



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS VERACRUZ

POSTGRADO EN AGROECOSISTEMAS TROPICALES

USO COMERCIAL DE AZADIRACTINA Y SU INTEGRACIÓN A LOS AGROECOSISTEMAS TROPICALES

GABRIELA ESPARZA DÍAZ

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTORA EN CIENCIAS

TEPETATES, MANLIO F. ALTAMIRANO, VERACRUZ
2010

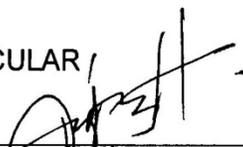
La presente tesis titulada: **Uso comercial de azadiractina y su integración a los agroecosistemas tropicales** realizada por la alumna: **Gabriela Esparza Díaz**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS

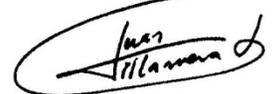
AGROECOSISTEMAS TROPICALES

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:


DR. JOSÉ LÓPEZ COLLADO

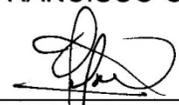
ASESOR:


DR. JUAN ANTONIO VILLANUEVA JIMÉNEZ

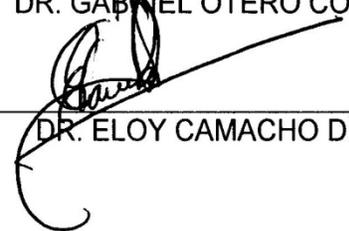
ASESOR:


DR. FRANCISCO OSORIO ACOSTA

ASESOR:


DR. GABRIEL OTERO COLINA

ASESOR:


DR. ELOY CAMACHO DÍAZ

Tepetates, Manlio Fabio Altamirano, Veracruz, 4 de mayo 2010

USO COMERCIAL DE AZADIRACTINA Y SU INTEGRACIÓN A LOS AGROECOSISTEMAS

Gabriela Esparza Díaz, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2010

Se estudiaron los procesos de extracción de compuestos de la semilla de nim y su efecto en *Aphis gossypii* Glover, se exploró la viabilidad del uso comercial de azadiractina y su producción en México. En la primera parte se evaluaron los procesos de extracción de azadiractina de la semilla por extrusión y Soxhlet, con los solventes metanol, hexano, agua y *d*-limoneno. La concentración de 2478 mg kg⁻¹ de azadiractina A (AZA) producida al usar metanol por extrusión, fue significativamente mayor que el resto de los solventes. Este extracto de la semilla (azadirex) también contuvo salanina, azadiractina B, y nimbina; la concentración de salanina fue de 3866 mg kg⁻¹ y superó significativamente a las otras sustancias. Los métodos de extracción (acuosa, Soxhlet con hexano y extrusión) mostraron concentraciones menores de AZA, (565, 422 y 150 mg kg⁻¹, respectivamente). El azadirex dosificado equivalente a 0.2 mg de AZA en 5 cm² del foliolo de *Ixora coccinea* L presentó mayor efecto insecticida que los demás extractos a la misma dosis de AZA, con 100 % de mortalidad de *A. gossypii* a las 48 y 72 h. En la segunda etapa, se analizó la viabilidad del uso comercial de azadiractina y su integración con los agroecosistemas del centro de Veracruz. Se utilizaron indicadores del potencial e interés de participar en la cadena de azadiractina. El estudio indicó que es viable el uso comercial de azadiractina en los grupos entusiastas con potencial, que incluyen: a) productores de los municipios La Antigua, Veracruz, Tlalixcoyan, Manlio F. Altamirano, Paso de Ovejas, Jamapa, Medellín de Bravo, Boca del Río, Úrsulo Galván y Soledad de Doblado; b) las empresas CERTIS, PHC México, Química Lucava, Anajalsa Agroquímicos y Ultraquímica Agrícola; c) 49 % de los productores de plantas ornamentales; d) la autoridad sanitaria y e) 75 % de los científicos entrevistados.

Palabras clave: *Azadirachta indica* A. Juss., viabilidad, salanina, nimbina.

COMMERCIAL USE OF AZADIRACHTIN AND ITS INTEGRATION INTO TROPICAL AGROECOSYSTEMS

Gabriela Esparza Díaz, Ph. D.

Colegio de Postgraduados, 2010

I studied the processes of extraction of compounds from neem seeds and its effect on *Aphis gossypii* Glover, explored the feasibility of commercial use of azadirachtin and its production in Veracruz, Mexico. The first part evaluated the processes of extraction of azadirachtin from the seed by extrusion and Soxhlet, with the solvents methanol, hexane, water and *d*-limonene. AZA concentration was 2478 mg kg⁻¹, obtained by cold press using methanol and it was significantly higher than the other solvents. Azadirex contained salannin, azadirachtin A and B and nimbin; the salannin concentration (3866 mg kg⁻¹) exceeded significantly the rest of the other substances. Moreover, conventional extraction methods such as aqueous extraction, Soxhlet with hexane and oily cold press yielded lower concentrations of AZA, with values of 565, 422 and 150 mg kg⁻¹, respectively. The azadirex at a dose of 0.2 mg of AZA had a greater mortality effect than other extracts at the same doses of AZA, causing a 100 % mortality of *A. gossypii* at 48 and 72 h. The second study was aimed to analyze the viability of commercial use of AZA and its integration in the agroecosystems of central Veracruz. I measured agent-based indicators of potential and interest to participate in the commercial use of AZA. Agents were temporary farmers, ornamental plants agribusinessmen, health authority and scientists. Commercial use of AZA was viable with the enthusiastic, potentially-oriented groups, which include: a) farmers of the municipalities of La Antigua, Veracruz, Tlalixcoyan, Manlio F. Altamirano, Paso de Ovejas, Jamapa, Medellín de Bravo, Boca del Río, Úrsulo Galván, Soledad de Doblado, b) the companies CERTIS, PHC México, Química Lucava, Anajalsa Agroquímicos and Ultraquímica Agrícola, c) 49 % of the ornamental plants farmers d) the mexican health authority and e) 75% of the mexican scientists interviewed.

Key words: *Azadirachta indica* A. Juss., viability, salannin, nimbin.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por otorgarme la beca nacional para la realización de los estudios de doctorado.

Al Colegio de Postgraduados y mi Consejo Particular.

A los investigadores Héctor Debernardi de la Vequia, Gabriel Otero Colina, Rebeca Peña Martínez y Juan Villanueva Barradas, por su contribución.

Al Dr. Octavio Ruiz Rosado y a la línea prioritaria de investigación en Agroecosistemas Sustentables del Colegio de Postgraduados por la disponibilidad del programa de Información Referenciada Geoespacialmente Integrada en un Sistema (IRIS) en el Navegante Geoestadístico de México del INEGI.

Al INEGI por todas las facilidades para el uso de programa de Información Referenciada Geoespacialmente Integrada en un Sistema (IRIS) en el Navegante Geoestadístico de México.

A los entrevistados en este estudio por su valiosa colaboración.

CONTENIDO

	Página
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1. Situación problemática	2
2. Preguntas de investigación.....	5
3. Hipótesis de trabajo	6
4. Objetivos.....	7
5. Revisión de literatura.....	8
6. Literatura citada.....	13
CAPÍTULO I. EXTRACCIÓN DE AZADIRACTINA MEDIANTE EXTRUSIÓN EN FRÍO Y SOXHLET	18
Resumen.....	18
Abstract.....	19
1.1. Introducción	20
1.2. Materiales y métodos.....	25
1.2.1. Proceso de extracción por extrusión en frío.....	25
1.2.2. Proceso de extracción Soxhlet.....	27
1.2.3. Análisis del contenido de AZA	27
1.3. Resultados y discusión	28
1.4. Conclusiones	33
1.5. Literatura citada.....	34
CAPÍTULO II. CARACTERIZACIÓN DEL EXTRACTO METANÓLICO DE SEMILLA DE NIM OBTENIDO POR EXTRUSIÓN EN FRÍO	37
Resumen.....	37
Abstract.....	38
2.1. Introducción	39
2.2. Materiales y métodos.....	43
2.3. Resultados y discusión	45
2.4. Conclusiones	48
2.5. Literatura citada.....	48
CAPÍTULO III. EFECTIVIDAD INSECTICIDA DE EXTRACTOS DE NIM EN <i>Aphis gossypii</i> GLOVER (HOMOPTERA: APHIDIDAE)	51
Resumen.....	51
Abstract.....	52
3.1. Introducción	53
3.2. Materiales y métodos.....	55
3.2.1. Obtención de los extractos de nim.....	56
3.2.2. Análisis del contenido de AZA	57
3.2.3. Cría de <i>A. gossypii</i>	58
3.2.4. Bioensayos de efectividad de extractos de nim sobre <i>A.</i>	

	<i>gossypii</i>	58
3.3.	Resultados y discusión.....	59
	3.3.1. Contenido de azadiractina en la semilla.....	59
	3.3.2. Extractos.....	59
	3.3.3. Efecto insecticida.....	61
3.4.	Conclusiones.....	67
3.5.	Literatura citada.....	67

CAPÍTULO IV. USO COMERCIAL DE AZADIRACTINA Y SU INTEGRACIÓN A LOS AGROECOSISTEMAS..... 72

	Resumen.....	72
--	--------------	----

Abstract..... 73

4.1.	Introducción.....	74
4.2.	Marco conceptual.....	75
4.3.	Materiales y métodos.....	78
	4.3.1. Productor agrícola de temporal del centro de Veracruz.....	81
	4.3.1.1. Interés en el cultivo de nim por los productores de temporal del centro de Veracruz.....	82
	4.3.1.2. Potencial para el cultivo de nim.....	83
	4.3.1.3. Viabilidad del cultivo de nim por agricultores de temporal.....	87
	4.3.2. Agroindustria de azadiractina establecida en México.....	88
	4.3.2.1. Interés en la producción propia de azadiractina.....	88
	4.3.2.2. Potencial en la producción propia de azadiractina.....	89
	4.3.3. Productores de plantas ornamentales.....	89
	4.3.3.1. Interés en el uso ampliado de azadiractina en la unidad de producción.....	90
	4.3.3.2. Potencial de uso de azadiractina en el control de plagas en la unidad de producción de plantas ornamentales.....	91
	4.3.4. Autoridad sanitaria.....	91
	4.3.4.1. Interés en el apoyo al uso comercial de azadiractina de la autoridad sanitaria.....	92
	4.3.4.2. El potencial en el apoyo al uso comercial de azadiractina.....	92
	4.3.5. Comunidad científica.....	93
	4.3.5.1. Interés en el apoyo del uso comercial de azadiractina de la comunidad científica.....	93
	4.3.5.2. Potencial de apoyo del uso comercial de azadiractina de la comunidad científica.....	94
4.4.	Resultados y discusión.....	94
	4.4.1. Agricultores de temporal del centro de Veracruz.....	94
	4.4.1.1. Interés en el cultivo de nim por productores de temporal del centro de Veracruz.....	95
	4.4.1.2. Potencial para el cultivo de nim por los productores de	

temporal del centro de Veracruz.....	98
4.4.1.3. Viabilidad para el cultivo de nim de los productores con agricultura de temporal.....	105
4.4.2. Agroindustria de azadiractina establecida en México	110
4.4.2.1. Interés en la producción propia de azadiractina de la agroindustria.....	112
4.4.2.2. Potencial para la producción propia de azadiractina de la agroindustria.....	112
4.4.2.3. Viabilidad para la producción propia de azadiractina por la agroindustria.....	113
4.4.3. Productores de plantas ornamentales.....	114
4.4.3.1. Interés en el uso de plaguicidas de azadiractina por productores de plantas ornamentales	116
4.4.3.2. Potencial del uso de azadiractina como insecticida por productores de plantas ornamentales	117
4.4.3.3. Viabilidad en el uso de plaguicidas de azadiractina por los productores de plantas ornamentales.....	119
4.4.4. Autoridad sanitaria en materia de plaguicidas	121
4.4.4.1. Interés en el apoyo del uso comercial de azadiractina por la autoridad sanitaria.....	121
4.4.4.2. Potencial en el apoyo del uso comercial de azadiractina por la autoridad sanitaria.....	121
4.4.4.3. Viabilidad de la autoridad sanitaria para el uso comercial de azadiractina.....	122
4.4.5. Comunidad científica.....	123
4.4.5.1. Interés en el apoyo del uso comercial de azadiractina de la comunidad científica	123
4.4.5.2. Potencial para apoyo del uso comercial de azadiractina de la comunidad científica	124
4.4.5.3. Viabilidad de la comunidad científica para el uso comercial de azadiractina.....	124
4.4.6. Uso comercial de azadiractina y su integración a los agroecosistemas.....	128
4.5. Conclusiones	132
4.6. Literatura citada.....	134
CONCLUSIONES GENERALES	139
ANEXOS	143

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 3.1. Porcentaje promedio de extracto obtenido ($EO \pm E.E.$) y azadiractina extraída ($AZAR \pm E.E.$) por extrusión simple, extrusión en frío con metanol, extracción Soxhlet con hexano y acuosa.....	61
Cuadro 3.2. Porcentaje de la mortalidad promedio ($\pm E.E.$) de <i>Aphis gossypii</i> Glover a diferentes dosis de azadiractina y cuatro tipos de extractos de semilla-endocarpio de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss.....	63
Cuadro 4.1. Descriptor de la variable interés.....	80
Cuadro 4.2. Tamaño de muestra de las encuestas estratificadas por municipio del centro de Veracruz.....	82
Cuadro 4.3. Requerimientos laborales para el establecimiento, manejo y cosecha en una plantación de nim con una superficie de una hectárea.....	83
Cuadro 4.4. Población rural con agricultura de temporal con jornales disponibles.....	100
Cuadro 4.5. Potencial por municipio para el cultivo de nim.	103
Cuadro 4.6. Perfil psicográfico de los agentes para el uso comercial de azadiractina y su integración a los agroecosistemas.	130

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1.1.	A: Diagrama de extrusión en frío, B: Equipo piloto diseño del Colegio de Postgraduados para la extrusión en frío, y C: Diagrama del proceso Soxhlet de extracción.....	26
Figura 1.2.	Concentración promedio de azadiractina A en los extractos obtenidos por extrusión en frío y Soxhlet en combinación con metanol, hexano, agua y d-limoneno. Las líneas verticales indican un intervalo de confianza de la media de 95 %. Los promedios de cada proceso seguidos por distinta letra son estadísticamente diferentes según prueba de contrastes.....	29
Figura 1.3.	Cromatograma del extracto de la semilla de nim obtenido con metanol por extrusión en frío. La flecha corresponde al pico de la azadiractina representada en su estructura.....	31
Figura 2.1.	Estructuras de azadiractina A (A), salanina (B), azadiractina B (C) y nimbina (D).	40
Figura 2.2.	Concentración promedio de azadiractina A, azadiractina B, salanina y nimbina en el azadirex (\square). Las líneas verticales (\perp) indican el error estándar. Medias con la misma letra no difieren significativamente (Tukey, $p < 0.05$).....	47
Figura 3.1.	Concentración promedio de AZA en los extractos metanólico, acuoso, hexánico y oleoso (\square Media; \perp E.E). Valores con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$).	60
Figura 3.2.	Proporción promedio de la mortalidad de <i>Aphis gossypii</i> Glover expuesta a diferentes dosis de azadiractina A, tiempo de observación y diferentes extractos (A: oleoso, B: acuoso, C: hexánico y D: metanólico) de la semilla- endocarpio de <i>A. indica</i>	62
Figura 3.3.	Lesión foliar o en <i>Ixora coccinea</i> L. por el extracto oleoso de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	65
Figura 4.1.	Población con potencial productivo del centro de Veracruz con agricultura de temporal. Recuadros en negrillas corresponden a la población de la zona de estudio.	86

Figura 4.2.	Interés de los productores en participar en grupo que fomente el cultivo de nim del centro de Veracruz.	96
Figura 4.3.	Interés en la diversificación de producción de los productores de temporal del centro de Veracruz.	97
Figura 4.4.	Promedio interés en el cultivo de nim por municipio en la zona de agrícola de temporal del centro de Veracruz.....	97
Figura 4.5.	Localidades rurales en y adyacentes a los núcleos agrarios con agricultura de temporal del centro de Veracruz.....	99
Figura 4.6.	Cultivos de la zona de temporal de doce municipios del centro de Veracruz.....	101
Figura 4.7.	Superficie agrícola potencial por municipio, para el cultivo de nim (<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.).....	102
Figura 4.8.	Potencial para el cultivo de nim por municipio, donde cada punto representa a un núcleo agrario de temporal.	103
Figura 4.9.	A: Mapa temático del potencial por núcleos agrarios para el cultivo de nim, en doce municipios del centro de Veracruz. B: Acercamiento del potencial por núcleos agrarios del municipio de La Antigua.....	104
Figura 4.10.	Viabilidad de productores con agricultura de temporal para la producción de semilla de nim.....	105
Figura 4.11.	Mapa temático de los sitios con viabilidad para el cultivo de nim en el municipio de Cotaxtla.	106
Figura 4.12.	Mapa temático de los sitios con viabilidad para el cultivo de nim en el municipio Puente Nacional.....	106
Figura 4.13.	Perfil psicográfico de productores agrícolas de temporal.....	107
Figura 4.14.	A: Frecuencia de los problemas del cultivo de nim identificados por los productores agrícolas de temporal. B: Necesidad identificada por productores agrícolas de temporal para el cultivo de nim.	108
Figura 4.15.	A: Segmentos del mercado de plaguicidas, B: Tipología de plaguicidas. Ambos valores para la agroindustria establecida de azadiractina en México.	111

Figura 4.16.	Valor del mercado de productos bioinsecticidas de azadiractina por la agroindustria establecida en México en moneda nacional. □ Media; ▭ Media ± EE.....	113
Figura 4.17.	Viabilidad de la agroindustria de México en la producción propia de azadiractina.....	114
Figura 4.18.	A: Distribución municipal de productores de plantas ornamentales entrevistados. B: Tipo de tenencia de la tierra de los productores de plantas ornamentales entrevistados.	115
Figura 4.19.	Cultivos primarios y secundarios de los productores de plantas ornamentales entrevistados.	115
Figura 4.20.	A: Frecuencia de la percepción de los productores de plantas ornamentales sobre la sustancia insecticida natural como la azadiractina, del centro de Veracruz. B: Tipo de asesoría requerida por los productores de plantas ornamentales para el uso de insecticidas naturales del centro de Veracruz.....	116
Figura 4.21.	Frecuencia de: A: plaguicidas usados y B: fuentes de suministro de plaguicidas a los productores de plantas ornamentales en el centro de Veracruz.	118
Figura 4.22.	Viabilidad de los productores de plantas ornamentales para el uso de azadiractina en su unidad de producción, del centro de Veracruz.....	120
Figura 4.23.	Perfil psicográfico de productores de plantas ornamentales entrevistados para el uso de azadiractina en su unidad de producción, del centro de Veracruz.	120
Figura 4.24.	Tipo de motivación para la investigación de azadiractina de la comunidad científica mexicana.	123
Figura 4.25.	Viabilidad de la comunidad científica mexicana para el apoyo de la producción nacional de azadiractina.	125
Figura 4.26.	Tipo apoyo requerido por la comunidad científica mexicana para la investigación de azadiractina.	127

INTRODUCCIÓN GENERAL

El árbol de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) produce una de las sustancias naturales más eficientes como insecticida, la azadiractina. En México se han hecho esfuerzos para la producción rústica de bioinsecticidas con azadiractina para autoconsumo en los agroecosistemas (Rodríguez, 1998). También se ha incorporado este cultivo como un elemento de agroforestería a pequeña escala. Sin embargo, el uso comercial requiere de una amplia superficie de nim, que sea capaz de proveer la cantidad de semilla necesaria para satisfacer el mercado nacional de los bioinsecticidas basados en éste. En la medida que la producción del cultivo es un punto crucial en el uso comercial de azadiractina, también lo es la participación de otros agentes de la sociedad para consolidar este producto como bioinsecticida.

La azadiractina es una molécula derivada de la semilla de nim, que actúa como regulador del crecimiento de las larvas de insectos, sus instares ninfales e incluso del estado de pupa; también opera como disruptor de la hormona de la muda de los insectos, la ecdisona (Immaraju, 1998). Todo lo anterior hace de la azadiractina un candidato ideal en programas de manejo integrado de plagas (MIP) y de agricultura orgánica. Otra ventaja de la azadiractina es que ha quedado exenta de los requisitos de tolerancia de residuos para cultivos alimenticios en los Estados Unidos (EUA) por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) (Hall y Menn, 1998).

En este contexto, la investigación atendió dos puntos centrales. El primero fue estudiar aspectos relativos al proceso de extracción de azadiractina a partir de semilla de nim y evaluar su efecto como bioinsecticida. El segundo fue estimar la viabilidad del uso comercial de azadiractina y su integración a los agroecosistemas del centro de Veracruz.

Es importante destacar que usaré el término nim para referirme al árbol *A. indica* A. Juss. Este árbol tiene múltiples usos, entre ellos, el bioinsecticida, que bien puede proceder de sus hojas, frutos o semillas, así que para acotar la materia de estudio, este

trabajo se centrará en lo relacionado con el valor insecticida de la azadiractina proveniente de su semilla. El segundo aspecto es que usaré el término azadiractina para referirme a la mezcla isomérica de este tetranortripenoide, que al menos engloba nueve isómeros con propiedades insecticidas; en los capítulos 2, 3 y 4 utilizaré AZA para referirme al isómero azadiractina A y AZB para el isómero azadiractina B.

A continuación describo la estructura de este documento. Primero, presento un análisis de la situación problemática en el tema de azadiractina y las preguntas de investigación. Posteriormente, describo las hipótesis de trabajo y los objetivos generales. En los capítulos subsecuentes presento el desarrollo de esta investigación, tanto aspectos metodológicos particulares como resultados relevantes, incluyendo una discusión general.

1. Situación problemática

Con el continuo crecimiento del mercado mundial de bioplaguicidas, la azadiractina tiene una posición única para convertirse en un elemento clave para ampliar la gama de insecticidas naturales (Immaraju, 1998). Existe una tendencia a la cancelación de algunos insecticidas organofosforados y carbamatos, que han perdido la protección de patentes o no han logrado su rematriculación para diversos mercados. Actualmente, la generación de nuevos plaguicidas químicos enfrenta más obstáculos, pues requiere de estudios a largo plazo en los temas de seguridad e inocuidad, lo que eleva el costo de desarrollo. La creciente preocupación de la sociedad sobre los efectos al ambiente de los insecticidas y el requerimiento de inocuidad de los alimentos producidos con la ayuda de estos productos, dificultan el proceso de registro de nuevos plaguicidas. Por otra parte, a nivel mundial hay una disminución en el descubrimiento de plaguicidas químicos que tengan suficiente efectividad para justificar la viabilidad de su comercialización (Menn, 1980). Esta situación ha abierto nuevas oportunidades para los bioplaguicidas.

El potencial de la azadiractina en el MIP ha sido especialmente desarrollado en países industrializados; sin embargo, debido a los requerimientos climatológicos de la planta, el potencial para la producción de semilla de nim se encuentra en países tropicales y subtropicales, incluido México. Por ello, la extracción de azadiractina y de otros productos derivados del nim constituye un punto clave en su proceso comercial.

Son varios los procesos de extracción de los ingredientes activos del nim, aunque en condiciones de manejo rústico, el proceso más importante es la extracción acuosa (National Research Council, 1992). Sin embargo, este proceso no es tan eficiente como otros métodos, que requieren evaluarse.

Otro aspecto de relevancia es la exploración del potencial de uso del nim en los agroecosistemas del centro de Veracruz, para orientar nuevas investigaciones y contribuir a la evaluación de las perspectivas de uso de este árbol; sobre todo por la creciente demanda de alternativas de producción y comercialización de productos agropecuarios en el estado de Veracruz y áreas agroecológicamente afines. Por otra parte, el cultivo de nim enfrenta dos problemas. El primero es la escasez de tierra debida a la distribución desigual y al crecimiento de población, esto obliga a que los productores subdividan sus parcelas entre los miembros de la familia, lo que provoca una marcada reducción en la relación tierra/persona (De Ita, 2003). Esta situación es desfavorable para la actividad agrícola, pues la superficie por productor es limitada y debe ser considerado como factor limitante. El segundo problema es una restringida mano de obra, pues la falta de oportunidades económicas en las áreas rurales está provocando la migración a las ciudades, especialmente de hombres y mujeres jóvenes entre los 10 y 20 años de edad (FAO, 2003). Esto deja al trabajo agrícola en manos de una población envejecida y, sin un contacto con las nuevas generaciones producirá a largo plazo un vacío agro-cultural (Lamarche, 1993). Entonces, es esencial que se enfatice un estudio desde la perspectiva del desarrollo endógeno para crear fuentes de empleo atractivas a la fuerza laboral disponible. En el centro de Veracruz, hay una población agrícola de temporal que se encuentra en condiciones que limitan su traslado, por la escasa infraestructura en comunicación terrestre, con sólo 171 caminos

de terracería, 50 caminos tipo veredas, y sólo 42 caminos pavimentados para el desplazamiento de habitantes entre las localidades, lo que corresponde a 0.4 km per cápita de carreteras asfaltadas menor a 1.1 km per cápita en zonas con desarrollo a nivel nacional en el 2004 (Moreno, 2008). La baja posibilidad de movilidad a centros económicos externos, hace a los habitantes dependientes de oportunidades locales para su desarrollo productivo.

Otra condición obligada para la actividad agrícola, es presentar alternativas de cultivos de temporal prósperos, sin ignorar los intereses de los propios agricultores de temporal, ya que sus preferencias productivas han sido excluidas (Rubio, 2002), eliminando su propia percepción sobre la oportunidad de diversidad agrícola que tienen sus tierras.

Por otra parte la producción nacional de azadiractina para formulados es informal y esporádica y solo la importación de este activo provee de abasto para la agroindustria de azadiractina ya establecida. Aunado a que la comunidad científica se centra en temas selectos sobre la efectividad de este activo. Esta comunidad es prestigiosa por sus publicaciones científicas de azadiractina, no obstante, su trabajo suele ser específico y no persigue satisfacer las necesidades de investigación del uso comercial de este bioplaguicida. Además, a nivel mundial, los programas y subsidios gubernamentales en la investigación y extensión apropiadas para los sistemas agrícolas con prácticas de control de plagas con bioplaguicidas, han permanecido limitados o inexistentes (Lamarche, 1993). Por ello un nuevo enfoque que considere a la comunidad científica como punto esencial dará una nueva perspectiva de las necesidades de investigación sobre dicho bioinsecticida.

El uso de los bioinsecticidas se enfrenta a un escenario restringido pues existe una generalizada dependencia química en los cultivos (Porcuna, 2007), además se ha incentivado y subsidiado económicamente para el uso predominante de plaguicidas sintéticos en lugar de otras medidas alternativas, aun cuando son evidentes sus impactos negativos en la salud humana y en el medio ambiente. Por otra parte, las políticas agrarias que incentivan la productividad desalientan las inversiones en

prácticas efectivas o ancestrales con beneficios a largo plazo (Molina, 2001) pues solo se busca esta productividad a corto plazo, con políticas de comercio y el mercadeo que promueven las inversiones en cultivos inadecuados para las condiciones de los agricultores; con mayor demanda de insumos como los plaguicidas sintéticos. Entonces, es necesario un estudio con una visión global de la situación, para proponer formas novedosas que ayuden a romper esta dependencia de agroquímicos sintéticos.

2. Preguntas de investigación

Existe una carencia de estudios para evaluar la eficiencia de procesos alternos a la extracción acuosa de azadiractina, que además permitan conocer el potencial toxicológico de estos extractos. Asimismo, se requiere explorar el potencial de aprovechamiento del nim en las zonas agroecológicas del centro de Veracruz. Por lo tanto, la presente investigación fue orientada a contestar las siguientes preguntas:

- ¿Cuál de los procesos de extracción Soxhlet o extrusión en combinación con metanol, hexano, *d*-limoneno y agua concentra más azadiractina de la semilla de nim?
- ¿Cuál de los procesos, Soxhlet, extrusión simple o metánolica extrusión en frío, supera a la extracción acuosa en la capacidad de obtención de azadiractina y su efecto insecticida, obtenida de la semilla de nim?
- ¿Cuáles sustancias insecticidas se extraen por la extrusión metanólica en frío de la semilla de nim?
- ¿Cuál es la viabilidad en el uso comercial de azadiractina y su integración en los agroecosistemas del centro de Veracruz?

Las primeras tres preguntas se orientan a evaluar la eficiencia de los procesos de extracción de las sustancias bioinsecticidas del nim, a partir de semillas cosechadas en una plantación establecida en la zona centro de Veracruz. Adicionalmente, se hicieron trabajos para cuantificar las sustancias encontradas en estos extractos y,

finalmente, se hizo un estudio para estimar la toxicidad de los extractos sobre el pulgón del melón *Aphis gossypii* Glover, el cual ataca a la Ixora (*Ixora coccinea* L.), planta de importancia ornamental en ambientes tropicales a nivel mundial. Esta primera parte fue de tipo experimental.

La cuarta pregunta abordó la búsqueda, recopilación e integración de información, obtenida mediante entrevistas y el análisis de información georreferenciada, con el fin de evaluar el potencial e interés del uso de la azadiractina desde la perspectiva de diferentes agentes de la sociedad involucrados en su producción, transformación y uso.

3. Hipótesis de trabajo

Esta investigación se basó en tres hipótesis relacionadas con las preguntas de investigación. En la primera etapa, la hipótesis fue: La extracción metanólica por extrusión en frío de semilla de *Azadirachta indica* A. Juss. produce mayor contenido de AZA que el *d*-limoneno, hexano y agua en combinación con los procesos Soxhlet o extrusión en frío.

La extracción metanólica por extrusión en frío de semilla de *A. indica* extrae al menos nimbina, salanina, las azadiractinas A y B, además produce mayor contenido de AZA y mejor efecto insecticida en *A. gossypii* Glover, respecto a la extracción Soxhlet, acuosa y extrusión simple.

En la segunda etapa se formuló la siguiente hipótesis: El interés y potencial que presentan los agentes involucrados en la producción, transformación y uso de la azadiractina hacen viable su integración comercial en los agroecosistemas del centro de Veracruz.

4. Objetivos

La investigación tuvo dos etapas. En la primera el objetivo general fue evaluar los procesos de extracción de AZA acuoso, Soxhlet y extrusión en frío con solvente a partir de semilla de nim. Este objetivo incluye la cuantificación de azadiractina A en dichos extractos y su evaluación insecticida. Esto último se realizó con *A. gossypii* en la planta *I. coccinea*. También se buscó conocer la concentración de nimbina, salanina, azadiractina A y B en el extracto metanólico por extrusión en frío de la semilla de nim.

En la segunda etapa, el objetivo general fue analizar la viabilidad del uso comercial de azadiractina y su integración a los agroecosistemas en la zona centro de Veracruz. Esto incluyó la determinación del potencial e interés de diferentes agentes involucrados en la producción, transformación y uso de la azadiractina como bioinsecticida; es decir, los productores agrícolas de temporal del centro de Veracruz, la agroindustria establecida de azadiractina, los productores de plantas ornamentales del trópico veracruzano, así como la autoridad sanitaria y la comunidad científica en México interesada en el estudio de la azadiractina.

La información de esta investigación se disgregó en cinco capítulos. El Capítulo 2 presenta la evaluación de los procesos de extracción de AZA de la semilla de *A. indica*; por extrusión en frío y Soxhlet, y se emplearon los solventes metanol, hexano, *d*-limoneno y agua.

En el Capítulo 3 expongo los resultados de la caracterización del extracto metanólico por extrusión en frío en sus cuatro limonoides: AZA, salanina y nimbina por análisis de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

El Capítulo 4 presenta el rendimiento de los extractos oleoso, acuoso y hexánico por distintos métodos convencionales, y el extracto metanólico por extrusión en frío de semillas de *A. indica*, así como la concentración de AZA en ellos, su relación con su efectividad insecticida sobre *A. gossypii* y su efecto fitotóxico sobre la planta ornamental *I. coccinea*.

En el Capítulo 5 se describen las perspectivas del uso comercial de azadiractina y su integración a los agroecosistemas del centro de Veracruz. Se aborda la viabilidad del uso comercial de azadiractina a partir de la evaluación del interés y potencial a los productores de temporal del centro de Veracruz, la agroindustria establecida de azadiractina, productores de plantas ornamentales en el trópico veracruzano, la autoridad sanitaria y la comunidad científica en azadiractina. Posteriormente, se presenta un análisis de la integración de dicho uso de azadiractina a los agroecosistemas del centro de Veracruz.

El último capítulo expongo una discusión y conclusiones generales, a fin de debatir lo conocido en este estudio sobre la azadiractina, además de un análisis prospectivo de la inclusión del cultivo de nim en la zona centro de Veracruz.

5. Revisión de literatura

El árbol de nim es originario de Asia, pero se ha naturalizado principalmente en India, Paquistán, Sri Lanka, Bangladesh, Myanmar, Tailandia, sur de Malasia y las islas más secas de Indonesia. Igualmente, en Fiji Mauricio, Haití, las islas Vírgenes Británicas, Antigua y Barbuda, Trinidad y Tobago y Surinam (Parrotta y Chaturvedi, 1994). Recientemente se ha introducido en Australia, República Dominicana, Cuba, el sur de Florida, Arizona (Parrotta y Chaturvedi, 1994) y en México (Angulo *et al.*, 2004). Este árbol, en forma natural se encuentra en bosques tropicales caducifolios y subcaducifolios (National Research Council, 1992), también en bosques subtropicales (Mohamed *et al.* 2007), incluso se le puede encontrar en zonas áridas (Kaushik *et al.*, 2007). En los países de reciente introducción, actualmente un tema de estudio es el potencial del nim para su cultivo en ciertas zonas.

Desafortunadamente muchos autores se refieren al nim o “neem” como un material con las mismas propiedades. Sin embargo, cada parte del árbol de *A. indica* contienen distintas propiedades, pues contienen diversas sustancias. Principalmente, el fruto es

fuerza de azadiractinas y cambio en otras partes del árbol, estos limonoides se encuentran en cantidades marginales (Mordue *et al.*, 2005).

La semilla del árbol de nim se utiliza como material para la extracción de azadiractinas y otras sustancias con actividad insecticida. Esta semilla se produce en Bangladesh, India, Myanmar, Nepal, Pakistán, Sri Lanka, Tailandia, Ghana, Senegal, Tanzania (Thomsen *et al.* (1998), juntos tienen una producción anual de 380 t, con un peso de referencia de 0.4 g semilla⁻¹ (Estrada *et al.*, 2005). De acuerdo a Singh (2002), tan sólo la India tiene un potencial de producción de semilla de 660,000 t con 14 millones de árboles (NIIR Board, 2004). En la India se encuentra la más grande instalación de extracción de AZA del mundo, con una capacidad de procesar hasta 90,000 t por año de semillas de *A. indica* (NIIR board, 2004).

Los componentes activos son diversos e incluso varía dependiendo del proceso de extracción de la semilla de *A. indica*. Los extractos de *A. indica* pueden generarse de la semilla pretratada, es decir libre de aceites, aunque en algunos casos se utiliza tal cual. Dependiendo del proceso se obtendrá en el extracto la azadiractina, los ácidos grasos o la mezcla de ambos, además de otros limonoides activos. También la nimbina y salanina son dos moléculas importantes en la actividad bioinsecticidas de *A. indica*.

El componente principal de la semilla es la azadiractina A (AZA; Hallur *et al.*, 2002; Sarais *et al.*, 2008), como nombre común del dimetil-(2aR,3S,4S,4aR,5S,7aS,8S,10R,10aS,10bR)-10-acetoxi-3,5-dihidroxi-4-[(1aR,2S,3aS,6aS,7S,7aS)-6a-hidroxi-7a-metil-3a,6a,7,7a-tetrahidro-2,7-metanofuro[2,3-b]oxireno[e]oxepin-1a(2H)-il]-4-metil-8-[[2E)-2-metilbut-2-enoil]oxi]-octahidro-1H-nafto[1,8a-c:4,5-b'c']difuran-5,10a(8H)-dicarboxilato. El mismo término de azadiractina se ha denominado para una serie de moléculas muy similares a la AZA provenientes de la misma semilla e incluye a las azadiractinas de la B a la K. Sin embargo, la AZA es la molécula limonoide más importante, ya que posee varios efectos: antialimentario, repelente, interrupción del crecimiento y larvicida de un gran número de plagas.

El árbol de *A. indica* es fuente de triterpenoides bioactivos, sin embargo sólo las azadiractinas han sido utilizadas comercialmente. La salanina y nimbina también son los principales compuestos activos potenciales que pueden ser utilizados para el desarrollo de productos y mejorar los productos con base en azadiractinas. El contenido de salanina y nimbina en la semilla está correlacionado entre sí (Sidhu *et al.*, 2003). Así mismo, se sabe que la extracción oleosa (Stark y Walter, 1995) y el metanólica de la semilla (Hallur *et al.*, 2002) contiene a la nimbina y salanina. Actualmente, estas dos sustancias están presentes en formulaciones comerciales de AZA (Barrek *et al.*, 2004).

La semilla de *A. indica* se compone de aceite en su mayoría de ácidos grasos. La semilla contiene del 30 al 50 % de aceite, la proporción del aceite puede variar de árbol a árbol por su genética (Kaushik y Vir. 2000). La semilla contiene ácido palmítico, esteárico, oleico y linoleico, en proporciones importantes; dos de ellos son saturados, el palmítico y ácido esteárico. El ácido oleico está en su forma mono saturada y el ácido linoleico en su forma polinsaturada. El aceite de *A. indica* es único, sin lípidos asociados, comúnmente conocido como amargos y compuestos de azufre con olor a petróleo (Kaushik y Vir. 2000). En un estudio de Kaushik y Vir (2000) reportaron que el ácido palmítico osciló desde 16 al 34 %, el ácido esteárico de 6 a 24 %, el ácido oleico de 25 a 58 % y el ácido linoleico de 6 a 17 %, esta oscilación puede reflejar una variabilidad genética del árbol. En otro estudio de Gupta y Mitra (2006) reportaron cantidades similares de los ácidos grasos, con una composición de palmítico de 14.6 %, oleico de 56.6 % y linoleico 16.2 %, además de esteárico con 9 %. El alto contenido de ácido oleico y bajo contenido de ácido linoleico es deseable para mejorar la estabilidad del aceite. Los aceites de la semilla, han sido separados en la extracción de azadiractina, pero el estudio de Stark y Walter (1995) sugieren que estos componentes potencializan la actividad insecticida de la azadiractina, a pesar de la variabilidad de la composición de ácidos grasos, la parte oleosa de la semilla forma parte importante en dicho efecto.

Hasta ahora, la AZA es el activo más importante de la semilla pues es el más potente antialimentario natural de insectos descubierto hasta la fecha, con la supresión de la

alimentación de los insectos fitoparásitos a una concentración inferior a una parte por millón. Además, la molécula compleja de AZA y su estructura molecular muy similar a otros componentes no favorecen su síntesis industrial; por lo tanto, la fuente natural es la única alternativa a gran escala (Mordue *et al.*, 2005).

La AZA es también un potente regulador del crecimiento de insectos, que actúa alterando la muda y el desarrollo, al inhibir la síntesis proteica (Mordue *et al.*, 2000); es un activo sistémico e interfiere con la reproducción en insectos adultos (Mordue *et al.*, 2005). Estas acciones se han verificado en más de 200 especies de insectos plagas, pero su principal atributo de mercado es antialimentario, aunque también afecta el crecimiento de más de 400 especies (Mordue *et al.*, 2005).

La AZA es un compuesto muy interesante por su estructura química, que requirió de 18 años de estudio y 22 años para lograr su síntesis química. La AZA es un plaguicida natural muy apreciado, que tiene muy baja toxicidad en animales vertebrados, pero todavía no ha logrado un lugar destacado entre los plaguicidas y en muchos países aún no está permitido su uso. A nivel mundial y después de 40 años del descubrimiento de la AZA no ha captado un mercado más amplio (Morgan, 2009). Desde la introducción de AZA en el mercado agrícola en los Estados Unidos en 1993, los plaguicidas a base de AZA se están convirtiendo rápidamente en una herramienta importante en la protección de cultivos. Este uso de AZA se ha favorecido porque ha quedado exenta de requisitos de tolerancia de residuos en alimentos del mismo país, por la Agencia de Protección Ambiental de los cultivos alimenticios.

La AZA es compatible con otros agentes de control biológico y encaja en los programas de Manejo Integrado de Plagas (Immaraju, 1997). En el continuo y fuerte crecimiento del mercado de los bioplaguicidas, la AZA se ha convertido en una opción de sustitución de otras sustancias en el control de plagas. Hasta el año de 1993 en Estados Unidos de América, el total de ventas representó el sólo el 1 % del mercado de plaguicidas (Walter, 1998).

La AZA exhibe buena eficacia contra plagas como la mosquita blanca, trips y áfidos, y su uso es recomendado como insecticida en el manejo integrado de plagas o en programas de control orgánico. Además, los bioinsecticidas de *A. indica* son sustitutos en mezcla con plaguicidas sintéticos y de hecho mejoran su acción respecto a compuestos que desarrollan fácilmente resistencia. Al contrario, *A. indica* contiene muchos compuestos, por lo tanto es muy difícil que desarrolle resistencia. Mordue y Blackwell (1993), demostraron que la AZA puede ser tan eficaz (50 ppm, 400 L ha⁻¹) como la cipermetrina.

Existe una limitante en la estabilidad de la AZA para uso en el campo, que fue revisada por Schmutterer (1988), ya que se requiere un examen cuidadoso de la estabilidad en las condiciones climáticas (Mordue y Blackwell. 1993). La potencia de AZA como antialimentario disminuyó hasta la mitad con la exposición a la luz solar durante siete días (Stokes y Redfern, 1982). Pero el desglose de la AZA a la luz UV, genera metabolitos con una mayor actividad biológica (Barnby *et al.*, 1989). En los últimos años, se ha logrado el control en campo, con el empleo de disolventes para estabilizar la AZA. Kirsch y Schmutterer (1988) han reproducido en campo los resultados en laboratorio de extractos de *A. indica* y AZA.

El efecto de AZA en las plagas fitófagas ha sido estudiado bajo la perspectiva del efecto antialimentario, regulador de crecimiento, toxicidad directa y mortalidad rápida. El efecto predominante en una especie a menudo varía con la dosis. La AZA es una alternativa para el control de áfidos, sin embargo se requiere de concentraciones mayores a 100 ppm de AZA para producir efecto antialimentario (Nisbet *et al.*, 1993). Existe una baja sensibilidad de los áfidos al efecto primario antialimentario de la AZA, puede ser el resultado de la pobre movilidad de la AZA en el floema (Schmutterer, 1985). El efecto en áfidos, Koul (1999) reporta que *Macrosiphum rosae* L. y *Macrosiphoniella sanbornii* Gillete redujeron su sobrevivencia y su alimentación al exponerlas a sustratos con AZA. Por otra parte, se conoce el efecto como regulador de crecimiento, pues la AZA afectó significativamente la cantidad de ninfas viables producidas por adultos ápteros con una dieta de 25 ppm durante 24 a 52 h (Nisbet *et*

al. 1994). Lowery e Isman (1996) mostraron que las aplicaciones de 1 % de aceite de *A. indica* redujeron la progenie de *M. persicae* en 82 % y en 66 % la de *Nasonovia risbinigri* Mosley. La mortalidad del extracto acuoso de semilla de *A. indica* provocó mortalidad significativa del *Aphis nerii* (Hernández-Castro *et al.*, 2005).

El efecto antialimentario es indiscutible, aunque la sensibilidad entre las especies es variable. La eficacia del uso de nim principalmente como insecticida radica en sus efectos tóxicos fisiológicos. La comprensión de estos efectos fisiológicos de azadiractina se ha alcanzado y enfoques bioquímicos han comenzado a definir su modo de acción a nivel celular (Mordue *et al.*, 2000). Por otra parte, el efecto como regulador de crecimiento es más coherente entre las especies estudiadas (Mordue y Blackwell, 1993). El uso de productos bioinsecticidas de AZA está siendo estudiado en todo el mundo. La AZA tiene un potencial en el manejo integrado de plagas, especialmente desarrollada para países industrializados, sin embargo el potencial de la producción de semilla se encuentra en los países del trópico y subtrópico.

6. Literatura citada

- Angulo, E. M. A., Gardea, B. A. A., Vélez, R. R., García, E. R. S., Carrillo, F. A., Cháidez, Q. C. y Patida, L. J. I. 2004. Contenido de azadiractina A en la semillas de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) colectada en Sinaloa, México. Rev. Fitotec. Mex. 27(4): 305-311.
- Barrek, S., O. Paisse y M. F. Grenier-Loustalot. 2004. Analysis of neem oils by LC-MS and degradation kinetics of azadirachtin-A in a controlled environment - characterization of degradation products by HPLC-MS-MS. Anal. Bioanal. Chem. 378(3): 753-763.
- De Ita, Ana. 2003. México: impacto del Procede en los conflictos agrarios y la concentración de la tierra. Mimeo, CECCAM (Centro de Estudios para el Cambio en el Campo Mexicano). [En línea]. Disponible en: <http://www.acciontierra.org/display.php?article=181>. (Consultado el 8 de marzo de 2010).

- Estrada, O. J., B. Castillo, M. T. López y V. Díaz. 2005. Variación del peso de la semilla de Nim y sus componentes. *Rev. de la Facultad de Ciencias Agrarias XXXVII(1): 81-86.*
- FAO. 2003. Agricultura orgánica, ambiente y seguridad alimentaria. *In: Colección FAO: Ambiente y Recursos Naturales No. 4.* El-Hage, S. N. y C. Hattam (eds.). Roma, Italia. 280 pp.
- Gupta, S. S. y C. R. Mitra. 2006. The component acids and glycerides of refined neem (*Melia Indica*) oil. *J. Sci. Food Agr. 4(1): 44-48.*
- Hall, F. R. y J. J. Menn. 1998. Biopesticides: use and delivery. *In: Hall, F. R. y J. J. Menn (eds.). Volumen 5 Methods in Biotechnology.* Humana Press. Totowa, New Jersey, USA. 626 p.
- Hallur, G., A. Sivramakrishnan y S. V. Bhat. 2002. Three new tetranortriterpenoids from neem seed oil. *J. Nat. Prod. 65(8): 1177-1179.*
- Hernández-Castro, E., V. Utrera Landa, J. A. Villanueva-Jiménez, D. A., Rodríguez-Lagunes, y M. M. Ojeda-Ramírez. 2005. Extractos de neem en el comportamiento de *Aphis nerii* y la transmisión del virus de la mancha anular del papayo. *J. Agr. U. Puerto Rico 89(1-2): 75-84.*
- Immaraju, J. A. 1997. The commercial use of azadirachtin and its integration into viable pest control programmes. *Pestic. Sci. 54(3): 285-289.*
- Immaraju, J. A. 1998. The commercial use of azadirachtin and its integration into viable pest control programs. *Pestic. Sci. 54(3): 285-289.*
- Kaushik, N. y S. Vir. 2000. Variations in fatty acid composition of neem seeds collected from the Rajasthan state of India. *Biochem. Soc. T. 28(6): 880-882.*
- Kaushik, N., B. G. Singh, U. K. Tomar, S. N. Naik, S. Vir, S. S. Bisla, K. K. Sharma, S. K. Banerjee y P. Thakkar. 2007. Regional and habitat variability in azadirachtin content of Indian neem (*Azadirachta indica* A. Juss.). *Curr. Sci. India 92(10): 1400 – 14006.*
- Kirsch, K. y H. Schmutterer, 1988. Low efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Berl.) formulation in controlling the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) in the Philippines, *J. Appl. Entomol. 105: 249-255.*
- Koul, O. 1999. Insect growth regulating and antifeedant effects of neem extracts and azadirachtin on two aphid species of ornamentals plants. *J. Biosci. 24(1): 85-90.*

- Lamarche, H. 1993. A Agricultura Familiar. Comparação Internacional - Uma Realidade Multiforme. (trad. de Tijiwa, A.) Coleção Repertórios Campinas: UNICAMP (Ed.). Brasil. 336 p.
- Lowery, D. T. y M. B. Isman. 1996. Inhibition of aphid (Homoptera: Aphididae) reproduction by neem seed oil and azadirachtin. *J. Econ. Entomol.* 89(3): 602-607.
- Menn, J. J. 1980. Contemporary frontiers in chemical pesticide research. *J. Agri. Food. Chem.* 28(1): 2-8.
- Mohamed, K. M., G., E. Ibrahim, A. F. Misbah y A. H. Ahmed. 2007. Neem (*Azadirachta Indica* A. Juss) callus induction and its larvaecidal activity against Anopheles mosquito. *International Journal of Biotechnology & Biochemistry*. [En línea]. Disponible en: [\[http://www.fao.org/DOCREP/005/AC618S/AC618S00.htm#TopOfPage\]](http://www.fao.org/DOCREP/005/AC618S/AC618S00.htm#TopOfPage). (Consultado el 25 de febrero de 2009).
- Molina, N. 2001. Uso de extractos botánicos en control de plagas y enfermedades. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 59: 76-77.
- Mordue, A. J., E. D. Morgan y A. J. Nisbet. 2005. Azadirachtin, a natural product in insect control. *Comp. Mol. Insect Sci.* 6: 117 -135.
- Mordue, A. J. y T. A. Blackwell. 1993. Azadirachtin: an Update. *J. Insect Physiol.* 39(11): 903-924.
- Mordue, L., A. Jennifer y A. J. Nisbet. 2000. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica* A. Juss.: its action against insect. *An. Soc. Entomol. Bras.* 29(4) 615-632.
- Moreno, P. S. 2008. La infraestructura y la competitividad en México. *In: López, M. A. (ed.). Centro de estudios sociales y de opinión pública* 60. Ciudad de México. México. 34 p.
- Morgan, E. D. 2009. Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* 17(12) 4096-4105.
- National Research Council. 1992. *In: Neem: a tree for solving global problems.* Ruskin, F. R. (ed.). National Academy Press (Ed.). Washington, D. C., USA. 141 p.
- NIIR Board. 2004. Handbook on neem and allied products. National Institute of Industrial Research (Ed.). Asia Pacific Business Press. New Delhi, India. 478 p.
- Nisbet, A. J., J. A. T. Woodford y R. H. C. Strang. 1994. The effects of azadirachtin-treated diets on the feeding behaviour and fecundity of the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. *Entomol. Exp. Appl.* 71(1): 65-72.

