

Rearing of *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae) in prickly pear cladodes to increase its predators

Cría de *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae) en cladodios de nopal para incrementar a sus depredadores

Wolph R. S. Paul-Fils¹; Nadia S. Gómez-Domínguez²; Esteban Rodríguez-Leyva²; J. Refugio Lomeli-Flores²; Mercedes Muraira-Soto¹

¹Instituto Tecnológico de la Cuenca del Papaloapan, Av. Tecnológico núm. 21, C. P. 68446, San Bartolo Tuxtepec, Oaxaca.

²Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Fitosanidad, Entomología y Acarología, Carretera México-Texcoco, km 36.5, Montecillo, Texcoco Estado de México. C.P. 56230.

*Corresponding author: salome.gomez@yahoo.com.mx

Abstract

The wild cochineal, *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae), is the most important pest of the *Opuntia* genus, and especially affects the most cultivated species around the world, that is, *O. ficus-indica*. Currently, there is an interest at national and international levels on biological control programs of this pest; therefore, rearing of this insect is essential to be used in studies on maintenance of its predators. This study evaluated five levels (treatments) of *D. opuntiae* infestation on cladodes of *O. ficus-indica* under environmental conditions of 27 ± 4 °C, 55 % Relative Humidity, and a photoperiod of 12/12 Light/Dark. The treatments were applied using first instar nymphs: T1, 1000 nymphs, T2, 2000 nymphs, T3, 3000 nymphs, T4, 4000 nymphs, and T5, 10 adult reproductive females. After 45 days, the highest number of colonies (654) per cladode corresponded to T4. The higher fresh weight of *D. opuntiae* females belongs to T1, T2, and T3 with an average of 0.026 g per female; nonetheless, the treatment with the highest fresh weight per cladode was T4 (12.89 g); it means 77 cladodes can produce 1 kg of *D. opuntiae* in fresh.

Keywords: *Opuntia ficus-indica*, wild cochineal, biological control, natural enemies.

Resumen

La cochinilla silvestre del nopal, *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae), es la plaga más importante del género *Opuntia* y afecta frecuentemente a la especie más cultivada en el mundo, *O. ficus-indica*. Actualmente, un interés a nivel nacional e internacional existe para iniciar programas de control biológico; por lo tanto, la crianza de este insecto es indispensable para ser usado en estudios que impulsen el mantenimiento de las colonias de sus depredadores. En este trabajo se evaluaron cinco niveles de infestación (tratamientos) de *D. opuntiae* en cladodios de *O. ficus-indica* en condiciones ambientales de 27 ± 4 °C, 55 % de Humedad Relativa y fotoperiodo de 12/12 Luz/Oscuridad. Los tratamientos involucraron ninfas de primer instar: T1, 1000 ninfas, T2, 2000 ninfas, T3, 3000 ninfas, T4, 4000 ninfas y T5, 10 hembras adultas reproductivas. Después de 45 días, el número mayor de colonias establecidas (i.e. 654) en el cladodio se logró con el T4. El peso fresco mayor de las hembras de *D. opuntiae* se asoció a T1, T2 y T3 con un promedio de 0.026 g por hembra; no obstante, el tratamiento con mayor peso fresco por cladodio fue T4 (12.89 g); por lo tanto, 77 cladodios serían necesarios para producir 1 kg de *D. opuntiae* en fresco.

Palabras clave: *Opuntia ficus-indica*, cochinilla silvestre, control biológico, enemigos naturales.



Introduction

The wild cochineal, *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) (Hemiptera: Dactylopiidae), is a scale insect probably native to Mexico (Carneiro-Leão, Vieira Tiago, Vieira Medeiros, Costa, & Tinti de Oliveira, 2017). This insect evolutionarily established a specific phytophagous relationship on cacti of the genus *Opuntia* (Caryophyllales: Cactaceae) (Chávez-Moreno, Tecante, Casas, & Claps, 2011). This insect is the main pest of the most important cultivated *Opuntia* species in the world, *O. ficus-indica* L. (Mill.). As a primary pest in Mexico (Vanegas-Rico, Lomeli-Flores, Rodríguez-Leyva, Mora-Aguilera, & Valdez, 2010), the wild cochineal has been distributed to several countries such as Brazil (Oliveira, Auad, Mendes, & Frizzas, 2013). The wild cochineal has become one of the most important phytosanitary problems of forage cactus and prickly pear cactus in marginal regions of more than ten countries in the Mediterranean basin (Mazzeo, Nucifora, Russo, & Suma, 2019).

Opuntia ficus-indica native to central and south of Mexico (Griffith, 2004) is severely attacked by *D. opuntiae*, especially in cultivated areas. Several tactics of cultural, mechanical, chemical control and application of mineral oils, detergents and plant extracts have been tested (Rangel-Estrada, Ramírez-Rojas & Osuna-Canizalez, 2013); however; the use of organosynthetic pesticides is still one of the most common control tactics (Badii & Flores, 2001). In response to this problem and restrictions on the use of pesticides (Ortíz, Ávila-Chávez & Torres, 2013), new proposals have been developed to implement them for the controlled management of this pest. For this reason, several years ago, studies and proposals on biological control with the natural enemies of this insect were developed in Mexico and the world (Vanegas-Rico et al., 2010; 2017; Cruz-Rodríguez, González-Machorro, Villegas-González, Rodríguez-Ramírez, & Mejía-Lara, 2016).

