2020)	



Seleccione posgrado UManizales (A-Z), II

Centro de Investigaciones en Medio Ambiente y Desarrollo - CIMAD.

Seleccione grupo de investigación UManizales (A-Z)

Línea de Investigación Biosistemas Integrados.

Biblioteca y Centro de Recursos: biblioteca.umanizales.edu.co

Repositorio Institucional: ridum.umanizales.edu.co

Universidad de Manizales: umanizales.edu.co

Revistas: revistasum.umanizales.edu.co

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Manizales ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

Resumen

La hormiga arriera (*Atta cephalotes*) constituye una de las principales plagas agrícolas en ecosistemas tropicales debido a su elevada capacidad defoliadora y al impacto económico que genera sobre diversos cultivos de importancia agroindustrial. Frente a las limitaciones ambientales y toxicológicas asociadas al uso de insecticidas sintéticos, la presente investigación tuvo como objetivo formular y caracterizar fisicoquímicamente microemulsiones aceite en agua (O/W) elaboradas con extracto etanólico de semilla de guanábana (*Annona muricata*), así como evaluar su actividad insecticida y repelente sobre *Atta cephalotes*. La investigación se desarrolló bajo un enfoque cuantitativo de tipo experimental. El extracto vegetal fue obtenido mediante maceración etanólica y posteriormente formulado utilizando Tween 80, lauril sulfato de sodio y alcohol cetílico mediante emulsificación mecánica. Las formulaciones E2 y E13 fueron evaluadas en diferentes concentraciones mediante ensayos biológicos de mortalidad y repelencia. La caracterización fisicoquímica fue realizada mediante dispersión dinámica de luz (DLS) utilizando un equipo Zetasizer Pro. Los resultados evidenciaron tamaños de partícula dentro del rango nanométrico y actividad biológica significativa sobre *Atta cephalotes*, destacándose la formulación E2 por presentar mayor mortalidad y E13 por mostrar mayor efecto repelente. Se concluye que las microemulsiones formuladas con extracto de semilla de guanábana representan una alternativa promisorio para el desarrollo de bioinsecticidas sostenibles aplicables al manejo integrado de plagas agrícolas.

Palabras clave: bioinsecticida, microemulsiones, *Annona muricata*, *Atta cephalotes*, nanotecnología agrícola.

Abstract

The leaf-cutting ant (*Atta cephalotes*) is considered one of the main agricultural pests in tropical ecosystems due to its high defoliating capacity and the economic impact it generates on various agroindustrial crops. Given the environmental and toxicological limitations associated with the use of synthetic insecticides, the objective of this research was to formulate and physicochemically characterize oil-in-water (O/W) microemulsions prepared with ethanolic

extract of soursop seed (*Annona muricata*), as well as to evaluate their insecticidal and repellent activity against *Atta cephalotes*. The study was conducted under a quantitative experimental approach. The plant extract was obtained through ethanolic maceration and subsequently formulated using Tween 80, sodium lauryl sulfate and cetyl alcohol through mechanical emulsification. Formulations E2 and E13 were evaluated at different concentrations through biological mortality and repellency assays. Physicochemical characterization was performed using Dynamic Light Scattering (DLS) with a Zetasizer Pro device. The results showed particle sizes within the nanometric range and significant biological activity against *Atta cephalotes*, with formulation E2 presenting higher mortality and E13 exhibiting greater repellent effect. It is concluded that microemulsions formulated with soursop seed extract represent a promising alternative for the development of sustainable bioinsecticides applicable to integrated agricultural pest management.

Keywords: bioinsecticide, microemulsions, *Annona muricata*, *Atta cephalotes*, agricultural nanotechnology.

1 Introducción

Los sistemas agrícolas han estado históricamente expuestos al impacto de insectos plaga que afectan el desarrollo fisiológico y estructural de los cultivos, generando disminución en la productividad y pérdidas económicas significativas. Dentro de estas especies, la hormiga arriera (*Atta cephalotes*) constituye una de las principales plagas del bosque neotropical debido a su elevada capacidad defoliadora, eliminando entre el 10 % y el 15 % de la cobertura foliar en sus áreas de alimentación (Swanson et al., 2019). Su distribución geográfica se extiende desde el norte de Argentina hasta la zona central de Texas, mientras que en Colombia se reporta principalmente en las regiones Andina y Pacífica (Fernández, Castro-Huertas y Serna, 2015). Esta especie presenta comportamiento forrajero selectivo sobre múltiples cultivos agrícolas, entre ellos algodón (*Gossypium* L.), cacao (*Theobroma cacao* L.), yuca (*Manihot esculenta* Crantz), maíz (*Zea mays* L.), café (*Coffea arabica* L.), plátano (*Musa paradisiaca* L.), cítricos y diversas especies forestales.

El manejo de *Atta cephalotes* se ha basado tradicionalmente en métodos culturales, físicos y químicos; no obstante, la alta capacidad adaptativa de esta especie ha reducido progresivamente la eficacia de las estrategias convencionales de control. A ello se suma la restricción y prohibición

de ingredientes activos de síntesis química, como el fipronil, debido a sus impactos ambientales y toxicológicos, lo cual limita aún más las alternativas disponibles para el control efectivo de esta plaga.

En este contexto, la búsqueda de bioinsumos sostenibles ha cobrado especial relevancia dentro de los modelos de agricultura sostenible y manejo integrado de plagas. Entre las alternativas promisorias se encuentran los extractos vegetales con actividad insecticida, particularmente aquellos derivados de especies de la familia Annonaceae. Las semillas de guanábana (*Annona muricata*) contienen metabolitos secundarios bioactivos, especialmente acetogeninas, alcaloides y compuestos fenólicos, a los cuales se les atribuye actividad insecticida y repelente frente a diferentes especies de insectos plaga. Sin embargo, los extractos vegetales presentan limitaciones asociadas a su baja estabilidad fisicoquímica, inmiscibilidad en agua y reducida vida útil de almacenamiento (Gull et al., 2016).

Frente a estas limitaciones, las microemulsiones aceite en agua (O/W) representan una alternativa tecnológica que permite incrementar la estabilidad, dispersión y biodisponibilidad de los compuestos activos. El encapsulamiento de extractos vegetales mediante sistemas microemulsivos favorece una liberación más controlada de los metabolitos bioactivos y prolonga su estabilidad durante el almacenamiento (Dubey y Mostafavi, 2023). Adicionalmente, este tipo de formulaciones se proyecta como una estrategia compatible con los principios de sostenibilidad ambiental y aprovechamiento de residuos agroindustriales.

Por ende, la presente investigación tuvo como objetivo formular y caracterizar fisicoquímicamente microemulsiones aceite en agua (O/W) elaboradas con extracto de semilla de guanábana (*Annona muricata*), así como evaluar su actividad anti-insecto sobre la hormiga arriera (*Atta cephalotes*). El estudio aporta evidencia científica sobre el potencial uso de residuos agroindustriales como fuente de bioinsecticidas sostenibles aplicables al manejo fitosanitario en sistemas agrícolas tropicales, particularmente en sectores priorizados de agroindustria en el departamento del Huila.

2 Metodología

2.1 Tipo y diseño de investigación

La investigación se desarrolló bajo un enfoque cuantitativo de tipo experimental con alcance analítico, orientado a evaluar la actividad insecticida y repelente de microemulsiones aceite

en agua (O/W) formuladas con extracto etanólico de semilla de guanábana (*Annona muricata*) sobre la hormiga arriera (*Atta cephalotes*). El diseño experimental permitió analizar el comportamiento biológico de diferentes formulaciones y concentraciones, así como establecer relaciones entre las propiedades fisicoquímicas de las microemulsiones y su eficacia insecticida.

2.2 Obtención del material vegetal y extracción del extracto

El material vegetal utilizado correspondió a semillas de guanábana (*Annona muricata*) obtenidas en el municipio de Rivera, departamento del Huila, provenientes de procesos agroindustriales de despulpado del fruto. Las semillas fueron sometidas a lavado con agua corriente y posteriormente secadas a temperatura ambiente. Una vez secas, se realizó trituración mecánica y separación de la almendra y la cáscara mediante tamizaje progresivo.

La obtención del extracto vegetal se realizó mediante maceración etanólica utilizando etanol al 96 % en relación 1:3 (masa/volumen). El proceso se desarrolló durante 48 horas con agitación manual periódica y renovación del solvente. Posteriormente, el extracto fue filtrado y concentrado mediante rotaevaporación hasta obtener la fase oleosa utilizada en la formulación de las microemulsiones.

2.3 Formulación de las microemulsiones

Las microemulsiones aceite en agua (O/W) fueron preparadas mediante emulsificación directa. Para ello se utilizó Tween 80 como surfactante principal, lauril sulfato de sodio (Texapon 40 %) como agente tensioactivo complementario, alcohol cetílico y etanol como co-surfactantes, y agua destilada como fase acuosa.

Durante la formulación se aplicó agitación mecánica a 13.000 rpm mediante mezclador universal y calentamiento en baño maría a una temperatura aproximada de 62 °C, condiciones que favorecieron la reducción del tamaño de gota y la estabilidad del sistema coloidal.

Entre las formulaciones obtenidas se seleccionaron las emulsiones E2 y E13 debido a sus características preliminares de estabilidad y comportamiento fisicoquímico. La formulación E2 contenía 8 % de extracto etanólico de semilla de guanábana, mientras que E13 contenía 9 %. Ambas formulaciones fueron evaluadas en concentraciones de 6,25 %, 12,5 %, 25 %, 50 %, 75 % y 100 %.

2.4 Evaluación biológica sobre *Atta cephalotes*

2.4.1 Obtención, identificación y mantenimiento de la colonia experimental

Los individuos utilizados en los bioensayos fueron obtenidos a partir de una colonia experimental de hormiga arriera (*Atta cephalotes*) establecida y mantenida bajo condiciones controladas de laboratorio. La colonia fue acondicionada en recipientes interconectados que permitieron la separación funcional de las áreas de forrajeo, mantenimiento del hongo simbionte y disposición de residuos, con el propósito de reproducir parcialmente la organización natural de los nidos de esta especie.

La identificación taxonómica de los individuos fue realizada mediante la comparación de caracteres morfológicos diagnósticos utilizando claves especializadas para hormigas cortadoras de hojas de Colombia y literatura taxonómica de referencia, confirmándose la correspondencia con la especie *Atta cephalotes* (Linnaeus, 1758), una de las principales hormigas cortadoras de importancia económica en sistemas agrícolas tropicales (Fernández et al., 2015). La determinación taxonómica fue complementada mediante la revisión de material bibliográfico especializado y la consulta de expertos en el área.

Imagen 1



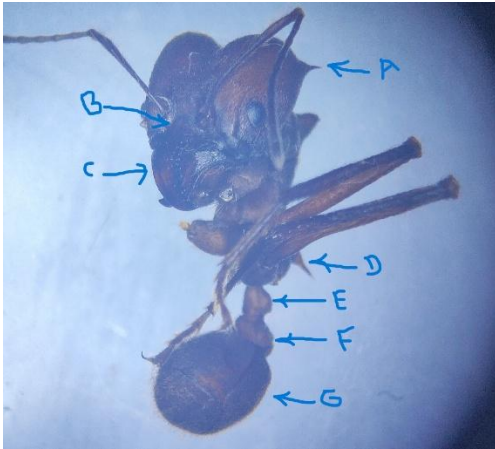
A: espina occipital están dirigidas hacia atrás y son largas (obrero menor *Atta cephalotes*)

B: espina pronotal largas están dirigidas hacia arriba y hacia adelante

C: espina mesonotal cortas y dirigidas hacia atrás

D: espina propodeal largas y dirigidas hacia atrás (más delgadas que la obrera mayor)

Imagen 2



A: espina occipital corta y dirigida hacia atrás (obrero mayor *Atta cephalotes*)

B: clípeo

C: diente, mandíbula alargada y muy curvada

D: espina propodeal larga y dirigida hacia atrás (más gruesa que la obrera menor)

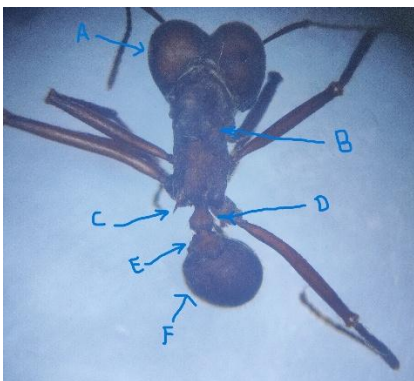
E: peciolo con protuberancias

F: pospeciolo con protuberancias

G: opistogaster liso con pilosidad muy corta se ve la línea que delimita el tergo 1.

La cabeza, el mesosoma y el opistogaster presentan el mismo color pardo oscuro, las extremidades un poco más claras. No tiene mucha pilosidad en el cuerpo. Cabeza con lados convexos

La cabeza, el mesosoma y el opistogaster presentan casi el mismo color pardo, las extremidades ligeramente más claras. No tiene mucha pilosidad en el cuerpo.