- Nisbet, A. J., J. A. T. Woodford, R. H. C. Strang y J. D. Connolly 1993. Systemic antifeedant effects of azadirachtin on the peach-potato aphid *Myzus persicae*. *Entomol. Exp. Appl.* 68(1): 87-98.
- Parrotta, J. A. y A. N. Chaturvedi. 1994. *Azadirachta indica* A. Juss. Neem, margosa. Meliaceae. Mahogany family. USDA Forest Service, International Institute of Tropical Forestry. 8 p.
- Porcuna, S. J. L. 2007. Producción integrada: una estrategia de tránsito hacia sistemas más sostenibles. *Ecosistemas* 16(1): 37-43.
- Rodríguez, L. D. A. 1998. Adaptabilidad del árbol de margosa (*Azadirachta indica* A. Juss.) en la zona centro de Veracruz y su utilidad en el combate de la broca del café. (*Hypothenemus hampei* Ferr.). Tesis de Doctor en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Veracruz, México. 186 p.
- Rubio, B. 2002. La exclusión de los campesinos y las nuevas corrientes teóricas de interpretación. *Nueva Sociedad Aportes*. 182: 21-33.
- Sarais, G., P. Caboni, E. Sarritzu, M. Russo y P. Cabras. 2008. A simple and selective method for the measurement of azadirachtin and related azadirachtoid levels in fruits and vegetables using liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Agri. Food Chem.* 56(9): 2939-2943.
- Schmutterer, H. 1985. Which insect pests can be controlled by application of neem seed kernel extracts under field conditions? *Zeitsch Angew Ent.* 100: 468-475.
- Schmutterer, H. 1988. Potential of azadirachtin containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. *J. Insect Physiol.* 34(7): 713-719.
- Sidhu, O. P., V. Kumar y H. M. Behl. 2003. Variability in Neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) with respect to azadirachtin content. *J. Agr. Food Chem.* 51(4): 910-915.
- Singh, S. R. 2002. Role of small-scale industries in harnessing the true potential of neem products. In: *Proceedings of the 4th World Neem Conference*. Behl, H. M. (ed.). 27-30 November. Mumbai, India 2: pp: 96-106.
- Stark, J. D. y J. F. Walter. 1995. Neem oil and neem oil components affect the efficacy of commercial neem insecticides. *J. Agr. Food Chem.* 43(2): 507-512.
- Stokes, J. B. y R. E. Redfern. 1982. Effect of sunlight on azadirachtin: antifeeding potency. *J. Environ. Sci. Hlth.* 17(1): 57-65.
- Thomsen, A., L. Graudal y C. P. Hansen. 1998. Ensayos Internacionales de Procedencias: Descripción de las fuentes de semilla de neem. [En línea].

Disponible

en:

<http://www.fao.org/DOCREP/005/AC618S/AC618S00.htm#TopOfPage>.

(Consultado el 25 de febrero de 2009).

Walter, J. F. 1998. Commercial Experience with neem products. Humana Press (ed).
Methods in Biotechnology 5(III): 155-170.

CAPÍTULO I

EXTRACCIÓN DE AZADIRACTINA MEDIANTE EXTRUSIÓN EN FRÍO Y SOXHLET

Resumen

Se evaluó la extracción de azadiractina A (AZA) de la semilla con endocarpio del árbol de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) mediante los procesos de extrusión en frío y Soxhlet, y los solventes metanol, hexano, agua y *d*-limoneno. Se utilizó semilla de una plantación en Manlio F. Altamirano, Veracruz, México. Para la extrusión en frío se empleó un cilindro de acero inoxidable con canal de salida, adaptado a una prensa de 20 kg cm⁻². La extracción Soxhlet se realizó con equipo convencional. Los datos se analizaron como un diseño factorial 2x4 con tres repeticiones. Se encontraron efectos en las concentraciones de AZA de los extractos obtenidos tanto por el proceso empleado ($F = 14.28$; $gl_1 = 1$; $gl_2 = 16$; $p = 0.0016$), el tipo de solvente ($F = 93.00$; $gl_1 = 3$; $gl_2 = 16$; $p < 0.0001$) y por la interacción de ambos factores ($F = 11.49$; $gl_1 = 3$; $gl_2 = 16$; $p = 0.00028$). La concentración de AZA producida al usar metanol fue significativamente mayor a la producida con el resto de los solventes en ambos procesos, con la mayor concentración ($F = 44.2$; $gl_1 = 1$; $gl_2 = 16$; $p < 0.0001$) producida por el metanol en extrusión (2478 mg kg⁻¹), respecto a Soxhlet (1470 mg kg⁻¹). Con el proceso Soxhlet, el metanol también promovió mayores concentraciones de AZA que el resto de los solventes ($F = 60.2$; $gl_1 = 1$; $gl_2 = 16$; $p < 0.0001$). Además, el hexano produjo mayor concentración de AZA respecto del *d*-limoneno ($F = 9.8$; $gl_1 = 1$; $gl_2 = 16$; $p = 0.006$) y del agua ($F = 6.6$; $gl_1 = 1$; $gl_2 = 16$; $p = 0.02$). La concentración promedio de AZA fue de 1974, 704, 450 y 440 mg kg⁻¹ para los extractos metanólico, hexánico, terpénico y acuoso, respectivamente. El proceso de extrusión en frío obtuvo una concentración promedio de 2478 mg kg⁻¹ y el proceso Soxhlet, de 1470 mg kg⁻¹ de AZA en los extractos.

Palabras clave: extrusión en frío, metanol, semilla, Soxhlet.

AZADIRACHTIN EXTRACTION BY COLD PRESS AND SOXHLET PROCESS

Abstract

The extraction of azadirachtin A (AZA) from the neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) seed endocarp was evaluated by cold press process and Soxhlet, using methanol, hexane, water and *d*-limonene as solvents. Seeds from a neem orchard in Manlio F. Altamirano, Veracruz, Mexico, were used. A stainless steel cylinder with output channel, adapted to a press of 20 kg cm⁻² was used for cold press extraction. Soxhlet extraction was performed with conventional equipment. Data was analyzed as a 2x4 factorial design with three replicates. AZA concentrations were significantly different on the extracts due to the processes employed ($F = 14.28$; $df_1 = 1$, $df_2 = 16$, $p = 0.0016$), the type of solvent ($F = 93.00$; $df_1 = 3$, $df_2 = 16$, $p < 0.0001$) and the interaction of both factors ($F = 11.49$; $df_1 = 3$, $df_2 = 16$, $p = 0.00028$). AZA concentration was significantly greater when it was obtained using methanol compared to all other solvents in both processes, the highest concentration ($F = 44.2$; $df_1 = 1$, $df_2 = 16$, $p < 0.0001$) produced by cold press (2478 mg kg⁻¹) compared to Soxhlet (1470 mg kg⁻¹). Using Soxhlet, methanol also promoted higher concentrations of AZA than the other solvents ($F = 60.2$; $df_1 = 1$, $df_2 = 16$, $p < 0.0001$). Furthermore, hexane yielded higher concentration of AZA compared to *d*-limonene ($F = 9.8$; $df_1 = 1$, $df_2 = 16$, $p = 0.006$) and water ($F = 6.6$; $df_1 = 1$, $df_2 = 16$, $p = 0.02$). The average concentration of AZA was 1974, 704, 450 and 440 mg kg⁻¹ for methanol, hexane, *d*-limonene, and aqueous extracts, respectively. Cold press extraction and Soxhlet process yielded an average concentration of 2478 mg kg⁻¹ and 1470 mg kg⁻¹ of AZA, on the extracts respectively.

Key words: cold press with methanol, neem seed, Soxhlet.

1.1. Introducción

La extracción de los componentes bioinsecticidas de plantas se considera una etapa crítica para obtener productos de calidad a costos razonables. El grupo químico tetranortriterpenoide de la semilla de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) suscita el interés en su industrialización por su acción insecticida. Los compuestos mayoritarios de la semilla de nim son azadiractina, salanina, nimbina, 3-deacetilsalanina, 6-deacetilsalanina y una matriz de aceite (Johnson *et al.*, 1996). La actividad insecticida de la azadiractina se presenta principalmente en dos formas estructurales, a las que se les denomina A y B. A pesar de la diversidad de componentes en la semilla, la azadiractina constituye el compuesto insecticida más importante en sus extractos (Orme y Kegley, 2005) y más utilizado comercialmente para la elaboración de bioinsecticidas.

Los métodos de extracción se basan en las propiedades fisicoquímicas de los compuestos de interés, como el coeficiente de partición en el agua o en solventes orgánicos. La selección del solvente depende de la polaridad de las moléculas de interés, de su estabilidad a la luz y de la temperatura empleada. Para el caso de la azadiractina, un proceso sencillo es la extracción acuosa que se realiza por la inmersión de la semilla molida en agua, siendo éste el primer proceso utilizado a gran escala (National Research Council, 1992) y también es empleado ampliamente por pequeños productores (Puri, 1999a). Además de azadiractina, el extracto acuoso contiene nimbina y salanina, compuestos con acción insecticida (Coventry y Allan, 2001). Sin embargo, el agua no se utiliza en procesos industriales por su moderada capacidad de solubilizar a la azadiractina. Por esta razón, en la extracción vía solvente se ha implementado la extracción con un solvente polar como el etanol para producir un extracto crudo, que posteriormente se separa con una mezcla de metanol y éter de petróleo, con lo que se logra obtener un extracto enriquecido de azadiractinas (Larson, 1985). El uso de etanol se ha extendido a la extracción conjunta del activo con hexano, acetona, acetato de etilo, metanol y etanol (Puri, 1999b). También se ha explorado la extracción en semilla molida mediante el uso de isopropanol con evaporación al vacío

(Moorthy y Kumar, 2004).

Otro solvente empleado en la extracción es el metanol. La extracción metanólica de la semilla de *A. indica* contiene azadirona, salanina, azadiractina y nimbidina, entre los más abundantes (Bahena-Juárez y García-Chávez, 2007). El extracto metanólico del aceite de la semilla también contiene epoxiazadiona, gedunina, nimbina, nimolicinol (Hallur *et al.*, 2002), así como moléculas de reciente determinación como azadiractinas M y N, y el triterpenoide 1 α ,7 α -diacetoxiapotirucal-14-ene-3 α ,21,22,24,25-pentaol (Luo *et al.*, 1999 y 2000). Singh (2002) desarrolló un equipo piloto para el extracto de nim con metanol para obtener un extracto crudo rico en azadiractina.

Algunos procesos industriales de extracción vía solvente usan éter de petróleo o hexano, que separan los aceites de la semilla. Puri (1999b) obtuvo el aceite de nim al mezclar la semilla molida con hexano, y posteriormente filtró el extracto y evaporó el hexano. También utilizó el hexano para pretratar la semilla y posteriormente procesarla con cloroformo; al extracto de cloroformo se le añadía etanol para lograr la precipitación de la azadiractina.

Por otra parte, la extracción Soxhlet es un método empleado en laboratorio para la separación analítica de los componentes de un sólido vía solvente. La extracción Soxhlet permite la separación de compuestos solubles por el contacto cíclico del solvente con la semilla (Sporring *et al.*, 2005). El solvente a la temperatura de condensación promueve la solubilidad de los componentes de la semilla con endocarpio (Virot *et al.*, 2008). La extracción de bioactivos de la semilla de *A. indica* con equipo Soxhlet inicia con el uso de acetona para obtener un extracto crudo de azadiractina. Holla (1996) utilizó dicloruro de etileno para generar un extracto crudo de semilla pretratada sin aceite. Se utiliza una mezcla de agua con metanol o dietiléter para lavar el extracto de acetona y obtener azadiractina a 90 % de pureza. Por otra parte, Sankaram *et al.* (1999) han obtenido una fracción enriquecida de la extracción etanólica con equipo Soxhlet disuelta en acetona. En la extracción Soxhlet con éter de petróleo se empleó una segunda extracción vía solvente con metil terbutil éter, acetona,

metanol, butanol o metil-etil cetona. Los extractos de estos solventes se tratan nuevamente con metanol y éter de petróleo y se someten a evaporación del solvente para obtener concentraciones aún más altas de azadiractina (Sankaram *et al.*, 1999).

El método Soxhlet también se aplica para obtener una variedad de extractos de nim, que después se utilizan para comparar su actividad insecticida. Prêdes-Trindade *et al.* (2000) encontraron que el metanol extrae más que el acetato de etilo. Khalequzzaman y Khanom (2006), al utilizar éter de petróleo, acetato de etilo, metanol y acetona, concluyeron que el metanol en extracción Soxhlet produce un extracto con mayor actividad insecticida de las plantas estudiadas, entre ellas el nim. Kovo (2006) utilizó la extracción Soxhlet de la semilla de nim con hexano o etanol y mostró que sólo difieren los extractos en las impurezas arrastradas por el solvente en su composición oleosa.

Soxhlet es un método comparativo cuando se han explorado otras técnicas de separación. Romero y Vargas (2005), al realizar la extracción de la semilla con equipo Soxhlet, obtuvieron un mayor rendimiento de azadiractina con hexano, seguido de éter de petróleo y etanol. Además el hexano con el equipo Soxhlet superó en 10 % el contenido de aceite al obtenido por prensado.

Aunque la extracción Soxhlet es un método de laboratorio, su aplicación industrial opera con un equipo que usa el mismo principio. Una variante industrial del proceso de extracción Soxhlet es la extracción vía solvente en columna, aplicada por Larson (1985), quien utilizó 250 g de semilla molida en 250 mL de etanol a 80 °C, filtró al vacío para recuperar el extracto etanólico, que de nuevo calentó y pasó a través de la misma columna, durante diez veces. El extracto obtenido contuvo 1000 mg kg⁻¹ de azadiractina, con lo que recuperó 90 % de la azadiractina disponible en la semilla. Por su parte Sankaram *et al.* (1999) utilizaron un proceso de extracción vía solvente de la semilla molida con metanol, etanol o ambos en mezcla con agua, en una columna por percolación continua a temperatura ambiente para evitar la descomposición de azadiractina a altas temperaturas.

Un método directo de extracción de los activos es el exprimido de la semilla desarrollado por el Central Oil Technology Research en la India, que produjo un extracto con 2000 mg kg^{-1} de azadiractina a temperaturas entre 40 y 45 °C (Ramakrishna *et al.*, 1996). Jenkins *et al.* (2003) emplearon un equipo manual para producir el extracto crudo de semillas de *A. indica* con la ayuda de una presión de 1406 kg cm^{-2} , para aumentar el porcentaje de extracción (Romero y Vargas, 2005) en un tiempo mínimo de 15 min.

Cada método de extracción ofrece ventajas, aunque también presenta inconvenientes; por ejemplo, es deseable evitar el pretratamiento de la semilla en caliente con éter de petróleo, o la extracción Soxhlet con el uso de solvente polar a altas temperaturas para evitar la degradación de la azadiractina (Sankaram *et al.*, 1999). Por otra parte, se sabe que la extracción de la semilla con solventes produce una mezcla compleja de compuestos que requiere de estandarización con respecto al contenido de azadiractina para lograr un efecto biológico reproducible. En general, los concentrados crudos polares de la semilla también remueven aceite, taninos, ácidos carboxílicos, carbohidratos, proteínas, sales orgánicas e inorgánicas y pigmentos de la semilla (Sankaram *et al.*, 1999).

La mayoría de los procesos de extracción emplean un tratamiento previo de la semilla con éter de petróleo, hexano o heptano, seguido de una extracción con solventes polares como acetona, metanol o etanol a temperatura ambiente o con el equipo Soxhlet. Estos métodos son complicados y requieren de extracciones repetidas. Existe un debate sobre la conveniencia de pretratar la semilla para liberarla de los aceites, aunque Stark y Walter (1995) encontraron que un insecticida comercial a base de azadiractina fue más efectivo por su contenido de aceite que otros sin aceite de nim, lo cual fue atribuido a que el aceite tuvo ocho tipos de limonoides relevantes para su acción insecticida, entre ellos azadiractina, nimbina y salanina. Por ello, en este trabajo se estudió la extracción directa de la semilla.

La extracción industrial ha sido especialmente desarrollada para países

industrializados; sin embargo, las fuentes de abasto de semilla de nim se encuentran en países de zonas tropicales y subtropicales, donde existe una gran cantidad de productores agrícolas que podrían transformar los productos del nim y aumentar su ingreso. La extracción a pequeña escala de azadiractina de la semilla de *A. indica* es un tema por explorar por el potencial de la azadiractina en el manejo integrado de plagas. Por ejemplo, un proceso a pequeña escala es usado en Tailandia; inicialmente, las semillas de nim son exprimidas para separar el aceite; posteriormente se obtiene un polvo crudo de nim libre de aceite que se mezcla con metanol por 3 a 4 h; entonces la mezcla se decanta, se filtra y se evapora el solvente (Sanguanpong, 2003). Al utilizar este mismo proceso y con el equipo piloto del Rajamangla Institute of Technology (pilot –RIT; Sanguanpong, 2003), se obtuvo un extracto concentrado de 3430 mg kg⁻¹ de azadiractina.

En resumen, el proceso de extracción de azadiractina de la semilla de nim generalmente lo conforma dos pasos; primero se separa el aceite de la semilla y después la azadiractina. Sin embargo, este criterio ha impedido obtener la azadiractina y otros compuestos activos presentes en la parte oleosa, que posteriormente podrían incrementar su actividad insecticida (Stark y Walter, 1995). El proceso en dos etapas es más complicado que el propuesto en esta investigación, el cual explora el criterio de extraer en un solo paso la parte oleosa, la azadiractina, así como otros bioactivos contenidos en la semilla con endocarpio mediante la utilización de calor o extrusión, ambos vía solvente. Por otra parte, la azadiractina tiene varias formas estructurales de las cuales la azadiractina A (AZA) es la que se encuentra más abundante en la semilla.

El objetivo de esta investigación fue examinar la extrusión en frío y Soxhlet en combinación con agua, hexano, metanol y *d*-limoneno como solventes, para extraer la máxima concentración de AZA de semilla con endocarpio de *A. indica*.

1.2. Materiales y métodos

Para obtener los extractos se utilizó semilla de la cosecha 2004 de una plantación de árboles de *A. indica* de siete años de edad, ubicada en el Colegio de Postgraduados, Campus Veracruz, en el km 88.5 de la Carretera Federal Xalapa-Veracruz, Municipio de Manlio F. Altamirano, Veracruz, México a los 19°11.658'N y 96°20.069'O, y 27 msnm. El lugar presenta un clima cálido subhúmedo Aw2(x') (García, 1998). La semilla se mantuvo en cuarto con climatización a una temperatura de 25 °C. El molido se hizo con un molino comercial manual para nixtamal y granos utilizado localmente, con discos de fierro aleado de alta resistencia, y una capacidad de molienda de 1 kg de materia prima en 5 min. Para el proceso de extracción se emplearon 20 kg de semilla molida de *A. indica*, previamente secada y molida, a un tamaño de partícula de 1.41 mm Ø, 40.33 %; 0.074 mm Ø, 28.63 %; 0.59 mm Ø, 7.83 %; 0.42 mm Ø, 9.84 % y 11.12 % de finos. Los solventes utilizados fueron: metanol l® (99.96 %), hexano (*n*-hexano; peb @ 55-63 °C), limoneno (*d*-limoneno al 85 %), todos grado industrial, además de agua destilada.

1.2.1. Proceso de extracción por extrusión en frío

Este estudio combina la extracción directa por dos métodos, el prensado y la disolución de activos. La extracción por extrusión en frío con solvente permite la separación de los componentes (NIIR Board, 2004) sin la degradación térmica del contenido de la semilla, a la vez que disuelve los activos (Bahena-Juárez y García-Chávez, 2007). Es un proceso mejorado de la extracción por solvente de los componentes de la semilla de *A. indica*, en el cual se elimina el paso de la separación del endocarpio. Este proceso favorece la extracción directa y aumenta la concentración de otros componentes de la semilla de *A. indica* en el extracto. La principal característica del proceso estudiado es

obtener un extracto líquido rico en azadiractina de forma directa por extruido con solvente (Figura 1.1A).

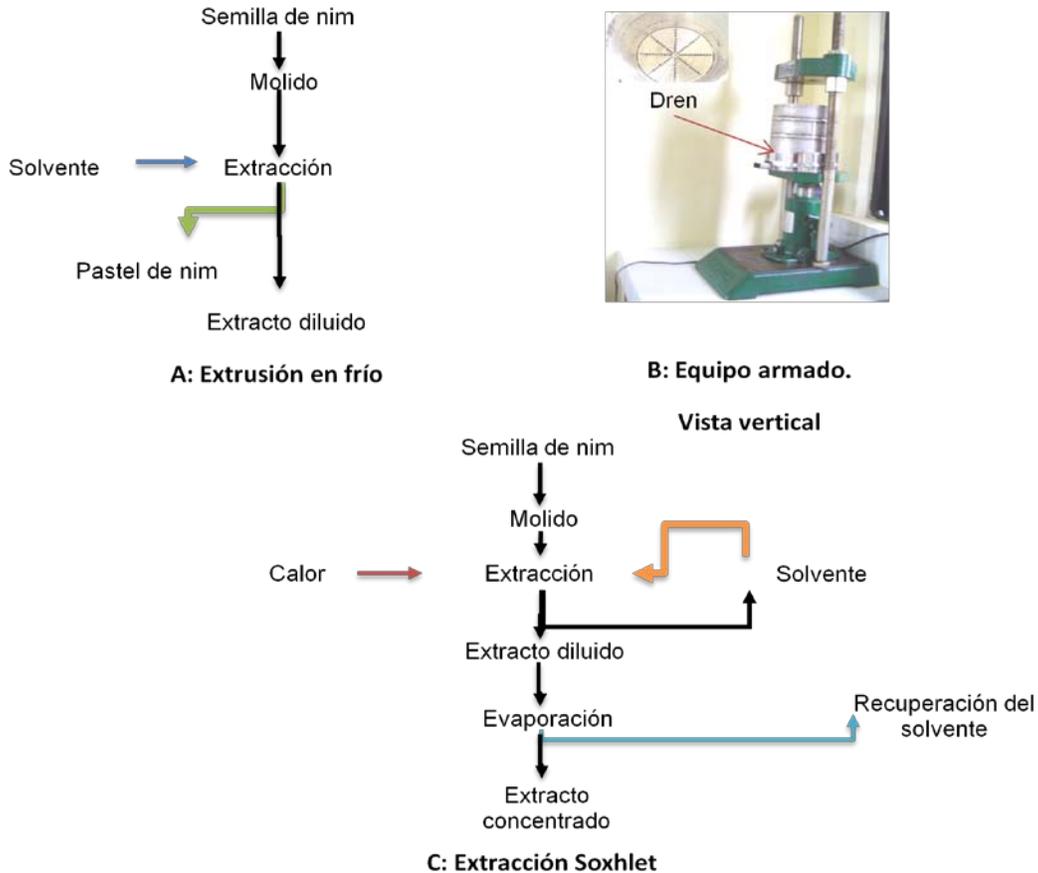


Figura 1. 1. A: Diagrama de extrusión en frío, B: Equipo piloto diseño del Colegio de Postgraduados para la extrusión en frío, y C: Diagrama del proceso Soxhlet de extracción.

Para el proceso de extrusión en frío con solvente se utilizó un equipo piloto de diseño vertical del Colegio de Postgraduados (Figura 1.1B), que consiste de un cilindro de acero inoxidable con capacidad para 1 kg de semilla molida y un sistema hidráulico manual, que proporciona una presión de 20 kg cm^{-2} . El cilindro presenta una reducción en la salida, orificios para el drenado del extracto y un colector en la base. Este equipo tiene una capacidad de procesar 10 kg de semilla con endocarpio por día de trabajo, fue diseñado por el Dr. Héctor Debernardi de la Vechia, Profesor Investigador del Colegio de Postgraduados.

Para lograr el arrastre de los componentes en el extracto sin administrar calor, a una temperatura de 25 °C, se impregnó la semilla molida en 150 mL de solvente durante 20 min previo a la extrusión. Para cada solvente se realizaron tres extracciones. Se aplicó presión por 30 min, durante los cuales se colectó el extracto.

1.2.2. Proceso de extracción Soxhlet

La extracción para cada solvente se realizó por triplicado (Figura 1.1C). La extracción Soxhlet se efectuó con 0.5 L de solvente, de acuerdo al procedimiento 936.15 (AOAC, 1990). La extracción duró cuatro ciclos de contacto entre el solvente y 64 g de semilla con endocarpio; posteriormente se evitó la caída del solvente y se retiró el matraz con la solución; al final se evaporó el solvente para obtener el extracto. La evaporación termostatazada del solvente se llevó a cabo a 60 °C con perlas de ebullición y hasta peso constante.

1.2.3. Análisis del contenido de AZA

Los extractos fueron mantenidos en refrigeración a -4 °C en una cámara hidrotérmica, resguardados de la luz en botellas ámbar de vidrio. El contenido de AZA en los extractos se analizó por el método de Schneider y Ermel (1987), a través del sistema modular HPLC (certificación ISO-9000) Perkin Elmer, con modificación de las condiciones de corrida al doble del flujo, esto para obtener menores tiempos de retención; además se usó una columna de mayor resolución. Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Alta Tecnología de Orizaba, Universidad Veracruzana (Orizaba, México). Las condiciones de corrida en cromatografía fueron: columna 125 mm x 4 mm; tasa de flujo: F 2 mL min⁻¹; detector: UV-VIS; longitud de onda (λ): 214 nm; volumen de muestra: 20 μ L; fase móvil: acetonitrilo y H₂O; tiempo de retención relativo tR: 2.504 min. Se utilizó como estándar azadiractina A (Sigma®) al 95 % (C₃₅H₄₄O₁₆; p.m.

720.72). La semilla se molió y mezcló con metanol. La AZA se precipitó a 4 °C, posteriormente se filtró y analizó por HPLC. Las condiciones de cromatografía fueron las mismas para el análisis de AZA en la semilla y extractos.

El análisis de los datos se basó en un diseño experimental factorial, con dos factores, métodos de extracción y tipos de solvente y tres repeticiones. Los métodos de extracción fueron por extrusión en frío y Soxhlet, y los solventes fueron agua, metanol, hexano y α -limoneno. La variable dependiente fue la concentración de AZA en el extracto. Se efectuó un análisis de varianza, seguido de comparaciones de pares de medias con la prueba de contrastes mediante el comando contrast ($\alpha= 0.05$), en el paquete estadístico Statistica v. 6. 0.

1.3. Resultados y discusión

La semilla utilizada en el experimento presentó una concentración de 1820 mg kg⁻¹ de AZA. Un análisis previo realizado por Rodríguez (1998) a la semilla proveniente de esta misma plantación del Campus Veracruz cuando tenía dos años de edad encontró un valor de 16 mg kg⁻¹; es decir, un contenido muy bajo de AZA. El valor obtenido se encontró en el intervalo de 430 a 3830 mg kg⁻¹ reportado en la India por Pattnaik *et al.* (2006), lo que lo hace atractivo para su uso industrial. Para los extractos, las concentraciones de AZA en función de los factores estudiados se muestran en la Figura 1.2.

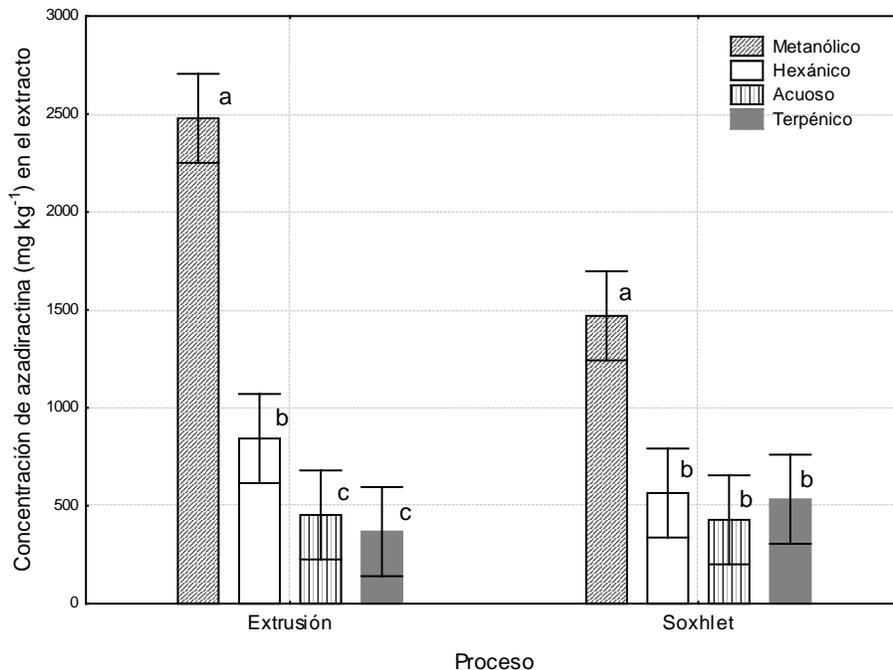


Figura 1. 2. Concentración promedio de azadiractina A en los extractos obtenidos por extrusión en frío y Soxhlet en combinación con metanol, hexano, agua y *d*-limoneno. Las líneas verticales indican un intervalo de confianza de la media de 95 %. Los promedios de cada proceso seguidos por distinta letra son estadísticamente diferentes según prueba de contrastes.

Los dos procesos de extracción, Soxhlet y extrusión en frío, en combinación con los cuatro solventes, produjeron extractos líquidos. El análisis de varianza del contenido de AZA en los extractos obtenidos denota un efecto significativo por el proceso empleado ($F = 14.28$; $gl_1 = 1$; $gl_2 = 16$; $p = 0.0016$), el tipo de solvente ($F = 93.0$; $gl_1 = 3$; $gl_2 = 16$; $p < 0.0001$) y la interacción de ambos factores ($F = 11.49$; $gl_1 = 3$; $gl_2 = 16$; $p = 0.00028$).

La comparación de procesos para cada solvente indicó que sólo la concentración de AZA en el extracto metanólico difirió significativamente entre los procesos ($F = 44.2$; $gl_1 = 1$, $gl_2 = 16$; $p < 0.0001$), siendo mayor con el proceso de extrusión. En la Figura 1.3 se muestra la cromatografía de este extracto. También en la extracción por extrusión en frío el metanol fue el único solvente que logró una concentración de AZA significativamente diferente, mayor ($F = 241.2$; $gl_1 = 1$; $gl_2 = 16$; $p < 0.0001$) que los

otros solventes; es decir, 2478 mg kg⁻¹ (\pm 81.6 EE). Un resultado similar se observó con el proceso Soxhlet, donde el metanol obtuvo la mayor concentración de AZA, aunque únicamente de 1470 mg kg⁻¹ (\pm 124.9 EE) y significativamente diferente del promedio de los demás solventes ($F = 60.2$; $gl_1 = 1$; $gl_2 = 16$; $p < 0.0001$) (Figura 1.2). En cuanto al resto de los solventes, el proceso de extrusión en frío promovió que el hexano favoreciera la concentración de AZA respecto del *d*-limoneno ($F = 9.8$; $gl_1 = 1$; $gl_2 = 16$; $p = 0.006$) y del agua ($F = 6.6$; $gl_1 = 1$; $gl_2 = 16$; $p = 0.02$). En cambio, con el proceso Soxhlet, el hexano, el agua y el *d*-limoneno no difirieron entre sí. Las concentraciones obtenidas con el proceso Soxhlet fueron menores que con el proceso de extrusión en frío en todos los solventes excepto *d*-limoneno (Figura 1.2), por lo cual se considera que la interacción proceso x solvente proviene de esta combinación.

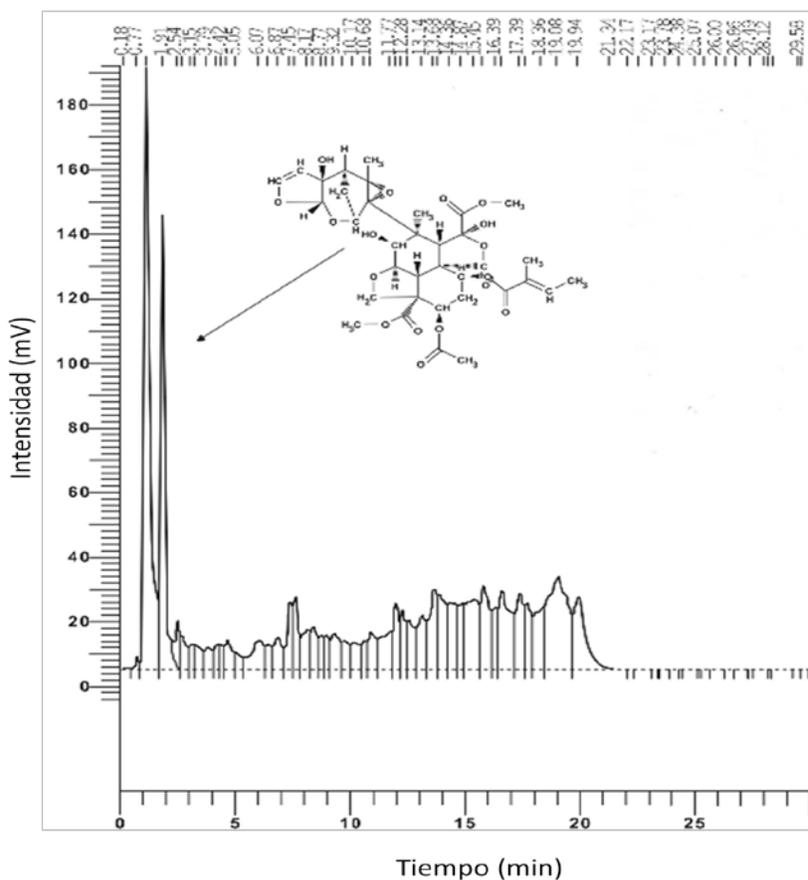


Figura 1. 3. Cromatograma del extracto de la semilla de nim obtenido con metanol por extrusión en frío. La flecha corresponde al pico de la azadiractina representada en su estructura.

Respecto al efecto de los procesos de extracción, la extrusión produjo una concentración promedio superior (1035 mg kg^{-1} de AZA) a la obtenida por el proceso Soxhlet (749 mg kg^{-1}).

Por otra parte, con relación al efecto de los solventes, el extracto metanólico resultó en una concentración promedio de 1974 mg kg^{-1} con ambos procesos, seguido de hexánico, con 794 mg kg^{-1} de AZA. Las concentraciones de AZA más bajas fueron del terpénico (450 mg kg^{-1}) y del acuoso (440 mg kg^{-1}).

La extracción metanólica se utiliza en la determinación analítica de AZA, además se ha aplicado en procesos para obtener un extracto rico en azadiractinas (Puri, 1999b). Se sabe también que la extracción metanólica del aceite de la semilla contiene varios compuestos como la epoxiazadiona, gedunina, nimbina, nimolicinol (Hallur *et al.*, 2002) y otros triterpenoides (Luo *et al.*, 1999, 2000). La extracción directa de la semilla por extrusión separa la fracción líquida, liberando los compuestos oleosos (Puri, 1999b). La combinación de la extracción por extrusión en frío con solvente polar conlleva la remoción de los componentes líquidos, tanto polares como no polares, a la vez de promover la extracción de los compuestos solubles en metanol aunque posean un gran grupo no polar en su molécula. Según Stark y Walter (1995), la fracción oleosa de la semilla constituye una parte importante en un insecticida comercial a base de azadiractina, pues su efectividad es mayor con el aceite que sin éste. El aceite puede contener hasta ocho tipos de limonoides con propiedades insecticidas, como nimbina y salanina, éste último actuando como un potente antialimentario.

El uso de agua para la extracción de azadiractina permite que productores de escasos recursos utilicen el extracto directamente en campo, aunque no extraiga con la mayor eficiencia la azadiractina. La inmersión de la semilla en agua es utilizada como preparación doméstica por parte de los agricultores en países en desarrollo (Puri,

1999a), donde utilizan 50 g de semilla macerada por 1.0 L de agua. Sin embargo, este proceso no es competitivo a escala de laboratorio o industrial.

Aunque la extracción Soxhlet permitió extracciones a mayores temperaturas, no favoreció la concentración de AZA en el extracto obtenido, posiblemente debido a que el tratamiento con temperaturas elevadas tanto en la pre-extracción o extracción directa de la semilla, como en las extracciones Soxhlet con solventes polares, pudiera degradar el compuesto, disminuyendo su contenido final (Sankaram *et al.*, 1999). La extracción Soxhlet pudo haber promovido la disolución de la AZA con temperatura por el principio de Le Chatelier (Quílez-Pardo y Solaz-Portolés. 1995), pero el incremento de solubilidad de la AZA en el solvente no fue mayor a su posible degradación térmica durante el proceso, aún con pocos ciclos de extracción y al considerar que la temperatura utilizada puede considerarse relativamente baja para procesos de extracción tipo Soxhlet.

Los resultados encontrados indican que el extracto metanólico por extrusión en frío es una tecnología promisoría para la producción agroindustrial a pequeña escala de bioinsecticidas, con semilla cosechada en México. La simplicidad del proceso de extrusión en frío consiste en la extracción con un prensado manual a escala piloto, que permite la utilización al pie de la plantación y la obtención directa de un extracto líquido de AZA. Es posible que el remanente de la extracción o pastel de nim contenga una gran cantidad de limonoides (NIIR Board, 2004), lo que permitiría su comercialización como subproducto. El equipo de extracción vertical es de operación manual sencilla, de escala pequeña y portátil. Este equipo permite que el agricultor realice la extracción sin necesidad de acopiar grandes cantidades de semilla. Con relación al uso de tecnologías de pequeña escala, en Tailandia se ha propuesto un equipo similar, el Pilot-RIT (Rajamangla Institute of Technology, 2003), pero el proceso se aplica a semilla sin endocarpio, que requiere del uso de un separador, seguido de la extracción del aceite. El remanente de la extracción se mezcla con metanol, logrando así la separación de azadiractina de la semilla por disolución en una gran cantidad de metanol, que después se evapora, con previo decantado y filtrado. En cambio, el

proceso en estudio es sencillo e incluye el endocarpio de la semilla, que también contiene azadiractina y por tanto se evita su separación preliminar. Además, consiste en el exprimido directo de la semilla con metanol, que aprovecha la separación de azadiractina por disolución en el momento de la ruptura del tejido, al mismo tiempo que se liberan los contenidos oleosos de la semilla. Una tecnología similar se utiliza en la India, que consiste en un proceso a pequeña escala de extracción de semilla pretratada sin aceite por bipartición con etanol y cloroformo (Puri, 1999b). En ambos procesos se busca que los pequeños agricultores lo lleven a cabo; sin embargo, el proceso utilizado en este estudio tiene la ventaja de no incluir solventes peligrosos o prohibidos como el cloroformo.

A los países con potencial e interés en la producción de semilla de nim les conviene generar tecnologías propias encaminadas a fomentar la industrialización local, que produzca extractos ricos en azadiractina para la fabricación de bioinsecticidas. Estos resultados aportan conocimientos fundamentales que pueden servir como base para evaluar tecnologías de extracción local a pequeña escala.

1.4. Conclusiones

El proceso de extrusión en frío con metanol posibilitó el uso de semilla con endocarpio de *A. indica* para obtener concentrados de AZA; además maximizó la concentración, respecto a los solventes *d*-limoneno, hexano o agua. Asimismo, el extracto metanólico produjo una mayor concentración de AZA en relación con los extractos hexánico, acuoso y terpénico en la extracción Soxhlet. La extracción Soxhlet de cuatro ciclos logró concentraciones importantes de AZA en los extractos, pero fue menor respecto al proceso de extrusión en frío. El equipo piloto manual, aquí descrito, posibilita la extracción de AZA a pequeña escala por el mismo agricultor.

1.5. Literatura citada

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. 963.15-Fat in cacao products. *In: Soxhlet extraction method final action 1973*. Helrich, K. (ed.). Office International du Cacao et du Chocolat-AOAC Method. Official methods of analysis 2. pp: 770-771.
- Bahena-Juárez, F. y A. García-Chávez. 2007. Compuestos activos mayoritarios de chilcuage y nim, dos alternativas para el manejo de plagas en una agricultura sostenible. *In: Agric. Sostenible-Sustancias Naturales contra Plagas 3*. López Olguín, J. F., A. Aragón G., C. Rodríguez H. y M. Vázquez G. (eds.). Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México. pp: 24-31.
- Coventry, E. and E. J. Allan. 2001. Microbiological and chemical analysis of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) extracts: New data on antimicrobial activity. *Phytoparasitica* 29(5): 1-10.
- García, E. 1998. Climas (clasificación Koppen, modificado por García) escala 1:1000000 México. [En línea]. Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/layouts/clima1mgw.gif>. (Consultado el 23 de julio de 2009).
- Hallur, G., A. Sivramakrishnan y S. V. Bhat. 2002. Three new tetranortriterpenoids from neem seed oil. *J. Nat. Prod.* 65(8): 1177-1179.
- Holla, K. S. 1996. Method for producing azadirachtin concentrates from neem seed materials. US patent H1541.
- Jenkins, D. A., F. V. Dunkel y K. T. Gamby. 2003. Storage temperature of neem kernel extract: differential effects on oviposition deterrency and larval toxicity of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Environ. Entomol.* 32(6): 1283-1289.
- Johnson, S., E. D. Morgan y C. N. Peiris. 1996. Development of the major triterpenoids and oil in the fruit and seeds of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.). *Ann. Bot.* 78: 383-388.
- Khalequzzaman, M. y M. Khanom. 2006. Effects of cypermethrin alone and in combination with leaf and seed extracts of neem against adult *Tribolium castaneum* (Herbst). *Univ. J. Zool. Rajshahi Univ.* 25: 45-49.
- Kovo, A. S. 2006. Application of full 42 factorial design for the development and characterization of insecticidal soap from neem oil. *Leonardo Electron. J. Pr. Technologies* 8: 29-40.

- Larson, R. O. 1985. Stable anti-pest neem seed extract. US patent 4556562.
- Luo X, Y. Ma, S. Wu y D. Wu. 1999. Two novel azadirachtin derivatives from *Azadirachta indica* A. Juss. J. Nat. Prod. 62(7): 1022-10224.
- Luo X. D., S. H. Wu, Y. B. Ma y D. G. Wu. 2000. A new triterpenoid from *Azadirachta indica* A. Juss. Fitoterapia 71(6): 668-72.
- Moorthy, S. R. y A. D. Kumar. 2004. Natural azadirachtin composition. US patent 6733802.
- National Research Council. 1992. *In: Neem: a tree for solving global problems*. Ruskin, F. R. (ed.). National Academy Press (Ed.). Washington, D. C., USA. 141 p.
- NIIR Board. 2004. Handbook on neem and allied products. National Institute of Industrial Research (Ed.). Asia Pacific Business Press. New Delhi, India. 478 p.
- Orme, S. y S. Kegley. 2005. Pesticide action network, North America. [En línea]. Disponible en: http://www.pesticideinfo.org/Detail_Poisoning.jsp?Rec_Id=PC35467 (Consultado el 19 de septiembre de 2008).
- Pattnaik, S.J., N. D. R. Rao, P. Chary. 2006. Ecomorphometric markers reflect variations in azadirachtin-A content of *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) in select regions of Andhra Pradesh, India Current Sci. 91(5): 628-636.
- Prédes-Trindade, R. C., I. M. Ramos-Marques, H. Satiro-Xavier y J. Vargas de Oliveira. 2000. Extrato metanólico da amêndoa da semente de nim e a mortalidade de ovos e lagartas da traça-do-tomateiro. Sci. Agricola 57(3):407- 413.
- Puri, H. S. 1999a. Traditional uses. *In: The divine tree Azadirachta indica* A. Juss. Hardman, R. (ed.). Harwood Academic Publishers (Ed.). Amsterdam, the Netherlands. 182 p.
- Puri, H. S. 1999b. Processing of plant raw material. *In: The divine tree Azadirachta indica* A. Juss. Hardman, R. (ed.). Harwood Academic Publishers (Ed.). Amsterdam, the Netherlands. 182 p.
- Quílez-Pardo, J. y J. J. Solaz-Portolés. 1995. Evolución histórica del principio de Le Chatelier. Cad. Cat. Ens. Fís. 12(2): 123-133.
- Ramakrishna, G., N. B. L. Prasad and G. Azeemoddin, 1996. Cold pressing of neem Seed. *In: World Neem Conf.*, 24-28 Feb., 1993. Bangalore, India. pp: 931-937.
- Rodríguez, L. D. A. 1998. Adaptabilidad del árbol de margosa (*Azadirachta indica* A. Juss.) en la zona centro de Veracruz y su utilidad en el combate de la broca del

- cafeto (*Hypothenemus hampei* Ferr.). Tesis de Doctor en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Campus Veracruz. 186 p.
- Romero, C. y M. Vargas. 2005. Extracción del aceite de la semilla de neem (*Azadirachta indica* A. Juss.). *Ciencia* 13(4): 464-474.
- Sanguanpong, U. 2003. A case study of RIT-Pilot plant for Thai neem based extract processing: from research in BRD to small-scale industrial production in Thailand. *J. Agri. Rural Develop. Trop. Subtrop.* 80: 168-179.
- Sankaram, A. V. B., Marthandamurthi, D. M. A. Vedala, S. S. Ramgopal, M. Subramanyam, V. S. Tiruchirapally, N. P. Arraluri, N. R. Jayanti-Mohammed y A. Muneem. 1999. Pesticidal dry powder formulation enriched in azadirachtin up to 88 % an emulsifiable concentrate enriched up to 30 % of azadirachtin and process for preparing such formulation and concentrate from neem seed/kernel. US patent 5856526.
- Schneider, B. H. y K. Ermel. 1987. Quantitative determination of azadirachtin from neem seeds using high performance liquid chromatography. *In: Proceedings of the 3rd International Neem Conference.* Schmutterer H. y K. R. S. Ascher (eds.). 10–15 July 1986. Nairobi, Kenya. pp: 161-170.
- Singh, S. R. 2002. Role of small-scale industries in harnessing the true potential of neem products. *In: Proceedings of the 4th World Neem Conference.* Behl, H. M. (ed.). 27–30 November. Mumbai, India 2: pp: 96–106.
- Sporring, S., S. Bøwadt, B. Svensmark y E. Björklund. 2005. Comprehensive comparison of classic Soxhlet extraction with soxtec extraction, ultrasonication extraction, supercritical fluid extraction, microwave assisted extraction and accelerated solvent extraction for the determination of polychlorinated biphenyls in soil. *J. Chromatogr. A* 1090(1-2): 1-9.
- Stark, J. D. y J. F. Walter. 1995. Neem oil and neem oil components affect the efficacy of commercial neem insecticides. *J. Agri. Food Chem.* 43(2): 507-512.
- Virost, M., V. Tomao, C. Ginies y F. Chemat. 2008. Total lipid extraction of food using *d*-limonene as an alternative to n-hexane. *Chromatographia* 68(3-4): 311-313.

CAPÍTULO II

CARACTERIZACIÓN DEL EXTRACTO METANÓLICO DE SEMILLA DE NIM OBTENIDO POR EXTRUSIÓN EN FRÍO

Resumen

En México, el árbol de nim fue introducido a finales del siglo XX. Desde entonces se han estudiado sus propiedades insecticidas y es fuente de materia prima para bioinsecticidas. En este estudio se cuantificó, en el extracto azadirex, la presencia de los limonoides azadiractina A y B (AZA y AZB), salanina y nimbina por análisis de HPLC. El azadirex fue obtenido de semillas de *A. indica* por extrusión en frío con metanol. La extracción se realizó por triplicado y se obtuvo la concentración de los limonoides como variable respuesta. Se realizó un análisis de varianza y prueba de Tukey ($p < 0.05$) para comparar las medias. La semilla con endocarpio tuvo una concentración de 4500 mg kg^{-1} de salanina, 3450 mg kg^{-1} de nimbina y 2784 mg kg^{-1} de la mezcla de azadiractinas A y B. El azadirex tuvo una composición típica en cuanto a AZA, AZB, nimbina y salanina, aunque esta última (3866 mg kg^{-1}) se encuentra significativamente en mayor proporción que las demás sustancias cuantificadas ($F = 39.5$, $gl_1 = 3$, $gl_2 = 8$, $p = 0.00004$). No hubo diferencias significativas entre la mezcla de AZA y AZB ($1818.7 \text{ mg kg}^{-1}$) con la nimbina (1280 mg kg^{-1}). El proceso de extrusión en frío con este alcohol promueve la extracción de AZA y AZB, contenidos en la semilla. La salanina y nimbina obtenidos en el azadirex se extrajeron de la fracción oleosa de la semilla.

