

INFLUENCIA DEL FOTOPERIODO SOBRE ALGUNOS PARÁMETROS DEMOGRÁFICOS Y CALIDAD DE LA COCHINILLA (*Dactylopius coccus*)

INFLUENCE OF PHOTOPERIOD ON SOME DEMOGRAPHIC PARAMETERS AND QUALITY OF COCHINEAL INSECTS (*Dactylopius coccus*)

Méndez-Gallegos, S. de J.^{1*}, L. A. Tarango-Arámbula¹, R. Magallanes-Quintar², A. Carnero-Hernández³, F. Blanco-Macias⁴, y R. D. Valdez-Cepeda^{4,5}

¹Colegio de Postgraduados, Campus San Luis Potosí. A. de Iturbide # 73. Salinas de Hgo. San Luis Potosí. CP 78600. MÉXICO. ²Universidad Autónoma de Zacatecas, Unidad Académica de Ingeniería Eléctrica. Ave. Ramón López Velarde 801, Zacatecas, Zac., CP 98064. MÉXICO. ³Departamento de Protección Vegetal. Instituto Canario de Investigaciones Agrarias. 38006. La Laguna. ESPAÑA. ⁴Universidad Autónoma Chapingo, Centro Regional Universitario Centro-Norte. Cruz del Sur Núm. 100, Col. Constelación. Apartado Postal 196, El Orito, Zacatecas, Zac. CP 98085. MÉXICO. ⁵Universidad Autónoma de Zacatecas, Unidad Académica de Matemáticas. Calzada Solidaridad s/n. Zacatecas, Zac. C.P. 98064. MÉXICO.

*Autor de correspondencia: jmendez@colpos.mx

RESUMEN

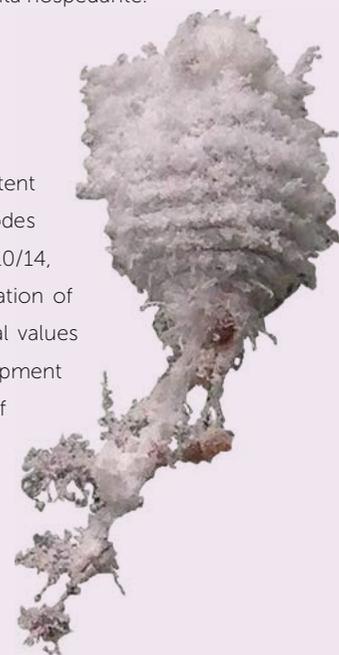
Para determinar la influencia del fotoperiodo en el desarrollo, reproducción y contenido de ácido carmínico de la cochinilla (*Dactylopius coccus*), se establecieron en cámaras climáticas cohortes en cladodios de *Opuntia ficus-indica* L. (Mill.), las cuales se sometieron a cinco regímenes de fotoperiodo: 0/24, 8/16, 10/14, 12/12 y 24/0 h de fotofase:escotofase, respectivamente. El fotoperiodo afectó la duración del ciclo biológico ocurriendo más rápido cuando las horas de oscuridad disminuyeron, pero los valores de supervivencia se redujeron. El régimen con 14 horas de oscuridad proporcionó las mejores condiciones para el desarrollo y reproducción de *D. coccus*. Los regímenes de fotoperiodo probados generaron un bajo porcentaje de ácido carmínico (12%), por lo que se requieren realizar otros estudios para verificar si es la cantidad y calidad de luz la que influye sobre la presencia del colorante o sobre la fisiología de la planta hospedante.

Palabras clave: Supervivencia, reproducción, colorante natural, nopal.

ABSTRACT

To assess the influence of photoperiod on the development, reproduction and carminic acid content of cochineal insects (*Dactylopius coccus*), cohorts were established in climatic chambers on cladodes of *Opuntia ficus-indica* L. (Mill.); these were subjected to five photoperiod regimes: 0/24, 8/16, 10/14, 12/12 and 24/0 hours of photophase:scotophase, respectively. The photoperiod affected the duration of the life cycle, which occurred faster when the hours of darkness decreased, although the survival values were reduced. The regime with 14 hours of darkness provided the best conditions for the development and reproduction of *D. coccus*. The photoperiod regimes tested generated a low percentage of carminic acid (12%), so further studies are required to verify if it is the quantity and quality of light that influences the presence of the dye or the physiology of the host plant.