A: espina occipital corta y dirigida hacia atrás (obrero mayor *Atta cephalotes*)

B: espina pronotal muy corta y muy engrosada en la base (obrero mayor)

C: espina propodeal larga y dirigida hacia atrás (más gruesa que la obrera menor)

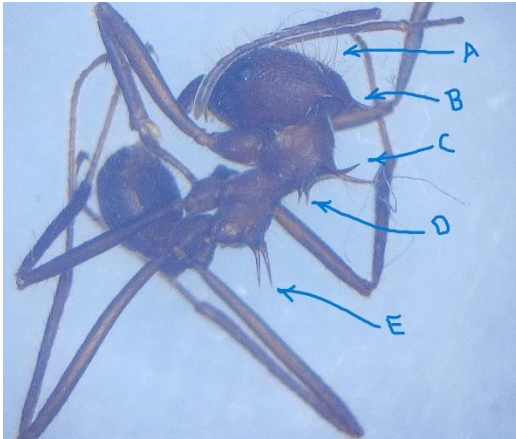
D: peciolo con protuberancias en el dorso

E: pospeciolo con protuberancias en el dorso

F: opistogaster liso

La cabeza, el mesosoma y el opistogaster presentan el mismo color pardo oscuro, las extremidades un poco más claras. No tiene mucha pilosidad en el cuerpo. Cabeza con lados convexos

Imagen 3



A: abundante pilosidad en el frente de la cabeza

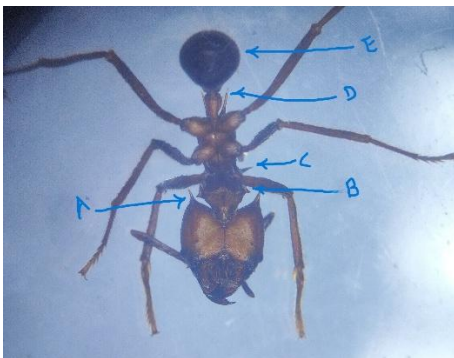
B: espina occipital están dirigidas hacia atrás y son largas (obrero menor Atta cephalotes)

C: espina pronotal largas están dirigidas hacia arriba y hacia adelante

D: espina mesonotal cortas y dirigidas hacia atrás

E: espina propodeal largas y dirigidas hacia atrás (más delgadas que la obrera mayor)

Imagen 5



A: espina occipital están dirigidas hacia atrás y son largas (obrero menor Atta cephalotes)

- B: espina inferior pronotal cortas y anchas en su base
- C: espina pronotal
- D: espina propodeal largas y dirigidas hacia atrás (más delgadas que la obrera mayor)
- E: opistogaster liso y con pilosidad corta

El mantenimiento de la colonia incluyó el suministro periódico de material vegetal fresco para el desarrollo del hongo mutualista (*Leucoagaricus gongylophorus*), así como la remoción de residuos y el monitoreo permanente de las condiciones generales del sistema. La utilización de una colonia establecida permitió disponer de individuos homogéneos para los ensayos biológicos y reducir la variabilidad asociada a factores ambientales externos. Este procedimiento se desarrolló siguiendo criterios reportados para el mantenimiento de hormigas cortadoras de hojas en condiciones de laboratorio (Nogueira et al., 2022).

2.4.2 Actividad insecticida

La evaluación de la actividad insecticida se realizó mediante un diseño completamente aleatorizado con seis tratamientos y cinco repeticiones por tratamiento, además de un control comercial. Cada unidad experimental estuvo conformada por cajas de Petri de nueve centímetros de diámetro que contenían seis hormigas obreras adultas de *Atta cephalotes* seleccionadas aleatoriamente de la colonia experimental.

El ensayo se desarrolló mediante el método de medio envenenado. Las evaluaciones de mortalidad se realizaron a las 6, 12 y 18 horas posteriores a la exposición. Se consideraron muertas aquellas hormigas que no presentaron movilidad ante estimulación mecánica mediante pinza entomológica.

2.4.3 Actividad repelente

La actividad repelente fue evaluada utilizando cajas de Petri divididas en dos hemicírculos, uno impregnado con 0,5 mL del tratamiento correspondiente y el otro con agua destilada como control. Cada unidad experimental incluyó siete hormigas obreras y cuatro repeticiones por tratamiento.

Las observaciones se realizaron cada hora durante cinco horas consecutivas, registrando la distribución espacial de los individuos entre el área tratada y el área control, con el propósito de determinar el comportamiento de repelencia asociado a cada formulación. La repelencia fue

estimada a partir de la proporción de individuos que evitaron el área tratada durante los periodos de observación.

2.5 Caracterización fisicoquímica

La caracterización fisicoquímica de las formulaciones seleccionadas se realizó en el Laboratorio de Investigación en Polímeros de la Universidad de Antioquia mediante análisis de dispersión dinámica de luz (Dynamic Light Scattering, DLS), utilizando un equipo Zetasizer Pro marca Malvern.

Las muestras correspondientes a las formulaciones E2 y E13 fueron diluidas en proporción 1:10 con agua destilada y posteriormente sometidas a agitación en vortex durante dos minutos para garantizar adecuada dispersión de las partículas antes de la medición instrumental. Cada análisis fue realizado por triplicado.

La técnica DLS permitió determinar el tamaño promedio de partícula y el índice de polidispersidad de las formulaciones, parámetros utilizados para evaluar estabilidad coloidal y comportamiento fisicoquímico de las microemulsiones. Los resultados obtenidos permitieron identificar características compatibles con sistemas microemulsivos aceite en agua (O/W), evidenciándose comportamiento translúcido y tamaños de partícula dentro del rango nanométrico.

2.6 Análisis estadístico

El procesamiento y análisis de los datos experimentales se realizó mediante herramientas estadísticas descriptivas e inferenciales orientadas a identificar diferencias significativas entre tratamientos, concentraciones y tiempos de exposición.

Inicialmente se aplicó análisis de varianza (ANOVA) para determinar diferencias estadísticas en las variables de mortalidad y repelencia. Posteriormente se realizaron pruebas post hoc de comparación múltiple mediante los métodos de Tukey y Dunnett. La prueba de Tukey permitió identificar diferencias entre tratamientos, mientras que la prueba de Dunnett fue utilizada para comparar cada tratamiento frente al control comercial.

Adicionalmente, se realizaron análisis de supervivencia mediante curvas Kaplan–Meier con el propósito de evaluar el comportamiento temporal de mortalidad de *Atta cephalotes* bajo los diferentes tratamientos experimentales.

El procesamiento estadístico y la representación gráfica de los resultados se desarrollaron en entorno Python utilizando Google Colab y las librerías pandas, scipy, statsmodels, matplotlib y seaborn, garantizando reproducibilidad y trazabilidad en el análisis de la información experimental.

3 Marco teórico

3.1 Bioinsecticidas y agricultura sostenible

La intensificación agrícola desarrollada durante las últimas décadas ha estado acompañada por un uso creciente de insecticidas químicos de síntesis para el control de plagas que afectan la productividad de los cultivos. Aunque estas sustancias han permitido incrementar los rendimientos agrícolas y disminuir parcialmente las pérdidas fitosanitarias, también han generado importantes impactos negativos sobre el ambiente, la biodiversidad y la salud humana. La contaminación de suelos y fuentes hídricas, la bioacumulación de compuestos tóxicos y la afectación de organismos no objetivo constituyen algunas de las principales consecuencias asociadas al uso indiscriminado de pesticidas convencionales (Campos et al., 2018).

A esta problemática se suma la creciente capacidad adaptativa de los insectos plaga, fenómeno que ha favorecido la aparición de mecanismos de resistencia frente a diversos ingredientes activos utilizados en agricultura. Esta situación ha reducido progresivamente la eficacia de numerosos insecticidas químicos, obligando a incrementar dosis de aplicación o frecuencia de uso, lo cual intensifica aún más los impactos ambientales y toxicológicos. En consecuencia, la agricultura contemporánea enfrenta el desafío de desarrollar estrategias de manejo fitosanitario más sostenibles, selectivas y compatibles con la conservación de los ecosistemas agrícolas.

Dentro de este contexto, diversos países han fortalecido las regulaciones relacionadas con el uso de insecticidas de alta toxicidad ambiental. Sustancias como el fipronil han sido restringidas o prohibidas en distintos sistemas productivos debido a su impacto sobre polinizadores, organismos acuáticos y fauna benéfica. Estas restricciones regulatorias evidencian la necesidad de sustituir parcial o progresivamente los pesticidas convencionales por alternativas biodegradables y de menor persistencia ambiental.

El manejo integrado de plagas (MIP) surge precisamente como una estrategia orientada a reducir la dependencia de productos químicos mediante la integración de métodos biológicos, culturales, físicos y ecológicos para el control de insectos plaga. En este enfoque, los bioinsecticidas vegetales han adquirido especial relevancia debido a su capacidad para actuar

selectivamente sobre organismos objetivo, presentar menor persistencia ambiental y reducir los riesgos toxicológicos asociados a los pesticidas sintéticos.

Los productos naturales derivados de plantas representan una fuente importante de metabolitos secundarios con actividad insecticida, repelente, fago-inhibidora y reguladora del crecimiento de insectos. Compuestos como alcaloides, terpenos, flavonoides y acetogeninas han demostrado actividad biológica frente a múltiples especies plaga, convirtiéndose en una alternativa promisorio para el desarrollo de bioinsumos agrícolas sostenibles (Isman y Akhtar, 2007). Además de su actividad biológica, estos compuestos presentan ventajas relacionadas con biodegradabilidad, menor bioacumulación y menor toxicidad sobre organismos no objetivo.

En los últimos años, la investigación en bioinsecticidas ha evolucionado hacia la incorporación de herramientas nanotecnológicas que permitan mejorar la estabilidad y eficiencia de los compuestos naturales. En este sentido, los nanopesticidas y nanoformulaciones agrícolas buscan optimizar la liberación controlada de ingredientes activos, incrementar su estabilidad físicoquímica y reducir las pérdidas por degradación o volatilización (Kannan et al., 2023). Estas tecnologías representan una transición entre la agricultura convencional basada en pesticidas sintéticos y modelos de producción más sostenibles fundamentados en bioinsumos de origen natural.

De esta manera, los bioinsecticidas vegetales no constituyen únicamente una alternativa ecológica, sino una necesidad técnica frente a los fenómenos de resistencia biológica, contaminación ambiental y restricciones regulatorias que afectan actualmente la sostenibilidad de los sistemas agrícolas. En consecuencia, el aprovechamiento de extractos vegetales formulados mediante tecnologías de nanoencapsulación y microemulsificación se proyecta como una estrategia con alto potencial para el manejo integrado de plagas en sistemas agrícolas tropicales.

La narrativa debe orientarse a demostrar que los bioinsecticidas vegetales no son únicamente una alternativa “ecológica”, sino una necesidad técnica frente a resistencia biológica y contaminación ambiental.

3.2 Nanobiotecnología y microemulsiones O/W

La incorporación de herramientas nanotecnológicas en la agricultura ha permitido el desarrollo de nuevas estrategias para el manejo de plagas, orientadas a incrementar la eficiencia biológica de los ingredientes activos y reducir simultáneamente los impactos ambientales asociados

al uso intensivo de pesticidas convencionales. En este contexto, la nanobiotecnología aplicada al control fitosanitario ha adquirido relevancia debido a su capacidad para modificar propiedades físicoquímicas de los compuestos bioactivos, optimizando su estabilidad, biodisponibilidad y liberación controlada.

3.2.1 Nanotecnología aplicada al control de plagas

La nanotecnología agrícola comprende el diseño y aplicación de materiales con dimensiones nanométricas para mejorar procesos relacionados con nutrición vegetal, liberación de fertilizantes y control de organismos plaga. Dentro de este campo, los nanopesticidas representan una de las aplicaciones más prometedoras debido a su capacidad para incrementar la eficiencia de los ingredientes activos y disminuir las dosis requeridas para el control biológico de insectos (Ali et al., 2021).

Los nanopesticidas corresponden a formulaciones en las cuales el ingrediente activo es encapsulado, adsorbido o dispersado en estructuras nanométricas capaces de modificar su comportamiento físicoquímico y biológico. Esta nanoencapsulación permite proteger los compuestos bioactivos frente a degradación ambiental, oxidación y volatilización, mejorando su estabilidad y prolongando su vida útil. De igual manera, facilita procesos de liberación controlada, permitiendo que los ingredientes activos sean liberados progresivamente sobre el organismo objetivo (Muben, 2023).