Palabras clave: *Azadirachta indica*, nimbina, salanina, azadiractina A, azadiractina B.

CHARACTERIZATION OF METHANOL EXTRACT OF NEEM SEED OBTAINED BY COLD PRESS PROCESS

Abstract

In Mexico, the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss.) was introduced late in the twentieth century. Since then, it has been studied for its insecticidal properties and as raw material for bio-insecticide production. In this study, the presence of limonoids azadirachtin A and B (AZA and AZB), nimbin and salannin were studied in the extract azadirex, by HPLC analysis. The azadirex was obtained by cold press with methanol from seeds of *A. indica*. The extraction was performed in triplicate and the concentration of limonoids obtained as the response variable. An analysis of variance was performed followed by Tukey mean separation test ($p < 0.05$). The seed with endocarp had a salannin concentration of 4500 mg kg^{-1} , 3450 mg kg^{-1} of nimbin and 2784 mg kg^{-1} of azadirachtin A and B mixture. The azadirex had a typical composition of AZA, AZB, nimbin and salannin, although the later was found in significantly greater amounts (3866 mg kg^{-1}) than the other substances quantified ($F = 39.5$, $df_1 = 3$, $df_2 = 8$, $p = 0.00004$). No significant difference was found between the amount of AZA and AZB mixture ($1818.7 \text{ mg kg}^{-1}$) and that of nimbin (1280 mg kg^{-1}). The cold press process with alcohol promotes the removal of AZA and AZB, contained in the seed. Salannin and nimbin obtained from azadirex were extracted from the seed oil fraction.

Key words: *Azadirachta indica*, nimbin, salannin, azadirachtin A, azadirachtin B.

2.1. Introducción

Una de las especies vegetales más estudiadas por sus propiedades insecticidas es el árbol de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.). El nim se encuentra en más de 80 países y se estima que hay 91 millones de árboles en el mundo. El Sur de Asia y del Sahara constituyen las áreas más importantes en la distribución del árbol. En el siglo XX se introdujo a México (Koul, 2004) como fuente de materia prima bioinsecticida.

La semilla es el órgano de la planta con mayor proporción de compuestos bioinsecticidas. La madurez y cosecha del fruto se lleva a cabo cuando cambia el color del epicarpio de verde a amarillo; en esta etapa de madurez el fruto tiene un mesocarpio escaso y un endocarpio duro que envuelve la semilla (Puri, 1999a). La semilla contiene 30 a 50 % de aceite, aunque puede variar de árbol a árbol según su genotipo (Kaushik *et al.*, 2007). La semilla es la parte del árbol con mayor contenido de azadiractina A (AZA); se han aislado de semilla más de 100 triterpenoides (Isman, 2001). Sin embargo, la concentración de los triterpenoides presentes en la semilla varía durante el desarrollo del fruto. Los cambios en el desarrollo de la semilla mostraron que la nimbina y la azadiractina precedieron a la azadiractina y la salanina en el desarrollo del fruto (Koul y Wahab, 2004); por tanto, la cantidad de estas sustancias en la semilla depende del estado de madurez del fruto cosechado. Los activos bioinsecticidas presentes en mayor cantidad son las azadiractinas (tetranortriterpenoides), tales como AZA y azadiractina B (AZB; Figura 2.1C). Las estructuras químicas de AZA, AZB, nimbina y salanina se muestran en la Figura 2.1.

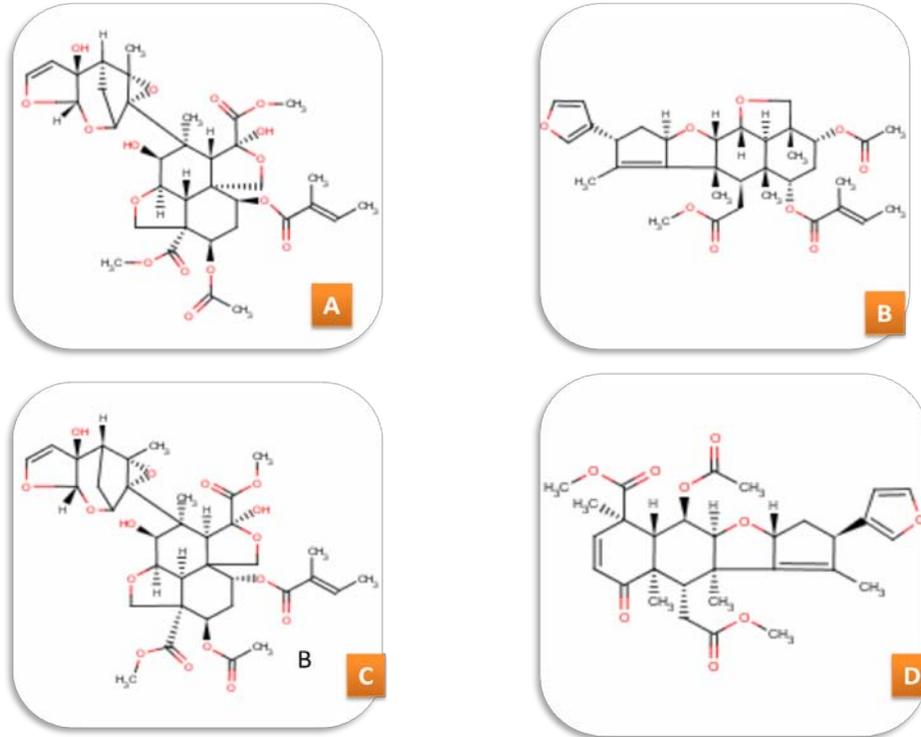


Figura 2. 1. Estructuras de azadiractina A (A), salanina (B), azadiractina B (C) y nimbina (D).

AZA y la AZB se producen normalmente en la semilla en una proporción de 3:1 (Isman, 2001). Además de estos compuestos, la salanina y la nimbina (Figura 2.1D) también son componentes mayoritarios (Sarais *et al.*, 2008), presentes en la semilla en un intervalo de 0.1 a 0.9 % (Koul y Wahab, 2004). Como ya se mencionó, los componentes encontrados en la semilla dependen del estado de madurez. Por ejemplo, la AZA se detecta hasta 50 días después de fructificación. La semilla alcanza su desarrollo máximo a las doce semanas (Puri, 1999b). Yakkundi *et al.* (1995) encontraron que en la novena semana del desarrollo del fruto comenzó un cambio de color verde a amarillo y terminó en la semana 19; esta coloración permite detectar el nivel de madurez apropiado para el procesamiento de la semilla.

Shaun *et al.* (1996) encontraron que el contenido de AZA puede llegar hasta 10000 mg

kg⁻¹ en la semilla recién madura pero la concentración de AZA en el embrión puede alcanzar un 83 %, equivalente a 5770 mg kg⁻¹ (Ramos *et al.*, 2004). Aunque se ha atribuido la variación del contenido de AZA en la semilla a las condiciones climáticas como la temperatura y la humedad, un estudio de AZA y AZB en 43 provincias de la India demostró que hubo árboles con alto y bajo contenido de estas azadiractinas en la misma localidad y que esta tendencia también se observó en cinco regiones agroclimáticas del país (Sidhu *et al.*, 2003). En el estudio de Ramesh y Balasubramanian (1999) con semillas de la India se encontró una concentración alta de AZA y AZB, con valores de 0.26 a 0.31 %. Sidhu *et al.* (2003) estudiaron factores climáticos como precipitación, humedad o temperatura y no encontraron influencia de estos factores en el contenido de AZA en árboles de *A. indica*. Sin embargo, Kaushik *et al.* (2007) exponen que la producción de AZA está asociada al clima y proponen que las condiciones más prósperas para este activo en la semilla se localizan en el sur de la India. Además, encontraron evidencia que el clima que favorece la producción de AZA en la semilla es el cálido semiárido con invierno suave. Asimismo, en seis ecotipos del norte de Australia, el contenido de AZA osciló desde 0.35 a 0.89 % en la semilla (Bally *et al.* 1996). Otro estudio en la India demuestra que el contenido de AZA en la semilla está correlacionado con las condiciones ecogeográficas de la región (Pattnaik *et al.*, 2006). Por otra parte, de doce estados de la India donde se analizó el contenido de AZA en la semilla, se encontraron valores superiores en los árboles de *A. indica* que crecen en la región de la meseta Deccan (Kaushik *et al.*, 2007).

Un estudio de los cuatro principales activos en la semilla encontró la concentración máxima de nimbina en 0.8 %, así como 0.07 % de salanina, además de 0.31 % de las azadiractinas AZA y AZB (Ramesh y Balasubramanian, 1999). El estrés invernal favorece la síntesis de AZB (Puri, 1999c). Por otra parte, la concentración de nimbina en semilla fluctuó de 18.2 a 638.8 mg kg⁻¹, y la de salanina fluctuó 45.4 a 1830 mg kg⁻¹; ambas concentraciones están correlacionadas positivamente, como lo indican Sidhu *et al.* (2003), no así con las condiciones agroclimáticas (Sidhu *et al.*, 2003; 2004).

La extracción a pequeña escala de principios activos de la semilla de nim inicia con la

obtención del aceite crudo. Posteriormente este aceite se procesa por bipartición vía solvente (Sanguanpong, 2003). De aquí se obtienen dos componentes: un aceite casi libre de principios activos y un concentrado rico en azadiractina libre de aceite. No obstante, se sabe que el aceite de nim también contiene nimbina y salanina (Stark y Walter, 1995). Un análisis de aceite de nim obtenido en laboratorio indica que contuvo 17.1 % de nimbina, 13.7 % de salanina y 12.0 % de AZA (Bahena-Juárez y García-Chávez, 2007).

Hay imprecisiones cuando se hace referencia al extracto de nim. Una se refiere a la utilización del término “extracto de nim” para diferentes productos derivados del procesamiento del fruto, la semilla o la hoja, que bien pueden o no contener azadiractina, sin diferenciar cada uno de los usos, como insecticida, bactericida o medicinal. Otra imprecisión es la aplicación del término nim como sinónimo de azadiractina, que representa a un compuesto; sin embargo, la mezcla activa de la semilla contiene varias sustancias. Se sabe que varios compuestos con acción insecticida se encuentran en el extracto de la semilla y constituyen un grupo de limonoides altamente oxidados. A fin de precisar lo anterior, Morgan (2004) propone el término azadirex, referido al extracto insecticida de la semilla de nim sin endocarpio que contiene azadiractina como principal componente, pero que también contiene otros componentes activos del grupo triterpenos de la semilla. Asimismo, indica que el azadirex puede o no contener otros limonoides inactivos, los cuales son nimbina y un compuesto marginalmente activo como la salanina. En este documento se adoptará el término azadirex para referirse al extracto de semilla, con la variante de que el extracto se origina de la semilla con endocarpio, porque la corteza de la semilla también contiene azadiractina (Ramos *et al.*, 2004).

Por otra parte, el proceso de extrusión en frío no utiliza solventes químicos o calor. El extracto oleoso obtenido es rico en limonoides, pero con bajo rendimiento, pues hay aceite remanente en la semilla; sin embargo, este aceite puede ser enriquecido con azadiractina u otros compuestos obtenidos por la extracción vía solvente (Puri, 1999d). Cuando el proceso de extrusión se combina con un alcohol como el metanol, el

extracto puede contener AZA, AZB, diacetil nimbina, diacetil salanina, nimbina y salanina (Hallur *et al.*, 2002), además de otros componentes como 6-deacetilnimbina, azadiradiona y epoxiazadiradiona (Govindachari *et al.*, 1998). El extracto metanólico del aceite de nim producido por extrusión llega a contener hasta 1.9 % de AZA, 8.3 % de AZB, 5 % de nimbina y 21.25 % de salanina (Govindachari *et al.*, 2000). Este extracto es biológicamente activo pero la mayor parte de los limonoides quedan en los residuos de la semilla. El proceso combinado de extrusión y metanol no se ha aplicado directamente a la semilla con endocarpio y se desconoce si tiene la composición típica del azadirax. Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue cuantificar los cuatro limonoides principales por análisis de HPLC en semillas de *A. indica* y en el extracto metanólico por extrusión en frío.

2.2. Materiales y métodos

Para elaborar el extracto se utilizó semilla de una cosecha de siete toneladas, proveniente de una plantación de árboles de *A. indica* de 10 años de edad, en el Campus Veracruz del Colegio de Postgraduados, localizada en el municipio de Manlio Fabio Altamirano, Veracruz, México (19°11.65' N, 96°20.07' O). Esta plantación se ubica a 27 msnm, y en un clima cálido subhúmedo Aw2(x') (García, 1998).

El periodo de cosecha fue entre julio y agosto de 2007. El fruto se cosechó cuando tuvo un epicarpio color verde sazón, antes de cambiar a color amarillo. Previo al despulpado de la semilla se colocaron los frutos en costales al exterior, para que los frutos tuvieran una madurez homogénea. El despulpado húmedo de la semilla se realizó con el equipo mecánico utilizado para café cereza. La semilla con endocarpio fue secada en bastidores a la sombra. La semilla se almacenó en un cuarto climatizado a una temperatura de 25 °C hasta su proceso de extracción. Se utilizó un molino comercial manual para nixtamal y granos, con discos de fierro aleado de alta resistencia con una capacidad de molienda de 1.0 kg 5 min⁻¹. Se emplearon 20 kg de semilla seca y molida

a un tamaño de partícula de 1.41 mm Ø, 40.33 %; 0.074 mm Ø, 28.63 %; 0.59 mm Ø, 7.83 %; 0.42 mm Ø, 9.84 % y 11.12 % de finos. El solvente utilizado fue metanol grado industrial (99.96 %).

La obtención de azadirex se llevó a cabo por extrusión en frío con metanol, descrito en el Capítulo 3 e ilustrado en la Figura 2.1B. Este equipo contiene una cámara cilíndrica de acero inoxidable con capacidad para 1.0 kg de semilla. En el fondo de la cámara se colocó una malla de acero inoxidable para la retención de sólidos que pudieran obstruir los orificios de salida del ducto. Este ducto consta de ocho hileras de orificios conectados con canales para salida del extracto. En la base del ducto se colocó un colector para el extracto.

La extracción inició con la adición de 150 mL de metanol a 1 kg de semilla molida con endocarpio. Se mezcló hasta la homogenización y se dejó reposar por 20 min. Transcurrido este tiempo, la mezcla de semilla con metanol se introdujo en la cámara. La extracción se llevó a cabo por la rotura del tejido y la liberación de los líquidos a temperatura ambiente a una presión de 20 kg cm⁻² por el sistema hidráulico manual, a la vez que el metanol disolvió los componentes de la semilla. El azadirex se almacenó en la obscuridad en una cámara hidrotérmica a -4 °C en botella de vidrio ámbar hasta su análisis. La extracción por extrusión en frío con metanol de la semilla con endocarpio se realizó por triplicado.

El azadirex se analizó por el método HPLC, a través del sistema modular HPLC (certificación ISO-9000) Perkin Elmer. Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Alta Tecnología de Orizaba de la Universidad Veracruzana (Orizaba, México). Las condiciones de corrida en cromatografía fueron: columna Hs5C₁₈; detector: UV-VIS; longitud de onda: λ 215 nm; volumen de muestra: 20 μ L; fase móvil: H₂O: CH₃CN: CH₃OH (15:40:45). La cuantificación fue hecha por estandarización con AZA al 90.7 % (C₃₅H₄₄O₁₆; m. m. 720.72; CAS#: 11141-17-6), AZB al 93.4 % (C₃₃H₄₂O₁₄; m. m. 662.69; CAS#: 95507-03-2), salanina al 93.3 % (C₃₄H₄₄O₉; m. m. 596.71; CAS#: 992-20-1) y nimbina al 96 % (C₃₀H₃₆O₉; m. m. 545.67; CAS#: 5945-86-8). Todos los

estándares utilizados fueron de la marca ChromaDex®. Adicionalmente, el contenido de componentes fue analizado en la semilla.

El experimento tuvo como variable dependiente la concentración en el azadirex de salanina, nimbina y azadiractina en sus fórmulas estructurales A y B. Se realizó el análisis de varianza de la concentración de los activos como variable respuesta, previamente estandarizada. Posteriormente se realizó una comparación de medias con la prueba de Tukey ($p < 0.05$), mediante el programa Statistica v. 6.0.

2.3. Resultados y discusión

Primero se estudió la composición de la semilla con endocarpio. Ésta presentó 1080 mg kg^{-1} promedio de AZA, nivel que se encuentra dentro del intervalo de valores referidos de Australia (Bally *et al.* 1996) y los citados por Pattnaik *et al.* (2006) para la semilla sin endocarpio de la India, cuyos valores van de 430 a 3830 mg kg^{-1} de AZA. De acuerdo con esto, la concentración de AZA encontrada en la semilla hace factible su industrialización para fines bioinsecticidas. Las azadiractinas A y B son isómeros limonoides, se trata de metabolitos secundarios muy oxidados con tres radicales [-OH] y presentes en las semillas del árbol de nim. La AZB mostró una concentración promedio de 1704 mg kg^{-1} , siendo mayor que la de AZA. La semilla de esta zona agroecológica fue rica en AZB. El valor promedio combinado de azadiractinas A y B fue de 2784 mg kg^{-1} (0.27 %), ubicado entre los valores altos encontrados en la provincia Andhrapredesh, India (Ramesh y Balasubramanian, 1999). La concentración de nimbina fue de 3450 mg kg^{-1} (0.34 %) en la semilla, más alta que las azadiractinas dentro del intervalo observado en semilla colectada en Hyderabad, Adhrapredesh, pero mayor a Karnataka (Bangalore) y Tamilnadu (Chennai), India. La concentración de salanina fue de 4500 mg kg^{-1} (0.45 %), superior a la encontrada en dichas localidades de la India, que fueron de 0.06 a 0.07 %.

El extracto azadirex obtenido fue un líquido color ámbar. Las concentraciones promedio

de AZA, AZB, salanina y nimbina se muestran en la Figura 2.2. Se encontró diferencia significativa en la concentración de los activos ($F = 39.5$, $gl_1 = 3$, $gl_2 = 8$, $p = 0.00004$). La comparación de medias indica que la salanina difiere de los otros compuestos, los cuales no presentan diferencia significativa entre ellos, y se encuentra en mayor proporción (Figura 2.2). Aunque AZA es el componente más importante con efecto insecticida y AZB contribuye con dicha actividad biológica (Koul y Wahab, 2004), su concentración fue menor a salanina. Por otra parte, la mezcla de AZA y AZB se encontró en una concentración de $1818.7 \text{ mg kg}^{-1} \pm 348.5 \text{ E.E.}$

El proceso de extrusión en frío con metanol promueve la extracción de estos metabolitos contenidos en la semilla gracias a la interacción de grupos hidroxilos de la estructura de azadiractinas A y B (Figuras 2.1A y 2.1B), pues favorece la solubilidad de dichas moléculas en el solvente. Se sabe que la parte oleosa de la semilla contiene salanina y nimbina (Stark y Walter, 1995). Los valores de salanina y nimbina obtenidos en el azadirex muestran que se extrajo también parte de la fracción oleosa de la semilla. En la fracción oleosa estudiada por Stark y Walter (1995; NIIR Board, 2004), la salanina supera a la nimbina, de igual manera que en el azadirex analizado en este estudio. Aunque el proceso estudiado es una combinación de extrusión con solvente, el azadirex obtenido tuvo una composición típica, de acuerdo a la descrita por Koul y Wahab (2004), con azadiractinas A y B, salanina y nimbina, como componentes principales. Por otra parte, se considera que la salanina afecta negativamente la alimentación de los insectos tratados y tiene propiedades insecticidas, pero tiene menor efecto antialimentario que la azadiractina (NIIR Board, 2004).

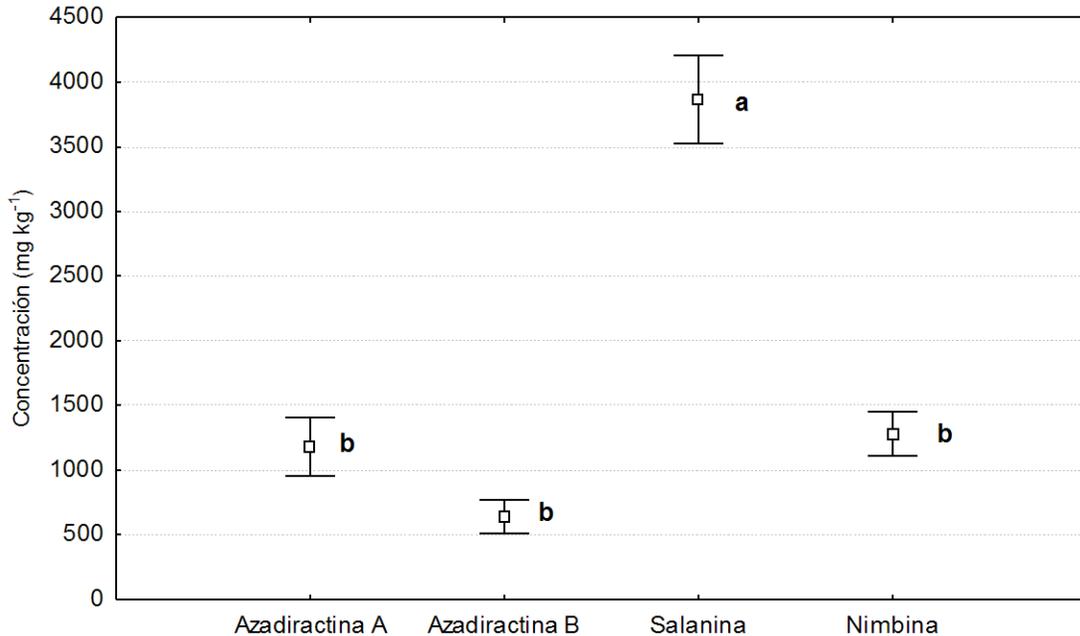


Figura 2. 2. Concentración promedio de azadiractina A, azadiractina B, salanina y nimbina en el azadirex (□). Las líneas verticales (⊥) indican el error estándar. Medias con la misma letra no difieren significativamente (Tukey, $p < 0.05$).

La máxima concentración de azadiractina se puede obtener cuando se aplican precauciones para lograr homogeneidad en la madurez del fruto y a su vez se cuidan las condiciones durante el almacenamiento de semillas de nim. Sin embargo, el contenido de azadiractina en la semilla también es influenciado por el genotipo del árbol, la zona geográfica de origen el tipo de suelo, la altitud y la variación anual de las condiciones ambientales, como la temperatura, la humedad, del tipo de suelo y la altitud. Por ello es recomendable apreciar los extractos de semilla de nim, en particular el azadirex por los contenidos de otros activos como salanina, nimbina y AZB, no sólo AZA. Aunque la AZA ha sido reconocida como un componente clave en la bioactividad del extracto, su concentración no siempre se correlaciona directamente con la actividad insecticida, pues también contribuyen componentes como AZB y salanina. Además, la estabilidad de la azadiractina en el extracto es frágil si el ambiente es alcalino; en cambio el extracto metanólico (azadirex) posee la ventaja de ser estable; al respecto, Hull *et al.* (1993) observaron que la solución metanólica almacenada a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ se

mantuvo estable al menos 6 meses.

2.4. Conclusiones

El análisis de la semilla de *A. indica* con endocarpio obtenida de árboles en el Municipio de Manlio F. Altamirano, Veracruz, México, mostró que contiene nimbina, salanina y azadiractinas A y B (AZA y AZB), a diferentes concentraciones. El azadirex o extracto de esta semilla con endocarpio también presentó dichos activos. La salanina se encontró en mayor proporción que las otras tres sustancias. Las azadiractinas A y B se encontraron en una concentración similar a la nimbina. El proceso de extrusión en frío con alcohol metílico promueve la extracción de los metabolitos AZA y AZB contenidos en la semilla. Los valores de salanina y nimbina obtenidos en el azadirex muestran que se extrajo de la fracción oleosa de la semilla, donde la salanina superó a la nimbina.

2.5. Literatura citada

- Bahena-Juárez, F. y A. García-Chávez. 2007. Compuestos activos mayoritarios de chilcuage y nim, dos alternativas para el manejo de plagas en una agricultura sostenible. *In*: López Olguín, J. F., A. Aragón G., C. Rodríguez H., y M. Vázquez G. (eds.). Agricultura Sostenible Sustancias Naturales contra Plagas 3. Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México. pp: 24-31.
- Bally, I. S. E., L. Ruddle y B. Simpson. 1996. Azadirachtin levels in neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) seed grown in Northern Australia. *In*: Singh, R. P. y R. C. Saxena (eds.). International Neem Conference, Queensland, Australia. pp: 35-47.
- García, E. 1998. Climas (Clasificación Koppen, Modificado por García) Escala 1:1000000 México. [En línea]. Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/layouts/clima1mgw.gif>. (Consultado el 23 de julio de 2009).
- Govindachari, T. R., G. Suresh, G. Gopalakrishnan y S. D. Wesle. 2000. Insect antifeedant and growth regulating activities of neem seed oil: the role of major tetranortriterpenoids. *J. Appl. Ent.* 124: 287-291.

- Govindachari, T. R., G. Suresh, G. Gopalakrishnan, B. Banumathy y S. Masilamani. 1998. Identification of antifungal compounds from the seed oil of *Azadirachta indica* A. Juss. *Phytoparasitica* 25(2): 109-116.
- Hallur, G., A. Sivramakrishnan y S. V. Bhat. 2002. Three new tetranortriterpenoids from neem seed oil. *J. Nat. Prod.* 65(8): 1177-1179.
- Hull, Jr. C. J., W. R. Dutton y B. S. Switzer. 1993. Quantification of azadirachtins in insecticidal formulations by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 633(1-2): 300-304.
- Isman, M. B. 2001. Biopesticides based on phytochemicals. *In*: Koul, O. y G. S. Dhaliwal (eds.). *Phytochemical Biopesticides*. Harwood Academic Publishers. Amsterdam, The Netherland. 223 p.
- Kaushik, N., B. Gurudev, U. K. Tomar, S. Naik, V. Satya, S. Bisla, K. Sharma, S. Banerjee y P. Thakkar. 2007. Regional and habitat variability in azadirachtin content of Indian neem (*Azadirachta indica* A. Juss.). *Curr. Sci.* 92(10): 1400-1406.
- Koul, O. 2004. Neem: a global prespective. *In*: Koul, O. y S. Wahab (eds.). *Neem: Today and in The New Millennium*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. 276 p.
- Koul, O. y S. Wahab. 2004. *Neem: Today and in the New Millennium*. Kluwer Academic Publishers (Ed.). Dordrecht, The Netherlands. 276 p.
- Morgan, E. D. 2004. The place of neem among modern natural pesticide. *In*: Koul, O. y S. Wahab (eds.). *Today and in the New Millennium*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. pp: 21-32.
- NIIR Board. 2004. *Handbook on Neem and Allied Products*. National Institute of Industrial Research (ed.). Asia Pacific Business Press. New Delhi, India. 478 p.
- Pattnaik, S. J, N. D. R. Rao y P. Chary. 2006. Ecomorphometric markers reflect variations in Azadirachtin-A content of *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) in select regions of Andhra Pradesh, India. *Curr. Sci.* 91(5): 628–636.
- Puri, H. S. 1999a. Plant raw material. *In*: *The Divine Tree Azadirachta indica* A. Juss. Hardman, R. (ed.). Harwood Academic Publishers (ed.). Amsterdam, The Netherlands. 182 p.
- Puri, H. S. 1999b. Plant sources. *In*: Hardman, R. (ed.). *The Divine Tree Azadirachta indica* A. Juss. Harwood Academic Publishers (ed.). Amsterdam, The Netherlands. 182 p.

- Puri, H. S. 1999c. Chemical constituents. *In*: Hardman, R. (ed.). *The Divine Tree Azadirachta indica* A. Juss. Harwood Academic Publishers (ed.). Amsterdam, The Netherlands. 182 p.
- Puri, H. S. 1999d. Neem and pollution. *In*: Hardman, R. (ed.). *The Divine Tree Azadirachta indica* A. Juss. Harwood Academic Publishers (ed.). Amsterdam, The Netherlands. 182 p.
- Ramesh, A. and M. Balasubramanian. 1999. Rapid preconcentration method for the determination of azadirachtin-A and -B, nimbin and salannin in neem oil samples by using graphitised carbon solid phase extraction. *Analyst* 124: 19-21.
- Ramos, B. C, V. González H., V. Soto H., E. M. Engleman y D. Rodríguez L. 2004. Variación en contenido de azadiractina en frutos de margosa durante su desarrollo. *Rev. Fitotecnia Mex.* 27(1): 81-85.
- Rengasamy, S. y B. S. Parmar. 1995. Azadirachtin-A content of seeds of neem ecotypes in relation to agroecological regions of India. *Pestic. Res. J.* 7(2): 140-148.
- Sanguanpong, U. 2003. A case study of RIT-pilot plant for Thai neem-based extract processing: from research in BRD to small-scale industrial production in Thailand. *J. Agric. Rural Dev. Trop. Subtrop.* 80: 168-179.
- Sarais, G., P. Caboni, E. Sarritzu, M. Russo y P. Cabras. 2008. A simple and selective method for the measurement of azadirachtin and related azadirachtoid levels in fruits and vegetables using liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 56(9): 2939-2943.
- Shaun, J., E. D. Morgan y C. N. Peiris. 1996. Development of the major triterpenoids and oil in the fruit and seeds of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.). *Ann. Botany* 78(3): 383-388.
- Sidhu, O. P., V. Kumar y H. M. Behl. 2003. Variability in neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) with respect to azadirachtin content. *J. Agric. Food Chem.* 51(4): 910-915.
- Sidhu, O. P., V. Kumar y H. M. Behl. 2004. Variability in triterpenoids (nimbin and salannin) composition of neem among different provenances of India. *Ind. Crop. Prod.* 19(1): 69-75.
- Stark, J. D. y J. F. Walter. 1995. Neem oil and neem oil components affect the efficacy of commercial neem insecticides. *J. Agric. Food Chem.* 43(2): 507-512.
- Yakkundi, S. R., R. Thejavathi y B. Ravindranath. 1995. Variation of azadirachtin content during growth and storage of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) seeds. *J. Agric. Food Chem.* 43(9): 2517-2519.

CAPÍTULO III
EFFECTIVIDAD INSECTICIDA DE EXTRACTOS DE NIM EN *Aphis gossypii* GLOVER
(HOMOPTERA: APHIDIDAE)

Resumen

Para preparar bioinsecticidas efectivos a base de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) es necesario extraer y concentrar sus activos, ya que no se encuentran en altas cantidades de forma natural. Por ello se evaluaron los métodos de extracción de nim por extrusión simple, extrusión metanólica en frío, Soxhlet-hexano y acuosa para cuantificar el rendimiento de estos procesos de extracción; asimismo, se determinó su efectividad insecticida sobre *Aphis gossypii* Glover, así como sus efectos fitotóxicos sobre *Ixora coccinea* L. Los análisis de HPLC mostraron una concentración de 2478, 565, 422 y 150 mg kg⁻¹ del isómero azadiractina A (AZA) en extrusión metanólica en frío, Soxhlet-hexano, extrusión simple y extracción acuosa, respectivamente. El bioensayo para determinar el efecto insecticida y de fitotoxicidad de los extractos consistió en exponer 10 ninfas de *A. gossypii* a hojas de *I. coccinea* previamente tratadas con dosis de 0.01, 0.1 y 0.2 mg de AZA en 5 cm², y un testigo con agua, con tres repeticiones. La mortalidad se registró a las 24, 48 y 72 h. Se encontraron diferencias significativas en la mortalidad de *A. gossypii* por tipo de extracto, tiempo y dosis, así como en las interacciones dosis x tiempo y dosis x tipo de extracto. El extracto metanólico a la dosis de 0.2 mg de AZA fue diferente ($p < 0.0001$) de los demás extractos y alcanzó 100 % de mortalidad a 48 y 72 h. El extracto oleoso fue el único que produjo lesiones en 30 % del área foliar tratada.

Palabras clave: *Azadirachta indica* , semilla con endocarpio, azadiractina A

INSECTICIDAL EFFECT OF EXTRACTS OF NEEM SEED IN *Aphis gossypii* Glover (HOMOPTERA: APHIDIDAE)

Abstract

To prepare effective bio-insecticides based on neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) is necessary to extract and concentrate its active ingredients, since they naturally occur at low concentrations. Therefore, neem extraction methods using cold press, cold press with methanol, Soxhlet-hexane and aqueous extraction were evaluated. Yield using these extraction processes was quantified. Also, insecticide effects on *Aphis gossypii* Glover and phytotoxicity on *Ixora coccinea* L. were evaluated. HPLC analysis showed concentrations of 2478, 565, 422 and 150 mg kg⁻¹ of the isomer azadirachtin A (AZA) using cold press with methanol, Soxhlet-hexane, cold press and simple aqueous extraction, respectively. In the bioassay, 10 nymphs of *A. gossypii* were laid on leaves of *I. coccinea* previously treated with extracts containing 0.01, 0.1 and 0.2 mg of AZA in 5 cm², including a water control, with three replicates. Mortality was reported at 24, 48 and 72 h. Significant differences in *A. gossypii* mortality was due to type of extract, time and dose, interactions dose x time and dose x time x type of extract were also significant. Methanol extract with 0.2 mg of AZA was significantly different (p <0.0001) to the other extracts and reached 100 % mortality at 48 and 72 h. The extract containing neem oil was the only one that caused injury in 30 % of the treated leaf area.

Key words: *Azadirachta indica*, seed, azadirachtin A.

3.1. Introducción

El árbol del nim *Azadirachta indica* A. Juss contiene diversos componentes con actividad insecticida, de los cuales el más importante es la azadiractina, un tetranortriterpenoide natural con varias formas estructurales (NIIR Board, 2004); sin embargo, los bioactivos no se encuentran en altas concentraciones en las diferentes partes de la planta sino de manera particular en la semilla. Para preparar bioinsecticidas efectivos a base de nim se debe optimizar el proceso de extracción e incrementar el contenido de azadiractina y otros componentes relacionados con la actividad insecticida de los extractos. Se han propuesto varios métodos de extracción de la azadiractina, dentro de los que destacan la separación por bipartición vía solvente, luego de la obtención del aceite crudo de la semilla. De esta bipartición resulta un aceite de nim casi libre de principios activos y un concentrado rico en azadiractina libre de aceite (Walter, 1990). Otro proceso consiste en exprimir las semillas suavemente para obtener el aceite y, posteriormente, se extrae con solvente la azadiractina del residuo de la semilla sin aceite (Puri, 1999). En los procesos mencionados, el endocarpio de la semilla se descarta; sin embargo, aún contiene azadiractina, hasta una sexta parte del contenido del embrión (Ramos *et al.*, 2004). Por esta razón, es importante utilizar el endocarpio de la semilla en los procesos de extracción de azadiractina.

Dependiendo del proceso, los extractos comerciales contienen azadiractina en sus formas estructurales (Luo *et al.*, 1999; Sidhu *et al.*, 2003; Sharma *et al.*, 2003), además de otros triterpenoides, aunque minoritarios, con efecto adicional insecticida (Siddiqui *et al.*, 2004; Bahena-Juárez y García-Chávez, 2007). Adicionalmente, los aceites contenidos en los extractos de nim les confieren propiedades penetrantes y de sinergia con la azadiractina y otros componentes (Stark y Walter, 1995).

La técnica de preparar un polvo con 10 y 26 % de AZA es sencilla, incluso a concentraciones más altas, como lo demuestra el proceso de separación patentado por Lidert *et al.* (1995), que permite obtener hasta el 40 % de AZA de semilla pretratada sin

los aceites, a partir del extracto acuoso crudo y el uso de resina poliaromática con acetato de etilo. Sin embargo, aumentar la azadiractina conlleva un desproporcionado incremento en los costos (Koul y Wahab, 2004). Por otra parte, se ha demostrado que una mayor concentración de azadiractina en la formulación final se traduce en una mayor inestabilidad en su efecto insecticida (Immaraju, 1998). Existe un debate sobre la conveniencia de pretratar la semilla para liberar los aceites; Stark y Walter (1995) encontraron que un insecticida comercial basado en azadiractina fue más efectivo si se dejaba su contenido de aceite de nim, e indicaron que el aceite contenía ocho tipos de limonoides relevantes en la actividad bioinsecticida, como la nimbina y la salanina.

En cuanto a las propiedades insecticidas de los compuestos extraídos de la semilla de nim, la azadiractina se considera una alternativa para el control de áfidos. Sin embargo, se requiere de concentraciones mayores a 100 mg kg^{-1} de azadiractina para producir efecto antialimentario (Nisbet *et al.*, 1993). La baja sensibilidad de los áfidos al efecto antialimentario de la azadiractina se deba quizás a la poca movilidad de ésta en el floema (Schmutterer, 1988). Estos resultados tienen implicaciones para la reducción de daños y la transmisión del virus a la planta. Por ejemplo, aún no se sabe si la movilidad de azadiractina en el floema le permite translocarse a las partes en crecimiento de la planta. Sin embargo, el efecto antialimentario de azadiractina en *Aphis nerii* Fonscolombe no ha evitado que la planta adquiera virus (Hernández-Castro *et al.*, 2005). Por otro lado, Koul (1999) reporta que *Macrosiphum rosae* L. y *Macrosiphoniella sanbornii* Gillette redujeron su supervivencia y su alimentación al exponerlas a sustratos con azadiractina. También se conoce su efecto como regulador de crecimiento, ya que se ha logrado que la azadiractina afecte significativamente la cantidad de ninfas viables producidas por adultos ápteros con una dieta artificial que contenía de 25 mg kg^{-1} de dicha sustancia durante 24 a 52 h (Nisbet *et al.* 1994). Lowery e Isman (1996) mostraron que las aplicaciones de 1 % de aceite de *A. indica* redujeron la progenie de *Myzus persicae* Sulzer en 82 %, y en 66 % la de *Nasonovia risbinigri* Mosley. La mortalidad del extracto acuoso de semilla de *A. indica* provocó mortalidad significativa de *Aphis nerii* Fonscolombe (Hernández-Castro *et al.*, 2005).

El pulgón del melón (*Aphis gossypii* Glover) es una plaga que ataca gran cantidad de cultivos, entre ellos plantas ornamentales del género *Ixora* (Rubiaceae) (Imenes *et al.*, 2002), y se presenta de forma común sobre arbustos de *Ixora coccinea* L. La autora ha observado infestaciones periódicas de *A. gossypii* sobre *I. coccinea* en Veracruz, por lo que puede ser una plaga potencial de este cultivo ornamental en México. En la búsqueda de productos menos nocivos al ambiente se han ensayado los extractos de nim (Gandhi *et al.*, 2006). Khalequzzaman y Nahar (2008) estimaron una LC_{50} de 0.34 $\mu\text{g cm}^{-2}$ de azadiractina para este áfido. En un reporte del NIIR Board (2004) se indica que el extracto etanólico de nim redujo el número de individuos de *A. gossypii* en una prueba de campo, y obtuvo una CL_{50} de 10 mg kg^{-1} de azadiractina. Dos Santos *et al.* (2004) observaron que el extracto acuoso de semillas de nim redujo la supervivencia de la ninfa y la fecundidad del pulgón del melón.

Los objetivos de esta investigación fueron evaluar el rendimiento de los extractos oleoso, acuoso, metanólico y hexánico de semillas de *A. indica*, elevar la concentración de azadiractina en ellos, determinar su efectividad insecticida sobre *Aphis gossypii* Glover, así como observar su efecto fitotóxico sobre *Ixora coccinea* L.

3.2. Materiales y métodos

Para obtener los extractos se utilizó semilla de la cosecha 2004 de una plantación de árboles de *A. indica* de siete años de edad, ubicada en el Campus Veracruz del Colegio de Postgraduados, en el km 88.5 de la carretera federal Xalapa-Veracruz, México (19°11.658' norte y 96°20.069' oeste); con elevación de 27 m y un clima cálido subhúmedo Aw2(x') (García, 1998). Todos los extractos se obtuvieron de una fuente de 20 kg de semilla de *A. indica* previamente despulpada, con endocarpio, seca y molida (en lo sucesivo, semilla-endocarpio). Los solventes utilizados fueron: alcohol metílico (metanol al 99.96 %) y hexano (*n*-hexano, p.e.b @ 55-63 °C), ambos grado industrial, y agua destilada.

3.2.1. Obtención de los extractos de nim

El extracto oleoso se obtuvo por extrusión con el uso de un equipo piloto de diseño vertical del Colegio de Postgraduados, que consiste en un cilindro de acero inoxidable con capacidad para 1 kg de semilla-endocarpio, con un sistema hidráulico manual que proporciona una presión de 20 kg cm⁻²; el cilindro presenta una reducción en la salida, un colector del extracto oleoso. La Figura 1.1A muestra el equipo utilizado para este proceso.

La muestra de 1 kg de semilla-endocarpio de *A. indica* se sumergió en 0.15 L de metanol durante 30 min; posteriormente se sometió al mismo proceso de extracción por extrusión, con lo que se obtuvo el extracto metanólico.

La extracción Soxhlet se efectuó con 0.5 L de hexano, de acuerdo al procedimiento 936.15 (AOAC, 1990). La extracción duró cuatro ciclos de contacto entre el solvente y la semilla-endocarpio de *A. indica*; posteriormente se evitó la caída del solvente y se retiró el matraz con la solución; al final se evaporó el solvente para obtener el extracto hexánico.

Para la extracción acuosa, se humedeció 1.0 kg de semilla-endocarpio de *A. indica* en 1.76 L de agua por 24 h; la suspensión cruda se filtró con malla metálica de 2 mm Ø, seguida de papel filtro rápido Whatman 41® y se obtuvo el extracto acuoso.

El porcentaje en peso (*EO*) de la cantidad de extracto obtenido (*WE*; g) y la cantidad de semilla procesada (*WS*; g), se obtuvo con la siguiente ecuación, que calcula los gramos obtenidos de extracto por cada 100 g de semilla:

$$EO(\%) = \left(\frac{WE \cdot 100}{WS} \right) \quad (\text{Ecuación 3.1})$$

El *EO* de los procesos se evaluó mediante análisis de varianza (ANOVA) y separación

de medias con la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

3.2.2. Análisis del contenido de AZA

Se determinó la concentración de AZA en cada extracto para comparar la eficiencia de extracción. Además, para calcular la AZA extraída, se realizó un análisis preliminar del contenido de AZA en una muestra compuesta de 1.0 kg de semilla-endocarpio, de la misma cosecha destinada a las extracciones; para ello se trató la semilla con metanol y se utilizó el método HPLC (Schneider y Ermel, 1987), a través del sistema modular Perkin Elmer certificado ISO-9000. Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Alta Tecnología de Orizaba, Universidad Veracruzana (Orizaba, México). Las condiciones de corrida en cromatografía para cuantificar AZA fueron: columna 125 mm x 4 mm; tasa de flujo: F 2 mL min⁻¹; detector: UV-VIS; longitud de onda: λ 214 nm; volumen de muestra: 20 μ L; fase móvil: acetonitrilo, H₂O; tiempo de retención relativo tR : 2.504 min. Como estándar se utilizó AZA al 95 % (Sigma®), (C₃₅H₄₄O₁₆; peso molecular: 720.72 g mol⁻¹). Se determinó la concentración de AZA en tres muestras de cada uno de los extractos. La concentración de AZA fue medida en mg kg⁻¹. Para conocer el efecto del proceso de extracción se evaluó su relación, previa estandarización de la variable, la concentración de AZA (mg kg⁻¹) mediante ANOVA y separación de medias con la prueba de Tukey ($p < 0.05$) en el paquete estadístico Statistica® v 6.

Las concentraciones de AZA (mg kg⁻¹) tanto en la semilla-endocarpio (AZAS) como en los extractos (AZAE), sirvieron para calcular el porcentaje en peso de AZA extraída (p/p, AZAR) y presente en la cantidad de extracto (WE, g) por cada 100 g de semilla-endocarpio procesada (WS), según la Ecuación 3.2:

$$AZAR(\%) = \left(\frac{WE \cdot AZAE \cdot 100}{WS \cdot AZAS} \right) \quad (\text{Ecuación 3.2})$$

El porcentaje de AZA extraída (AZAR) en los procesos se evaluó mediante ANOVA y separación de medias con la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

3.2.3. Cría de *A. gossypii*

El pie de cría de *A. gossypii* se obtuvo de plantas de *I. coccinea* infestadas, procedentes de un vivero de la comunidad de Tolome, estado de Veracruz, México. El insecto fue identificado en su etapa de adulto alado por la Dra. Rebeca Peña Martínez, especialista de Aphididae de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN, México. Las plantas de *I. coccinea* se cultivaron en macetas de dos litros en una casa sombra libre de plaguicidas; se regaron periódicamente y se les agregó ácido fúlvico QF® para mantener su vigor. Se depositaron ejemplares no parasitados de *A. gossypii* en tres jaulas de 1.0 m³ con cubierta de malla antiáfidos con tres plantas de *I. coccinea*, las que se sustituyeron por plantas sin ningún síntoma visible de enfermedad, de deficiencia nutricional y libres de insectos.

3.2.4. Bioensayos de efectividad de extractos de nim sobre *A. gossypii*

Se evaluó el efecto insecticida de los extractos en hojas con pecíolo de *I. coccinea* previamente desinfectadas en una solución al 0.035 % de hipoclorito de sodio y posteriormente enjuagadas con agua destilada. El pecíolo de la hoja se colocó en un tubo de ensaye con 10 mL de solución nutritiva tipo Murashige y Skoog (Sigma® MS5524). La boca del tubo se selló con Parafilm® para evitar la evaporación de la solución nutritiva. La evaluación se realizó a 24.8 ± 0.7 °C, HR de 70 ± 6 % y fotoperiodo de 12: 12 h luz: oscuridad.

Los extractos se aplicaron con micropipeta en 5 cm² de la hoja de *I. coccinea*, en dosis equivalentes a 0.01, 0.02 y 0.2 mg de AZA. Con el extracto metanólico fue necesario utilizar dietilen glicol como excipiente, en una relación 1:4. Transcurrida una hora de la aplicación del extracto, se colocaron 10 ninfas de tercer ínstar de *A. gossypii* sobre la hoja tratada en una caja-clip (Villanueva-Jiménez *et al.* 1992). Este proceso se repitió

cinco veces para cada dosis en los cuatro extractos. Como testigo se utilizaron hojas tratadas con agua destilada. La mortalidad se midió en el microscopio estereoscópico cuando el áfido perdió la habilidad para moverse a las 24, 48 y 72 h de exposición al insecticida. El experimento presentó un diseño completamente al azar. El análisis de varianza se realizó con el procedimiento GLM de SAS (SAS Institute, 1999) para tres factores: tipo de extracto (acuoso, oleoso, metanólico y hexánico), dosis de AZA (0.0, 0.01, 0.02 y 0.2 mg) y tiempo de observación (24, 48 y 72 h). Las comparaciones simples se realizaron mediante pruebas de contrastes ($p < 0.05$) con la opción Slice de SAS. La fitotoxicidad se evaluó visualmente a las 72 h, considerando el porcentaje de área dañada por el efecto del extracto.

3.3. Resultados y discusión

3.3.1. Contenido de azadiractina en la semilla

La semilla-endocarpio utilizada en este experimento presentó una concentración promedio de 1820 mg kg^{-1} de AZA, valor que está dentro del rango de 430 a 3830 mg kg^{-1} de AZA, obtenidos en semilla de la región Andhra Pradesh en la India (Pattnaik *et al.*, 2006), incluso mayor a la encontrada en doce estados del mismo país, que fue de 200 a 1600 mg kg^{-1} (Kaushik *et al.*, 2007); sin embargo, fue menor a la de algunas zonas de Tailandia (3430 mg kg^{-1}), lugares donde la semilla se emplea para su proceso industrial (Sanguanpong, 2003). De acuerdo con lo anterior, la concentración de AZA de la semilla proveniente del lote de Veracruz es apta para su uso industrial.

3.3.2. Extractos

Al comparar los extractos, la concentración de AZA fue significativamente diferente ($F = 128.5$, $gl_1 = 3$, $gl_2 = 8$, $p < 0.0001$) entre ellos. La mayor concentración promedio de

AZA se obtuvo con el extracto metanólico (2478 mg kg^{-1}), significativamente diferente del resto de los extractos (Figura 3.1). Los valores de concentración de AZA en los extractos hexánico, oleoso y acuoso no presentaron diferencias significativas entre ellos.