Key words: Survival, reproduction, natural dye, cactus pear



INTRODUCCIÓN

Por varios siglos algunos insectos han sido empleados para producir ceras, lacas y colorantes; dentro de este último grupo la cochinilla (*Dactylopius coccus*) es fuente de pigmento natural (Lagowska y Golan, 2009). Esta especie contiene varias antraquinonas que incluyen como principal compuesto al ácido carmínico (CAS:1260-17-9; CI: 75470) (González *et al.*, 2002), el cual se emplea en la elaboración de cosméticos, alimentos y productos farmacéuticos, así como en aplicaciones plásticas y textiles (Borges *et al.*, 2012). El uso de este colorante ha sido aprobado en la Unión Europea y en Estados Unidos de América, como aditivo alimentario (Carmen, 2007), dada su inocuidad, alto poder colorante y estabilidad.

A pesar de que México fue uno de los principales productores de cochinilla a nivel mundial, su producción declinó y su exportación desapareció. Actualmente, su producción responde al interés artesanal y con el apoyo y esfuerzo de diversas instituciones públicas y privadas, su cultivo se impulsa nuevamente (Pérez Sandi y Cuen y Becerra, 2001). Considerando que la producción de cochinilla a cielo abierto es limitada por factores bióticos y abióticos (Campos-Figueroa y Llanderal, 2003) se han diseñado "biofábricas" para su cría intensiva, las cuales se validan en diversas regiones del país (Méndez-Gallegos, 2010). Históricamente, el comportamiento poblacional de la cochinilla ha estado relacionado con el fotoperiodo. En tiempos precolombinos la cochinilla era criada usando diversos materiales para brindar sombra y promover así la colonización y desarrollo del insecto. En los períodos fríos se conservaba en cuartos oscuros para proteger al pie de cría, este principio se sigue empleando, particularmente en el estado de Oaxaca. Autores como Flores-Flores y Tekelemburg (1995) y Montiel (1995) han establecido que el fotoperiodo afecta la duración del ciclo de desarrollo del insecto y producción; sin embargo, sus resultados al respecto son contradictorios. Considerando que la cría intensiva de la cochinilla tiende a realizarse en condiciones semi-controladas, el objetivo de este estudio fue conocer la supervivencia y reproducción de *Dactylopius coccus* y su calidad, en función del contenido de ácido carmínico en diversos regímenes de fotoperiodo en cámaras climáticas.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en condiciones de cámara climática, en el Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, La Laguna, España (22° 17' N y 16° 50' O). Se empleó el sistema de cría "a penca cortada" sin suministro de agua ni nutrimentos; las condiciones de las cámaras fueron: temperatura $24 \pm 2^\circ\text{C}$ y humedad relativa entre 60% y 70%. Para determinar la influencia de la duración diaria de la fotofase y la escotofase sobre el desarrollo de *D. coccus*, se colocaron crías de cochinilla en cinco regímenes de fotoperiodo: 0/24, 8/16, 10/14, 12/12, y 24/0 h de fotofase/escotofase, respectivamente. Para simular las condiciones naturales en las zonas de cría la iluminación, ubicada en la parte superior de la celda, fue proporcionada por seis lámpa-

ras: tres de coloración diurna y tres fluorescentes, las cuales emitieron una radiación de la zona espectral del azul al rojo, asegurando así la continuidad de los procesos biológicos. El hospedante para la cría de la cochinilla fue *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. cultivar amarillo. Se utilizaron cuatro cladodios de entre seis y 10 meses de edad para cada régimen de fotoperiodo, sin daños fisiológicos evidentes o de plagas. Todos los cladodios provinieron de una sola planta, se lavaron con agua corriente y se colocaron en el contenedor para la cría del insecto donde completó su ciclo de desarrollo (Figura 1).

El material biológico utilizado como pie de cría fue seleccionado de entre hembras adultas de *D. coccus* próximas a ovipositar, provenientes de una mezcla de varios cultivares; éste fue revisado para evitar la introducción de posibles antagonistas a las cámaras climáticas. Para iniciar la cría con cohortes de la misma edad se introdujeron 2.5 g de hembras próximas a parir en contenedores de tela de tul de 4x12 cm, y se fijaron a los cladodios con una espina de nopal, donde permanecieron adheridos durante 48 h.



Figura 1. Contenedor y acomodo de los cladodios de nopal (*O. ficus-indica* (L.) Mill.) para la cría de *D. coccus*.