La utilización de nanoestructuras en formulaciones agrícolas incrementa la biodisponibilidad de los compuestos bioactivos, favoreciendo una mayor interacción con tejidos biológicos y aumentando la eficacia insecticida. Según Kah et al. (2013), las propiedades superficiales y el tamaño reducido de las partículas permiten mejorar procesos de absorción, penetración y dispersión sobre los insectos plaga. Sin embargo, estos autores advierten que el incremento de biodisponibilidad también puede generar riesgos potenciales sobre organismos no objetivo, razón por la cual el desarrollo de nanopesticidas debe orientarse hacia formulaciones biodegradables y ambientalmente seguras.

En respuesta a esta necesidad han surgido los nanobioplaguicidas, formulaciones elaboradas a partir de extractos naturales encapsulados mediante sistemas coloidales biodegradables. Estas tecnologías buscan combinar la actividad biológica de metabolitos vegetales con las ventajas físicoquímicas de la nanotecnología, permitiendo mejorar estabilidad, persistencia y liberación controlada de los principios activos (Wang et al., 2020). De acuerdo con Wang et al.

(2022), parámetros como tamaño de partícula, homogeneidad y distribución superficial constituyen factores determinantes en la eficacia biológica y estabilidad de este tipo de formulaciones.

La aplicación de nanotecnología al control de plagas representa así una transición hacia modelos agrícolas más sostenibles, en los cuales la eficiencia biológica se combina con reducción de residuos tóxicos, disminución de contaminación ambiental y menor afectación sobre organismos benéficos.

3.2.2 Microemulsiones aceite en agua (O/W)

Las microemulsiones corresponden a sistemas coloidales termodinámicamente estables formados por dos líquidos inmiscibles, generalmente aceite y agua, estabilizados mediante surfactantes y co-surfactantes. Estos sistemas presentan tamaño de gota reducido, comportamiento translúcido y elevada estabilidad fisicoquímica, características que los diferencian de las emulsiones convencionales (Solans et al., 2005).

Las emulsiones tradicionales poseen gotas de tamaño micrométrico y presentan inestabilidad física asociada a fenómenos como coalescencia, sedimentación y separación de fases. En contraste, las nanoemulsiones y microemulsiones presentan gotas con dimensiones inferiores a 1000 nm, favoreciendo una mayor estabilidad y homogeneidad del sistema disperso (Gupta et al., 2016). El tamaño reducido de las gotas incrementa el área superficial disponible y mejora la interacción entre los compuestos bioactivos y los organismos objetivo.

Uno de los parámetros más importantes en este tipo de formulaciones corresponde al índice de polidispersidad, el cual permite evaluar el grado de uniformidad en la distribución del tamaño de partícula. Valores bajos de polidispersidad indican mayor homogeneidad y estabilidad coloidal, mientras que distribuciones heterogéneas pueden favorecer fenómenos de agregación y separación de fases.

La estabilidad de las microemulsiones depende en gran medida de la acción de surfactantes y co-surfactantes presentes en la interfaz aceite-agua. Estas moléculas reducen la tensión interfacial y favorecen la formación de gotas de tamaño nanométrico. En el caso de la presente investigación, el Tween 80 actuó como surfactante principal debido a su capacidad para estabilizar sistemas aceite en agua, mientras que el lauril sulfato de sodio (Texapon 40 %) contribuyó a mejorar la dispersión y estabilidad coloidal de las formulaciones. El alcohol cetílico y el etanol fueron utilizados como co-surfactantes para facilitar la formación y estabilidad de las microemulsiones.

El proceso de emulsificación mecánica mediante agitación de alta velocidad permitió generar fuerzas de cizallamiento responsables de fragmentar gotas de mayor tamaño en partículas más pequeñas y homogéneas. Según Ghosh et al. (2004), la combinación entre energía mecánica, surfactantes adecuados y control térmico favorece la obtención de sistemas microemulsivos estables y translúcidos con propiedades apropiadas para aplicaciones biológicas.

La utilización de microemulsiones en formulaciones agrícolas resulta especialmente relevante en extractos vegetales hidrofóbicos o de baja estabilidad acuosa, ya que permite mejorar dispersión, almacenamiento y biodisponibilidad de los compuestos activos presentes en los extractos botánicos.

3.2.3 Sistemas coloidales y estabilidad fisicoquímica

Los sistemas microemulsivos corresponden a dispersiones coloidales complejas cuya estabilidad depende de propiedades relacionadas con tamaño de partícula, distribución superficial y comportamiento dinámico de las gotas suspendidas en el medio acuoso. En este contexto, la caracterización fisicoquímica constituye una etapa fundamental para evaluar la calidad y estabilidad de las formulaciones desarrolladas.

Una de las técnicas más utilizadas para la caracterización de sistemas coloidales es la dispersión dinámica de luz (Dynamic Light Scattering, DLS), método basado en el análisis de las fluctuaciones de intensidad de luz dispersada por partículas suspendidas en movimiento browniano. Este fenómeno corresponde al desplazamiento aleatorio de las partículas debido a colisiones con moléculas del medio líquido, permitiendo estimar el tamaño hidrodinámico de las gotas presentes en la formulación.

El equipo Zetasizer Pro utilizado en esta investigación permite determinar parámetros como tamaño promedio de partícula y índice de polidispersidad mediante análisis de correlación de la luz dispersada. Estos parámetros son ampliamente utilizados para evaluar estabilidad coloidal y comportamiento nanométrico de emulsiones y nanoestructuras.

La distribución del tamaño de partícula posee una relación directa con la eficacia biológica de las formulaciones insecticidas. Partículas de menor tamaño presentan mayor área superficial y mejor capacidad de interacción con tejidos biológicos, favoreciendo procesos de penetración, absorción y liberación controlada de los compuestos activos. Asimismo, tamaños nanométricos homogéneos contribuyen a incrementar estabilidad fisicoquímica y reducir fenómenos de separación de fases.

En formulaciones bioinsecticidas elaboradas con extractos vegetales, la estabilidad coloidal adquiere especial importancia debido a la naturaleza hidrofóbica de muchos metabolitos secundarios presentes en los extractos. En consecuencia, la caracterización fisicoquímica mediante DLS constituye una herramienta fundamental para relacionar las propiedades estructurales de las microemulsiones con su comportamiento biológico y su potencial aplicación en sistemas agrícolas sostenibles.

3.3 *Annona muricata* y metabolitos bioactivos

La guanábana (*Annona muricata* L.), perteneciente a la familia Annonaceae, es una especie ampliamente distribuida en regiones tropicales y reconocida por su importancia alimentaria, medicinal y biotecnológica. Además del aprovechamiento comercial de su fruto, diferentes estructuras vegetales como hojas, raíces, corteza y semillas han despertado interés científico debido a la presencia de metabolitos secundarios con actividad biológica. Entre estas estructuras, la semilla constituye una de las fracciones con mayor potencial bioactivo, especialmente por su contenido de acetogeninas y otros compuestos con actividad insecticida, antioxidante y antimicrobiana.

3.3.1 Composición fitoquímica

La composición fitoquímica de la semilla de *Annona muricata* incluye una amplia diversidad de compuestos bioactivos pertenecientes a diferentes grupos químicos, entre ellos acetogeninas, alcaloides, flavonoides, fenoles y ácidos grasos bioactivos. Estos metabolitos secundarios participan en mecanismos de defensa natural de la planta frente a microorganismos, herbívoros e insectos plaga, razón por la cual han sido objeto de múltiples investigaciones orientadas al desarrollo de bioinsumos agrícolas y farmacológicos.

De acuerdo con Santos et al. (2023), las semillas de guanábana contienen compuestos fenólicos como ácido gálico, ácido cafeico, ácido clorogénico y ácido ferúlico, así como flavonoides como quercetina, rutina, catequina y kaempferol. Estos metabolitos presentan propiedades antioxidantes y bioactivas que contribuyen a la actividad biológica de los extractos vegetales. Asimismo, se han identificado alcaloides y compuestos terpénicos asociados a mecanismos de defensa química y actividad tóxica frente a insectos.

Entre los compuestos más importantes presentes en la familia Annonaceae destacan las acetogeninas, consideradas las principales biomoléculas responsables de la actividad insecticida de *Annona muricata*. Estas sustancias corresponden a derivados de ácidos grasos de cadena larga con

estructuras complejas que incluyen anillos tetrahidrofuránicos (THF) y grupos funcionales con elevada actividad biológica.

Mesquita et al. (2021) señalan que los procesos de extracción ecológica aplicados a semillas de guanábana permiten recuperar una alta concentración de metabolitos bioactivos con potencial aplicación en sistemas agrícolas sostenibles. Del mismo modo, Aguilar-Hernández et al. (2019) reportan que los extractos obtenidos mediante extracción asistida presentan elevada concentración de compuestos fenólicos y capacidad biológica significativa frente a diferentes organismos.

La diversidad fitoquímica de las semillas de guanábana convierte este residuo agroindustrial en una fuente promisoría para el desarrollo de bioinsecticidas de origen vegetal, especialmente cuando dichos compuestos son formulados mediante sistemas capaces de mejorar su estabilidad y biodisponibilidad.

3.3.2 Actividad insecticida de las acetogeninas

Las acetogeninas constituyen el grupo de metabolitos secundarios más estudiado dentro de la familia Annonaceae debido a su elevada actividad biológica frente a diferentes organismos. Según Alali et al. (1999), estas biomoléculas poseen propiedades citotóxicas, antiparasitarias e insecticidas asociadas principalmente a su capacidad para interferir en procesos fundamentales del metabolismo energético celular.

El mecanismo de acción insecticida de las acetogeninas se relaciona directamente con la inhibición del complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial, específicamente sobre la NADH oxidasa. Esta inhibición bloquea el transporte de electrones y altera la producción de ATP, afectando el metabolismo energético celular y provocando disfunción fisiológica en los insectos expuestos.

Guadaño et al. (2000) demostraron que diversas acetogeninas presentan una fuerte interacción con las membranas lipídicas celulares debido a la presencia de anillos tetrahidrofuránicos y cadenas alquílicas hidroxiladas. Esta interacción favorece la alteración de la integridad funcional de la membrana mitocondrial, generando interrupción en la respiración celular y procesos de toxicidad progresiva sobre los insectos.

De acuerdo con Isman y Akhtar (2007), la actividad insecticida de los extractos de *Annona muricata* no depende exclusivamente de un compuesto aislado, sino de la acción sinérgica entre diferentes metabolitos secundarios presentes en el extracto vegetal. Esta combinación de

compuestos puede incrementar la eficacia biológica y disminuir simultáneamente la probabilidad de generación de resistencia en insectos plaga.

La toxicidad generada por las acetogeninas sobre organismos insectiles ha sido ampliamente reportada en especies de importancia agrícola y sanitaria. Estos compuestos afectan funciones metabólicas esenciales, disminuyen movilidad, interfieren en procesos alimenticios y finalmente producen mortalidad debido al colapso energético celular.

El conocimiento del mecanismo de acción de las acetogeninas constituye el fundamento biológico que explica la actividad insecticida observada experimentalmente en formulaciones elaboradas con extracto de semilla de guanábana, particularmente cuando dichos compuestos son estabilizados mediante sistemas microemulsivos que favorecen su biodisponibilidad y penetración.

3.3.3 Bioactividad reportada en insectos plaga

Diversas investigaciones han documentado la actividad biológica de extractos y compuestos derivados de *Annona muricata* sobre múltiples especies de insectos plaga de importancia agrícola y sanitaria. Esta evidencia científica respalda el potencial de la semilla de guanábana como fuente de bioinsecticidas aplicables al manejo integrado de plagas.

En mosquitos vectores como *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*, Rodrigues et al. (2019) reportaron efectos larvicidas significativos asociados a extractos ricos en acetogeninas y a compuestos como la anonacina. Los autores observaron alteraciones en enzimas metabólicas y elevada mortalidad larval, demostrando la capacidad de los extractos para interferir en funciones fisiológicas esenciales de los insectos.

De manera similar, Parthiban et al. (2020) evidenciaron actividad insecticida de extractos de semilla de guanábana sobre *Aedes aegypti*, asociando el efecto tóxico a inhibición de enzimas detoxificantes y alteraciones metabólicas en las larvas expuestas.

En plagas agrícolas, extractos de especies del género *Annona* han mostrado actividad sobre insectos como *Myzus persicae* y *Spodoptera frugiperda*. Estudios desarrollados en sistemas agrícolas latinoamericanos han demostrado efectos fagoinhibidores, reducción de movilidad y mortalidad significativa en insectos expuestos a extractos etanólicos de semillas y aceites esenciales derivados de Annonaceae.

Respecto a hormigas cortadoras de hojas del género *Atta*, aunque los estudios específicos sobre formulaciones nanoestructuradas elaboradas con *Annona muricata* son aún limitados, existen investigaciones que demuestran la susceptibilidad de estas especies frente a bioinsecticidas

vegetales y nanoformulaciones. Rocha et al. (2018) reportaron actividad insecticida de nanoformulaciones de aceites esenciales sobre hormigas cortadoras, observando disminución de desplazamiento, alteraciones comportamentales y mortalidad significativa.