Natural enemies of *D. opuntiae* are only predators (Vanegas-Rico et al., 2010). Mexico is the country with the largest number of natural enemy species recorded (13 insect species in different families), but three of them are considered the most important because of their frequency, abundance, specificity, voracity, and other biological and ethological characteristics. These species are *Leucopis bellula* Williston (Diptera: Chamaemyiidae), *Hyperaspis trifurcata* Schaeffer (Coleoptera: Coccinellidae) and *Laetilia coccidivora* (Comstock) (Lepidoptera: Pyralidae) (Gilreath & Smith, 1988; Vanegas-Rico et al., 2010; 2017, Rodríguez-Leyva, Lomeli-Flores & Vanegas-Rico, 2010).

The only way to maintain any rearing of the three predatory species mentioned above is to use their

Introducción

La cochinilla silvestre del nopal, *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) (Hemiptera: Dactylopiidae), es un insecto escama probablemente originario de México (Carneiro-Leão, Vieira Tiago, Vieira Medeiros, Costa, & Tinti de Oliveira, 2017). Este insecto estableció evolutivamente una relación fitófaga específica sobre cactáceas del género *Opuntia* (Caryophyllales: Cactaceae) (Chávez-Moreno, Tecante, Casas, & Claps, 2011). Este insecto es la plaga principal de la especie *Opuntia* cultivada y más importante en el mundo, *O. ficus-indica* L. (Mill.). Como plaga primaria en México (Vanegas-Rico, Lomeli-Flores, Rodríguez-Leyva, Mora-Aguilera, & Valdez, 2010), la cochinilla se ha distribuido a varios países como Brasil (Oliveira, Auad, Mendes, & Frizzas, 2013). La cochinilla se ha convertido en uno de los problemas fitosanitarios más importantes del nopal forrajero y tunero en regiones marginales de más de una decena de países en la cuenca del Mediterráneo (Mazzeo, Nucifora, Russo, & Suma, 2019).

La especie *Opuntia ficus-indica*, originaria del centro y sur de México (Griffith, 2004), es atacada severamente por *D. opuntiae* sobre todo en las áreas cultivadas. Varias tácticas de control cultural, mecánico, químico y aplicación de aceites minerales, detergentes y extractos vegetales se han ensayado (Rangel-Estrada, Ramírez-Rojas & Osuna-Canizalez, 2013); no obstante; el uso de insecticidas organosintéticos sigue siendo una de las tácticas de control más comunes (Badii & Flores, 2001). Ante esa problemática y las restricciones del uso de plaguicidas (Ortíz, Ávila-Chávez & Torres, 2013), nuevas propuestas se han buscado para implementarlas en el manejo integrado de esta plaga. Por esta razón, desde hace varios años se iniciaron estudios y propuestas de control biológico con los enemigos naturales de este insecto en México y en el mundo (Vanegas-Rico et al., 2010; 2017; Cruz-Rodríguez, González-Machorro, Villegas-González, Rodríguez-Ramírez, & Mejía-Lara, 2016).

Los enemigos naturales de *D. opuntiae* son solo depredadores (Vanegas-Rico et al., 2010). México es el país donde se ha registrado el mayor número de especies enemigas naturales (13 especies de insectos en distintas familias), pero tres de ellas se consideran los más importantes por su frecuencia, abundancia, especificidad, voracidad y otras características biológicas y etológicas. Dichas especies son *Leucopis bellula* Williston (Diptera: Chamaemyiidae), *Hyperaspis trifurcata* Schaeffer (Coleoptera: Coccinellidae) y *Laetilia coccidivora* (Comstock) (Lepidoptera: Pyralidae) (Gilreath & Smith, 1988; Vanegas-Rico et al., 2010; 2017, Rodríguez-Leyva, Lomeli-Flores & Vanegas-Rico, 2010).

La única manera de mantener cualquier cría de las tres especies depredadoras señaladas consiste en usar su

natural diet, i.e., *D. opuntiae* (Vanegas-Rico et al., 2016). *Hyperaspis trifurcata* specimens can have a good development when they have a mixed diet including the different developmental stages of their prey (Vanegas-Rico et al., 2016). International studies on *D. opuntiae* predators are increasing because biological control proposals are needed, therefore, knowledge of how to maintain the rearing of these predators in their natural diet is fundamental (Vanegas-Rico et al., 2016; Mendel, Protasov, Vanegas-Rico, Lomeli-Flores, Suma, & Rodríguez-Leyva, 2020). Specific information on *D. opuntiae* rearing and production has only been reported in a very general way (Flores-Hernández, Murillo Amador, Rueda Puente, Salazar Torres, García-Hernández, & Troyo-Diéguez, 2006). The necessary quantities of cladodes to obtain a specific amount of wild cochineal (Gómez & Dávila, 1990) have been omitted. Therefore, the objective of this study was to develop the basis for a method of reproduction of *D. opuntiae* that could be useful for mass reproduction of its predators by evaluating different levels of wild cochineal infestation on cladodes of prickly pear (*Opuntia ficus-indica*).

Materials and Methods

This study was carried out in the biological control laboratory at Colegio de Postgraduados (CP), Montecillo, Texcoco, Estado de México (19° 29' N and 98° 54' W, and altitude of 2250 m) under controlled environmental conditions at 27 ± 4 °C, 55 % Relative Humidity and 12:12 Light/Dark.

Preparation of cladodes

Cladodes of *Opuntia ficus-indica* cv “Atlixco” of 24 months of age with uniform sizes (33 ± 4 cm long, 22 ± 4 cm wide and 2.5 ± 0.5 cm thick) were collected in Teotihuacán and Texcoco (CP, Campus Montecillo), Mexico, and in Tlalnepantla, Morelos. Cladodes were transported in plastic grids to the biological control laboratory, brushed and washed to remove any infestation of *Dactylopius* spp. Subsequently, a copper sulfate solution was applied to them to prevent the presence of bacteria and fungi, finally, cladodes were left to scar for 10 days (Palafox-Luna, Rodríguez-Leyva, Lomeli-Flores, Viguera-Guzmán, & Vanegas-Rico, 2018). Once the cladodes were healed, they were pierced with a wooden stake at the base and allowed to heal for three days, hung vertically using a metal wire. The cladodes were spaced 10 cm apart on blocks. Each block was spaced 50 cm apart in the rearing chamber.