Para determinar la influencia del periodo de luz/obscuridad sobre la supervivencia (l_x), cada cinco días se contabilizaron los individuos sobrevivientes en cada cludodio por intervalo de edad. Asimismo, se determinó la relación hembra/macho para cada régimen de fotoperiodo. La fecundidad de la cochinilla (m_x) se estimó con base en el número de ninfas y huevos producidos por cada hembra adulta por día, de una muestra de 10 hembras adultas seleccionadas al azar en cada régimen (tratamiento) de fotoperiodo. En este proceso, los huevecillos y las crías recién emergidas se cuantificaron dos veces al día (8 y 20 h) durante todo el periodo de reproducción. Con esta información se calculó la fecundidad total (huevos hembra⁻¹), fecundidad diaria (huevos hembra⁻¹ d⁻¹) y duración del periodo reproductivo (d). Con base en Méndez-Gallegos *et al.* (2010) se obtuvieron la tasa de supervivencia (l_x) y de fecundidad (m_x), considerando los valores de supervivencia y fecundidad de cada población, aplicando las ecuaciones propuestas por Birch (1948) y Krebs (1985).

Para determinar la diferencia estadística entre las curvas de supervivencia de *D. coccus* se empleó la prueba de Log rank ($\alpha=0.01$). Las diferencias entre la tasa intrínseca de incremento natural (r_m) de cada cohorte se determinaron con la prueba de traslape de intervalos ($\alpha=0.05$) (Vera y Sotres, 1991) mediante el programa SUFERTI propuesto por Colunga y Vera (1991). Para analizar las variables fecundidad total, fecundidad diaria y duración del periodo reproductivo, el diseño experimental utilizado fue completamente al azar, considerando a los regímenes de foto-

periodo como tratamientos y las hembras individuales como repeticiones. En relación con el contenido de ácido carmínico se utilizaron los regímenes de fotoperiodo como tratamientos con tres repeticiones. En ambos casos se empleó el procedimiento ANOVA (SAS Institute, 2010) y las diferencias entre medias fueron determinadas mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Para determinar el contenido de ácido carmínico (AC) se optimizó un protocolo para su extracción y determinación (Cuadro 1). Una vez optimizado se tomó una muestra de hembras secas de cada cohorte, la cual se molió en un mortero de cerámica; luego se tomaron 125 mg de cada población, se agregaron 30 mL de ácido clorhídrico 2 N y se homogenizaron en un agitador durante un minuto.

Para la extracción del AC las muestras se sometieron a baño maría a 70 °C durante 35 minutos; posteriormente, se enfriaron y centrifugaron durante 15 minutos a 7000 rpm. Este proceso se repitió dos veces y los sobrenadantes se diluyeron en 250 mL de agua destilada. El AC se determinó a 494 nm en un espectrofotómetro Shimadzu (Modelo UV-160 A) en tres repeticiones para cada población. Se construyó una curva de calibración, midiendo la absorbancia de una serie de concentraciones conocidas de AC, y se usó una muestra de HCL 2N como blanco (Figura 2).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinó una relación directa entre la colonización inicial de las ninfas migrantes y el número de horas de obscuridad. La densidad

Cuadro 1. Protocolo para la cuantificación del AC de *D. coccus*.

Factores en estudio	Nivel	Peso (g)	Absorbancia (nm)	AC (mg kg ⁻¹)	AC (%)
Temperatura °C	30	0,1256	0,702	45,40	9,0
	50	0,1253	0,823	53,21	10,6
	70	0,1250	1,004	64,88	13,0
	80	0,1253	0,715	46,24	9,2
	65	0,1250	0,959	61,98	12,4
	75	0,1250	0,536	34,69	6,9
Tiempo de extracción (min)	15	0,1259	0,634	41,01	8,1
	25	0,1255	0,754	48,75	9,7
	30	0,1255	0,834	53,92	10,7
	35	0,1254	0,953	61,59	12,3
	45	0,1250	0,753	47,34	9,5
	60	0,1258	0,791	51,14	10,2
Dosis extractiva (mL de HCl 2N)	20	0,1255	0,750	48,50	9,7
	30	0,1245	0,854	55,21	11,1
	40	0,1250	0,748	48,37	9,7
Número de extracciones	1	0,1253	1,132	73,14	14,6
Usando mezclador	2	0,1257	1,207	77,98	15,5

