

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

Effect of visible light radiation on two production variables of cochineal, Dactylopius coccus Costa (Hemiptera: Dactylopiidae) for its cultivation under controlled conditions

Víctor Tello^{1*}, José Vargas¹

RESUMEN

Se estudió el efecto de la luz artificial sobre la duración del ciclo de vida y la concentración de ácido carmínico de la grana cochinilla, *Dactylopius coccus* Costa (Hemiptera: Dactylopiidae) en condiciones controladas. Los ensayos se realizaron en los laboratorios de la Facultad de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Arturo Prat (Chile) bajo condiciones de 27,5±2,5 °C de temperatura, 50±10% de humedad relativa y fotoperiodos de 0:24, 4:20, 8:16, 12:12, 16:8 y 20:4 h L:O (luz:oscuridad). Los resultados indican que desde el punto de vista productivo los mejores resultados se obtienen al someter al insecto a un régimen diario de 16 horas de luz artificial en el rango de luz visible (450-700 nanómetros) obteniendo así una concentración de ácido carmínico de 23,6% en un lapso de 94 días. Estos resultados nos indican que el efecto de la luz artificial es favorable cuando lo que se desea es aumentar la concentración de ácido carmínico en la grana cochinilla criada en cautiverio. *D. coccus* fue incapaz de completar su ciclo de vida con un fotoperiodo de 20 horas diarias de luz dentro del rango visible.

Palabras clave: Colorantes naturales, ácido carmínico, *Opuntia ficus-indica*.

ABSTRACT

The effect of artificial light on the cycle of life and the concentration of carminic acid cochineal, Dactylopius coccus Costa (Hemiptera: Dactylopiidae) was studied under controlled conditions. Assays were performed in the laboratories of the Faculty of Natural Resources of the Universidad Arturo Prat (Chile) under conditions of 27.5 ± 2.5 °C temperature, 50 ± 10% relative humidity and photoperiod of 0:24, 4:20, 8:16, 12:12, 16:8 and 20:4 h L:D (light:dark). The results indicate that from the point of view of production the best results are obtained by subjecting the insect to a daily regimen of 16 hours of artificial light in the range of visible light (450-700 nm) thus obtaining a concentration of 23.6% of carminic acid within 94 days. These results indicate that the effect of artificial light is favorable to increase the concentration of carminic acid in cochineal raised in controlled conditions. D. coccus was unable to complete its life cycle with a photoperiod of 20 hours of light in the visible range.

Key words: Natural dye, carminic acid, *Opuntia ficus-indica*.

Introducción

Dactylopius coccus Costa (Hemiptera: Dactylopiidae) es un insecto de gran importancia comercial para la obtención del colorante rojo ácido carmínico (Méndez-Gallegos *et al.*, 2009), el que tiene aplicaciones en las industrias alimentaria, farmacéutica, cosmética y textil (Diodato *et al.*, 2009). La Agencia de Drogas y Alimentos de Estados Unidos (FDA), la Organización Mundial

de la Salud (OMS), la FAO y la Unión Europea, han favorecido la demanda de cochinilla como fuente natural de colorantes principalmente en las industrias de alimentos, fármacos y cosméticos entre otros productos en gran parte del mundo (Cook y Gullan, 2004). *D. coccus* fue introducida a Chile (Región de Coquimbo) desde Perú en 1989 (Rodríguez *et al.*, 2005).

La duración del ciclo biológico de *D. coccus* y, en consecuencia, el número de períodos de producción

¹ Facultad de Recursos Naturales Renovables, Universidad Arturo Prat, Avenida Arturo Prat 2120, Casilla 121, Iquique, Chile

* Autor para correspondencia: victor.tello@unap.cl

y de cosechas por año puede ser afectada tanto por factores bióticos como abióticos. Dentro de los factores bióticos destacan la especie y variedad de nopal, el estado fisiológico y nutricional de la planta, la edad de las pencas y la presencia de plagas y enfermedades, lo que repercute en la calidad de la penca y la superficie para albergar a la cochinilla. Los factores abióticos como temperaturas extremas (Llanderal y Campos, 2001), humedad relativa (Méndez *et al.*, 1994; Diodato *et al.*, 2009), lluvia (Marín y Cisneros, 1983), vientos (Zimmerman, 1988) y granizo (Vigueras y Portillo, 2001), entre otros, pueden también afectar de manera importante la cría de la cochinilla en campo.