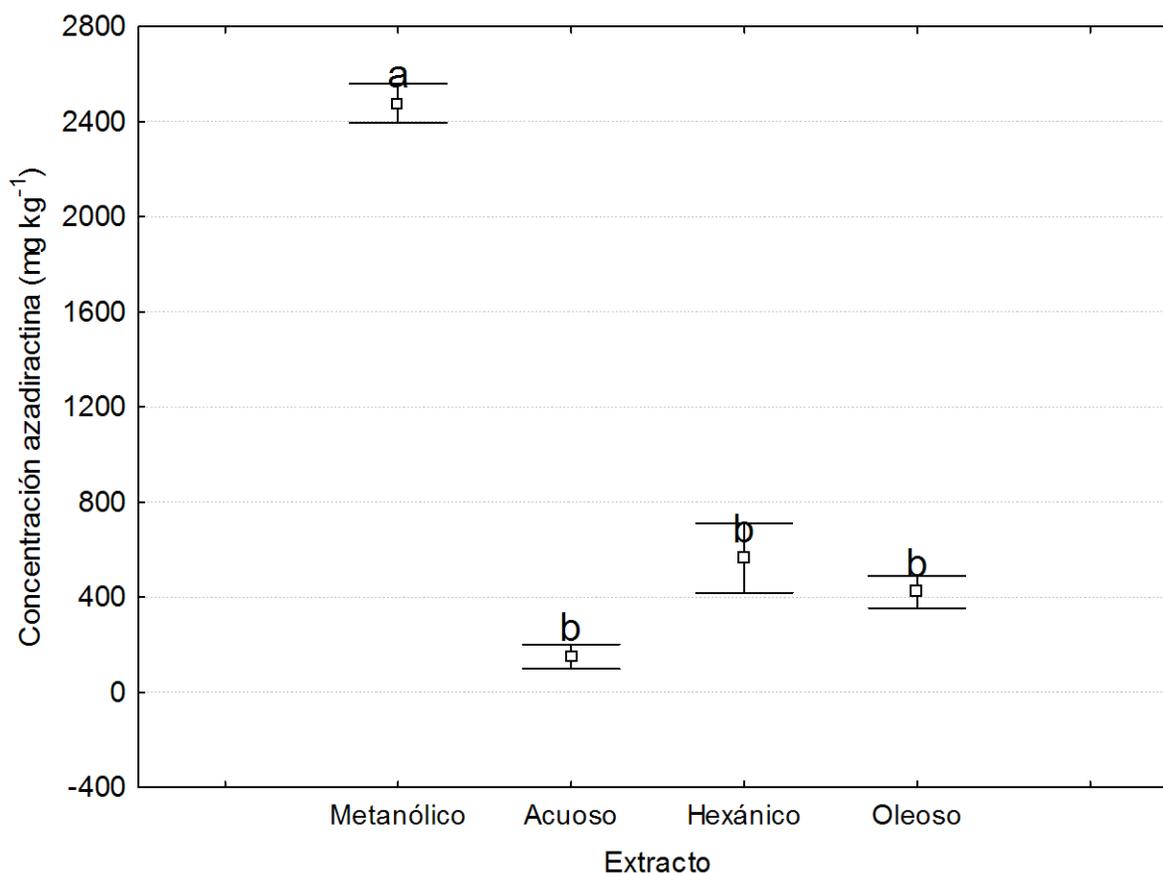


Figura 3. 1. Concentración promedio de AZA en los extractos metanólico, acuoso, hexánico y oleoso (□ Media; ─ E.E). Valores con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$).

Aún cuando el proceso de extrusión en frío con metanol produjo significativamente menor cantidad de extracto a la obtenida por Soxhlet-hexano o la extracción acuosa, la cantidad de AZA extraída fue significativamente tan alta como la de ambos extractos (Cuadro 3.1), aunado a que fue el único de los procesos que permitió lograr una concentración importante de AZA en el extracto, favoreciendo su aplicación como bioinsecticida. Este proceso promovió la extracción de la AZA contenida en la semilla-

endocarpio gracias a la interacción de los grupos hidroxilos, tanto de la estructura de la AZA como la del metanol, generadores de la solubilidad de la molécula de AZA en dicho solvente (Schroeder y Nakanishi, 1987). El equipo piloto Colegio de Postgraduados logró concentrar 1.4 veces la AZA contenida en la semilla con endocarpio, el doble al desempeño obtenido con el equipo piloto desarrollado en Tailandia para extracción metanólica (RIT-pilot) que fue de 0.7 veces (Sanguanpong, 2003). En la mayoría de los casos, los extractos comerciales de nim contienen 0.3 % de azadiractina (Ramesh y Balasubramanian, 1999). Si bien la extracción acuosa produjo baja concentración de AZA, produjo más extracto (EO), por ello esta técnica rústica es utilizada por los pequeños productores para el control de insectos.

Cuadro 3. 1. Porcentaje promedio de extracto obtenido ($EO \pm E.E.$) y azadiractina extraída ($AZAR \pm E.E.$) por extrusión simple, extrusión en frío con metanol, extracción Soxhlet con hexano y acuosa.

Proceso de extracción	EO (% g g ⁻¹)	AZAR (% g g ⁻¹)
Extrusión simple	0.77 ± 0.49 c	0.20 ± 0.17 b
Extrusión en frío con metanol	3.20 ± 0.75 c	4.35 ± 0.99 a
Acuosa	83.45 ± 6.67a	6.66 ± 2.01 a
Soxhlet-hexano	24.06 ± 1.79 b	7.39 ± 1.82 a

Valores con distinta letra en la columna son estadísticamente diferentes según prueba de Tukey ($p < 0.01$).

3.3.3. Efecto insecticida

La mortalidad de *A. gossypii* en el bioensayo no fue afectada significativamente por la interacción extracto x dosis x tiempo ($F = 0.76$, $gl_1 = 18$, $gl_2 = 192$, $p = 0.7449$) ni la interacción extracto x tiempo ($F = 2.13$, $gl_1 = 6$, $gl_2 = 192$, $p = 0.0513$). Las interacciones dosis x tiempo ($F = 5.03$, $gl_1 = 6$, $gl_2 = 192$, $p < 0.0001$) y dosis x extracto ($F = 6.24$, $gl_1 = 9$, $gl_2 = 192$, $p < 0.0001$) fueron significativas. En cuanto a los efectos principales, se observó que el tiempo de observación ($F = 77.05$, $gl_1 = 2$, $gl_2 = 192$, $p < 0.0001$), el tipo de extracto ($F = 34.51$, $gl_1 = 3$, $gl_2 = 192$, $p < 0.0001$) y la dosis de AZA

($F = 78.35$, $gl_1 = 3$, $gl_2 = 192$, $p < 0.0001$) tuvieron efectos significativos en la mortalidad. Sin embargo, debido a las interacciones significativas encontradas, fue necesario analizar los efectos simples para cada interacción.

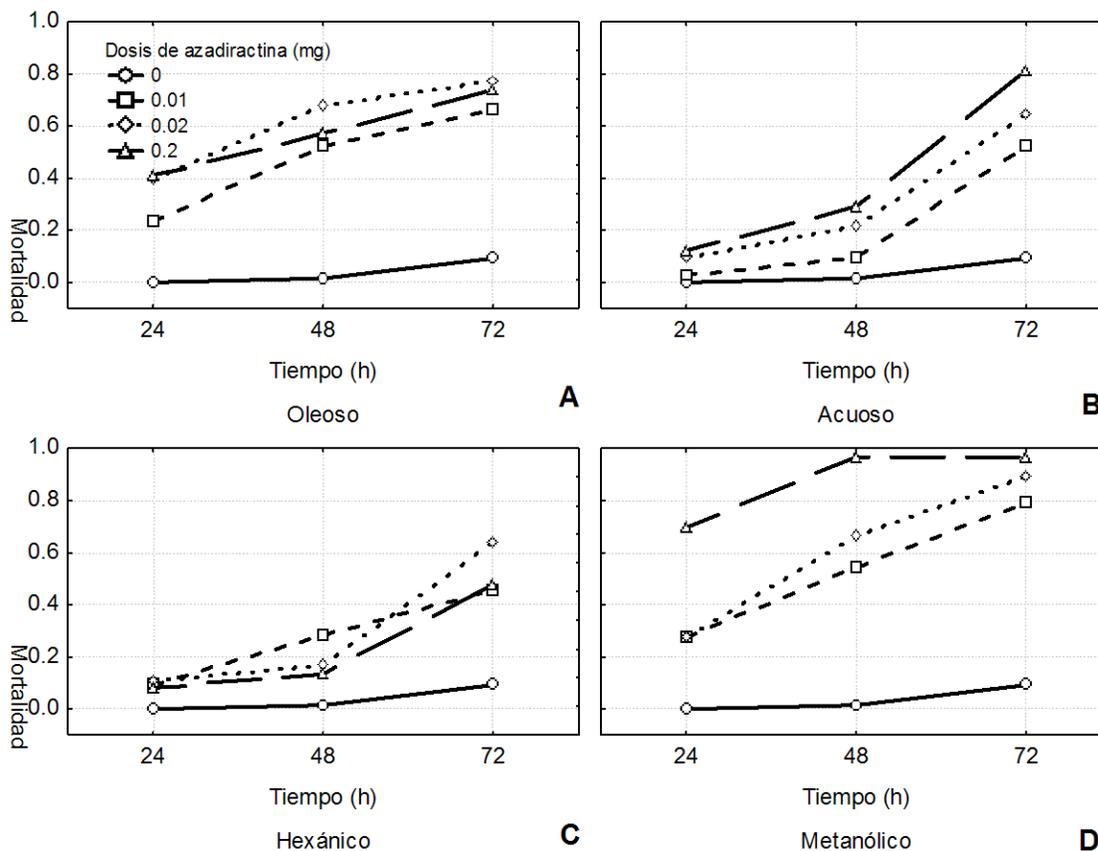


Figura 3. 2. Proporción promedio de la mortalidad de *Aphis gossypii* Glover expuesta a diferentes dosis de azadiractina A, tiempo de observación y diferentes extractos (A: oleoso, B: acuoso, C: hexánico y D: metanólico) de la semilla- endocarpio de *A. indica*.

La interacción dosis x tiempo se explica por la escasa mortalidad producida por la dosis de 0.0 mg de AZA (testigo) en los tres tiempos de observación, mientras que en cada una de las otras dosis, la mortalidad se incrementó con el tiempo (Figura 3.2). La perturbación en el desarrollo del pulgón del melón por la AZA se observó en los periodos de tiempo prolongados, lo que conllevó un incremento en la mortalidad. Los valores más altos de mortalidad promedio, 74 y 75 %, se obtuvieron a las 72 h, con las dosis de 0.02 y 0.2 mg de AZA, respectivamente. Dado que el efecto de una sustancia

como la AZA tiene efectos antialimentario en dos formas, primario cuando se frustra la primera ingesta y secundario cuando hay rechazo una disminución de ingestas subsecuentes. Estos resultados sugieren que no fue importante el efecto antialimentario primario, pues especies fitófagas como áfidos son menos susceptibles a dicho efecto. Sin embargo, el efecto tardío en la mortalidad del áfido se debió a un efecto antialimentario secundario. Este resultado posiblemente se deba a los fragmentos decalina y dihidrofurán acetal de la azadiractina (Blaney *et. al.*, 1994) que afectan a la alimentación secundaria del áfido, con disminución de la reingesta (Koul y Wahab, 2004). Así, el efecto antialimentario secundario se manifiesta junto con efectos fisiológicos después de la ingestión. Por lo tanto, la cantidad del compuesto que el áfido debe consumir tiene que ser suficiente para producir un efecto fisiológico adverso (Koul y Wahab, 2004), que se manifiesta como una reducción del consumo (Nisbet *et al.*, 1993). Por otra parte, se sabe que la dosis de AZA influye en la mortalidad por el efecto antialimentario, así como en el efecto en el desarrollo del áfido; esto indica que hay una relación directa en la cantidad de AZA con la mortalidad de los insectos.

Cuadro 3. 2. Porcentaje de la mortalidad promedio (\pm E.E.) de *Aphis gossypii* Glover a diferentes dosis de azadiractina y cuatro tipos de extractos de semilla-endocarpio de *Azadirachta indica* A. Juss.

Tipo de Extracto	Dosis azadiractina (mg)			
	0	0.01	0.02	0.2
Oleoso	4 \pm 3 a	48 \pm 9 a	61 \pm 9 a	57 \pm 7 b
Acuoso	4 \pm 3 a	22 \pm 6 b	32 \pm 7 b	41 \pm 8 c
Hexánico	4 \pm 3 a	28 \pm 6 b	31 \pm 8 b	23 \pm 6 d
Metanólico	4 \pm 3 a	54 \pm 9 a	61 \pm 9 a	88 \pm 5 a
$F_{9,192}; p$	0; $p = 1.0$	9.8; $p < 0.0001$	12.4; $p < 0.0001$	31; $p < 0.0001$

Valores con la misma letra en la columna no son significativamente diferentes según prueba de Tukey ($p < 0.05$).

La mortalidad promedio de *A. gossypii* a cuatro dosis de AZA y cuatro tipos de extractos se presenta en el Cuadro 3.2. La interacción dosis x extracto se derivó en una respuesta desigual en la mortalidad; por una parte, en los extractos metanólico y

acuoso la mortalidad se incrementó con la dosis, sin embargo, para los extractos hexánico y oleoso, su efecto decayó en la mayor dosis.

En el caso del extracto hexánico se alcanzó una mortalidad máxima promedio de 31 % a la dosis intermedia (0.02 mg de AZA) y de 61 % para el extracto oleoso. A la dosis más alta (0.2 mg de AZA) todos los extractos mostraron valores de mortalidad significativamente diferentes, con 88 % para el metanólico, seguido por el oleoso, acuoso y hexánico. A las dosis de 0.01 y 0.02 mg de AZA se observaron dos grupos, los que ocasionaron alta mortalidad (oleoso y metanólico) y los de baja mortalidad (acuoso y hexánico).

La mortalidad ocasionada por el extracto oleoso no se puede considerar satisfactoria para plaguicidas comerciales; quizás por ello ha sido reportado como inactivo en el pulgón del melón por el NIIR Board (2004), a pesar de tener una proporción importante de azadiractina. En contraparte, este estudio reveló que el extracto oleoso tuvo una proporción pequeña pero importante de AZA, que le permitiría considerarse como un material bioinsecticida, si a éste se le adiciona más azadiractina (Chang *et al.*, 1997). Además, en este estudio se demostró que estos procesos de extracción que inician con el exprimido de la semilla (Sanguanpong, 2003; Lidert *et al.*, 1995), arrastran azadiractina que no se recupera posteriormente. El proceso de extrusión simple, además de azadiractina, incluye componentes de diversas formas insecticidas que, según Sclar (1994), alteran la longevidad y deterioran la salud del áfido. Con este proceso, el extracto oleoso obtuvo 422 mg kg⁻¹ de AZA; una mayor concentración que la obtenida por extractos oleosos derivados de procesos por bipartición vía solvente, como el aceite comercial de Neem TB 184® (lote: 3027) que resultó con sólo 160 mg kg⁻¹ de AZA, evaluado en este estudio.

No obstante, el extracto oleoso fue el único que produjo efecto fitotóxico en la hoja de *I. coccinea*, con lesiones en el área tratada (Figura 3.3); tal hecho representa una limitante para su empleo como bioinsecticida. Los demás extractos no presentaron efecto fitotóxico alguno. Por otra parte, el extracto acuoso produce un efecto similar al

oleoso, pero tiene la ventaja de que es producido fácilmente por una técnica rústica.

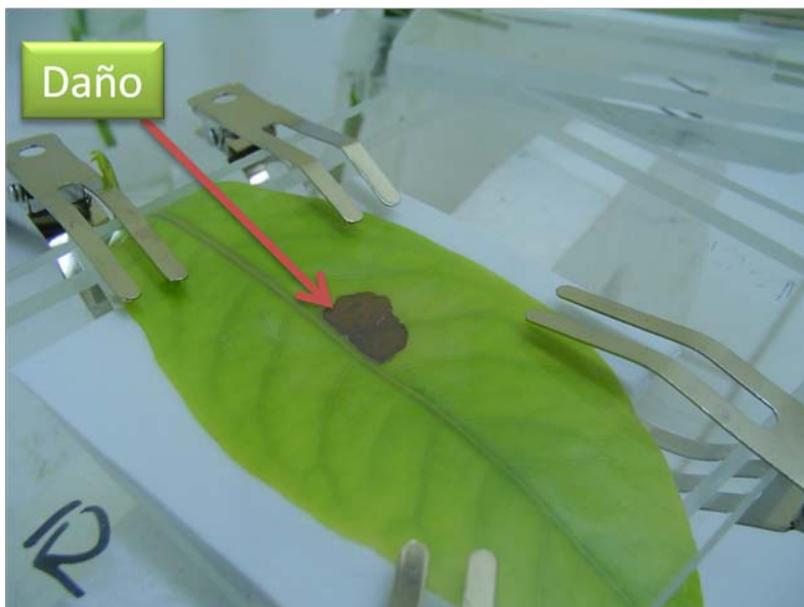


Figura 3. 3. Lesión foliar o en *Ixora coccinea* L. por el extracto oleoso de *Azadirachta indica* A. Juss.

La mortalidad más alta la presentó el extracto metanólico, con un promedio en el tiempo de 88 % en la dosis mayor de AZA (0.2 mg), la cual fue significativamente diferente a los demás extractos; inclusive en la Figura 3.2D se aprecia que la mortalidad alcanzada es cercana a 96.6 % desde las 48 h y resultó significativamente diferente del resto de los extractos ($F = 41.5$, $gl_1 = 1$, $gl_2 = 192$, $p < 0.0001$), lo mismo que a 72 h ($F = 8.6$, $gl_1 = 1$, $gl_2 = 192$, $p = 0.004$). Esta mayor mortalidad del extracto metanólico puede atribuirse al alto contenido de AZA, pues se infiere que este proceso no segregó otros triterpenoides con la actividad insecticida contenidos en la semilla-endocarpio de *A. indica*, como describieron Singh *et al.* (1988). De acuerdo con Govindachari *et al.* (1999), estos triterpenoides superan en cantidad a los encontrados en el extracto acuoso. Además, Kaushik y Vir (2000) reportaron que el extracto metanólico contiene componentes oleosos (Kovo, 2006), como el ácido palmítico, esteárico, oleico y linoleico, que pudieron haber fungido como agentes penetrantes útiles en el desempeño insecticida (Stark y Walter, 1995). Conjuntamente, el metanol

logra disolver activos importantes de la semilla-endocarpio, como AZA (Kulkarni *et al.*, 1999), nimbina, salanina, nimbidina y otros limonoides (Bahena-Juárez y García-Chávez, 2007).

Aún cuando *A. gossypii* fue expuesto a las mismas dosis de AZA, se encontraron diferencias significativas en la mortalidad entre extractos; este fenómeno ya fue observado por Gauvin *et al.* (2003) y Kumar *et al.* (2003), quienes tampoco encontraron una relación proporcional entre la cantidad de AZA y el efecto insecticida. Estas diferencias en la mortalidad en *A. gossypii* podrían deberse a otros compuestos bioactivos de la semilla-endocarpio, como la salanina, la nimbina (Mitchell *et al.*, 1997) y el azadiractol (Malathi *et al.*, 2002), que pueden modificar el efecto aficida. Por otra parte, el efecto insecticida de la azadiractina también puede sinergizarse con los ácidos grasos de la semilla (Kurose y Yatagai, 2005) en el control de *A. gossypii*. El conocimiento de que otros compuestos adicionales a la azadiractina contribuyen a los efectos insecticidas ha redireccionado la investigación e industrialización de azadiractina, que tiende al aprovechamiento integral del extracto de *A. indica* con la inclusión de la salanina, nimbina y otros compuestos de la fracción oleosa de la semilla. Por lo anterior, se comparte la opinión de Gauvin *et al.* (2003), quienes enfatizan la importancia de evaluar la actividad insecticida de cada extracto de nim considerado como un complejo de ingredientes activos, lo que supera la visión de considerar únicamente al contenido de azadiractina.

En general, el efecto insecticida de los extractos oleoso, acuoso y metanólico sobre *A. gossypii*, concuerda con resultados de bioensayos reportados por otros autores (NIIR Board, 2004; Dos Santos *et al.*, 2004); también coinciden con el estudio de Nathan *et al.* (2007) sobre el efecto insecticida inicial y residual de los extractos acuoso y hexánico en *Nilaparvata lugens* Stål; quienes reportaron que la limitada mortalidad de las ninfa de tercer y cuarto estadio se debió al bajo contenido de AZA en los extractos. En este estudio, a pesar de que los extractos oleoso y acuoso causaron mortalidad en *A. gossypii*, ésta fue moderada y su baja concentración de AZA podría limitar su utilización industrial. En cambio, el proceso de extrusión en frío con metanol produce un

extracto con mayor contenido de AZA, mayor efecto insecticida y no causa fitotoxicidad en la planta.

3.4. Conclusiones

El proceso de extracción de azadiractina contenida en la semilla-endocarpio de *A. indica* mediante un proceso de extrusión en frío con metanol, concentró más AZA que el resto de los procesos; además produjo el mayor efecto insecticida en *Aphis gossypii* Glover sin causar fitotoxicidad en *I. coccinea*, lo que sugiere que este método extrae AZA junto con otros compuestos bioactivos.

La extracción Soxhlet con hexano permitió la separación de los componentes grasos de la semilla de nim con cierto contenido de AZA; sin embargo, la actividad insecticida del extracto fue menor.

Los mayores valores de mortalidad en *A. gossypii* fueron registrados con las dosis altas de AZA a las 72 h. La máxima mortalidad resultó a las 72 h con 0.2 mg de AZA del extracto metanólico. Sólo el extracto oleoso causó efecto fitotóxico en *I. coccinea*. Por lo tanto, la extrusión con metanol tiene potencial como producto insecticida.

3.5. Literatura citada

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. 963.15-Fat in cacao products. *In: Soxhlet Extraction Method Final Action 1973*. Helrich, K. (ed.). Office International du Cacao et du Chocolat-AOAC Method. Official Methods of Analysis 2. pp: 770-771.

Bahena-Juárez, F. y A. García-Chávez. 2007. Compuestos activos mayoritarios de chilcuage y nim, dos alternativas para el manejo de plagas en una agricultura sostenible. *In: Agric. Sostenible-Sustancias Naturales contra Plagas 3*. López Olguín, J. F., A. Aragón G., C. Rodríguez H. y M. Vázquez G. (eds.). Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México. pp: 24-31.

- Blaney, W. M., M. S. J. Simmonds, S. V. Ley, J. C. Anderson, S. C. Smith y A. Wood. 1994. Effect of azadirachtin-derived decalin (perhydronaphthalene) and dihydrofuranacetal(furo[2,3-b]pyran) fragments on the feeding-behavior of *Spodoptera littoralis*. Pestic. Sci. 40(2): 169-173.
- Chang, P. F. Z., J. F. Walter, J. R. Harris. 1997. Synergistic use of azadirachtin and pyrethrum. US Patent 5679662.
- Dos Santos, T. M., N. P. Costa, A. L. Torres y A. L. B. Junior. 2004. Effect of neem extract on the cotton aphid. Pesq. Agropec. Bras. 39(11): 1071-1076.
- Gandhi, P. I., K. Gunasekaran y T. Sa. 2006. Neem oil as a potential seed dresser for managing homopterous sucking pests of Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). J. Pestic. Sci. 79(2): 103-111.
- García, E. 1998. Climas (clasificación Koppen, modificado por García) escala 1:1000000 México. [En línea]. Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/layouts/clima1mgw.gif>. (Consultado el 23 de julio de 2009).
- Gauvin, M. J., A. Bélanger, R. Nébié, et G. Boivin. 2003. *Azadirachta indica* A. Juss.: l'azadirachtine est-elle le seul ingrédient actif? Phytoprotection 84(2): 115-119.
- Govindachari, T. R., G. Gopalakrishnan y G. Suresh. 1999. Triterpenoidal constituents of an aqueous extract from neem kernels. Fitoterapia 70(6): 558-560.
- Hernández-Castro, E., V. Utrera-Landa, J. A. Villanueva-Jiménez, D. A. Rodríguez-Lagunes y M. M. Ojeda-Ramírez. 2005. Extractos de neem en el comportamiento de *Aphis nerii* Fonscolombe y la transmisión del virus de la mancha anular del papayo. J. Agr. U. Puerto Rico 89(1-2): 75-84.
- Imenes, S. D. L., E. C. Bergmann, A. L. B. G. Peronti, S. Ide y J. E. R. Martins. 2002. Aphids (Hemiptera: Aphididae) and their parasitoids (Hymenoptera) on *Ixora* spp. (Rubiaceae) in the States of Bahia and São Paulo, Brazil -formal records of interactions. Arq. Inst. Biol. (São Paulo) 69(4): 55-64.
- Immaraju, J. A. 1998. The commercial use of azadirachtin and its integration into viable pest control programmes. Pestic. Sci. 54(3): 285-289.
- Kaushik, N. y S. Vir. 2000. Variations in fatty acid composition of neem seeds collected from the Rajasthan state of India. Biochem. Soc. Trans. 28(6): 880-882.
- Kaushik, N., B. G. Singh, U. K. Tomar, S. N. Naik, S. Vir, S. S. Bisla, K. K. Sharma, S. K. Banerjee y P. Thakkar. 2007. Regional and habitat variability in azadirachtin content of Indian neem (*Azadirachta indica* A. Juss.). Curr. Sci. India 92(10): 1400-1406.

- Khalequzzaman, M. y J. Nahar. 2008. Relative toxicity of some insecticides and azadirachtin against four crop infesting aphid species. Univ. J. Zool. Rajshahi Univ. 27: 31-34.
- Koul, O. 1999. Insect growth regulating and antifeedant effects of neem extracts and azadirachtin on two aphid species of ornamentals plants. J. Biosci. 24(1): 85-90.
- Koul, O. y S. Wahab. 2004. Neem: Today and in the New Millennium. Kluwer Academic Publishers (Ed.). Dordrecht, The Netherlands. 276 p.
- Kovo, A. S. 2006. Application of full 4² factorial design for the development and characterization of insecticidal soap from neem oil. Leonardo Electronic J. Pract. Technol. 5(8): 29-40.
- Kulkarni, A. R., K. S. Soppimath y T. M. Aminabhavi. 1999. Solubility study of *Azadirachta indica* A. Juss. (neem) seed oil in the presence of co solvent/nonionic surfactant at (298.15, 303.15, 308.15, and 313.15) K. J. Chem. Eng. Data 44(4): 836-838.
- Kumar, A. R. V., H. C. Jayadevi, H. J. Ashoka y K. Chandrashekhara. 2003. Azadirachtin use efficiency in commercial neem formulations. Curr. Sci. India 84(11): 1459-1464.
- Kurose, K. y M. Yatagai. 2005. Components of the essential oils of *Azadirachta indica* A. Juss., *Azadirachta siamensis* Velton, and *Azadirachta excelsa* (Jack) Jacobs and their comparison. J. Wood Sci. 51(2): 185-188.
- Lidert, Z., C. G. Overberger y J. S. Clovis. 1995. Preparation of high purity neem seed extracts. US Patent 5420318.
- Lowery, D. T. y M. B. Isman. 1996. Inhibition of aphid (Homoptera: Aphididae) reproduction by neem seed oil and azadirachtin. J. Econ. Entomol. 89(3): 602-607.
- Luo, X., Y. Ma, S. Wu y D. Wu. 1999. Two novel azadirachtin derivatives from *Azadirachta indica* A. Juss. J. Nat. Prod. 62(7): 1022-1024.
- Malathi, R., S. S. Rajan, G. Gopalakrishnan y G. Suresh. 2002. Azadirachtol, a tetranortriterpenoid from neem kernels. Acta Crystallog. C 58(12): 708-710.
- Mitchell, M. J., S. L. Smith, S. Johnson y E. D. Morgan. 1997. Effects of the neem tree compounds azadirachtin, salannin, nimbin, and 6-desacetylnimbin on ecdysone 20-monooxygenase activity. Arch. Insect Biochem. Physiol. 35(1-2): 199-209.
- Nathan, S. S., M. Y. Choi, C. H. Paik, H. Y. Seo, J. D. Kim y S. M. Kang. 2007. The toxic effects of neem extract and azadirachtin on the brown planthopper,

- Nilaparvata lugens* (Stal) (BPH) (Homoptera: Delphacidae). Chemosphere 67: 80-88.
- NIIR Board. 2004. Handbook on Neem and Allied Products. National Institute of Industrial Research (ed.). Asia Pacific Business Press. New Delhi, India. 478 p.
- Nisbet, A. J., J. A. T. Woodford y R. H. C. Strang. 1994. The effects of azadirachtin-treated diets on the feeding behaviour and fecundity of the peach-potato aphid, *Myzus persicae* Sulzer. Entomol. Exp. Appl. 71(1): 65-72.
- Nisbet, A. J., J. A. T. Woodford, R. H. C. Strang y J. D. Connolly. 1993. Systemic antifeedant effects of azadirachtin on the peach-potato aphid *Myzus persicae* Sulzer. Entomol. Exp. Appl. 68(1): 87-98.
- Pattnaik, S. J., N. D. R. Roa y P. Chary. 2006. Ecomorphometric markers reflect variations in Azadirachtin-A content of *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) in selected regions of Andhra Pradesh, India. Curr. Sci. India 91(5): 628-636.
- Puri, H. S. 1999. Processing of raw material. In: The Divine Tree *Azadirachta indica* A. Juss. Hardman, R. (ed.). Harwood Academic Publishers (Ed.). Amsterdam, the Netherlands. 182 p.
- Ramesh A. y M. Balasubramanian. 1999. Rapid preconcentration method for the determination of azadirachtin-A and -B, nimbin and salannin in neem oil samples by using graphitized carbon solid phase extraction. Analyst 124: 19-21.
- Ramos B., C., V. González H., M. Soto E., E. M. Engleman y D. A. Rodríguez L. 2004. Variación en contenido de azadiractina en frutos de margosa durante su desarrollo. Rev. Fitotecnia Mex. 27(1): 81-85.
- Sanguanpong, U. 2003. A case study of RIT-pilot plant for Thai neem-based extract processing: from research in BRD to small-scale industrial production in Thailand. J. Agric. Rural Dev. Trop. Subtrop. 80: 168-179.
- SAS Institute Inc. 1999. The GLM procedure. Chapter 30. In: SAS OnlineDoc™ Version 8. SAS Institute (Ed.). Cary, North Carolina. 2042 p.
- Schmutterer, H. 1988. Potential of azadirachtin containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. J. Insect Physiol. 34(7): 713-719.
- Schneider, B. H. y K. Ermel. 1987. Quantitative determination of azadirachtin from neem seeds using high performance liquid chromatography. In: Proceedings of the 3rd International Neem Conference. Schmutterer H. y K. R. S. Ascher (eds.). 10-15 July. Nairobi, Kenya. pp: 161-170.

- Schroeder, R. D. y K. Nakanishi. 1987. A simplified isolation procedure for azadirachtin. *J. Nat. Prod.* 50(2): 241-244.
- Sclar, D. C. 1994. Neem: mode of action of compounds present in extracts and formulations of *Azadirachta indica* A. Juss. seeds and their efficacy to pests of ornamental plants and to non-target species. Colorado State University. [En línea]. Disponible en: http://www.colostate.edu/Depts/Entomology/courses/en570/papers_1994/sclar.htm l. (Consultado el 17 de mayo de 2008).
- Sharma, V., S. Walia, J. Kumar, M. G. Nair y B. S. Parmar. 2003. An efficient method for the purification and characterization of nematocidal azadirachtins A, B y H, using MPLC and ESIMS. *J. Agric. Food Chem.* 51(14): 3966-3972.
- Siddiqui, B. S., M. Rasheed, F. Ilyas, T. Gulzar, R. M. Tariq y S. N. H. Naqvi. 2004. Analysis of insecticidal *Azadirachta indica* A. Juss. fractions. *Z. Naturforsch C* 59(1-2): 104-112.
- Sidhu, O. P., V. Kumar y H. M. Behl. 2003. Variability in neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) with respect to azadirachtin content. *J. Agric. Food Chem.* 51(4): 910-915.
- Singh, R. P., C. Devakumar y S. Dhingra. 1988. Activity of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) seed kernel extracts against the mustard aphid *Lipaphis erysimi* Kaltentbach. *Phytoparasitica* 16(3): 225-230.
- Stark, J. D. y J. F. Walter. 1995. Neem oil and neem oil components affect the efficacy of commercial neem insecticides. *J. Agric. Food Chem.* 43(2): 507-512.
- Villanueva-Jiménez, J. A., H. Sánchez, A. Lagunes, F. Romero y R. Rodríguez. 1992. DL50 y proporción de resistencia a insecticidas en *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphidae), en dos zonas chileras de México. *Agrociencia Serie Prot. Veg.* 3(1): 69-77.
- Walter, J. F. 1990. Method to prepare an improved store stable neem seed extract. US patent 4946681.

CAPÍTULO IV

USO COMERCIAL DE AZADIRACTINA Y SU INTEGRACIÓN A LOS AGROECOSISTEMAS

Resumen

Se desconoce si agricultores de temporal en doce municipios del centro de Veracruz tienen interés en el cultivo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.); tampoco se sabe la percepción de los principales agentes en la producción y uso de bioinsecticidas con azadiractina. Este estudio buscó conocer el interés de los agentes y el potencial de la zona en el cultivo de nim. Se construyó un índice de viabilidad para evaluar el potencial e interés en los agricultores de temporal, además de la agroindustria, la autoridad sanitaria, la comunidad científica y potenciales usuarios (productores de plantas ornamentales). Se analizó la integración de la azadiractina en los agroecosistemas que lo producen y lo usan. El potencial y la viabilidad de este cultivo se estimaron mediante análisis multicriterio de variables georreferenciadas de suelo, clima, núcleos agrarios, censo de población, integración territorial y otras variables sociales. El interés y potencial de los agentes se estimó mediante entrevistas. Debido a que el mango es el único cultivo perenne primario, existe oportunidad para cultivos secundarios como el nim, ya que la mayoría de productores entrevistados se interesaron en diversificar su producción. La superficie potencial de prueba es de 59,311 ha. Los productores fueron entusiastas y con potencial, pero carecen de formas asociativas y habilidades para relacionarse con los demás agentes, que al igual que la agroindustria, constituyó un agente entusiasta con potencial para el autoabasto de azadiractina. Los productores de plantas ornamentales se interesaron en sustituir otros plaguicidas con bioinsecticidas de azadiractina. Finalmente, la integración de azadiractina en los agroecosistemas sería posible mediante los entusiastas con potencial: a) diez municipios del centro de Veracruz; b) empresas de agroquímicos CERTIS, PHC México, Química Lucava, Anajalsa Agroquímicos y Ultraquímica Agrícola; c) 49 % de productores de plantas ornamentales; d) la autoridad sanitaria y e) seis científicos entrevistados.

Palabras clave: agricultor de temporal, *Azadirachta indica*, centro de Veracruz.

COMMERCIAL USE OF AZADIRACHTIN AND ITS INTEGRATION INTO AGROECOSYSTEMS

Abstract

It is unknown whether rainfed farmers in twelve municipalities of Central Veracruz are interested in neem as a crop; neither is known about the perception of the main agents involved in the production chain and the use of azadirachtin-based bioinsecticides. This study was focused on knowing the interest and potential of this area in the neem as a commodity. A viability index was built to assess the potential and interest of rain farmer, the agroindustry, plant protection authority, scientific community and potential users (ornamental plants growers). The integration of azadirachtin into agroecosystems for production and use was analyzed. The potential and viability of this crop was estimated by analysis of georeferenced variables of soil, climate, farming settlements, population census, territorial integration and other social variables. The interest and potential of the agents was estimated through interviews. Because mango is the only primary perennial crop, opportunity for secondary crops like neem was possible, based on the interest of many growers in diversifying their production. The potential trial area was 59,311 ha. Growers were enthusiasts and had potential, but they lack associative forms and abilities to relate to other agents. In the same manner, agroindustry was considered an enthusiastic agent with potential as self-provider of azadirachtin. Producers of ornamental plants were interested in replacing regular pesticides with bioinsecticides based on azadirachtin. Finally, integration of azadirachtin in agroecosystems would be possible with the participation of the enthusiastic agents with potential: a) ten municipalities of Central Veracruz, b) the agrochemical companies: CERTIS, PHC México, Química Lucava, Anajalsa Agroquímicos and Ultraquímica Agrícola, c) 49 % of ornamental plants producers; d) the plant protection authority, and e) six scientists interviewed.

Key words: rainfed farmer, *Azadirachta indica*, Central Veracruz

4.1. Introducción

Con casi tres décadas de investigación científica sobre el árbol de nim, el Colegio de Postgraduados ha logrado divulgar su utilidad y cultivo en el centro de Veracruz, a través de visitas que productores, estudiantes y catedráticos realizan a su cultivo, así como por folletos de divulgación y publicación de artículos. Sin embargo, aún no se sabe si los productores tienen interés y potencial en cultivar esta especie. Además es necesario estudiar el uso comercial de azadiractina, para lo cual es importante identificar a los agentes que interactúan en su producción, comercialización y uso.

En este caso, se consideró necesario delimitar y abstraer los elementos involucrados en las actividades productivas, de transformación, de investigación, de regulación legal y de uso de la azadiractina.

Los productores de nim son un eslabón importante pues proporcionan la materia prima para la formación de esta cadena socioeconómica, que comenzaría con la producción de la semilla de nim por dichos agricultores del centro de Veracruz. Los productores que se encuentran en la zona de estudio seleccionada serán el parámetro para estimar el potencial de producción del cultivo de nim.

Otro eslabón es el procesamiento de la semilla de nim por la agroindustria establecida en México, ya que la transformarían en productos bioinsecticidas en lugar de importar azadiractina como materia prima.

Es importante considerar que la autoridad sanitaria es un agente que regula esta relación económica y establece el marco legal sanitario de los bioinsecticidas. Los usuarios de bioinsecticidas de AZA pueden ser los productores de plantas ornamentales tropicales del centro de Veracruz. Éstos conforman el último agente con participación directa que usaría este bioinsecticida de AZA. Se seleccionaron productores de plantas ornamentales debido a que este sistema producto demanda menos requerimientos sanitarios, lo que aceleraría su ingreso al mercado, minimizando costos de desarrollo.

Finalmente, los investigadores que han realizado estudios sobre la azadiractina como bioinsecticida podrían incorporar su trabajo científico y tecnológico, como un conocimiento previo del bioactivo en México. Otros elementos como los distribuidores de plaguicidas, fueron excluidos de este estudio, debido a que se consideró que no tienen un papel tan activo en el proceso de desarrollo de estos bioplaguicidas.

El objetivo general fue analizar la viabilidad del uso comercial de azadiractina y su integración a los agroecosistemas en la zona centro de Veracruz. Esto incluyó la determinación del potencial e interés de diferentes agentes involucrados en la producción, transformación y uso de la azadiractina como bioinsecticida; es decir, los productores agrícolas de temporal del centro de Veracruz, México, la agroindustria establecida de azadiractina, los productores de plantas ornamentales del trópico veracruzano, así como la autoridad sanitaria y la comunidad científica en México interesada en el estudio de la azadiractina.

4.2. Marco conceptual

El enfoque de esta investigación toma en cuenta tanto las fortalezas y debilidades, así como la perspectiva agrícola de los involucrados o agentes, propuesto por el Departamento de Desarrollo Social del Banco Mundial (Anónimo, 2002a).

La teoría de Long (1996) propone que el agricultor es un actor social, en una relación simple de poderes locales; con un comportamiento generalizado, a manera de patrones por el modelo de funcionamiento del capital entre naciones en cierto periodo, que tienen carácter abarcador e incluso se desarrollan en tendencias económicas globales.

En cambio, la propuesta teórica social (Giménez, 1997), observa al agricultor como un agente que mantiene la autonomía de su comportamiento, entendimiento, voluntad y emociones propias, que permiten el éxito o fracaso del proyecto. Aún cuando no tiene la misma fuerza en la lucha por el poder ni sólo sigue las influencias externas; el agente

construye su entorno social e identidad (Giménez, 1997). Bajo este concepto de agente, se reconocen las circunstancias sociales dadas en y por él. Al mismo tiempo, el agente es constructor de viabilidad, dotado de competencias diferenciadas. El término de agente se denomina tanto a hombres como mujeres que tienen una actividad productiva en común y se relacionan con otros agentes para llevar a cabo ésta. Por otra parte y desde la premisa de la teoría económica (Schotter, 1987) el agente está sumergido en una economía de mercado, que planifica su acción interactuando en él. El agente asume el precio de los bienes como un dato dado y, a partir de allí, toma sus decisiones de producción y uso, maximizando la ganancia y extendiendo la función de utilidad o satisfacción. Excepto los productores de temporal, los cuales, desde la teoría de interpretación alternativa, padecen de subordinación excluyente dada entre ellos y la sociedad (Rubio, 2002). Esta subordinación resulta cuando los agricultores ingresan a la esfera de dominio de la agroindustria o coyotes (acaparadores) y donde son excluidos, porque su individualidad se elimina de esta relación, cuando ellos no son tomados en cuenta con sus opiniones y sentimientos; esto sucede también en nuevas relaciones económicas. Necesariamente, este agente requiere de un mecanismo de compensación desde el enfoque del desarrollo endógeno (Boisier, 2001), donde él se fortalezca y tenga oportunidades de desarrollo local. El productor de temporal también tiene condiciones de tránsito que limitan su traslado a polos de desarrollo, con poca infraestructura en comunicación terrestre per cápita por debajo de las zonas con desarrollo a nivel nacional en el 2004 (Moreno, 2008). La baja posibilidad de movilidad a centros económicos externos, hace a los productores de temporal y habitantes dependientes de éstas oportunidades locales para su desarrollo productivo.

La viabilidad es un concepto relacionado con la posibilidad de éxito de un proyecto, se refiere a la condición del camino o vía por donde se puede transitar hacia el objetivo en proyectos con un componente social, en donde se examina y sintetiza de una manera más amplia los resultados de los recursos sociales, se llega a comprender el mercado, además incluye un análisis de las características de los participantes, y sus capacidades. El tipo de viabilidad estudiada se define como factor de éxito social,

donde se analizan las posibilidades reales de enfrentar los requerimientos para cierto proyecto (Anónimo, 2002b). Por otra parte, Araya y Peters (2000) consideran que la viabilidad tiene un componente autosustentable y el manejo compartido de los recursos, como parte de una característica social (Loudjeva, 2002). La viabilidad toma en cuenta las fortalezas y capacidades de los involucrados (Anónimo, 2002b), además de incluir la actitud o interés de los agentes Araya y Peters (2000). Así mismo identifica a los más influyentes con potencial de los que no. Un punto importante es analizar su posición ante el bien común (Fondo Monetario Internacional, 1995) y su participación en las políticas de apoyo, las condiciones de solvencia para el proyecto o idea.

En resumen, la viabilidad conjunta las características necesarias a fin de presentar un trabajo completo para tomar una decisión acertada (Mejía y Jaramillo, 2004). Dicha viabilidad la construyen los agentes en la producción de semilla de nim, transformación y uso agrícola de la azadiractina; a través de su interés y potencial; esto les da la posibilidad de relacionarse en una nueva actividad económica y que participen directa o indirectamente en esta relación económica. Los agentes conforman grupos por su potencial e interés; algunos grupos con potencial que presentan entusiasmo, neutralidad o renuencia y los grupos sin potencial pero con entusiasmo, neutro o renuente. Además, un perfil psicográfico del agente describe el conjunto de sus características o respuestas.

Desde este enfoque, el agricultor de temporal es quien posibilita el éxito del cultivo con su interés (Pino *et al.*, 2005), además de contribuir con sus capacidades y una participación invariablemente incluyente. Con su participación disfruta del reconocimiento de su individualidad, en aspectos relacionados a la administración del recurso, tomando en cuenta sus sentimientos, opiniones, entendimiento, voluntad y emoción propia (Rubio, 2002). En síntesis, el interés significa cuáles son las intenciones, los sentimientos e inquietudes previas a los hechos, esto es interés cognitivo, volitivo y emotivo. El interés volitivo fue definido por aquellas acciones que el agente está propuesto a realizar, el interés cognitivo sobre aquellos aspectos que está resuelto a conocer, y el interés emotivo por los sentimientos que precisa sobre cierta

situación. El interés de cada tipo de agente social conforma su grupo psicográfico en entusiasta, neutro o renuente.

La estrategia de la Dinamización Social de las Economías Locales, con el enfoque de capital social para la superación de la pobreza de la CEPAL (2005), considera importante examinar el potencial social local en el proceso de desarrollo.

Es fundamental estimar el potencial desde un sentido innovador e integral, donde se busque el estudio de las capacidades de los involucrados que son útiles al proyecto (CEPAL, 2005), así como los medios para su participación, la influencia de o hacia los demás agentes, la definición de una estrategia propia, participación previa en dicha actividad, su relación con políticas públicas, la disposición de trabajo en equipo, el sentido de liderazgo y la disponibilidad de mano de obra, recursos o capital social. Este enfoque busca el estudio de las capacidades y aprovecharlas en una nueva actividad económica con distintas relaciones socioeconómicas, Cada agente presenta un tipo de potencial imprescindible y diferenciado para lograr el éxito. Además este potencial es combinable (PNUD, 2005) entre individuos, resultando en un grupo con mayor potencial social que puede interactuar. El potencial agrícola incluye las condiciones agroecológicas aptas al cultivo por núcleo agrario, definido como ejido o comunidad constituido legalmente por resolución agraria administrativa, jurisdiccional o por acuerdo de voluntades (INEGI, 2007).

4.3. Materiales y métodos

Este apartado se divide en cinco secciones; primero se detalla la metodología general para estimar la viabilidad por agente, a través del interés y potencial. Además de la metodología que integra las percepciones de los agentes en el uso comercial de azadiractina y su integración a los agroecosistemas. Posteriormente, se detallan metodologías específicas para la tipología por agente, así como para las variables interés y potencial..Para el productor con agricultura de temporal se incluye

adicionalmente una sección con la metodología complementaria del análisis de su viabilidad para el cultivo de nim.

Se propuso conocer el potencial e interés de los agentes previo a los hechos, es decir su respuesta a un escenario hipotético, en donde tanto los agricultores como los demás agentes no padezcan la subordinación excluyente (Rubio, 2002); se analizó el ámbito, alcance local y su participación conjunta. Implícitamente, los sujetos de estudio se tratan como agentes constructores de la realidad dotados de competencias diferenciadas. Bajo dicha premisa, esta metodología busca la actitud cognitiva, conductual y afectiva del agente ante su realidad, como propuso Betancourt-Yáñez y Pulido (2006). Para ello se evalúan las capacidades, la intención de cada agente, sentimiento e inquietudes previas a los hechos o al proyecto, aspectos de su interés sobre su participación en una nueva actividad económica.

La primera variable fue el interés. El interés del agente se integró por los elementos emotivo, cognitivo y volitivo. El interés fue medido en una entrevista estructurada y diseñada para cada agente. Los ejes del interés cognitivo y volitivo se midieron con una escala de Likert bipolar de cinco puntos. Los puntos claves del interés se establecieron con reactivos generales, estimado con una escala ordinal semántica, que se complementó con preguntas especiales a su actividad económica. El primer reactivo general fue cuál sería el motivo para su participación en el uso comercial de azadiractina, de acuerdo con una escala ordinal de preferencias de cinco categorías. En el segundo reactivo se preguntó sobre el aspecto más importante que motiva su interés en la participación comercial de azadiractina. La respuesta se cuantificó con la escala ordinal de preferencias personales Kuder (Alarcón y Muñoz, 2008). A todas las respuestas se les reasignó un valor de -1 a 1, posteriormente se calculó el valor promedio del interés. Se interpretaron los promedios ubicando sus valores en una de tres categorías, que conforman los grupos psicográficos: entusiasta, neutro y renuente (Cuadro 4.1).

Cuadro 4. 1. Descriptor de la variable interés.

Tipo de variable	Descripción	Categoría de la variable
Cuantitativa	Aseveración de la persona ante los cuestionamientos acerca del interés que presenta en una nueva relación económica del uso comercial de azadiractina	-1. Renuente (desinterés) 0. Indiferente (indeciso o neutro) 1. Entusiasta (interesado)

La segunda variable fue el potencial. El potencial de cada agente incluyó el conjunto de condiciones útiles para establecer o apoyar una nueva relación económica, la influencia de o en los demás agentes, la definición de una estrategia, o su participación previa en esta actividad, su relación con políticas públicas, la disposición de trabajo en equipo, el sentido de liderazgo, y la disponibilidad de mano de obra o recursos. El potencial se estimó en una escala bipolar por agente, que define los grupos psicográficos: con potencial y sin él. El potencial tomó valores de -1 a 1; cuando el promedio fue ≤ 0 se le asignó la categoría “sin potencial”, para el promedio > 0 se definió la categoría “con potencial”.

