BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
INSTITUTO DE CIENCIAS
CENTRO DE AGROECOLOGÍA

MAESTRÍA EN MANEJO SOSTENIBLE DE AGROECOSISTEMAS

TESIS

PRODUCCIÓN DE GRANA COCHINILLA (*Dactylopius coccus* COSTA) (HEMIPTERA: DACTYLOPIIDAE) CON DIFERENTES SISTEMAS DE INFESTACIÓN

PRESENTA

Biól. HANNELORE GOVELA CONTRERAS

TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN MANEJO SOSTENIBLE DE AGROECOSISTEMAS

COMITÉ TUTORAL

DIRECTORA DE TESIS

DRA. BETZABETH CECILIA PÉREZ TORRES

ASESORES

DR. AGUSTÍN ARAGÓN GARCÍA

DRA. ANA LILIA VIGUERAS GUZMÁN

DR. MIGUEL ARAGÓN SÁNCHEZ

Puebla, Pue., noviembre 2021

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca otorgada que me permitió realizar mis estudios de posgrado.

Al Centro de Agroecología del Instituto de Ciencias, de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por permitirme desarrollarme profesionalmente dentro de sus instalaciones.

A mi directora de tesis, la Dra. Ceci por estar siempre al pendiente de mis dudas, aprendizajes, motivarme a superarme cada día como profesionista y sobre todo brindarme un ambiente de confianza y amistad.

A mis asesores, el Dr. Agustín por su pasión por el trabajo que realiza, por siempre despejar mis dudas con mucha paciencia y claridad; el Dr. Miguel por su profesionalismo, paciencia, facilidad para explicar algún tema; y a la Dra. Ana Lilia por siempre brindarme su tiempo, dedicación y pasión por lo que hace. Gracias a los tres por sus valiosos consejos.

A la Dra. Ana Lilia y el Dr. Liberato Portillo por acogerme de una manera cálida en mi estancia en Guadalajara, por todas sus excelentes atenciones, por sus explicaciones y consejos para enriquecer mi trabajo y crecer profesionalmente.

A la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado por el apoyo otorgado para la conclusión de esta tesis dentro del Programa IV. Investigación y Posgrado. Apoyar a los programas de posgrado para lograr su incorporación al Padrón Nacional de Calidad. Indicador establecido en el Plan de Desarrollo Institucional 2017-2021.

DEDICATORIA

En primer lugar, a Dios y a la Virgencita por guiarme y darme la sabiduría necesaria para la realización de esta investigación.

A mis padres Ariadna y José Luis, por su amor, consejos, comprensión y siempre alentarme a seguir adelante día con día, gracias por ser mi principal motor para seguir superándome.

A mis hermanos, Alex y Mariana por siempre apoyarme para no rendirme y animarme a cumplir nuevas metas.

A mi novio Pedro por su apoyo, comprensión y siempre darme las palabras adecuadas para no rendirme, seguirme superando y desarrollarme como profesional.

A la familia de mi novio, por brindarme su apoyo en la realización de mi experimento y animarme a crecer profesionalmente.

Y, por último, a mis amigos y compañeros que han sido como mi segunda familia en este lapso tan importante en mi vida.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN i
I. INTRODUCCIÓN 1
II. ANTECEDENTES 3
2.1 Historia de la grana cochinilla del nopal 3
2.2 Morfología y clasificación taxonómica de *D. coccus* 4
2.2.1 Biología y hábitos de *D. coccus* 5
2.2.2 Factores que afectan el desarrollo de *D. coccus* 6
2.3 Importancia económica de *D. coccus* 8
2.3.1 Colorante carmín 9
2.3.2 Acido carmínico 10
2.3.3 Principales productores a nivel mundial 11
2.3.4 Sistemas de producción de *D. coccus* 14
2.3.4.1 Sistema de planta en pie 14
2.3.4.2 Sistema de penca cortada 14
2.3.5 Métodos de infestación de cladodios 16
2.3.6 Cosecha y manejo postcosecha de *D. coccus* 19
2.4 Origen e historia del cultivo del nopal 20
2.5 Morfología y clasificación taxonómica de *Opuntia ficus-indica* 21
2.6 Importancia del nopal en México 22
2.6.1 El nopal como cultivo para la producción de la grana cochinilla del nopal 23
III. JUSTIFICACIÓN 24
IV. OBJETIVO GENERAL 25
4.1 Objetivos específicos 25
V. HIPÓTESIS 25
VI. ZONA DE ESTUDIO 26
VII. METODOLOGÍA 27
7.1 Trabajo de laboratorio 27
7.1.1 Pie de cría 27
7.2 Trabajo de campo 30
7.2.1 Realización de bioensayos. 30
7.2.2 Cosecha y postcosecha de *Dactylopius coccus* 34
7.2.2.1 Porcentaje de Ácido Carmínico en cada método de infestación 37

7.3 Análisis estadístico 41
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 42
8.1 Pie de cría 42
8.1.1 Observaciones del pie de cría 42
8.2 Bioensayo tiempo de desarrollo de *D. coccus*. 45
8.2.1 Métodos de infestación 45
8.2.2 Registro de temperatura, humedad y tiempos de desarrollo de *Dactylopius coccus*. 50
8.2.3 Cosecha y postcosecha de *Dactylopius coccus* 55
8.2.4 Determinación de ácido carmínico 56
IX. CONCLUSIONES 59
X RECOMENDACIONES 60
XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 61
ANEXO 1 69

RESUMEN

Con el fin de evaluar el método de infestación apropiado para realizar una producción de grana cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) en la zona de Puebla, se elaboró un nuevo método de infestación con hoja de maíz, la cual se comparó con tres métodos ya documentados: tenate, bolsa de tul y gravedad. Cada uno de estos tratamientos tuvo 20 repeticiones, ocupando diez hembras oviplenas por repetición. Se realizó un diseño de bloques al azar (DBA) comparando estadísticamente con análisis ANVA y comparaciones múltiples de medias de Tukey. La investigación se realizó bajo condiciones de traspatio en la junta auxiliar de San Francisco Totimehuacán, Puebla, Pue., en cladodios de *Opuntia ficus-indica* (L) Mill. de un cultivar establecido en las instalaciones del Ecocampus Valsequillo, BUAP.

En cuanto a peso fresco, el método de tenate destacó con 6.14 g por cladodio, aunque también el método de hoja de maíz, a pesar de estar por debajo del método de tenate, presentó 5.48 g por cladodio, siendo superior al método de bolsa de tul y gravedad; para la producción de peso seco, el método de hoja de maíz destacó con 2.01 g por cladodio y en cuanto a porcentaje de ácido carmínico, el método de bolsa de tul destacó en la clasificación de segunda calidad con 16.05 % y el método de tenate con 15.98 %. El método de gravedad no presentó diferencias significativas en peso fresco, seco o porcentaje de ácido carmínico.

A pesar de que el método de hoja de maíz no logró sobresalir en todos los análisis estadísticos realizados en la investigación, se puede considerar una nueva opción de método de infestación de grana cochinilla en la zona de estudio, además de considerarse sustentable, económico y fácil de conseguir y elaborar para los productores de nopal.

I. INTRODUCCIÓN

La cochinilla fina o grana cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) (Hemiptera: Dactylopiidae) es un insecto originario de México que puede presentar adaptación y selectividad a una especie o cultivar del género *Opuntia*, cuenta con un ciclo de vida va de 90 a 128 d. Cada sexo tiene su propio desarrollo, la hembra presenta metamorfosis hemimetábola, mientras que el macho presenta metamorfosis holometábola (Vigueras y Portillo, 2014).

La planta de nopal presenta una amplia distribución en las regiones semiáridas de México en condición cultivada y silvestre. Las nopaleras cultivadas ocupan poco más de 210,000 ha, de las cuales 150,000 se destinan al forraje, 50,000 para tuna; 10,000 para producir nopales y aproximadamente 100 ha para producir grana de cochinilla (Vargas-Cathi, 2004).

Las interacciones que presentan tanto insecto como planta fueron conocidas y utilizadas durante siglos por los mesoamericanos precolombinos, el nopal como alimento y la cochinilla como colorante (Chávez-Moreno *et al.* 2011). Después del descubrimiento de América, los españoles comenzaron a comerciar con carmín, un tinte precioso extraído de las hembras de *D. coccus* (Mazzeo *et al.* 2019).

Actualmente se sigue ocupando este insecto como colorante natural, sustituyendo al artificial, del cuerpo seco de las hembras adultas se obtiene un colorante natural conocido como ácido carmínico (AC), empleado en la industria textil, farmacéutica, cosméticos y alimentaria (Méndez-Gallegos *et al.* 2003). El AC es uno de los pocos colorantes naturales avalados por la Organización Mundial de la Salud, en Estados Unidos de América y por la Comunidad Europea, para ser utilizado en alimentos, el contenido de AC es el principal parámetro usado para determinar la calidad comercial del insecto y su precio de venta (Coronado-Flores, 2015).

La producción de la grana cochinilla en México, o también conocida como coccidocultura (Portillo, 1992), se lleva a cabo principalmente en el estado de Oaxaca, aunque también se ha difundido en el Estado de México, Hidalgo, San Luis

Potosí, entre otros (Vargas-Cathi, 2004). Además, su producción se realiza en otras partes del mundo como Perú, Islas Canarias, Chile, Bolivia y Ecuador (Aldama-Aguilera *et al.* 2005), donde Perú es el primer productor a nivel mundial, ya que ha sextuplicado su producción en los últimos 23 años. Este producto es comprado por países de primer mundo como Alemania, Francia, Italia, Japón y Reino Unido (Mora-Blancas *et al.* 1999).

Mora-Blancas *et al.* (1999) mencionan que para conseguir una excelente producción de AC, cada país utiliza un método de coccidocultura, y método o sistema de infestación adecuados a sus necesidades, en México, por las condiciones climáticas que presenta, no puede realizar el método de coccidocultura a cielo abierto como Perú, pero se realiza bajo cubierta, ocupando desde invernaderos hasta microtúneles; y los sistemas de infestación que se emplean son variados; en Oaxaca se usa el método de Tenate, que consiste en nidos tejidos de palma; en Perú y Chile recomiendan infestar con nidos de tul. Portillo y Vigueras (2018) mencionan que Perú realiza sus infestaciones usando fracciones de manguera de plástico con perforaciones.

El precio de la grana cochinilla está directamente relacionado con el porcentaje de AC (aproximadamente 1 % = S1 USD), aunque este precio puede variar dependiendo del mercado (Portillo y Vigueras, 2018). La grana cochinilla se ha llegado a comercializar desde $ 22 USD ($535 MXP), hasta los $ 500 USD ($12,159.05 MXP) el kg de grana cochinilla seca (Portillo y Vigueras, 2012).

He aquí la gran importancia que presenta este insecto dentro de la economía y por lo cual, esta investigación tiene como fin encontrar el sistema de infestación adecuado, con rendimientos capaces de conseguir un incremento en la producción de grana cochinilla. Además, se determinará la cantidad de AC presente en el producto final, para evaluar la calidad del mismo.

II. ANTECEDENTES

2.1 Historia de la grana cochinilla del nopal

El término coccidocultura es la técnica aplicada al cultivo y mejor aprovechamiento de la grana o cochinilla. Portillo (1992) menciona que Herrera (1983), consignó el nombre de coccinocultura, probablemente generado a partir del vocablo latín *coccinus* que significa grana o escarlata. De igual manera menciona que la raíz actual coccido que designa a los miembros de la superfamilia coccoidea, es más común entre los autores: MacGregor y Sampedro (1983) citaron el término coccidofauna, así mismo, menciona que Santibáñez (1990) consignó la palabra coccidólogos. Debido a lo anterior, se sugiere utilizar el término coccidocultura, aun cuando ambos son correctos.

La grana cochinilla es originaria del estado de Oaxaca, su tintura fue ampliamente utilizada desde épocas muy antiguas; se ha encontrado en las descripciones y representaciones labradas en murales y en las pinturas en papel amate desde el Preclásico Tardío (100 a.C. a 100 d.C.) y, más frecuente, en el periodo Clásico (250-900 d.C.) y el Postclásico (900-1521 d.C.). Este color fue trabajado en finas vasijas de cerámica (Pérez-Sandi y Becerra, 2001). En la época colonial este producto ocupó el tercer renglón en las exportaciones de México, después del oro y la plata (Tovar-Puente, 2000).

Díaz-Merchán y Ávila (2002) citan que además de la grana cochinilla, otros insectos productores de pigmentos rojos fueron empleados en Europa antes de la introducción de la cochinilla americana:

- Cochinilla de Polonia (*Porphyrophora polonica* L.) (Hemiptera: Margarodidae), parásito de la raíz de la *Sleranthus perennis* L (Caryophyllaceae), su principio colorante es el AC y el ácido kermésico.
- Cochinilla de Armenia (*Porphyrophora hameli* Brandt.) (Hemiptera: Margarodidae) parásito de las especies *Aeluropus littoralis* Parl. (Poaceae) y *Phragmites communis* Cav. (Poaceae), de él obtenían el carmín.

- Grana kermes (*Kermes vermilio* Planch.) (Hemiptera: Kermesidae) parásito de la coscoja (*Quercus coccifera* L.) (Fagaceae), para la obtención del ácido kermésico.

2.2 Morfología y clasificación taxonómica de *D. coccus*

La superfamilia Coccoidea incluye aproximadamente 8,000 especies de hemípteros fitófagos, distribuidos en alrededor de 32 familias. Esta superfamilia se divide en dos grupos sin categoría taxonómica, las Archaeococcoidea y las Neococcoidea. Dentro de esta última se encuentra la familia Dactylopiidae, una familia monogenérica, nativa del Nuevo Mundo, principalmente de los desiertos de EEUU, México y Sudamérica, conocidas comúnmente como “cochinillas del carmín”, está íntimamente relacionada con la familia de plantas Cactaceae ya que viven exclusivamente sobre estos vegetales, está representada por diez especies de *Dactylopius* y su especie tipo es *D. coccus* (Claps, 2010).

Lineo en 1758 menciona la primera clasificación de la grana cochinilla, llegando a denominar como *Coccus cacti* L., actualmente su clasificación taxonómica es la siguiente, según Vigueras y Portillo (2014).

- Reino: Animalia
  - Filo: Arthropoda
    - Subfilo: Mandibulata
      - Clase: Insecta
        - Subclase: Pterygota
          - Orden: Hemiptera
            - Familia: Dactylopiidae
              - Género: *Dactylopius*
                - Especie: *Dactylopius coccus* Costa

Como indica Pérez-Sandi y Becerra (2001), las hembras miden 3 a 6 mm de largo por 2.5 a 4.5 mm de ancho. Su cuerpo es oval, convexo, en el que apenas pueden distinguirse las regiones correspondientes a la cabeza; el tórax y el abdomen, está cubierto por una sustancia algodonosa o polvosa secretada por glándulas

especiales, y que sirve como mecanismo de defensa contra sus enemigos naturales. Esta secreción se observa como una cera, laca o seda, y ha servido para poder diferenciar la cochinilla fina, *D. coccus*, de las demás cochinillas de *Dactylopius* spp., que también producen carmín, aunque en cantidad inferior. En *D. coccus* la cubierta es como un polvo blanco que se desprende fácilmente, mientras que en otras especies es filamentosa, se forma como una telaraña difícil de desprender.

Los machos son mucho más pequeños que las hembras (2.5 mm de largo y 5 mm de expansión alar), su cuerpo es alargado y delgado, son alados y presentan cabeza, tórax y abdomen claramente diferenciados. Proporcionalmente nacen muchos menos machos que hembras; se dirigen a ellas sólo para copular (2 a 3 d) y después mueren, ya que por tener el aparato bucal atrofiado no pueden alimentarse; viven aproximadamente dos meses (Pérez-Sandi y Becerra, 2001).

2.2.1 Biología y hábitos de *D. coccus*

El ciclo biológico de la grana cochinilla del nopal desde la fase de huevo hasta adulto es variable desde 90 hasta 128 d, en el caso de las hembras, su primer estado es ninfa I en donde presenta dos divisiones: **ninfa I migrante** (tiene movimiento y carece de la cera blanca) tarda aproximadamente 24 h en encontrar un lugar para insertar su aparato bucal (estilete), el cual puede alcanzar una longitud de cinco veces el tamaño de su propio cuerpo), y la **ninfa I estacionaria**, con su estilete insertado en el nopal, secreta unos filamentos cerosos de gran tamaño y como son quebradizos, en unos pocos días se caen para general la cera pulverulenta. La ninfa II deja su exuvia vieja para seguir creciendo, su nuevo cuerpo tiene un color rojo intenso y poco a poco se cubrirá de una cera (Vigueras y Portillo, 2014).

La hembra y el macho son similares en los dos primeros estados: huevo y ninfa I; la diferenciación comienza en la etapa de ninfa II donde las hembras mudan para transformarse en adultas, mientras que los machos elaboran un capullo del que emergen como adultos (Centeno-Álvarez, 2003).

En cuanto a su capacidad de reproducción, autores como Pérez y Kosztarab (1992) mencionan que cada hembra llega a ovipositar, en promedio, 430 huevos con extremos de 275 a 600; y Marín y Cisneros (1977) mencionan que 419 huevos con extremos de 293 a 586.

2.2.2 Factores que afectan el desarrollo de *D. coccus*

Diferentes autores mencionan que existen varios factores que pueden reducir o alargar el ciclo biológico de la grana cochinilla, o incluso ponen en riesgo su supervivencia. Portillo y Vigueras (2018) mencionan que los factores pueden ser de dos tipos: abióticos o bióticos. Dentro de los factores abióticos podemos encontrar la lluvia, granizo, temperaturas, entre otros (Cuadro 1).

Cuadro 1: Factores abióticos que limitan la cría de cochinilla.