Method of infestation and treatments

Broodstock of *D. opuntiae* was provided by the Biological Control Laboratory of Colegio Postgraduados. Five levels

dieta natural, es decir, *D. opuntiae* (Vanegas-Rico et al., 2016). Los especímenes de *Hyperaspis trifurcata* pueden tener un buen desarrollo cuando disponen de una dieta mixta con los diferentes estados de desarrollo de su presa (Vanegas-Rico et al., 2016). Los estudios internacionales sobre los depredadores de *D. opuntiae* aumentan debido a la necesidad de hacer propuestas de control biológico, por lo tanto, el conocimiento sobre cómo mantener las crías de esos depredadores en su dieta natural es indispensable (Vanegas-Rico et al., 2016; Mendel, Protasov, Vanegas-Rico, Lomeli-Flores, Suma, & Rodríguez-Leyva, 2020). Información específica sobre la cría de *D. opuntiae* y para producirla solo se ha descrito de manera muy general (Flores-Hernández, Murillo Amador, Rueda Puente, Salazar Torres, García-Hernández, & Troyo-Diéguez, 2006). Además, las cantidades necesarias de cladodios para obtener una cantidad específica de cochinilla silvestre del nopal (Gómez & Dávila, 1990) han sido omitidas en dicha información. Por consiguiente, el objetivo de este trabajo fue desarrollar las bases de un método de reproducción de *D. opuntiae* que pueda ser útil para la cría masiva de sus depredadores mediante la evaluación de niveles diferentes de infestación de cochinilla silvestre en cladodios de nopal (*Opuntia ficus-indica*).

Materiales y métodos

Este trabajo se realizó en el laboratorio de control biológico del Colegio de Postgraduados (CP), Montecillo, en Texcoco, Estado de México (19° 29' N y 98° 54' O, y altitud de 2250 m) en condiciones ambientales controladas a 27 ± 4 °C, 55 % Humedad Relativa y 12:12 Luz/Oscuridad.

Preparación de cladodios

Pencas o cladodios de *Opuntia ficus-indica* cv “Atlixco” de 24 meses de edad con tamaños uniformes (33 ± 4 cm de largo, 22 ± 4 cm de ancho y 2.5 ± 0.5 cm de grosor) fueron colectadas en Teotihuacán y Texcoco (CP, Campus Montecillo), México, así como en Tlalnepantla, Morelos. Los cladodios se transportaron en rejillas plásticas al laboratorio de control biológico, se cepillaron y lavaron para eliminar cualquier infestación de *Dactylopius* spp. Posteriormente se les aplicó una solución de sulfato de cobre para prevenir la presencia de bacterias y hongos, finalmente, los cladodios se dejaron cicatrizar durante 10 días (Palafox-Luna, Rodríguez-Leyva, Lomeli-Flores, Viguera-Guzmán, & Vanegas-Rico, 2018). Una vez cicatrizados los cladodios se perforaron con una estaca de madera en la base y se permitió que cicatrizaran durante tres días, colgados verticalmente mediante un alambre metálico. Los cladodios se acomodaron a un distanciamiento de 10 cm en bloques. Cada bloque estuvo separado a 50 cm entre sí en la cámara de cría.

of infestation with first instar nymphs were evaluated according to the method of Aguilera and Cázares (2003). One of these levels was considered as a regional control (T5, infestation of 10 *D. opuntiae* females without age control). The treatments were: T1 = 1000 nymphs, T2 = 2000 nymphs, T3 = 3000 nymphs, T4 = 4000 nymphs and T5 = 10 reproductive adult females. An absolute control (T6, no wild cochineal infestation) was included. Each treatment had a total of ten replicates. The blocks or replicates depended on the abundance of material.

To infest with the number of nymphs in each treatment, preliminary experiments were carried out. Their results determined that 1000 migrant (first instar) nymphs occupied a volume of 50 μ L; at least seven replicates were conducted and the volume ratio per thousand nymphs (1000 ± 50) was determined. Nymphs from the different treatments were placed in the cladodes using paper bags (opaline), with the top open so that the nymphs could move freely. These bags were taped to the cladodes with adhesive tape to facilitate nymph dispersal. After 24 h of exposure, the bags with the different treatments were removed.

Wild cochineal production and data analysis

The time of the biological cycle was determined by counting the days elapsed between the date of infestation and the date of the first oviposition females. When *D. opuntiae* females were detected on the cladodes of each treatment, the following variables were measured: a) Number of total colonies (nymphs n3) per cladode taking into account both sides; b) Average fresh weight of ten *D. opuntiae* females collected randomly on both sides of the cladode (a SCIENTECH® precision analytical balance was used to weigh them) c) Percentage of areas infested by *D. opuntiae* in the cladodes (cladode infestation level) using a photographic record and the program "Image-J 1.x" (Schneider, Rasband & Eliceiri, 2012) following the method of Vanegas-Rico et al. (2010); and d) Cladode fresh weight loss. This last variable was determined by the difference between initial and final weights. Data were analyzed using the Statistix® software version 8.1 (2006) by analysis of variance and Tukey's mean comparison test (≤ 0.05) for a randomized complete block design.