Díaz y Ávila (2002) y Campos-Figueroa y Llanderal (2003) recomiendan proteger al insecto de la luz natural directa, no obstante estas recomendaciones son realizadas por los investigadores para evitar las altas temperaturas durante el desarrollo del insecto, sin manifestar si existe algún efecto de la luz sobre el desarrollo productivo de la cochinilla. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del fotoperíodo sobre el comportamiento productivo de *D. coccus* en condiciones controladas.

Materiales y Métodos

Ubicación del ensayo

El ensayo fue realizado en una sala ubicada en los laboratorios de la Facultad de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Arturo Prat ubicados en la Estación Experimental Canchones, Pampa del Tamarugal, desierto de Atacama, Chile (20°60'40" S, 69°32'01" O). Los análisis químicos para determinar la concentración final de ácido carmínico en los cuerpos de los insectos de cada tratamiento se realizaron en el laboratorio de Productos Naturales perteneciente a la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Arturo Prat (Iquique, Chile).

Material biológico

Se utilizaron cladodios de *Opuntia ficus-indica* de dos años de edad, con características morfológicas y nutricionales similares, sin daños mecánicos, recolectadas de un cultivo de tunales ubicado en la Estación Experimental Canchones (Rodríguez *et al.*, 2005). El agricultor señor Efraín Cabrera Morales proporcionó el pie de cría de grana cochinilla

(*D. coccus*), las que fueron recolectadas de la parcela Nº12, ubicada en la localidad de La Tirana (20°21' S 69°40' O), desierto de Atacama, utilizándose solo hembras adultas en ovoposición.

Control de condiciones ambientales

Las temperaturas de la sala fueron reguladas por un termostato marca Fantini-Cosme modelo CH110 (Italia) con un rango de trabajo entre los 0 y los 30 °C. Este termostato controló un cable paralelo calefactor de silicona, modelo M1400503. El termostato se ubicó en la zona interior media de la batería Flander, mientras que el cable calefactor se distribuyó en la base de esta, en forma de onda para la dispersión homogénea del calor, sobre una lámina de aluminio (Alusa®), utilizada como reflectante del calor. Para evitar las altas temperaturas (sobre los 30 °C), se acondicionó un sistema de ventilación, el que consistió en la entrada de aire por una ventana lateral y un extractor de aire marca Cork, modelo KFR/51GW, el que fue controlado por un termostato ambiental de las mismas características de los ya mencionados. Esto permitió mantener una temperatura promedio de 27,5±2,5 °C durante el ensayo.

La humedad fue controlada mediante la activación de un vaporizador marca Garrity, modelo VH-820, el que fue controlado por la medición de un higrostató marca Jumo, modelo A6080001 de rango 25-100% HR. La humedad relativa promedio durante el ensayo fue de 50±10%.

Control del fotoperíodo

Para la infestación de los cladodios se introdujeron cinco hembras en estado de oviposición, con un peso promedio de 0,5 g en nidos de papel craft (3x2 cm), según lo recomendado por Campos-Figueroa y Llanderal-Cázares (2003), los que fueron finalmente retirados del cladodio para asegurar que los individuos que se fijaron bajo su sombra, recibieran la luz correspondiente a cada tratamiento. La luz fue proporcionada mediante lámparas de vapor de mercurio con baja presión, entre las longitudes de onda de 400 y 700 nm, perteneciente al rango de luz visible, la requerida por cualquier insecto para su desarrollo normal (Díaz y Ávila, 2002; Campos-Figueroa y Llanderal, 2003). Cada lámpara se situó en la parte superior de la batería Flanders, para evitar la contaminación lumínica

en los periodos de oscuridad, la zona de trabajo se mantuvo aislada de luz y cada batería fue cubierta con un género de color negro sobre la canoa de la luz, para no contaminar lumínicamente a los otros tratamientos. Los fotoperiodos utilizados correspondieron a 0:24, 4:20, 8:16, 12:12, 16:8 y 20:4 h de fotofase:escotofase, respectivamente, cada uno representando a un tratamiento. Cada cladodio constituyó una unidad experimental y cada tratamiento fue repetido cuatro veces.

Para determinar el efecto del tiempo de exposición lumínica diaria (cantidad de horas diarias de exposición lumínica) sobre la duración del ciclo de vida del insecto se contabilizaron los días transcurridos entre la fecha de infestación y la fecha en que se observó un 50% de hembras adultas de la nueva generación en ovoposición. Una vez fijadas las ninfas migrantes II se seleccionaron 15 individuos por repetición y se eliminó el exceso de ninfas, finalmente 15 días después se seleccionaron 10 individuos por repetición.