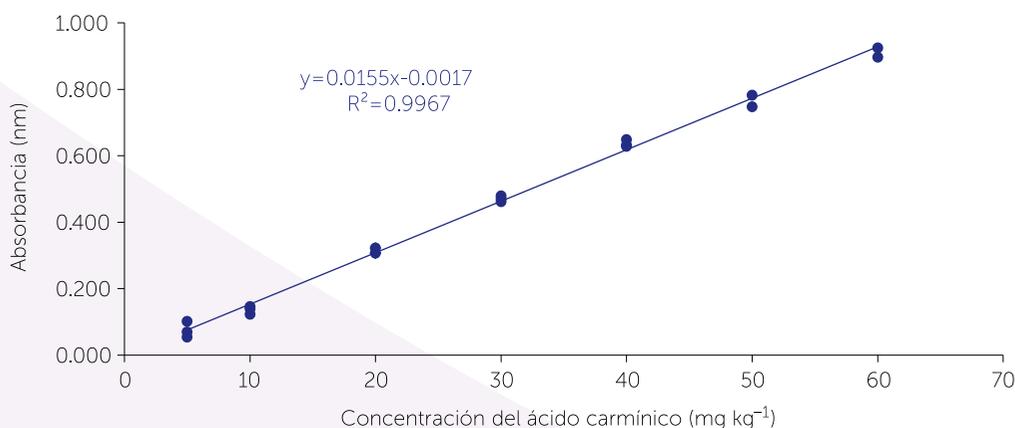


Figura 2. Calibración para la cuantificación del ácido carminico.

inicial de ninfas se incrementó de 719 en promedio por cladodio, con 12 horas de obscuridad, a 1,167 en obscuridad total, por lo que se atribuyó un comportamiento fototáctico negativo de la ninfa migrante durante su establecimiento y fijación en el cladodio. Es posible que este comportamiento esté ligado a la ausencia de una cubierta protectora (laca, cera, seda, etcétera) en esta primera fase de desarrollo, la cual puede estar presente en otros coccoideos. Otras especies como *D. austrinus* y *D. opuntiae* presentan un fototropismo negativo, dado que las ninfas se establecen en aquellos sitios donde no se presenta la incidencia de luz directa (Moran *et al.*, 1982; Moran y Hoffman, 1987; Aldama-Aguilera y Llanderal-Cázares, 2003). Por el contrario, para la misma especie, Montiel (1995) afirma que las ninfas se establecen en sitios bien iluminados, presentando fototaxia positiva. Los resultados de este estudio, sugieren que durante la infestación se debe reducir la cantidad de luz para proteger a las ninfas migrantes, favorecer su estable-

cimiento y promover la oviposición; posteriormente se recomienda moverlas a regímenes más favorables de luz a fin de evitar daños a la planta hospedante y al insecto mismo. La velocidad de desarrollo de los individuos criados en regímenes de luz continua fue más rápida. Por el contrario, cuando la cochinilla se desarrolló en obscuridad total, la velocidad se redujo y el ciclo se alargó hasta en 20 d. En aquellas cohortes desarrolladas a 12, 14 y 16 h de obscuridad, los ciclos de desarrollo fueron muy homogéneos, completando el ciclo en 75 d promedio. La mayor supervivencia (31%) hasta el estado adulto se registró con 14 h de obscuridad, disminuyendo a 10% al incrementarla a 16 h; la población desarrollada en obscuridad total presentó una supervivencia de 15%. En contraste, Montiel (1995) observó una supervivencia más alta en hembras de *D. coccus* a 12 h (41%) y 16 h (40%) de obscuridad en *O. ficus-indica*. En *D. opuntiae*, el porcentaje de supervivencia ha sido hasta de 66% (Flores-Hernández *et al.*, 2006).

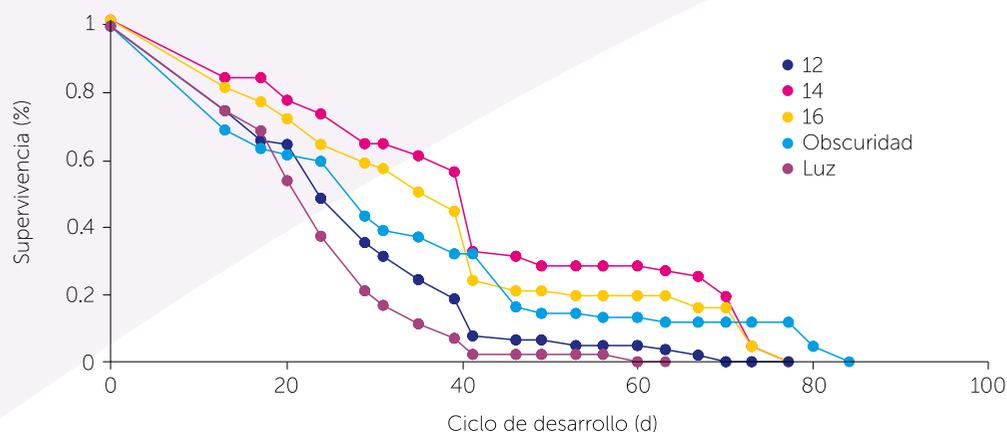


Figura 3. Curvas de supervivencia de *D. coccus* criadas en cinco regímenes de obscuridad.