Results and Discussion

The duration of the biological cycle from first instar nymph to adult was 45 days in all treatments. This duration is similar to that estimated by Ochoa, Lobos, Portillo & Viguera (2015), who indicated that the life cycle of *D. opuntiae* ranged from 40 to 180 days depending on temperature. First instar nymphs began

Método de infestación y tratamientos

El pie de cría de *D. opuntiae* fue proporcionado por el Laboratorio de Control Biológico del Colegio Postgraduados. Cinco niveles de infestación con ninfas de primer instar se evaluaron de acuerdo con el método de Aguilera y Cázares (2003). Uno de estos niveles se consideró como testigo regional (T5, la infestación de 10 hembras de *D. opuntiae* sin control de edad). Los tratamientos fueron: T1 = 1000 ninfas, T2 = 2000 ninfas, T3 = 3000 ninfas, T4 = 4000 ninfas y T5 = 10 hembras adultas reproductivas. Además, un testigo absoluto (T6, sin infestación de cochinilla) fue incluido. Cada tratamiento tuvo un total de diez repeticiones. Los bloques o repeticiones dependieron de la abundancia de material.

Para poder infestar con el número de ninfas en cada tratamiento se realizaron ensayos preliminares. Sus resultados determinaron que 1000 ninfas migrantes (de primer instar) ocupaban un volumen de 50 μ L; al menos siete repeticiones se realizaron y la relación de volumen por cada mil ninfas (1000 ± 50) fue determinada. Las ninfas de los diferentes tratamientos se colocaron en los cladodios mediante bolsas de papel (opalina), con la parte superior abierta para que las ninfas pudieran salir libremente. Estas bolsas se pegaron a los cladodios con cinta adhesiva para facilitar la dispersión de las ninfas. Después de 24 h de exposición, las bolsas de los diferentes tratamientos se retiraron.

Producción de cochinilla y análisis de datos

La duración del ciclo biológico se determinó contando los días transcurridos entre la fecha de infestación y la fecha en que se observaron las primeras hembras en oviposición. Cuando había hembras en los cladodios de cada tratamiento se midieron las variables: a) Número de colonias (ninfas n3) totales por cladodio tomando en cuenta ambas caras; b) Peso fresco promedio de diez hembras de *D. opuntiae* colectadas al azar en ambas caras del cladodio (una balanza analítica de precisión SCIENTECH® se utilizó para pesarlas) c) Porcentaje de las áreas infestadas por *D. opuntiae* en los cladodios (nivel de infestación del cladodio) mediante un registro fotográfico y el programa "Image-J 1.x" (Schneider, Rasband & Eliceiri, 2012) siguiendo el método de Vanegas-Rico et al. (2010); y d) Pérdida de peso fresco del cladodio. Esta última variable se determinó mediante la diferencia entre pesos iniciales y finales. Los datos se analizaron usando el programa Statistix® software versión 8.1 (2006) mediante un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias de Tukey (≤ 0.05) para un diseño de bloques completos al azar.

to produce wax immediately after attaching to the cladode and it was not possible to differentiate sexes based on morphological characteristics. This had already been mentioned by other authors (Palafox-Luna et al., 2018).

Number of colonies

The number of colonies per cladodes was different among treatments ($F_{5, 49} = 11.85$, $P \leq 0.001$; Table 1) An average of 654.67 colonies per cladode corresponded to treatment T4, which was significantly higher than the other treatments, which were statistically not different from each other. The number of colonies associated with T4 is higher than those reported by other authors in the production of grana mealybug *D. coccus* Costa. For example, Tovar, Pando-Moreno and Garza (2005) and Campos-Figueroa and Llanderal-Cázares (2003) estimated 194 and 222 per cladode, respectively. T5 (277.2 ± 69.3 colonies per cladode) had a similar result to that estimated by Aguilera and Cázares (2003) for *D. coccus* (279 colonies per cladode) as the best infestation method. It is worth noting that only in the species *D. coccus* are infestation percentages or number of females evaluated due to the economic interest of carmine production, while in other species such as *D. austrinus*, *D. ceylonicus* and *D. tomentosus* the number of first instar nymphs obtained is evaluated (Hosking, 1984; Sullivan, 1990; Mathenge, Holford, Hoffmann, Spooner-Hart, Beattle, & Zimmermann, 2009); this is due to their use as biological control agents of cacti. Therefore, the results of this study can only focus on the production of *D. coccus* (quantified based on weight and number of insects and number of infested cladodes) as the

Resultados y discusión

La duración del ciclo biológico desde ninfa de primer instar a adulto, fue de 45 días en todos los tratamientos. Esta duración es similar a la estimada por Ochoa, Lobos, Portillo & Vigueras (2015), quienes indicaron que el ciclo biológico de *D. opuntiae* oscilaba entre 40 y 180 días dependiendo de la temperatura. Las ninfas de primer instar comenzaron a producir cera inmediatamente después de fijarse al cladodio y no fue posible diferenciar sexos por medio de características morfológicas. Esto ya se había mencionado por otros autores (Palafox-Luna et al., 2018).