Determinación de la concentración de ácido carmínico

Para el análisis químico de las muestras se siguió la metodología propuesta por Aldama-Aguilera y Llanderal-Cázares (2003) y Rodríguez *et al.* (2005). Los insectos se colectaron desde cada tratamiento en la fase de hembra oviplena (cuando se presentó un 50% de hembras en oviposición), las que fueron muertas mediante asfixia en bolsas de nylon, para luego ser secadas en una estufa con circulación de aire a 50 °C por 72 h. De lo cosechado en cada tratamiento se tomaron tres muestras de 500 mg de cochinilla seca, las que se sumergieron en 2 ml de hexano contenidos en un tubo Eppendorf para ser primero agitadas por 1 h y luego centrifugadas por 5 minutos a 3.000 rpm para eliminar el sobrenadante. Esta acción se repitió tres veces para asegurar la eliminación total de la cera de los cuerpos de los insectos. Finalmente las muestras fueron filtradas al vacío y secadas con un matraz Kitazato acoplado a un embudo Buchner, con papel filtro en la parte superior. Una vez desengrasados y secos los cuerpos de grana cochinilla, el material se trituroó a partículas finas, utilizando un mortero. En un vaso de precipitados se depositaron 10 mg de cochinilla en polvo, se mezclaron con 3 ml de HCl 2N y se hirvieron por 10 minutos, luego se aforó a 100 ml con agua desionizada y se procedió a filtrarlos. Se

desecharon los primeros 20 ml del filtrado y se utilizaron los siguientes 3 ml para leer la absorbancia de la solución en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 494 nm (espectro de máxima absorción del ácido carmínico). El contenido de ácido carmínico se calculó con la fórmula:

$$\% \text{ de ácido carmínico} = \frac{Abs \cdot 100}{1,39}$$

donde *Abs* = absorbancia de la solución final y 1,39 = absorbancia de una solución de ácido carmínico puro (100 mg L⁻¹) (Aldama-Aguilera *et al.*, 2005).

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar, el que contó de seis tratamientos, cada uno con cuatro repeticiones. Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza (ANDEVA) y las diferencias se determinaron mediante la prueba de comparación múltiple de Tukey ($\alpha=0,05$). Las concentraciones de ácido carmínico expresadas en porcentaje fueron normalizadas con la transformación angular $\arcsen\sqrt{(p\% \cdot 100^{-1})}$, antes de realizar el análisis estadístico (Zar, 2006). Para verificar los supuestos de normalidad y homocedasticidad, se aplicaron las pruebas de Shapiro-Wilks y Levene, respectivamente. Se realizaron análisis de correlación entre el tiempo del ciclo y la concentración de ácido carmínico con el fotoperíodo. Para los análisis se utilizó el programa estadístico computacional Infostat (versión 2013).

Resultados y Discusión

Ciclo de vida

El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los tratamientos [$F_{(4, 15)}=102,51$; $p<0,001$]. La prueba de Tukey reveló que al privar de luz a *D. coccus* (fotoperíodo de 0 h) se obtuvo el menor tiempo de duración del ciclo de vida ($85,00 \pm 0,41$ d). Los fotoperíodos de 12 y 16 h fueron los que registraron los mayores tiempos de duración del ciclo de vida sin presentar diferencias significativas entre ellos ($94,75 \pm 0,25$ y $96,00 \pm 0,71$ d, respectivamente). El fotoperíodo de 4 h produjo una duración de $89,00 \pm 0,41$ d (Figura 1).

Según Díaz y Ávila (2002) y Campos-Figueroa y Llanderal-Cázares (2003), la luz natural directa