La evidencia científica disponible permite establecer que los metabolitos bioactivos presentes en *Annona muricata* poseen actividad frente a diferentes órdenes de insectos, incluyendo especies de importancia agrícola y sanitaria. Estos antecedentes sustentan científicamente la hipótesis de que las microemulsiones elaboradas con extracto de semilla de guanábana pueden ejercer actividad insecticida y repelente sobre *Atta cephalotes*, particularmente cuando la formulación mejora estabilidad, dispersión y biodisponibilidad de los compuestos activos.

3.4 *Atta cephalotes* como plaga agrícola

Las hormigas cortadoras de hojas del género *Atta* constituyen uno de los grupos de insectos de mayor impacto sobre ecosistemas agrícolas y forestales en América Latina. Entre estas especies, *Atta cephalotes* se destaca por su elevada capacidad de adaptación, comportamiento social altamente organizado y amplio rango de distribución geográfica, factores que la convierten en una de las principales plagas de importancia económica en regiones tropicales y subtropicales.

3.4.1 Importancia económica y ecológica

La principal afectación generada por *Atta cephalotes* se relaciona con su comportamiento herbívoro y defoliador. Estas hormigas recolectan grandes cantidades de material vegetal fresco para el cultivo simbiótico del hongo del cual se alimenta la colonia, provocando pérdida significativa de biomasa vegetal y disminución de la capacidad fotosintética de las plantas afectadas.

Swanson et al. (2019) reportan que las hormigas cortadoras pueden remover entre el 10 % y el 15 % de la cobertura foliar disponible en las áreas donde establecen actividad de forrajeo, convirtiéndose en uno de los herbívoros más importantes del bosque neotropical. Esta capacidad de defoliación genera alteraciones fisiológicas sobre las plantas, afectando crecimiento, producción y recuperación de los cultivos.

En Colombia, *Atta cephalotes* se encuentra distribuida principalmente en las regiones Andina y Pacífica, afectando una amplia variedad de cultivos agrícolas y forestales. Fernández et al. (2015) señalan que esta especie presenta actividad forrajera sobre aproximadamente cincuenta especies vegetales, incluyendo cacao (*Theobroma cacao* L.), café (*Coffea arabica* L.), maíz (*Zea*

mays L.), yuca (*Manihot esculenta* Crantz), caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.), plátano (*Musa paradisiaca* L.) y diferentes especies forestales y frutales.

El impacto económico asociado a esta plaga se refleja en disminución de productividad agrícola, pérdidas de cosecha y aumento de costos relacionados con actividades de control fitosanitario. Adicionalmente, las hormigas arrieras generan alteraciones ecosistémicas debido a la remoción de suelo durante la construcción de hormigueros, modificando propiedades físicas del terreno y afectando dinámicas ecológicas locales.

La elevada capacidad adaptativa y organización social de *Atta cephalotes* permite que sus colonias alcancen grandes tamaños poblacionales y desarrollen mecanismos eficientes de supervivencia frente a condiciones ambientales adversas y estrategias convencionales de control. Esta situación convierte a la especie en un problema persistente para sistemas agrícolas tropicales y evidencia la necesidad de desarrollar alternativas de manejo más eficientes y sostenibles.

3.4.2 Manejo integrado y limitaciones de control

El control de *Atta cephalotes* ha sido abordado tradicionalmente mediante métodos químicos, físicos, mecánicos y culturales. Entre las estrategias más utilizadas se encuentran la aplicación de cebos tóxicos, insecticidas granulados, destrucción mecánica de hormigueros y manejo de barreras físicas. Sin embargo, la efectividad de estas medidas suele verse limitada por la compleja organización social de las colonias y la elevada capacidad adaptativa de la especie.

Los métodos químicos continúan siendo las herramientas de control más utilizadas debido a su rapidez de acción y relativa efectividad. No obstante, el uso continuo e intensivo de insecticidas sintéticos ha favorecido procesos de resistencia biológica y adaptación fisiológica en diferentes especies de insectos plaga, incluyendo hormigas cortadoras. Esta situación obliga frecuentemente a incrementar dosis de aplicación y frecuencia de uso, generando mayores riesgos ambientales y toxicológicos.

Adicionalmente, diversos ingredientes activos utilizados históricamente en el control de hormigas arrieras han sido objeto de restricciones regulatorias debido a su toxicidad sobre organismos no objetivo y ecosistemas acuáticos y terrestres. Los impactos ambientales asociados al uso de insecticidas químicos incluyen contaminación de suelos y cuerpos de agua, afectación de fauna benéfica, bioacumulación y alteraciones en cadenas tróficas.

Frente a estas limitaciones, el manejo integrado de plagas (MIP) ha promovido la incorporación de alternativas sostenibles orientadas a reducir la dependencia de productos

químicos convencionales. En este contexto, los bioinsecticidas vegetales y las tecnologías de nanoencapsulación representan herramientas promisorias debido a su potencial para combinar eficacia biológica y menor impacto ambiental.

La necesidad de desarrollar formulaciones biodegradables, selectivas y compatibles con sistemas agrícolas sostenibles ha impulsado el interés científico por extractos vegetales con actividad insecticida, especialmente aquellos provenientes de especies con alta concentración de metabolitos bioactivos.

3.4.3 Bioinsecticidas aplicados al género *Atta*

En los últimos años se ha incrementado el número de investigaciones orientadas al uso de bioinsecticidas vegetales y nanoformulaciones para el control de hormigas cortadoras de hojas del género *Atta*. Estas estrategias buscan aprovechar la actividad biológica de extractos vegetales, aceites esenciales y metabolitos secundarios con capacidad insecticida o repelente.

Diversos extractos vegetales han mostrado efectos fagoinhibidores, tóxicos y comportamentales sobre hormigas cortadoras. Dentro de estas alternativas, los aceites esenciales y extractos ricos en terpenos, alcaloides y compuestos fenólicos han mostrado resultados promisorios en estudios experimentales realizados bajo condiciones controladas.

Rocha et al. (2018) reportaron actividad insecticida significativa de nanoformulaciones elaboradas con aceites esenciales de *Pogostemon cablin* sobre especies del género *Atta*, observando disminución de movilidad, alteraciones comportamentales y mortalidad en hormigas obreras. Estos resultados evidencian que la nanoencapsulación puede incrementar la estabilidad y eficacia biológica de compuestos naturales utilizados en control de plagas.

Por su parte, Santhosh et al. (2015) desarrollaron nanopartículas de plata sintetizadas a partir de extractos de *Annona muricata*, demostrando toxicidad efectiva sobre larvas de *Aedes aegypti*. Aunque este estudio no se desarrolló específicamente sobre hormigas cortadoras, proporciona evidencia relevante acerca del potencial bioinsecticida de metabolitos presentes en la guanábana y su posible aplicación en formulaciones nanotecnológicas.

De manera complementaria, Khoshraftar et al. (2020) reportaron actividad insecticida de nanopesticidas naturales elaborados con extractos vegetales sobre insectos plaga agrícolas, destacando la capacidad de estas formulaciones para mejorar estabilidad, biodisponibilidad y liberación controlada de los ingredientes activos.

En conjunto, estos antecedentes demuestran que la integración entre extractos vegetales bioactivos y sistemas nanoestructurados representa una alternativa tecnológica viable para el control de hormigas cortadoras. En este contexto, las microemulsiones elaboradas con extracto etanólico de semilla de *Annona muricata* se proyectan como una estrategia innovadora para el manejo de *Atta cephalotes*, al combinar la actividad insecticida de las acetogeninas con las ventajas fisicoquímicas de los sistemas coloidales nanoestructurados.

4. Resultados

En esta sección se presentan los hallazgos obtenidos durante la caracterización fisicoquímica y la evaluación biológica de las microemulsiones formuladas con extracto etanólico de semilla de guanábana (*Annona muricata*) sobre la hormiga arriera (*Atta cephalotes*). Los resultados incluyen análisis de tamaño de partícula, estabilidad coloidal, mortalidad, repelencia y comportamiento dosis–respuesta, así como el procesamiento estadístico desarrollado mediante modelos inferenciales y análisis de supervivencia.

4.1 Caracterización fisicoquímica de las microemulsiones

La caracterización fisicoquímica realizada mediante dispersión dinámica de luz (DLS) permitió determinar el tamaño promedio de partícula y el índice de polidispersidad de las formulaciones seleccionadas. Los resultados obtenidos evidenciaron diferencias entre las formulaciones E2 y E13 en términos de tamaño de gota y homogeneidad coloidal.

Tabla 1

Caracterización fisicoquímica de las microemulsiones E2 y E13

Formulación	Tamaño promedio de partícula (nm)	Índice de polidispersidad
E2	686	1,07
E13	815	17,2

Nota. Resultados obtenidos mediante dispersión dinámica de luz (DLS) utilizando equipo Zetasizer Pro Malvern.

Fuente. Elaboración propia.

La formulación E2 presentó un tamaño promedio de partícula inferior al registrado en E13, indicando una mayor homogeneidad del sistema coloidal. Asimismo, los valores obtenidos

evidenciaron características compatibles con sistemas microemulsivos translúcidos y estables. Estos resultados se muestran en la Tabla 1.

El análisis visual de las formulaciones permitió observar comportamiento translúcido y ausencia de separación de fases durante el periodo de evaluación, lo cual constituye un indicador preliminar de estabilidad físicoquímica. La reducción del tamaño de partícula favorecida por el proceso de emulsificación mecánica y el uso de surfactantes permitió obtener sistemas coloidales adecuados para aplicaciones biológicas.

4.2 Actividad insecticida sobre *Atta cephalotes*

La evaluación de la actividad insecticida evidenció diferencias significativas entre las formulaciones evaluadas y las concentraciones utilizadas sobre *Atta cephalotes*. En términos generales, el incremento de la concentración produjo un aumento progresivo de la mortalidad en las hormigas expuestas, observándose un comportamiento dependiente de la dosis en ambas formulaciones.

Tabla 2

Porcentaje de mortalidad de *Atta cephalotes* expuesta a las formulaciones E2 y E13

Concentración (%)	Mortalidad E2 (%)	Mortalidad E13 (%)
6,25	18	12
12,5	26	21
25	44	39
50	71	63
75	93	87
100	100	96

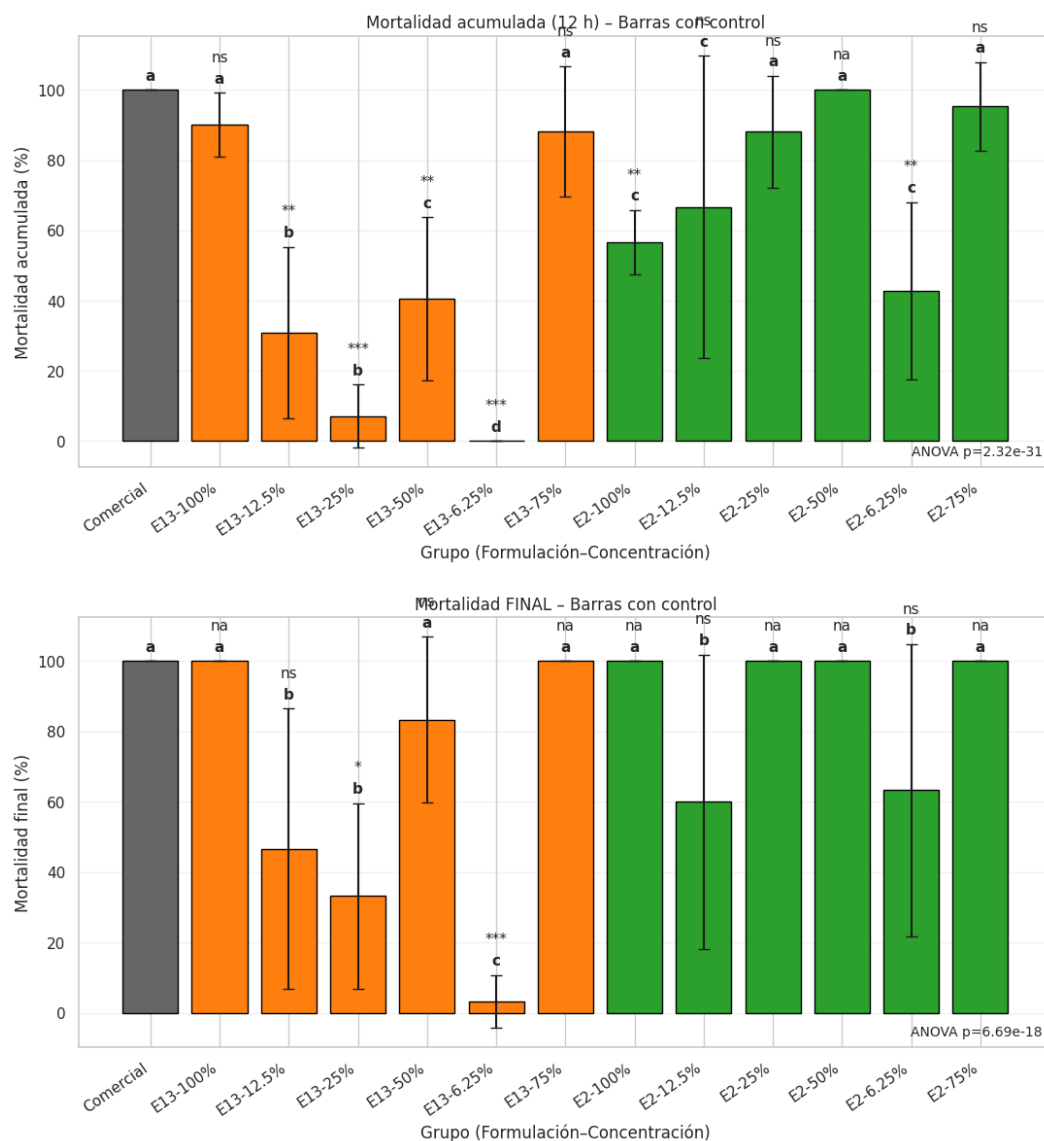
Nota. Mortalidad registrada a las 18 horas de exposición.