Factor	Efecto principal
Temperatura	Alteración de la duración del ciclo biológico
	Deshidratación de ninfas
Lluvia	Eliminación del 100 % de la población de cochinillas
	Sofocación de la cochinilla
	Dificultad para fijarse y desarrollarse
Viento	Fijación limitada de la cochinilla
	Aumento de la dispersión y arrastre de ninfas
Luz	Influye en el movimiento de ninfas
	Permite el crecimiento y desarrollo de cochinilla
Granizo	Tira las cochinillas al suelo
Heladas	Eliminación del 50 % de cochinilla

Fuente: Portillo y Vigueras, 2018

Tovar-Puente (2000) menciona que la temperatura es uno de los factores de mayor importancia sobre el establecimiento, sobrevivencia, crecimiento, desarrollo y reproducción del insecto, a temperaturas bajas (10 a 15°C) en 48 h o más, se reduce el crecimiento y maduración de los órganos, así como también se inhibe el

apareamiento, fertilización y desarrollo de embriones, a temperaturas altas (30 a 35°C) puede reducirse el ciclo biológico de 90 a 60 d en la fina; sin embargo, se reduce su capacidad reproductiva y de establecimiento. Matadarnes-Ortíz *et al.* (2016) mencionan que para el desarrollo de la grana cochinilla se recomiendan temperaturas entre 20 y 30°C, ya que si son mayores a los 35°C se ha visto que acortan el ciclo biológico, pero se ha observado que el tamaño final del insecto puede disminuirse y es posible que sea menor el contenido de AC.

En cuanto a la humedad, Campos-Figueroa y Llanderal-Cázares (2003) mencionan que se recomienda una humedad relativa de 65 ± 5 % para favorecer el desarrollo de la grana cochinilla. Sin embargo, Serrato-López *et al*. (2016) indican que la humedad relativa óptima para la producción de la grana cochinilla oscila entre los 55-86 %.

Tello y Vargas (2015) citan que las longitudes de onda de 400 y 700 nm, perteneciente al rango de luz visible, es la requerida por cualquier insecto para su desarrollo normal. Además, reportan que mientras más luz tienen los organismos de *D. coccus*, mayor es el porcentaje de AC. En un fotoperiodo de 0 h, el insecto presentó 12.88 % de AC; en 8 h, presentó 19.03 %; en 16 h, presentó 23.65 % de AC, lo que indica que es de primera calidad.

Dentro de los factores bióticos más comunes que afectan el desarrollo de la grana son: aves, lagartijas, culebras, ratas, armadillos, aves de corral y los insectos (Tovar-Puente, 2000). En el cuadro 2 se mencionan algunos de los depredadores de *D. coccus* señalados por Portillo y Vigueras (2018) y Quintanar Reséndiz (2018).

Cuadro 2: Depredadores de *Dactylopius coccus* reportados en México.

Especies	Orden y familia
Laetilia coccidivora Comstock	Lepidoptera: Pyralidae
Eosalpingogaster cochenillivora Guerin-Meneville	Diptera: Syrphidae
Sympherobius amiculus Fitch	Neuroptera: Hemerobidae
Hyperaspis trifurcata Schaeffer	Coleoptera: Coccinellidae
Chilocorus cacti Lineo	Coleptera: Coccinellidae

Fuente: Portillo y Vigueras, 2018

Castillo-Narvaes (2014) menciona que existen algunas enfermedades que afectan a *D. coccus*, mermando su reproducción, como el “chorreo” que es una secreción acuosa amarillenta en la región anal del insecto, llegando a ocasionar su muerte al reducir al insecto en una cascarilla; y el chamusco que mata a las granas dejándolas ennegrecidas.

Portillo y Vigueras (1998) mencionan que una práctica efectiva en el control de insectos depredadores consiste en eliminar manualmente las larvas de depredadores. De hecho, se puede implementar la utilización de extractos vegetales para el combate de insectos ya que es una excelente alternativa desde el punto de vista ecológico (Suassuna *et al.* 2008), ya que la aplicación de plaguicidas químicos también afectaría tanto a cochinillas como a la biota benéfica del ecosistema.

2.3 Importancia económica de *D. coccus*

Diferentes sectores como el alimenticio, cosmético y otras industrias, ocupan colorantes artificiales o sintéticos para diversos productos, pero estudios recientes han demostrado que estas sustancias son causantes de alergias e incluso son señalados como agentes cancerígenos, aunado a las nuevas tendencias ecológicas a nivel mundial, han elevado la demanda del colorante natural conocido como ácido carmínico obtenido a partir de la Grana Cochinilla (López-Soto, 2005).

De la cochinilla se pueden obtener una diversidad de productos, según sean los procesos al que sea sometido. La utilización más simple son los cuerpos disecados de los insectos, conocido como grana, y que se produce un líquido rojizo empleado en la tinción de textiles. Luego se pueden encontrar extractos, de los cuales, los más demandados son el extracto alcohólico y el AC, utilizados en la industria farmacéutica, tanto por su inocuidad como por su estabilidad ante variaciones fuertes de pH (Agreda-Rodríguez, 2009).

2.3.1 Colorante carmín

En la industria de alimentos se utilizan otros pigmentos naturales además del AC, que podrían constituirse en competencia del carmín. Entre estos podemos mencionar principalmente la bixina, un extracto de *Bixa orellana* L. (Bixaceae), así como la páprika obtenida de los pimentones (*Capsicum annum* L.) (Solanaceae). La ventaja del carmín ante estos está en sus características químicas, su costo y la gama de colores que se pueden obtener de él, que va desde el rojo carmín hasta un púrpura azulado dependiendo del ion metálico con el que se le haga reaccionar como Al, Ba, Cr, Fe, Mg, Pb, Hg, U, Zn, Na y B (Agreda-Rodríguez, 2009; Gamboa y Leidinger, 1998) (Cuadro 3).

Cuadro 3: Colores que se obtienen de la combinación metálico y el carmín.

Ion metálico	Color obtenido
Aluminio	Rojo-violáceo
Aluminio-calcio	Rojo escarlata
Aluminio-magnesio	Rojo-rosa
Aluminio-calcio-estaño	Rojo intenso
Aluminio-mercurio	Rojo escarlata
Bario	Violeta
Berilio	Rosa fluorescente
Calcio	Negro
Circonio	Púrpura
Cobre	Café Violeta
Cromo	Púrpura
Estaño (estannoso)	Rojo
Estaño (estánnico)	Violeta
Estroncio	Rojo
Galio	Rojo cereza
Hierro (ferroso)	Violeta
Hierro (férrico)	Café-negro
Indio	Púrpura
Magnesio	Negro-violeta
Mercurio	Rojo escarlata
Potasio	Rojo
Plata	Anaranjado
Plomo	Púrpura
Sodio	Violeta
Torio	Púrpura
Uranio	Verde esmeralda

Fuente: Agreda-Rodríguez, 2009.

En la industria alimenticia al color carmín se le dio el número Sku E120 que le da una tonalidad que va del rosa al morado, por lo que puede ser utilizado en cualquier producto que requiera de estos tonos y que, de manera natural, no tienen un color

atractivo para el consumidor. Por ejemplo, dentro de la industria alimenticia, el E120 es muy usado en los productos cárnicos como salchichas, chorizos, productos a base de chancho o cerdo, pollo, etc. Pero no solo productos cárnicos tienen este colorante, también muchas mermeladas, confituras, jarabes, gomitas, pasteles industriales, conservas vegetales, helados y lácteos como los yogures de fresa o frutos rojos, en bebidas como gaseosas de frutas y energéticas (IMBAREX, 2020).

Considerando que este colorante se utiliza como insumo, o ingrediente de la industria de alimentos, o incluso en suplementos alimenticios cercanos a los medicamentos, el E120 posee la clasificación FD&C, de la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) de los Estados Unidos, y está incluido en la lista de aditivos de la Comunidad Económica Europea (actual Unión Europea) bajo los parámetros de toxicidad permitida -Ingesta Diaria Admitida IDA-. Lo que significa que es un colorante natural que no es perjudicial para la ingesta humana se puede considerar el colorante con mejores características tecnológicas de entre los naturales (IMBAREX, 2020).

2.3.2 Acido carmínico

Las hembras adultas de la grana-cochinilla (*D. coccus*) contienen de 19 a 24 % de AC (en peso seco), una sustancia química natural de alta calidad usada como colorante rojo en la industria alimenticia, farmacéutica y cosmetológica (Aldama-Aguilera *et al*. 2005). La fórmula química del AC es $C_{22}H_{20}O_{13}$ y, de acuerdo con Méndez-Gallegos *et al.* (2010), indican que esta sustancia es una antraquinona ligada a una unidad de glucosa, con gran importancia económica que se puede utilizar para la elaboración de tinciones histológicas y bacteriológicas (Hernández-Hernández *et al*. 2005).

Esta antraquinona es soluble en agua y su color cambia conforme cambia el pH. En un medio ácido se obtiene una coloración naranja, y al incrementar el pH de 5 a 7 ocurre una transformación de color que va desde el violeta hasta el color rojo. El AC exhibe buena resistencia al calor, a la luz y al oxígeno (Llempen-Aurazo, 2018).

Tello y Vargas (2015) mencionan que el Instituto de Investigación Tecnológica y de Normas Técnicas de Perú (ITINTEC) estableció que el contenido de ácido carmínico de la grana cochinilla de primera calidad debe ser 18 % como mínimo, pero la Fundación Bolivia Exporta (FBE) estableció como mínimo 20 %. Sin embargo, los estándares de calidad que debe presentar de acuerdo con la FDA de Estados Unidos, siendo de 20 y 22 %, con un pH entre 7.5 a 5.5. (Llempen-Aurazo, 2018).

2.3.3 Principales productores a nivel mundial

La producción total estimada de cochinilla en el mundo, orientada a los mercados de exportación, fue de 1,045.9 t en el año 2000. Perú es el mayor productor de carmín de cochinilla o grana, contribuyendo con el 85 % de la producción mundial. Parte de la mayor producción proviene de "tunales naturales" en los que se encuentra la tuna y otras especies asociadas como el molle, huarango y la tara. El carmín es el principal producto exportado por Perú (Llempen-Arauzo, 2018), y dentro de los países a los que exporta se encuentra Dinamarca con el 36 %, seguido por Alemania con el 13 % y Brasil con el 9 % (Bermúdez-Anampa *et al.* 2017).

Rodríguez *et al.* (2005) mencionan que Perú produce cerca de 885 t anuales de grana cochinilla, de las cuales 400 t, son exportadas como cochinilla seca, y las restantes como carmín y AC.

En Perú, parte de la recolección de cochinilla se hace sobre poblaciones naturalizadas de nopal, que crecen en asociación con árboles podados intencionalmente para mantener un microclima y proteger las infestaciones naturales de cochinilla. En Bolivia y Perú, los huertos de *Opuntia* sp. se establecen como cercos vivos alrededor de las casas para protección, y son utilizados para producir cochinilla (Aldama-Aguilera *et al.* 2005). El mismo autor, cita a Condeña (1997), en dónde recomienda para los valles interandinos de la sierra peruana, utilizar los huertos comerciales de fruto con doble propósito, para producir tuna y cochinilla.

En Perú, la mitad de la materia prima se exporta y el resto se procesa para producir carmín, AC, y otros derivados (Méndez-Gallegos *et al.* 2003). A continuación, se muestran los diez principales países a los que Perú exporta carmín cochinilla (Cuadro 4).

Cuadro 4: Exportaciones peruanas de carmín de cochinilla por países 2019.

País de Destino	Valor FOB (dólares)	Peso Neto (Kilos)	Peso Bruto (Kilos)	Porcentaje FOB
CHINA	4,558,871.06	91,421.00	111,180.62	15.22
ALEMANIA	3,501,476.50	74,401.76	83,763.05	11.69
ESPAÑA	2,721,398.41	59,599.50	65,456.99	9.08
BRASIL	2,626,538.28	36,092.80	41,013.37	8.77
DINAMARCA	1,659,114.10	8,690.00	10,713.16	5.54
FEDERACIÓN RUSA	1,516,239.09	22,970.00	26,593.08	5.06
MÉXICO	1,357,299.74	24,058.62	27,320.56	4.53
REPÚBLICA DE COREA	1,265,219.67	10,990.00	13,051.50	4.22
ARGENTINA	1,159,160.04	17,300.50	19,471.82	3.87
REINO UNIDO	1,047,378.88	17,720.00	20,435.96	3.5

Fuente: SUNAT, 2019.

Chile, es uno de los países con el mayor incremento en la producción. La grana cochinilla fue introducida ahí en 1988 en el valle del Elqui (Región de Coquimbo), para su reproducción en la tuna *O. ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae) (variedad de fruta blanca, que es más receptiva al mayor riego y fertilización) (Díaz-Merchán y Ávila, 2002), gracias a un grupo de empresarios, actualmente hay cerca de 500 ha de plantaciones de nopales. En 1997 los ingresos fueron superiores a los 4,500 millones USD alcanzando a cubrir más del 15 % de la demanda mundial (Rodríguez *et al.* 2005). Se ocupan técnicas de cultivo avanzadas (irrigación, fertilización, recolección mecánica, uso de cubiertas de plástico, etc.) así como alta densidad de plantas (más de 42,000 plantas/ha). El uso de métodos modernos garantiza una alta

calidad de producción, superior a los parámetros requeridos por los mercados mundiales (Méndez-Gallegos *et al.* 2003).

Díaz-Merchán y Ávila (2002) mencionan que la producción de Chile pasa de 1,000 kg de cochinilla seca por ha. También, las densidades exceden las 50,000 plantas por ha en zonas abrigadas por cortinas de viento artificiales.

D. coccus no solo se encuentra en el continente americano, sino también en África, específicamente en Islas Canarias. En isla La Palma, se producen 5,000 kg anuales de grana cochinilla. También en la isla Lanzarote, como reúne las mejores condiciones para el desarrollo del insecto (altas temperaturas y escaso índice de precipitaciones), y empleando sistemas actuales, su producción se sitúa entre 150 y 170 kg de cochinilla seca por ha. No obstante, los expertos opinan que si se mecanizara la actividad sería más rentable. De hecho, consideran que 1 ha bien atendida produciría unos 400 kg de cochinilla. La plantación de la tunera donde se cría el insecto se realiza en invierno, por medio de pencas, siguiendo una hilera (sistema de calles) y puestas al sol, esperando un año para ser plantadas. Tras alcanzar un determinado porte, se infestan con *D. coccus* (Díaz-Merchán y Ávila, 2002). En promedio, las Islas Canarias presenta una producción anual de 10 a 15 t de cochinilla (Méndez-Gallegos *et al.* 2003).

En México, la producción de grana cochinilla se dificulta en cielo abierto, como lo que se realiza en Perú o Islas Canarias, debido a la existencia de especies de cochinillas silvestres, de enemigos naturales, temperaturas extremas, lluvias fuera de temporada, alta luminosidad y vientos fuertes; por tanto, se requieren ambientes acondicionados para controlar dichos factores, mediante cobertizos, microtúneles o invernaderos y obtener buenas cosechas (Aldama-Aguilera *et al.* 2005).

En cuanto a producción, de acuerdo con Alcedo-Cuaresma y León-Zapata (2019), México importó en el año 2017 la cantidad de $ 176,000 MXP a nivel mundial. De igual manera, estos autores mencionan que México está considerado dentro de los principales mercados en Latinoamérica, después de Perú, si no fuera porque produce menor cantidad de producto.

2.3.4 Sistemas de producción de *D. coccus*

Existen dos sistemas básicos de producción en México: el de planta en pie (cielo abierto y tapexco) y los de penca cortada (microtúnel e invernadero comercial) (Aquino-Pérez, 2007).

2.3.4.1 Sistema de planta en pie

En esta modalidad de cultivo se establecen las plantas de nopal en suelo donde se arraigan y luego de al menos dos años, cuando las plantas cuenten con más de seis cladodios, dependiendo del grado de manejo y condiciones agroecológicas, se inicia la infestación y cría de la cochinilla (Méndez-Gallegos *et al*. 2010).

Dentro de este sistema se encuentra la técnica de cielo abierto, la cual consiste en criar la cochinilla sin ninguna protección adicional para controlar la radiación solar, la temperatura, el viento y la lluvia. Por esta razón este sistema de cría se desarrolla en regiones con muy baja o nula precipitación, en zonas protegidas, pero no en valles amplios ni planicies donde la fuerza de los vientos sea mayor a 20 km/h (Mora-Blancas *et al*. 1999).

La técnica de tapexco consiste en una protección para reducir la radiación y el agua de lluvia. Este tipo de explotación es para altas densidades de nopal. Es común ocupar en este tipo de producción materiales de la región como: residuos de cosecha de maíz, trigo, cebada, carrizo, tule, entre otros; lo importante es eliminar la filtración del agua sobre las plantas infestadas además de reducir la radiación solar (Aquino-Pérez, 2007).

2.3.4.2 Sistema de penca cortada

En México, las condiciones ambientales y los enemigos naturales hacen necesaria la producción de cochinilla en cladodios de nopal cortados y bajo protección, lo que sugiere una desventaja respecto a la producción de otros países. Por ello, se han generado diversos métodos de producción donde los cladodios son desprendidos de las plantas madre y son colocados en diferentes formas, en el suelo o en

suspensión, bajo cubiertas protectoras a fin de reducir la influencia de los factores bióticos y abióticos adversos, pero sin el suministro adicional de agua y nutrimentos, por lo que el rendimiento y la calidad del insecto pueden disminuir. No obstante estas variantes productivas tienen la ventaja de permitir la cría constante y permanente de cochinilla a través del año, con la limitante de tener que renovar los cladodios al menos cada dos cosechas obtenidas, por lo que es necesario contar con un suministro de cladodios con alto vigor, lo que encarece los costos de producción por la alta utilización de mano de obra para las labores de infestación, cosecha y, carga y descarga de los cladodios (Méndez-Gallegos *et al*. 2010).

Este sistema cuenta con diferentes técnicas como el microtúnel que es una construcción sobre la superficie del suelo, consiste en una estructura que puede ser de varilla 3/8 de pulgada o ramas de 5 a 12 cm de diámetro, en forma de arco o a dos aguas. Sobre esta estructura se coloca una cubierta de plástico y, cuando se requiera, un sombreado adicional para controlar los cambios bruscos de temperatura. En el interior se teje una red (emparrillado) cuyos espacios son de 3 x 30 cm, el tejido queda con cuatro hileras. En este emparrillado o red se colocan las pencas de nopal, las cuales pueden ser infestadas previamente o infestadas con nidos individuales, es decir un nido por cladodio. Para producir 1 kg de grana cochinilla, se recomienda tener un microtúnel de 8 x 1 m con capacidad de albergar de 650 a 700 pencas de nopal (Aquino-Pérez, 2007). Esta técnica se recomienda utilizar en climas desérticos y semidesérticos, en valles y planicies donde los vientos, tormentas y tolvaneras, así como la radiación solar son muy fuertes (Mora-Blancas *et al.* 1999).