La viabilidad del uso comercial de azadiractina en los agroecosistemas se construyó con los indicadores de los agentes que participan directa o indirectamente en esta relación económica. La viabilidad fue una variable indirecta compuesta por los valores del interés y potencial de cada agente, y se analizó con una gráfica de dispersión con valores de -1 a 1, donde el eje x representa el potencial y el eje y el interés. Cada gráfico representó visualmente el grado de viabilidad en el nivel de interés (entusiasta, neutro o renuente) y el nivel de potencial (con o sin potencial). Las categorías muestran la posición de cada agente; posteriormente se conjuntaron los agentes. Se calcularon estadísticas descriptivas del interés y potencial, así como de las características que conformaron ambas variables.

La integración en los agroecosistemas se estudió mediante el análisis social propuesto por el Banco Mundial (Anónimo, 2002a), en una matriz que sintetiza y compara las categorías de agentes según su relevancia. Finalmente, se discutió el mediar entre los

grupos influyentes que estuvieron a favor y en contra (Anónimo, 2002a). Cada agente fue cuestionado con relación a las condiciones de su entorno para una nueva relación económica en el uso comercial de azadiractina en los agroecosistemas. También, se indagó con base en la experiencia de cada agente, si consideraba que el uso comercial de azadiractina sería una actividad exitosa.

Finalmente y en orden de importancia, cada agente mencionó cuáles problemas tendría en esta nueva actividad así como comentarios del tema, junto con sus necesidades.

4.3.1. Productor agrícola de temporal del centro de Veracruz

Esta investigación se llevó a cabo en una zona que comprendió la superficie de agricultura de temporal de doce municipios en el centro del estado de Veracruz. Los municipios son: Puente Nacional, Úrsulo Galván, Paso de Ovejas, La Antigua, Soledad de Doblado, Manlio Fabio Altamirano, Veracruz, Cotaxtla, Jamapa, Medellín, Boca del Río y Tlalixcoyan. Se entrevistaron 129 productores; los tamaños de muestra para cada municipio (Cuadro 4.2) se determinaron de acuerdo con la cantidad de núcleos agrarios de temporal por municipio de Veracruz, México (INEGI, 2007) con un muestreo estratificado, con la metodología de Cornett y Beckner (1975). Primero se analizaron las características sociales como sexo, edad, municipio, régimen fiscal, tipo de actividad que desempeña, tipo de tenencia de la tierra, antigüedad en la actividad, forma de distribución de la tierra. La unidad de análisis para el potencial fue el núcleo agrario. En la misma entrevista, se indagó su posición respecto a diversificar la producción y el interés en ampliar la producción. Además, se planteó un escenario hipotético al agricultor, y se cuestionó sobre la producción de semilla de nim y cuánta superficie destinaría al cultivo.

Cuadro 4. 2. Tamaño de muestra de las encuestas estratificadas por municipio del centro de Veracruz.

Municipio	Núcleos Agrarios de temporal	Número de productores
Boca del Río	2	3
Cotaxtla	10	8
Jamapa	11	6
La Antigua	4	3
Manlio Fabio Altamirano	24	18
Medellín	30	19
Paso de Ovejas	19	13
Puente Nacional	24	15
Soledad de Doblado	24	13
Tlalixcoyan	32	19
Úrsulo Galván	3	3
Veracruz	14	9
Total	197	129

Los reactivos para la entrevista a cada agricultor de temporal expuestos en este apartado y en los siguientes (interés, potencial y viabilidad) se detallan en el Anexo 1.

4.3.1.1. Interés en el cultivo de nim por los productores de temporal del centro de Veracruz

En este apartado se estimó el interés en el cultivo de nim de los productores de temporal del centro de Veracruz. Se les cuestionó sobre el entusiasmo para capacitarse en el manejo agronómico del árbol de nim, conocer acerca de la cosecha de su semilla, además de informarse de cuáles son las fuentes de suministro de material vegetativo para el establecimiento del cultivo. Además, se indagó la posición respecto a incorporar el cultivo de nim en su parcela, si está dispuesto a invertir el recurso económico para el cultivo, e incluso si tienen interés en participar en un grupo de fomento de producción de semilla de nim. Finalmente, se cuestionó al agricultor de temporal si era importante recibir el estímulo económico de la autoridad para iniciar o

incrementar el cultivo de nim, además de cuál sería su expectativa financiera con dicho cultivo.

4.3.1.2. Potencial para el cultivo de nim

El potencial del productor agrícola de temporal fue estimado para el cultivo de nim. Como innovación en el estudio, se incorporaron las variables de la dimensión social a partir de investigación de campo, de superficie y jornales disponibles al cultivo de nim, en el programa de Información Referenciada Geoespacialmente Integrada en un Sistema (IRIS) en el Navegante Geoestadístico de México del INEGI. El potencial fue definido con el valor de los jornales disponibles y la superficie disponible apta para el cultivo ($\geq - 232 \text{ jor ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$). La superficie disponible fue dada por los productores con agricultura de temporal del centro de Veracruz y medida en forma indirecta. Se definió como requerimiento 232 jornales, que son necesarios para todas las labores en el manejo del cultivo y cosecha de la semilla de nim para una plantación en producción de una hectárea, resultado obtenido de tres ciclos de cosecha, detallados en el Cuadro 4.3.

Cuadro 4. 3. Requerimientos laborales para el establecimiento, manejo y cosecha en una plantación de nim con una superficie de una hectárea.

Actividades	Requerimientos laborales para una plantación de nim ($\text{jor año}^{-1} \text{ ha}^{-1}$)		
	Establecimiento	En producción	
		Manejo rústico*	Manejo semimecánico**
Preparación de la tierra	22		
Plantación de la semillas	60		
Riego	6		
Fertilización	17		
Control de malezas	33		
Mantenimiento		148	2
Poda		28	24
Cosecha		267	189
Despulpado		792	17
Total	137	1234	232

* Xin y Wegener (2004).

** Datos recabados de las cosechas de 2004, 2005 y 2006 en el Colegio de Postgraduados, Campus Veracruz, México.

Es decir, el potencial de una zona se definió a partir de los jornales que exceden 232 jor ha⁻¹ año⁻¹, a la relación matemática de los jornales (jor año⁻¹) entre la superficie (ha), ambos disponibles para el cultivo de nim (Ecuación 4.1). El potencial con valores < 0 jor ha⁻¹ año⁻¹ se reasignó como un potencial negativo, y para valores ≥ 0 jor ha⁻¹ año⁻¹ se consideraron con potencial positivo Este modelo econométrico se compone de una sumatoria de los jornales anuales de aquella población que aportaría su mano de obra para el cultivo de nim, tomando en cuenta que no toda la población aportaría la misma proporción. Por ejemplo hay sectores de la población que sólo aportan de 33 a 42 jor; en cambio, la población que no trabaja estará aportando 300 jornales, por lo que se usaron tres factores. A estos jornales se les dividió por la superficie disponible municipal. Posteriormente se restaron los jornales requeridos.

$$Potencial = \left\{ \frac{\sum_{i=1}^{i=n} [(F_1)(P_{ECOINACTIV(i)} + P_{NOTRABA(i)} + P_{-SM(i)} + P_{OCUNINGR(i)} - P_{CONDIS(i)}) + [(F_2 P_{-32HTRA(i)}) + (F_3 P_{-40HTRA(i)})]]}{A_{DISPON(j)}} - F_4 \right\}$$

Ecuación 4.1.

Donde:

Localidad rural (*i*; nominal),

Población económicamente inactiva ($P_{ECONOINAC} \geq 0$ ó sin valor),

Población desocupada ($P_{NOTRABA} \geq 0$ ó sin valor),

Población ocupada que no recibe ingresos ($P_{OCUNINGR} \geq 0$ ó sin valor),

Población económicamente activa con jornales menores a 48 h [$P_{-32HTRA}$; $P_{-40HTRA} \geq 0$ ó sin valor],

Población con discapacidad ($P_{CONDISC} \geq 0$ ó sin valor).

F_1 : jornal por habitante anual (con 48 h semanales) = 300

F_2 : jornal por habitante desocupado anual (con 16 h por semanales) = 33

F_3 : jornal por habitante desocupado anual (con 8 h semanales) = 42

F_4 : jornal requerido anual ha⁻¹ = 232

i: localidad

j: Municipio

Para calcular el índice del potencial anterior se llevaron a cabo en subíndices. Primero, se construyó un subíndice de los jornales disponibles de la población rural en la zona

agrícola de temporal (jor año⁻¹), bajo la premisa de que la población quiere trabajar en el cultivo de nim y que la población a sólo 1.0 km será la que realice el trabajo en el cultivo. Los jornales disponibles tomaron valores de ≥ -232 jor año⁻¹. Esta mano de obra se estimó por núcleo agrario y posteriormente se realizó la sumatoria por municipio. Para demarcar este tipo de población fue necesario realizar un análisis desde la perspectiva agroecológica de Ruiz-Corral *et al.* (2005), que incorpora un análisis multicriterio con el uso de información geográfica; en donde se descartaron las zonas de riego; se compararon los requerimientos de clima-suelo contra las disponibilidades ambientales en la zona de estudio, diferenciando sólo las zonas aptas. Por lo tanto, se excluyó aquella población que habita en localidades urbanas, en áreas sujetas a inundación, en suelo con vocación de manglar, pastizal cultivado e inducido, tular, riego, arenal, bosques de encino, dunas costeras y reservas ecológicas, y aquella población dentro de la zona sin vocación agroecológica para el cultivo de nim. La exclusión de población se realizó con la función “extraer” con el programa de Información Referenciada Geoespacialmente Integrada en un Sistema (IRIS) en el Navegante Geoestadístico de México del INEGI.

Una vez excluida toda la población de la zona con otra vocación, se realizó un traslape de información de los núcleos agrarios con agricultura de temporal y la integración territorial por localidad, con la función de “fusionar” del programa IRIS. Además, se incluyó en este sistema de georreferencia, la información del censo de población para las localidades del núcleo agrario y a 1.0 km de éste. La información de los núcleos agrarios con agricultura de temporal fue tomada del Conjunto de Datos Vectoriales (E14003 y 6) de la Carta de Uso del Suelo y Vegetación, Escala 1:250,000, Serie II (Orizaba y Veracruz; INEGI 2001a; 2001b). Este traslape permitió el análisis de los jornales disponibles en la población en condiciones con marginación socioeconómica, pues están en condiciones de desocupación, desempleo temporal, empleo sin remuneración económica, remuneración menor a un Salario Mínimo o económicamente inactivas (Figura 4.1). Para esta población se realizó una sumatoria de los jornales por los diferentes grupos.



Figura 4. 1. Población con potencial productivo del centro de Veracruz con agricultura de temporal. Recuadros en negrilla corresponden a la población de la zona de estudio.

Las características de la población fueron consultadas en el reporte del estudio socioeconómico para la población del Censo Nacional de Población del INEGI del 2000 (INEGI, 2008).

Se tomó como referencia 300 días laborables al año para la población económicamente inactiva y desocupada. Para los individuos desocupados con jornales menores a 48 h laboradas a la semana, se estimó la fracción de los días laborables.

El segundo subíndice fue la superficie disponible [$A_{DISPON(j)}; \geq 1$ ha], ésta fue la porción de superficie con agricultura de temporal que el productor estaría dispuesto a usar para el cultivo de nim. Se calculó al multiplicar la superficie con agricultura de temporal (ha) por la fracción de esta superficie para el cultivo de nim. Primero, fue necesario estimar la superficie de agricultura de temporal con un análisis agroecológico en el programa IRIS para excluir las áreas con otra vocación o suelo no apto al cultivo de nim, indicadas en la Figura 4.1, pero que cumplen con las condiciones climáticas. Dicha exclusión se realizó con la función de “extracción” en el sistema IRIS en donde se eliminaron los núcleos agrarios en estas condiciones, pero que tienen agricultura de

temporal. Posteriormente, se exportó a una base de datos externa de la superficie (ha) de estos núcleos del Conjunto de Datos Vectoriales (E14003 y 6) de la Carta de Uso del Suelo y Vegetación, Escala 1:250,000, Serie II (Orizaba y Veracruz (INEGI 2001a; 2001b)). Por otra parte, la fracción de la superficie que el agricultor destinaría al cultivo de nim fue recabada en una entrevista. Además, se hizo un análisis de varianza de la superficie para el cultivo de nim por municipio con un nivel de significancia de 0.05 en el programa Statistica v. 6.0.

Posteriormente, el potencial fue construido con la relación de jornales por superficie disponible que excedieron a $232 \text{ jor ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ para las labores del cultivo (Cuadro 4.3), que incluyeron la cosecha y despulpado de la semilla en 1.0 ha en sistema semi-mecanizado, el cual requiere más de mil jornales, que son menos que en el sistema rústico. Para presentar los resultado por núcleo agrario, se consideró que el potencial tomó valores de -232 a $\geq 0 \text{ jor ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$. Posteriormente se construyó un mapa temático para la visualización y análisis.

4.3.1.3. Viabilidad del cultivo de nim por agricultores de temporal

Se estimó la viabilidad del nim por productores de temporal para la producción de semilla de uso bioinsecticida. Con la salida gráfica de dispersión general para la viabilidad, el análisis de los problemas y necesidades para el cultivo de nim, se construyó una base datos y un mapa temático para el cultivo de nim en el sistema IRIS. En éste se mostraron los polígonos de núcleos agrarios con viabilidad por municipio. Posteriormente, se construyó un perfil psicométrico de los productores agrícolas de temporal del centro de Veracruz; con ello se mostraron en forma gráfica las proporciones de los diferentes grupos.

4.3.2. Agroindustria de azadiractina establecida en México

El entorno de la producción de semilla de nim se compone de las condiciones de otros agentes como la industria ya establecida de plaguicidas con azadiractina. De esta agroindustria se evaluó el interés en la producción propia de plaguicidas de azadiractina desde el proceso de la semilla de nim hasta la formulación del bioinsecticida. Además, se averiguó el potencial para llevarlo a cabo. Estos aspectos fueron medidos en seis empresas del ramo, a las que se les identificaron sus características, así como su viabilidad en la integración del uso comercial de azadiractina; también, se construyó una tipología de la agroindustria en cuanto a plaguicidas derivados de azadiractina; se indagó el mercado que atienden, su tamaño y la posición. Además de su régimen fiscal, antigüedad, venta anual por compañía, si produce bioinsecticidas, desde cuándo y el origen de la materia prima para producirlos.

Los reactivos para la entrevista a cada agroindustrial expuesto en este apartado y en los siguientes (interés, potencial y viabilidad) se detallan en el Anexo 2.

4.3.2.1. Interés en la producción propia de azadiractina

En este apartado se estimó el interés en la producción propia de azadiractina por la agroindustria establecida en México. Este interés se construyó con reactivos en el interés cognitivo, volitivo y emotivo. Los miembros de la agroindustria fueron sujetos a una entrevista, en donde se cuestionó su interés cognitivo por el estado actual de la producción nacional de azadiractina. Asimismo, se cuestionó su interés en los conocimientos o tecnología generada por la investigación nacional en la producción de azadiractina, así como su interés en conocer a los demás agentes del uso comercial de azadiractina. Los representantes de la agroindustria respondieron acerca de su nivel de interés en participar en un grupo que fomente la producción propia de azadiractina, y su disposición a invertir recursos económicos para ello. También respondieron si realizarían trámites ante la autoridad sanitaria para consumir su propia azadiractina y

su interés en tomar ventaja de sus competidores en la producción propia de azadiractina. Además, se solicitó a la agroindustria expresar el tipo de apoyo que requieren para llevar a cabo la producción propia de azadiractina, si consideraban necesario recibir de la autoridad un estímulo fiscal para iniciar la producción de azadiractina, junto con la expectativa financiera de dicha actividad.

4.3.2.2. Potencial en la producción propia de azadiractina

Se estimó el potencial para la producción propia de azadiractina de la agroindustria establecida en México mediante una entrevista estructurada. Se indagó en orden de importancia y con base en la experiencia de la agroindustria, cuáles son los riesgos de la fabricación propia o nacional de azadiractina. Se estimó el tamaño del mercado de los plaguicidas en el centro de Veracruz. Se indagó a cuánto ascendió en 2008 la venta de bioinsecticidas de azadiractina por la agroindustria en el centro de Veracruz. Además se estimó el crecimiento de este mercado en los últimos 5 años; para ello se cuestionó sobre el incremento de ventas de los bioinsecticidas de azadiractina. Finalmente, se estimó el mercado potencial de plaguicidas de azadiractina con base en la experiencia y los objetivos de la agroindustria, el pronóstico de ventas de los productos bioinsecticidas de azadiractina en los próximos diez años, y si la azadiractina es un material que puede sustituir a plaguicidas de uso restringido que se aplican en los cultivos de plantas ornamentales; por ello se les cuestionó si desde la perspectiva de mercado ellos consideran posible la sustitución de aldicarb, dicofol y metamidofos.

4.3.3. Productores de plantas ornamentales

Se realizó una tipología de los productores de plantas ornamentales del centro de Veracruz. Se entrevistaron 38 productores de plantas ornamentales; se cuestionó acerca del tipo de tenencia de la tierra, los años en la actividad, y el tipo de plantas que

cultivan como primer fuente de ingresos. También se averiguó cómo realizan la selección del insecticida para el control de plagas y si usan productos de nim en dicho control. Además se registró la edad y sexo del productor y su régimen fiscal.

Los reactivos para la entrevista a cada productor de plantas ornamentales expuesto en este apartado y en los siguientes (interés, potencial y viabilidad) se detallan en el Anexo 3.

4.3.3.1. Interés en el uso ampliado de azadiractina en la unidad de producción

Se estimó el interés de los productores de plantas ornamentales en un mayor uso de bioinsecticidas de azadiractina. Este interés se construyó con reactivos en los intereses cognitivo, volitivo y emotivo. En los productores de plantas ornamentales se investigó si tenían entusiasmo en conocer las ventajas en el uso de los insecticidas naturales como azadiractina, cuáles son los productos comerciales de esta sustancia que se ofertan en el país y si estaban interesados en conocer el manejo de las plagas de sus cultivos con insecticidas como la azadiractina y si participarían en un grupo que fomente el uso de azadiractina. Adicionalmente, se les cuestionó sobre el tipo de asistencia requerido para iniciar o ampliar el uso de insecticidas de azadiractina en su unidad de producción. Además, se preguntó qué sentimiento le genera cuando ha considerado el uso de insecticidas naturales en el control de plagas. También se interrogó cómo considera el efecto insecticida de la azadiractina. Estas dos respuestas fueron registradas en escala ordinal psicométrica de cinco puntos.

Los reactivos anteriores se complementaron con una pregunta abierta sobre qué apoyo necesita para el uso de azadiractina en plantas ornamentales.

4.3.3.2. Potencial de uso de azadiractina en el control de plagas en la unidad de producción de plantas ornamentales

En este apartado se estimó el potencial de los productores de plantas ornamentales en el uso ampliado de bioinsecticidas de azadiractina.

El potencial del uso de plaguicidas de azadiractina se midió en aspectos como el gasto anual en el control de plagas insectiles, la proporción de dicho monto en sustancias naturales y se averiguó cual es el proveedor de plaguicidas de azadiractina. También se indagó acerca de los hábitos de uso del plaguicida, como la unidad de compra, la temporada de mayor demanda, el monto en dicha temporada y cuánto estaría dispuesto a pagar por un litro de plaguicida de azadiractina. Como información complementaria se les cuestionó si tendrían el recurso económico para ejercer un control de plagas con plaguicidas de azadiractina, además de su opinión sobre el precio de venta de insecticidas naturales (azadiractina) en el cultivo de plantas ornamentales, y su opinión acerca de un precio subsidiado de los insecticidas naturales. En los hábitos de compra, se recabó información sobre la forma de pago para la compra de plaguicidas, el tipo de negociación que llevan a cabo y el medio de comunicación influyente en la compra de plaguicidas naturales.

4.3.4. Autoridad sanitaria

Como información básica, se realizó un registro de la identidad del entrevistado y el perfil, en su edad, cargo administrativo, escolaridad, experiencia en el puesto y el tiempo en el ejercicio del cargo. Adicionalmente, se midió el interés y potencial en el apoyo del uso comercial de azadiractina.

Los reactivos para la entrevista a la autoridad sanitaria expuesta en este apartado y en los siguientes (interés, potencial y viabilidad) se detallan en el Anexo 4.

4.3.4.1. Interés en el apoyo al uso comercial de azadiractina de la autoridad sanitaria

Se estimó el interés de la autoridad sanitaria en materia de registros de plaguicidas como apoyo en el uso comercial de azadiractina. Se midió el interés en los aspectos, volitivo, emotivo y cognitivo. Para ello, se preguntó acerca de las necesidades de la agroindustria en autorizaciones para la producción propia de azadiractina, la situación de la producción nacional de azadiractina, y sobre el uso de este plaguicida por productores de plantas ornamentales en el control de plagas. Además, se preguntó si apoya del uso de azadiractina en la sustitución de plaguicidas restringidos que son aplicados en la producción de plantas ornamentales. Además, se cuestionó sobre su participación en el grupo de fomento del uso de azadiractina, así como su interés en la revocación de plaguicidas restringidos ya autorizados en el cultivo de plantas ornamentales y en invertir recursos públicos en el fomento de la producción nacional de azadiractina. También, qué tan interesados estarían en solventar estudios aún no realizados para esta molécula, como la reactividad, corrosividad, explosividad, fotólisis e hidrólisis. Se incluyeron las dos últimas propiedades, bajo la premisa que ya son conocidas y al ser una sustancia natural, estos mecanismos de descomposición no alteran el medio ambiente.

4.3.4.2. El potencial en el apoyo al uso comercial de azadiractina

Se estimó el potencial de la autoridad sanitaria como apoyo del uso comercial de azadiractina. A este agente se le cuestionó sobre su programa interno para el fomento en la producción de azadiractina, la capacidad de recursos propios para el impulso de esta producción y si estuvo vinculado a organismos de investigación. También se preguntó sobre su capacidad de manejar riesgos sanitarios que representa la producción nacional de azadiractina.

4.3.5. Comunidad científica

La comunidad científica mexicana la representó una muestra de ocho científicos con artículos publicados en azadiractina. Se les preguntó su escolaridad, su experiencia en la investigación en azadiractina, cuántos artículos han publicado y cuál ha sido su móvil para la selección del tema de investigación. Se registró su edad y cargo que desempeñan y la institución donde laboran.

Los reactivos para la entrevista a cada científico expuesto en este apartado y en los siguientes (interés, potencial y viabilidad) se detallan en el Anexo 5.

4.3.5.1. Interés en el apoyo del uso comercial de azadiractina de la comunidad científica

Se estimó el interés de la comunidad científica en el apoyo del uso comercial de azadiractina. Este interés fue construido con reactivos en los aspectos volitivo, cognitivo y emotivo. A la comunidad científica se le cuestionó sobre su disposición en redireccionar su investigación a temas de interés para la agroindustria, autoridad sanitaria o de agricultores de nim y plantas ornamentales. Por otra parte, se les preguntó el interés en investigar la azadiractina como sustituto de plaguicidas sintéticos de uso restringido y autorizados en el cultivo de plantas ornamentales. Se les preguntó si participarían en el fomento del uso de azadiractina y su posición sobre el dominio público de su investigación en propiedades aún no estudiadas de azadiractina, como reactividad, corrosividad e inflamabilidad.

4.3.5.2. Potencial de apoyo del uso comercial de azadiractina de la comunidad científica

Se estimó el potencial de la comunidad científica en el apoyo del uso comercial de azadiractina. Los científicos expresaron el tipo de apoyo que requieren para llevar a cabo la investigación de azadiractina en sus temas de interés. Además, respondieron si consideran necesario el estímulo económico de la autoridad para el estudio de las siguientes propiedades no estudiadas de la azadiractina, como corrosividad, inflamabilidad y reactividad. También se les cuestionó si estarían dispuestos a investigar en conjunto con investigadores de otras instituciones.

4.4. Resultados y discusión

Los sujetos de estudio fueron los productores con agricultura de temporal del centro de Veracruz, la agroindustria de azadiractina establecida en México, los productores de plantas ornamentales en el centro de Veracruz, la autoridad sanitaria en materia de plaguicidas y la comunidad científica mexicana estudiosa de la azadiractina.

4.4.1. Agricultores de temporal del centro de Veracruz

Los sujetos de estudio fueron 129 productores con agricultura de temporal del centro de Veracruz. El 88 % son hombres, cantidad un poco mayor al nacional rural de 84.3 %, que incluye actividades pecuarias (Trejo, 2003). Los productores tienen una edad promedio de 56 años, que varía de 28 a 85 años, con 36 años de experiencia en la actividad agrícola. Este grupo se encuentra en una etapa de pre-senectud, con alta experiencia en su ramo. El agricultor de temporal posee en promedio una superficie de 8.8 ha con actividad de temporal y 0.3 ha de agricultura de riego; sólo seis productores tienen ambos tipos de producción.

El 89 % de los entrevistados son productores y 10 % jornaleros. El 51 % de los productores son propietarios, lo que supera al valor nacional de 29.6 % (Trejo, 2003); 37 % son ejidatarios, valor menor al nacional de 49.7 % (Trejo, 2003) y sólo 8 % son arrendatarios de la superficie que trabajan. Tanto propietarios como ejidatarios tienen certeza jurídica sobre la tenencia de su tierra. Esta condición social es favorable para el desarrollo agrícola en la zona de estudio, pues ayuda a equilibrar sus capacidades y activos, como la tierra, y determinar las estrategias resultantes para hacer frente a sus necesidades diarias de producción. A pesar de que la mayoría de los productores tienen derecho sobre las tierras que trabajan (como propietarios, ejidatarios o comuneros), en la zona hay pocos agricultores con grandes propiedades que pueden dar ocupación masiva a jornaleros. A pesar de que la tierra es un activo, con el cual pueden mejorar su situación económica, debiera ser la base de relaciones sociales y valores culturales, además de un factor de prestigio y con frecuencia de poder (FAO, 2003), este papel es limitado.

De los productores entrevistados, sólo 16 % opera con régimen fiscal para la tributación como pequeño productor agrícola, una mayoría sigue operando bajo el régimen fiscal ejidatario (59 %), además que algunos (12 %) operan sin régimen fiscal.

La actividad mayoritaria fue la agricultura (57 %) y en segundo término la ganadería (35 %); otras actividades, como la forestal, están presentes sólo en 2 % de la superficie. En cuanto al interés en diversificar la producción, 71 % (92 productores) respondieron positivamente y mostraron entusiasmo (0.6, de una escala de -1 a 1).

4.4.1.1. Interés en el cultivo de nim por productores de temporal del centro de Veracruz

Los productores de temporal tienen más interés en diversificar su producción en agricultura (57 %), que en ganadería (18 %) y el resto no tiene idea en qué puede diversificar su producción (16 %). Sin embargo, únicamente 5 % consideró necesario el

apoyo económico para hacer posible la diversificación agrícola. Los productores tienen poca a mediana expectativa financiera sobre el cultivo de nim (58 %); además, fueron pocos los que tienen una expectativa financiera de alta a muy alta (20 %). Por otro lado, 74 % de los productores tuvieron un interés social, familiar y profesional por arriba del interés financiero en la producción de semilla de nim y están dispuestos a participar en grupo (81 %) para la producción de esta semilla con clara idea de participación individual por el bien común (Figura 4.2). Tienen un sentido social en desarrollado, ya que prefieren el beneficio social (33 %) en lugar del individual; ambas características contribuyen a la cohesión social (CEPAL, 2007) para encadenamientos productivos.

El productor expresó una expectativa financiera reservada sobre un nuevo cultivo como el nim, tal condición permite distinguir que es un agente combinable, es decir que da cabida al siguiente eslabón, al menos en el aspecto económico. Además privilegiaron el interés familiar y profesional sobre el financiero. Esta característica se contrapone con el concepto de la actividad agrícola como meramente empresarial.

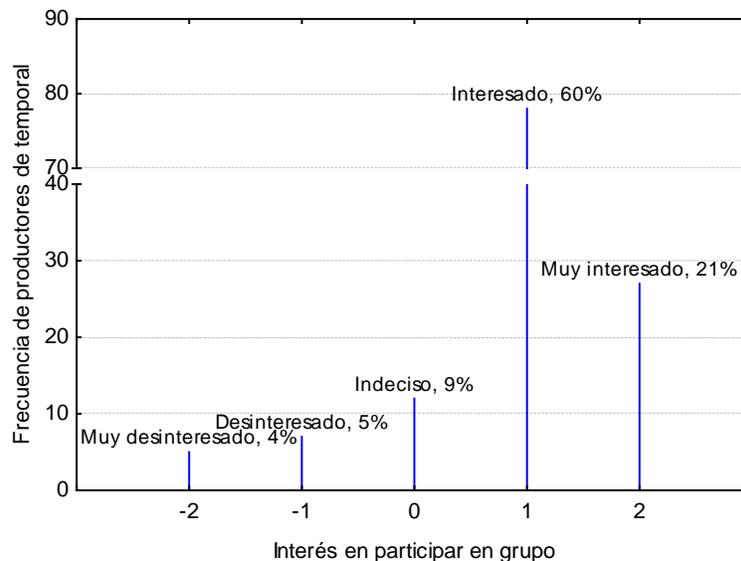


Figura 4. 2. Interés de los productores en participar en grupo que fomente el cultivo de nim del centro de Veracruz.

Si bien la mayoría de productores presentó interés en diversificar la producción agrícola (Figura 4.3), tuvieron bajo interés promedio para el cultivo de nim (0.18 ± 0.01 EE, en

escala de 0 a 1), suficiente para mostrar entusiasmo. Aunque 77 % de los productores mostraron total entusiasmo en incorporar el cultivo de nim a su unidad de producción, 15 % estuvo indeciso y una minoría (7 %) expresaron su renuencia.

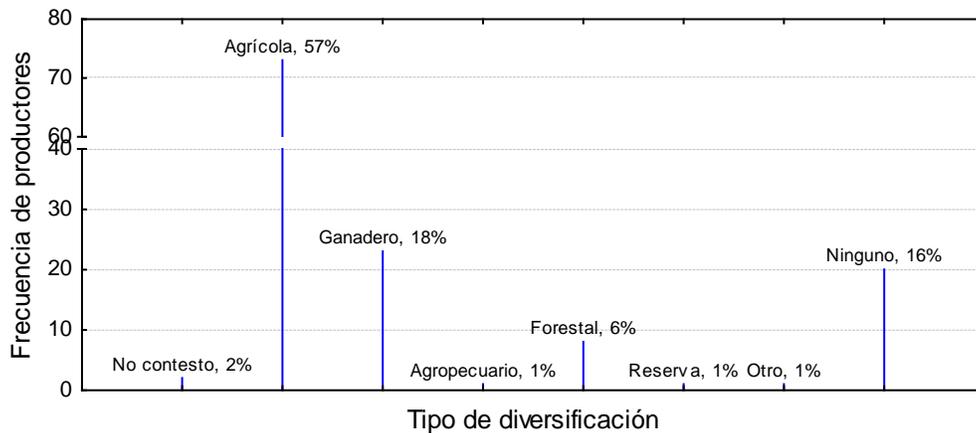


Figura 4. 3. Interés en la diversificación de producción de los productores de temporal del centro de Veracruz.

Los productores con menor interés en el cultivo de nim fueron del municipio de Úrsulo Galván (Figura 4.4).

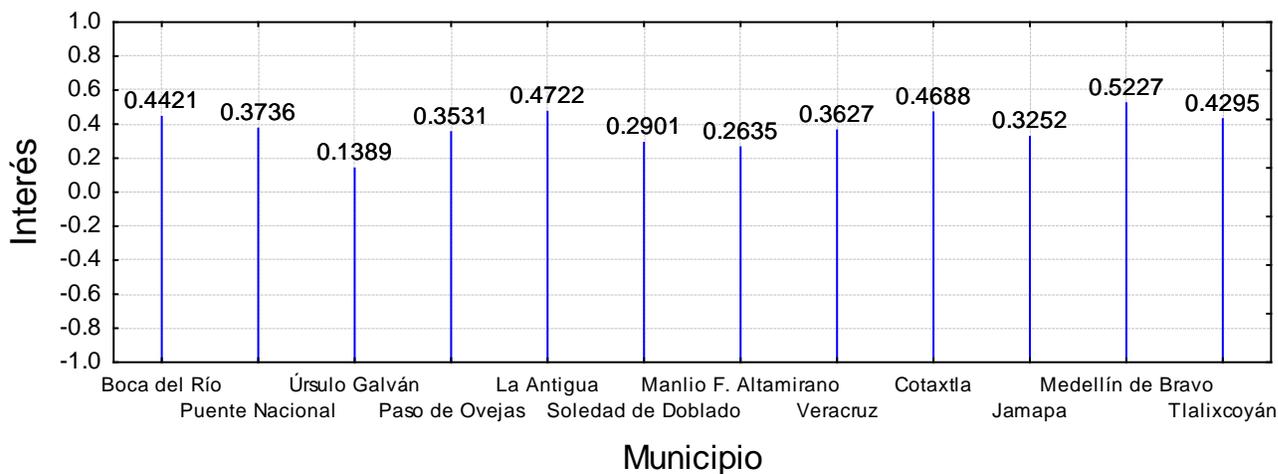


Figura 4. 4. Promedio interés en el cultivo de nim por municipio en la zona de agrícola de temporal del centro de Veracruz.

Los pequeños productores de temporal propietarios son quienes se interesaron en diversificar su producción con el cultivo de nim. Los productores con agricultura de temporal fueron entusiastas en el escenario de producción de semilla de nim, quienes tuvieron más interés emotivo. Aunque 63 % se interesaron en invertir su recurso económico para el cultivo de nim, 26 % se mostró indeciso y el resto se encontró renuente a realizar una inversión para establecer el cultivo. Asimismo, el productor de temporal fue un agente que responde al interés emocional por arriba de los otros intereses, además cuando se le coloca en el nivel de las acciones se muestra más reservado o menos entusiasmado.

4.4.1.2. Potencial para el cultivo de nim por los productores de temporal del centro de Veracruz

El análisis econométrico mostró que la población que habita en núcleos agrarios con agricultura de temporal y las localidades adyacentes a 1 km de éstos, fue de 66,983 personas en 450 localidades rurales (Figura 4.5), de un total de 841,461 hab. en doce municipios estudiados del centro de Veracruz. Las localidades rurales con agricultura de temporal fueron de un tamaño de uno hasta 2,121 hab.; es decir, 97 % de las localidades tuvieron menos de 800 hab., y las localidades con menos de 400 hab., representan 83 %. Este fenómeno de dispersión poblacional tiende a aumentar las necesidades de servicios comunitarios como son escuelas y clínicas. Una de las premisas que se le imputan a la reforma agraria, fue que conllevaría al arraigo de la tierra por un enorme número de familias, este arraigo se ha aminorado porque nuevas generaciones no trabajan la tierra que tienen o heredarán de sus padres (Mendieta y Núñez, 1961); como resultado se observa que la población rural con agricultura de temporal en su mayoría vive en localidades pequeñas. Tampoco tienen caminos transitables todo el año; es decir, estas localidades difícilmente participan de los beneficios y de los recursos sociales (Hernández, 2003). Este fenómeno también se presenta en la población a nivel nacional, ya que el número de localidades rurales

pequeñas se duplicó de casi 100 mil localidades en 1950 a más de 196 mil en 2000 (CONAPO, 2006). En el caso del desarrollo agrícola, dificulta satisfacer la necesidad de ocupación económica de esta población dispersa.

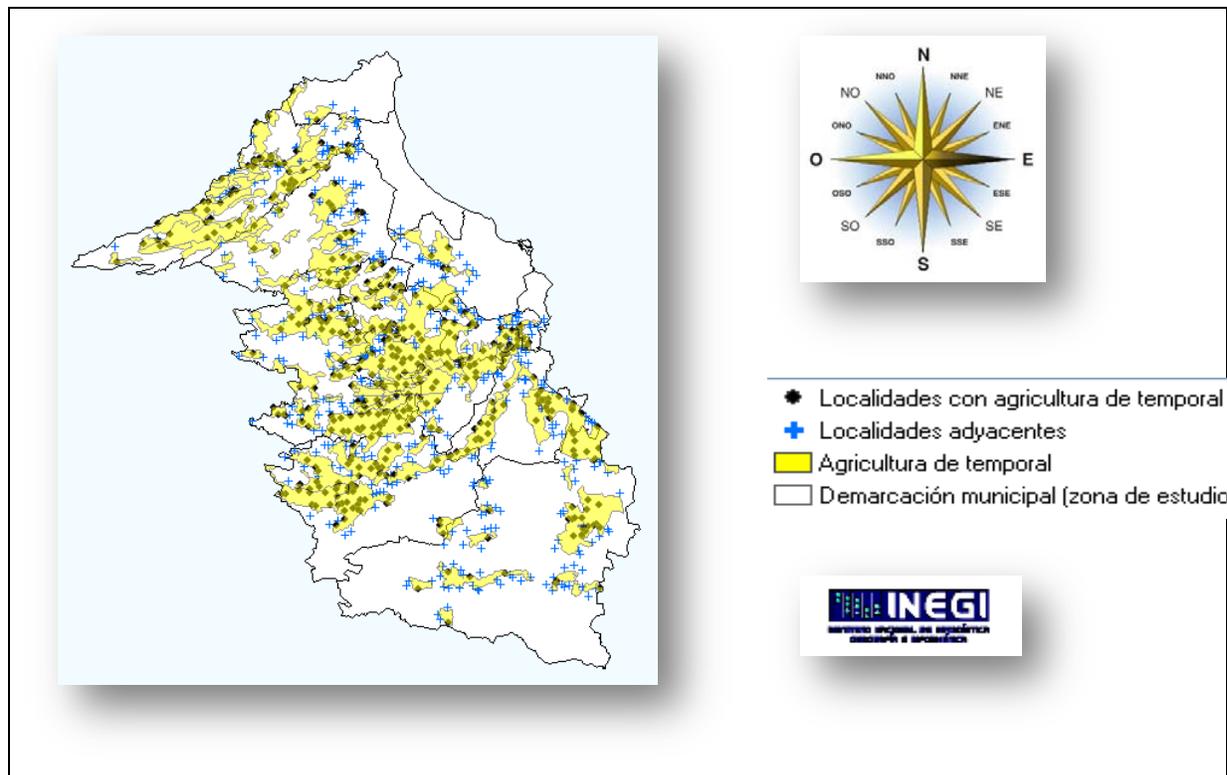


Figura 4. 5. Localidades rurales en y adyacentes a los núcleos agrarios con agricultura de temporal del centro de Veracruz.

La población de la zona agrícola de temporal y adyacente al núcleo agrario de temporal del centro de Veracruz tuvo una composición indicada en el Cuadro 4.4. El 42 % de la población rural económicamente inactiva fue considerada en condiciones de subsistencia económica; el segmento de la población con jornales menores a 48 h por semana, es decir, la categoría sin trabajo todo el año, tuvo un valor menor al nacional rural. La población que no recibe ingreso por su trabajo fue de 6 %, que también fue menor al porcentaje nacional para la población rural. Igualmente, la población que percibe menos de un salario mínimo fue de 6 % y menor al valor nacional. Finalmente, la población discapacitada superó a la población que no trabaja. En total esta población en condiciones de subsistencia económica fue de 48,976 personas, lo que representa

18'114,367 jornales disponibles anuales. La población rural con agricultura de temporal y adyacente, presentó un reservorio de jornales aún no absorbido en el modelo económico actual por el sector exportador en México (Polaski, 2003).

Cuadro 4. 4. Población rural con agricultura de temporal con jornales disponibles.

Tipo de población	Habitantes	Proporción	Proporción nacional (Trejo, 2003)
Económicamente inactivos	28,064	42	
No recibieron ingresos por su trabajo	4,190	6	18.4
Percibieron menos de un salario mínimo	3,925	6	33.0
Población que no trabaja	300	0.4	
Discapacitados	996	1	
Con jornadas laborables < 48 h por semana	11,501	17	29.8

Los municipios estudiados del centro de Veracruz están en una zona apta para el cultivo de maíz porque tienen condiciones climáticas propicias, con una precipitación media anual de 1000 a 1500 mm, distribuida durante 6 a 8 meses. Asimismo, presenta algunos suelos de tipo vertisol (Venkateswarlu y Korwar, 2005) y feozem (INEGI, 1993), y una altitud promedio de 72 msnm (mínimo 5 y máximo 640 msnm). Por otra parte, la superficie agrícola de temporal de los municipios estudiados del centro de Veracruz fue de 175,304 ha, distribuida en 93 núcleos agrícolas con cultivos tanto primarios anuales, como semiperennes y perennes. En esta zona los cultivos primarios fueron en primer lugar el maíz, seguido del mango y del pasto jaragua (Figura 4.6). Existieron pocos cultivos secundarios, como papaya, maíz, mango y caña de azúcar. Hubo aún menos cultivos terciarios, como papaya y frijol. Sin embargo, se encontró que los núcleos agrarios sin cultivos secundarios ascendieron a 18. En pocas zonas existieron cultivos terciarios, como frijol, kikuyu (pasto africano), arroz y chile; además, una superficie amplia en 27 núcleos estuvo ausente de cultivos terciarios. Los pocos cultivos primarios, secundarios y terciarios son evidencia de la escasa diversidad de plantas cultivadas, tal como se presenta en otros lugares donde la agrobiodiversidad relacionada al maíz, como cultivo primario, ha decaído de 50 cultivos a sólo 16 (Blanco-Rosas, 2006). Por otra parte, en la zona de estudio se encontró que el único cultivo primario y

forestal fue el mango, la superficie abarca más de 175,304 ha; aunque existe la oportunidad para un cultivo forestal secundario perenne, sobre todo en aquellas zonas donde el cultivo anual ya no es factible; en este sentido los productores comentaron que se ha perdido la posibilidad de cultivar chile.

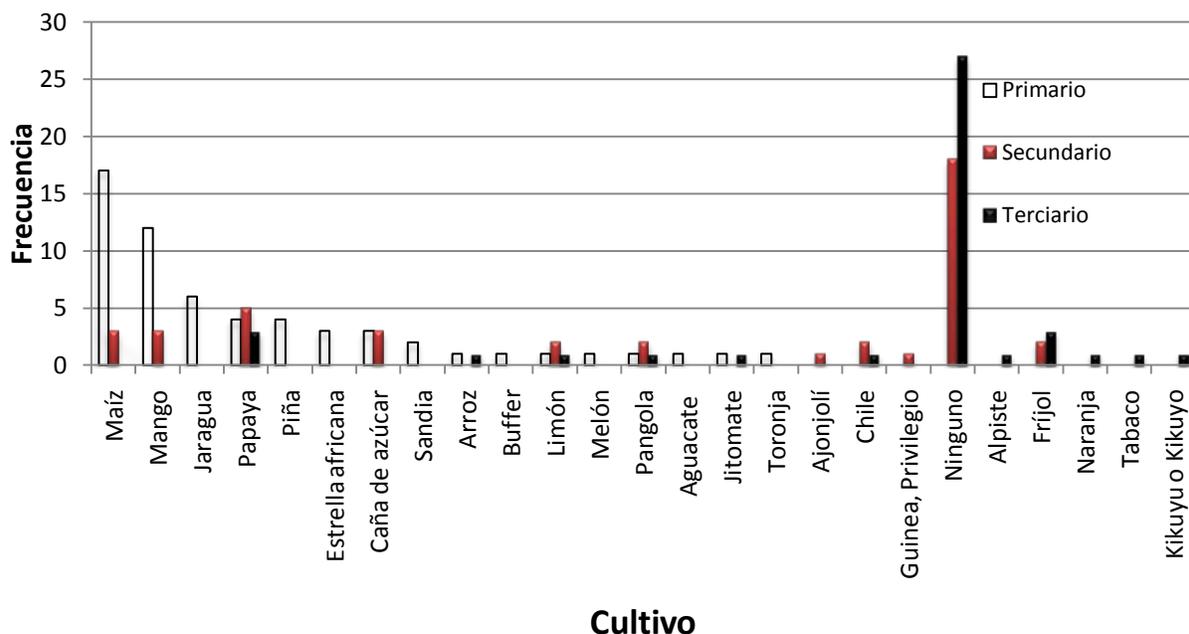


Figura 4. 6. Cultivos de la zona de temporal de doce municipios del centro de Veracruz.

El productor estuvo dispuesto a cultivar una especie perenne no comestible con ganancia a largo plazo y como complemento de su producción, como el árbol de nim; se estimó que la superficie disponible por productor fue de 1.6 (± 0.1 EE) ha, pues la mayoría (57 %) de los productores estaban dispuestos a ensayar en al menos 1.0 ha para el nuevo cultivo e independientemente del tamaño de la superficie que poseían. Lo anterior corresponde a una superficie potencial promedio disponible por productor para el cultivo de nim de 37 % (± 2.7 EE) de su superficie, este valor representa una respuesta reservada sobre la superficie que destinaría al cultivo de nim. Por ello, se estimó una superficie disponible total de 59,311 ha para estos doce municipios del centro de Veracruz, que albergaría 12 millones de árboles, con una producción estimada de 8,125 t de semilla seca (Thomsen *et al.*, 1998). Esta semilla en América

Latina tuvo un precio de 0.6 a 1.6 US\$ kg⁻¹ (Förster y Moser, 2000), por lo que el ingreso bruto potencial fluctuaría de MEX\$65 a 175 millones. Cada municipio difirió en la opinión de los encuestados sobre la superficie a cultivar ($F = 4.5$, $gl_1 = 12$, $gl_2 = 11$, $p < 0.01$); en Cotaxtla y Boca del Río la superficie con potencial de siembra de nim fue del 60 % de su superficie de temporal. La superficie potencial del 40 % se presentó en los municipios de Úrsulo Galván, Puente Nacional y La Antigua. En los demás municipios se encontró una superficie disponible de 20 % a 40 % del total de la parcela. El tamaño de la superficie con potencial municipal se muestra en la Figura 4.7.

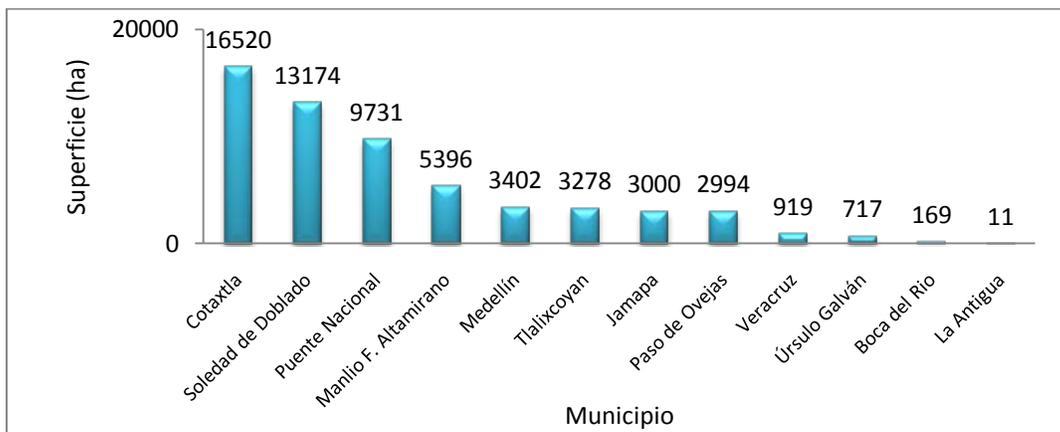


Figura 4. 7. Superficie agrícola potencial por municipio, para el cultivo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.).

Posteriormente, el potencial estimado para este cultivo se analizó por núcleo agrario y se presenta en la Figura 4.8, en donde cada punto corresponde a un núcleo, agrupado por municipio. Pocos núcleos agrarios presentaron potencial negativo ($< 0 \text{ jor ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$).

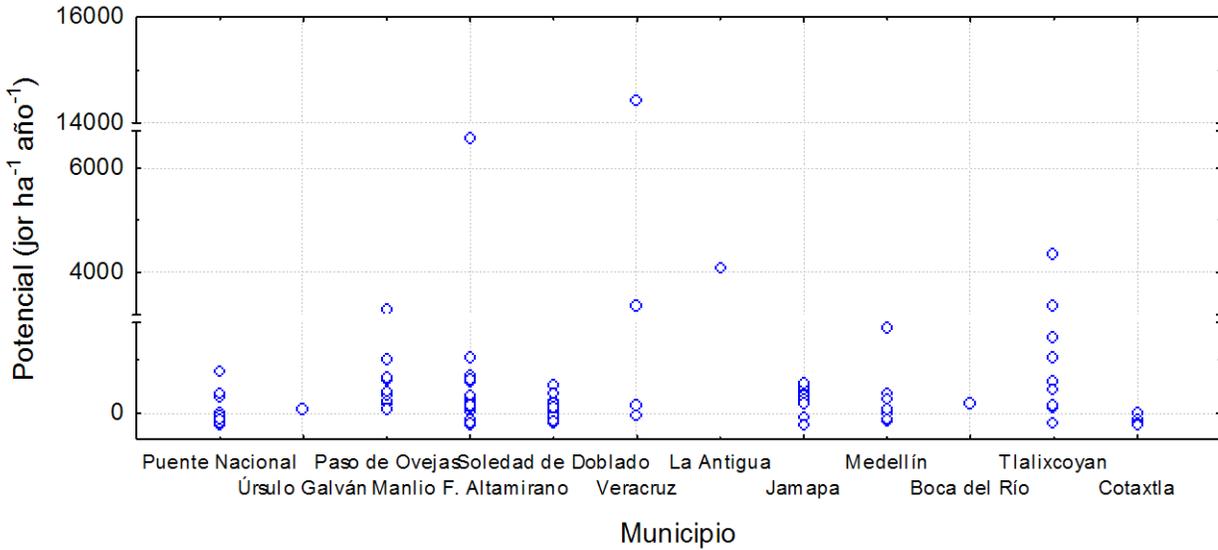


Figura 4. 8. Potencial para el cultivo de nim por municipio, donde cada punto representa a un núcleo agrario de temporal.