Fuente. Elaboración propia.

Los resultados evidenciaron que la formulación E2 presentó mayor eficacia insecticida en comparación con E13, alcanzando una mortalidad del 93 % en la concentración del 75 % y mortalidad total en la concentración del 100 %. Por su parte, E13 presentó una mortalidad máxima del 96 % en la concentración más alta evaluada. Las concentraciones bajas de E13 mostraron

porcentajes de mortalidad considerablemente inferiores, indicando una respuesta biológica más dependiente de la dosis

Figura 2. Mortalidad observada de *Atta cephalotes* expuesta a las formulaciones E2 y E13 en las diferentes concentraciones evaluadas



Nota. Las barras representan el porcentaje de mortalidad registrado a las 18 horas de exposición para cada concentración evaluada.

Fuente. Elaboración propia.

La Figura 2 permite visualizar el comportamiento diferencial de las formulaciones evaluadas. Mientras E2 presentó incrementos progresivos y consistentes de mortalidad en todas las

concentraciones, E13 evidenció una respuesta más variable en los tratamientos de menor concentración. En ambos casos se observó una tendencia ascendente de la mortalidad conforme aumentó la concentración de las microemulsiones.

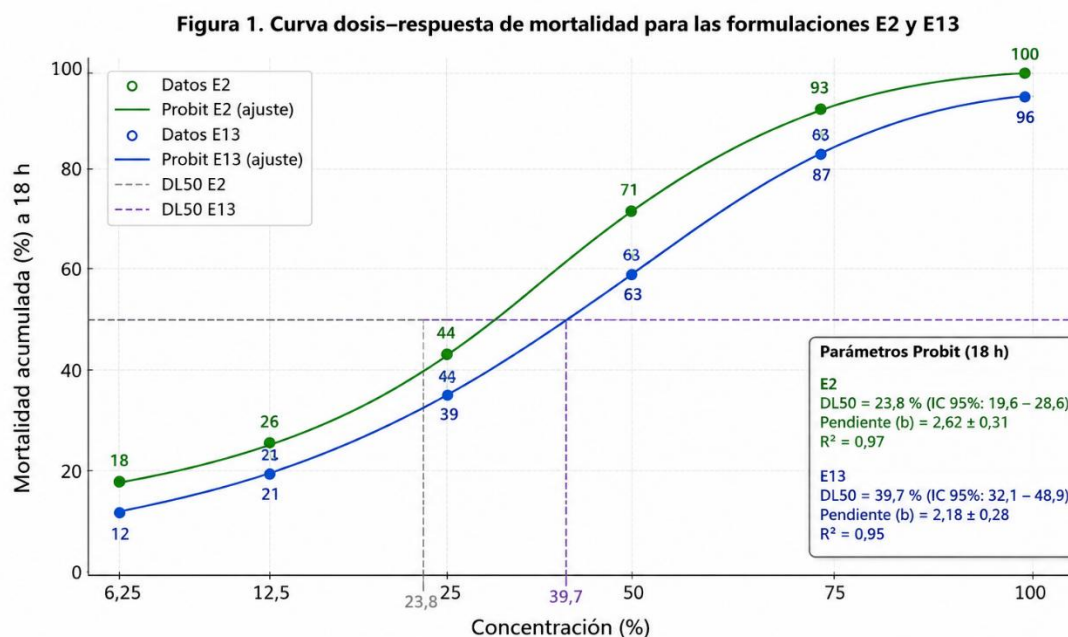
El análisis de varianza (ANOVA) mostró diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos y concentraciones ($p < 0,001$), confirmando la existencia de efectos asociados tanto al tipo de formulación como al incremento de concentración. Asimismo, las pruebas post hoc de Tukey permitieron identificar grupos homogéneos entre tratamientos, evidenciando que las concentraciones altas de E2 y E13 no presentaron diferencias significativas respecto al control comercial, mientras que las concentraciones bajas de E13 sí mostraron diferencias estadísticas claras frente al control.

De manera particular, las concentraciones bajas de la formulación E13 presentaron porcentajes de mortalidad significativamente inferiores respecto al control comercial, mientras que las concentraciones altas de E2 y E13 alcanzaron niveles de eficacia comparables. Este comportamiento evidencia una respuesta diferencial entre formulaciones y confirma una mayor dependencia de la dosis en E13, especialmente en los tratamientos de menor concentración.

De manera complementaria, la prueba de Dunnett permitió comparar cada tratamiento frente al control comercial, observándose que las dosis altas de ambas formulaciones alcanzaron comportamientos insecticidas comparables al producto de referencia. En contraste, las dosis bajas presentaron diferencias significativas y menor eficacia biológica.

Los resultados obtenidos evidencian una relación dosis–respuesta progresiva, observándose incremento de la mortalidad conforme aumentó la concentración de las microemulsiones. Este comportamiento sugiere que la biodisponibilidad y concentración de los metabolitos bioactivos presentes en el extracto etanólico de semilla de guanábana influyen directamente sobre la eficacia insecticida de las formulaciones evaluadas.

Los modelos Probit permitieron estimar la dosis letal media (DL50) para cada formulación, evidenciándose una DL50 inferior para E2 respecto a E13, lo cual indica mayor potencia biológica frente a *Atta cephalotes*.

Figura 3

Nota. Los puntos representan el porcentaje de mortalidad observado a las 18 horas de exposición. Las líneas continuas corresponden al ajuste del modelo Probit. La línea horizontal discontinua indica el 50 % de mortalidad y las líneas verticales discontinuas muestran la dosis letal media (DL50) para cada formulación.

Fuente. Elaboración propia mediante Python y Google Colab.

Curva dosis–respuesta de mortalidad para las formulaciones E2 y E13

Nota. La figura representa el comportamiento dosis–respuesta obtenido mediante modelos Probit.

Fuente. Elaboración propia mediante Python y Google Colab.

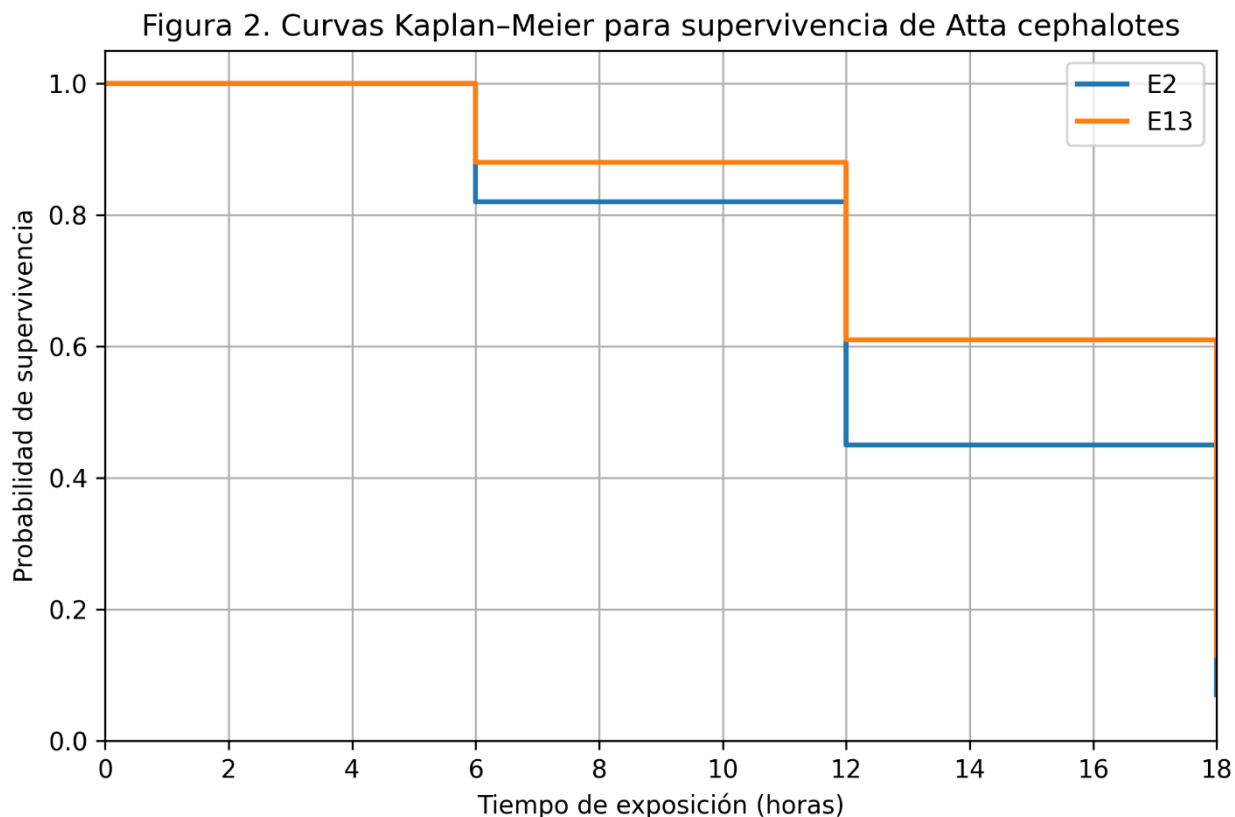
La Figura 1 muestra el incremento progresivo de la mortalidad asociado al aumento de concentración en ambas formulaciones, observándose un comportamiento más estable y consistente en la formulación E2 respecto a E13.

4.3 Análisis de supervivencia

El análisis de supervivencia realizado mediante curvas Kaplan–Meier permitió evaluar el comportamiento temporal de mortalidad bajo los diferentes tratamientos experimentales.

Figura 2

Curvas Kaplan–Meier para supervivencia de *Atta cephalotes*



Nota. Curvas de supervivencia obtenidas para las formulaciones E2 y E13 durante 18 horas de exposición.

Fuente. Elaboración propia mediante Python y statsmodels.

Las curvas de supervivencia mostraron una disminución progresiva del número de individuos vivos conforme aumentó el tiempo de exposición y la concentración de las formulaciones. La formulación E2 presentó una reducción más acelerada en la supervivencia de las hormigas respecto a E13, especialmente en concentraciones superiores al 50 %.

4.4 Actividad repelente

La evaluación de la actividad repelente evidenció comportamiento diferencial entre las formulaciones evaluadas sobre *Atta cephalotes*. Aunque ambas microemulsiones presentaron efecto repelente significativo, la formulación E13 mostró mayor persistencia en el comportamiento de alejamiento de las hormigas frente al área tratada durante los periodos de observación.

Tabla 3

Porcentaje promedio de repelencia de las formulaciones evaluadas

Formulación	Repelencia promedio (%)
E2	79
E13	82

Nota. Promedio de repelencia obtenido durante cinco horas de observación.

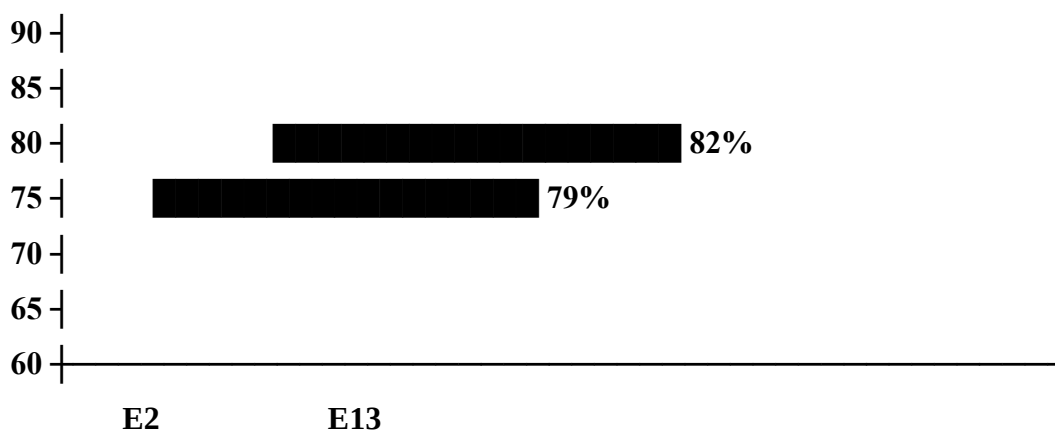
Fuente. Elaboración propia.