Otra técnica de este sistema es la de invernadero, la cual se recomienda realizar para productores comerciales. Este tipo de sistema presenta la variante que los cladodios no descansan sobre la superficie del suelo y se encuentran en suspensión colgados de la base del cladodio, aprovechando más integralmente el espacio (Méndez-Gallegos *et al*. 2010). La producción estimada que se puede conseguir con este sistema es de 15 kg de grana por 10,692 pencas. La densidad recomendable es de 66 pencas por m^2, y 198 pencas en tres estratos en la misma superficie, 1,782 por hilera y 10,692 pencas por invernadero aproximadamente (Ramírez-Delgado y

Arroyo-Figueroa, 2017). Aunque esta modalidad no es nueva, dado que los antiguos productores de cochinilla en México ya lo empleaban para proteger el pie de cría durante las épocas lluviosas, aún existe la necesidad de perfeccionar la cría de la cochinilla en ambiente controlado (Méndez-Gallegos *et al*. 2010).

Actualmente la forma de cría de este insecto se ha modificado de acuerdo al clima, temperatura, presencia de depredadores, disponibilidad del hospedero y otros factores abióticos propios de cada región en donde se pretenda establecer la unidad de producción (Torres-Anaya *et al*. 2015).

Aldama-Aguilera *et al.* (2005) infestaron plantas de nopal a cielo abierto y bajo protección en dos tipos de microtúneles. Se evaluó el peso fresco y seco, contenido de AC, la duración del ciclo biológico y la presencia de enemigos naturales de la cochinilla, así como la resistencia de la planta de nopal a varios ciclos. El microtúnel con plástico transparente fue el mejor tratamiento para producir grana cochinilla. La planta resistió tres ciclos, contra sólo dos ciclos en el de lona de rafia. El ciclo biológico se acortó dentro de los microtúneles que, a cielo abierto, cuando la temperatura aumentó.

2.3.5 Métodos de infestación de cladodios

Portillo y Vigueras (2018) mencionan distintas maneras de infestar los cladodios o pencas del nopal al momento de empezar la cría de *D. coccus*. El método de infestación que se utilice debe de seleccionarse cuidadosamente.

Métodos de infestación:

- Oaxaqueño (tenate). Se fabrican cilindros de palma tejida (10 cm de longitud y diámetro de 2 cm) donde se colocan hembras adultas en oviposición (OP), los cuales son sostenidos por espinas de la planta hospedera durante ≤ 20 d de infestación. Los cilindros son cambiados entre plantas para obtener mejores resultados a los 15 d de infestación. En Bolivia, se aplica el mismo método usando fracciones de carrizo con pequeños hoyos, y recientemente en Perú se usaron fracciones de manguera de plástico.

- Peruano (bolsas de tule). Las hembras adultas en OP se introducen en pequeñas bolsas de tule (10 x 10 cm), se cuelgan de las espinas de las plantas hospederas hasta que se observa la infestación.
- Ricci. Se realiza una incisión triangular (2 x 2 x 2 cm), y profundidad de 0.5 cm al centro del cladodio, el cual se deja deshidratar y sirve como soporte de las hembras adultas OP para facilitar la infestación.
- Cladodio infestado. Se colocan cladodios enteros infestados con hembras adultas OP en la base o entre dos cladodios de la planta hospedera para facilitar la infestación.
- Tela de algodón. Se colocan pequeñas fracciones de tela de algodón sobre las hembras adultas en OP permitiendo que los “caminadores” se suban en ellas, luego estas piezas de tela se colocan sobre la planta hospedera para infestarla.
- Gravedad. Conforme las hembras OP comienzan a ovipositar en los cladodios superiores, los caminadores caen por la fuerza de la gravedad sobre nuevos cladodios colocados por debajo a propósito para que se infesten. Este es el método adoptado en la producción de invernadero en México para producción intensiva de grana. Existe una variante del sistema de gravedad; se coloca una charola con malla con hembras adultas OP sobre cladodios, las cuales se mecen horizontalmente dos veces al día, para provocar que los caminadores caigan sobre ellos.
- Recipientes de papel. Es el método más simple, se usa un pedazo de papel para fabricar un recipiente pequeño (de 8 cm de longitud) donde se colocan hembras OP, éste es sujetado con espinas a la planta hospedera para facilitar la infestación.

Se recomienda fijar o mantener el método de infestación por un período de 15 a 20 d (lapso de oviposición). Asi mismo se recomienda, durante este lapso, hacer rotación del mismo método hacia las partes del nopal que estén deficientes en infestación, y de esta manera lograr una infestación uniforme del insecto, se recomienda colocar en cada nido diez cochinillas madres por cada cladodio (Tovar-Puente, 2000)

Es muy importante que se realice una selección adecuada del método de infestación para utilizar en la producción de *D. coccus*, ya que de éste depende el excelente rendimiento del sistema. Por ejemplo, Díaz-Merchán y Ávila (2002) mencionan que, de 100 kg de cochinilla fresca sucia, se obtiene 33.2 kg de cochinilla seca sucia (sin tamizar), y de 100 kg de cochinilla seca sucia con impurezas (sin tamizar), se obtiene de 85 a 90 kg de cochinilla limpia y tamizada (2 mm), clase exportación. También, estos autores, mencionan, que de aproximadamente 80,000 a 140,000 insectos se puede obtener 1 kg de cochinilla (no se especifica en qué forma).

Existen estudios en donde se realiza una comparación de distintos métodos y su rendimiento en cuanto a producción. En la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) se evaluó la producción de cochinilla bajo tres métodos de infestación y dos formas de cultivo, además se determinó el AC para cada metodología en estudio. La infestación se llevó a cabo sobre *O. ficus-indica* bajo dos formas de cultivo, con los cladodios suspendidos y con las pencas plantadas en macetas, los métodos de infestación fueron: tul, tenate y usando el método Ricci. Aunque no se reportó el número y peso de las cochinillas obtenidas por cladodio, sí se mencionó que la producción de cochinilla fue estadísticamente mayor con pencas suspendidas que en macetas. En cuanto a infestación, el método de tul fue superior seguida por el método de tenate y el Ricci (Tovar-Puente, 2000).

Vigueras *et al.* (2005) realizaron una comparación entre los métodos de infestación de bolsa de tule, tenate, popote y Ricci, además de evaluar la eficiencia de dos sistemas de producción, cladodios suspendidos y sembrados. Se evalúo la cantidad de hembras por cladodios infestados en un ciclo de producción, y los dos métodos con mejores resultados fueron bolsa de tule y el tenate, seguidos del popote y Ricci. En cuanto a los sistemas de producción, el sistema más eficiente fue el de cladodios suspendidos.

2.3.6 Cosecha y manejo postcosecha de *D. coccus*

Para distinguir a la hembra lista para la cosecha, el organismo debe tener 4 mm de largo, apreciarse pequeñas rayas que dividen en secciones el cuerpo, un círculo polvoriento alrededor de su cuerpo y, la presencia de una pequeña gota roja al final del abdomen (Quintanar-Reséndiz, 2018), denominada “ojo de hormiga”, término que se usa entre los productores de cochinilla y que indica el momento de iniciar la cosecha (Díaz-Vargas, 2000). Una vez listas las hembras, se desprenden los insectos de los cladodios cuidadosamente de no romper el insecto (Matadarnes-Ortíz *et al*. 2016).

Las actividades postcosecha incluyen la muerte o sacrificio como se denomina en México, secado del insecto, y la selección de las hembras (Portillo y Vigueras, 2018). Algunos de los métodos para sacrificar la grana cochinilla de acuerdo con Tovar-Puente (2000) son:

1. Inmersión en agua hervida durante 1.5 a 2.5 min.
2. Aplicación de vapor de agua. La cochinilla se coloca en una caja con base de malla milimétrica y se coloca sobre un recipiente con agua hirviendo.
3. Por congelación. Se somete la cochinilla a temperaturas menores a 0 °C.
4. Aspersión con hexano al 100 % de pureza. Se cubre la cochinilla de manera que los gases de hexano provoquen la muerte por asfixia. Este método es muy empleado pues dada la gran volatilidad del hexano no deja residuo en la cochinilla sacrificada, aunque presenta toxicidad.
5. Por asfixia. Se introduce un volumen no mayor de 12 kg de cochinilla viva en una bolsa de ixtle; se amarra la parte superior de la bolsa al ras del contenido y se introduce en una bolsa de plástico, cerrando lo más herméticamente posible. Finalmente se expone al sol durante 3 h, si no hay sol se utiliza una estufa a una temperatura máxima de 38 °C por aproximadamente 3 h.

Posteriormente, se realiza el proceso de selección, el cual implica la separación de machos, cochinillas inmaduras, mudas, cera y otros elementos diferentes a las adultas. La selección debe de considerar el tamaño del insecto, ya que los más

grandes contienen más pigmento; sin embargo, el objetivo final es obtener grana con un alto contenido de AC (Portillo y Vigueras, 2018).

Esta selección se puede realizar con tamices o mallas, de acuerdo con lo recomendado por Llempen-Aurazo (2018):

- Malla N° 6, con abertura de 3.327 mm, para impurezas mayores.
- Malla N° 8, con abertura de 2.362 mm, para cochinilla de primera.
- Malla N° 14, con abertura de 1.168 mm, para cochinilla de segunda.
- Malla N° 20, con abertura de 0.833 mm, para cochinilla de tercera o polvillo

Después de la cosecha y selección, los insectos se secan mediante métodos naturales (secado solar de 4 a 5 h por seis días, o a la sombra durante 20 a 30 d), o artificiales (sistemas de aire caliente, 50-70 °C, durante 3 a 4 h); hasta obtener un contenido de humedad del siete al 10 % (Galicia-León, 2014).

Con esto, se obtiene grana cochinilla de alta calidad con las siguientes características: porcentajes mayores al 22 % de AC y menos del 1 % de impurezas (Portillo y Vigueras, 2018).

2.4 Origen e historia del cultivo del nopal

“El oro verde”, “fruta del pobre”, “tesoro bajo las espinas”, “el dromedario del mundo vegetal”, “la planta del futuro”, “planta sagrada” y “árbol monstruoso”, son solamente algunos de los epítetos usados para describir la planta y la fruta del nopal (Ochoa y Barbera, 2018). En México, el nopal forma parte de la composición gráfica que ofrece el escudo mexicano, el cual aporta elementos naturales que aluden a la diversidad biológica de México (SEMARNAT, 2017).

Desde la época prehispánica, las culturas que coexistían en el territorio mexicano utilizaban el nopal como alimento, como medicamento, en la construcción y en las artes. Su uso se continuó en la época colonial, con las aplicaciones que desde la época precolombina se tenían en uso (Torres-Ponce *et al.* 2015).

Este vegetal habría sido domesticado hace 9,000 años, junto con el maguey, el maíz y el frijol, fue el alimento principal de los grupos chichimecas. Ellos lo llamaron *nohpalli*, voz náhuatl que se transformó en nopal a la llegada de los españoles (SEMARNAT, 2017).

Las primeras huertas formales tecnificadas de nopal con las mejores variedades de tuna fueron establecidas en las décadas de los 40 y 50's, en los estados de Aguascalientes, Guanajuato, Jalisco, México, San Luis Potosí y Zacatecas. Este sistema llego a su clímax en 1985, como resultado de programas gubernamentales con enfoque de beneficio social lanzados a fines de los setentas (Ochoa y Barbera, 2018).

2.5 Morfología y clasificación taxonómica de *Opuntia ficus-indica*

Los nopales son plantas, suculentas, arborescentes, arbustivas o rastreras, simples o cespitosa, generalmente espinosas, tronco bien definido o con ramas desde la base, erectas, extendidas o postradas. Las características del género *Opuntia* son variables y se destaca principalmente en la forma de los cladodios, el tamaño y color de los frutos; siendo los brotes tiernos de la especie *O. ficus-indica* los que principalmente se utilizan en la producción de nopal verdura en México (De Jesús-González, 2015). En el cuadro 5 se observa la gran variedad de *Opuntia* presentes en México que se han registrado como hospederos de *D. coccus*.

Cuadro 5: Especies de *Opuntia* reportadas como hospederos de *D. coccus* en México.

Especies hospederas	
Opuntia amyclaea Tenore	*O. jaliscana* Bravo
O. atropes Rose	*O. megacantha* Salm-Dyck
O. cochenillifera (L.) Salm-Dyck *	*O. pilífera* Weber
O. crassa Haworth	*O. sarca* Griff. ex Scheinv.
O. ficus-indica (L.) Miller	*O. streptacantha* Lem.
O. fuliginosa Griffiths	*O. tomentosa* Salm-Dyck
O. incarnadilla Griffiths	*O. undulata* Griffiths

*Esta especie pertenece al subgénero *Nopalea*. Fuente: Portillo y Vigueras, 2018

La clasificación taxonómica del nopal verdura en la siguiente, según Bravo-Hollis y Sánchez-M (1978).

- Reino: Vegetal
  - Filo: Angiosperma
    - Clase: Dicotiledoneae
      - Subclase: Dialipetalas
        - Orden: Opuntiales
          - Familia: Cactaceae
            - Género: *Opuntia*
              - Subgénero: *Platyopuntia*
                - Especie: *Opuntia ficus indica* (L.) Mill.

2.6 Importancia del nopal en México

El nopal es una planta propia del paisaje mexicano y uno de los símbolos más importantes de la nacionalidad. Se produce en 27 entidades federativas del país, destacando la CDMX y los estados de Aguascalientes, Hidalgo, Jalisco, México, Morelos, Puebla y San Luis Potosí, que aportan casi 95 % de la producción nacional (Anaya-Pérez y Bautista-Zane, 2008). México es uno de los centros de origen del nopal (*Opuntia* spp.). El consumo de sus tallos modificados (nopalitos), frutos y flores en México es ancestral (Maki-Díaz *et al*. 2005).

Los nopales conforman el grupo vegetal con más especies y más amplia distribución de los cactos, en donde aproximadamente 200 especies de nopales, 101 viven en México (93 del género *Opuntia* y ocho del género *Nopalea*). De las 93 especies de *Opuntia* 62 son endémicas del país, y de las ocho especies de *Nopalea* seis son endémicas (SEMARNAT, 2017).

El nopal es considerado una parte muy importante de la flora y riqueza ecológica de México, es protagonista de la cultura popular, la gastronomía y la medicina tradicional. La tuna y el xoconostle son los frutos que produce (Consulado de México, 2017). En México existen tres millones de hectáreas de nopal nativo y alrededor de 233,000 ha de nopal cultivado; de las cuales 150,000 ha son

destinadas al consumo humano (como frutos) con una producción de 139,193 t. anuales (Torres-Ponce *et al*. 2015).

Las opuntias de México presentan la diversidad genética más amplia y el más alto consumo del mundo. Los estados de México y Zacatecas concentran la mayor cantidad de superficie sembrada a nivel nacional, el estado de Puebla ocupa el tercer lugar de toneladas por hectárea y su valor de producción equiparable al del Estado de México (Ocampo-Ochoa *et al*. 2017). El nopal tunero es el sexto cultivo frutícola de México después de la naranja, aguacate, plátano, mango y manzana (Ochoa y Barbera, 2018).

2.6.1 El nopal como cultivo para la producción de la grana cochinilla del nopal

Las plantaciones comerciales de nopal dedicadas a la cría de cochinilla se hacen preferentemente con variedades sin espina, ya sea a cielo abierto o bajo cubierta. Los cultivares más preferidos son los de frutas amarillas, pero también se encuentran de frutas blancas y moradas. Las plantaciones tienen en promedio 20,000 plantas/ha, densidad que puede variar de acuerdo con la calidad del suelo, drenaje, altitud (800 a 2300 msnm), temperatura (13-27 °C) y disponibilidad de agua (Portillo y Vigueras, 2018).

Existen diversas especies de los géneros *Opuntia* y *Nopalea* que están asociados a la grana cochinilla. No obstante, la producción tradicional se ha realizado en las especies de nopal de Castilla (*O. ficus-indica*), nopal de San Gabriel (*Opuntia tomentosa*), nopal de San Cristobal (*O. pilífera*) (Bautista-García, 2013). También, Coya-Salas (2015) menciona que *D. coccus* tiene una relación estrecha de alta especificidad con el género *Opuntia*.

La especie más utilizada para producción de grana cochinilla es *O. ficus-indica*. Se usa con frecuencia debido a que no presenta mucha espina en sus cladodios, de lo contrario la recolección del insecto sería más complicada. Por ejemplo, en la costa peruana la especie más común para producir cochinilla es *O. ficus-indica* (Portillo, 2008). También al presentar menos espinas, el área de infestación es mayor que las otras especies, obteniendo una alta densidad de *D. coccus*.

III. JUSTIFICACIÓN

Debido a que se ha comprobado que los colorantes químicos presentan daños a la salud humana como efectos cancerígenos, los colorantes naturales son una alternativa de uso. Por esta razón, el colorante carmín derivado de la grana cochinilla (*D. coccus*) ha presentado gran demanda sobre todo en la industria de los alimentos, cosméticos, farmacéuticos, entre otros.

Para poder obtener este colorante, es necesario seleccionar el sistema de producción adecuado a las condiciones ambientales de cada zona de producción. En México por las variantes temperaturas, precipitación y la incidencia de plagas, se implementa la producción de grana cochinilla bajo condiciones de invernadero, controlando así los factores abióticos y bióticos. De igual manera, la selección del método de infestación es un punto para considerar, ya que de esto depende la alta productividad del sistema. Con base a estos argumentos, y por condiciones de pandemia, la investigación se realizó en traspatio bajo condiciones climáticas predominantes de la zona de San Francisco Totimehuacan, Puebla, Pue., buscando la técnica de infestación más adecuada que garantice un mayor rendimiento de *D. coccus*.