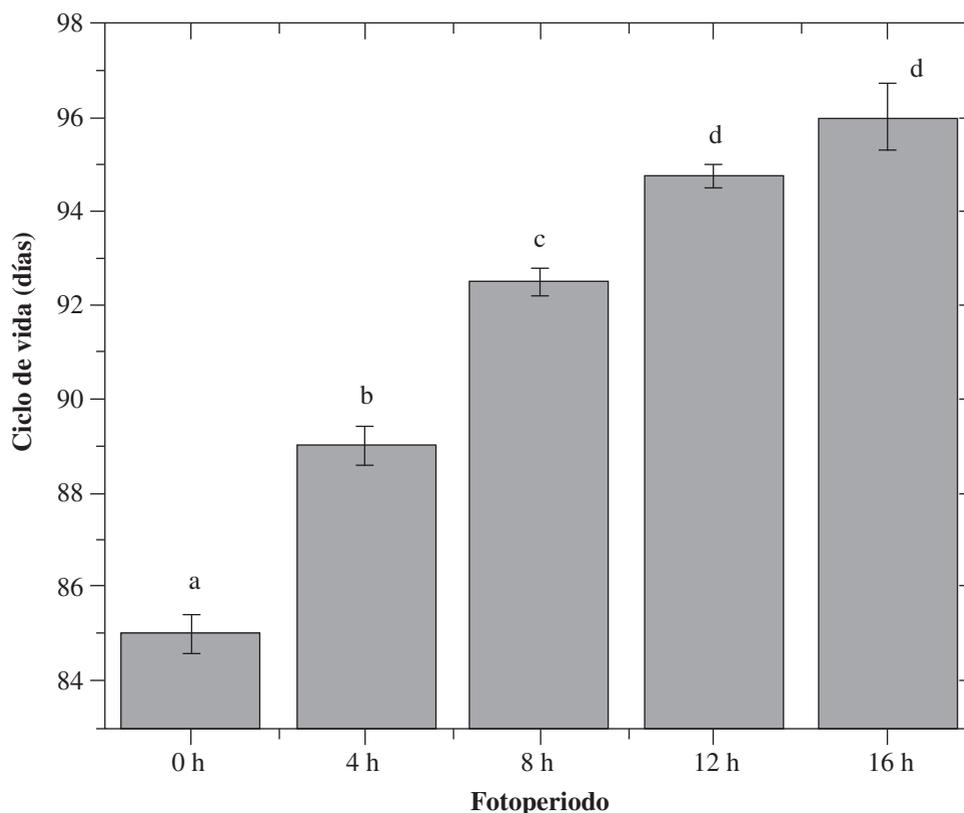


Figura 1. Duración promedio del ciclo de vida de *Dactylopius coccus* a diferentes tiempos de exposición lumínica en condiciones de $27,5 \pm 2,5$ °C de temperatura y $50 \pm 10\%$ de humedad relativa.

tiene un efecto negativo sobre el desarrollo de los insectos, lo que coincide con los resultados obtenidos, que en este caso provocaron un aumento en el tiempo de ciclo de vida de los insectos en la medida que se aumentó el tiempo de exposición a la luz directa. El fotoperiodo de 20 h no fue incluido en los resultados, ya que transcurridos 120 días los ejemplares de *D. coccus* aún no alcanzaban su estado adulto, es más, en ninguna de sus repeticiones los insectos estudiados lograron pasar del estado juvenil, probablemente porque el estrés lumínico al que fueron expuestos fue demasiado severo, motivo por el que no lograron alcanzar la madurez.

Si bien el análisis estadístico mostró diferencias significativas entre el efecto de los fotoperiodos, al llevar estos resultados a datos productivos prácticos nos encontramos que con todos los tratamientos se podrían tener hasta cuatro cosechas anuales, no obstante cabe destacar que se logró demostrar que la ausencia de luz permite disminuir el ciclo de vida del insecto considerablemente, lo que se puede comprobar al comparar los 85,0 d obtenidos

en el fotoperiodo de 0 h con los resultados de investigadores como Pérez y Becerra (2001) y Aldama-Aguilera *et al.* (2005), quienes coinciden que el tiempo del ciclo de vida “normal” del insecto desde huevo hasta que la hembra está oviplena, en condiciones de campo (luz natural), varía entre los 100 y los 133 días.

Méndez-Gallegos *et al.* (2014) aplicando fotoperiodos de 0:24, 8:16, 10:14, 12:12 y 24:0 h (fotofae:escotofase) a *D. coccus* criada sobre *O. ficus-indica* indican que el fotoperiodo afectó la duración del ciclo biológico ocurriendo más rápido cuando las horas de oscuridad disminuyeron, pero reduciéndose los valores de supervivencia.