El potencial promedio resultó positivo para el cultivo de nim en los municipios de La Antigua, Veracruz, Tlaxiucoyan, Manlio F. Altamirano, Paso de Ovejas, Jamapa, Medellín de Bravo, Soledad de Doblado y Boca del Río (Cuadro 4.5), donde hay mano de obra que potencialmente puede dedicarse a las actividades de producción de semilla de nim, siempre y cuando esta población quisiera dedicarse a ello.

Cuadro 4. 5. Potencial por municipio para el cultivo de nim.

Municipio	Potencial Medio jor ha ⁻¹ año ⁻¹
La Antigua	4093
Veracruz	3610
Tlaxiucoyan	1251
Manlio F. Altamirano	860
Paso de Ovejas	756
Jamapa	230
Medellín de Bravo	221
Boca del Río	175
Úrsulo Galván	64
Soledad de Doblado	50
Puente Nacional	-10
Cotaxtla	-155

La vista geoespacial del potencial por núcleo agrario en el sistema IRIS se presenta en la Figura 4.9 A. Este mapa temático presenta los núcleos agrarios por la polaridad del potencial (negativo o positivo) para el cultivo de nim. En esta vista geoespacial se detallan las áreas con potencial positivo que pudieran albergar plantaciones de nim. El potencial fue proporcional a los jornales disponibles en el municipio por las localidades rurales en él y adyacentes. El potencial se acrecentó cuando el área fue reducida para estos jornales; tal es el caso del municipio La Antigua, que sólo tuvo 11.4 ha para 46,525 jor año⁻¹ del reservorio de mano de obra (Figura 4.9 B).

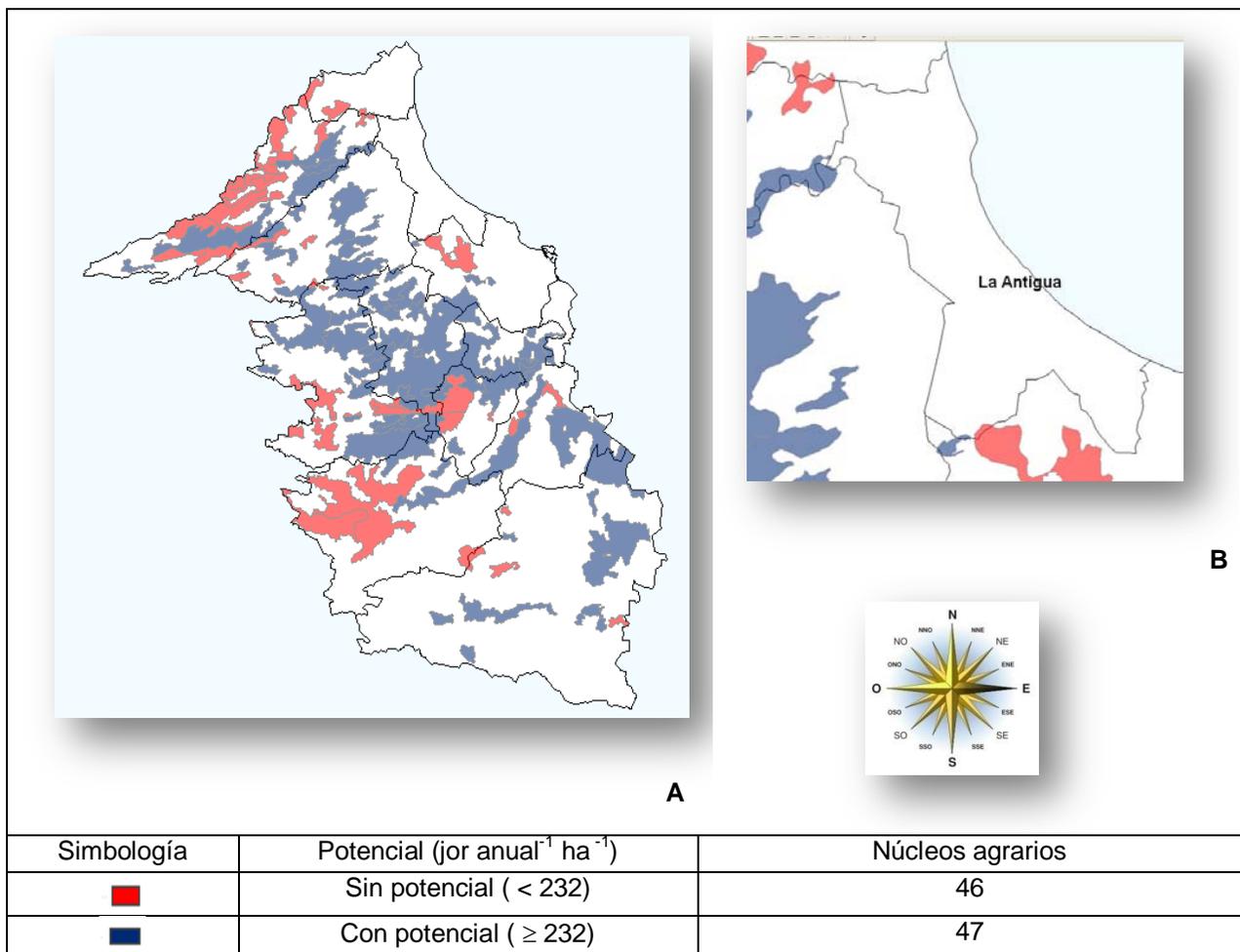


Figura 4. 9. A: Mapa temático del potencial por núcleos agrarios para el cultivo de nim, en doce municipios del centro de Veracruz. B: Acercamiento del potencial por núcleos agrarios del municipio de La Antigua.

4.4.1.3. Viabilidad para el cultivo de nim de los productores con agricultura de temporal

En la zona de temporal existió viabilidad para el cultivo de nim, aún cuando es una nueva actividad agrícola, ya que se cuenta con los jornales requeridos para el cultivo y el interés de los productores. Los municipios con viabilidad fueron La Antigua, Veracruz, Tlaxicoyan, Manlio F. Altamirano, Paso de Ovejas, Jamapa, Medellín de Bravo y Boca del Río (Figura 4.10). En estos municipios existieron condiciones para el establecimiento del cultivo de nim como actividad nueva e impulsora de crecimiento.

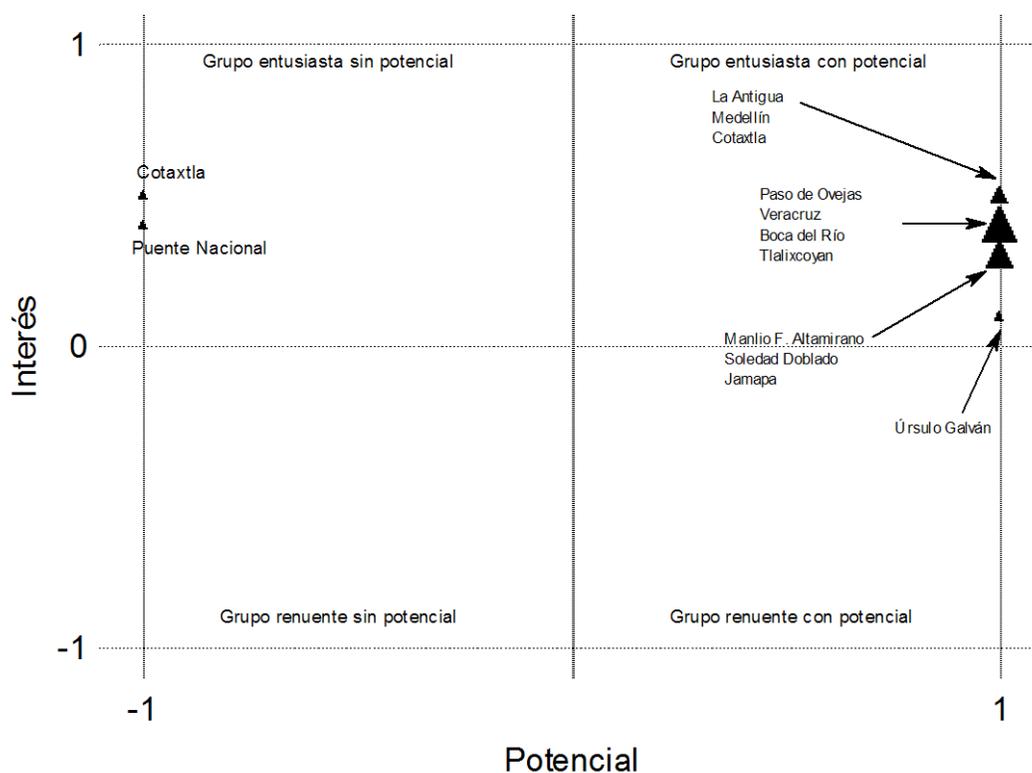


Figura 4. 10. Viabilidad de productores con agricultura de temporal para la producción de semilla de nim.

Sin embargo, existe un grupo que carece de viabilidad para el cultivo de nim, pues en los municipios Puente Nacional y Cotaxtla tuvieron una mayoría de núcleos agrarios carentes de viabilidad, que se detallan en las Figuras 4.11 y 4.12.

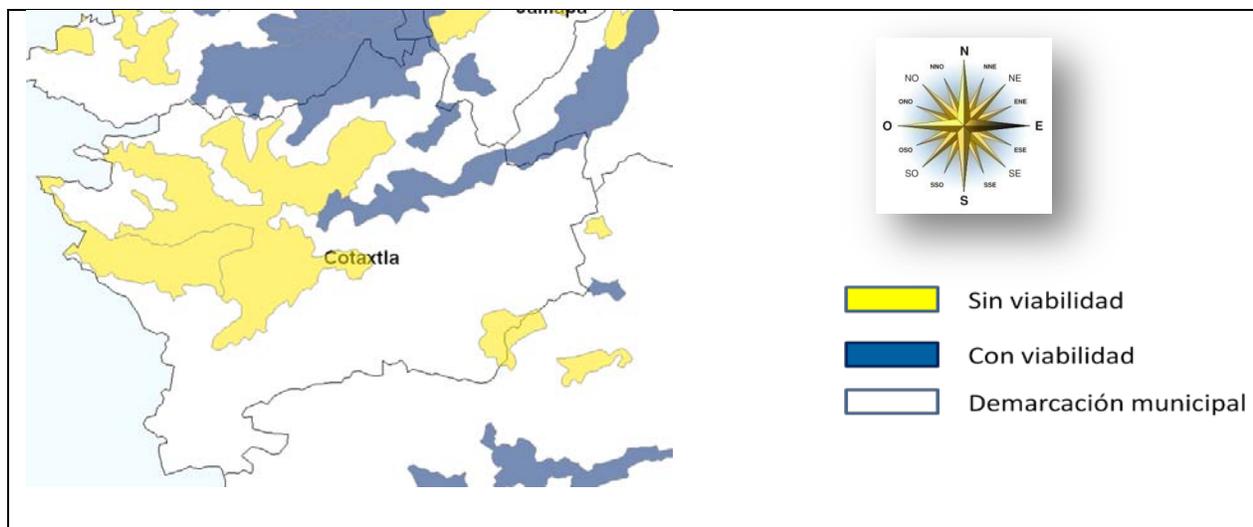


Figura 4. 11. Mapa temático de los sitios con viabilidad para el cultivo de nim en el municipio de Cotaxtla.

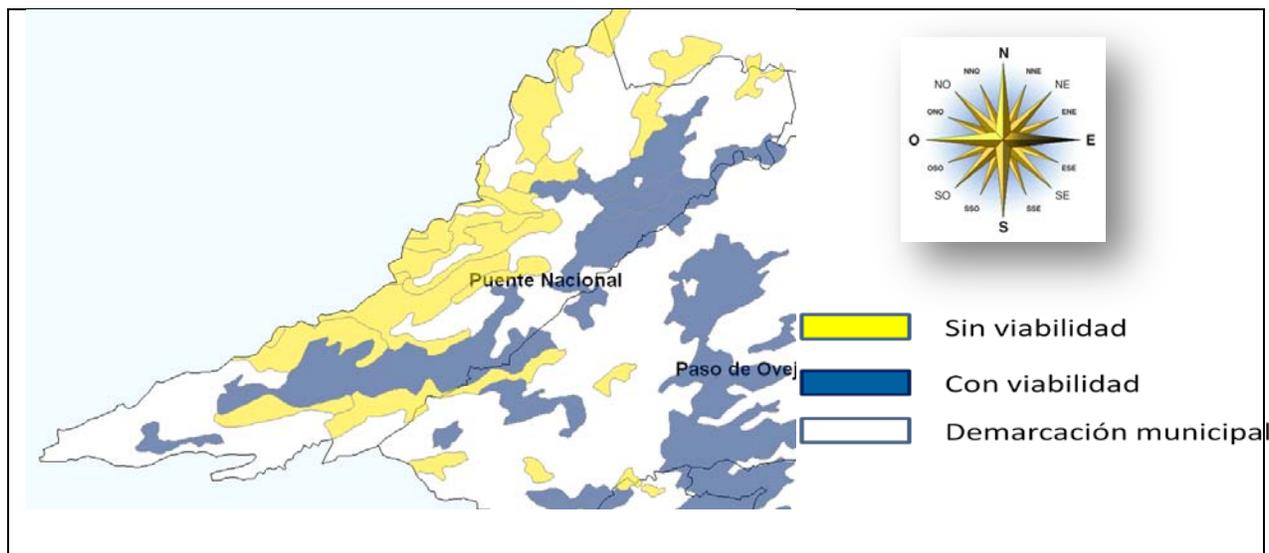


Figura 4. 12. Mapa temático de los sitios con viabilidad para el cultivo de nim en el municipio Puente Nacional.

Por otra parte, la viabilidad para el cultivo de nim fue positiva, pero existió un grupo minoritario que presentó renuencia a dicho cultivo (Figura 4.13). No obstante, la mayoría de los productores fueron entusiastas con potencial, que fácilmente se integrarían al cultivo de nim, sería ineludible satisfacer las necesidades detectadas, como aumentar el conocimiento sobre el cultivo. Un grupo minoritario fue entusiasta sin potencial; porque ellos tendrían que atraer jornales de localidades vecinas a más de 1.0

km para aumentar su potencial. Otra minoría fue el grupo de productores que sin ser influyentes, son renuentes y sin potencial para el cultivo; la estrategia sería propiciar su interés en el cultivo de nim a través de talleres participativos sobre la planeación a largo plazo en su unidad de producción, de acuerdo con la propuesta de Geilfus (1998). El 40 % de los productores expresaron que la producción de semilla de nim es un proyecto con posible éxito y únicamente 1 % opinó lo contrario, aunque una importante mayoría (59 %) se mostró indecisa.

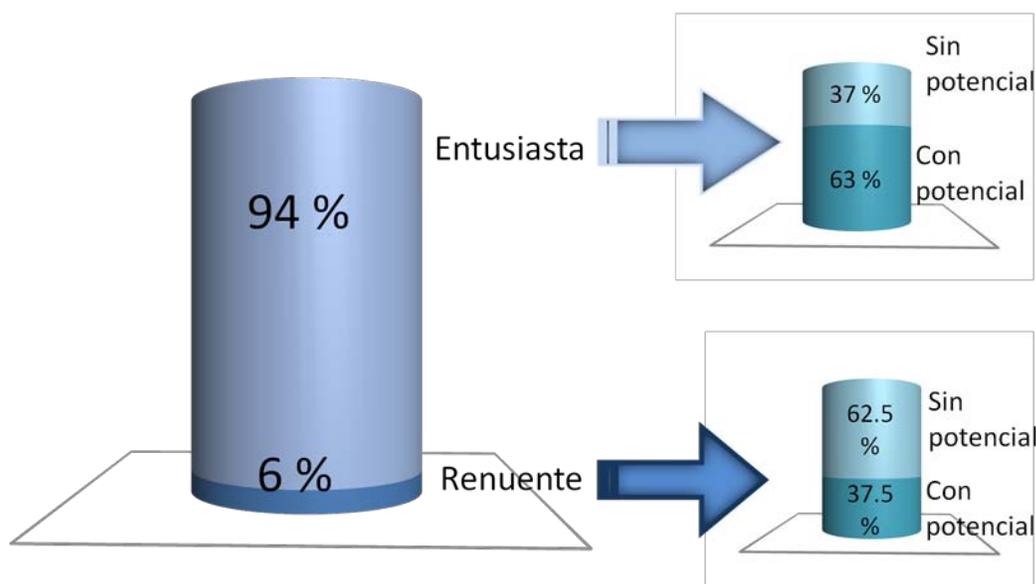


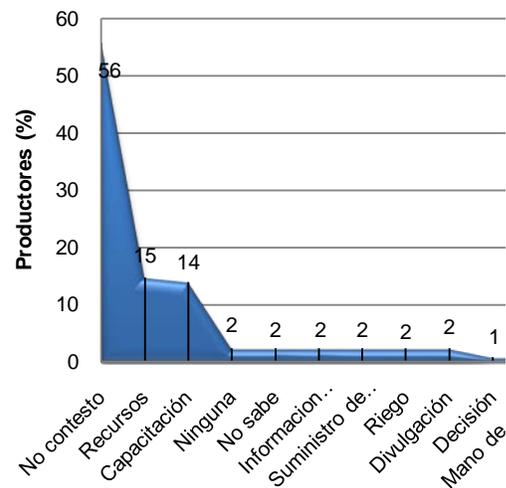
Figura 4. 13. Perfil psicográfico de productores agrícolas de temporal.

Los productores identificaron como su mayor problemática el clima, seguida del desconocimiento en el manejo del cultivo de nim; ellos piensan que aventurarse al cultivo sin el debido conocimiento sería también un problema (Figura 4.14A).

Por otra parte, la mayoría de los productores (72 de 129) fueron reservados cuando se trató de identificar las necesidades adicionales para el establecimiento del cultivo de nim (Figura 4.14B). Paradójicamente, una minoría opinó que no hay recursos económicos para iniciar la producción de semilla de nim, pero su frecuencia es mayor a los que identificaron como problema la falta de capacitación. Por tanto, los productores con agricultura de temporal se pueden considerar un agente con viabilidad para la

producción de semilla de nim.

Aunque la disponibilidad del material vegetativo para establecer el cultivo de nim no fue el principal problema identificado por los agricultores de temporal, el disponer de 12 millones de árboles para este fin es un punto crucial. Otro punto, importante en la experiencia de países como Bangladesh, India, Nepal, Pakistán, Sri Lanka, Tailandia, Ghana y Tanzania, las plantaciones de nim para la producción de semilla deben realizarse con orden, sabiendo de antemano su localización, bajo un sistema de registro del cultivo de la superficie sembrada, fecha de siembra, inventario de árboles y la distancia de la plantación a la localidad más cercana; además de los datos del productor (Thomsen *et al.*, 1998).



A

B

Figura 4. 14. A: Frecuencia de los problemas del cultivo de nim identificados por los productores agrícolas de temporal. B: Necesidad identificada por productores agrícolas de temporal para el cultivo de nim.

Un obstáculo no identificado por los productores de temporal de esta zona es su poca vinculación e infraestructura de comunicación. Este agente carece de las conexiones para la comunicación con el resto de la sociedad, no cuenta con los elementos

necesarios para realizar sus relaciones socioeconómicas y en tanto persista, su nulo poder de influencia da como resultado que sus necesidades sean ignoradas. Por ello es necesaria la participación de un nuevo agente que funcione como agencia agrícola de desarrollo, de carácter institucional alternativa que incluya a organizaciones privadas, públicas, sin fines de lucro o colectivas que vinculen la actividad agrícola con los demás agentes, con algún auspicio del gobierno. Otra alternativa son los promotores del desarrollo, como técnicos autónomos que ayuden a la gestión de recursos a través de proyectos productivos y a las actividades de vinculación durante la producción, con el fin de establecer un puente de comunicación y negociación en localidades rurales pequeñas, como se ha propuesto para varios países (Chiriboga, 1997). Así, propiciar la negociación en localidades rurales pequeñas con los demás agentes, aumentar sus capacidades, facilitándole los puentes de comunicación para establecer relaciones económicas entre sí y con los otros agentes. Chiriboga (1997) estudió al pequeño productor agrícola en 15 países, en donde las reformas han privilegiado el desmontaje del sistema institucional público de apoyo al desarrollo, en México solo los municipios de muy alta marginación son prioritarios en la Ley de Desarrollo Rural Sustentable, como Cotaxtla, Jamapa y Tlalixcoyan. En el resto de los municipios se ha mantenido la intención que el mercado resuelva su desarrollo; esto generó según este autor, perturbaciones en los mercados y desajustes en las instituciones de apoyo que vinculaban los pequeños productores.

El cultivo de nim enfocado a la cosecha de semilla y su transformación local puede dar lugar a la creación de una agroindustria floreciente, que genere empleo e ingresos adicionales (Radwanski y Wickens, 1981), ya que el nim es adaptable a esta zona de estudio, de acuerdo con un estudio de Rodríguez (*et al.*, 1998), quién observó que a temprana edad se adaptó bien a las condiciones agroclimáticas de la zona centro del estado de Veracruz, con rápido crecimiento y en su primer año de establecido presentó su ensayo floral.

Una ventaja de los agricultores es que todavía son ellos quienes deciden el uso del suelo y no contratistas, así la mayoría son sujetos libres de establecer el cultivo de nim

por contrato con la agroindustria establecida en México e interesada en su propia producción de azadiractina. Donde se establece el contrato compra venta de la cantidad y calidad del agroproducto, sin embargo no siempre se pactan mutuos beneficios a largo plazo (Mackinlay, 1996). Pero, la agricultura de contrato es una alternativa para pactar precio de garantía de la semilla y de esta manera dar certeza económica al cultivo de nim, siempre y cuando no se convierta en una forma de explotación de estos productores.

Aunque 88 % de los productores de temporal son propietarios de su tierra, 48,976 de un total de 66,983 personas padecen de un ingreso económico, pues esta población no es económicamente activa, recibe menos de un salario mínimo o no recibe retribución por su trabajo. Entonces, con sólo tener la propiedad de la tierra, para una mayoría de la población rural, no se crean las fuentes de empleo esperadas, tampoco se tiene una seguridad económica, por ende no se ha generado un sentimiento de satisfacción y estabilidad, incluso ni de desarrollo; como proponen Mendieta y Núñez (1961). Sin embargo, estas premisas como externalidades sobre la tierra como activo van más allá, también se ha considerado que todas las expectativas de desarrollo debieran de emanar de poseer la tierra, pero muchos agentes han eludido su responsabilidad en propiciar el desarrollo agrícola; precisamente en este estudio se observó que existen otros factores que influyen en la producción agrícola y deben de aparecer como un elemento constructor, como son el potencial e interés de los demás agentes involucrados para el uso de agroproductos.

4.4.2. Agroindustria de azadiractina establecida en México

El futuro uso comercial de azadiractina comienza con la producción de materia prima o semilla de nim por agricultores de la zona agrícola de temporal estudiada en la sección anterior. La fase siguiente corresponde a la industrialización de la semilla de nim por la agroindustria establecida en México, que generaría productos con base en azadiractina. Este agente haría posible la extracción del principio activo, la azadiractina,

a partir de la semilla de nim y su posterior conversión en un producto bioinsecticida. Por su importancia, en esta cadena de producción se seleccionó a las empresas que actualmente comercializan azadiractina como bioinsecticida. Dichas empresas fueron CERTIS, PHC México, Química Lucava, Velsimex S.A. de C.V., Anajalsa Agroquímicos y Ultraquímica Agrícola, S.A. de C.V. Estas seis empresas tienen en promedio 22.5 (\pm 5.5 EE) años de estar operando. El mercado que atienden primordialmente es el agrícola, seguido del mercado de jardinería e industrial (Figura 4.15A). El principal tipo de productos plaguicidas que comercializan es el químico (Figura 4.15B).

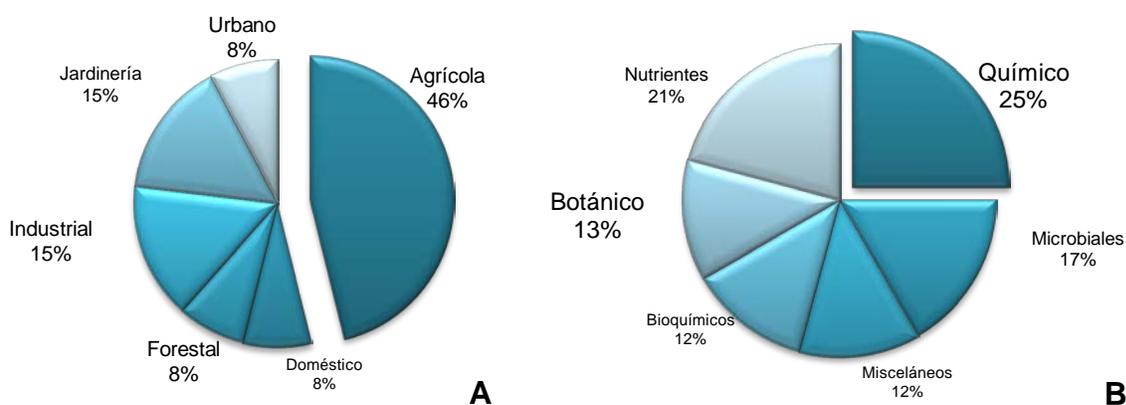


Figura 4. 15. A: Segmentos del mercado de plaguicidas, B: Tipología de plaguicidas. Ambos valores para la agroindustria establecida de azadiractina en México.

Entre todas las empresas entrevistadas, sus ventas reportadas fueron de MEX\$31 millones anuales (\pm 21 millones EE) de todos los productos que comercializan. Para los productos con base en azadiractina, 75 % de la agroindustria usó el ingrediente activo proveniente de la India, el resto lo obtuvo de México y Sudamérica. La agroindustria de azadiractina es reciente, ya que sólo tiene 4.8 (\pm 0.9 EE) años en el mercado. La mayoría de los ejecutivos entrevistados fueron hombres de 44 (\pm 1.8 EE) años promedio de edad, que representaron a su empresa. Los resultados de la agroindustria de azadiractina establecida en el país se centran en cuanto a su interés, potencial y viabilidad para la producción propia de esta molécula.

4.4.2.1. Interés en la producción propia de azadiractina de la agroindustria

La agroindustria fue entusiasta 0.52 (\pm 0.084 EE) y mostró más interés tipo cognitivo que en los otros dos aspectos, en la producción propia de azadiractina.

4.4.2.2. Potencial para la producción propia de azadiractina de la agroindustria

La agroindustria ya establecida tuvo un potencial positivo para la producción propia de azadiractina. El valor de mercado en 2008 de los productos de azadiractina fue de MEX\$1.2 millones en el centro de Veracruz. El promedio por empresa fue de MEX\$204,000 (\pm 160 EE). La empresa que dominó el mercado fue Ultraquímica Agrícola, S.A. de C.V., con una venta superior de MEX\$ 1 millón anuales para esta zona, mientras que tres empresas no tuvieron ventas ese año. El mercado de los bioinsecticidas de azadiractina ha crecido 273 % (\pm 158 EE) en los últimos cinco años. Todas las empresas expresaron optimismo en su pronóstico de venta dentro de 10 años (Figura 4.16). Este pronóstico de la agroindustria mexicana fue muy ambicioso, comparado con lo propuesto para el Caribe y América por Förster y Moser (2000), pues la expectativa del crecimiento uso de azadiractina será 88 % para los próximos 10 años, respecto a los últimos 50 años. Además de mostrar optimismo en las ventas, la agroindustria de azadiractina establecida en México fue un agente con potencial para la producción propia de este insecticida. El potencial en la producción propia de azadiractina por esta agroindustria fue en promedio de 0.25 (\pm 12 EE).

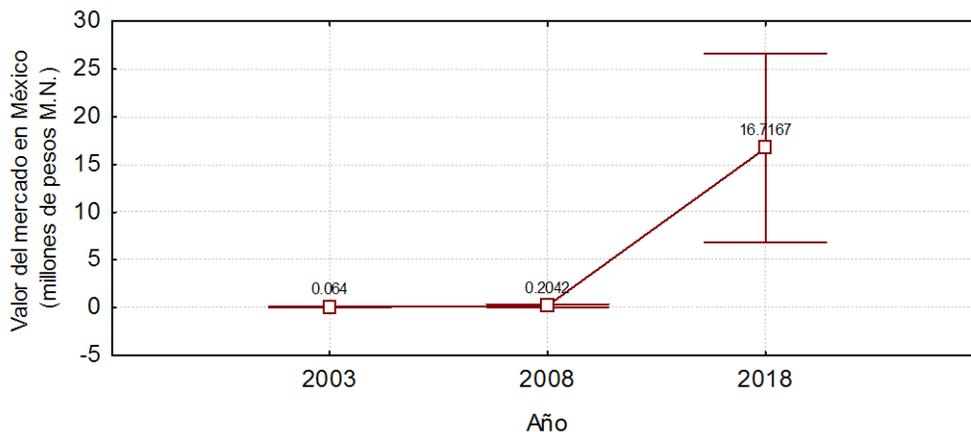


Figura 4. 16. Valor del mercado de productos bioinsecticidas de azadiractina por la agroindustria establecida en México en moneda nacional. \square Media; I Media \pm EE.

4.4.2.3. Viabilidad para la producción propia de azadiractina por la agroindustria

La agroindustria expresó que no tuvo producción propia de azadiractina, ya que actualmente se importa la materia prima; sólo una empresa usó materia prima del país comprada a un tercero. La agroindustria de azadiractina establecida en México mostró viabilidad positiva (Figura 4.17), excepto en el caso de Velsimex, S.A., que no tuvo el potencial para la producción propia de azadiractina. Aunque la agroindustria fue un agente que pudiera contribuir en la producción propia de azadiractina, los representantes expresaron que un problema para este fin sería la cantidad y calidad de la materia prima, que la azadiractina producida debe ser estable y que dada su inexperiencia, tendrían problemas técnicos para la producción. En un caso se expresó que posiblemente esta producción no tendría retribución financiera. Los representantes de la agroindustria pensaron que en promedio, la producción propia de azadiractina es un proyecto con posibilidades de éxito, aunque Anajalsa Agroquímicos expresó que la producción propia de azadiractina no tendría éxito. La agroindustria de azadiractina establecida en México fue un agente con viabilidad para la producción propia de este ingrediente activo.

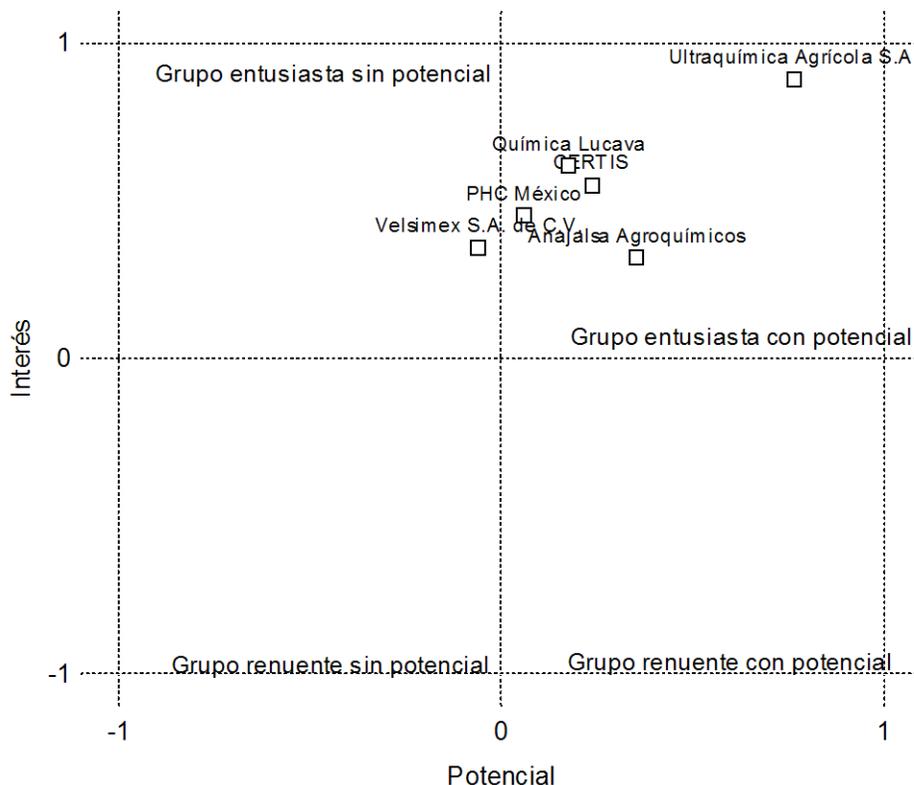


Figura 4. 17. Viabilidad de la agroindustria de México en la producción propia de azadiractina.

4.4.3. Productores de plantas ornamentales

Los productores de plantas ornamentales de la zona centro del estado de Veracruz conforman otro de los agentes con participación directa que usaría en su sistema productivo este bioinsecticida formulado con base en azadiractina. De los 38 individuos con unidades de producción localizados en su mayoría en los municipios de Medellín de Bravo y Fortín de las Flores (Figura 4.18A), 26 son hombres y 12 mujeres, ambos de 45.5 años \pm 2.1 EE de edad promedio, 42 % son propietarios y 40 % ejidatarios o comuneros (Figura 4.18B). Los productores entrevistados tuvieron 15.4 años (\pm 2.5 EE) de experiencia en su actividad y un ingreso mensual de MEX\$5,093 (\pm 1,245.5 EE) en

su cultivo primario y MEX\$3,139 (± 703.8 EE) con el cultivo secundario. Las especies cultivadas se muestran en la Figura 4.19.

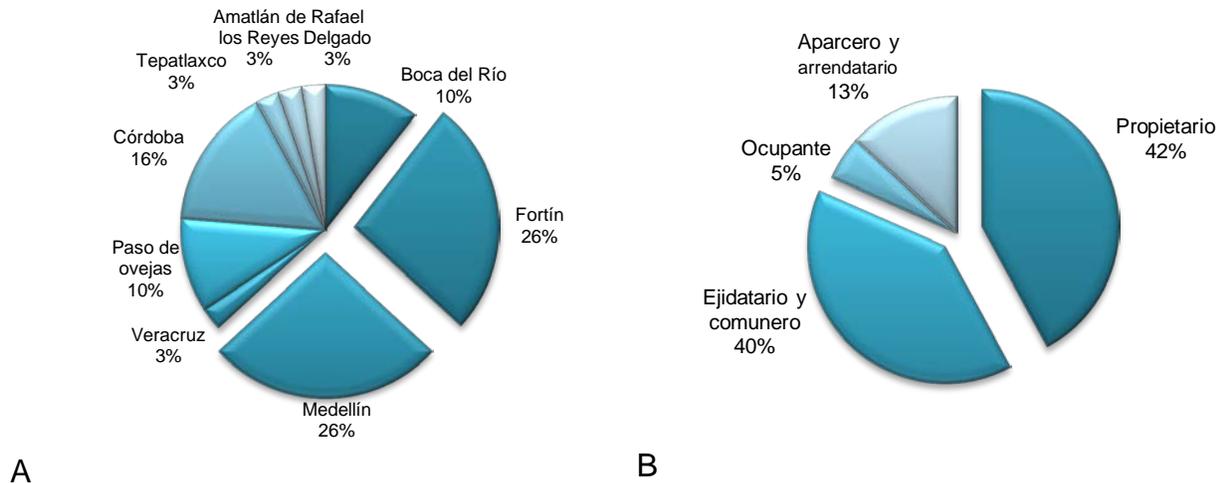


Figura 4. 18. A: Distribución municipal de productores de plantas ornamentales entrevistados. B: Tipo de tenencia de la tierra de los productores de plantas ornamentales entrevistados.

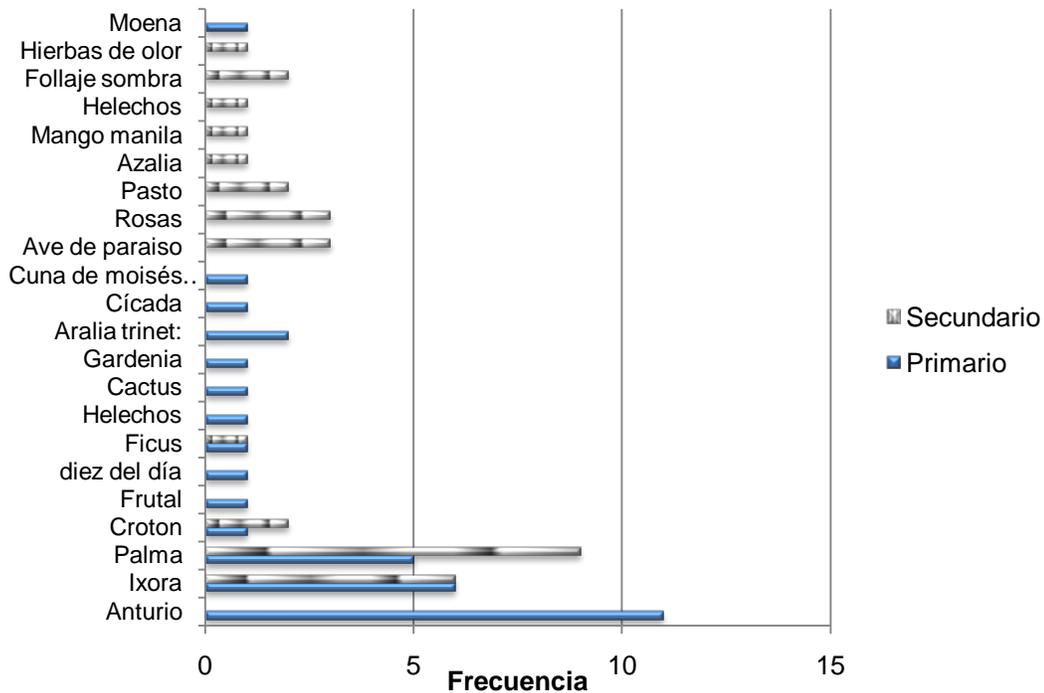


Figura 4. 19. Cultivos primarios y secundarios de los productores de plantas ornamentales entrevistados.

La mayoría de los entrevistados eligen el plaguicida a utilizar, sólo 26 % acude a la casa de agroquímicos, 18 % consulta a un ingeniero agrónomo, 22 % pregunta a otro agricultor, a una institución educativa, al fabricante o al distribuidor de agroquímicos para tomar esta decisión.

4.4.3.1. Interés en el uso de plaguicidas de azadiractina por productores de plantas ornamentales

En cuanto al interés en el uso de plaguicidas de azadiractina, 60 % de los productores de plantas ornamentales solicitaron más información sobre las sustancias naturales (Figura 4.20A). Debido a que consideran buenos los plaguicidas de azadiractina, no fueron renuentes al uso de esta molécula. Sin embargo, a nivel mundial los agricultores tienen confianza limitada en estos bioinsecticidas (Förster y Moser, 2000).

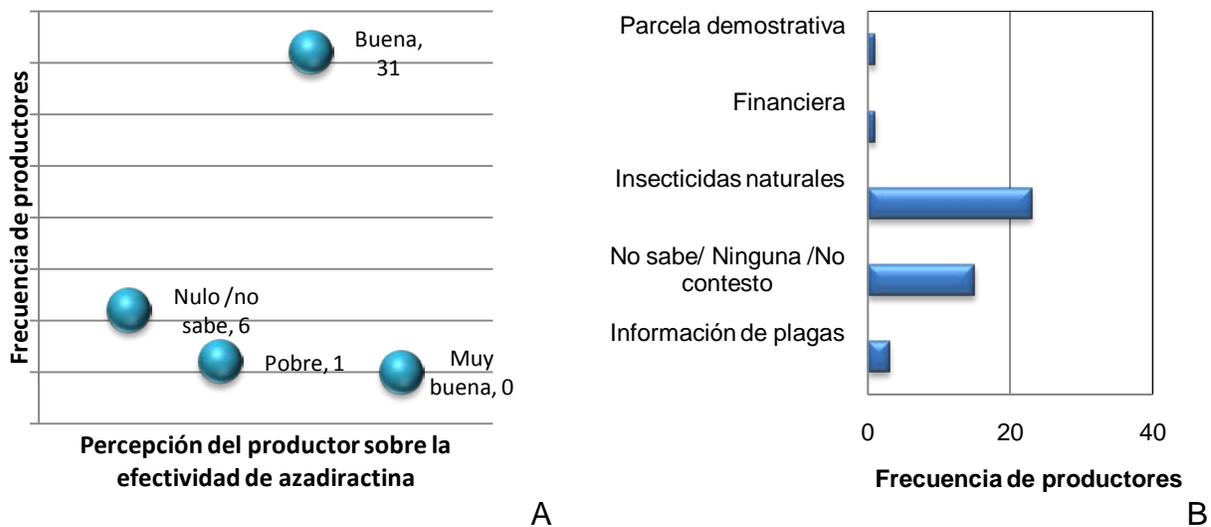
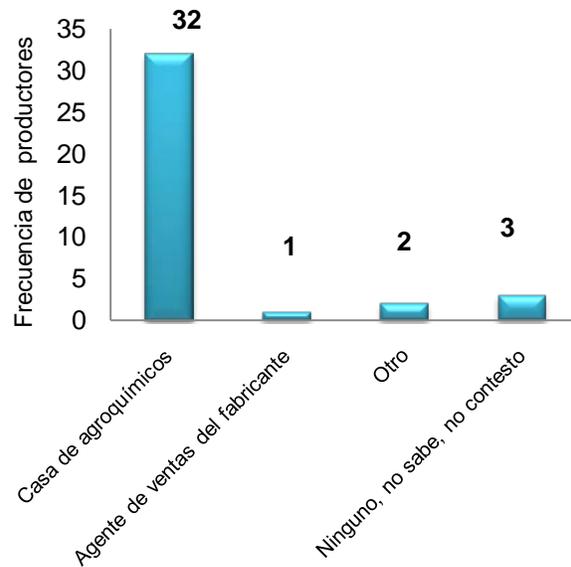
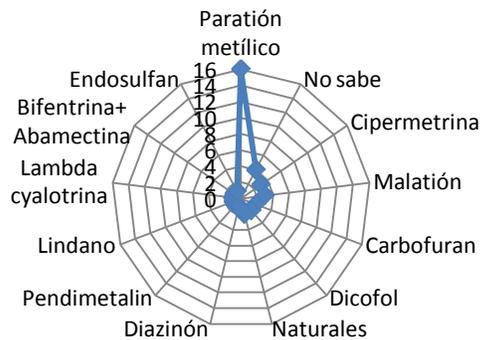


Figura 4. 20. A: Frecuencia de la percepción de los productores de plantas ornamentales sobre la sustancia insecticida natural como la azadiractina, del centro de Veracruz. B: Tipo de asesoría requerida por los productores de plantas ornamentales para el uso de insecticidas naturales del centro de Veracruz.

La mayoría de productores de plantas ornamentales necesitan asesoría en sustancias naturales para que puedan utilizarlos como insecticidas en sus unidades de producción, y en menor proporción requieren información sobre la plaga sujeta a control (Figura 4.20B). Los productores de plantas ornamentales fueron un agente entusiasta, con un promedio de 0.69 ± 0.27 EE, con mayor interés emotivo.

4.4.3.2. Potencial del uso de azadiractina como insecticida por productores de plantas ornamentales

Considerando el último año, los productores de plantas ornamentales gastaron en plaguicidas un monto de MEX\$ 2,436 (± 953 EE) ó USD\$ 219 (± 133 EE), de los productos que se mencionan en la Figura 4.21A. Los productos para el control de plagas mencionados, el AK-20® es el organoclorado dicofol es de uso restringido y no autorizado para su uso en ornamentales. Otro, el Bioquim® no tiene registro vigente de la COFEPRIS (2009). Además, el Thiodan® o endosulfan, es un organoclorado. El más mencionado fue el Foley® que contiene el organofosforado paratión metílico, seguido de Arrivo® a base del piretroide cipermetrina.



B

A

Figura 4. 21. Frecuencia de: A: plaguicidas usados y B: fuentes de suministro de plaguicidas a los productores de plantas ornamentales en el centro de Veracruz.

El canal de abastecimiento de los plaguicidas mencionados fue el establecimiento de venta directa identificado como “casa de agroquímicos” (Figura 4.21B). La temporada de mayor demanda fue en verano (57 %) y primavera (21 %) y 15 % en todas las estaciones, el resto no contestó; 89 % de los productores prefirieron la presentación de un litro, aunque el resto no contestó, 71 % gastó menos de MEX\$ 500 mensual en plaguicidas en temporada de mayor uso y el resto MEX\$ 1000 o más. La mayoría (89 %) pagó por los plaguicidas al contado y en efectivo, otros llevan a cabo la negociación por arreglo verbal (71 %).

La mitad de los productores de plantas ornamentales entrevistados expresaron que estarían dispuestos a pagar menos de MEX\$ 100 L⁻¹ de plaguicida de azadiractina, 18 % pagaría MEX\$ 500 y el resto una mayor cantidad por el producto. Esta actividad en el estado de Veracruz se realiza en 1,559 ha, por 2,768 unidades de producción y con 1,740 productores (Murguía-González *et al.*, 2007). En el supuesto que los productores sustituyeran el plaguicida de su preferencia por un bioinsecticida a base de azadiractina, este último tendría un mercado potencial de MEX\$ 4 millones anuales.

Los productores de plantas ornamentales tuvieron bajo potencial (0.05 ± 0.05 EE.). Este agente tuvo dos grupos con o sin potencial para el uso de plaguicidas de azadiractina.

4.4.3.3. Viabilidad en el uso de plaguicidas de azadiractina por los productores de plantas ornamentales

Los productores de plantas ornamentales se agruparon en tres categorías, la mayoría son entusiastas sin potencial, seguido por el grupo con entusiasmo con potencial y por último un solo caso que fue renuente con potencial (Figura 4.22). En su mayoría constituyeron un agente entusiasta, pero un grupo importante no tiene potencial para usar los productos de azadiractina en su unidad de producción (Figura 4.23). La mayoría de los productores de plantas ornamentales no asociaron un riesgo en su producción por el uso de plaguicidas con azadiractina (88 %), una minoría comentó que podría haber deterioro del suelo o quema de la planta y consideraron que posiblemente se usarían dosis inadecuadas. Una mayoría (63 %) mostró desconocimiento del uso de los plaguicidas de azadiractina, sin embargo, algunos comentaron que no esperarían problemas por ello (21 %). Un 9 % de los productores opinó que pueden ser inefectivos o con menor efecto insecticida y por ello existirían pérdidas en el cultivo o bien se presentaría daño en la planta. También, 5 % ven la posibilidad de que el producto no esté disponible y su costo fuese más alto de aquellos usados en sus cultivos.

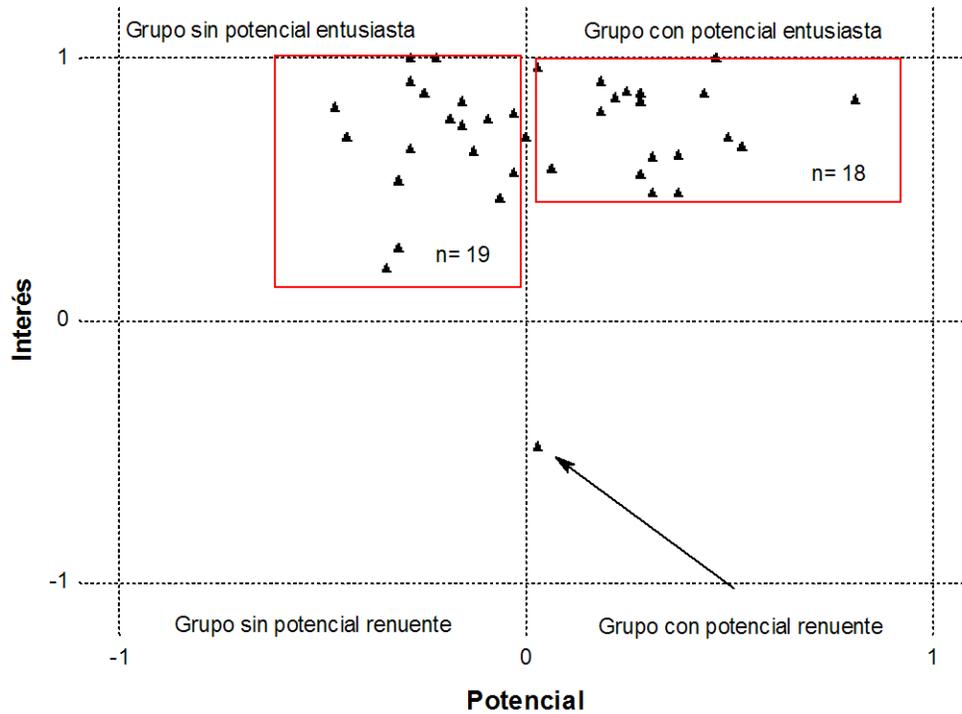


Figura 4. 22. Viabilidad de los productores de plantas ornamentales para el uso de azadiractina en su unidad de producción, del centro de Veracruz.