IV. OBJETIVO GENERAL

Estimar la producción de la grana cochinilla del nopal (*D. coccus*), por medio de cuatro métodos de infestación en *O. ficus-indica*, y evaluar su rendimiento como producto final, además de determinar el porcentaje de AC, en traspatio bajo condiciones climáticas predominantes de la zona de San Francisco Totimehuacan, Puebla, Pue.

4.1 Objetivos específicos

- Proponer un nuevo método de infestación de la grana cochinilla, comparándolo con tres métodos ya establecidos a temperatura y humedad existente en la zona de estudio.
- Evaluar rendimientos de cada uno de los métodos de infestación tenate, bolsa de tul, gravedad y hoja de maíz.
- Determinar en cada uno de los métodos de infestación *D. coccus* el porcentaje de ácido carmínico.

V. HIPÓTESIS

El nuevo método de infestación implementado (hoja de maíz), presentará mejores rendimientos de producción bajo condiciones de traspatio, además de incrementar el porcentaje de AC, con respecto a los demás métodos de infestación (tenate, bolsa de tul y gravedad).

VI. ZONA DE ESTUDIO

El trabajo se realizó en la junta auxiliar de San Francisco Totimehuacán en el municipio de Puebla, Pue. (Fig. 1), con coordenadas geográficas 18° 58' 21.6" N y 98° 11' 07.3" O. Esta zona cuenta con un clima templado con lluvias en verano (Cw). Se encuentra a una altitud de 2097 msnm con una temperatura media anual de 21 °C y precipitación media anual de 599 mm (Manifiesto de impacto ambiental modalidad particular, 2018).

El tipo de suelo predominante es Litosol. Dentro de su vegetación terrestre, se encuentran los pastizales/agricultura y malezas debido a que es una zona semiurbana (Manifiesto de impacto ambiental modalidad particular, 2018).

Figura 1: Ubicación de la zona de estudio.

VII. METODOLOGÍA

7.1 Trabajo de laboratorio

7.1.1 Pie de cría

Debido a la pandemia por Covid 19, el experimento se realizó en domicilio particular bajo condiciones de traspatio, donde se estableció el pie de cría de *D. coccus* con individuos hembras procedentes del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA), Zapopan, Jalisco (Fig. 2).

Figura 2: Caja Petri con hembras de grana cochinilla.

Se ocupó un estante de plástico rígido de 55 x 34 x 89 cm de dos niveles, cubierto con tela tergal francés de color claro para aislar el interior y evitar el escape de la grana cochinilla. En cada nivel se colocó un gancho de metal grueso en la parte superior (Fig. 3), a los cladodios de *O. ficus-indica*, colectados de un cultivo establecido en las instalaciones del Ecocampus, Valsequillo, BUAP, se les colocó en la parte más gruesa un gancho elaborado con alambre galvanizado del número 6 para colgarlos en la estructura. Cabe mencionar que antes de colgar cada cladodio, se procedió a limpiarlos con ayuda de un cepillo de cerdas finas y agua. Dentro de esta estructura se colocó un termohigrómetro digital (Extech Instruments®

modelo 445702) para tener registradas temperatura y humedad en el sitio en tres horarios, 9, 15 y 21 h.

Para evitar que el viento o la lluvia afectaran esta producción, se colocó una cortina de plástico para tener un mayor control de estos factores abióticos (Fig. 4).

Figura 3: Colocación de cladodios de nopal en estante.

Figura 4: Cortina de plástico.

Se ocuparon cinco cladodios con método de infestación tipo gravedad y cinco con método de infestación de bolsa de tul, modificando la metodología de infestación de Portillo y Vigueras (2018). Para el método de gravedad se elaboró un cuadro de malla mosquitero de 10 x 10 cm, de abertura de 1 mm (Fig. 5) y una porción de una cucharada de hembras por cuadro, cada cuadro se iba agitando cuidadosamente para que las ninfas fueran cayendo, realizando este procedimiento a las 9, 15 y 21 h. La penca se colocó de forma horizontal y arriba de ésta se colocó la malla (Fig. 6). Para el método de tul, las bolsas se realizaron con malla mosquitero de 7 x 7 cm, que de igual manera se dejaron sobre el cladodio (Fig. 7), cada método se dejó por un lapso de 15 d.

Figura 5: Elaboración de cuadro estilo cernidor.

Figura 6: Infestación de nopal con grana cochinilla mediante cernidor.

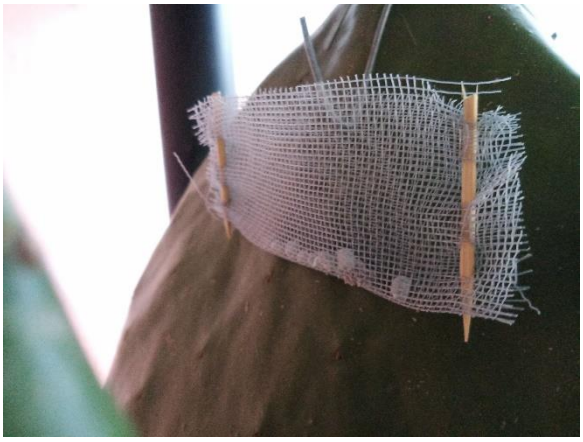

Figura 7: Método de infestación tul con modificación de malla mosquitero.

Los cladodios se revisaron cada 48 h para poder observar el avance de la infestación y después de 133 d, contando más de 800 hembras oviplenas, se inició la postcosecha con ayuda de un cucharón de 250 mL (Fig. 8). Lo cosechado se fue colocando en recipientes de plástico de 200 mL (Fig. 9) para evitar que se aplastaran o dañaran los organismos y posteriormente se empezó con los bioensayos.

Figura 8: Cosecha de hembras oviplenas.

Figura 9: Recipientes para recolectar cosecha.

7.2 Trabajo de campo

De un cultivo de *O. ficus-indica* establecido en las instalaciones del Ecocampus Valsequillo BUAP, se colectaron cladodios para el pie de cría de *D. coccus*, y para los bioensayos, aproximadamente de un año de edad y un grosor entre 1.5 y 2 cm. Se recolectaron 80 cladodios y posteriormente se limpiaron con agua y un cepillo de cerdas finas para eliminar cualquier organismo externo que fuera a intervenir en el experimento.

7.2.1 Realización de bioensayos.

En los bioensayos se realizó un diseño de bloques al azar (DBA) con cuatro métodos de infestación: tenate (mi_1), bolsa de tul (mi_2), gravedad (mi_3) y hoja de maíz (mi_4), cada uno con 20 repeticiones, donde la unidad experimental fue un cladodio de *O. ficus-indica*, con un total de 80 cladodios. En cada una se colocaron diez hembras oviplenas, utilizando por cada tratamiento 200 hembras de *D. coccus* y se dejaron por un lapso de 15 d.

Los tratamientos utilizados en el experimento fueron cuatro métodos de infestación de *D. coccus* en cladodios de nopal (*O. ficus-indica*), elaborados con diferentes materiales:

1. Método tenate: Se le colocó a cada uno de los cladodios, un tenate que consistió en un cilindro tejido de hojas de palma (en este caso se usó foliolos de palma areca *Dypsis lutescens* (H.Wendl.) Beentje y J.Dransf. de 10 cm de largo x 2 cm de diámetro y se dejaron sostenidos de ganchos realizados de alambre galvanizado del número 6 sobre el cladodio en la parte superior del mismo (Fig. 10a).
2. Método de bolsa de tul: Se realizaron bolsas cuadradas de tela de tul del número #70 de 7 x 7 cm y se colocaron en la parte superior del cladodio (Fig. 10b).
3. Método gravedad: Sobre cada cladodio en forma horizontal, se colocó un cuadro de malla mosquitero de 10 x 10 cm, de abertura de 1 mm con la finalidad de que las ninfas fueran cayendo e infestando los cladodios. Este cuadro se fue agitando diariamente a las 9, 15 y 21 h (Fig. 10c) durante 15 d.
4. Método con hoja de maíz: Como método innovador de infestación, se cortó un pedazo de hoja de maíz seca de 10 x 10 cm, al cual se le realizaron orificios con un sacabocados de 3 mm en diferentes puntos de la hoja, dejando libre un margen de 1 cm de cada lado para permitir la salida de ninfas, se dobló a la mitad, colocando la hoja de maíz con las líneas de manera horizontal. Se aseguró con palitos de madera de 5 cm, en cada extremo, para evitar que los insectos se caigan. Después se colocó en la parte superior del cladodio (Fig. 10d).

Los cladodios infestados se colocaron en un estante metálico (194 x 47 x 222 cm), con cuatro niveles (Fig. 11). En cada nivel se colocó papel filtro para tener visibilidad de los organismos. A cada cladodio se les colocó en la parte de la base, un gancho de alambre galvanizado y se colgaron en el cable de acero de 1/8 de pulgada que se colocó en cada uno de los niveles de extremo a extremo. Por último, se cubrió el estante con tela tergal francés de color claro para proteger los cladodios de organismos externos (Fig. 12).

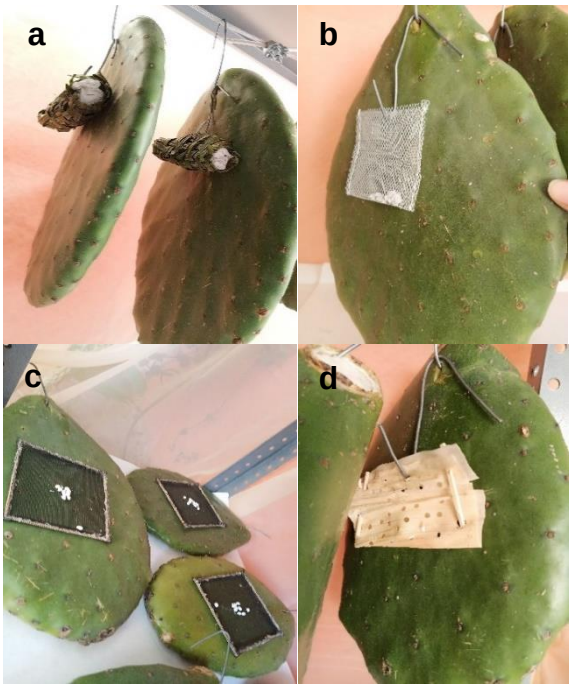

Figura 10: Métodos de infestación. a) Tenate, b) Tul, c) Gravedad y d) Hoja de maíz.

Figura 11: Estante metálico de 4 niveles.

Figura 12: Estante con malla tergal francés.

Figura 13: Colocando las hembras oviplenas en los métodos de infestación.

Transcurridos 15 d después de la infestación se retiraron todos los recipientes de infestación y se procedió a realizar conteos de los organismos. Se tomaron diariamente los datos de temperatura y humedad a las 9, 15 y 21 h y se fue registrando en la base de datos.

Cada uno de los cladodios se identificó con un número (1 al 20), y la superficie del cladodio donde se fijó el método de infestación fue denominada lado “A” (cara de infestación), y lado “B” (cara opuesta) (Fig. 14), para tener un conteo más organizado y para elaborar un formato de conteo (Anexo 1), contabilizando número de ninfas, machos y hembras del lado A y B de los cladodios. Estos conteos se realizaron cada semana para cada una de las unidades experimentales.

Para los conteos se obtuvo el número de ninfas por cladodio, escogiendo al azar seis cladodios, por medio de una página electrónica generadora de números al azar (Salinas, s.f.), por cada uno de los tratamientos, el número de ninfas establecidas en lado A y lado B, para evaluar la infestación por cada uno de los tratamientos.

Figura 14: Cladodios enumerados con lado A identificado.

Se determinó el porcentaje de infestación en cinco cladodios por tratamiento, utilizando dos programas, el primero es GIMP versión 2.10.24 con el cual se recortó cada imagen eliminando el fondo, dejando solamente el área verde de cada cladodio y con esta imagen, en el programa ImageJ versión 1.53K, se determinó el porcentaje de infestación en lado A y lado B de los cladodios. Cabe mencionar que el porcentaje obtenido corresponde solo al insecto, sin tomar en cuenta la mancha de cera que éste genera.

De igual manera, se evaluó la duración del desarrollo del insecto, se determinó contando los días transcurridos entre la fecha de infestación, y las fechas en que se observaron los primeros machos y hembras oviplenas. Se registraron tiempos por instares de desarrollo, y posteriormente se realizó una comparativa entre tratamientos para evaluar cual presenta los mejores rendimientos en cuanto a producción.

7.2.2 Cosecha y postcosecha de *Dactylopius coccus*.

Teniendo hembras oviplenas de *D. coccus* se empezó la cosecha de los organismos en las unidades experimentales. Con ayuda de un cucharón de plástico de 250 mL y un recipiente de plástico grande donde pueda contener un cladodio (Fig. 15a), se desprendieron las hembras oviplenas por cada una de las repeticiones por tratamiento, clasificando lo cosechado en lado A y lado B. Se realizaron pequeñas charolas de papel aluminio (Fig. 15b) divididas en dos partes (lado A y

lado B), y se obtuvo el peso fresco de lo cosechado por cada lado de los cladodios, utilizando una balanza analítica de la marca Sartorius modelo BL120S (Fig. 16), esto se realizó para cada una de las repeticiones de los tratamientos evaluados.

Figura 15: a) Cosecha de grana cochinilla y b) charolas de papel aluminio con cosecha.

Figura 16: Muestras pesadas en balanza analítica.

Para el sacrificio y secado del material, las muestras se colocaron en una estufa de secado marca Riossa ® modelo C15612 (Fig. 17) a una temperatura de 80 °C por una hora para realizar el sacrificio. Para el secado se colocó cada tratamiento en charolas de papel filtro mismas que se metieron en la estufa a una temperatura de 90 °C por un lapso de cuatro horas (Fig. 18).

Figura 17: Estufa de secado.

Figura 18: Muestras en cajas de papel en proceso de secado.

Una vez secas las hembras, se procedió a depositarlas en doble bolsa ziploc para evitar la entrada de humedad (Fig. 19a), además se tomaron los datos de peso seco por tratamiento con una balanza granataria de la marca Ohaus serie 700. (Fig. 19b).

Figura 19: a) Muestras secas de cada tratamiento y b) pesado en balanza granataria.

7.2.2.1 Porcentaje de Ácido Carmínico en cada método de infestación

Este análisis se realizó en el laboratorio de grana cochinilla del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) de la ciudad de Zapopan, Jalisco, de acuerdo con el método de Vigueras y Portillo (2014), se procedió a tamizar cada tratamiento en dos tamices, del número 8 (primera calidad) y 14 (segunda calidad) y el resto se consideró calidad polvillo, contemplando tres niveles de clasificación por tratamiento. Las muestras se limpiaron con ayuda de una brocha de una pulgada y se eliminó el excedente de cera que presentaban (Fig. 20a), posteriormente se depositaron en bolsas resellables individuales con su respectiva identificación (Fig. 20b).

A continuación, se procedió a moler con un mortero manual el contenido de cada bolsa (Fig. 21a), pesando 0.025 g de cada muestra en una báscula analítica de la marca Santorius ® modelo BL210S (Fig. 21b).

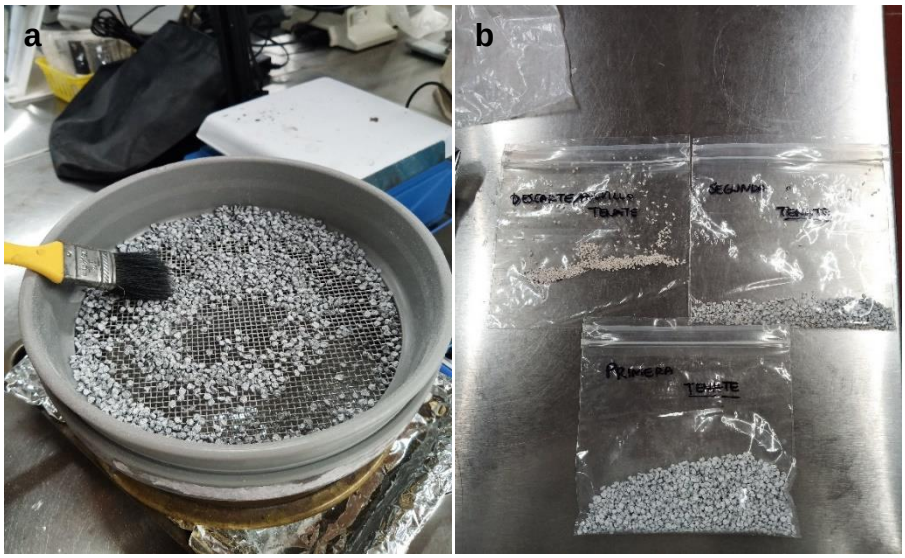

Figura 20: a) Tamizado de muestras y limpieza con brocha y b) muestras clasificadas.

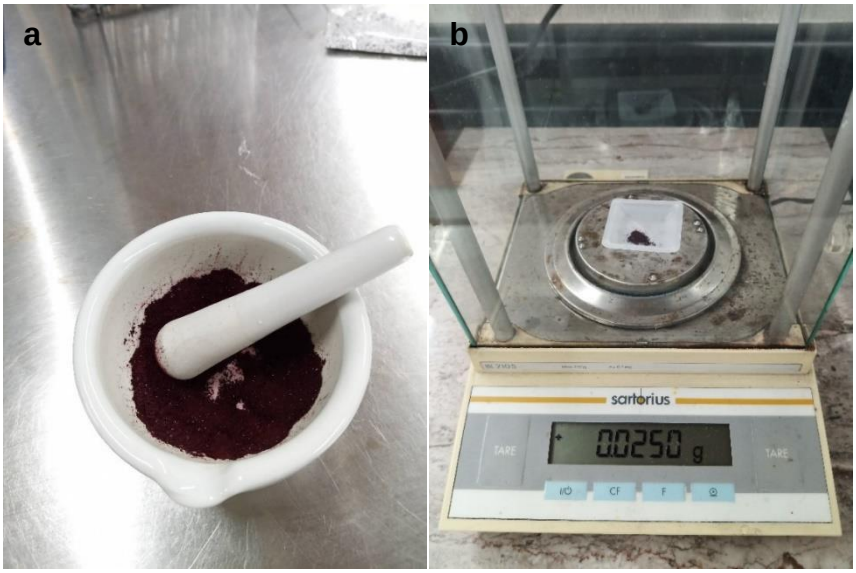

Figura 21: a) Molienda de grana cochinilla y b) pesado de las muestras.