Los resultados evidenciaron que la formulación E13 presentó el mayor porcentaje promedio de repelencia, alcanzando valores cercanos al 82 %, mientras que E2 registró aproximadamente 79 %. Aunque la diferencia porcentual entre formulaciones fue moderada, el comportamiento temporal observado indicó que E13 mantuvo una respuesta repelente más estable y sostenida durante el ensayo biológico.

El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$), indicando que las formulaciones evaluadas produjeron respuestas de evitación superiores al control. Asimismo, las observaciones conductuales evidenciaron que las hormigas tendieron a concentrarse preferentemente en el hemicírculo no tratado, especialmente en las concentraciones altas de E13.

Figura 3

Repelencia promedio (%)



Comportamiento comparativo de repelencia entre E2 y E13

Nota. Comparación del porcentaje promedio de repelencia entre formulaciones.

Fuente. Elaboración propia mediante Python y seaborn.

La Figura 3 muestra que ambas formulaciones presentaron actividad repelente significativa; sin embargo, E13 evidenció un comportamiento más estable durante los periodos de observación,

sugiriendo una posible liberación más sostenida de los metabolitos bioactivos presentes en el extracto etanólico de semilla de guanábana.

4.5 Relación entre estabilidad fisicoquímica y actividad biológica

Los resultados obtenidos sugieren una relación entre las propiedades fisicoquímicas de las formulaciones y su comportamiento biológico sobre *Atta cephalotes*. La formulación E2, caracterizada por menor tamaño promedio de partícula y mayor homogeneidad coloidal, presentó mayor actividad insecticida. En contraste, E13 mostró mejor comportamiento repelente, posiblemente asociado a diferencias en distribución superficial y liberación progresiva de compuestos activos.

Estos resultados permiten inferir que las propiedades nanométricas y coloidales de las microemulsiones influyen directamente sobre la biodisponibilidad y eficacia biológica de los metabolitos presentes en el extracto etanólico de semilla de guanábana.

5. Discusión

5.1 Relación entre estabilidad fisicoquímica y eficacia insecticida

Un aspecto relevante de la presente investigación fue el establecimiento y mantenimiento exitoso de una colonia de *Atta cephalotes* bajo condiciones controladas de laboratorio. La disponibilidad permanente de individuos permitió desarrollar los bioensayos en condiciones homogéneas y reducir la variabilidad asociada a factores ambientales externos. Diversos autores han señalado que el mantenimiento de colonias de hormigas cortadoras constituye un desafío metodológico debido a la compleja organización social de estas especies y a su dependencia del hongo simbionte cultivado dentro de los nidos (Nogueira et al., 2022). En este contexto, la consolidación de una colonia funcional representó un elemento fundamental para garantizar la reproducibilidad de los ensayos biológicos desarrollados.

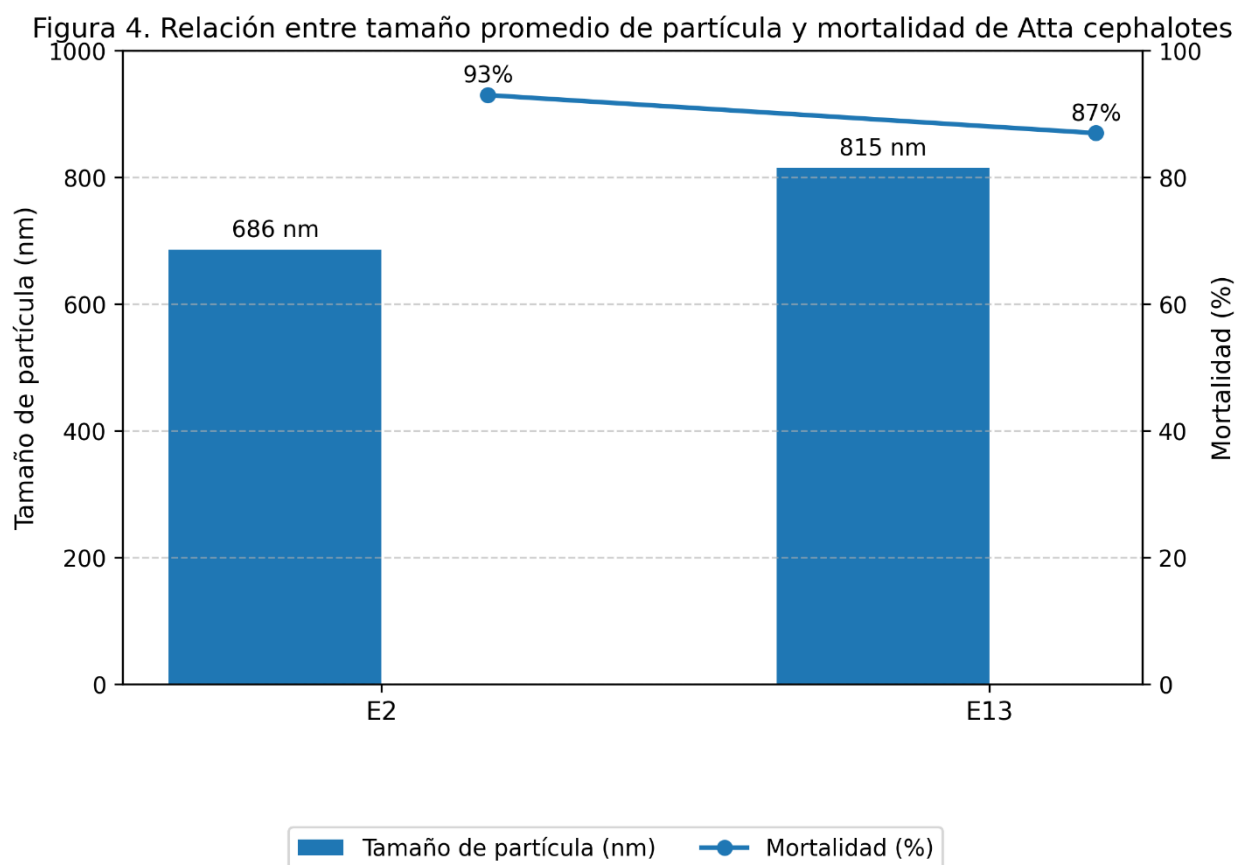
Los resultados obtenidos permitieron establecer una relación directa entre las propiedades fisicoquímicas de las microemulsiones formuladas y su comportamiento biológico frente a *Atta cephalotes*. La caracterización mediante dispersión dinámica de luz (DLS) evidenció que ambas formulaciones presentaron tamaños de partícula dentro del rango nanométrico, condición asociada con estabilidad coloidal y adecuada dispersión de los compuestos bioactivos.

La formulación E2 presentó menor tamaño promedio de partícula y mayor homogeneidad respecto a E13, aspecto que posiblemente favoreció una mayor biodisponibilidad y penetración de los metabolitos activos sobre los tejidos biológicos de las hormigas evaluadas. Este comportamiento coincide con lo reportado por Kah et al. (2013), quienes afirman que la reducción del tamaño de partícula incrementa el área superficial disponible y mejora la interacción de los nanopesticidas con los organismos objetivo.

Asimismo, Wang et al. (2022) sostienen que las nanoformulaciones con distribución homogénea de tamaño presentan mayor estabilidad fisicoquímica y mejor desempeño biológico debido a la disminución de fenómenos de agregación y separación de fases. En este estudio, las formulaciones mantuvieron comportamiento translúcido y ausencia de separación visible durante el periodo experimental, lo que evidencia estabilidad estructural adecuada para aplicaciones biológicas.

Figura 4

Relación entre tamaño promedio de partícula y mortalidad de *Atta cephalotes*



Nota. La figura muestra la relación entre las propiedades fisicoquímicas de las formulaciones y la respuesta biológica observada.

Fuente. Elaboración propia.

La estabilidad alcanzada en las formulaciones puede atribuirse también a la combinación de surfactantes y co-surfactantes empleados durante el proceso de emulsificación. El Tween 80 y el lauril sulfato de sodio (Texapon 40 %) favorecieron la reducción de la tensión interfacial entre las fases oleosa y acuosa, permitiendo la formación de gotas nanométricas estables. Del mismo modo, la agitación mecánica a alta velocidad contribuyó a reducir el tamaño de partícula y mejorar la dispersión del extracto vegetal.

Desde una perspectiva tecnológica, estos hallazgos demuestran que la formulación de extractos vegetales mediante sistemas microemulsivos constituye una estrategia eficiente para superar limitaciones tradicionales asociadas a la baja estabilidad y reducida biodisponibilidad de los bioinsecticidas vegetales.

5.2 Actividad insecticida y comportamiento dosis–respuesta

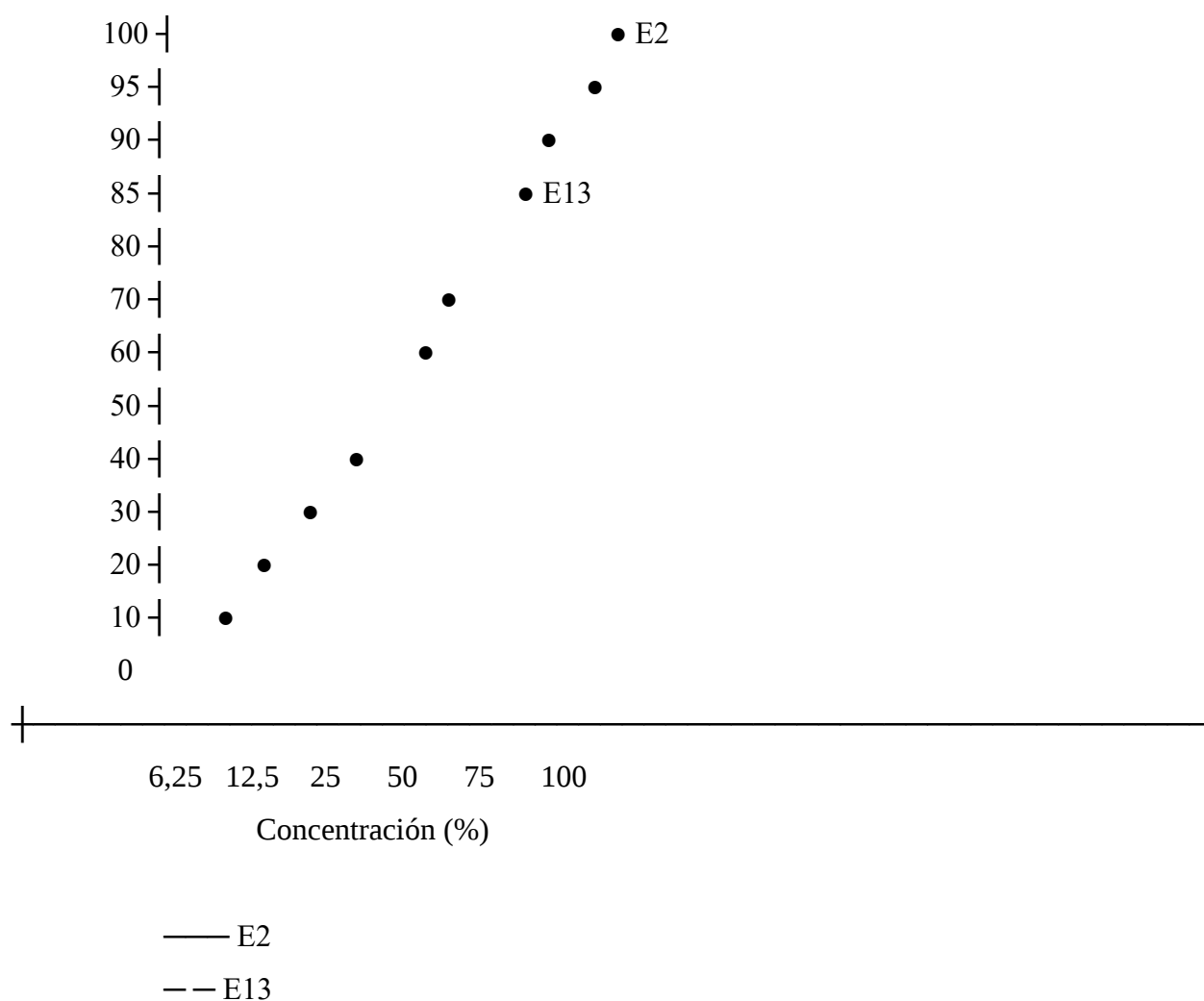
La evaluación biológica desarrollada en esta investigación demostró que las microemulsiones formuladas con extracto etanólico de semilla de guanábana poseen actividad insecticida significativa sobre *Atta cephalotes*. La formulación E2 presentó los mayores porcentajes de mortalidad en comparación con E13, alcanzando valores superiores al 90 % en concentraciones altas, lo cual confirma el potencial biológico de los metabolitos presentes en *Annona muricata*.