Número de colonias

El número de colonias presentes en los cladodios difirió entre tratamientos ($F_{5, 49} = 11.85$, $P \leq 0.001$; Cuadro 1). Al tratamiento T4 corresponde un promedio de 654.67 colonias por cladodio, cifra mayor de manera significativa a la del resto de tratamientos, los cuales fueron estadísticamente no diferentes entre sí. El número de colonias que se asocia a T4 es mayor que los consignados por otros autores en la producción de grana cochinilla *D. coccus* Costa. Por ejemplo, Tovar, Pando-Moreno y Garza (2005) y Campos-Figueroa y Llanderal-Cázares (2003) estimaron 194 y 222 por cladodio, respectivamente. El T5 (277.2 ± 69.3 colonias por cladodio) presentó un resultado similar al estimado por Aguilera y Cázares (2003) en *D. coccus* (279 colonias por cladodios) como mejor método de infestación. Lo que merece resaltarse es que solo en la especie *D. coccus* se evalúan porcentajes de infestación o número de hembras debido al interés económico de producción

Table 1. Number of *Dactylopius opuntiae* colonies established on cladodes of *Opuntia ficus-indica*, average weight per female and cladode weight loss associated with treatments under environmental conditions of 27 ± 4 °C, 55 % RH and 12:12 L/D.

Cuadro 1. Número de colonias de *Dactylopius opuntiae* establecidas en cladodios de *Opuntia ficus-indica*, peso promedio por hembra y pérdida de peso del cladodio asociadas a los tratamientos en condiciones ambientales de 27 ± 4 °C, 55 % HR y 12:12 L/O.

Treatments / Tratamientos	Number of colonies / Número de Colonias	Average weight per female (g) / Peso promedio por hembra (g)	Cladode weight loss (g) / Pérdida de peso del cladodio (g)
T1	153.40 \pm 53.8 b	0.0263 \pm 0.002 a	213.3 a
T2	230.10 \pm 53.8 b	0.0261 \pm 0.002 a	225.2 a
T3	330.70 \pm 53.8 b	0.0261 \pm 0.002 a	239.7 a
T4	654.67 \pm 69.4 a	0.0197 \pm 0.002 b	283.1 a
T5	277.20 \pm 53.8 b	0.0137 \pm 0.002 b	189.1 a
T0	N/A c	N/A c	154.2 a

T1 = Infestation with 1000 nymphs; T2 = Infestation with 2000 nymphs; T3 = Infestation with 3000 nymphs; T4 = Infestation with 4000 nymphs; and T5 = Infestation with 10 reproductive adult females, control with traditional tulle nest infestation method. T0 = No infestation, absolute control. Means with different letters are significantly different (Tukey at $P \leq 0.05$).

T1 = Infestación con 1000 ninfas; T2 = Infestación con 2000 ninfas; T3 = Infestación con 3000 ninfas; T4 = Infestación con 4000 ninfas; y T5 = Infestación con 10 hembras adultas reproductivas, testigo con método de infestación tradicional en nido de tul. T0 = Sin infestación, testigo absoluto. Medias con letras distintas son diferentes significativamente (Tukey a $P \leq 0.05$).

species of the genus that can be used as a reference, emphasizing that differences in female size and infestation capacity are known.

Mean weight of *Dactylopius opuntiae* females

The average weight of *D. opuntiae* females was different among treatments ($F_{5, 49} = 23.37$, $P \leq 0.0001$; Table 1). The lowest values of average weight per female were associated with T4 (0.0197 g) and T5 (0.0137 g). While the values of the remaining three treatments showed no differences among them (0.026 ± 0.002 g). The combination of the higher average weight (0.026 g) corresponding to T3 multiplied by the average number of females per cladode obtained could lead to a yield of 8.64 g of wild cochineal per cladode. Therefore, 1 kg of fresh wild cochineal would require the infestation of 116 cladodes. This result is similar to that of Aguilera and Cázares (2003), who obtained 8.62 g of fine cochineal (*D. coccus*) per cladode and a total of 116 cladodes would be necessary to produce 1 kg of fine cochineal infested with ten females of *D. coccus* applying the tulle nest technique (method used in T5 of this study). Treatment T4 had a lower average weight per female (0.0197 ± 0.002 g) than the first three treatments. However, when multiplying this value by the average number of females per cladode in this treatment, the potential yield would be 12.89 g per cladode. In this case, to produce 1 kg of fresh *D. opuntiae*, 77 cladodes of *O. ficus-indica* would be needed on average, i.e., 39 cladodes less compared to T3 to produce the same amount of fresh food to supply and maintain the predators of *D. opuntiae*.

Cladode weight loss

All cladodes, without exception of treatments, lost weight, including the controls (Table 1). Although a tendency to lose more weight was evident in cladodes with higher *D. opuntiae* infestation, the difference by treatment effect was not significant ($F_{5,49} = 1.88$, $p \leq 0.1145$). So far, it is unknown if there are studies related to water loss in cladodes and its effect on *Dactylopius* spp. rearing.

Percentage of infestation

The degree of infestation on both sides of the cladode (letters a and b) for each treatment can be seen in Figure 1. T4 had the highest degree of infestation (18.52 %). This treatment caused infestation level 5 of the scale proposed by Vanegas-Rico et al. (2010). Healthy and mature cladodes, such as those used in these experiments, can probably withstand a higher infestation level. Therefore, it is recommended to keep increasing the number of nymphs during the initial infestation; thus, it could be possible to induce a larger number of colonies and higher fresh weight of *D. opuntiae* with the same resource.

de carmín, mientras que en otras especies como y *D. austrinus*, *D. ceylonicus* y *D. tomentosus* se evalúa el número de ninfas de primer instar obtenidas (Hosking, 1984; Sullivan, 1990; Mathenge, Holford, Hoffmann, Spooner-Hart, Beattle, & Zimmermann, 2009); esto se debe a su uso como agentes de control biológico de cactáceas. Por lo tanto, los resultados de este estudio solo pueden enfocarse a la producción de *D. coccus* (cuantificada con base en peso y número de insectos y número de cladodios infestados) como la especie del género que puede usarse como referente haciendo un énfasis en que se conocen diferencias respecto a tamaño de hembras y capacidad de infestación.