Cada muestra pesada se agregó dentro de tubos de ensayo y cerraron con tapa de baquelita (Fig. 22a). Para determinar el AC, se les incorporó a los tubos de ensayo 7.5 mL de HCl al 2N (Fig. 22b), mismas que se calentaron en una estufa de calentamiento de la marca Torrey pines scientific ® modelo HS10 en baño María, mantener a punto de ebullición por 30 min. (Fig. 23).

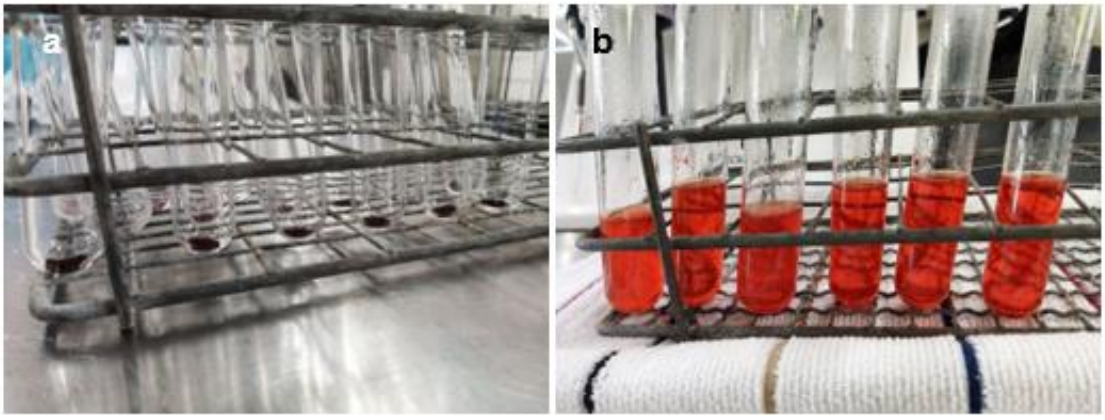

Figura 22: a) Tubos de ensayo con muestras pesadas y b) tubos de ensayo con solución de HCL al 2N.

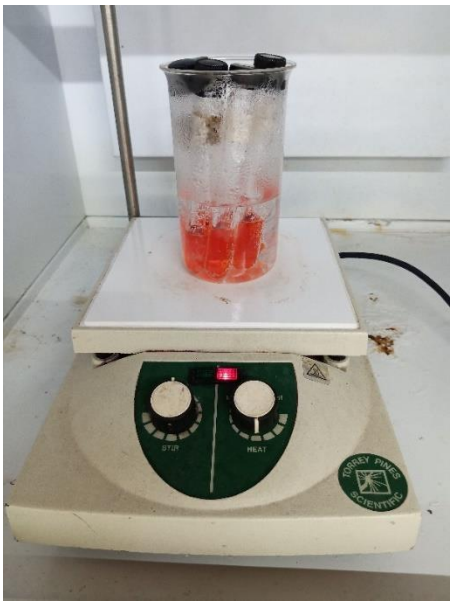

Figura 23: Calentamiento de tubos de ensayo con HCl al 2N.

Transcurrido este tiempo, se sacaron las muestras y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Cada solución de los tubos se colocó en un matraz de aforamiento de 250 mL por separado, y se aforó con agua desionizada, agitándolo un poco (Fig. 24a). Luego en una probeta de 100 mL se colocó un embudo con un papel filtro del número #2 (previamente humedecido con agua desionizada), dejando pasar la muestra y se eliminaron los primeros 50 mL de la solución para después tomar aproximadamente 25 mL (Fig. 24b), por último, se depositó cada muestra en cubetas de cuarzo (Fig. 25a) para introducirlos en un espectrofotómetro de la marca Dlab modelo SP-UV1000 a una absorbancia de 494 nm (Fig. 25b). Con la lectura obtenida se procedió a obtener el porcentaje de AC por medio de la fórmula siguiente:

$$\% \text{ AC} = \frac{abs\ x\ 100}{1.39}$$

Donde:

Abs= lectura de absorbancia

1.39= absorbancia del ácido carmínico al 100%

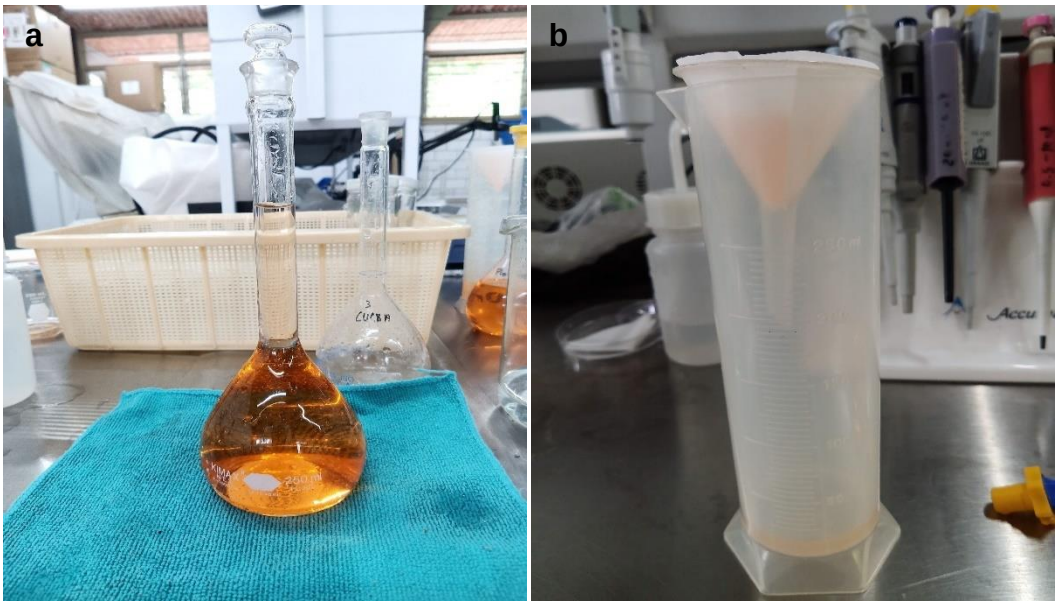

Figura 24: Solución aforada a 250 mL y b) filtrado de la solución.

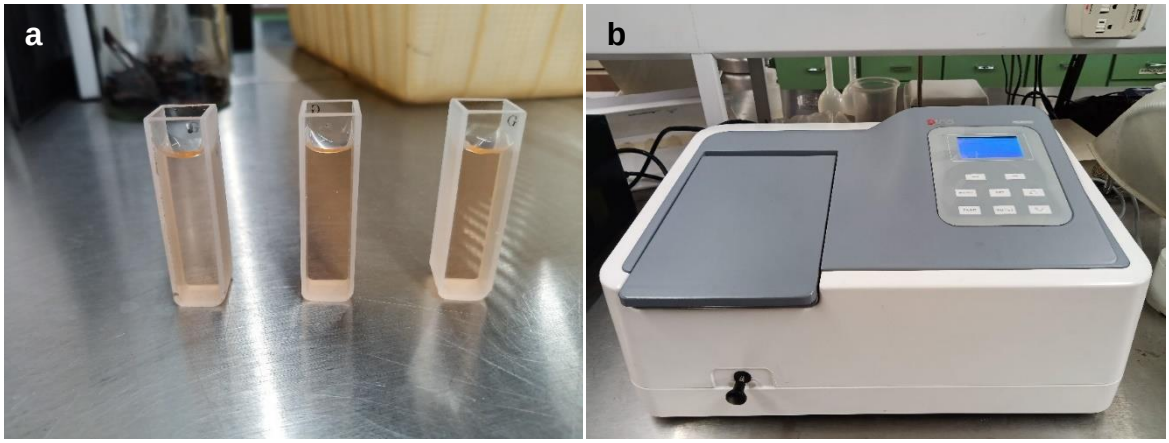

Figura 25: a) Cubetas de cuarzo con solución filtrada y b) espectrofotómetro.

Este procedimiento se implementó por cada tratamiento, cada uno de estos contó con tres niveles de clasificación en cuanto a calidad (primera, segunda y polvillo), y por cada nivel de clasificación, se realizaron seis lecturas de absorbancia, dando un total de 72 determinaciones de ácido carmínico.

7.3 Análisis estadístico

Para establecer el método óptimo de infestación, así como para comparar los valores de AC de cada tratamiento se utilizó una prueba F de análisis de varianza (ANVA), seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (α= 0.05), considerando la robustez respecto a las hipótesis de normalidad y de homocedasticidad. Los análisis se realizaron con el programa STATGRAPHICS Centurion XVI.I.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Pie de cría

8.1.1 Observaciones del pie de cría

Bajo las condiciones de traspatio, las ninfas en promedio midieron 1 mm de largo (Fig. 26a) y las hembras adultas alcanzaron a medir de 6 a 7 mm (Fig. 26b). En un lapso de 24 h, la ninfa I migrante comenzó a buscar el lugar adecuado para establecerse en la superficie del cladodio, en muchos casos, estas ninfas se establecieron formando colonias de aproximadamente 1 cm (Fig. 26c).

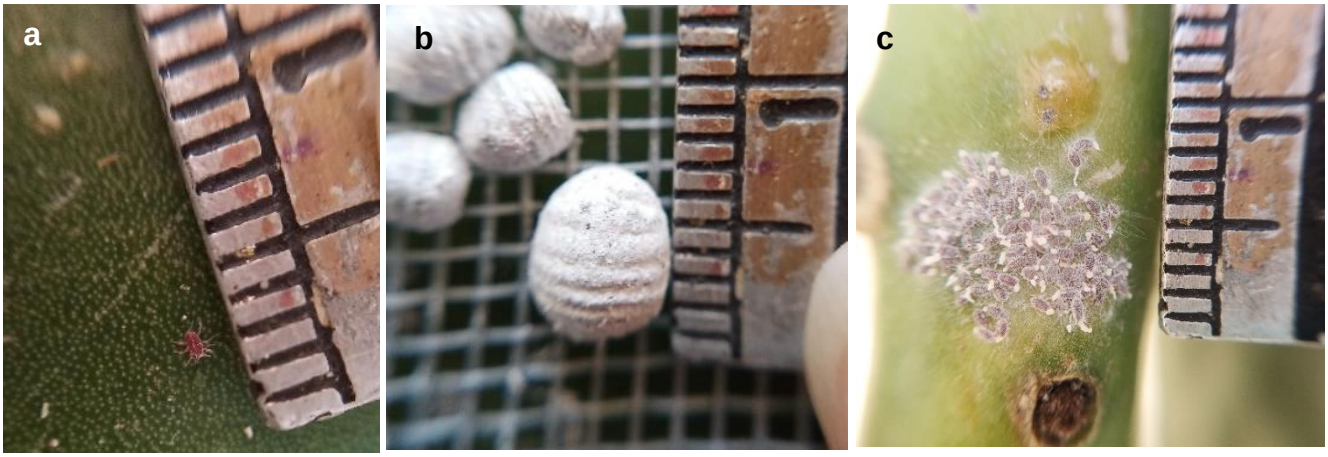

Figura 26: a) Ninfa I, b) hembra adulta y c) colonia de ninfas I de Dactylopius coccus.

Aproximadamente después de un mes, la ninfa I empezó a cambiar su primera muda (Fig. 27) incrementando de tamaño. En cuanto a la forma de infestación en los cladodios, se observó que en algunas partes fue más uniforme en toda la superficie del cladodio, mientras que en otros sólo infestó una pequeña parte de la periferia de éste (Fig. 28).

Figura 27: Primera muda de ninfas I de *Dactylopius coccus*.

Figura 28: Infestación de cladodio. a) Infestación uniforme, b) poca infestación y dispersa.

Cuando recién emerge la ninfa II es de color rojo intenso por el ácido carmínico que contiene su cuerpo y se observan perfectamente sus segmentaciones, al paso de las horas, su cuerpo se torna blanquecino debido a la cera blanca pulverulenta que caracteriza la especie (Fig. 29a). Conforme avanzan los días, las ninfas van incrementando su tamaño llegando a medir 3.5 mm (Fig. 29b). Se observó la formación de capullos de machos que midieron 2 mm aproximadamente, en donde el insecto empezó a pupar (Fig. 29c).

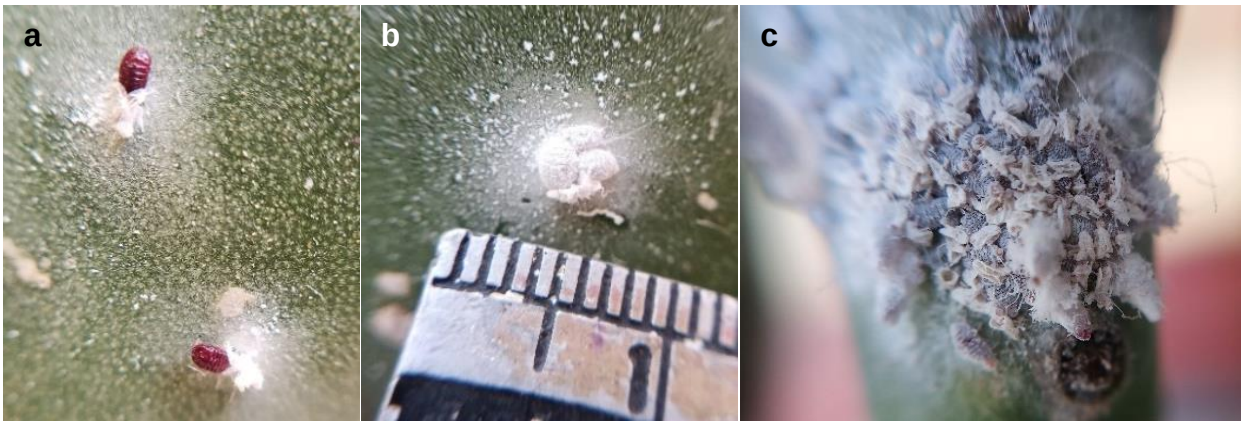

Figura 29: a) Ninfas II mudando exubia b) Ninfas II incrementando su tamaño y c) capullos de machos de *Dactylopius coccus*

Pasando 50 d, empezaron a emerger de los capullos para comenzar a fertilizar a las hembras (Fig. 30a). Los machos vivieron de 3 a 4 d aproximadamente. En el caso de las hembras, después de 71 d, se observó el llamado “ojo de hormiga” (Fig. 30b) lo que indica que es una hembra oviplena y que puede comenzar a ovipositar después de 10-15 d.

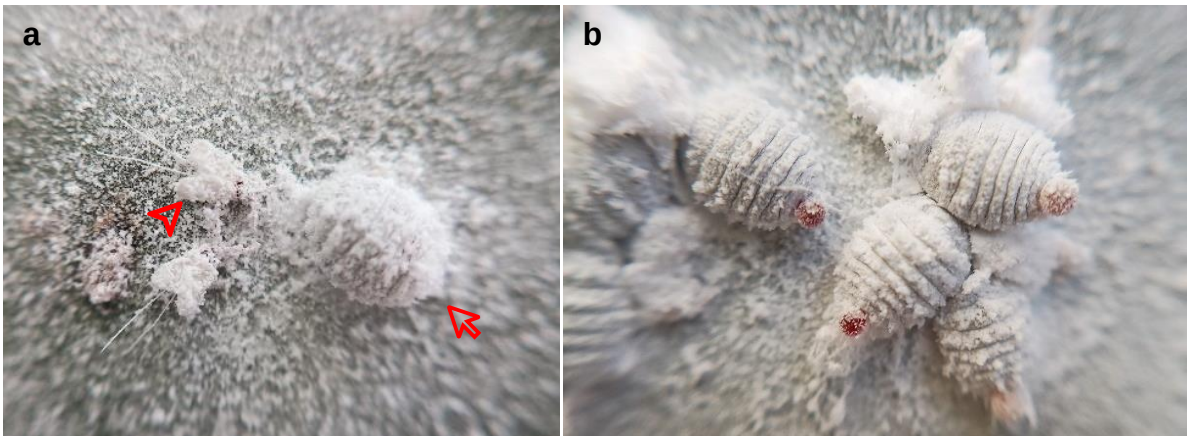

Figura 30: a) Machos (punta de flecha) y Hembra (flecha completa) y b) “Ojo de Hormiga” en hembras de *Dactylopius coccus*.

8.2 Bioensayo tiempo de desarrollo de *D. coccus*.

8.2.1 Métodos de infestación

En la figura 31 se observa el proceso de infestación de *D. coccus* en el cladodio con método de infestación de tenate, teniendo una infestación prolongada y homogénea desde la tercera semana, en la parte más estrecha hasta la parte más ancha del cladodio, cubriendo casi una tercera parte el lado A respecto al lado B, mientras que el lado B, la infestación se empezó a observar mejor desde la segunda semana, pero esta forma de infestación fue dispersa y su desarrollo fue de forma paulatina e individual. Este tratamiento presentó una mayor infestación en cada una de las unidades experimentales, presentando infestación tanto en el lado A como en el lado B del cladodio de una manera más homogénea.