Cuando la cochinilla se cría a mayor cantidad de horas luz (12 h), únicamente 6% de los individuos iniciales alcanza el estado adulto. Este comportamiento fue más evidente en la cohorte mantenida con luz continua, ya que solamente 1% de su población inicial alcanzó el estado adulto (Figura 3). La prueba de Log rank mostró que la curva de supervivencia de la cohorte desarrollada bajo el régimen de 12 h de obscuridad fue diferente al resto de las curvas de supervivencia de las poblaciones evaluadas ($X^2=6.635$; g.l.=1; $\alpha=0.01$). Las diferencias significativas de supervivencia fueron registradas entre las curvas de 14 h de obscuridad y la de luz continua, así como entre las curvas de luz y obscuridad constantes; sin embargo, entre las curvas de supervivencia de las poblaciones sometidas a 14 h y 16 h de obscuridad no hubo diferencias estadísticas. Un resultado similar se registró con las curvas de 14 h de obscuridad con la de obscuridad total y aquéllas de 16 h de obscuridad y de luz continua.



Las cohortes criadas a luz constante y a 12 h de obscuridad presentaron un efecto deletéreo en su supervivencia. A pesar de que en los otros regímenes de fotoperiodo no se encontraron valores altos de supervivencia, éstos permitieron el establecimiento y desarrollo del insecto, aunque con un retraso en el desarrollo y una disminución de la población de cochinilla. En este sentido, se resalta que, independientemente de su longitud de onda, intensidad luminosa y duración, la luz puede tener una función importante en el desarrollo de la cochinilla. Sin embargo, no se detectó si es la cantidad o la calidad de la radiación la que genera un detri-

mento sobre el insecto, o bien, la duración diaria de la escotofase. En este sentido es posible que la duración diaria de la escotofase puede ocasionar daños directos e indirectos al hospedante, tales como la reducción de la actividad fotosintética, sobre todo si se considera el metabolismo CAM de las cactáceas, las cuales requieren necesariamente de la obscuridad para el intercambio de CO_2 (Nobel, 1998).

El inicio de la reproducción con 12 h se presentó aproximadamente a los 61 d, mientras que la reproducción de las poblaciones desarrolladas entre 14 y 16 h se registró a los 62 d. Por el contrario, con el régimen de obscuridad completa la reproducción se retrasó hasta 8 d. En condiciones de campo Rodrigo *et al.* (2010) observaron que el tiempo de desarrollo fue de 78 días; mientras que Montiel (1995) registró una duración del ciclo de 84 d en los fotoperiodos de 12/12 y 8/16. Se que cuando la cochinilla es so-

metida a un proceso de luz constante, ocurre un efecto poco favorable para su desarrollo, ya que ningún individuo alcanzó la etapa reproductiva. El número total de huevecillos producidos por hembra durante el periodo de oviposición varió de acuerdo con la duración diaria de obscuridad (Cuadro 2), registrando que el número promedio de descendientes por hembra se duplicó conforme se alargó el periodo de obscuridad de 12 a 16 h (69.5 ± 66 a 130 ± 71.6 individuos). Se esperaría que aquellas hembras desarrolladas en condiciones de obscuridad completa presenten baja fecundidad; sin embargo, dicha población presentó el segundo valor medio más

Cuadro 2. Efecto de la duración diaria de obscuridad sobre la fecundidad de *D. coccus* (n=10).

Parámetros	Duración diaria de obscuridad (h)*			
	12	14	16	24
**Fecundidad media total (huevos/hembra \pm SE)	69.5 \pm 6 b	112.9 \pm 61.3ab	130.3 \pm 72 a	115.2 \pm 35 a
Fecundidad diaria(huevos/hembras/d \pm SE)	6.9 \pm 4 b	10.6 \pm 4 a	11.0 \pm 5.1 a	9.8 \pm 1.9 ab
Período reproductivo (d \pm SE)	8.1 \pm 5.1 a	10.2 \pm 3.5 a	11 \pm 3.5 a	11.7 \pm 2 a
Proporción sexual (♀/♂)	0.71	0.74	0.76	0.83

* No se incluyen los datos de 24 h luz.; ** Fila con la misma letra no son diferentes estadísticamente ($\alpha=0.05$).

alto de descendientes, pero estadísticamente igual al valor obtenido en 16 h de obscuridad. Una relación importante fue que la duración del periodo reproductivo se alargó conforme se incrementaron las horas de obscuridad, resultado que apoya la recomendación de proteger a la hembra reproductiva mediante un fotoperiodo más largo para incrementar su tasa de fecundidad (Cuadro 2). La fecundidad media total y la duración del periodo reproductivo fueron mayores a los consignados por Montiel (1995) a 12 h (38 individuos) y 16 h (48 individuos) de obscuridad, pero menores a los registrados por Méndez-Gallegos *et al.* (2010) en el cultivar Offer de 215 individuos hembra⁻¹.