Concentración de ácido carmínico

El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los tratamientos [$F_{(4,15)}=2634,89$; $p<0,001$]. La prueba de Tukey (Figura 2) reveló una relación directamente proporcional entre el tiempo de exposición lumínica (fotoperiodo) y

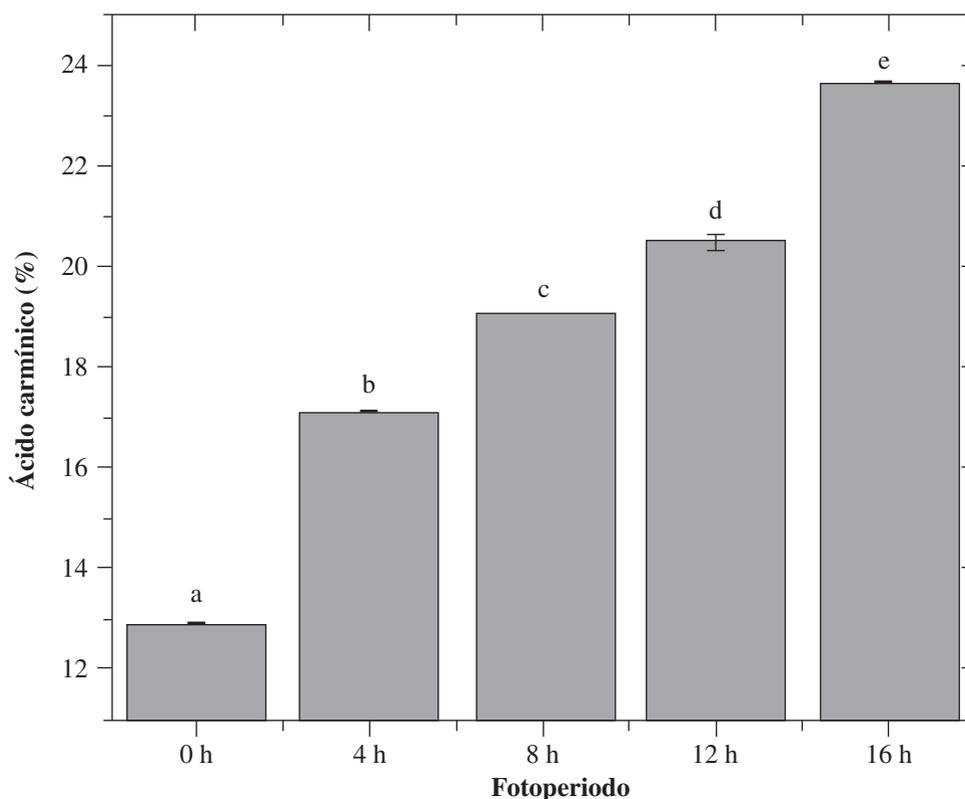


Figura 2. Concentración media de ácido carmínico de *Dactylopius coccus* a diferentes tiempos de exposición lumínica en condiciones de $27,5 \pm 2,5$ °C de temperatura y $50 \pm 10\%$ de humedad relativa.

la concentración de ácido carmínico, ya que al someter a *D. coccus* a un fotoperiodo de 16 h la concentración de ácido carmínico fue la mayor, y a medida que disminuyó el fotoperiodo de igual forma fue disminuyendo la concentración de ácido carmínico, llegando finalmente el tratamiento que no recibió luz (0 h), con la menor concentración de ácido carmínico.

Las concentraciones normales de ácido carmínico encontradas en producciones, tanto nacionales como internacionales, oscilan entre 17% y 22% (Méndez-Gallegos *et al.*, 2010). La Región de Tarapacá presenta fotoperiodos entre 10 y 12 h de luz durante gran parte del año, esto es coincidente con nuestros resultados, ya que con un fotoperiodo del rango de luz visible de 12 h se alcanzó una concentración de $20,48 \pm 0,17\%$ de ácido carmínico (Figura 2), y con un fotoperiodo del mismo rango de luz pero de 16 h diarias se registró una concentración de $23,65 \pm 0,03\%$ valor rara vez registrado en producciones comerciales. Estos valores pueden ser asociados a que al encontrarse

el insecto bajo condiciones de estrés lumínico este retrase su tiempo de desarrollo, por otro lado las buenas condiciones ambientales, estado y edad de los cladodios favorecieron las condiciones para el desarrollo de los insectos, lo que produjo un alto número de cochinilla focal con individuos más pequeños y con mayor concentración de ácido carmínico (Rodríguez *et al.*, 2005). Méndez-Gallegos *et al.* (2009) evaluaron la concentración de ácido carmínico en *D. coccus* cultivado en cámaras de cría con un fotoperiodo de 14:10 (L:O) generado con lámparas de sodio de alta presión de 45 W, obteniendo una concentración máxima de $19,1 \pm 0,2\%$ en el cultivar Blanco Moscatel de *O. ficus indica*.