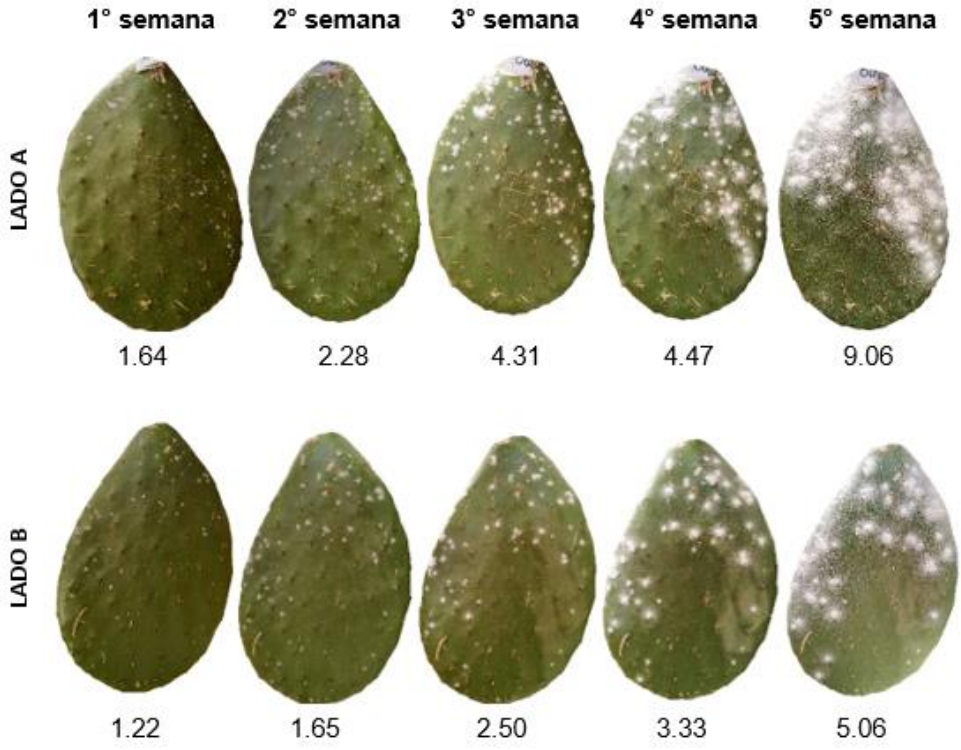

Figura 31: Vista de infestación de cladodio con infestación método tenate. El número debajo de cada cladodio se refiere al porcentaje de infestación.

Para el método de infestación de tul, en la figura 32 se observa que la infestación fue mayor en el lado A del cladodio respecto al lado B, donde las ninfas se establecieron en la parte central de manera aglomerada, posiblemente a que en ese sitio se colocó el método de infestación, mientras que en el lado B, esta infestación fue menor, donde las ninfas se establecieron de manera dispersa por la periferia de éste.

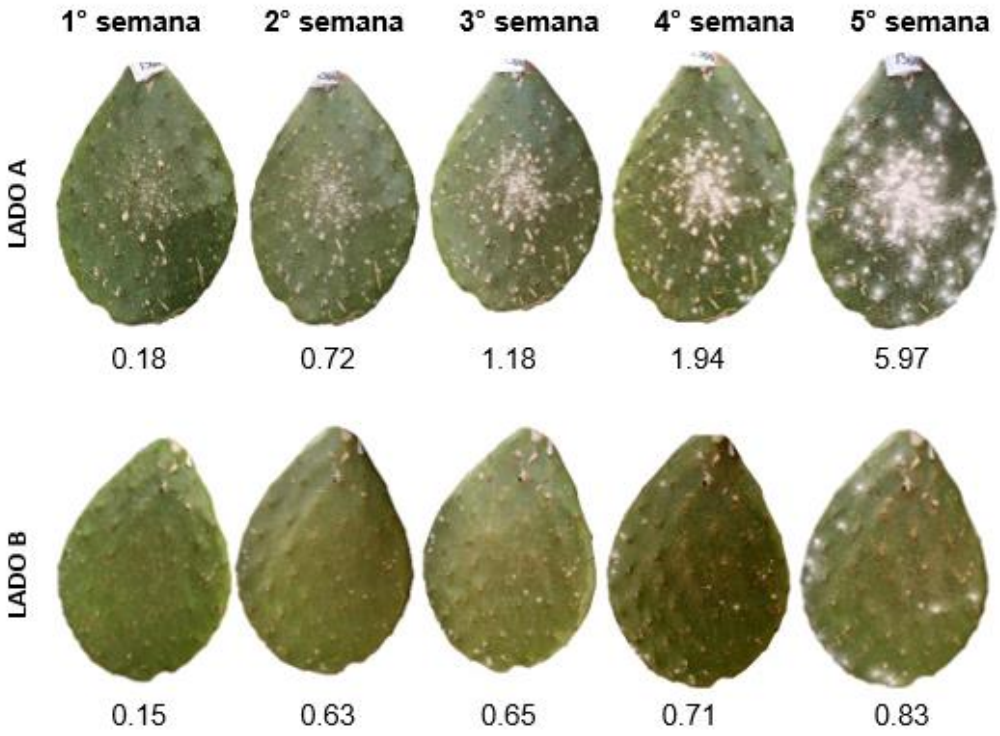

Figura 32: Vista de infestación de cladodio con infestación método tul. El número debajo de cada cladodio se refiere al porcentaje de infestación.

El tratamiento de hoja de maíz tuvo una infestación dispersa por toda el área del cladodio (Fig. 33), cubriendo casi ¾ del área del lado A, con más incidencia en este lado que el lado B, mientras que en lado B la infestación fue menor y muy dispersa por el área del cladodio, no se presentaron aglomeraciones abundantes de ninfas en comparación del lado opuesto.

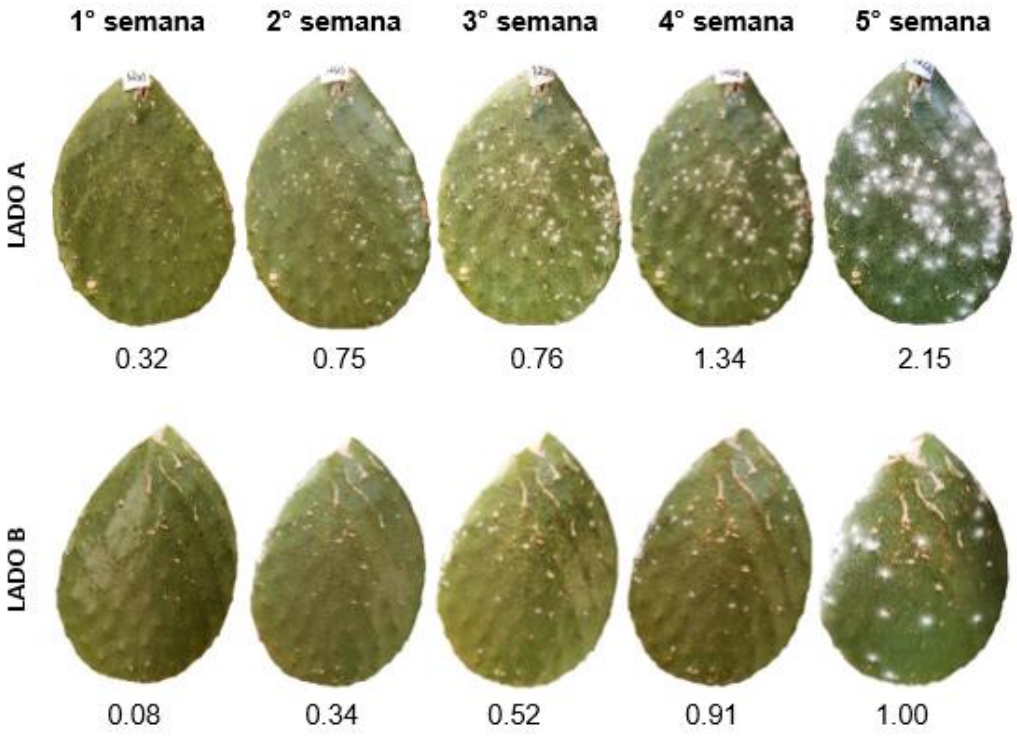

Figura 33: Vista de infestación de cladodio con infestación método hoja de maíz. El número debajo de cada cladodio se refiere al porcentaje de infestación.

En la figura 34 se observa que el método de infestación de gravedad, la infestación se concentra en la parte central del lado A, esto puede deberse a que, al igual que el tratamiento de tul, en ese sitio se colocó el método de infestación, haciendo que las ninfas se aglomeraran en esa zona del cladodio, aunque hubo ninfas que se establecieron en la periferia de este de manera dispersa. En el lado B la infestación fue menor, observándose poca presencia de ninfas establecidas, y se encontraban de manera muy dispersa.

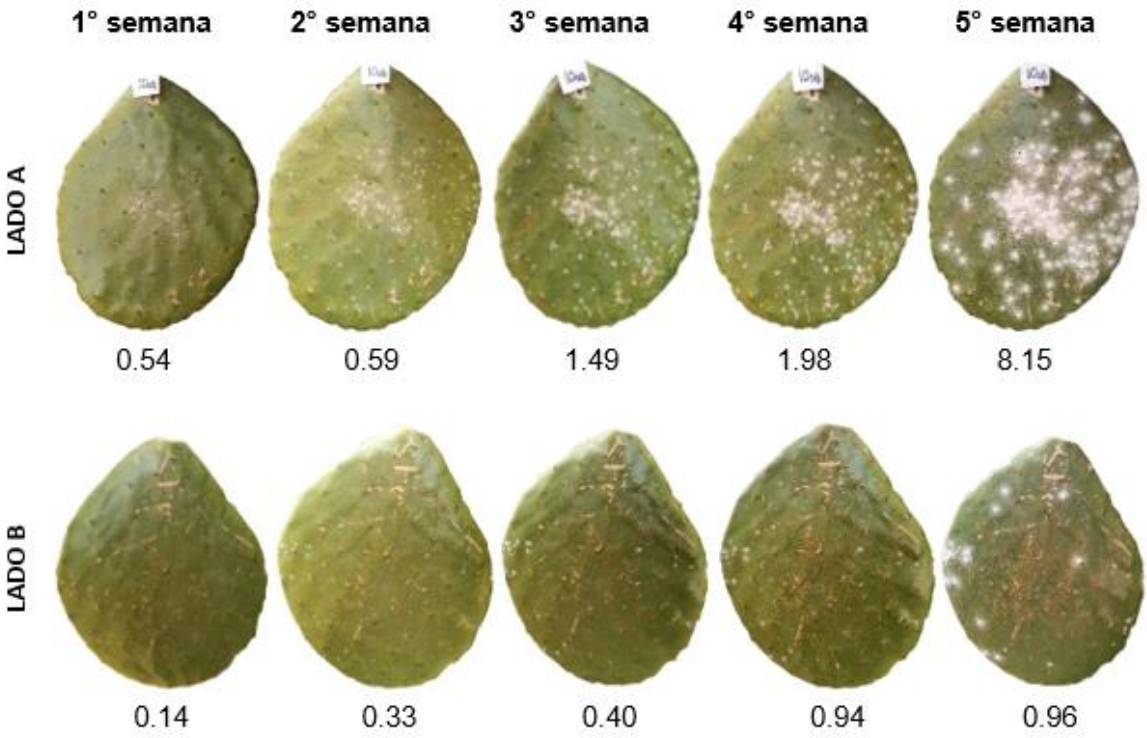

Figura 34: Vista de infestación de cladodio con infestación método Gravedad. El número debajo de cada cladodio se refiere al porcentaje de infestación.

Al evaluarse los dos lados A y B de los cuatro tratamientos en cuanto a número de organismos, se observó que la infestación fue mayor en el lado A, por la razón de que en ese lado se colocó el método de infestación. Diodato *et al*. (2009) realizaron un trabajo en el que evaluaron la relación entre la cara infestada del cladodio y la posición del nido o método de infestación y encontraron que existen diferencias significativas en el número de hembras oviplenas entre ambas caras, siendo mayor, la cara donde se produjo la infestación. También Aldama-Aguilera y Llanderal-Cázares (2003) realizaron infestaciones de pencas empleando nidos de tul e inmaduros a granel, encontraron mayores porcentajes de la población de hembras oviplenas por penca en la cara infestada que en la cara opuesta, lo que afirma lo observado en esta investigación.

En cuanto a producción total por tratamientos, se observó que el método de tenate sobresalió con respecto a los demás tratamientos con 1407.7 organismos,

seguido de maíz y gravedad con 1055.3 y 949.00 organismos respectivamente. Vigueras *et al*. (2005) realizaron un trabajo en el cual compararon dos métodos de cultivo y cuatro métodos de infestación para la producción de grana cochinilla, resultando el método de tenate y tul los más adecuados a utilizar, mostrando diferencias significativas, esto demuestra que el método de tenate se considera una opción viable para ser utilizada (Cuadro 6). Además, al ser la propuesta de esta investigación el método de hoja de maíz, al posicionarse por debajo de tenate, se podría considerar una nueva alternativa que presentará rendimientos apropiados para los productores de *D. coccus*.

Cuadro 6: Número de organismos por cada tratamiento

	No. de organismos ± Error Estándar		
Métodos de infestación	**Lado A**	**Lado B**	**Producción total**
Tenate	854.8±92.07 a	552.9±57.23 c	1407.70±138.48 b
Tul	772.5±88.46 a	152.8±19.07 a	861.10±130.97 a
Hoja de maíz	678.1±52.51 a	377.2±50.50 b	1055.3±98.80 a b
Gravedad	810.7±88.56 a	138.3±28.79 a	949.00±110.79 a b
Estadísticos	***F*=0.84 Gl=3 *P*=0.480**	***F*=22.34 Gl=3 *P*=0.000**	***F*=3.94 Gl=3 *P*=0.015**

Dentro de una misma columna, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (P<0.05; test ANVA, seguido de Tukey HSD).

De acuerdo con los tamaños de la hembra obtenidos en los cuatro tratamientos, se observó que fueron similares, de 6 a 7 mm de largo y de 4 a 5 mm de ancho (Fig. 35). Pérez-Sandi y Becerra (2001) indican que las hembras miden 3 a 6 mm de largo por 2.5 a 4.5 mm de ancho, y Tovar-Puente (2000) y Marín y Cisneros (1977) señalan que el cuerpo de la hembra adulta es oval de 6.0 por 4.7 mm, indicando que los resultados obtenidos están dentro de los rangos mencionados, incluso los superan.

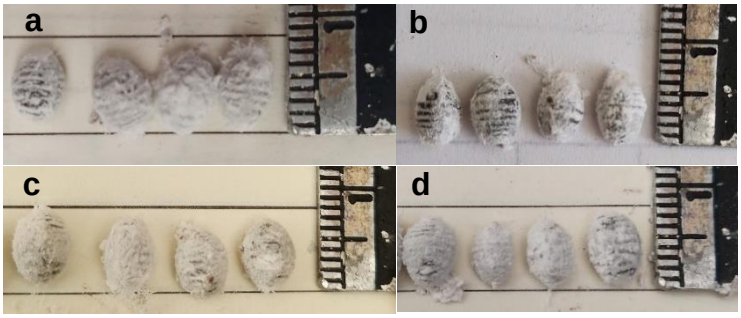

Figura 35: Hembras oviplenas por tratamiento. a) Tenate, b) Tul, c) Hoja de maíz, d) Gravedad.

8.2.2 Registro de temperatura, humedad y tiempos de desarrollo de *Dactylopius coccus*.

En el periodo comprendido del mes de octubre 2020 a enero 2021, se registraron temperaturas apropiadas que propiciaron el buen desarrollo del pie de cría ya que oscilaron entre los 6.7 y 31.4 °C, y la humedad relativa registrada osciló entre 15 y 79 %. En el cuadro 7 se observa que el tiempo de desarrollo, tanto hembras como machos, de ninfa I migrante a ninfa II es similar, pero difieren al llegar al estado adulto, ya que el macho pasa por un instar más (capullo) que dura 50 d, y en su forma adulta sólo llega a vivir 4 d, sin embargo, una hembra puede vivir 86 d aproximadamente. El desarrollo de la hembra tiende a ser en promedio de 133 d mientras que del macho son de 101 d, lo que concuerda con varios autores; de acuerdo con Vigueras y Portillo (2014), el desarrollo de *D. coccus* va de 90 a 128 d, o incluso llegar a los 150 d como lo reportan Roque-Cueva y Delgado-Ulloa (2018).

Por su parte en los bioensayos, durante los meses de febrero a mayo 2021, se registraron temperaturas que fueron de los 9.8 °C hasta los 30.5 °C. En cuanto a la humedad los valores oscilaron entre 15 y 69 % (Fig. 36). Tovar-Puente (2000) menciona que la temperatura es uno de los factores de mayor importancia sobre el establecimiento, sobrevivencia, crecimiento, desarrollo y reproducción del insecto, a temperaturas bajas (10 a 15°C) en 48 h o más, se reduce el crecimiento y maduración de los órganos, así como también se inhibe el apareamiento,

fertilización y desarrollo de embriones, a temperaturas altas (30 a 35°C) puede reducirse el ciclo biológico de 90 a 60 d; sin embargo, se reduce su capacidad reproductiva y de establecimiento. Matadarnes-Ortíz *et al.* (2016) mencionan que se recomiendan temperaturas entre 20 y 30°C para no reducir el contenido de AC. De acuerdo con Coya-Salas (2015) el insecto es altamente sensible a las variaciones de temperatura, llegando a interferir en el ciclo biológico.

Cuadro 7: Tiempo de desarrollo en días de hembras y machos de *Dactylopius coccus*.

Estadio	Hembra	Macho
NINFA I MIGRANTE	1	1
NINFA I ESTACIONARIA	31	31
NINFA II	15	15
CAPULLO	0	50
ADULTO	86	4
TOTAL	**133**	**101**

En cuanto a humedad, este amplio espectro de igual manera que la temperatura, puede estar influyendo en el tiempo de desarrollo del insecto, ya que Serrato-López *et al*. (2016) indican que la humedad relativa óptima para la producción de la grana cochinilla oscila entre los 55 a 86 %. También Díaz-Vargas (2000) menciona que la humedad relativa óptima para su desarrollo se encuentra entre 50 a 80 %, indicando que la humedad tiene influencia directamente en el desarrollo del ciclo de vida; pues la alta humedad alarga el ciclo biológico. Entonces, en cuanto a estos factores, el tiempo de desarrollo de los tratamientos en el pie de cría fue más largo por las temperaturas bajas registradas en estos meses y humedad alta y en la realización de los bioensayos fue más corto debido a las temperaturas altas y humedad baja registrada.