La Figura 4 indica que las hembras desarrolladas a 16 h de obscuridad obtuvieron el valor más alto de huevecillos, y que las mantenidas a 12 h de obscuridad registraron el más bajo; en tanto, las hembras provenientes de 14 h de obscuridad y obscuridad total presentaron valores intermedios muy semejantes. Se observó una correlación positiva entre la dimensión de la hembra, la duración del periodo reproductivo y

el número de huevecillos ovipositados. Las hembras con una dimensión de 6×5 mm (largo y ancho) generaron en promedio 205 individuos hembra⁻¹, en contraste aquellas hembras cuya talla fue de 5×3 mm produjeron solamente 73 individuos hembra⁻¹; esta tendencia también la registraron Mathenge *et al.* (2009) en *D. tomentosus*.

Los valores de fecundidad fueron bajos, heterogéneos y variaron según la duración diaria de las horas de obscuridad. Estas tendencias podrían atribuirse a la alta proporción de hembras comparada con los machos presentes en todos los regímenes de fotoperiodo evaluados; la proporción sexual (♀/♂) osciló entre 3.5:1 a 12 h de obscuridad hasta 6:1 en los regímenes de luz y obscuridad continua. La relación hembra/macho pudo evitar baja fertilización, fecundación parcial, fertilización tardía de las hembras, o bien, que la baja cantidad de luz habría influenciado un bajo nivel de movimiento del macho. Los resultados sugieren que la variación del día corto a día largo influye en la reproducción de la cochinilla, en la fisiología de la planta hospedante y, por tanto, en la nutrición misma del insecto. La población desarrollada en 14 h de obscuridad registró el valor más alto de la tasa neta reproductiva R_0 (hembra hembra⁻¹ generación⁻¹) y de la tasa intrínseca de incremento natural r_m (hembras d⁻¹) (Cuadro 2). Asimismo, se observa que la población mantenida a 14 h de obscuridad se incrementó 3.6 veces en un periodo de 66 d, lo que indica que, teóricamente, dicha población podría multiplicarse diariamente un 2% y duplicar su tamaño en 35 d. La tasa intrínseca de incremento natural (r_m) de *D. coccus* entre poblaciones difirió estadísticamente (Cuadro 3). El valor más alto de la tasa intrínseca de incremento natural (r_m) de *D. coccus* (0.0193) se obtuvo cuando la cohorte se crió a 14 horas de obscuridad (Cuadro 3). Méndez-Gallegos *et al.* (2010) determinaron un valor superior de 0.0025 hembras día⁻¹ en colonias de *D. coccus* criadas en el cultivar Offer. Este parámetro, que conjunta tanto los valores de supervivencia y de fecundidad, permiten precisar si la población puede aumentar o reducirse y, bajo esta condición de obscuridad, la población podría duplicarse en un periodo de 36 días, mientras que en el régimen de 12 de obscuridad, duplicarse le tomaría 204 días.

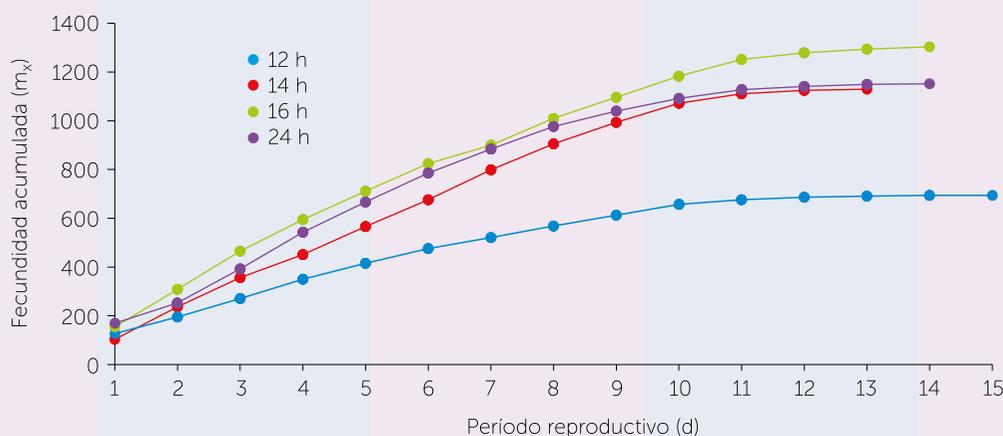


Figura 4. Curvas acumulativas de oviposición de *D. coccus* criadas en cuatro regímenes de obscuridad.