Análisis de correlaciones

Díaz y Ávila (2002) y Campos-Figueroa y Llanderal-Cázares (2003) coinciden con que la luz natural directa tiene un efecto negativo sobre el desarrollo de los insectos generando individuos

más pequeños y con tiempo de ciclo de vida más largos, pero que además presentan valores mayores de concentración de ácido carmínico, esto por efecto de un estrés lumínico. Estos datos son coincidentes con los resultados obtenidos en esta investigación. Al analizar la correlación entre la duración del ciclo de vida de *D. coccus* y la concentración de ácido carmínico esta fue significativa ($p < 0.0001$) con un coeficiente de Pearson de 0,96. Aldama-Aguilera *et al.* (2005) indican que la duración del ciclo biológico de *D. coccus* criada a la intemperie fue mayor que en microtúneles. De acuerdo con estos autores, estas diferencias pueden ser atribuidas a las diferencias de temperatura registradas en los dos distintos sistemas de producción. Estos resultados concuerdan con Méndez (2001) quien explica que a mayor temperatura el ciclo biológico se acorta, pero a temperaturas bajas, se alarga. No obstante, al cultivar a *D. coccus* bajo una temperatura constante y variando el fotoperiodo, el ciclo de vida tiende a alargarse a medida que aumenta el tiempo de exposición a la luz, indicando que este

factor también es determinante en la duración del ciclo de vida.

La correlación entre el tiempo de exposición lumínica y la concentración de ácido carmínico fue significativa ($p < 0.0001$), con un coeficiente de Pearson de 0,98; lo que indica, y como se puede apreciar en la Figura 3, que existe una alta correlación entre las variables fotoperiodo y concentración de ácido carmínico, lo que quiere decir que cuando una de ellas aumenta, en este caso el fotoperiodo, la otra también lo hace en forma directamente proporcional. Este comportamiento se aprecia hasta las 16 h diarias de luz dentro del rango de luz visible, con fotoperiodos mayores a las 16 h diarias (datos no mostrados) encontramos que los insectos son incapaces de completar su desarrollo y por ende no se puede determinar su concentración de ácido carmínico.

Ahora bien, si se desea una menor duración del ciclo de vida desde la infestación hasta la madurez para la cosecha, debemos evitar el contacto del insecto con la luz, mientras que si lo que se busca