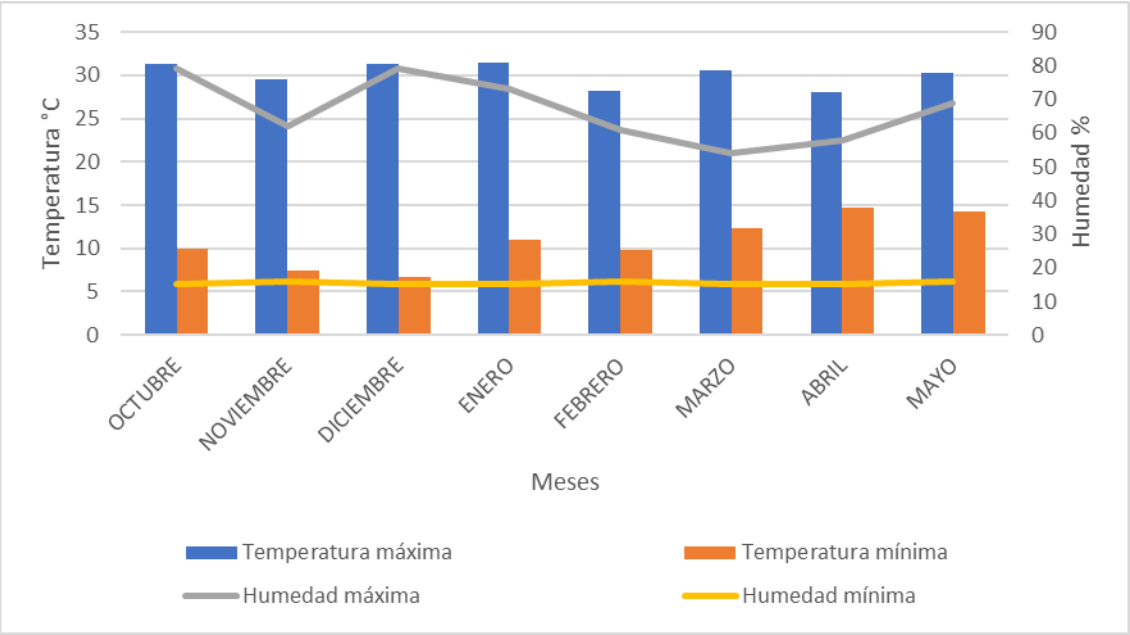

Figura 36: Registro de humedad y temperatura en pie de cría y bioensayos de *Dactylopius coccus.*

En los tiempos de desarrollo registrados por instar en hembras y machos, se observó que la **ninfa I migrante** no presentó diferencia en ambos sexos, ya que vivió solamente 1 día para posteriormente pasar a **ninfa I estacionaria**, siendo el método con menor tiempo de desarrollo el tenate, seguido de tul, hoja de maíz y gravedad en hembras y machos, registrando un tiempo de 27.50 a 34.63 d. Castillo-Narváes (2014) indica que el tiempo de desarrollo de este instar es de 17 a 23 d, o de 20 a 25 d de acuerdo con Marín y Cisneros (1977). El tiempo registrado en los bioensayos fue superior a lo expuesto por los autores anteriores, esto puede deberse a la temperatura baja registrada en el mes de febrero, aumentando la duración del instar.

En el caso de **ninfa II**, el tiempo de desarrollo tuvo variaciones en ambos sexos, en hembras el método de gravedad tuvo un tiempo menor a los otros tres métodos, pero en machos el método de tenate fue el que presentó menor tiempo a comparación de los demás. Tovar-Puente (2000), Vargas-Gastelú (1988) y Marín y Cisneros (1977) mencionan que la ninfa II tiene una duración de 13 a 18 d, y en el caso de los bioensayos, osciló entre 6.36 y 9.64 d, de igual manera la temperatura

influyó disminuyendo el tiempo de desarrollo, ya que en el mes de marzo la temperatura empezó a incrementarse.

En machos, el instar de **capullo** no presentó diferencias en los cuatro tratamientos, aunque su tiempo de duración osciló entre 35.79 a 39.50 d, siendo mayor a lo registrado por Tovar-Puente (2000) y Marín y Cisneros (1977) que mencionan que el tiempo de este instar es de 18 a 22 d, esto puede deberse posiblemente a las variaciones de temperatura y humedad a finales del mes de marzo y principios de abril.

Y en el instar **adulto** para ambos sexos, no presentaron diferencias estadísticas, aunque su tiempo de desarrollo es distinto, en hembras duró de 45.71 a 48.29 d, sin embargo, en machos fue de 3.86 a 4.07 d. Padilla-Miranda (2018) indica que el macho adulto vive de 3 a 4 d, y de acuerdo con lo registrado en estos bioensayos, no hubo variaciones. Pero en hembras, Marín y Cisneros (1977) mencionan que la hembra vive de 30 a 38 d y la duración que se registró fue superior a este dato, posiblemente por el incremento de humedad que se presentó en el mes de mayo.

En las figuras 37 y 38 se observa con mayor detalle cada uno de los instares por los cuatro tratamientos tanto en hembra como macho respectivamente.

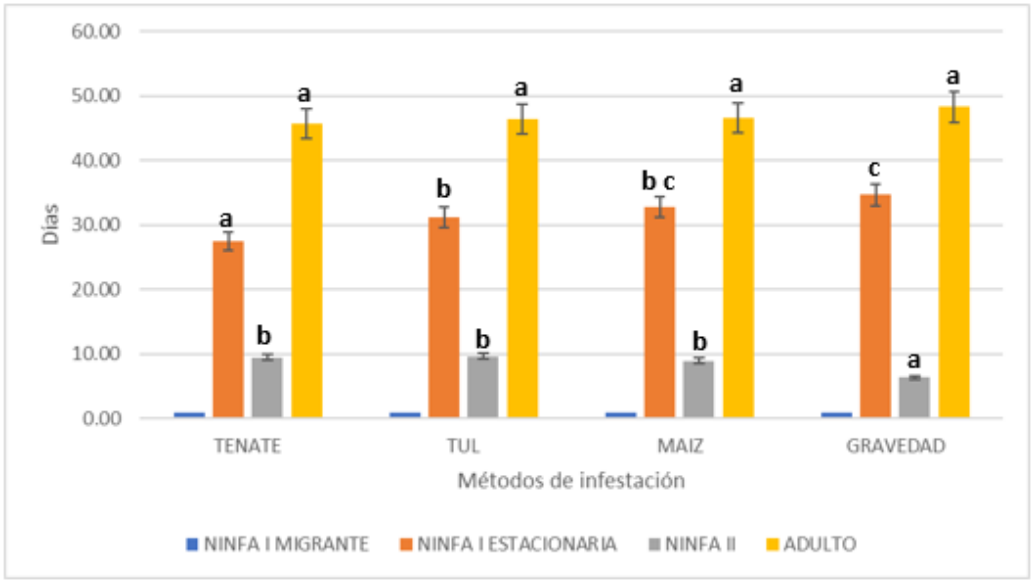

Figura 37: Tiempo de desarrollo en hembras de *Dactylopius coccus* por tratamiento.

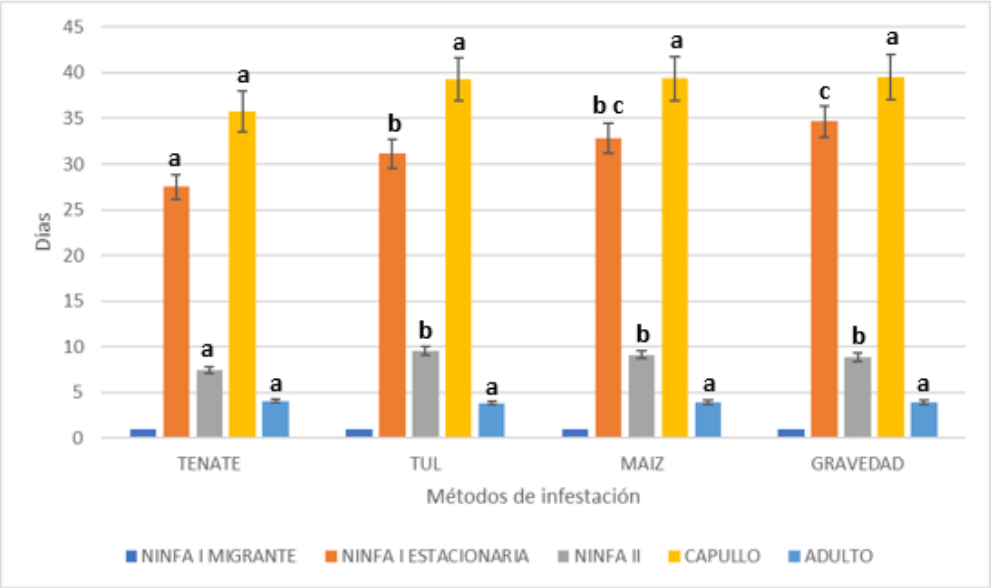

Figura 38: Tiempo de desarrollo en machos de *Dactylopius coccus* por tratamiento.

En cuanto la duración total del desarrollo de hembras y macho de *D. coccus* por tratamiento, se registró que el método del tenate obtuvo el tiempo más corto a comparación de los otros tratamientos, con un tiempo de 83.71 y 75.79 d hembras y macho respectivamente; tul presentó tiempos de desarrollo en hembra de 88.13 y en macho de 84.84 d; el método de hoja de maíz registró tiempos de 89.25 y 83.55 d, para hembra y macho respectivamente; y por último, en gravedad se obtuvieron 90.27 d para hembras y 84.91 d para machos. Quintanar-Reséndiz (2018) menciona que la hembra tiene una duración de 90 a 120 d y el macho de 50 a 60 d. Tovar-Puente (2000) menciona que el macho vive entre 51 y 63 d y la hembra entre 64 y 111 d, mientras que Bonilla-Barragán (1999) indica que el macho vive de 48 a 62 d y la hembra de 92 a 103 d. De acuerdo con estos autores, el desarrollo registrado del macho en los cuatro tratamientos presentó más duración; sin embargo, Méndez-Gallegos *et al.* (1993) mencionan que los machos pueden presentar tiempos que van desde los 83 a 117 d, con lo que la mayoría de los resultados entran dentro de este rango. En cuanto a las hembras, el tiempo si fue inferior a lo documentado por los autores anteriores, y esto debido a la influencia de los factores abióticos.

8.2.3 Cosecha y postcosecha de *Dactylopius coccus*.

En el cuadro 8 se condensan los pesos frescos y secos en promedio por unidad experimental en cada tratamiento, obteniendo que el tratamiento que presentó mayor peso fresco estadísticamente fue el método de tenate con 6.14 g en promedio por cladodio. Sin embargo, tomando en cuenta lo mencionado por Tovar-Puente (2000) de que el rendimiento promedio por cladodio puede oscilar entre 1 y 3 g de grana cochinilla fresca, bajo condiciones de traspatio, los cuatro tratamientos obtuvieron resultados por arriba de los 3 g de grana cochinilla fresca por cladodio.

En peso seco promedio por cladodio, los tratamientos destacados fueron el método de hoja de maíz y tenate con 2.01 g y 1.87 g respectivamente. Se observa que el método de tenate predomina en estas dos variables, lo que concuerda con lo mencionado por Vigueras *et al*. (2005), en donde comparan diferentes métodos de infestación, resultando como mejores métodos, tenate y bolsa de tul, pero en el caso de esta investigación, el método de hoja de maíz superó el método de bolsa de tul, demostrando la eficacia que presenta.

Cuadro 8: Peso fresco y seco por tratamiento.

	Peso en gramos ± Error Estándar	
Tratamiento	**Peso fresco**	**Peso seco**
Gravedad	3.70±0.35 a	1.17±0.11 a
Tul	4.39±0.41 a b	1.62±0.15 a b
Hoja de Maíz	5.48±0.29 b c	2.01±0.11 b
Tenate	6.14±0.38 c	1.87±0.11 b
Estadísticos	***F*=8.64 Gl=3 *P*=0.000**	***F*=8.66 Gl=3 *P*=0.000**

Dentro de una misma columna, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (P<0.05; test ANVA, seguido de Tukey HSD).

En cuanto al peso fresco total por tratamiento, se obtuvo para el tratamiento de tenate 122.9 g, seguido de hoja de maíz con 110.5 g, tul con 87.9 g y gravedad con 74.4 g. En peso seco total el tratamiento de tenate presentó 38.6 g, tul obtuvo 32.9 g, maíz presentó 40.9 g y gravedad con 25.9 g. Con estos resultados se calculó que se requieren 3.18, 2.67, 2.70 y 2.87 kg de cochinilla fresca, respectivamente de cada

tratamiento, para conseguir 1 kg de cochinilla seca, lo que concuerda con Méndez-Gallegos (2001), quien menciona que la proporción de peso fresco en relación con el peso seco puede variar de 2.5-3.5 a 1. Con esto, se indica que se necesita menor peso fresco en tul y hoja de maíz para conseguir 1 kg de cochinilla seca, proporcionando otro punto a favor al método de infestación de hoja de maíz.

Posteriormente con el material seco tamizado en las tres clasificaciones de calidad (primera, segunda y polvillo), se pesó por separado. En primera calidad, el tratamiento con mayor peso fue maíz con 38.24 g. Para segunda calidad, el mayor peso lo obtuvo el método de tenate con 5.25 g, por último, para calidad polvillo el tratamiento con mayor peso fue tenate con 2.27 g (Fig. 39).

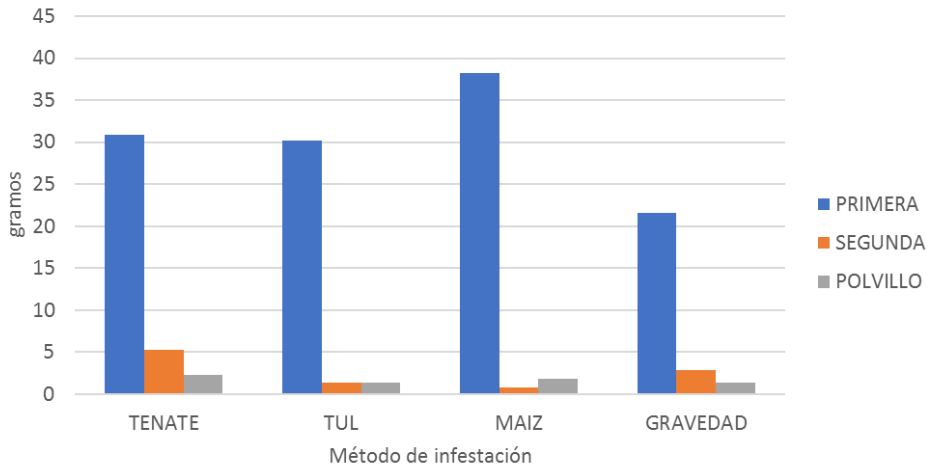

Figura 39: Peso seco por clasificación en cada tratamiento.

De acuerdo con lo obtenido en peso seco, el tratamiento de maíz, tenate, incluso tul, tendrían excelentes rendimientos en cuanto a calidad de primera, y serían los recomendados para una producción encargada de comercializar grana cochinilla seca, pero para conocer el porcentaje de AC se realizó su determinación.

8.2.4 Determinación de ácido carmínico

En el cuadro 9 se observa el porcentaje de AC para las diferentes clasificaciones obtenidas de los diferentes métodos de infestación de *D. coccus*, donde solo el

método de gravedad fue el que resultó diferente estadísticamente respecto al resto de los tratamientos. En cuanto a las clasificaciones por tratamiento, para la clasificación de primera, los tratamientos presentaron porcentajes de 12.96 a 13.53 % con diferencias significativas a favor del método de tenate, tul y hoja de maíz; en la clasificación de segunda, se observó mayor porcentaje que la clasificación pasada, llegando a porcentajes de hasta 16.05 %, siendo el método de tul y tenate los más destacados; por último, para la clasificación de polvillo, el tratamiento con diferencias significativas fue tenate (2.19 %).

Cuadro 9: Porcentaje de ácido carmínico por cada tratamiento

	% AC ± Error Estándar		
Tratamiento	Primera	Segunda	Polvillo
Tenate	13.53±0.10 b	15.98±0.11 c	2.19±0.09 d
Tul	13.39±0.07 b	16.05±0.07 c	1.95±0.02 c
Hoja de maíz	13.27±0.06 b	15.23±0.06 b	0.86±0.01 a
Gravedad	12.96±0.05 a	13.86±0.06 a	1.23±0.02 b
Estadísticos	***F*=10.65 Gl=3 *P*=0.0005**	***F*=160.80 Gl=3 *P*=0.000**	***F*=143.20 Gl=3 *P*=0.000**

Dentro de una misma columna, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (P<0.05; test ANVA, seguido de Tukey HSD).

El porcentaje de ácido carmínico para grana cochinilla de acuerdo con la norma ITINTEC (1990) es de 18 % con respecto a los demás componentes de la cochinilla (humedad, cenizas e impurezas), mientras que se considera de segunda calidad a partir del 15 % de ácido carmínico (Padilla-Miranda, 2018). De acuerdo con lo anterior, el porcentaje de AC en cochinilla de primera fue demasiado bajo, esto puede deberse a la cantidad de cera que contenían sus cuerpos ya que no ovipositaron, y la cera que cubre la cochinilla puede alterar su pureza (Díaz-Vargas, 2000). Sin embargo, la cochinilla de segunda calidad, de acuerdo con Padilla-Miranda (2018), obtuvo el porcentaje estipulado para esta clasificación.

Conforme a los porcentajes de AC de cada tratamiento, se observa que en todos los tratamientos coincidió que la clasificación de segunda calidad, obtuvieron los mejores resultados en contraste con la clasificación de primera calidad. Esto puede deberse a que como la cochinilla no ovipositó, todavía contaba con cera en el

cuerpo, disminuyendo la cantidad de AC, como lo mencionado por Díaz-Vargas (2000).

También otros factores que pueden influir en el porcentaje de AC son la edad, los hospederos y su estado nutricional (Rodríguez *et al*. 2005), el sistema de producción ocupado (penca cortada), ya que estuvo sin suministro adicional de agua ni nutrimentos (Méndez-Gallegos *et al*. 2010), o inclusive de la influencia de los factores abióticos de la zona.