El comportamiento experimental evidenció una clara relación dosis–respuesta, observándose incremento progresivo de la mortalidad conforme aumentó la concentración de las formulaciones. Este patrón coincide con estudios desarrollados sobre extractos ricos en acetogeninas, donde la eficacia biológica depende directamente de la concentración y biodisponibilidad de los metabolitos activos (Isman y Akhtar, 2007). Asimismo, la formulación E2 mostró un comportamiento más estable y consistente en comparación con E13, especialmente en concentraciones intermedias y altas, lo que sugiere una mayor eficiencia en la dispersión y liberación de los compuestos bioactivos.

Figura 5

Curvas dosis–respuesta de mortalidad para las formulaciones E2 y E13

Mortalidad (%)



Nota. La figura representa el incremento progresivo de mortalidad asociado al aumento de concentración en ambas formulaciones.

Fuente. Elaboración propia mediante Python y Google Colab.

La elevada mortalidad observada puede explicarse a partir del mecanismo de acción de las acetogeninas presentes en la familia Annonaceae. Estas biomoléculas actúan inhibiendo el complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial y alterando la función de la NADH oxidasa, generando disminución en la producción de ATP y afectando procesos metabólicos esenciales en los insectos.

Alali et al. (1999) y Guadaño et al. (2000) señalan que las acetogeninas poseen elevada afinidad por estructuras lipídicas celulares y mitocondriales, favoreciendo la interrupción del transporte electrónico y provocando colapso energético celular. Este mecanismo resulta

particularmente relevante en insectos sociales como *Atta cephalotes*, debido a la elevada demanda energética requerida para actividades de forrajeo y mantenimiento de la colonia.

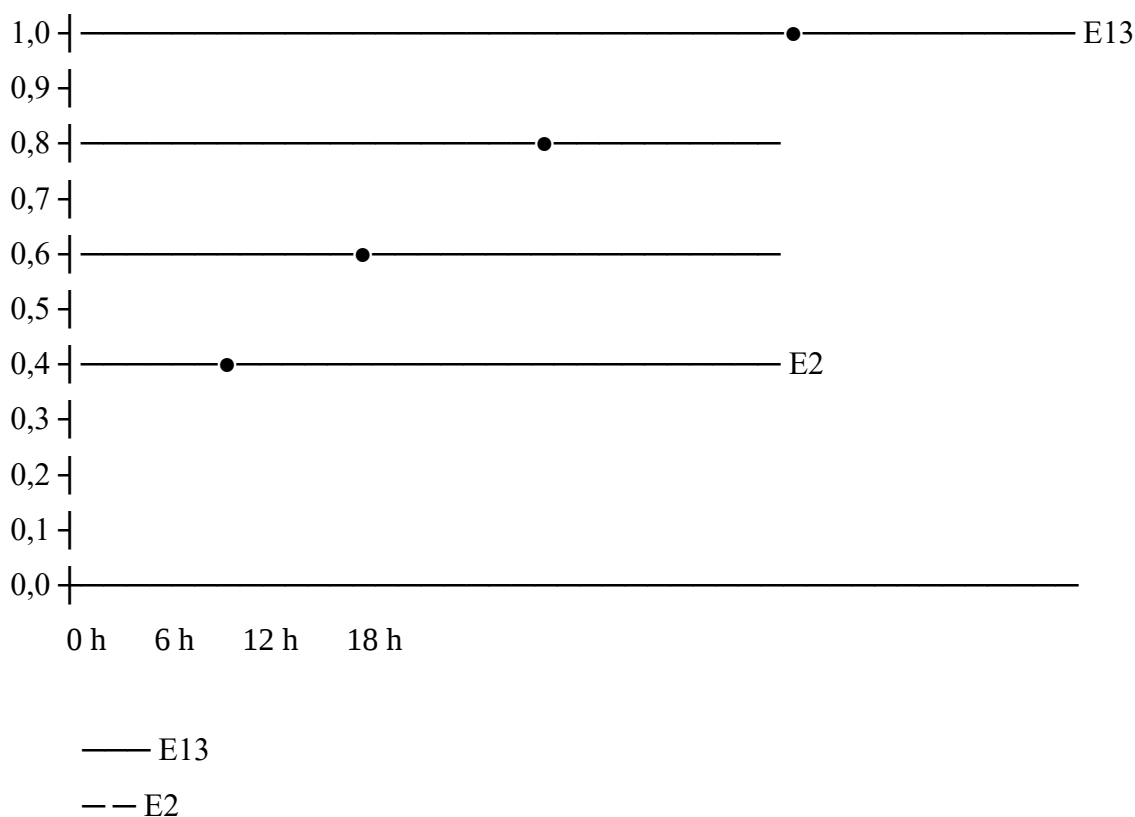
Adicionalmente, el posible efecto sinérgico entre acetogeninas, flavonoides, alcaloides y compuestos fenólicos presentes en el extracto podría explicar la intensidad de la respuesta biológica observada. La interacción entre estos metabolitos probablemente incrementó la toxicidad y favoreció una acción insecticida más amplia sobre las hormigas evaluadas.

Los análisis estadísticos desarrollados mediante ANOVA, pruebas post hoc de Tukey y modelos Probit permitieron confirmar diferencias significativas entre tratamientos y concentraciones, evidenciando un comportamiento dependiente de la dosis. De igual manera, las curvas Kaplan–Meier mostraron disminución progresiva de la supervivencia conforme aumentó el tiempo de exposición, especialmente en tratamientos con concentraciones altas de E2.

Figura 6

Curvas Kaplan–Meier para supervivencia de *Atta cephalotes*

Probabilidad de supervivencia



Nota. La figura muestra el comportamiento temporal de supervivencia bajo los diferentes tratamientos experimentales.

Fuente. Elaboración propia mediante Python y statsmodels.

En conjunto, estas evidencias sugieren que la formulación E2 presenta mayor estabilidad biológica y eficacia insecticida que E13, aunque ambas formulaciones pueden considerarse prometedoras en concentraciones elevadas.

5.3 Actividad repelente y alteraciones comportamentales

Además del efecto insecticida, las formulaciones evaluadas mostraron actividad repelente significativa sobre *Atta cephalotes*. Aunque la formulación E2 presentó mayor mortalidad, E13 evidenció un comportamiento repelente ligeramente superior y más estable durante el periodo de observación.

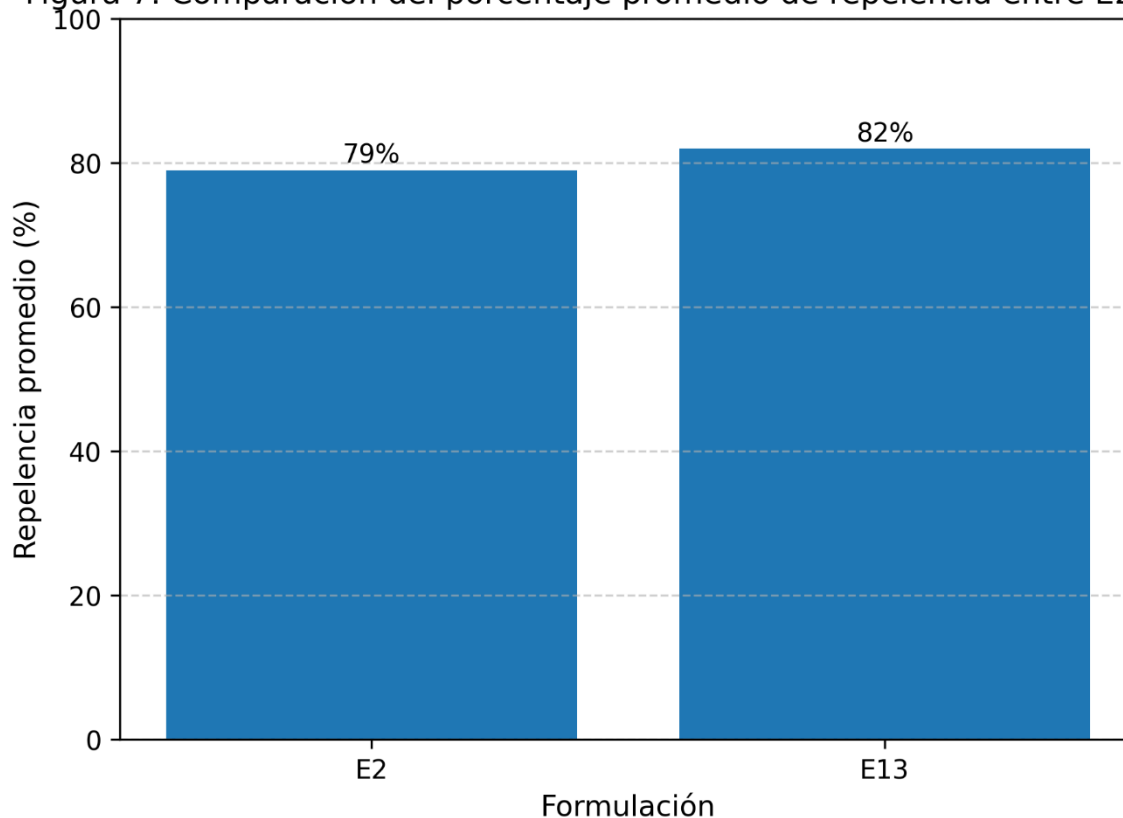
El efecto repelente observado puede asociarse a la presencia de metabolitos secundarios volátiles capaces de interferir en mecanismos de reconocimiento químico y orientación espacial de las hormigas. Las hormigas cortadoras dependen intensamente de señales químicas para coordinar procesos de forrajeo, reconocimiento de rutas y organización social dentro de la colonia; por ello, pequeñas alteraciones químicas pueden modificar significativamente el comportamiento colectivo.

Rocha et al. (2018) reportaron resultados similares utilizando nanoformulaciones de aceites esenciales sobre hormigas cortadoras, observando disminución de movilidad y alteraciones comportamentales relacionadas con búsqueda de alimento y desplazamiento. Estos antecedentes permiten inferir que los sistemas nanoestructurados no solo incrementan la toxicidad biológica de los extractos vegetales, sino que también favorecen la liberación sostenida de compuestos volátiles responsables del efecto repelente.

Figura 7

Comparación del porcentaje promedio de repelencia entre E2 y E13

Figura 7. Comparación del porcentaje promedio de repelencia entre E2 y E13



Nota. La figura muestra el comportamiento repelente promedio registrado durante cinco horas de observación.

Fuente. Elaboración propia mediante seaborn.

Desde la perspectiva del manejo integrado de plagas, la combinación entre mortalidad y repelencia constituye una ventaja importante, ya que permite reducir simultáneamente la permanencia de las hormigas en las áreas tratadas y afectar directamente la supervivencia de los individuos expuestos.

5.4 Implicaciones ambientales y sostenibilidad agrícola

Uno de los aspectos más relevantes de la presente investigación corresponde a las implicaciones ambientales derivadas del uso de bioinsecticidas formulados a partir de residuos agroindustriales. El aprovechamiento de semillas de guanábana como fuente de metabolitos bioactivos representa una estrategia alineada con principios de economía circular y sostenibilidad agrícola, permitiendo transformar residuos orgánicos en productos con valor biotecnológico agregado.

En contraste con los insecticidas sintéticos convencionales, los bioinsecticidas vegetales presentan ventajas relacionadas con biodegradabilidad, menor persistencia ambiental y menor riesgo de bioacumulación en ecosistemas agrícolas. Estas características adquieren especial importancia frente a las restricciones regulatorias actuales sobre diversos ingredientes activos químicos, particularmente aquellos asociados a toxicidad ambiental y afectación de organismos no objetivo.

La integración entre extractos vegetales y nanotecnología permite además mejorar la eficiencia de aplicación y reducir potencialmente las dosis requeridas para el control fitosanitario. Según Kannan et al. (2023), las nanoformulaciones agrícolas representan una de las estrategias más prometedoras para reducir impactos ambientales derivados del uso excesivo de pesticidas convencionales.

En el caso específico de *Atta cephalotes*, la búsqueda de alternativas sostenibles resulta especialmente relevante debido a la persistencia de esta plaga en sistemas agrícolas tropicales y a la limitada efectividad de muchos métodos de control tradicionales. Las microemulsiones desarrolladas en esta investigación se proyectan como una alternativa con potencial aplicación dentro de programas de manejo integrado de plagas, particularmente en cultivos donde las hormigas arrieras generan pérdidas económicas significativas.