Peso promedio de hembras de *Dactylopius opuntiae*

El peso promedio de las hembras de *D. opuntiae* fue diferente entre los tratamientos ($F_{5, 49} = 23.37$, $P \leq 0.0001$; Cuadro 1). Los valores menores de peso promedio por hembra se asociaron a T4 (0.0197 g) y T5 (0.0137 g). Mientras que los valores de los tres tratamientos restantes no difirieron entre ellos (0.026 ± 0.002 g). La combinación del peso promedio mayor (0.026 g) correspondiente a T3 multiplicado por el número promedio de hembras por cladodio obtenido podría conllevar a un rendimiento de 8.64 g de cochinilla por cladodio. Por lo tanto, la obtención de 1 kg de cochinilla silvestre fresca requeriría la infestación de 116 cladodios. Este resultado es similar al de Aguilera y Cázares (2003), quienes obtuvieron 8.62 g de cochinilla fina (*D. coccus*) por cladodio y un total de 116 cladodios sería necesario para producir 1 kg de cochinilla fina infestando con diez hembras de *D. coccus* aplicando la técnica con nido de tul (método que se usó en el T5 de este trabajo). El tratamiento T4 presentó un peso promedio por hembra menor (0.0197 ± 0.002 g) que los primeros tres tratamientos. Sin embargo, al multiplicar este valor por el número promedio de hembras por cladodio en este tratamiento, el rendimiento potencial sería de 12.89 g por cladodio. En este caso, para producir 1 kg de *D. opuntiae* fresca se necesitarían 77 cladodios de *O. ficus-indica* en promedio, es decir, se ocuparían 39 cladodios menos que en el caso de T3 para producir la misma cantidad de alimento fresco para suministrar y mantener así a los depredadores de *D. opuntiae*.

Pérdida de peso de los cladodios

Todos los cladodios, sin excepción de tratamientos, perdieron peso, incluyendo a los testigos (Cuadro 1). Aunque una tendencia a perder más peso se evidenció en los cladodios con mayor infestación de *D. opuntiae*, la diferencia por efecto de los tratamientos fue no significativa ($F_{5,49} = 1.88$, $p \leq 0.1145$). Hasta el momento se desconoce si hay estudios relacionados con la pérdida de agua en los cladodios y su efecto sobre la cría de *Dactylopius* spp.

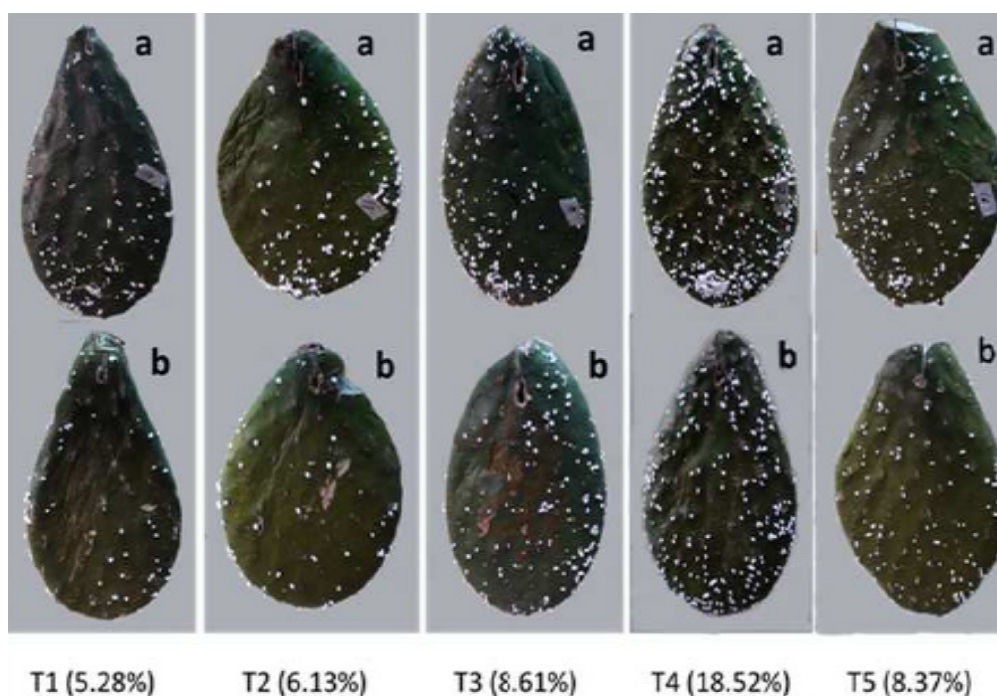


Figure 1. Degrees of infestation (%) of the cladodes according to each treatment. a. Infested faces. b. Opposite faces. T1 = Infestation with 1000 nymphs; T2 = Infestation with 2000 nymphs; T3 = Infestation with 3000 nymphs; T4 = Infestation with 4000 nymphs; and T5 = Infestation with 10 reproductive adult females, control with traditional infestation method in tulle nest.

Figura 1. Grados de infestación (%) de los cladodios según cada tratamiento. a. Caras infestadas. b. Caras opuestas. T1 = Infestación con 1000 ninfas; T2 = Infestación con 2000 ninfas; T3 = Infestación con 3000 ninfas; T4 = Infestación con 4000 ninfas; y T5 = Infestación con 10 hembras adultas reproductivas, testigo con método de infestación tradicional en nido de tul.