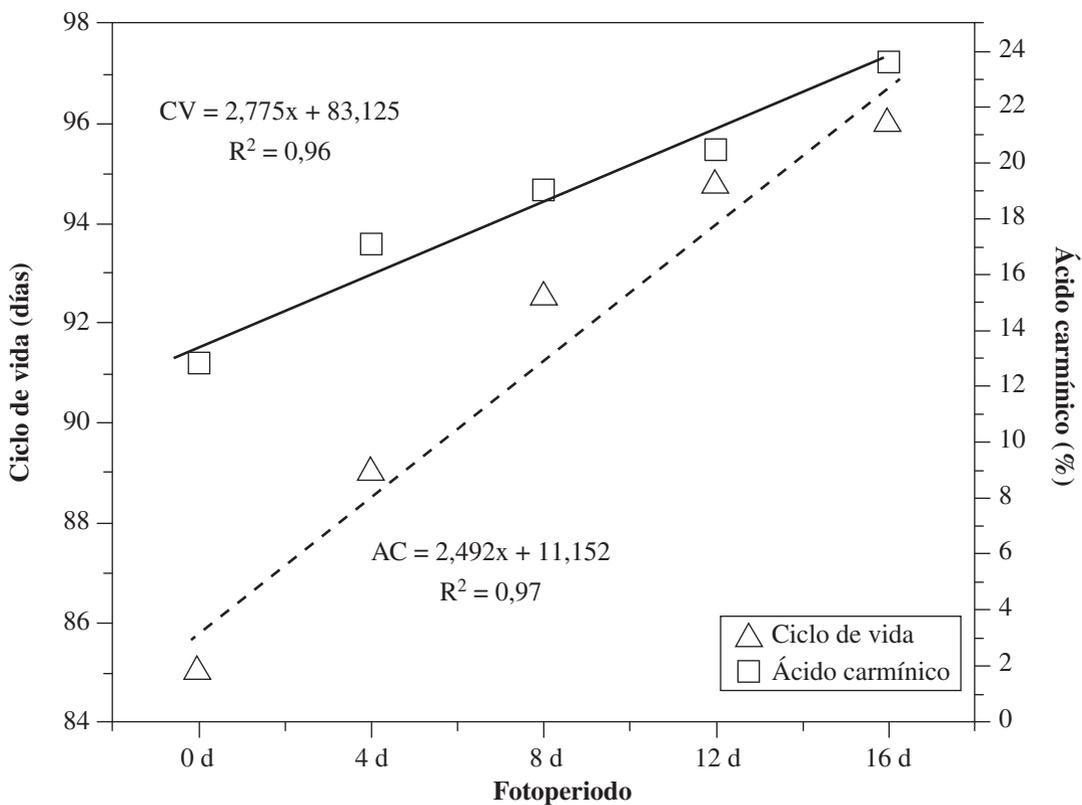


Figura 3. Correlación entre el fotoperiodo y la duración del ciclo de vida y concentración de ácido carmínico de *Dactylopius coccus* a 27,5±2,5 °C de temperatura y 50±10% de humedad relativa. CV=Ciclo de vida, AC=Acido carmínico.

Tabla 1. Calificación de calidad según concentración de ácido carmínico y número de cosechas anuales de *Dactylopius coccus* posibles por fotoperiodo, bajo condiciones de $27,5 \pm 2,5$ °C de temperatura y $50 \pm 10\%$ de humedad relativa.

Fotoperiodo	Ac. Carmínico (%)	Calidad ¹	N° de días	N° de cosechas
0 h	12.88	Segunda	88	4
4 h	17.10	Segunda	90	4
8 h	19.03	Segunda	92	4
12 h	20.48	Primera	90	4
16 h	23.65	Primera	94	4

¹ Clasificación de acuerdo a Flores-Flores y Tekelenburg (1995).

es una mayor concentración de ácido carmínico, se debe aumentar la exposición lumínica del rango de luz visible hasta las 16 h diarias. Desde el punto de vista productivo ambas variables son de vital importancia, debido a que con una menor duración del ciclo de vida, existe la oportunidad de tener un mayor número de cosechas por año, mientras que por otro lado una mayor concentración de ácido carmínico permite obtener mejores calidades (Tabla 1) y por ende acceder a mejores precios en el mercado del ácido carmínico.

De acuerdo con Flores-Flores y Tekelenburg (1995), 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%. En el presente estudio los tratamientos de 16 y 18 h superaron el límite de 18% y los demás (0, 4 y 8 h) se pueden clasificar dentro de la calidad segunda.

Con los resultados obtenidos nos enfrentamos a una disyuntiva; optar a una mayor concentración de ácido carmínico aumentando el tiempo de ciclo de vida o viceversa, desde el punto de vista comercial la mejor alternativa sería aumentar el tiempo de vida de los insectos con tal de obtener una mayor concentración de ácido carmínico, ya que podríamos tener en cualquiera de los tratamientos la posibilidad

de hasta cuatro cosechas anuales, como se puede apreciar en la Tabla 1.

Conclusiones

La radiación de luz visible (400-700 nm) tiene un efecto positivo sobre la concentración de ácido carmínico en los cuerpos de las hembras de grana cochinilla, ya que al aumentar el tiempo de exposición lumínica diaria aumenta su concentración de ácido carmínico, no obstante también prolonga el ciclo de vida del insecto.

El efecto de la luz artificial dentro del rango de luz visible tiene por resultado que, con fotoperiodos desde 0 hasta 16 horas de luz diarias, dentro del rango de luz visible, se puede lograr tener hasta cuatro cosechas anuales. Al desarrollar la grana cochinilla en ausencia de luz se logra disminuir el ciclo de vida del insecto hasta en seis días. Al someter los insectos a condiciones de estrés lumínico dentro del rango de luz visible este retrasa su tiempo de desarrollo. Al someter durante su desarrollo a la grana cochinilla a un fotoperiodo de 16 horas diarias de luz, dentro del rango visible, su concentración de ácido carmínico puede llegar hasta un 23,65% valor rara vez registrado en producciones comerciales. Al someter durante su desarrollo a la grana cochinilla a un fotoperiodo de 20 horas diarias de luz dentro del rango visible esta es incapaz de completar su ciclo de vida.

Literatura Citada

- Aldama-Aguilera, C.; Llanderal-Cázares, C.
2003. Grana cochinilla: Comparación de métodos de producción en penca cortada. *Agrociencia*, 37(1): 11-19.
- Aldama-Aguilera, C.; Llanderal-Cázares, C.; Soto-Hernández, M.; Castillo-Márquez, L.
2005. Producción de Grana-Cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) en plantas de nopal a la intemperie y en microtúneles. *Agrociencia*, 38(2): 161-171.
- Campos-Figueroa, M.; Llanderal-Cázares, C.
2003. Producción de grana cochinilla *Dactylopius coccus* (Homoptera: *Dactylopiidae*) en invernadero. *Agrociencia*, 37 (2): 149-155.
- Cook, L.G.; Gullan, P.J.
2004. The gall-inducing habit has evolved multiple times among the eriococcid scale insects (Sternorrhyncha: Coccoidea: Eriococcidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 83: 441-452.