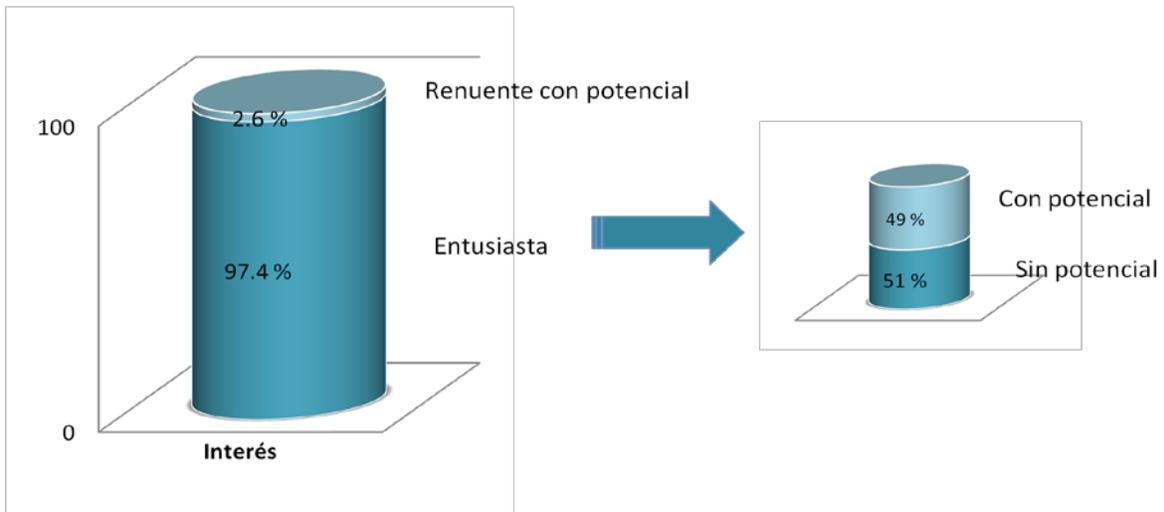


Figura 4. 23. Perfil psicográfico de productores de plantas ornamentales entrevistados para el uso de azadiractina en su unidad de producción, del centro de Veracruz.

Un tercio de los productores de plantas ornamentales (34 %) expresaron no tener alguna necesidad relacionada con incorporar el uso de plaguicidas de azadiractina en

su sistema de producción, en cambio un 45 % requirieron de más difusión y asesoría en el uso de este insecticida natural; además, 10.5 % consideró importante probar los plaguicidas de azadiractina. Una minoría (2.6 %) indicó interés en parcelas demostrativas, sustituir viejas prácticas en el control de plagas por esta sustancia natural o requieren de apoyo económico para llevar a cabo esta sustitución de plaguicidas por azadiractina. De los productores de plantas ornamentales 34 % operan con régimen fiscal de ejido, 31 % como pequeño productor agrícola y 5 % como sociedad cooperativa, aunque 29 % operó sin régimen fiscal.

4.4.4. Autoridad sanitaria en materia de plaguicidas

La autoridad sanitaria fue representada por la Gerencia de Plaguicidas de la COFEPRIS (Comisión Federal para Protección de Riesgos Sanitarios) con tres años en ejercicio de su responsabilidad. Este agente tiene bajo su responsabilidad expedir, prorrogar o revocar las autorizaciones sanitarias relacionadas con plaguicidas; además, define las políticas de dichas responsabilidades.

4.4.4.1. Interés en el apoyo del uso comercial de azadiractina por la autoridad sanitaria

El representante de la autoridad sanitaria se mostró entusiasta (0.5) con un mayor interés emotivo en el apoyo al uso comercial de azadiractina.

4.4.4.2. Potencial en el apoyo del uso comercial de azadiractina por la autoridad sanitaria

El representante de la autoridad sanitaria fue un agente con potencial (0.5), e influyente, reconocido por la comunidad científica y la agroindustria. También expresó

que podría vincularse para apoyar al uso comercial de azadiractina, pues es un agente fundamental y actor en las políticas públicas para el uso de bioinsecticidas. Este agente tiene la facultad de revocar los registros de plaguicidas restringidos que aún se usan en la producción de plantas ornamentales; sin embargo, no cuenta con un programa interno que fomente la sustitución de estos activos, ni el uso de bioinsecticidas de azadiractina u otra sustancia natural. Es un agente con el recurso financiero para realizar labores de apoyo que aliente a la investigación. La autoridad sanitaria está preparada para enfrentar los riesgos vinculados con la producción nacional de azadiractina y su uso comercial. Además, este agente expresó que los bioplaguicidas como la azadiractina tienen un perfil bajo de requerimientos para su autorización, sin embargo en las pruebas de reactividad, corrosividad, fotólisis e hidrólisis para este activo, esta dispuesto a solventar su análisis cuando se solicite por una iniciativa social.

4.4.4.3. Viabilidad de la autoridad sanitaria para el uso comercial de azadiractina

La autoridad sanitaria es un agente que favorece la viabilidad en el uso comercial de azadiractina. Con ambos indicadores este agente se clasificó en el grupo con potencial y entusiasta.

En las condiciones actuales, la autoridad sanitaria expresó que la agroindustria necesita acercarse a dicha autoridad con el propósito de recibir orientación técnica. También expresó que en la fabricación nacional de azadiractina, la agroindustria se enfrenta al desconocimiento de la regulación sanitaria en la producción de bioinsecticidas y que los fabricantes de bioinsecticidas de azadiractina, deberán asegurar la calidad de sus productos. Además, la sociedad en general enfrenta una limitada difusión de los bioinsecticidas.

4.4.5. Comunidad científica

Se entrevistó a los investigadores mexicanos que han publicado artículos científicos con el tema de azadiractina. El 87.5 % de los investigadores fueron hombres dedicados a este tipo de investigación con 4.15 (± 1.4 EE) artículos publicados hasta 2008. La experiencia en promedio de los entrevistados fue de 2.5 (± 0.3 EE) años en la investigación de azadiractina. El Colegio de Postgraduados fue la institución con más investigadores en esta categoría, con 37.5 % de los científicos. Las demás instituciones fueron la Universidad Autónoma de San Luis Potosí; el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias; el Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica; y el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo.

4.4.5.1. Interés en el apoyo del uso comercial de azadiractina de la comunidad científica

La comunidad científica se ha interesado en la investigación de azadiractina por diferentes razones, aunque predominó la iniciativa propia. En un porcentaje menor se investigó a solicitud de la agroindustria (Figura 4.24). Están entusiasmados en el apoyo del uso comercial de azadiractina 0.66 (± 0.06 EE), con mayor interés volitivo.

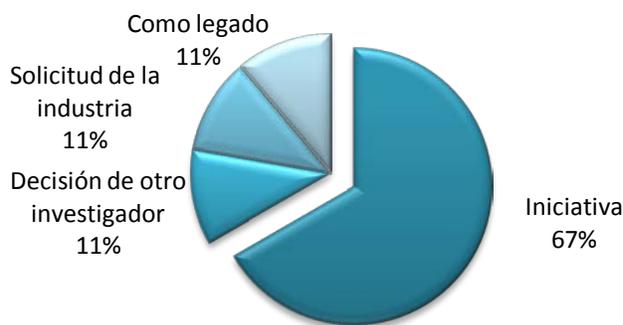


Figura 4. 24. Tipo de motivación para la investigación de azadiractina de la comunidad científica mexicana.

Por otra parte, la comunidad científica en promedio estuvo indecisa en realizar las pruebas de reactividad, corrosividad e inflamabilidad de la azadiractina, pero si fue entusiasta en dejar en dominio público su trabajo científico en los requerimientos de autorización sanitaria de este activo como plaguicida.

4.4.5.2. Potencial para apoyo del uso comercial de azadiractina de la comunidad científica

El potencial de la comunidad científica fue bajo, apenas de 0.18 ± 0.06 EE, pues este agente posee dos de los elementos que no tienen potencial. Una minoría no tuvo vínculo ni fue influyente con otros agentes, no tuvieron un programa de fomento de bioinsecticidas ni participan en políticas públicas que fomenten el uso de bioinsecticidas como la azadiractina. Una minoría investiga actualmente la azadiractina como bioinsecticida y es un grupo fuertemente vinculado entre sí.

4.4.5.3. Viabilidad de la comunidad científica para el uso comercial de azadiractina

La comunidad científica fue heterogénea, encontrándose un grupo nutrido de investigadores con potencial y entusiasta, y a su vez otro grupo minoritario sin potencial, pero aún así entusiastas (Figura 4.25).

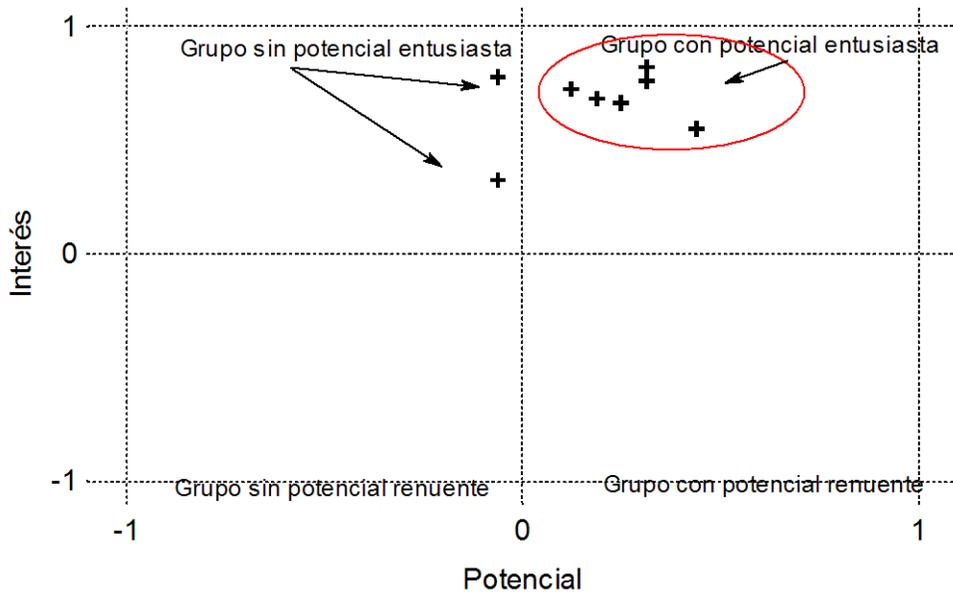


Figura 4. 25. Viabilidad de la comunidad científica mexicana para el apoyo de la producción nacional de azadiractina.

La mayoría de los investigadores expresaron que necesitan apoyo económico para realizar su función como soporte a la investigación de azadiractina. Entre los problemas identificados por la comunidad científica para la producción nacional de azadiractina fueron:

1. Poca infraestructura para esta actividad.
2. La semilla de nim tiene demasiados metabolitos que se deben identificar y no se cuenta con cada uno de los estándares para su análisis. Además de la cantidad, hay una alta variabilidad de dichos metabolitos la cual puede estar influenciada por la distribución geográfica de la planta, esto complica la estandarización de los extractos. Además, no hay un consenso sobre los estándares de calidad. Por lo que azadiractina carece de un control de calidad que garantice al consumidor lo que está comprando.
3. No existe una organización o fomento para esta actividad.

4. El mayor costo de la mano de obra mexicana sería un problema si se pretende competir con la India en la producción de semilla de nim. El nivel de competitividad del país también afectaría los costos de la producción de semilla de nim. Además, un gran problema es la falta de mano de obra para la colecta de la semilla del nim por lo menos en el noroeste de México.

Algunos investigadores están enfocados en incorporar el árbol de nim en climas áridos; por lo que expresaron la falta de estudios agroecológicos en estas zonas con el fin de mejorar la composición insecticida de la semilla. Un problema que detectaron fue la falta de suministro constante de materia prima (semilla u otras partes del nim) a precios accesibles, a la vez de contar con la seguridad de una buena rentabilidad del cultivo. Además, expresaron que no toda la información científica se encuentra disponible, ya que los procesos de elaboración del producto comercial son patentados, aunque este acceso a patentes se garantiza en diversos países. Así mismo, indican que hay demasiada información no-científica disponible que confunde a la sociedad y que los trabajos científicos realizados son todavía incipientes. Finalmente y aunque se generen los bioinsecticidas de azadiractina, se enfrentaría la necesidad de convencer a los agricultores de su efectividad y facilidad de uso, además de producirlos a un precio competitivo.

La comunidad científica identificó la necesidad de trabajar con los productores para darle viabilidad a su proceso y poner a disposición el producto bioinsecticida de azadiractina. Además, existe la necesidad de mayor recurso económico para investigar acerca de este activo, por encima de otros apoyos identificados en la Figura 4.26.

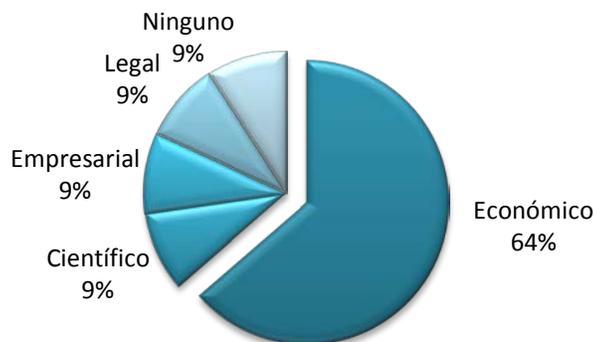


Figura 4. 26. Tipo apoyo requerido por la comunidad científica mexicana para la investigación de azadiractina.

También, comentó que se requiere recabar información de proveedores de materia prima, de la superficie nacional para el cultivo y la calidad de las fuentes de materia prima en las zonas productoras. Además, conocer o despertar el interés de la industria para generar una fuente nacional de azadiractina como proyecto estratégico con el gobierno, en donde se incluya su participación, y así lograr el equipamiento adecuado para estas instituciones mexicanas líderes en el tema.

Identificaron que existe la necesidad del desarrollo de formulaciones, incluyendo técnicas de extracción y purificación, con pruebas de efectividad e inocuidad en diferentes cultivos. Proponen determinar la estabilidad de productos y su efecto insecticida, así como los efectos en enemigos naturales. También, consideraron que la investigación tendrá que indagar la síntesis *in vitro* de azadiractina.

Se mencionó la necesidad de una promoción del cultivo de nim y del beneficio de usar plaguicidas orgánicos, como la azadiractina, en productos agrícolas. Se debe conocer la compatibilidad de los productos bioinsecticidas de azadiractina con otras técnicas agrícolas y de manejo integrado de plagas. Otra necesidad expresada fue contar con la alianza academia-industria para proyectos de producción de semilla de nim de mediano y largo plazo.

La comunidad científica es un agente que apoya y favorece la viabilidad en el uso comercial de azadiractina. Aunque 62 % de los investigadores se mostraron indecisos sobre el éxito de la fabricación nacional de estos bioinsecticidas.

4.4.6. Uso comercial de azadiractina y su integración a los agroecosistemas

Actualmente existe un aumento en la producción de alimentos en zonas especialmente seleccionadas; por ejemplo, en la India y México se concentra en las proximidades de los núcleos de rápido desarrollo, como las ciudades o centros industriales. Sin embargo, este éxito se circunscribe a un grupo pequeño de agricultores “favorecidos”, que practican la agricultura comercial porque tienen acceso a capital, capacitación y relaciones con las autoridades, muy por encima de la media (Radwanski y Wickens, 1981). En cambio, los agricultores de subsistencia o de temporal, son afectados por estas acciones, además de ser excluidos de la ayuda externa (Radwanski y Wickens, 1981). Estos productores necesitan de nuevos elementos para su progreso, además de una nueva perspectiva de análisis para replantear un cambio en la zona.

En los municipios estudiados, existe una población importante que vive en localidades con actividad agrícola de temporal, pero dispersa en localidades con menos de 800 habitantes. La mayoría de la población en los núcleos con agricultura de temporal y de las localidades adyacentes está inmersa en la inactividad económica, recibe jornales parciales o desarrolla una actividad que no genera un salario mínimo. La difícil situación del agricultor de temporal, tal como se describe en este documento, ha empeorado progresivamente, al igual que en otros países; de acuerdo con Radwanski y Wickens (1981), se está llegando a una crisis económica y política, precedida de erosión del suelo, el deterioro ambiental, una hambruna recurrente y una migración en masa a ciudades distantes y a otros países. Esta condición social obliga al establecimiento de una nueva actividad económica, desde la propuesta del desarrollo endógeno de la población, dado que el sector exportador no ha absorbido los jornales

disponibles en la zona (Polaski, 2003). La propagación del cultivo de nim no exige un capital inicial importante ni sofisticados conocimientos técnicos para su extracción; además, podría ser un área prometedora para la cooperación técnica entre investigadores y productores, con la promoción de pequeñas y medianas empresas (Förster y Moser, 2000), a la vez que puede ser usado por productores de plantas ornamentales del mismo estado.

Una nueva relación económica se originaría con la producción de semilla de nim como materia prima por los agricultores de la zona agrícola de temporal en los municipios estudiados, porque encadenaría con la industrialización de la semilla de nim por la agroindustria establecida en México de productos de azadiractina. Este agente hace posible la extracción del principio activo a partir de la semilla de nim y posteriormente procesar la azadiractina en un producto bioinsecticida. Finalmente, los productores de plantas ornamentales de estado de Veracruz conforman el último agente que usaría en su sistema productivo este bioinsecticida. Los tres agentes mencionados podrían llevar a cabo esta nueva relación económica, con el apoyo de la comunidad científica mexicana estudiosa de la azadiractina; quien facilitaría dicha actividad económica con el conocimiento generado sobre bioinsecticidas, en aspectos científicos y tecnológicos de su producción agrícola e industrial. La autoridad sanitaria sería un agente de apoyo que regularía esta relación económica y establecería el marco legal sanitario de los bioinsecticidas de azadiractina.

La integración de la azadiractina en los agroecosistemas fue viable por los grupos mayoritarios de todos los agentes pero hubo dos grupos que no tuvieron viabilidad pues carecieron de potencial o fue renuente.

Como el grupo renuente fue minoría; no fue necesario plantear la forma de contrarrestarlo y apelar al grupo entusiasta sin influencia que quiere la integración comercial de azadiractina. Por otra parte, ningún grupo fue renuente sin potencial. En el Cuadro 4.6 se muestra la matriz con las características de los tres grupos encontrados.

Cuadro 4. 1. Perfil psicográfico de los agentes para el uso comercial de azadiractina y su integración a los agroecosistemas.

Perfil psicográfico		Grupo entusiasta con potencial			
Agentes	Productor de temporal	Agroindustria	Comunidad científica	Productores de plantas ornamentales	Autoridad sanitaria
	La Antigua Veracruz Tlaxiucocoyan Manlio F. Altamirano	CERTIS PHC México Química Lucava Anajalsa Agroquímicos	75 %	47.4 %	
	Paso de Ovejas Jamapa Medellín de Bravo Boca del Río Úrsulo Galván Soledad de Doblado	Ultraquímica Agrícola S.A. de C.V.			
Características	Grupo en su mayoría hombres, que presentaron optimismo en el uso comercial de azadiractina y su integración a los agroecosistemas. Poseen recursos para llevar a cabo su participación en esta nueva actividad, excepto la comunidad científica. Aunque presentaron poca vinculación e influencia entre sí. Su fortaleza es su experiencia, excepto la comunidad científica que sólo cuenta con algunos años en su actividad científica.				
Perfil psicográfico		Grupo entusiasta sin potencial			
Agentes	Productor de temporal	Agroindustria	Comunidad científica	Productor de plantas ornamentales	
	Puente Nacional Cotaxtla	Velsimex S.A. de C.V.	25 %	50 %	
Características	Grupo automotivado en su mayoría hombres que presentaron optimismo en el uso comercial de azadiractina y su integración a los agroecosistemas, pero sin los recursos para participar en esta nueva actividad.				
Perfil psicográfico		Grupo renuente con potencial			
Agentes	Productor de plantas ornamentales				
	2.6 %				
Características	Grupo desmotivado en su mayoría hombres, que presentaron pesimismo en el uso comercial de azadiractina y su integración a los agroecosistemas, pero con recursos económicos para su participación en esta nueva actividad.				

Todos los grupos fueron poco influyentes y vinculantes entre sí. El grupo renuente con potencial no podría impedir que los demás agentes lleven a cabo el uso comercial de

azadiractina y su integración a los agroecosistemas, ya que forman una minoría. El grupo sin potencial pero entusiasta, estuvo compuesto de productores temporaleros de los municipios, que sí tienen superficie apta pero no tuvieron los jornales disponibles para el cultivo; sin embargo, en estos municipios podrían establecer el cultivo de nim en una superficie menor a la estimada o sólo en los núcleos agrarios con potencial positivo. La comunidad científica y miembros de la agroindustria son una minoría que debe aumentar su vínculo con los demás agentes para acrecentar su poder de influencia sobre ellos, a la vez que visualice diferentes fuentes de recursos económicos.

Aunque el potencial está diferenciado en los agentes, la secuenciación es posible mientras se establezcan relaciones equilibradas entre ellos, pues el cultivo de nim tiene cabida en la zona de temporal en los municipios estudiados y puede articularse en una nueva cadena de valor a partir de producción e industrialización de la semilla. La articulación es posible dado que los agentes son independientes entre sí y no existen encadenamientos previos que imposibiliten el uso comercial de la azadiractina. No hay indicios de un comportamiento conflictivo en los agentes, aunque tampoco preexiste la coordinación entre ellos. Aunque, los agentes están interesados en su participación en el uso comercial de azadiractina, sólo hay diálogo entre dos de los agentes, comunidad científica y agroindustria. Ninguno cuenta con alianzas productivas con otros agentes ni programas internos para el uso comercial de azadiractina. Algunos de los agentes están fortalecidos, pero el agente inicial es el eslabón más aislado. Los agentes entusiastas no fueron influyentes entre sí y esto dificulta llevar a cabo el uso comercial e integración de azadiractina a los agroecosistemas. En este sentido, la agroindustria tuvo una posición de liderazgo pues puede conglomerar el entusiasmo de todos, aunado al interés volitivo de la autoridad sanitaria, ya que ofreció una participación como un agente de apoyo. Por otra parte, la forma de aumentar la influencia entre los agentes se dará cuando se conforme un grupo de fomento e interactúen. Además, otra limitante, una minoría de todos los agentes estudiados participa en la formulación de las políticas y normas para el fomento del uso comercial de azadiractina.

4.5. Conclusiones

La viabilidad del uso comercial de azadiractina en los agroecosistemas fue positiva, pues un grupo mayoritario de los agentes tuvieron interés y potencial en el proceso de producción, transformación y uso de azadiractina. Este grupo entusiasta y con potencial se conformó por los productores de temporal de los municipios: La Antigua, Veracruz, Tlaxcoyan, Manlio F. Altamirano, Paso de Ovejas, Jamapa, Medellín de Bravo, Boca del Río, Úrsulo Galván y Soledad de Doblado; las empresas CERTIS, PHC México, Química Lucava, Anajalsa Agroquímicos y Ultraquímica Agrícola, S.A de C.V.; 49 % de los productores de plantas ornamentales de estado de Veracruz; la autoridad sanitaria y seis de los científicos entrevistados. A la par hay dos grupos sin viabilidad en el uso comercial de azadiractina, ya que un grupo fue carente de potencial y otro de entusiasmo.

Existe la posibilidad de cultivar el nim en la zona de temporal de diez de los municipios estudiados, así como de llevar a cabo la transformación de la semilla de nim a plaguicidas de azadiractina por la agroindustria establecida en México; por lo que es posible usar bioinsecticidas a base de azadiractina en la producción de plantas ornamentales, además es posible llevarlo a cabo favorablemente con el apoyo de la autoridad sanitaria y la comunidad científica mexicana que estudia la azadiractina.

La coordinación del uso comercial de azadiractina es posible, pues el cultivo de nim tiene cabida en la zona de temporal en los municipios estudiados y puede articularse de ahí en una nueva cadena de valor. Esta articulación es viable, ya que los agentes son independientes entre sí y no existen encadenamientos previos que imposibiliten el uso comercial de la azadiractina. No hubo indicios de un comportamiento conflictivo entre los agentes, aunque no preexiste la coordinación entre sí. Los agentes respondieron con una visión compartida cuando se les cuestionó su participación en el uso comercial de azadiractina, pero sólo hay diálogo entre dos de los agentes. Ninguno

cuenta con alianzas productivas ni programas internos para este uso. Una minoría participa en la formulación de las políticas y normas para el fomento del uso comercial de azadiractina. Algunos de los agentes están fortalecidos, sin embargo el agente inicial, el agricultor de temporal, es el eslabón más aislado, dado que no está relacionado con los demás agentes estudiados. Este agente carece de las conexiones para la comunicación con el resto de la sociedad, no cuenta con los elementos necesarios para realizar sus relaciones socioeconómicas, ni con la infraestructura de vinculación; en tanto siga teniendo un nulo poder de influencia da como resultado que sus necesidades serán ignoradas. Es necesario la participación de un nuevo agente que funcione como agencia agrícola privada o colectiva que vincule la actividad agrícola con los demás agentes, con algún auspicio del gobierno o en su lugar promotores del desarrollo, como técnicos autónomos que ayuden a la gestión de recursos a través de proyectos productivos y a las actividades de vinculación durante la producción, con el fin de establecer un puente de comunicación y negociación en localidades rurales pequeñas.

Los municipios de Puente Nacional y Cotaxtla presentaron un potencial negativo, porque la relación de la superficie disponible al cultivo de nim fue mayor a la disponibilidad de mano de obra para las labores de dicho cultivo.

Los resultados muestran que la relación de superficie de tierra por propietario es pequeña, pues cada uno posee en promedio 8 ha. Esta es una situación desfavorable para la actividad agrícola y un factor limitante (De Ita, 2003), sin embargo la superficie disponible para el cultivo de nim en los doce municipios es de 59,000 ha. Por otra parte, para la actividad agrícola tiene como restricción, la disponibilidad de la mano de obra (FAO, 2003), pero sólo fue una limitante en dos municipios Cotaxtla y Puente Nacional. Sin embargo, en estos municipios, se propone únicamente elegir a los núcleos agrarios detectados con mano de obra disponible.

Por otra parte, la población rural con agricultura de temporal en su mayoría vive en localidades con menos de 800 habitantes, con una disponibilidad menor per cápita en

caminos asfaltados que las zonas desarrolladas a nivel nacional (Moreno, 2008), Entonces dependen de las oportunidades locales para su ocupación agrícola y en este sentido el cultivo de nim es aceptado por los propietarios. Aunque, los agricultores de temporal la mayoría fueron propietarios, esta población padece de remuneración económica, pues está desocupada, no tiene ingresos por su trabajo o recibe menos de un salario mínimo.

Las expectativas de desarrollo estuvieron fincadas en la posesión de la tierra, pues es un activo, un medio de poder, identidad, progreso o desarrollo, Sin embargo, este estudio se observó que existen otros factores que influyen en las actividades productivas y deben de aparecer como un elemento constructor, como es el potencial e interés de los demás agentes involucrados para el uso de los productos de origen agrícola.

4.6. Literatura citada

Alarcón, M. A. M., S. Muñoz. 2008. Medición en salud: Algunas consideraciones metodológicas. Rev. Méd. Chile. 136: 125-130.

Anónimo, 2002a. Libro-Guía para el Análisis Social: para la incorporación de las dimensiones sociales en proyectos apoyados por el Banco. Departamento de Desarrollo Social Banco Mundial. *In*: Danis, A. A. [En línea]. Disponible en <http://siteresources.worldbank.org/SOCIALANALYSIS/214578-1111998982522/20486272/SocialAnalysisSourcebookAugust7.pdf> (Consultado el 30 de Septiembre de 2008).

Anónimo, 2002b. Restauración de bosques con enfoque de paisaje en Centroamérica. Principios y lineamiento. Managua, Nicaragua. [En línea]. Disponible en http://assets.panda.org/downloads/camericaflrworkshop_d9j7.pdf. (Consultado el 30 de Septiembre de 2008).

Araya I. and H. Peters. 2000. Participación de comunidades locales en la gestión de áreas protegidas y sus zonas de apoyo: Primeros pasos en la formación de un comité de manejo compartido en la Reserva de Producción Faunística Cuyabeno, Amazonía Ecuatoriana Proyecto PETRAMAZ (Proyecto ECU/B7-3010/94/130 Gestión Ambiental: Explotación Petrolífera y Desarrollo Sostenible en la Amazonía

- Ecuatoriana). Preparado para entregar en la reunión 2000 de la Asociación de Estudios Latinoamericanos, Hyatt Regency Miami, USA. 22 p.
- Betancourt-Yáñez, P. y P. Pulido. 2006. Actitud de los agricultores hacia el manejo y conservación del suelo y agua en dos comunidades rurales del estado Lara, Venezuela. *Bioagro* 18(3): 155-161.
- Blanco-Rosas, J. L. 2006. Erosión de la agrobiodiversidad en la milpa de los Zoques Popoluca de Sotepan: Xutuchincon y Aktevet. Tesis de doctorado en antropología social. Universidad Iberoamericana. Ciudad de México, México. 355 p.
- Boisier, S. 2001. Sociedad del conocimiento, conocimiento social y gestión territorial. *Revista Internacional de Desarrollo Local* 2(3): 9-28.
- Chiriboga, M. 1997. Desafíos de la pequeña agricultura familiar frente a la globalización. *In: El Desarrollo Sostenible en el Medio Rural*. Facultad latinoamericana de ciencias sociales. FLACSO-Sede Quito (Ed.). Quito, Ecuador. pp 63-88.
- COFEPRIS (2009). Registros de plaguicidas autorizados por categoría toxicológica. [En línea]. Disponible en: <http://www.cofepris.gob.mx/work/sites/cfp/resources/LocalContent/340/5/regplag.pdf>. (Consultado el 5 de septiembre de 2009).
- Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL). 2005. Aprendizajes del enfoque social para la superación de la pobreza. En: Informe Mesa Redonda. [En línea]. Disponible en: http://www.eclac.cl/dds/noticias/paginas/5/23235/Informe_Mesa_redonda_capital_social.pdf. (Consultado el 30 de septiembre de 2008).
- Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL). 2007. La cohesión social en los países desarrollados: conceptos e indicadores. *Serie Estudios Estadísticos y Prospectivos* 55: 1-56.
- Consejo Nacional de Población (CONAPO). 2006. Brindar alternativas a la emigración rural y fortalecer la justicia distributiva en las regiones de mayor rezago en los centros regionales de población. *In: Informe de Ejecución 2003-2004 del Programa Nacional de Población 2001-2006*. [En línea]. Disponible en <http://www.conapo.gob.mx/micros/infavance/2006/00preliminares.pdf>. (Consultado el 30 de Septiembre de 2008).
- Cornett, J. D. y W. Beckner. 1975. *Introductory Statistics for the Behavioral Sciences*. *In: Merrill, C. E., A. Bell y Howell (eds.)*. Columbus, OH, USA, 276 p.

- De Ita, A. 2003. México: impacto del Procede en los conflictos agrarios y la concentración de la tierra. Mimeo, CECCAM (Centro de Estudios para el Cambio en el Campo Mexicano). [En línea]. Disponible en: <http://www.acciontierra.org/display.php?article=181>. (Consultado el 8 de marzo de 2010).
- FAO. 2003. Tenencia de la tierra y desarrollo rural. FAO Estudios Sobre Tenencia de la Tierra. 3: 1-60.
- Fondo Monetario Internacional. 1995. Social Dimensions of the IMF's Policy Dialogue. *In: Walter, T (ed.)*. Pamphlet Series 47. Copenhagen, Dinamarca. 39 p.
- Förster, P. y G. Moser. 2000. Status report on global neem usage. Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH (ed.). Eschborn, Germany. 122 p.
- Geilfus, F. 1998. 80 herramientas para el desarrollo participativo: diagnóstico, planificación, monitoreo, evaluación. *In: Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) y Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) (eds)*. San Salvador, El Salvador. 208 p.
- Giménez, G. 1997. Materiales para una teoría de las identidades sociales. *Revista Frontera Norte* 9(18): 9-28.
- Hernández, E.J. C. 2003. La distribución territorial de la población rural. *In: En Situación Demográfica de México*. CONAPO (Ed.), Ciudad de México. México. pp 63-75.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 1993. Conjunto de Datos Vectoriales E1403 de la Carta Topográfica Escala 1:250,000 (Veracruz). Dirección General de Geografía – INEGI (Ed.).
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 2001a. Conjunto de Datos Vectoriales E1403 de la Carta de Uso del Suelo y Vegetación, Escala 1:250,000, Serie II (VERACRUZ). Dirección General de Geografía – INEGI (Ed.). México.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 2001b. Conjunto de Datos Vectoriales E1406 de la Carta de Uso del Suelo y Vegetación, Escala 1:250,000, Serie II (ORIZABA). Dirección General de Geografía – INEGI (Ed.). México.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 2007. Núcleos Agrarios Tabulados Básicos Por Municipio: Veracruz Ignacio de la Llave. INEGI (Ed.). Ciudad de México, México, 213 p.

- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. (INEGI). 2008. II Censo de Población y Vivienda 2005. Perfil sociodemográfico de los Estados Unidos Mexicanos. Ciudad de México, México.
- Long, N. 1996. Globalization and localization: new challenges to rural research. *In*: Moore, H. L. (Ed.). *The Future of Anthropological Knowledge: The uses of knowledges: Global and Local Relations*. London. ASA Decennial Conference Series. Routledge, London. pp 37-59.
- Loudjeva, Z. 2002. Social Analysis Sourcebook. Social Assessment. [En línea]. Disponible en H:\deb\Social Analysis\spanish\text. (Consultado el 30 de Septiembre de 2008).
- Mackinlay, H. 1996. Las organizaciones campesinas y la nueva agricultura de contrato: la rama del tabaco. *Estudios Agrarios* 4: 1-12.
- Mejía, O. C., A. E. Jaramillo. 2004. Evaluación de la viabilidad de un proyecto hotelero en la ciudad de Barranquilla a desarrollar por la firma Hoteles Estelar S.A. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ingeniería. Carrera de industrial. Bogota, Colombia. 109 p.
- Mendieta y Núñez, L. 1961. La Propiedad de la Tierra. *Journal of Inter-American Studies* 3(1): 27-39.
- Moreno, P. S. 2008. La infraestructura y la competitividad en México. *In*: López, M. A. (ed.). *Centro de estudios sociales y de opinión pública* 60. Ciudad de México. México. 34 p.
- Murguía-González, J., H. Lee-Espinosa, I. Landero-Torres. 2007. La horticultura ornamental en el estado de Veracruz, México. *Actas de Horticultura* 48: 444-488.
- Pino, Ma. De los Á., Ma. E. Dominí, A. Ramírez, L. Hernández, M. Ponce, E. Cálves, Z. Terán, A. Yong y H. Ríos. 2005. Aspectos metodológicos a tener en cuenta para la implementación del fitomejoramiento participativo en agricultura urbana. *Cultivos Tropicales* 26(3): 17-21.
- Polaski, S. 2003. Empleo, salarios e ingreso del grupo familiar. *In*: Papademetriou, D., J. Audley, S. Polaski, S. La Promesa y la Realidad del TLCAN. 1: 11-40. Vaughan. (eds). [En línea]. Disponible en: http://www.carnegieendowment.org/pdf/files/NAFTA_Spanish_fulltext.pdf. (Consultado el 4 de febrero de 2009).
- Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD). 2005. La identificación de potencialidades. *In*: Equipo para el Desarrollo Humano Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. *Conceptos e Instrumentos. Serie Desarrollo Humano* No. 7. Lima, Perú. 105 p.

- Radwanski, S. A. y G. E., Wickens. 1981. Vegetative fallows and potential value of the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss.) in the Tropics. *Economic Botany* 35(4): 398-414.
- Rodríguez, L. D. A. 1998. Adaptabilidad del árbol de margosa (*Azadirachta indica* A. Juss.) en la zona centro de Veracruz y su utilidad en el combate de la broca del cafeto. (*Hypothenemus hampei* Ferr.). Tesis de Doctor en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Veracruz, México. 186 p.
- Rubio, B. 2002. La exclusión de los campesinos y las nuevas corrientes teóricas de interpretación. *Nueva Sociedad Aportes*. 182: 21-33.
- Ruiz-Corral, J. A., A. García-Berber, J. L. Vázquez -Jiménez, M. A. Cilva, G. Medina-García, J. R. Regalado-Ruvalcaba, J. R. Chávez-Camacho, P. Díaz-Mederos, C. Santiago-Dueñas y F. M. Del Toro-Contreras. 2005. Potencial productivo agrícola de la región costa norte de Jalisco. *In: Ruiz -Corral, J. A., J. R. Chávez-Camacho y C. González -Sánchez*. Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México. 223 p.
- Schotter, A. 1987. La Economía de libre mercado: una valoración crítica. *In: Ariel* (Ed.). España. 158 p.
- Thomsen, A., L. Graudal y C. P. Hansen. 1998. Ensayos Internacionales de Procedencias: Descripción de las fuentes de semilla de neem. [En línea]. Disponible en: <http://www.fao.org/DOCREP/005/AC618S/AC618S00.htm#TopOfPage>. (Consultado el 25 de febrero de 2009).
- Trejo, J. 2003. Características del empleo rural. *In: INEGI* (ed.). Taller 12 Medición y Caracterización del Empleo en las Encuestas de Hogares. Ciudad de México, México. pp 159-179.
- Venkateswarlu, B. and Korwar, G.R. 2005, Micropropagation Technology for Multipurpose Trees: From Laboratory to Farmers Fields, *Research Bulletin*, Central Research Institute for Dryland Agriculture, Hyderabad, India, pp. 1-30.
- Xin, T. y M. Wegener. 2004. Developing a sustainable neem industry in China. *In: Proceedings of the 16th Annual Conference of the Association for Chinese Economics Studies*, Australia (ACESA). Brisbane, QLD, Australia. 30 p.

CONCLUSIONES GENERALES

En este apartado se exponen los aspectos sobre los métodos de extracción, posterior se hacen precisiones del efecto insecticida de los extractos. Seguido se abordará la caracterización del extracto que reunió los mejores resultados en la concentración de AZA y mayor efecto en *A. gossypii*. Finalmente se expone la viabilidad del uso comercial de azadiractina y su integración de los agroecosistemas del centro de Veracruz.

La máxima concentración de azadiractina se obtuvo con metanol en comparación con hexano, *d*-limoneno y agua con los procesos de presión en frío y Soxhlet de la semilla con endocarpio de *A. indica*.

Además este extracto por extrusión en frío metanólica o Azadirex produjo mayor contenido de azadiractina y mejor efecto insecticida en *Aphis gossypii* Glover, sin efecto fitotóxico en *Ixora coccinea* L., respecto a tres procesos convencionales: la extracción acuosa, extrusión simple y Soxhlet con hexano.

El análisis de la semilla de *A. indica* con endocarpio obtenida de árboles en el Municipio de Manlio F. Altamirano, Veracruz, mostró que contiene nimbina, salanina y azadiractinas A y B (AZA y AZB), a diferentes concentraciones. El extracto metanólico por extrusión, azadirex, de esta semilla con endocarpio también presentó dichos activos. En el azadirex, la salanina se encontró en mayor proporción que las demás sustancias probadas. Las azadiractinas A y B se encontraron en una concentración similar a la nimbina.

La viabilidad del uso comercial de azadiractina en los agroecosistemas fue positiva, pues hubo un grupo mayoritario de los agentes que tuvieron interés y potencial en el proceso de producción, transformación y uso del azadiractina. Este grupo entusiasta y con potencial se conformó por: a) los productores de temporal en los municipios La Antigua, Veracruz, Tlalixcoyan, Manlio F. Altamirano, Paso de Ovejas, Jamapa,

Medellín de Bravo, Boca del Río, Úrsulo Galván y Soledad de Doblado; las empresas CERTIS, PHC México, Química Lucava, Anajalsa Agroquímicos y Ultraquímica Agrícola, S.A de C.V.; b) 49 % de los productores de plantas ornamentales de estado de Veracruz; c) la autoridad sanitaria y d) seis de los científicos entrevistados. Sin embargo, entre los grupos es inviable este uso, ya que uno de los dos grupos entusiastas careció del potencial para realizar dicha actividad: la minoría de los productores de temporal, la agroindustria Velsimex S.A. de C.V., 25 % de los científicos entrevistados, y 50 % de los productores de plantas ornamentales del centro de Veracruz. Así mismo, 2.6 % de los productores de plantas ornamentales conforman el otro caso sin viabilidad, pues tuvieron el potencial pero fueron renuentes.

En la viabilidad del uso comercial de azadiractina, se reconocieron dos puntos críticos. Uno fue la producción de semilla de nim y el otro su industrialización. En la producción de la semilla de nim, la mayoría de los productores agrícolas de temporal del centro de Veracruz están dotados de entusiasmo y tienen los recursos para incorporar el cultivo de nim, pero carecen de sentido de liderazgo, aunque tienen un fuerte interés en el trabajo en grupo. Una ventaja de los agricultores es que todavía son ellos quienes deciden el uso del suelo, pues no son aparceros o arrendatarios. A la par que son sujetos a agricultura de contrato con la agroindustria de azadiractina establecida en México, siempre y cuando se pacte con beneficios mutuos a largo plazo. Sin embargo, es un agente no vinculado, ni influyente que necesita de un acompañante en el aprendizaje del manejo del cultivo, que puede ser la comunidad científica, académica o ingenieros agrónomos contratados, o una alternativa de enseñanza en medios masivos de comunicación. Además, estos agentes precisan de un nuevo agente dotado de infraestructura que funcione como vinculante con la agroindustria. Por otra parte, la fuente del material vegetativo es un punto crucial para establecer el cultivo de nim. La producción de semilla de nim debe realizarse con orden, bajo un sistema de registro del cultivo, la superficie sembrada, la fecha de siembra de la plantación, el inventario de árboles, la distancia de la plantación a la localidad más cercana; incluyendo los datos del productor. Además, los productores de temporal tuvieron una expectativa financiera

o ganancia reservada, esta situación, permite que su producto agrícola sea más atractivo al siguiente agente que lo procesa. Privilegian el interés familiar y profesional sobre el financiero, asimismo del bienestar para todos, pero carecen de formas asociativas y habilidades para relacionarse con los demás agentes, lo que podría limitar la producción múltiple agrícola y la industrialización de la semilla de nim. Además, los productores responden con mayor intensidad a su interés emocional, pero con limitado interés volitivo, es decir, cuando se les coloca en el nivel de las acciones se muestran reservados o menos entusiasmados.

Para la industrialización de la semilla, la agroindustria tiene experiencia previa e infraestructura para el uso comercial de azadiractina, además posee una actitud de liderazgo. Sin embargo, no está dispuesta a trabajar con sus competidores. Aunque carece de infraestructura y tecnología especial para la industrialización de la semilla, la comunidad científica está dispuesta a trabajar en equipo y proveer a la industria de un paquete tecnológico. Pero es necesario contar con un estímulo económico provisto por la autoridad para las inversiones en la industrialización de la semilla de nim y para los trámites de autorización; en este sentido la autoridad sanitaria expresó su interés en apoyar agilizando y disminuyendo los requerimientos en la industrialización, formulación y comercialización de la azadiractina.

Respecto a la integración de la azadiractina a los agroecosistemas del centro de Veracruz, el potencial estuvo diferenciado entre los agentes, pero la secuenciación es posible mientras se establezcan relaciones equilibradas entre ellos. El cultivo de nim tiene cabida en la zona de temporal en los municipios estudiados y puede articularse en una nueva cadena de valor a partir de la producción e industrialización de la semilla. La articulación es posible, pues los agentes son independientes entre sí y no existen encadenamientos previos que imposibiliten el uso comercial de la azadiractina. No hay indicios de un comportamiento conflictivo entre los agentes, aunque tampoco preexiste la coordinación. Existe oportunidad de mercado para la industrialización de la semilla de nim, así como para bioinsecticidas basados en azadiractina. Los agentes respondieron con interés cuando se les preguntó acerca de su participación en el uso

comercial de azadiractina, pero sólo hay diálogo entre dos agentes. Ninguno cuenta con alianzas productivas ni programas internos para el uso comercial de azadiractina. Algunos de los agentes están fortalecidos, el agente inicial es el eslabón más aislado.

ANEXOS

Anexo 1. Instrumento para la entrevista al agricultor de temporal del centro de Veracruz.



Guía de encuesta a los posibles productores de semilla de nim

El objetivo de este instrumento es recolectar información sobre el interés de la producción de semilla de nim en el centro de Veracruz. Los datos recabados son confidenciales y serán usados con fines académicos.

Encuesta

Gracias por participar en este interesante estudio. Su participación nos ayudará a conocer lo que nuestra comunidad piensa sobre la producción de semilla de nim como bioinsecticida. Los resultados ayudarán a entender cómo será posible que este giro se consolide en nuestro país. Sus actitudes, opiniones, participación en ventas y su interés son importantes para este estudio y se mantendrán en estricta confidencialidad.

Indicaciones: por favor, conteste cuidadosamente y responda a la pregunta con la opción que represente mejor sus respuestas.

Fecha de la entrevista: _____

Nombre del entrevistador: _____

FOLIO _____

A. INTRODUCCIÓN																										
1	¿Qué tipo de actividad desempeña?	años																								
<input type="checkbox"/> 1 Productor <input type="checkbox"/> 4 Otro <input type="checkbox"/> 3 Ambos <input type="checkbox"/> 2 Jornalero <input type="checkbox"/> 5 Ninguno																										
2	¿Qué tipo de tenencia de tierra tiene?	años																								
<input type="checkbox"/> 1 Propietario y ejidatario <input type="checkbox"/> 3 Ocupante <input type="checkbox"/> 5 Pecuarios sin tierra <input type="checkbox"/> 2 Ejidatario y comunero <input type="checkbox"/> 4 Aparcero y arrendatario <input type="checkbox"/> 6 Otro																										
3	¿Cuántos años tiene de antigüedad en la actividad?	años																								
4	Indique la forma en que tiene distribuida la tierra	años																								
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 30%;">Uso de suelo</th> <th style="width: 30%;">Riego (ha)</th> <th style="width: 30%;">Temporal (ha)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><input type="checkbox"/>1 Agrícola</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/>2 Ganadero</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/>3 Agropecuario</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/>4 Forestal</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/>5 Reserva</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/>6 Descanso</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/>7 Otro</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>			Uso de suelo	Riego (ha)	Temporal (ha)	<input type="checkbox"/> 1 Agrícola			<input type="checkbox"/> 2 Ganadero			<input type="checkbox"/> 3 Agropecuario			<input type="checkbox"/> 4 Forestal			<input type="checkbox"/> 5 Reserva			<input type="checkbox"/> 6 Descanso			<input type="checkbox"/> 7 Otro		
Uso de suelo	Riego (ha)	Temporal (ha)																								
<input type="checkbox"/> 1 Agrícola																										
<input type="checkbox"/> 2 Ganadero																										
<input type="checkbox"/> 3 Agropecuario																										
<input type="checkbox"/> 4 Forestal																										
<input type="checkbox"/> 5 Reserva																										
<input type="checkbox"/> 6 Descanso																										
<input type="checkbox"/> 7 Otro																										

6 ¿Sobre qué giro tiene interés en ampliar la producción?

Uso de suelo	Riego (ha)	Temporal (ha)
<input type="checkbox"/> 1 Agrícola		
<input type="checkbox"/> 2 Ganadero		
<input type="checkbox"/> 3 Agropecuario		
<input type="checkbox"/> 4 Forestal		
<input type="checkbox"/> 5 Reserva		
<input type="checkbox"/> 6 Otro		
<input type="checkbox"/> 7 Ninguno		

B. Interés

B1 Interés emotivo y económico

7 ¿Considera necesario recibir estímulo económico de la autoridad para iniciar o incrementar el cultivo de nim?

1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No
--------------	--	---------------

8 En el supuesto que inicie o incremente el cultivo de nim ¿Cuál es la expectativa financiera?

0. Nula/No sabe/ Indeciso	1. Poca	2. Medianamente	3. Alta	4. Muy alta
----------------------------------	----------------	------------------------	----------------	--------------------

9a ¿Con qué propósito iniciaría la producción propia de azadiractina?

1: Ser líder en la producción de semilla de nim	3: Recuperar zonas improductivas o de bajo rendimiento en el cultivo de su preferencia	5: Por contribuir a la protección de la salud humana	7: Ninguno
2: Diversificar el ingreso en su unidad de producción	4: Por la protección al medio ambiente	6: Económico	

9b ¿Con qué intención iniciaría la producción propia de azadiractina?