Conclusions

The main objective in any insect rearing program is to ensure minimum costs and consistent production while maintaining biological attributes of laboratory-reared insects. This study demonstrates that the most efficient production of *Dactylopius opuntiae* under controlled laboratory conditions, can be achieved with 4000 migrant nymphs per cladode. The yield of this treatment was triple compared to the traditional method of infestation (ten mature females), which may represent an advantage in production using the same resource (weight yield per cladode) because the biological material can be removed from the cladode and supplied *ad libitum* on natural enemy rearing on Petri dishes to reduce space and improve mass production.

Acknowledgments

The first author would like to thank the Mexican Ministry of Foreign Affairs and the Haitian Ministry of Education for the scholarship granted for his engineering studies. To the Instituto Tecnológico de la Cuenca del Papaloapan for the facilities for

Porcentaje de infestación

El grado de infestación en ambas caras del cladodio (letras a y b) para cada tratamiento puede apreciarse en la Figura 1. El T4 presentó el grado de infestación mayor (18.52 %). Este tratamiento provocó el nivel de infestación 5 de la escala propuesta por Vanegas-Rico et al. (2010). Los cladodios sanos y maduros, como los que se usaron en estos ensayos, pueden probablemente soportar un nivel de infestación mayor. Por ello, se recomienda seguir incrementando el número de ninfas en la infestación inicial; así, lo posible podría ser la inducción de un número de colonias más grande y peso fresco de *D. opuntiae* mayor con el mismo recurso.

Conclusiones

El objetivo primordial en cualquier programa de cría de insectos es garantizar costos mínimos y producción constante, manteniendo los atributos biológicos de los insectos criados en laboratorio. Este estudio demuestra que la producción más eficiente de *Dactylopius opuntiae*, en condiciones controladas en laboratorio, se puede realizar con 4000 ninfas migrantes por cladodio. El rendimiento de este tratamiento fue el triple en

the internship. To the Biological Control Laboratory of Colegio Postgraduados for the facilities for the development of this research and to Dr. Juan M. Vanegas-Rico for the technical observations. To Dr. David Espinosa Victoria[†], from the Subdirección de Investigación del Campus Montecillo, for the support provided for the necessary procedures to carry out the research stay.

End of English version

References / Referencias

- Aguilera, C. A., & Cázares, C. L. (2003). Grana cochinilla: comparación de métodos de producción en penca cortada. *Agrociencia*, 37(1): 11-19. <https://www.redalyc.org/pdf/302/30237102.pdf>.
- Badii, M., H., & Flores, A. E. (2001). Prickly pear cacti pests and their control in Mexico. *Florida Entomologist*, 84 (4): 503-505. <https://journals.flvc.org/flaent/article/view/74995>.
- Carneiro-Leão, M. P., Vieira Tiago, P., Vieira Medeiros, L., Costa, A. F., & Tinti de Oliveira, N. (2017). *Dactylopius opuntiae*: control by the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex and confirmation of mortality by DNA fingerprinting. *Journal of Pest Science*, 90:925-933. doi: 10.1007/s10340-017-0841-4.
- Campos-Figueroa, M., & Llanderal-Cázares, C. (2003). Producción de grana cochinilla *Dactylopius coccus* (Homoptera: Dactylopiidae) en invernadero. *Agrociencia*, 37(2): 149-155. <https://www.redalyc.org/pdf/302/30237205.pdf>.
- Chávez-Moreno, C. K., Tecante, A., Casas, A., & 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. <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-566X2011000100009>.
- Cruz-Rodríguez, J. A., González-Machorro, E. A., Villegas-González, A., Rodríguez-Ramírez, M. L., & Mejía-Lara, F. (2016). Autonomous biological control of *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae) in a prickly pear plantation with ecological management. *Environmental entomology*, 45(3): 642-648. <https://doi.org/10.1093/ee/nvw023>.
- Flores-Hernández, A., Murillo-Amador, B., Rueda-Puente E. O., Salazar-Torres, J. C., García-Hernández J. L., & Troyo-Diéguez, E. (2006). Reproducción de cochinilla silvestre *Dactylopius opuntiae* (Homóptera: Dactylopiidae). *Revista Mexicana de Biodiversidad* 77(1): 97-102.
- Gilreath, M. E., & Smith Jr, J. W. (1988). Natural enemies of *Dactylopius confusus* (Homoptera: Dactylopiidae): exclusion and subsequent impact on *Opuntia* (Cactaceae). *Environment and Entomology*, 17 (4): 730-738. <https://doi.org/10.1093/ee/17.4.730>.
- Gómez, R., & Dávila, L. (1990). Producción intensiva de grana silvestre (*Dactylopius* spp) y su costo de cultivo en Agascalientes. Resúmenes del II Congreso Internacional
- comparación con el método tradicional de infestación (diez hembras maduras), lo cual puede representar una ventaja en producción usando el mismo recurso (rendimiento en peso por cladodio) ya que el material biológico puede ser retirado del cladodio y ser suministrado *ad libitum* en las crías de enemigos naturales en cajas Petri, para reducir espacio y mejorar la producción en masa.

Agradecimientos

El primer autor agradece a la Secretaría de Relaciones Exteriores de México y al Ministerio de Educación de Haití por la beca otorgada para realizar los estudios de ingeniería. Al Instituto Tecnológico de la Cuenca del Papaloapan por las facilidades para realizar prácticas profesionales. Al Laboratorio de Control Biológico del Colegio Postgraduados por las facilidades para el desarrollo de esta investigación y al Dr. Juan M. Vanegas-Rico por las observaciones técnicas. Al Dr. David Espinosa Victoria[†], de la Subdirección de Investigación del Campus Montecillo, por el apoyo brindado para los trámites necesarios para la realización de la estancia de investigación.