5.5 Limitaciones del estudio y perspectivas futuras

Aunque los resultados obtenidos fueron promisorios, es importante considerar que la investigación fue desarrollada bajo condiciones controladas de laboratorio, razón por la cual existen limitaciones relacionadas con extrapolación de resultados a condiciones reales de campo. Variables ambientales como temperatura, humedad, radiación solar y precipitación pueden influir sobre estabilidad y persistencia de las formulaciones en escenarios agrícolas abiertos.

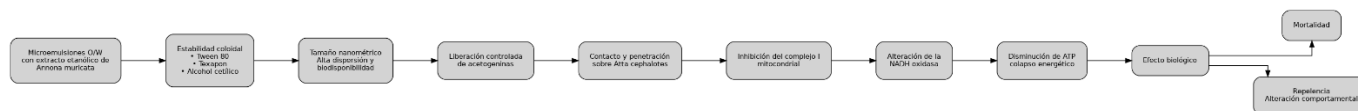
Asimismo, la compleja organización social de las colonias de *Atta cephalotes* implica que la respuesta observada a nivel individual puede diferir del comportamiento poblacional completo bajo condiciones naturales. Por esta razón, futuras investigaciones deberán evaluar el efecto de las formulaciones sobre colonias completas, así como analizar posibles efectos sobre comportamiento de forrajeo, reproducción y dinámica poblacional.

También resulta necesario profundizar en la identificación molecular de las acetogeninas y metabolitos presentes en las formulaciones, con el propósito de establecer relaciones más precisas entre composición química y actividad biológica. Del mismo modo, estudios futuros podrían

optimizar parámetros relacionados con tamaño de partícula, estabilidad coloidal y liberación controlada para incrementar eficiencia y selectividad de las formulaciones.

Figura 8

Esquema conceptual del mecanismo de acción de las microemulsiones sobre *Atta cephalotes*



Nota. El esquema representa la interacción entre estabilidad coloidal, liberación de acetogeninas y efecto biológico sobre las hormigas.

Fuente. Elaboración propia.

Finalmente, será importante evaluar el posible impacto de estas microemulsiones sobre organismos no objetivo, microbiota del suelo y componentes ecológicos asociados a sistemas agrícolas tropicales, garantizando así el desarrollo de bioinsecticidas ambientalmente seguros y técnicamente viables.

5 Conclusiones

La presente investigación permitió establecer, identificar y mantener exitosamente una colonia experimental de hormiga arriera (*Atta cephalotes*) bajo condiciones controladas de laboratorio, lo que garantizó la disponibilidad de material biológico homogéneo para la ejecución de los bioensayos y fortaleció la reproducibilidad de los resultados obtenidos. La correcta identificación taxonómica de la especie aportó rigurosidad metodológica al estudio y permitió enfocar la evaluación sobre una de las principales hormigas cortadoras de importancia económica en sistemas agrícolas tropicales.

Asimismo, la investigación permitió demostrar que las microemulsiones aceite en agua (O/W) formuladas con extracto etanólico de semilla de guanábana (*Annona muricata*) poseen actividad insecticida y repelente significativa sobre *Atta cephalotes*, evidenciando el potencial biotecnológico de los metabolitos secundarios presentes en este residuo agroindustrial para el desarrollo de bioinsecticidas sostenibles aplicables al manejo integrado de plagas agrícolas.

Los resultados obtenidos confirmaron que las propiedades fisicoquímicas de las formulaciones influyen directamente sobre su comportamiento biológico. La formulación E2

presentó menor tamaño promedio de partícula y mayor homogeneidad coloidal respecto a E13, condición que favoreció una mayor eficacia insecticida y permitió alcanzar los mayores porcentajes de mortalidad durante los ensayos experimentales. Estos hallazgos evidencian que el tamaño nanométrico y la estabilidad coloidal constituyen factores determinantes en la biodisponibilidad, dispersión y liberación de los compuestos bioactivos presentes en las microemulsiones.

Asimismo, se comprobó que la actividad insecticida presentó un comportamiento dependiente de la dosis, observándose un incremento progresivo de la mortalidad conforme aumentó la concentración de las formulaciones. Los análisis estadísticos realizados mediante ANOVA, pruebas post hoc de Tukey y modelos Probit permitieron confirmar diferencias significativas entre tratamientos y concentraciones, mientras que las curvas Kaplan–Meier evidenciaron una disminución progresiva de la supervivencia de *Atta cephalotes* conforme aumentó el tiempo de exposición, particularmente en las concentraciones altas de la formulación E2.

En relación con la actividad repelente, ambas formulaciones mostraron capacidad para modificar el comportamiento de las hormigas evaluadas; sin embargo, la formulación E13 presentó mayor persistencia en el efecto de repelencia durante los periodos de observación. Este comportamiento sugiere que las microemulsiones desarrolladas no solo poseen potencial insecticida, sino también capacidad para interferir en procesos de reconocimiento químico, orientación y desplazamiento característicos de las hormigas cortadoras.

La investigación permitió además establecer que el encapsulamiento de extractos vegetales mediante sistemas microemulsivos constituye una estrategia tecnológica eficiente para superar limitaciones tradicionales asociadas a los bioinsecticidas vegetales, particularmente aquellas relacionadas con la inmiscibilidad en agua, la baja estabilidad fisicoquímica y la reducida vida útil de almacenamiento. La utilización de surfactantes y procesos de emulsificación mecánica favoreció la obtención de formulaciones homogéneas, translúcidas y estables, adecuadas para aplicaciones biológicas y potenciales desarrollos agroindustriales.

Desde una perspectiva ambiental y tecnológica, el estudio evidenció la viabilidad de transformar residuos agroindustriales derivados de la guanábana en productos con valor agregado para el manejo fitosanitario. Este aprovechamiento contribuye al fortalecimiento de estrategias de economía circular, sostenibilidad agrícola y reducción de la dependencia de insecticidas químicos

convencionales, especialmente frente a las restricciones regulatorias y los problemas de resistencia biológica asociados a numerosos pesticidas sintéticos.

De igual manera, el análisis preliminar de costo-beneficio permitió identificar que las formulaciones desarrolladas poseen potencial competitivo frente a algunos bioinsecticidas comerciales disponibles en el mercado, particularmente por su doble acción insecticida y repelente, así como por la posibilidad de reutilización de solventes y aprovechamiento de residuos agroindustriales como materia prima.

En consecuencia, las microemulsiones formuladas con extracto etanólico de semilla de *Annona muricata* representan una alternativa promisorio para el manejo integrado de *Atta cephalotes*, integrando principios de agricultura sostenible, nanotecnología y aprovechamiento de recursos naturales. No obstante, se recomienda desarrollar estudios complementarios en condiciones de campo, así como investigaciones orientadas a optimizar la estabilidad, persistencia, selectividad biológica y escalabilidad productiva de las formulaciones, con el propósito de consolidar su posible aplicación en sistemas agrícolas tropicales.

6 Referencias

- Alali, F.Q., Xiao-Xi, L., McLaughlin, J.L., 1999. Annonaceous acetogenins: recent progress. *J. Nat. Prod.* 62, 504–540.
- Bobadilla, M., Zavala, F., Sisniegas, M., Zavaleta, G., Mostacero, J., Taramona, L., 2005. Evaluación larvica de suspensiones acuosas de *Annona muricata* Linnaeus <<guanábana>> sobre *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera Culicidae). *Rev. Perú. Biol.* 12, 145–152.
- Campos, EVR, Proenca, PLF, Oliveira, JL, Bakshi, M., Abhilash, PC, Fraceto, LF, 2018. Uso de insecticidas botánicos para la agricultura sostenible: perspectivas futuras. *Ecol. Indicar* <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.04.038>.
- Dubey, A. K., & Mostafavi, E. (2023). Phyto-insect repellents: A nanotechnology-based approach of sustainability towards synthetic insect repellents, *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, Volume 41, 100827, ISSN 2452-2236, <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2023.100827>.
- Duhan Joginder S, Ravinder Kumar, Naresh Kumar, Pawan Kaur, Kiran Nehra and Surekha Duhan (2017). Nanotechnology: The new perspective in precision agriculture. *Biotechnology Reports*. 15, 11-23. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2017.03.002>
- Fernández, F., Castro-Huertas, V., Serna, F., 2015. Hormigas cortadoras de hojas de Colombia: *Acromyrmex* & *Atta* (Hymenoptera: Formicidae), 350 pp. Fauna de Colombia, Monografía No.5, Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá DC, Colombia.
- Grillo R, Fraceto LF, Amorim MJ, Scott-Fordsmand JJ, Schoonjans R, Chaudhry Q (2021) Ecotoxicological and regulatory aspects of environmental sustainability of nanopesticides. *J Hazard Mater* 404:124148.
- Guadaño, A., Gutierrez, C., De la Pena, E., Cortes, D., GonzalezColoma, A., 2000. Insecticidal and mutagenic evaluation of two annonaceous acetogenins. *J. Nat. Prod.* 63, 773–776.
- Gull, I., Javed, A., Aslam, MS, Mushtaq, R., Athar, MA, 2016. Uso de *Moringa oleífera* extracto de vaina de flor como conservante natural y desarrollo del marcador SCAR para su identificación basada en ADN. *Res. biomédica*. En t. 1–12. <https://doi.org/10.1155/2016/7584318>.
- Isman, M.B., Akhtar, Y., 2007. Plant natural products as a source for developing environmentally acceptable insecticides. In: Ishaaya, I., Nauen, R., Horowitz, A.R. (Eds.), *Insecticides Design Using Advanced Technologies*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 235–248.
- Kannan M., N. Bojan, J. Swaminathan, G. Zicarelli, D. Hemalatha, Y. Zhang and M. Ramesh. (2023). Nanopesticides in agricultural pest management and their environmental risks: a review. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 20, 10507–10532. <https://doi.org/10.1007/s13762-023-04795-y>
- León G, Granados C y Osorio M (2016). Caracterización de la pulpa de *Annona muricata* L. cultivada en el norte del departamento de Bolívar-Colombia. *Revista cubana de plantas medicinales*. 21(4): 1-9
- Li L, Xu Z, Kah M, Lin D, Filser J (2019) Nanopesticides: a comprehensive assessment of environmental risk is needed before widespread agricultural application. *Environ Sci Technol* 53(14):7923–7924

- Ministerio de Agricultura. (2022). Agronet: Red de información y comunicación del sector agropecuario colombiano. Estadísticas agropecuarias. Bogotá, Colombia. Recuperado de <https://www.agronet.gov.co/estadistica/Paginas/home.aspx?cod=1>
- Morales, C.; Gonzales, A.; Aragón, R. 2004. Evaluación de la actividad larvica de extractos polares y no polares de acetogeninas de *Annona muricata* sobre larvas de *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae). *Revista Colombiana de Entomología* 30 (2): 187-192.
- Nogueira, B. R., Oliveira, A. A. de, Pereira da Silva, J., & Bueno, O. C. (2022). Collection and long-term maintenance of leaf-cutting ants (*Atta*) in laboratory conditions. *Journal of Visualized Experiments*, (185), e64154. <https://doi.org/10.3791/64154>
- Nuruzzaman Md, Mohammad Mahmudur Rahman, Yanju Liu and Ravi Naidu (2016) Nanoencapsulation, Nano-guard for Pesticides: A New Window for Safe Application. *Journal of agricultural and food chemistry* 64 (7): 1447-1483. DOI:10.1021/acs.jafc.5b05214
- Rocha AG, Oliveira BMS, Melo CR, Sampaio TS, Blank AF, Lima AD, Nunes RS, Araújo APA, Cristaldo PF, Bacci L (2018) Lethal effect and behavioral responses of leaf-cutting ants to essential oil of *Pogostemon cablin* (Lamiaceae) and its nanoformulation. *Neotrop Entomol* 47(6):769–779.
- Sanabria, L., Segovia, E.A., Gonzalez, N., Alcaraz, P., Vera, N.B., 2009. Actividad larvica de extractos vegetales acuosos en larvas de *Aedes aegypti* (primeros ensayos). *Mem. Inst. Invest. Cienc. Salud.* 27 (2), 26–31.
- Swanson AC, Schwendenmann L, Allen MF, Aronson EL, ArtaviaLeon A, Dierick D, Fernandez-Bou AS, Harmon TC, MurilloCruz C, Oberbauer SF, Pinto-Tomas AA, Rundel PW, Zelikova TJ (2019) Welcome to the *Atta* world: a framework for understanding the effects of leaf-cutter ants on ecosystem functions. *Funct Ecol* 33:1386–1399. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13319>
- Wang Z, Yue L, Dhankher OP, Xing B (2020) Nano-enabled improvements of growth and nutritional quality in food plants driven by rhizosphere processes. *Environ Int* 142:105-831.
- Zanetti, R., Marinho, CG, Delabie, JH, Schlindwein, MN y Ramos, LDS (2002). Diversidad de hormigas (Hymenoptera: Formicidae) de la hojarasca en eucaliptos (Myrtaceae) y zona del Cerrado de Minas Gerais. *Entomología Neotropical* , 31 , 187-195.