No se registraron diferencias estadísticas ($F=0.49$; $g.l.=3,11$; $Pr>0.7011$) entre los porcentajes de ácido carmínico (AC) de las poblaciones evaluadas en las diferentes regímenes de fotoperiodo. Asimismo, no se observó una tendencia clara de la duración de las horas de oscuridad y el contenido de AC en las poblaciones evaluadas; sin embargo, la presencia del AC se ve favorecida por la disminución de las horas de oscuridad, aunque no fue este el caso para la población mantenida en oscuridad total, la cual presentó un aumento muy ligero. El porcentaje de AC en este estudio fue en promedio 11.5% promedio, valor inferior al registrado por Aldama-Aguilera et al. (2005), Rodríguez et al. (2005), Briseño-Garzón y Llanderal (2008), y no reúne las características de calidad que requiere el mercado. El valor promedio más alto se obtuvo con la población desarrollada con mayor cantidad de luz (11.9%), lo que podría indicar su importancia en la producción de AC. El bajo contenido de AC registrado en este estudio pudo estar relacionado a que la cochinilla fue criada en ambiente confinado, con cladodios desprendidos de la planta madre (sin suministro adicional de nutrimentos ni agua) y provenientes de plantas sin manejo agronómico previo (sin riego y sin fertilización).

CONCLUSIONES

Con el incremento de las horas luz, la duración del ciclo de desarrollo de *D. coccus* se reduce, pero su mortalidad se incrementa. Los regímenes de 14 horas de oscuridad y 10 horas de luz favorecen la supervivencia y la fecundidad de *D. coccus*. El porcentaje de ácido carmínico en todos los tratamientos fue bajo, por lo que se recomienda verificar si la cantidad y calidad de

Cuadro 3. Parámetros demográficos de *D. coccus* criada en cuatro regímenes de fotoperiodo.

Oscuridad (h)	R_0	G	r_m	λ	TD
12	1.251	64.99	0.0034 ^c	1.0034	203.9
14	3.612	66.47	0.0193 ^a	1.0195	35.91
16	3.25	66.39	0.0170 ^b	1.0179	40.77
24	1.843	72.08	0.0084 ^d	1.008	82.51

Prueba de traslape de Intervalos ($\alpha=0.05$).

luz desempeñan un rol determinante sobre el insecto, o bien, en la planta hospedante.