Fin de la versión en español

- sobre el Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Zacatecas, Zac. 8 al 11 de agosto de 1990, pp 44.
- Griffith, M. P. (2004). The origins of an important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): new molecular evidence. *American Journal of Botany*. 91(11): 1915-1921. <https://doi.org/10.3732/ajb.91.11.1915>.
- Hosking, J. R. (1984). The effect of temperature on the population growth potential of *Dactylopius austrinus* De Lotto (Homoptera: Dactylopiidae), on *Opuntia aurantiaca* Lindley. *Australian Journal of Entomology*, 23(2), 133-139. <https://doi.org/10.1111/j.1440-6055.1984.tb01927.x>
- Mathenge, C. W., Holford, P., Hoffmann, J. H., Spooner-Hart, R., Beattie, G. A. C., & Zimmermann, H. G. (2009). The biology of *Dactylopius tomentosus* (Hemiptera: Dactylopiidae). *Bulletin of entomological research*, 99(6), 551-559. <https://doi.org/10.1017/S0007485308006597>
- Mazzeo, G., Nucifora, S., Russo, A., & Suma, P. (2019). *Dactylopius opuntiae*, a new prickly pear cactus pest in the Mediterranean: an overview. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 167: 59-72. <https://doi.org/10.1111/eea.12756>.
- Mendel, Z., Protasov, A., Vanegas-Rico, J. M., Lomeli-Flores, J. R., Suma, P., & Rodríguez-Leyva, E. (2020). Classical and fortuitous biological control of the prickly pear cochineal, *Dactylopius opuntiae*, in Israel. *Biological Control*, 142, 104157.
- Ochoa, M. J., Lobos, E., Portillo, L., & Viguera, A. L. (2015). Importance of biotic factors and impact on cactus pear production systems. *Acta Horticulturae*, 1067: 327-333. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1067.45>.

- Oliveira, C. M., Auad, A. M., Mendes, S. M., & Frizzas, M. R. (2013). Economic impact of exotic insect pest in Brazilian agriculture. *Journal of Applied Entomology*, 137(1): 1-15. <https://doi.org/10.1111/jen.12018>.
- Ortíz, I., Ávila-Chávez, M. A., & Torres, L. G. (2013). Plaguicidas en México: usos, riesgos y marco regulatorio. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, 4(1), 1-21.
- Palafox-Luna, J. A., Rodríguez-Leyva, E., Lomeli-Flores, J. R., Viguera-Guzmán, A. L., & Vanegas-Rico, J. M. (2018). Ciclo de vida y fecundidad de *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae) en *Opuntia ficus-indica* (Caryophyllales: Cactaceae). *Agrociencia*, 52(1): 103-114. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-31952018000100103&script=sci_arttext.
- Rangel-Estrada, S. E., Ramírez-Rojas, S., & Osuna-Canizalez, F. J. (2013). Manejo de picudo del nopal, cochinilla y mancha negra en Morelos. Centro de Investigaciones Regional del Pacífico Sur. Campo Experimental Zacatepec. Zacatepec. Morelos. Libro Técnico No. 13. ISBN: 978-607-425-825-7. Consultado 1 de julio 2018.
- Rodríguez-Leyva, E., Lomeli-Flores, J. R., & Vanegas-Rico, J. M. (2010). Enemigos naturales de la grana cochinilla del nopal *Dactylopius coccus* Costa (Hemiptera: Dactylopiidae). In: Portillo L, Viguera AL (eds) Conocimiento y Aprovechamiento de la Grana Cochinilla. Colegio de Postgraduados. Estado de México, México. p. 101-112.
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). "NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis", *Nature methods*, 9(7): 671-675, PMID 22930834.
- Statistix. (2006). Statistix analytical software. Barland International Inc. Tallase, Florida USA.
- Sullivan, P. R. (1990). Population growth potential of *Dactylopius ceylonicus* Green (Hemiptera: Dactylopiidae) on *Opuntia vulgaris* Miller. *Australian Journal of Entomology*, 29(2), 123-129. <https://doi.org/10.1111/j.1440-6055.1990.tb00333.x>
- Tovar, A., Pando-Moreno, M., & Garza, C. (2005). Evaluation of three varieties of *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller as hosts of the cochineal insect (*Dactylopius coccus* Costa (Homoptera: Dactylopiidae) in a semiarid area of northeastern Mexico. *Economic Botany*, 59(1): 3-7. [https://doi.org/10.1663/0013-0001\(2005\)059\[0003:EOTVOO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1663/0013-0001(2005)059[0003:EOTVOO]2.0.CO;2).
- Vanegas-Rico, J. M., Lomeli-Flores, J. R., Rodríguez-Leyva, E., Mora-Aguilera, G., & Valdez, J. M. (2010). Enemigos naturales de *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) en *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller en el centro de México. *Acta zoológica mexicana*, 26(2): 415-433. On-line ISSN 2448-8445versión impresa ISSN 0065-1737.
- Vanegas-Rico, J. M., Rodríguez-Leyva, E., Lomeli-Flores, J. R., González-Hernández, H., & Pérez-Panduro, A. (2016). Biology and life history of *Hyperaspis trifurcata* feeding on *Dactylopius opuntiae*. *BioControl*, 61: 691-701. <https://doi.org/10.1007/s10526-016-9753-0>.
- Vanegas-Rico, J. M., Pérez-Panduro, A., Lomeli-Flores, J. R., Rodríguez-Leyva, E., Valdez-Carrasco, J. M., & Mora-Aguilera, G. (2017). *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) (Hemiptera: Dactylopiidae) population fluctuations and predators in Tlalnepantla, Morelos, México. *Folia Entomológica Mexicana*, 3: 23-31.