- Díaz, J.A.; Ávila, L.M.
2002. Sondeo del mercado de Cochinilla (*Coccuscacti*). Bogotá, Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos "Alexander Von Humboldt". 28 pp.
- Diodato, L.; Fuster, A.; de Galindez, M.J.
2009. Infestaciones inducidas de grana-cochinilla *Dactylopius coccus* Costa (Homoptera, Dactylopiidae), en la provincia de Santiago del Estero, Argentina. *Quebracho* (Santiago del Estero), 7 (1): 52-57.
- Flores, A.; Murillo, B.; Rueda, O.; Cruz, J.; García, J.L.; Troyo-Diéguez, E.
2006. Reproduction of wild cocinela *Dactylopius opuntiae* (Homoptera: Dactylopiidae). *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 77: 97-102.
- Flores-Flores V.; Tekelenburg, A.
1995. Dacty (*Dactylopius coccus* Costa) dye production. In: FAO Plant Production and Protection Paper 132 (Ed.). Agroecology, Cultivation and Uses of Cactus Pear (pp. 167-185). Rome, Italy.
- Lländler, C.; Campos, M.
2001. *Sistemas de producción de la grana cochinilla*. En: C. Lländler y R. Nieto (eds.). Producción de Grana Cochinilla. (pp. 61-67). Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 140 pp.
- Marín, R.; Cisneros, F.
1983. Factores que deben considerarse en la producción de la "cochinilla del carmín" *Dactylopius coccus* (Costa) en ambientes mejorados. *Rev. Per. Entomol.* 26 (1): 81-83.
- Méndez, S.J.
2001. Cultivo y manejo de la grana cochinilla. In: Producción de Grana Cochinilla. Lländler C., y R. Nieto. (eds.). Colegio de Postgraduados (pp. 69-77). Montecillo, México.
- Méndez, S.; Aquino, G.; Martínez, J.
1994. El cultivo de la grana-cochinilla en el Altiplano Potosino-Zacatecano. *Agroproductividad*, 2: 7-14.
- Méndez-Gallegos, S.; Tarango-Arámbula, L.A.; Magallanes-Quintar, R.; Carnero-Hernández, A.; Blanco-Macias, F.; Valdez-Cepeda, R.D.
2014. Influencia del fotoperiodo sobre algunos parámetros demográficos y calidad de la cochinilla (*Dactylopius coccus*). *Agro Productividad*, 7 (3): 34-41.
- Méndez-Gallegos, S.; Panzavolta, T.; Tiberi, R.
2003. Carmine cochineal *Dactylopius coccus* Costa (Rhynchota: Dactylopiidae): Significance, production and use. *Adv. Hort. Sci.* 17 (3): 165-171.
- Méndez-Gallegos, S.; Tarango-Arámbula, L.; Carnero, A.; Tiberi, R.; Díaz-Gómez, O.
2010. Crecimiento poblacional de la cochinilla *Dactylopius coccus* Costa criada en cinco cultivares de nopal *Opuntia ficus-indica* Mill. *Agrociencia*, 44(2): 225-234.
- Pérez, M.; Becerra, R.
2001. Nocheztli; el insecto del rojo carmín. CONABIO, *Biodiversitas*, 6(36): 1-9.
- Rodríguez, L.; Faúndez, E.; Seymour, J.; Escobar, C.; Espinoza, L.; Petroutsa, M.; Ayres, A.; Niemeyer, H.
2005. Factores bióticos y concentración de ácido carmínico en la cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) (Homoptera: Dactylopiidae). *Agricultura Técnica* (Chile), 65(3): 323-329.
- Vigueras, A.; Portillo, L.
2001. Factores limitantes en el cultivo de la grana cochinilla. En: C. Lländler y R. Nieto (eds.). Producción de Grana Cochinilla. (pp. 79-91). Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 140 pp.
- Zar, J.H.
2006. *Biostatistical analysis*. New Jersey, USA: Prentice-Hall Inc. 5th edition, Englewood Cliffs.
- Zimmerman, C.E.
1988. Control of prickly pear farming in South Africa weeds. B. 1.1/1989. Government Printer, Pretoria. 2 p.