LITERATURA CITADA

- Aldama-Aguilera C., Llanderal-Cázares C. 2003. Grana cochinilla: comparación de métodos de producción en penca cortada. *Agrociencia* 37(1):11-19.
- Aldama-Aguilera C., Llanderal-Cázares C., Soto-Hernández, M. R., Castillo-Márquez L. E. 2005. Producción de grana-cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) en plantas de nopal a la intemperie y en micro-túneles. *Agrociencia*. 39:161-171.
- Birch L.C. 1948. The intrinsic rate of natural increase on an insect population. *J. Anim. Ecol.* 17: 15-26.
- Borges M. E., Tejera R. L., Díaz L., Esparza P., Ibáñez E. 2012. Natural dyes extraction from cochineal (*Dactylopius coccus*). *New extraction methods*. *Food Chemistry*. 132:1855-1860.
- Briseño-Garzón A., Llanderal C. 2008. Contenido de ácido carmínico en hembras de grana-cochinilla de diferentes edades. *In: Llanderal, C., Zetina, D., Viguera, A.L., y L. Portillo (eds). Grana cochinilla y colorantes naturales*. Colegio de Postgraduados. México. pp:16-20.
- Carmen S. 2007. *Food colorants: Chemical and Functional Properties*. Boca Raton: CRC Press. 648 p.
- Campos-Figueroa M., Llanderal-Cázares C. 2003. Producción de grana-cochinilla *Dactylopius coccus* Costa (Homoptera: Dactylopiidae) en invernadero. *Agrociencia* 37(2):149-155.
- Colunga G.M., Vera J.G. 1991. SUFERTI. Programa de computación para estimar y comparar algunas estadísticas demográficas en insectos. *In: Resúmenes XXVI Congreso Nacional de Entomología*. Sociedad Mexicana de Entomología. Oaxaca, México 1991. pp: 137-138.
- Flores-Flores V., Tekelenburg A. 1995. *Dactylopius coccus* Costa dye production. *In: Barbera, G., Inglese, P., y E. Pimienta (eds) Agroecología, cultivarion and uses of cactus pear*. FAO Plant Production and Protection Paper. 132:167-185.
- Flores-Hernández A., Murillo-Amador B., Rueda-Puente E. O., Salazar-Torres J. C. García-Hernández J. L., Troyo-Diéguez E. 2006. Reproducción de cochinilla silvestre *Dactylopius opuntiae* (Homoptera: Dactylopiidae). *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 77:97-102.
- González M., Méndez J., Carnero A., Lobo M.G., Afonso A. 2002. Optimizing conditions for the extraction of pigments in cochineals (*Dactylopius coccus* Costa) using response surface methodology. *J. Agric. Food Chem.* 50:6968-6974.
- Krebs C.J. 1985. *Ecology. The Experimental Analysis of Distribution and Abundance*. 3rd. Ed. Harper Int. New York. 754 p.
- Lagowska B., Golan K. 2009. Scale insects/ Hemiptera, Coccoidea/ as a source of natural dye and other useful substances. *Aphids and other Hemipterous Insects*. 15:151-167.
- Mathenge C.W., Holford P., Hoffmann J.H., Spooner-Hart R., Beattie G.A.C., Zimmermann H.G. 2009. The biology of *Dactylopius tomentosus* (Hemiptera: Dactylopiidae). *Bull. Entomol. Res.* 99: 551-559.
- Méndez-Gallegos S. de J. 2010. De los montes a la biofábrica: La evolución de los sistemas de cría de la cochinilla. *In: Portillo, L., y A. L. Viguera (eds).*

- Conocimiento y Aprovechamiento de la Grana Cochinilla. Universidad de Guadalajara. México. pp: 135-144. ISBN: 978-607-7533-56-6.
- Méndez-Gallegos S. de J., Tarango-Arámbula L. A., Carnero A., Tiberi R., Díaz-Gómez O. 2010. Crecimiento poblacional de la cochinilla *Dactylopius coccus* Costa criada en cinco cultivares de nopal *Opuntia ficus-indica* Mill. *Agrociencia*. 44:225-234.
- Montiel R.L. 1995. Morfología de *Dactylopius coccus* Costa (Homoptera: Dactylopiidae) y su biología y reproducción en dos fotoperiodos. Tesis de Maestría en Ciencias. Instituto de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Méx. 104 p.
- Moran V. C., Gunn B. H., Walter H. G. 1982. Wind dispersal and settling of first-instar crawlers of the cochineal insect *Dactylopius austrinus* (Homoptera: Dactylopiidae). *Ecol. Entomol.* 12:51-60.
- Moran V. C., Hoffman J. H. 1987. The effects of simulated and natural rainfall on cochineal insects (Homoptera: Dactylopiidae): colony distribution and survival on cactus cladodes. *Ecol. Entomol.* 12:61-68.
- Nobel P. S. 1998. Los incomparables Agaves y Cactus. Ed. Trillas. México. 211 p.
- Pérez Sandi C. M., Becerra R. 2001. Nocheztli: el insecto del rojo carmín. *CONABIO. Biodiversitas*. 316:1-8.
- Rodrigo E., Catalá-Oltra M., Grandero M. 2010. Estudio comparativo de la morfología y biología de *Dactylopius coccus* Costa y *D. Opuntiae* (Cockerell) (Hemiptera: Dactylopiidae), dos especies presentes en la comunidad valenciana. *Bol. San. Veg. Plagas*. 36:23-35.
- Rodríguez L.C., Faúndez E., Seymour J., Escobar C., Espinoza L., Petroutsa M., Ayres A., Niemeyer H.N. 2005. Factores bióticos y concentración del ácido carmínico en la cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) (Homoptera: Dactylopiidae). *Agric. Téc.* 65(3):323-329.
- SAS. 2010. Statistical Analysis System. SAS V. 9.3 Software® Copyright (c) 2002-2010 by SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Vera G.J., Sotres D.R. 1991. Prueba de traslape de intervalos para comparar tasas instantáneas de desarrollo poblacional. *Agrociencia. Serie Protección Vegetal* 2(2):7-13.