1: Financiero	2: Personal	3: Político	4: Profesional	5: Familiar	6: Social	7: Ninguno
----------------------	--------------------	--------------------	-----------------------	--------------------	------------------	-------------------

B. 2 Interés cognitivo

10 ¿Está usted interesado en conocer el manejo agronómico de árbol de nim?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
------------------------------------	--	--	------------------------------------	--------------------------------

11 ¿Cuán interesado está tomar cursos de capacitación en la cosecha de semilla de nim?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
------------------------------------	--	--	------------------------------------	--------------------------------

12 ¿Está interesado en conocer cuales son las fuentes de suministro de material vegetativo para el establecimiento de la plantación de nim?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
------------------------------------	--	--	------------------------------------	--------------------------------

B.3 Interés volitivo

13 ¿Qué tanto interés tiene usted en incorporar el cultivo del árbol de nim en su parcela para la cosecha de semilla?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
------------------------------------	--	--	------------------------------------	--------------------------------

14 ¿Qué tan interesado está en invertir el recurso económico para establecer el cultivo de nim?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
------------------------------------	--	--	------------------------------------	--------------------------------

15 En el supuesto que inicie o incremente el cultivo de nim ¿Cuánta es la superficie que destinaría a este nuevo cultivo?

- Superficie (ha)
- 1: menos de 1 4: de 3 a 4
- 2: de 1 a 2 5: de 4 a 5
- 3: de 2 a 3 6: más de 5

3: de 2 a 3

16 ¿Se interesa en participar en un grupo de fomento de producción de bioinsecticidas de azadiractina nacional?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
------------------------------------	--	--	------------------------------------	--------------------------------

C. CONTEXTO

17 Con base en su experiencia ¿Considera que la producción de semilla de nim será un negocio exitoso?

1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No
--------------	--	---------------

18 Con base en su experiencia y en orden de importancia ¿Cuáles problemas tendría en la producción de semilla de nim?

1. _____

2. _____

3. _____

19 Algún otro comentario sobre el cultivo de nim para la producción de semilla, ¿Qué hace falta?

D. DATOS DE IDENTIFICACIÓN

20 Georreferencia

21 Dirección..... _____

22 Nombre del informante..... _____

23 Sexo:..... 1. Hombre 2. Mujer

24 Edad..... [] años

25 MUNICIPIO

1 <input type="checkbox"/> Puente Nacional	7 <input type="checkbox"/> Veracruz
2 <input type="checkbox"/> Úrsulo Galván	8 <input type="checkbox"/> Cotaxtla
3 <input type="checkbox"/> Paso de Ovejas	9 <input type="checkbox"/> Jamapa
4 <input type="checkbox"/> La Antigua	10 <input type="checkbox"/> Medellín de Bravo
5 <input type="checkbox"/> Soledad de Doblado	11 <input type="checkbox"/> Boca del Río
6 <input type="checkbox"/> Manlio Fabio Altamirano	12 <input type="checkbox"/> Tlalixcoyan

26 REGIMEN FISCAL

1 <input type="checkbox"/> Ejido o comunidad	10 <input type="checkbox"/> Federación de sociedades cooperativas
2 <input type="checkbox"/> Sociedad anónima de capital variable	11 <input type="checkbox"/> Unión de sociedades de producción rural
3 <input type="checkbox"/> Sociedad cooperativa	12 <input type="checkbox"/> Asociación rural de interés colectivo
4 <input type="checkbox"/> Sociedad de producción rural	13 <input type="checkbox"/> Confederación de sociedades cooperativas
5 <input type="checkbox"/> Asociación civil	14 <input type="checkbox"/> Sociedad anónima
6 <input type="checkbox"/> Sociedad civil	15 <input type="checkbox"/> Persona física o pequeño productor
7 <input type="checkbox"/> Unión de crédito	16 <input type="checkbox"/> Ninguno
8 <input type="checkbox"/> Fideicomiso	17 <input type="checkbox"/> Otro: _____
9 <input type="checkbox"/> Unión de ejidos o comunidades	

Muchas gracias por responder a nuestras preguntas.

- 11 Neem-Azal® Técnico Azadiractina 28 Natuneem® 1%
 12 Aza-Direct® 1.2 CE 29 Oneen® 1%
 13 Neemazal® 1.2 CE Azadiractina 30 Neem QI®
 14 Granim® Azadiractina 31 Tre-Neem® 1%
 15 Fortune® Aza 3% CE 32 Azadiractina
 16 Fortune® Eco-Neem 3% CE 33 Otro _____
 17 Fortune® Aza Guard 3% CE 34 Ninguno

8 ¿Desde cuándo produce o comercializa productos de azadiractina?..... años

9 ¿Cuál es el origen de la materia prima o los productos bioinsecticidas de azadiractina?

- 1 Nacional 6 África
 2 De la India 7 Sudamérica
 3 Otros países asiáticos 8 Otro _____
 4 E.U. 9 Ninguno, No se, No conozco, Información
 5 Europa confidencial

B. Interés

B1 Interés cognitivo

10 ¿Qué tan interesado está en conocer las actuales condiciones del país en la producción nacional de azadiractina?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
-----------------------------------	---------------------------------------	---	-----------------------------------	-------------------------------

11 ¿Cuán interesado está en adquirir el conocimiento generado por las instituciones de investigación del país para la producción propia de azadiractina?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
-----------------------------------	---------------------------------------	---	-----------------------------------	-------------------------------

12 ¿Está interesado en conocer las tecnologías disponibles para la producción propia de azadiractina?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
-----------------------------------	---------------------------------------	---	-----------------------------------	-------------------------------

13 ¿Cuán interesado está en conocer a los demás involucrados en la producción nacional de azadiractina (como productores de semilla, autoridad sanitaria y comunidad científica)?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
-----------------------------------	---------------------------------------	---	-----------------------------------	-------------------------------

14 ¿Qué tipo de apoyo requiere para llevar a cabo la producción propia de azadiractina?

B2 Interés emotivo

15 ¿Considera necesario recibir estímulos fiscales de la autoridad para iniciar la producción propia de azadiractina?

1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No
-------	---------------------------------	--------

16 En el supuesto que inicie la producción propia de azadiractina ¿Cuál es la expectativa financiera?

0. Nula/No sabe/ Indeciso	1. Poca	2. Medianamente	3. Alta	4. Muy alta
---------------------------------	---------	-----------------	---------	-------------

17 ¿Cuál propósito incentivaría la producción propia de azadiractina?

1: Ubicar a la empresa	2: Consolidar	3: Colocar a su	4: Colocarse como una	5: Ubicarse	6: Como seguidor	7: Económic
---------------------------	---------------	--------------------	--------------------------	-------------	---------------------	-------------

como líder del segmento	su posicionamiento	empresa en la vanguardia tecnológica	empresa preocupada por el medio ambiente	como una empresa preocupada por la salud humana	de los líderes del segmento	o
-------------------------	--------------------	--------------------------------------	--	---	-----------------------------	---

1: Financiero	2: Personal	3: Político	4: Profesional	5: Familiar	6: Ninguno
---------------	-------------	-------------	----------------	-------------	------------

B3 Interés volitivo

18 ¿Qué tan interesado está usted en iniciar la producción propia de azadiractina?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
-----------------------------	---------------------------------	-----------------------------------	-----------------------------	-------------------------

19 ¿Cuan interesado está en invertir recursos financieros para instalar la producción propia de azadiractina?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
-----------------------------	---------------------------------	-----------------------------------	-----------------------------	-------------------------

20 ¿Se interesa en formar parte de un grupo de fomento de producción nacional de bioinsecticidas?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
-----------------------------	---------------------------------	-----------------------------------	-----------------------------	-------------------------

21 En el supuesto que se decida a producir su propia azadiractina ¿Tendría interés llevar a cabo las modificaciones requeridas en los registros de la COFEPRIS a fin de utilizar su propia azadiractina?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
-----------------------------	---------------------------------	-----------------------------------	-----------------------------	-------------------------

22 En el supuesto que inicie la producción propia de azadiractina, considera que tendría ventaja a sus competidores.

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
-----------------------------	---------------------------------	-----------------------------------	-----------------------------	-------------------------

C. Potencial

C1 Potencial de influencia

23 Actualmente y en el tema de producción nacional de azadiractina, ¿Con quiénes se relaciona?

<input type="checkbox"/> 1: productores de semilla de nim
<input type="checkbox"/> 2: autoridad sanitaria en materia de registros
<input type="checkbox"/> 3: comunidad científica de nim
<input type="checkbox"/> 4: productores de plantas ornamentales

24 ¿De qué manera se ve influido?

	1: Éxito	0: Neutro /No sabe/ No conoce	-1: Fracaso
1: productores de semilla	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2: autoridad sanitaria	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3: comunidad científica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4: productor de plantas ornamentales	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

25 ¿De qué manera los influye?

	1: Éxito	0: Neutro /No sabe/ No conoce	-1: Fracaso

	1: productores de semilla	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																				
	2: autoridad sanitaria	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																				
	3: comunidad científica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																				
	4: productor de plantas ornamentales	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																				
26	¿Participa en políticas públicas de impulso de la producción nacional de bioinsecticidas?	<table border="1"> <tr> <td>1. Sí</td> <td>0: Indeciso /No sabe/ No conoce</td> <td>-1: No</td> </tr> </table>			1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No																	
1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No																						
C2 Potencial de recursos																								
27	¿Tiene los recursos económicos para impulsar de la producción propia de azadiractina?	<table border="1"> <tr> <td>1. Sí</td> <td>0: Indeciso /No sabe/ No conoce</td> <td>-1: No</td> </tr> </table>			1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No																	
1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No																						
28	¿Está vinculado con los organismos de investigación y de extensión pública o impulsa proyectos enfocados al uso de azadiractina?	<table border="1"> <tr> <td>1. Sí</td> <td>0: Indeciso /No sabe/ No conoce</td> <td>-1: No</td> </tr> </table>			1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No																	
1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No																						
29	En los planes de crecimiento de la empresa ¿Tienen una estrategia de sustitución de agroquímicos importados que incluya el uso de azadiractina?	<table border="1"> <tr> <td>1. Sí</td> <td>0: Indeciso /No sabe/ No conoce</td> <td>-1: No</td> </tr> </table>			1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No																	
1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No																						
C3 Potencial de riesgo en la iniciación de la producción propia de azadiractina																								
30	¿Tiene la capacidad de manejar el riesgo financiero que representa iniciar la producción propia de azadiractina?	<table border="1"> <tr> <td>1. Sí</td> <td>0: Indeciso /No sabe/ No conoce</td> <td>-1: No</td> </tr> </table>			1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No																	
1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No																						
31	(Sí) En orden de importancia y con base en su experiencia ¿Cuáles son los riesgos de la fabricación propia o nacional de azadiractina?	1. _____ 2. _____ 3. _____																						
32	¿Está preparado para afrontar los obstáculos externos (como la producción intermitente de semilla) en la producción propia de azadiractina?	<table border="1"> <tr> <td>1. Sí</td> <td>0: Indeciso /No sabe/ No conoce</td> <td>-1: No</td> </tr> </table>			1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No																	
1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No																						
C4 Estimación de la oferta																								
33	En el último año ¿A cuánto asciende la venta de los bioinsecticidas de azadiractina en el centro de Veracruz (Puente Nacional, Úrsulo Galván, Paso de Ovejas, La Antigua, Soledad de Doblado, Manlio Fabio Altamirano, Veracruz, Cotaxtla, Jamapa, Medellín de Bravo, Boca del Río y Tlalixcoyan)?.....	_____ \$																						
34	En los últimos 5 años ¿En cuánto considera que los bioinsecticidas de azadiractina que vende han incrementado sus ventas?.....	_____ %																						
35	Con base en su experiencia y los objetivos de la empresa ¿Cuál es el pronóstico de ventas de los productos bioinsecticidas de azadiractina en los próximos diez años?.....	_____ \$																						
36	Desde su opinión ¿Considera que los plaguicidas de uso restringido son susceptibles de sustitución por plaguicidas botánicos como azadiractina, en la producción de plantas ornamentales?	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>1. Sí</th> <th>0: Indeciso /No sabe/ No conoce</th> <th>-1: No</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1:Aldicarb/Usó restringido</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>2: Dicofol /Usó restringido</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>3: Metamidofos /Usó restringido</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>4: Ninguno</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> </tbody> </table>				1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No	1:Aldicarb/Usó restringido	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2: Dicofol /Usó restringido	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3: Metamidofos /Usó restringido	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	4: Ninguno	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No																					
1:Aldicarb/Usó restringido	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																					
2: Dicofol /Usó restringido	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																					
3: Metamidofos /Usó restringido	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																					
4: Ninguno	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																					
D. Contexto																								
37	¿Cree que la fabricación nacional de bioinsecticidas de azadiractina es un proyecto con posible éxito?.....	1: <input type="checkbox"/> Sí 0: <input type="checkbox"/> Indeciso /No sabe/No conoce -1: <input type="checkbox"/> No																						

38	Actualmente, ¿Cuáles problemas tiene la fabricación nacional de azadiractina?
	1. _____
	2. _____
	3. _____
39	Algún otro comentario sobre la producción nacional de bioinsecticida de azadiractina, ¿Qué hace falta?

E. DATOS DE IDENTIFICACIÓN	
40	Nombre de la compañía..... OPCIONAL _____
41	Dirección..... OPCIONAL _____
42	Nombre del informante..... OPCIONAL _____
43	Sexo:..... 1. <input type="checkbox"/> Hombre 2. <input type="checkbox"/> Mujer
44	Edad..... años
45	Entidad..... _____
46	Municipio..... _____
47	Régimen fiscal..... []
	1 <input type="checkbox"/> Persona física 2 <input type="checkbox"/> Sociedad anónima 3 <input type="checkbox"/> Capital variable

Muchas gracias por responder a nuestras preguntas.

Anexo 3. Instrumento para los productores de plantas ornamentales.



Guía de encuesta a los productores de plantas ornamentales

1. El objetivo de este instrumento es recolectar información sobre el potencial de demanda y el interés en el uso de insecticidas naturales como la azadiractina por los productores de plantas ornamentales.

LOS DATOS RECABADOS SON CONFIDENCIALES Y SERÁN USADOS CON FINES ACADÉMICOS.

2. Entreviste a un productor de plantas ornamentales.

Encuesta

Gracias por participar en este interesante estudio. Su participación nos ayudará a determinar lo que la gente de nuestra comunidad piensa sobre del uso de insecticidas naturales. Los resultados ayudarán a entender cómo será posible que este giro se consolide en nuestro país. Sus actitudes, opiniones y su interés son importantes para este estudio y se mantendrán en estricta confidencialidad.

Indicaciones: por favor, conteste cuidadosamente y responda a la pregunta que representen sus respuestas.

Fecha de la entrevista: _____

Nombre del entrevistador: _____ **FOLIO** _____

A. INTRODUCCION																			
1-a	¿Qué tipo de tenencia de tierra tiene? <input type="checkbox"/> 1 Propietario <input type="checkbox"/> 3 Ocupante <input type="checkbox"/> 5 Pecuarios sin tierra <input type="checkbox"/> 2 Ejidatario y comunero <input type="checkbox"/> 4 Aparcero y arrendatario <input type="checkbox"/> 6 Otro: _____																		
2-c1	¿Cuántos años de antigüedad tiene usted en la producción de plantas ornamentales? _____ años																		
3-c1	¿Cuáles especies de plantas que le generen mayor ganancia y cuánto vende en promedio al mes? <table border="1"> <thead> <tr> <th>Tipo de planta ornamental</th> <th>Cantidad (\$)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><input type="checkbox"/> 1</td> <td></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> 2</td> <td></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> 3</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Tipo de planta ornamental	Cantidad (\$)	<input type="checkbox"/> 1		<input type="checkbox"/> 2		<input type="checkbox"/> 3											
Tipo de planta ornamental	Cantidad (\$)																		
<input type="checkbox"/> 1																			
<input type="checkbox"/> 2																			
<input type="checkbox"/> 3																			
4-c1	¿Qué otras especies de plantas ornamentales produce? <table border="1"> <thead> <tr> <th>Tipo de planta ornamental</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><input type="checkbox"/> 1</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> 2</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> 3</td> </tr> </tbody> </table>	Tipo de planta ornamental	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3														
Tipo de planta ornamental																			
<input type="checkbox"/> 1																			
<input type="checkbox"/> 2																			
<input type="checkbox"/> 3																			
5-c1	¿Quién lo apoya en la elección de insecticidas para el control de plagas? <input type="checkbox"/> 1 Fabricante <input type="checkbox"/> 5 Instituciones educativas <input type="checkbox"/> 2 Distribuidor del fabricante <input type="checkbox"/> 6 Ing. Agrónomo contratado <input type="checkbox"/> 3 Casa de agroquímicos <input type="checkbox"/> 7 Otro: _____ <input type="checkbox"/> 4 Otro agricultor <input type="checkbox"/> 8 Ninguno																		
6-a	¿Usa productos de nim (o azadiractina) en el control de plagas? <table border="1"> <tbody> <tr> <td>1 <input type="checkbox"/> Benefit® 3% CE</td> <td>18 <input type="checkbox"/> Fortune® Aza Azadiractina</td> </tr> <tr> <td>2 <input type="checkbox"/> Organim® 3% CE</td> <td>19 <input type="checkbox"/> Fortune® Aza Technical</td> </tr> <tr> <td>3 <input type="checkbox"/> Azanim® 3% CE</td> <td>20 <input type="checkbox"/> Azadiractina Técnica 14%</td> </tr> <tr> <td>4 <input type="checkbox"/> Meen® 3% CE</td> <td>21 <input type="checkbox"/> PHC Neem®/Ecoterra Neem®</td> </tr> <tr> <td>5 <input type="checkbox"/> Naturim® 3% CE Azadiractina</td> <td>22 <input type="checkbox"/> PHC Neem Gard®</td> </tr> <tr> <td>6 <input type="checkbox"/> Nimec® 10 CE</td> <td>23 <input type="checkbox"/> PHC Tropi Neem®</td> </tr> <tr> <td>7 <input type="checkbox"/> Neem 10 CE</td> <td>24 <input type="checkbox"/> PHC Maya Neem®</td> </tr> <tr> <td>8 <input type="checkbox"/> Bridec® 10 CE Azadiractina</td> <td>25 <input type="checkbox"/> PHC Agri® Azadiractina</td> </tr> <tr> <td>9 <input type="checkbox"/> Azatina® 4.5</td> <td>26 <input type="checkbox"/> Plaguineem® 1%</td> </tr> </tbody> </table>	1 <input type="checkbox"/> Benefit® 3% CE	18 <input type="checkbox"/> Fortune® Aza Azadiractina	2 <input type="checkbox"/> Organim® 3% CE	19 <input type="checkbox"/> Fortune® Aza Technical	3 <input type="checkbox"/> Azanim® 3% CE	20 <input type="checkbox"/> Azadiractina Técnica 14%	4 <input type="checkbox"/> Meen® 3% CE	21 <input type="checkbox"/> PHC Neem®/Ecoterra Neem®	5 <input type="checkbox"/> Naturim® 3% CE Azadiractina	22 <input type="checkbox"/> PHC Neem Gard®	6 <input type="checkbox"/> Nimec® 10 CE	23 <input type="checkbox"/> PHC Tropi Neem®	7 <input type="checkbox"/> Neem 10 CE	24 <input type="checkbox"/> PHC Maya Neem®	8 <input type="checkbox"/> Bridec® 10 CE Azadiractina	25 <input type="checkbox"/> PHC Agri® Azadiractina	9 <input type="checkbox"/> Azatina® 4.5	26 <input type="checkbox"/> Plaguineem® 1%
1 <input type="checkbox"/> Benefit® 3% CE	18 <input type="checkbox"/> Fortune® Aza Azadiractina																		
2 <input type="checkbox"/> Organim® 3% CE	19 <input type="checkbox"/> Fortune® Aza Technical																		
3 <input type="checkbox"/> Azanim® 3% CE	20 <input type="checkbox"/> Azadiractina Técnica 14%																		
4 <input type="checkbox"/> Meen® 3% CE	21 <input type="checkbox"/> PHC Neem®/Ecoterra Neem®																		
5 <input type="checkbox"/> Naturim® 3% CE Azadiractina	22 <input type="checkbox"/> PHC Neem Gard®																		
6 <input type="checkbox"/> Nimec® 10 CE	23 <input type="checkbox"/> PHC Tropi Neem®																		
7 <input type="checkbox"/> Neem 10 CE	24 <input type="checkbox"/> PHC Maya Neem®																		
8 <input type="checkbox"/> Bridec® 10 CE Azadiractina	25 <input type="checkbox"/> PHC Agri® Azadiractina																		
9 <input type="checkbox"/> Azatina® 4.5	26 <input type="checkbox"/> Plaguineem® 1%																		

- 10 Neemix® 4.5 Azadiractina
 11 Neem-Azal® Técnico Azadiractina
 12 Aza-Direct® 1.2 CE
 13 Neemazal® 1.2 CE Azadiractina
 14 Granim® Azadiractina
 15 Fortune® Aza 3% CE
 16 Fortune® Eco-Neem 3% CE
 17 Fortune® Aza Guard 3% CE

- 27 Lucaneem® 1%
 28 Natuneem® 1%
 29 Oneen® 1%
 30 Neem QI®
 31 Tre-Neem® 1%
 32 Azadiractina
 33 Otro _____
 34 Ninguno

B. Interés

B.1 Interés cognitivo en el uso de bioinsecticidas de nim

7-b1 ¿Está interesado en conocer las ventajas del uso de los insecticidas naturales, tales como la azadiractina?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
--	--	--	--	--

8-b1 ¿Tiene usted interés en saber cuáles son los productos comerciales de insecticidas naturales (azadiractina)?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
--	--	--	--	--

9-b1 ¿Cuán interesado está en adquirir (más) información de insecticidas naturales (azadiractina) en el control de plagas?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
--	--	--	--	--

10-b1 ¿Qué tipo de asistencia requiere usted para iniciar (o amplíe) el uso de insecticidas naturales (azadiractina) en su unidad de producción?

B. 2. Interés emotivo

11-b2 ¿Qué motiva su interés por los insecticidas naturales (azadiractina) en el control de plagas?

Por desbaste del plaguicida de su preferencia o por el ahorro en el control	Por un control combinado con sustancias naturales y sintéticas	Ninguno/ no sabe	3: Por la protección al medio ambiente	4: Por la protección de la salud humana
-2 <input type="checkbox"/>	-1 <input type="checkbox"/>	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>

12-b2 ¿Cuáles son las razones por lo que usted usa (ría) los insecticidas naturales (azadiractina) en el control de plagas?

Por su beneficio económico	Por un obtener beneficio político	Ninguno/ No sabe	Por el beneficio de su familia	Por un bien para su comunidad
-2 <input type="checkbox"/>	-1 <input type="checkbox"/>	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>

13-b2 Cuándo ha considerado el uso de insecticidas naturales en el control de plagas, ¿Qué sentimiento le genera?

Fastidio	Preocupación	Desconcierto o inseguridad No sabe/ Ninguno	Alivio	Confianza
-2 <input type="checkbox"/>	-1 <input type="checkbox"/>	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>

14-b2 Con base en su experiencia, ¿Considera usted que el efecto insecticida de las sustancias naturales (azadiractina)... es?

0. Nulo/ no sé	1. Pobre	2. Bueno	3. Muy bueno
-----------------------	-----------------	-----------------	---------------------

B.3. Interés volitivo

15-b3 ¿Está dispuesto a usar (ampliar) productos de nim en su unidad de producción?

Altamente desinteresado	Moderadamente desinteresado	Indiferente, indeciso o neutro	Moderadamente interesado	Altamente interesado
-2 <input type="checkbox"/>	-1 <input type="checkbox"/>	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>

16-b3 Si se demostrara la efectividad del insecticida de nim en la plaga de su interés ¿Estaría dispuesto a usarlo?

Altamente desinteresado	Moderadamente desinteresado	Indiferente, indeciso o neutro	Moderadamente interesado	Altamente interesado
-2 <input type="checkbox"/>	-1 <input type="checkbox"/>	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>

17-b3 ¿Estará interesado en iniciar o ampliar el uso de insecticidas naturales como alternativa a los agroquímicos sintéticos?

Altamente desinteresado	Moderadamente desinteresado	Indiferente, indeciso o neutro	Moderadamente interesado	Altamente interesado
-2 <input type="checkbox"/>	-1 <input type="checkbox"/>	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>

18-b3 ¿Se interesa en participar en un grupo de fomento del uso nacional de bioinsecticidas de azadiractina?

Altamente desinteresado	Moderadamente desinteresado	Indiferente, indeciso o neutro	Moderadamente interesado	Altamente interesado
-2 <input type="checkbox"/>	-1 <input type="checkbox"/>	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>

C. Potencial

C1. **Potencial de demanda de bioinsecticidas de azadiractina en la producción de plantas ornamentales**

19-c1 En un año ¿Cuánto gasta en el control de plagas insectiles? _____ \$

20-c1 En el ultimo año ¿Cuánto dinero gastó en la compra de sustancias naturales para el control de plagas de la unidad de producción? \$ _____

21-c1 ¿Cuál(es) plaguicida(s) usa principalmente en el control de plagas? _____

22-c1 ¿Cuál es el su proveedor de productos plaguicidas (o de azadiractina)?

- 1 Casa de agroquímicos: 3 Otro: _____
 2 Agente de ventas del fabricante: _____
 4 Ninguno, No se, No conozco

23-c1 ¿En cuáles temporadas del año usted tiene más demanda del plaguicida (o azadiractina) de su preferencia?

- 1 primavera 3 otoño 5 todas
 2 verano 4 invierno 5 Ninguna

24-c1 ¿Cuál es la unidad de compra del plaguicida (o azadiractina) de su preferencia?

- 1 un litro 4 más de 200 litros
 2 Un galón 5 todas
 3 200 litros 6 Ninguna

25-c1 ¿Cuánto compra por mes de los productos plaguicidas (o azadiractina) en la temporada del año de mayor demanda?

- 1 Menos de 100 pesos MN 4 de 500 a 1000
 2 de 100 a 200 5 más de 1000
 3 de 200 a 500 6 No se, Nada

26-c1 ¿Cuánto estaría dispuesto a pagar por un litro de bioinsecticida de azadiractina?

- 1 Menos de 100 pesos MN 4 de 1000 a 5000
 2 de 100 a 500 5 más de 5000
 3 de 500 a 1000 6 No se

27-c3 ¿Cuenta con el recurso económico para control de plagas con insecticidas naturales como azadiractina en su unidad de producción?

	1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No
--	--------------	--	---------------

28-c4 En su opinión ¿Es un obstáculo para usted el precio de venta de insecticidas naturales (azadiractina) en el cultivo de plantas ornamentales?

1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No
--------------	--	---------------

29-b2 ¿Está interesado en recibir estímulo económico de la autoridad por el uso de insecticidas naturales (azadiractina) en el control de plagas?

Altamente desinteresado	Moderadamente desinteresado	Indiferente, indeciso o neutro	Moderadamente interesado	Altamente interesado
-2 <input type="checkbox"/>	-1 <input type="checkbox"/>	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>

CONDICIONES DE COMPRA

30-c1 Para los productos de control de plagas que adquiere ¿Cuál es la forma de pago que es más conveniente?

1 Contado 4 Cheque
 2 Crédito (plazo):_____ 5 Otro:_____
 3 Efectivo 6 Ninguno

31-c1 ¿Qué tipo de negociación es más usual para la compra de los productos de control de plagas?

1 Arreglo verbal 4 Sin negociación
 2 Contrato 5 Otro:_____
 3 Consignación 6 ninguno

C2 Potencial de influencia

32-c2 ¿En qué medio de comunicación se ha informado del uso de insecticidas naturales?

1 Comunicación verbal de conocidos 6 Consultas por Internet
 2 Radio 7 Publicidad por correo
 3 Televisión 8 Libro
 4 Espectacular o poster 9 Otro:_____
 5 Folletos o promocionales 10 Ninguno

33-c2 De acuerdo con sus vivencias y en el tema de insecticidas naturales ¿De qué manera se ve influido en el uso de insecticidas naturales (azadiractina) por.....?

	1. Positiva	0: Nula/Neutra /No sabe	-1: Negativa
1: otros productores	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2: agroindustria	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3: comunidad científica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4: autoridad sanitaria	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

34-c2 ¿De qué manera usted influye en el uso de insecticidas naturales (azadiractina) a...?

	1: Positiva	0: Nula/ Neutra /No sabe	-1: Negativa
1: otros productores	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2: agroindustria	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3: comunidad científica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4: autoridad sanitaria	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

C3 Potencial de recursos

35-c3 ¿Su parcela es una unidad de manejo y aprovechamiento (UMA) autorizada por el Instituto de Ecología?

1. Sí	0: No sabe/ No conoce	-1: No
--------------	------------------------------	---------------

36-c3 ¿Está relacionado con organismos de investigación?

1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No
--------------	--	---------------

C4 Potencial para manejar el riesgo o obstáculos en el uso de bioinsecticidas de azadiractina

37-c4	¿Está asegurada su unidad de producción?	<input type="checkbox"/> 1. Sí	<input type="checkbox"/> 0: Indeciso /No sabe/ No conoce	<input type="checkbox"/> -1: No
38-c4	¿Realiza el manejo integrado de plagas?	<input type="checkbox"/> 1. Sí	<input type="checkbox"/> 0: Indeciso /No sabe/ No conoce	<input type="checkbox"/> -1: No
39-c4	Con base en su experiencia ¿Cuáles riesgos asocia al uso de insecticidas naturales (azadiractina)?	<input type="checkbox"/> 1. Sí <input type="checkbox"/> 0: Indeciso /No sabe/ No conoce <input type="checkbox"/> -1: No		
40-c4	Con base en su experiencia y en orden de importancia ¿Cuáles problemas existen en el uso de insecticidas naturales (azadiractina) en la producción de plantas ornamentales?	1. _____ 2. _____ 3. _____		
41-c4	Algún otro comentario de los insecticidas naturales (azadiractina) ¿Qué hace falta?	_____		

D. DATOS DE IDENTIFICACION	
42-d	Nombre del rancho o vivero..... _____
43-d	Dirección..... _____
44-d	Nombre del productor..... _____
45-d	Sexo: 1. <input type="checkbox"/> Hombre 2. <input type="checkbox"/> Mujer
46-d	Edad.....[] años
48-d	MUNICIPIO: _____
47-d	Teléfonos: _____ Fax: _____ Correo electrónico: _____
48-d	REGIMEN FISCAL.....
	1 <input type="checkbox"/> Ejido o comunidad 10 <input type="checkbox"/> Federación de sociedades cooperativas 2 <input type="checkbox"/> Sociedad anónima de capital variable 11 <input type="checkbox"/> Unión de sociedades de producción rural 3 <input type="checkbox"/> Sociedad cooperativa 12 <input type="checkbox"/> Asociación rural de interés colectivo 4 <input type="checkbox"/> Sociedad de producción rural 13 <input type="checkbox"/> Confederación de sociedades cooperativas 5 <input type="checkbox"/> Asociación civil 14 <input type="checkbox"/> Sociedad anónima 6 <input type="checkbox"/> Sociedad civil 15 <input type="checkbox"/> Persona física o Pequeño Productor 7 <input type="checkbox"/> Unión de crédito 16 <input type="checkbox"/> Ninguno 8 <input type="checkbox"/> Fideicomiso 17 <input type="checkbox"/> Otro: _____ 9 <input type="checkbox"/> Unión de ejidos o comunidades

Muchas gracias por responder a nuestras preguntas.

Anexo 4. Instrumento para la autoridad sanitaria



Guía de entrevista a personal de salud de servicio en la autorización sanitaria en materia de registro de plaguicidas

1. El objetivo del instrumento VSAS-1 es recolectar información el interés y potencial de la autoridad sanitaria, en la fabricación nacional de bioinsecticidas de azadiractina, representada por el Subcomisionado de Autorización Sanitaria Dr. Gustavo Adolfo Olaíz Fernández (tel 50 80 52 00; ext 1400; golaiz@salud.gob.mx) de la COFEPRIS¹ del los Estados Unidos Mexicanos. LOS DATOS RECABADOS SON CONFIDENCIALES Y SOLO SON USADOS PARA FINES ACADÉMICOS.
2. Entrevista a un miembro de personal de salud del servicio de registro de plaguicidas.

Encuesta

Gracias por hablar con nosotros, queremos conversar con Usted sobre la autorización sanitaria de los plaguicidas, sus experiencias e intereses. No tenemos interés en hablar sobre cierto trámite, en particular. Ansiamos preguntarle sobre la manera en que ofrecen los diferentes servicios de autorización de bioinsecticidas, en especial sobre la azadiractina. No somos profesionales en la materia, somos investigadores y estamos ayudando al uso comercial de esta sustancia en nuestro país. La información que nos brinde será confidencial.

Fecha de la entrevista: _____

Nombre del entrevistador: _____

FOLIO _____

A. INTRODUCCION						
1	Años de estudios concluidos (escolaridad) _____ años					
2	¿Cuántos años de experiencia previa relacionada con su puesto? _____ años					
3	¿Cuánto tiempo tiene de laborar en este servicio de autorización de registro de plaguicidas? _____ años					
B. Interés						
B.1 Interés cognitivo						
4	En el tema de la fabricación nacional de azadiractina ¿Qué tan interesado esta en conocer las necesidades de la agroindustria en materia de registros?					
	<table border="1"> <tr> <td>-2. Altamente desinteresado</td> <td>-1. Moderadamente desinteresado</td> <td>0. Indiferente, indeciso o neutro</td> <td>1. Moderadamente interesado</td> <td>2. Altamente interesado</td> </tr> </table>	-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado		
5	¿Qué tan interesado está en conocer la actual situación para la fabricación nacional de azadiractina y su uso comercial de bioinsecticidas de plantas ornamentales?					
	<table border="1"> <tr> <td>-2. Altamente desinteresado</td> <td>-1. Moderadamente desinteresado</td> <td>0. Indiferente, indeciso o neutro</td> <td>1. Moderadamente interesado</td> <td>2. Altamente interesado</td> </tr> </table>	-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado		
6	Dado que su propósito es promover la responsabilidad compartida y los esfuerzos conjuntos de las partes, en la esfera del comercio internacional de ciertos productos químicos peligrosos a fin de proteger la salud humana y el medio ambiente frente a posibles daños; ¿Qué tan interesado está en apoyar a la azadiractina como sustituto de Dicroto y Metamidofos en el cultivo de plantas ornamentales?					
	<table border="1"> <tr> <td>-2. Altamente desinteresado</td> <td>-1. Moderadamente desinteresado</td> <td>0. Indiferente, indeciso o neutro</td> <td>1. Moderadamente interesado</td> <td>2. Altamente interesado</td> </tr> </table>	-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado		
7	En las condiciones actuales ¿Qué apoyo necesita usted en el impulso de la producción de nacional de azadiractina y uso en plantas ornamentales?					

¹ Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios

B. 2. Interés emotivo

8 Como órgano regulador ¿Qué motivaría su participación en la producción de bioinsecticidas de azadiractina nacional y uso en el cultivo de plantas ornamentales?

1: Financiero	2: Personal	3: Político	4: Profesional	5: Familiar	6: Social	7: Ninguno
------------------	-------------	----------------	-------------------	----------------	--------------	---------------

9 En su tarea de promover la autorización de bioinsecticidas de azadiractina ¿Qué sentimiento le genera?

Fastidio	Preocupación	Desconcierto o inseguridad No sabe/ Ninguno	Alivio	Confianza
-2□	-1□	□0	1□	2□

10 En el tema de azadiractina ¿Con cuáles categorías usted identifica su motivación para el impulso de la fabricación nacional de azadiractina?

□1: Cumplir con los convenios internacionales en materia de plaguicidas restringidos	□3: Colocar a su la COFEPRIS como motor de la conversión tecnológica	□5: Ubicar a la COFEPRIS ocupada por la salud humana	□7: Ninguna
□2: Consolidar a la COFEPRIS como líder materia de plaguicidas	□4: Colocar a la COFEPRIS como una institución ocupada por el medio ambiente	□6: Sólo como un engranaje de la producción y uso de plaguicidas botánicos	

B.3. Interés volitivo

11 ¿Participaría usted en el fomento de la producción nacional de azadiractina y uso en plantas ornamentales?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
--------------------------------	------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------	----------------------------

12 ¿Participaría en la revocación de plaguicidas de uso restringido ya autorizados en el cultivo de plantas ornamentales?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
--------------------------------	------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------	----------------------------

13 Como órgano regulador ¿Cuán interesado está en invertir recursos públicos para el fomento de la producción nacional azadiractina para el cultivo de plantas ornamentales?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
--------------------------------	------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------	----------------------------

14 Dado que no hay laboratorios de pruebas para plaguicidas de pruebas con GLP en México ¿Qué tan interesado está en solventar las pruebas de reactividad, corrosividad, fotólisis e hidrólisis para la azadiractina?

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
--------------------------------	------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------	----------------------------

C. Potencial de apoyo en la producción nacional de azadiractina y el uso en plantas ornamentales

C1 Potencial de influencia

15 Actualmente y en el tema de producción nacional de plaguicidas botánicos como azadiractina, ¿Con quiénes se relaciona?

□1: productores de semilla
□2: agroindustria
□3: comunidad científica

<input type="checkbox"/> 4: productores de plantas ornamentales			
16	¿De qué manera se ve influido en iniciar la producción nacional de azadiractina?		
		1: Éxito	0: Neutro /No sabe/ No conoce
		-1: Fracaso	
	1: productores de semilla	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	2: agroindustria	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	3: comunidad científica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	4: productor de plantas ornamentales	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
17	¿De que manera influye en los demás en iniciar la producción nacional de azadiractina?		
		1: Éxito	0: Neutro /No sabe/ No conoce
		-1: Fracaso	
	1: productores de semilla	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	2: agroindustria	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	3: comunidad científica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	4: productor de plantas ornamentales	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
18	¿Participa en la definición de políticas públicas para la producción nacional de azadiractina?	<input type="checkbox"/> 1. Sí <input type="checkbox"/> 0: Indeciso /No sabe/ No conoce <input type="checkbox"/> -1: No	
19	¿Como órgano regulador está dispuesto a revocación las autorizaciones de plaguicidas de restringidos y usados en el cultivo de plantas ornamentales?	<input type="checkbox"/> 1. Sí <input type="checkbox"/> 0: Indeciso /No sabe/ No conoce <input type="checkbox"/> -1: No	
C2	Potencial de recursos de apoyo a la producción nacional de bioinsecticidas como azadiractina		
20	¿Existe algún programa interno en el fomento para la producción nacional de azadiractina?	<input type="checkbox"/> 1. Sí <input type="checkbox"/> 0: No sabe/ No conoce <input type="checkbox"/> -1: No	
21	¿Cuenta con recursos (como económicos o política pública) que impulsen de la producción nacional de azadiractina?	<input type="checkbox"/> 1. Sí <input type="checkbox"/> 0: Indeciso /No sabe/ No conoce <input type="checkbox"/> -1: No	
22	En apego a los convenios internacionales, México debe alentar las investigaciones en las alternativas de control de plagas, actualmente ¿Está vinculado con los organismos de investigación y de extensión pública enfocados al estudio de azadiractina como alternativa a plaguicidas convencionales?	<input type="checkbox"/> 1. Sí <input type="checkbox"/> 0: Indeciso /No sabe/ No conoce <input type="checkbox"/> -1: No	
C3	Potencial de manejar el riesgo		
23	En las condiciones actuales, la COFEPRIS ¿Tiene la capacidad de manejar el riesgo sanitario que representa la producción nacional de azadiractina?	<input type="checkbox"/> 1. Sí <input type="checkbox"/> 0: Indeciso /No sabe/ No conoce <input type="checkbox"/> -1: No	
D	CONTEXTO		
24	¿Cree que fabricación nacional de azadiractina y el uso en plantas ornamentales es un proyecto que tiene posible éxito?	<input type="checkbox"/> 1. Sí <input type="checkbox"/> 0: Indeciso /No sabe/ No conoce <input type="checkbox"/> -1: No	
25	Con base en su experiencia y en orden de importancia ¿Cuáles son los retos a vencer para producción nacional de azadiractina?		
26	Algún comentario sobre la producción nacional de azadiractina, ¿Qué hace falta?		
E DATOS DE IDENTIFICACIÓN			
27	Dirección.....		

28	Nombre del informante.....	
29	Sexo: 1. <input type="checkbox"/> Hombre 2. <input type="checkbox"/> Mujer	
30	¿Cuál es su edad?.....	[] años
31	Cargo administrativo:	

Muchas gracias por responder a las preguntas.

Anexo 5. Instrumento para la comunidad científica



Instrucciones para encuesta electrónica a la comunidad científica de nim

- El objetivo del instrumento es recolectar información del interés y potencial de la comunidad científica, en el estudio de azadiractina o nim, representada por los investigadores de México que han publicado en revistas indexadas. Los datos recabados son confidenciales y serán usados con fines académicos.

Encuesta

Gracias por participar, queremos conocer sobre la investigación de azadiractina, sus experiencias e intereses. Ansiamos preguntarle sobre la manera en que ha elegido sus temas de investigación y en especial sobre azadiractina. Somos investigadores y estamos estudiando el uso comercial de esta sustancia en nuestro país. La información que nos brinde será confidencial.

POR FAVOR, CONTESTE CUIDADOSAMENTE LA PREGUNTA Y RESPONDA CON LA OPCIÓN QUE MEJOR REPRESENTA SU RESPUESTA **(en el recuadro azul)**

A. INTRODUCCION

- Años de estudios concluidos (escolaridad) años
- ¿Cuántos años tiene de experiencia en la investigación de azadiractina o en nim (*Azadirachta indica* A. Juss.)? años
- ¿Cuántos artículos ha publicado del estudio de azadiractina o de nim?
- ¿Cuál ha sido su móvil en la selección de los temas de investigación de azadiractina o nim?
Elija la(s) opción(es) que represente mejor su respuesta

1 Propia Iniciativa	5 Como legado de otras investigaciones de su institución
2 Decisión de consejero o asesor	6 Otro: <input type="text"/>
3 Solicitud de la industria	7 Ninguno/ No sabe
4 Solicitud de otra institución	

B. Interés en el estudio de azadiractina o nim

B1 Interés cognitivo

- ¿Está interesado en orientar su investigación a temas que solicite la agroindustria de bioinsecticidas de azadiractina, autoridad sanitaria en materia de registros, productores de semilla de nim o de plantas ornamentales? **Elija la opción que represente mejor su respuesta**

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
--------------------------------	------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------	----------------------------
- ¿Está usted interesado en el estudio de azadiractina como sustituto de plaguicidas restringidos y autorizados en cultivo de ornamentales? **Elija la opción que represente mejor su respuesta**

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
--------------------------------	------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------	----------------------------
- Como apoyo a la producción de azadiractina nacional ¿Cuán interesado está en realizar las pruebas de equivalencia de azadiractina importada? **Elija la opción que represente mejor su respuesta**

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
--------------------------------	------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------	----------------------------
- Como servicio a la agroindustria ¿Está interesado en el estudio de azadiractina técnica en los temas de reactividad, corrosividad e inflamabilidad? **Elija la opción que represente mejor su respuesta**

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
-----------------------------------	---------------------------------------	---	-----------------------------------	-------------------------------

9 ¿Qué tipo de apoyo requiere usted para la investigación científica de azadiractina en los temas de su interés?

Elija la(s) opción(es) que represente mejor su respuesta

1: Económico	2: Científico	3: Empresarial	4: Legal	5: Otro _____	0: Ninguno
				Especifique	

B. 2 Interés emotivo

10 ¿Considera necesario el estímulo económico de la autoridad para el estudio de azadiractina en las siguientes propiedades?

Coloque una cruz en el casillero que represente su respuesta

	1. Sí	0: Indeciso o No sabe	-1: No
1: Físicoquímicas			
2: Toxicológicas			
3: Ecotoxicológicas			
4: Otro: <i>Especifique</i>			

11 En el supuesto que usted apoye con estudios para la producción de azadiractina nacional ¿Qué aspecto lo motivaría?

Coloque una cruz en el (los) casillero(s) que represente su respuesta

1: Financiero	2: Personal	3: Político	4: Profesional	5: Familiar	6: Ninguno

12 En el estudio de azadiractina o nim, ¿Con cuáles categorías usted identifica su motivación?

Coloque una cruz en el (los) casillero(s) que represente su respuesta

1: Por satisfacer los convenios internacionales en materia de plaguicidas restringidos	2: Por consolidar su investigación como líder en materia de azadiractina o nim	3: Por apoyar al desarrollo tecnológico	4: Por su preocupación por el medio ambiente	5: Por su compromiso a la protección de la salud humana	6: Sin un motivo en particular	7: Otra

B.3 Interés volitivo

13 ¿Está interesado en participar con la agroindustria de azadiractina, productores de semilla de nim, autoridad sanitaria en materia de registros y productores de plantas ornamentales para consolidar la producción y el uso nacional de azadiractina?

Elija la opción que represente mejor su respuesta

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
-----------------------------------	---------------------------------------	---	-----------------------------------	-------------------------------

14 En el supuesto que usted participe en los estudios de apoyo para el registro de la COFEPRIS para azadiractina nacional ¿Está interesado en que dichos estudios sean de dominio público? *Elija la opción que represente mejor su respuesta*

-2. Altamente desinteresado	-1. Moderadamente desinteresado	0. Indiferente, indeciso o neutro	1. Moderadamente interesado	2. Altamente interesado
-----------------------------------	---------------------------------------	---	-----------------------------------	-------------------------------

C. Potencial de apoyo a la producción nacional de azadiractina y uso en plantas ornamentales

C1 Potencial de influencia

15 Actualmente y en el tema de azadiractina o nim, ¿Con quiénes se relaciona?

Coloque una cruz en el (los) casillero(s) con quien(es) se relaciona

1: productores de semilla de nim	
2: autoridad sanitaria en materia de plaguicidas	
3: agroindustria de plaguicidas de azadiractina	
4: productores de plantas ornamentales	
5: ninguno	

16 ¿De qué forma se ve influido por cada uno en el tema de azadiractina o nim?

Coloque una cruz en el (los) casillero(s) que represente su respuesta

	1. Positiva	0: Neutral Indiferente No sabe	-1: Negativa
Productores de semilla de nim			
Agroindustria de plaguicidas de azadiractina			
Autoridad sanitaria en materia de plaguicidas			
Productores de plantas ornamentales			

17 ¿De que manera usted influye en cada uno de ellos?

Coloque una cruz en el (los) casillero(s) que represente su respuesta

	1. Positiva	0: Neutral Indiferente No sabe	No	-1: Negativa
Productores de semilla de nim				
Agroindustria de plaguicidas de azadiractina				
Autoridad sanitaria en materia de plaguicidas				
Productores de plantas ornamentales				

C2 POTENCIAL DE RECURSOS

18 Como investigador ¿Usted forma parte de algún programa de fomento a la producción nacional de bioinsecticidas? **Elija la opción que represente mejor su respuesta**

1. Sí	0: No sabe/ No conoce	-1: No
-------	-----------------------	--------

19 Actualmente en la línea de investigación de azadiractina o nim, ¿Tiene usted los recursos económicos necesarios? **Elija la opción que represente mejor su respuesta**

1. Sí	0: No sabe/ No conoce	-1: No
-------	-----------------------	--------

20 Con base en su experiencia y el conocimiento de azadiractina o nim ¿Considera usted que los plaguicidas de uso restringido son susceptibles de sustitución por plaguicidas botánicos como azadiractina, en la producción de plantas ornamentales?

Coloque una cruz en el (los) casillero(s) que represente su respuesta

	1. Sí	0: Indeciso /No sabe/ No conoce	-1: No
1: Aldicarb/Uso restringido			
2: Dicofol /Uso restringido			
3: Metamidofos /Uso restringido			

21 Actualmente, ¿Usted participa en estudios relacionados con azadiractina o nim? **Elija la opción que represente mejor su respuesta**

1. Sí	0: No sabe/ No conoce	-1: No
-------	-----------------------	--------

22 Como científico ¿Colabora usted en políticas públicas en el fomento de la producción

nacional de bioinsecticidas? *Elija la opción que represente mejor su respuesta*

23

1. Sí	0: No sabe/ No conoce	-1: No
-------	-----------------------	--------

¿Considera usted posible el vínculo con otros investigadores para efectuar pruebas necesarias para el registro de azadiractina nacional? *Elija la opción que represente mejor su respuesta*

1. Sí	0: No sabe/ No conoce	-1: No
-------	-----------------------	--------

D. Contexto

24 En orden de importancia y con base en su experiencia ¿Cuáles son los problemas en la investigación científica de azadiractina o nim?

25 Con base en su conocimiento ¿Considera usted que la fabricación nacional de azadiractina es un proyecto con posible éxito?

1. Sí	0: No sabe/ No conoce	-1: No
-------	-----------------------	--------

26 Con base en su experiencia y en orden de importancia ¿Cuáles problemas tendrá la producción de azadiractina nacional?

27 Algún comentario sobre la investigación de azadiractina o nim, ¿Qué hace falta?

E Datos de identificación

28 Domicilio

29 Nombre (*opcional*)

30 Sexo: 1. Hombre 2. Mujer

31 ¿Cuál es su edad? [] años

32 Institución:

33 Cargo que desempeña:

Muchas gracias por responder a nuestras preguntas.