IX. CONCLUSIONES

- En cuanto a producción total de organismos por tratamientos, se observó que el método de tenate presentó 1407.7 organismos, siendo superior a los demás tratamientos, aunque cabe mencionar que el método de hoja de maíz, a pesar de estar por debajo de tenate, presentó 1055.3 organismos, sobresaliendo del método de bolsa de tul y gravedad, posicionándolo como otro método de infestación alterno a los ya documentados para los productores de *D. coccus*.
- El lado A de los cuatro tratamientos, presentó la mayor cantidad de ninfas establecidas, de 678.1 a 854.8 organismos, a comparación del lado B con 138.3 a 552.8 organismos.
- El tratamiento que presentó mayor peso fresco y seco fue tenate con 6.14 g y 1.87 g respectivamente, aunque en peso seco, también destacó el método de hoja de maíz con 2.01 g.
- El método de hoja de maíz presentó porcentaje de AC para primera de 13.27 %, segunda de 15.23 % y polvillo de 0.86 %, siendo inferior al método de tenate que presentó para primera calidad 13.53 %, para segunda 15.98 % y polvillo de 2.19 %. Este porcentaje pudo deberse a la presencia de cera en los cuerpos secos de las hembras y que no habían ovipositado.
- El tratamiento de tenate destacó en porcentaje de AC en las tres clasificaciones.
- El tratamiento de tul no destacó en peso fresco ni seco, sin embargo, en porcentaje de AC de primera y segunda calidad con 13.39 % y 16.05 % respectivamente.
- El tratamiento de gravedad en este experimento no presentó diferencias significativas en las variables de peso fresco y seco, así como el porcentaje de AC.
- El método de tul junto con el de hoja de maíz necesitan 2.67 y 2.70 kg de grana cochinilla fresca respectivamente para conseguir 1 kg de grana seca,

siendo más eficiente que los métodos de tenate y gravedad, los cuales necesitan más cochinilla fresca.

- La clasificación de segunda calidad de AC presentó mayor porcentaje (13.86-16.05 %) que la de primera calidad (12.96-13.53 %).
- La duración del desarrollo de *D. coccus* fue muy similar en los cuatro tratamientos tanto para hembra (de 83.71 a 90.27 d) como para macho (de 75.79 a 84.91 d), indicando que el método de infestación no infiere en el desarrollo del insecto.

X. RECOMENDACIONES

a) Realizar este mismo experimento bajo condiciones semicontroladas de invernadero, evaluando el nuevo método de infestación de hoja de maíz.
b) Ya que el método de hoja de maíz presentó mayor peso seco de primera calidad, pero poco porcentaje de AC, se recomienda dejar ovipositar a las hembras y evaluar la variación de este factor.
c) Evaluar aspectos del hospedero de la zona (nutrición, edad, especie) para garantizar producción con excelente porcentaje de AC.

XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agreda-Rodríguez, M. A. 2009. Evaluación de seis métodos para la extracción de ácido carmínico obtenida a partir de cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) según condiciones de laboratorio de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de Licenciatura. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 68 p.

Alcedo-Cuaresma, J. A. y León-Zapata, P. L. 2019. Factores determinantes de éxito en la exportación de carmín de cochinilla a China y Unión Europea entre 2013 al 2017. Tesis de Licenciatura. Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. Lima, Perú. 96 p.

Aldama-Aguilera, C. y 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. y Castillo-Márquez, L. E. 2005. Producción de grana cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) en plantas de nopal a la intemperie y en microtúneles. Agrociencia. 39(2): 161–171.

Anaya-Pérez, M. A. y Bautista-Zane, R. 2008. El Nopal Forrajero En México: Del Siglo XVI Al Siglo XX. Agricultura, Sociedad y Desarrollo. 5(2): 167–183.

Aquino-Pérez, G. 2007. Producción de grana cochinilla. Secretaria De Agricultura, Ganaderia, Desarrollo Rural Pesca Y Alimentación. 8 p.

Bautista-García, R. M. 2013. Evaluación técnico económica de la tecnología de producción de derivados de grana cochinilla. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 240 p.

Bermúdez-Anampa, E., Gonzáles-Montes, W. H., Quesada-Cárdenas, W. J. y Vásquez-Calderón, W. 2017. Planeamiento Estratégico para el carmín de cochinilla del Perú. Tesis de Maestría. Pontificia Universidad Católica del Perú. Perú. 130p.

Bravo-Hollis, H. y Sánchez-M., H. R. 1978. Las cactáceas de México. Universidad

Nacional Autónoma de México. México, 743 p.

Bonilla-Barragán, G. A. 1999. Cultivo de cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) (Homoptera:Dactylopiidae) en dos ambientes y tres métodos de infestación en Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco, México. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guadalajara. Jalisco. 47 p.

Campos-Figueroa, M. y Llanderal-Cázares, C. 2003. Producción de grana cochinilla Dactylopius coccus (Homoptera:Dactylopiidae) en invernadero. Agrociencia. 37(2): 149:155

Castillo-Narváes, J. L. 2014. Manual para la producción de grana cochinilla. Gobierno del Estado de México. Estado de México. 27 p.

Centeno-Álvarez, M. M. 2003. Extracción, estabilización y evaluaciones analíticas del carmín. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. México. 132 p.

Chávez-Moreno, C. K., Tecante, A., Casas, A. y Claps, L. E. 2011. Distribution and habitat in Mexico of *Dactylopius costa* (Hemiptera: Dactylopiidae) and their cacti hosts (Cactaceae: Opuntioideae). Neotropical Entomology. 40(1):62–71.

Claps, L. 2010. Morfología, sistemática y distribución de Dactylopiidae (Hemiptera:Coccoidea). Universidad Nacional de Tucumán, Argentina. 12 p.

Consulado de México. 2017. Nopal, indiscutiblemente mexicano. Disponible en: https://consulmex.sre.gob.mx/sanpedrosula/images/pdf/boletines/Boletin24Febrero.pdf (Revisado 13 enero 2020)

Coronado-Flores, V., Tornero-Campante, M. A., Núñez-Tovar, R., Jaramillo-Villanueva, J. L. y Méndez-Gallegos, S de J. 2015. Productividad de cochinilla *Dactylopius coccus* (Hemiptera: Dactylopiidae) en cladodios de *Opuntia ficus-indica* (Cactacea) con diferentes tratamientos de fertilización. Acta Zoológica Mexicana. 31(2): 183-189.

Coya-Salas, M. L. 2015. Tres colores de malla y tres periodos de sombreado en la producción de “cochinilla de carmín” (*Dactylopius coccus* Costa) en el cultivo de tuna (*Opuntia ficus-indica*) en zona subtropical árido. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Arequipa, Perú. 91 p.

De Jesús-González, A. B. 2015. Diagnóstico y manejo de plagas del nopal verdura (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.) con extractos acuosos vegetales en Tlaxcalancingo, Puebla. Tesis de Licenciatura. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla. 45 p.

Díaz-Merchán, J. A. y Ávila, L. M. 2002. Sondeo del mercado mundial de cochinilla (*Coccus cacti*). Instituto de Investigación de Recursos Biológicos "Alexander von Humboldt". Bogotá, Colombia. 27 p.

Díaz-Vargas, J. M. 2000. Producción de grana (*Dactylopius coccus* Costa) en condiciones semicontroladas, como alternativa para los productores de nopal en la región de milpa alta. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional. México, CDMX. 110 p.

Diodato, L., Fuster, A., Galindez, M. de J. 2009. Infestaciones inducidas de grana-cochinilla *Dactylopius coccus* Costa (Homoptera:Dactylopiidae), en la provincia de Santiago del Estero, Argentina. Quebracho-Revista de Ciencias Forestales. 17 (1-2): 52–57.

Galicia-León, M. E. 2014. Estudio de la compatibilidad de colorantes derivados del ácido carmínico en resina poliéster cristal y poliuretano. Tesis de Licenciatura. Instituto Politécnico Nacional. CDMX. 93p.

Gamboa-F., N. y Leidinger, W. 1998. La química del ácido carmínico. Revista química. 2(2): 127-135.

Hernández-Hernández, F. de la C., García-Gil de Muñoz, F., del Río-Dueñas, I. y Lanz-Mendoza, H. 2005. La cochinilla fina del nopal, colorante mexicano para el mundo. Ciencia. 56 (4): 78–87.

IMBAREX, 2020. Ácido carmínico. Disponible en https://www.imbarex.com/es/?s=%C3%A1cido+carm%C3%ADnico (Revisado 15 mayo 2020).

ITINTEC, 1990. Producción de carmín a partir de la cochinilla. Instituto de Investigación Tecnológica Industrial y de Normas Técnicas. Información Tecnológica. 16: 33-36.

Llempen-Aurazo, L. C. 2018. Extracción del ácido carmínico mediante dos métodos, a partir de la cochinilla (*Dactylopius coccus*), aplicado en textileria. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional "Pedro Ruiz Gallo". Lambayeque, Perú. 70 p.

López-Soto, M. de J. C. I. 2005. Relación entre métodos de secado de cochinilla silvestre (*Dactylopius* sp.) y el rendimiento de ácido carmínico. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco. 65 p.

Maki-Díaz, G., Peña-Valdivia, C. B., García-Nava, R., Arévalo-Galarza, M. L., Calderón-Zavala, G. y Anaya-Rosales, S. 2015. Características físicas y químicas de nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) para exportación y consumo nacional. Agrociencia. 49(1): 31–51.

Manifiesto de impacto ambiental modalidad particular, 2018. “Construcción de una estación de servicio (Gasolinera) y 3 locales comerciales. Disponible en: http://104.209.210.233/gobmx/2018/1er_T/A73/FI_201803/d/RE-09-MPA0269-09-16-DGGC.pdf (Revisado 01 de mayo).

Marín, L. R. y Cisneros, V. F. 1977. Biología y morfología de la cochinilla del carmín, *Dactylopius coccus* Costa (Homopt.: Dactylopiidae). Revista Peruana de Entomología 20(1): 115-120.

Matadarnes-Ortíz, E. J., Zamorano-Rojas, M. de la P. y Rodríguez-León, B. 2016. Manual para la producción de grana cochinilla. Gobierno del Estado de México. Estado de México. 25 p.

Mazzeo, G., Nucifora, S., Russo, A. y Suma, P. 2019. *Dactylopius opuntiae*, a new prickly pear cactus pest in the Mediterranean: an overview. Entomologia Experimentalis et Applicata. 167(1): 59–72.

Méndez-Gallegos, S. de J., Vera-Graziano, J., Bravo-Mojica, H. y López-Collado, J. 1993. Tasas de supervivencia y reproducción de la grana cochinilla *Dactylopius coccus* Costa (Homoptera: Dactylopiidae) a diferentes temperaturas. Agrociencia serie Protección Vegetal. 4(1): 7-22.

Méndez-Gallegos, S. de J. 2001. Cultivo y manejo de grana cochinilla. En: Llanderal C., C., y R. Nieto H. (eds.). Producción de Grana Cochinilla. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Méx., México. pp. 69-77.

Méndez-Gallegos, S. de J., Panzavolta, T. y Tiberi, R. 2003. Carmine cochineal *Dactylopius coccus* Costa (Rhynchota: Dactylopiidae): Significance, production and use. Advances in Horticultural Science. 17(3): 165-171.

Méndez-Gallegos, S. de J., Tarango-Arámbula, L. Antonio Carnero, A., Tiberi, R. y Díaz-Gómez, O. 2010. Crecimiento poblacional de la cochinilla *Dactylopius coccus* Costa criada en cinco cultivares de nopal *Opuntia ficus-indica* Mill. Agrociencia. 44(2):225–234.

Mora-Blancas, E. E., Aquino-Pérez, G., Rodríguez, G. E., Martínez-Sáenz, A. Calva-Pérez, V. y Rodríguez, J. 1999. Programa Nacional de la Grana Cochinilla. Disponible en https://www.oocities.org/cucba/pronaco.html (Revisado 01 mayo 2020).

Ocampo-Ochoa, F., Riveros-Cañas, A. R. y Roldán-Cruz, E. I. 2017. Caracterización del SIAL Nopal verdura y fruta en el Estado de Hidalgo, México. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Hidalgo. 144 p.

Ochoa, M. J. y Barbera, G. 2018. Historia e importancia agroecológica y económica del nopal. En: Inglese, P., Mondragón-Jacobo, C., Nefzaori, A., Sáenz, C. (eds.). Ecología del cultivo, manejo y usos del nopal. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y el Centro Internacional de Investigaciones Agrícolas en Zonas Áridas Roma. pp. 1-12

Padilla-Miranda, R. G. 2018. Estudio de la interacción estilete-capa de nopal en tres etapas de desarrollo de la cochinilla hembra (*Dactylopius coccus*) y su relación con la composición química de la capa de nopal (Opuntia ficus-indica) en la que se localiza. Tesis de maestría. Centro de investigación y de estudios avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Irapuato, Guanajuato. 80 p.

Pérez-Guerra, G. y Kosztarab, M. 1992. Biosystematics of the family Dactylopiidae (Homoptera: Coccinea) with emphasis on the life cycle of *Dactylopius coccus* Costa. Virginia Agricultural Experiment Station. 90 p.

Pérez-Sandi, M. y Becerra, R. 2001. La cochinilla. Biodiversitas. 36(6): 1–8.

Portillo, L. 1992. Infestación óptima de cladodios aislados del nopal *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Con grana cochinilla *Dactylopius coccus* Costa. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco. 68 p.

Portillo, L. 2008. Hospederos. Disponible en: https://www.oocities.org/granacochinilla/hospederos.html (Revisado 15 mayo 2020)

Portillo, L. & A. L. Vigueras G. 1998. Natural enemies of cochineal *(Dactylopius coccus* Costa): importance in México. Journal of the Professional Associated Cactus Development 3: 43–49.

Portillo, L. y Vigueras, A. L., 2012. Grana cochinilla del nopal. Manual de cría. Universidad de Guadalajara. Guadalajara. 34 p.

Portillo, L. y Vigueras, A. L. 2018. Cría de grana cochinilla. En: Inglese, P., Mondragón-Jacobo, C., Nefzaori, A., Sáenz, C. (eds.). Ecología del cultivo, manejo y usos del nopal. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y el Centro Internacional de Investigaciones Agrícolas en Zonas Áridas Roma. pp. 109-118.

Quintanar-Reséndiz, A. L. 2018. Diseño de un clasificador de las fases del ciclo biológico de la cochinilla del nopal (*Dactylopius coccus* Costa). Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Querétero, Qro. 72 p.

Ramírez-Delgado, A. M. G. y Arroyo-Figueroa, G. 2017. Producción y control de calidad de la grana cochinilla. Jóvenes en la ciencia. 3 (2): 2005-2009.

Rodríguez, L. C., Faúndez, E., Seymour, J., Escobar, C. A., Espinoza, L., Petroutsa, M., Ayres, A. y Niemeyer H. M. 2005. Factores Bióticos y Concentración de Ácido Carmínico en la Cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) (Homoptera: Dactylopiidae). Agricultura Técnica. 65(3): 323-329.

Roque-Cueva, A. S. y Delgado-Ulloa, O. I. 2018. Influencia de la temperatura y cantidad de Na_2CO_3 en la extracción de ácido carmínico a partir de *Dactylopius coccus* Costa "Cochinilla". Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú. 89 p.

Salinas, J. M. s.f. Números aleatorios. Disponible en: https://www.ugr.es/~jsalinas/Aleatorios.htm (Revisado 03 marzo 2021)

SEMARNAT. 2017. Nopal, planta que documenta la historia de México. Disponible en: https://www.gob.mx/semarnat/articulos/nopales-previo?idiom=es (Revisado 10 mayo 2020)

Serrato-López, J. J., Arroyo-Figueroa, G. y Rojas, R. 2016. Producción y control de calidad del insecto grana cochinilla. Jóvenes en la ciencia. 2(1): 1444-1449.

Suassuna, P., Torres, A., Vigueras, A. L. y Portillo, L. 2008. Pruebas de control de *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) con extractos vegetales en el nordeste de Brasil. pp. 78-80. En: Grana cochinilla y colorantes naturales. Colegio de Postgraduados. México.

SUNAT, 2019. Reporte de Exportaciones por Subpartida Nacional/País Destino 2019. Disponible en: http://www.aduanet.gob.pe/cl-ad-itestadispartida/resumenPPaisS01Alias (Revisado 10 mayo 2020)

Tello, V. y Vargas, J. 2015. Efecto de la luz artificial a diferentes fotoperiodos sobre dos variables productivas de la grana cochinilla, *Dactylopius coccus* Costa (Hemiptera: Dactylopiidae) para su cultivo bajo condiciones controladas. Idesia. 33(3): 23-30.

Torres-Anaya, T., Arroyo-Figueroa, G. y Alfaro-Arrieta, A. 2015. Control de calidad de la grana cochinilla y aplicación de subproductos del insecto. Jóvenes en la ciencia. 1(2): 1968-1973.

Torres-Ponce, R. L., Morales-Corral, D., Ballinas-Casarrubias, M. de L. y Nevárez-Moorillón, G. V. 2015. El nopal: planta del semidesierto con aplicaciones en farmacia, alimentos y nutrición anima. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 6(5): 1129–1142.

Tovar-Puente, A. 2000. Producción de grana cochinilla del nopal *Dactylopius coccus* Costa (Homoptera: Dactylopiidae) en dos localidades del sur del estado de Nuevo León. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León., Nuevo León. 87p.

Vargas-Gastelú, F. N. 1988. Biología de la cochinilla del carmín *Dactylopius coccus* Costa, bajo condiciones de laboratorio en Pampa del Arco (2,750 m.s.n.m) Ayacucho. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga, Ayacucho, Perú. 72p.

Vargas-Cathi, J. A. 2004. Condiciones ambientales y situación actual de la grana cochinilla *Dactylopius coccus*. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”. Coahuila, México. 78 p.

Vigueras, A. L., Llanderal-Cázares, C. y Portillo, L. 2005. Cochineal (Hemiptera: Dactylopiidae) production. Scientia-CUCBA. 7(2): 99-103.

Vigueras, A. L. y Portillo, L. 2014. Control cochinilla silvestre y cría grana cochinilla. Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología. Guadalajara, Jalisco. 80 p.

ANEXO 1

FECHA:			ORGANISMOS ESTABLECIDOS			TOTAL/CLADODIO			**TOTAL ORGANISMOS**
TRAT.	**# CLADODIO**	**LADO**	**H**	**M**	**N**	**H**	**M**	**N**	
		A							
		B							
		A							
		B							
		A							
		B							
		A							
		B							
		A							
		B							
		A							
		B							
		A							
		B							
		A							
		B							
		A							
		B							
		A							
		B							
		A							
		B							
		A							
		B							
			TOTAL						