

CICLO DE VIDA Y FECUNDIDAD DE *Dactylopius opuntiae* (HEMIPTERA: DACTYLOPIIDAE) EN *Opuntia ficus-indica* (CARYOPHYLLALES: CACTACEAE)

LIFE CYCLE AND FECUNDITY OF *Dactylopius opuntiae* (HEMIPTERA: DACTYLOPIIDAE) IN *Opuntia ficus-indica* (CARYOPHYLLALES: CACTACEAE)

J. Antonio Palafox-Luna¹, Esteban Rodríguez-Leyva¹, J. Refugio Lomeli-Flores¹,
A. Lilia Viguera-Guzmán², J. Manuel Vanegas-Rico¹

¹Fitosanidad, Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, C.P. 56230 Texcoco, Estado de México, México. (esteban@colpos.mx) ²Departamento de Botánica y Zoología. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, Carretera Nogales Km 15.5, Camino Ramón Padilla Sánchez #2100, Nextipac, C.P. 45220 Zapopan, Jalisco.

RESUMEN

Dactylopius opuntiae es la plaga principal del nopal (*Opuntia ficus-indica*) en varios países, pero su biología se ha estudiado sólo en *Opuntia megacantha*. La hipótesis de este estudio fue que la fecundidad de *D. opuntiae* está influenciada por la disponibilidad de alimento durante la evaluación. El objetivo fue describir la biología y parámetros poblacionales de *D. opuntiae* en *O. ficus-indica*. El ciclo de vida, fecundidad y longevidad se evaluaron a 25 ± 1 °C y fotoperiodo 12:12 h. El periodo de incubación se evaluó en una cohorte de 100 huevos, el ciclo se describió de una cohorte de 150 individuos; Para comparar fecundidad, con y sin fuente de alimento, se usaron hembras individuales como unidad experimental ($n=40$ hembras). En todos los casos el diseño experimental fue completamente al azar. El periodo de incubación fue 61.78 ± 24 min y representó menos de 3 % de la duración del ciclo. La ninfa I duró 7.68 ± 1.49 d en hembras y 8.59 ± 1.54 d en machos. La ninfa II duró 9.07 ± 1.98 d en hembras y 7.74 ± 0.79 d en machos; únicamente los machos presentaron un estado pupal (8.18 ± 1.05 días). El desarrollo de *D. opuntiae* en *O. ficus-indica* se completó en 16.78 ± 2.69 d en hembras y 24.48 ± 2.23 d en machos. La fecundidad de hembras con alimento (establecidas en cladodios) fue mayor (567.58 ± 164.67 individuos) respecto a las hembras sin alimento (351.25 ± 131.98). En este estudio se mostró que la fecundidad de *D. opuntiae* está influenciada por la disponibilidad de alimento y eso influye la capacidad reproductiva de la especie.

Palabras clave: nopal, cochinilla silvestre del nopal, biología, parámetros poblacionales.

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: octubre, 2016. Aprobado: abril, 2017.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 52: 103-114. 2018.

ABSTRACT

Dactylopius opuntiae is the most important pest of nopal (*Opuntia ficus-indica*) in several countries of the world, although its biology has been studied only in *Opuntia megacantha*. The hypothesis of this study was that the availability of food during the evaluation influences the fecundity of *D. opuntiae*. The objective was to describe the biology and population parameters of *D. opuntiae* in *O. ficus-indica*. The life cycle, fecundity and longevity were evaluated at 25 ± 1 °C and photoperiod of 12:12 h. The incubation period was evaluated in a cohort of 100 eggs, the cycle was described from a cohort of 150 individuals. Individual females were used as experimental unit ($n=40$ females) to compare fecundity, with or without a source of food. In every case, the experimental design was completely random. The incubation period was 61.78 ± 24 min and represented less than 3 % of the cycle's duration. The nymph I lasted 7.68 ± 1.49 d in females and 8.59 ± 1.54 d in males. The nymph II lasted 9.07 ± 1.98 d in females and 7.74 ± 0.79 d in males; only the males presented a pupal state (8.18 ± 1.05 days). The development of *D. opuntiae* in *O. ficus-indica* was completed in 16.78 ± 2.69 d in females and 24.48 ± 2.23 d in males. The fecundity of females with food (established on cladodes) was higher (567.58 ± 164.67 individuals) compared to the females without food (351.25 ± 131.98). This study shows that the fecundity of *D. opuntiae* is influenced by the availability of food and this condition influences the reproductive capacity of the species.

Key words: nopal, prickly pear wild cochineal, biology, population parameters.

INTRODUCCIÓN

Los frutos y cladodios de *Opuntia ficus-indica* (Caryophyllales: Cactaceae) son de mejor calidad que los de otras especies de *Opuntia* y tienen menos espinas, lo que se relaciona con los procesos de domesticación y selección en México (Griffith, 2004). La especie *O. ficus-indica* es originaria de México, tiene importancia alimenticia, forrajera e industrial (Kiesling, 1998; Griffith, 2004) y se cultivan alrededor de 60,000 ha para obtener cladodios inmaduros que se consumen como vegetales (nopalitos) y para obtener frutos (SIAP, 2016). En Argentina, Bolivia, Chile, España, Italia, Perú e Israel se cultiva para la obtención de frutos (Githure *et al.*, 1999; Portillo y Viguera, 2008; Silva *et al.*, 2013; Spodek *et al.*, 2014) y en algunos países de África y en Brasil se cultivan superficies extensas para forraje (Githure *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 2013). Una superficie menor se usa para cultivar grana cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) y obtener ácido carmínico para producir carmín (Viguera y Portillo, 2001; SIAP, 2016).

La lista de artrópodos asociados a *O. ficus-indica* incluye 167 especies (Mann, 1969), de las cuales sólo 11 especies de insectos se consideran plagas primarias en alguna región o temporada de cultivo en México (Mann, 1969; Pacheco-Rueda *et al.*, 2011; Cerón-González *et al.*, 2012). De estos insectos, *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) (Hemiptera: Dactylopiidae) es una plaga primaria en México, Brasil, España, Turquía, Israel y Marruecos (Githure *et al.*, 1999; Portillo y Viguera, 2006; Vanegas-Rico *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2013; Spodek *et al.*, 2014).

Dactylopius opuntiae ocasiona daño por alimentación (succión de savia) lo que produce clorosis y disminución en el rendimiento de nopal; una infestación de este insecto mayor al 75 % en la superficie de los cladodios causa la muerte de la planta (Mann, 1969; Vanegas-Rico *et al.*, 2010). Aunque no hay cifras exactas de pérdidas ocasionadas por *D. opuntiae*, en Brasil, de donde no es nativa, se reportaron alrededor de 100,000 ha dañadas por este insecto (Silva *et al.*, 2013). También en Líbano e Israel se reportó como plaga exótica, que requiere un programa de control para proteger áreas naturales cubiertas por *O. ficus-indica* (Spodek *et al.*, 2014).

Aunque *D. opuntiae* es una plaga de importancia mundial, la información disponible de su biología es insuficiente. Solo se encontró un estudio (Flores-

INTRODUCTION

The fruits and cladodes of *Opuntia ficus-indica* (Caryophyllales: Cactaceae) are of better quality than those of other *Opuntia* species and they have less spines, something related to domestication and selection processes in Mexico (Griffith, 2004). The *O. ficus-indica* species is native of Mexico, it has importance as food, fodder and for industrial uses (Kiesling, 1998; Griffith, 2004), and around 60,000 ha are cultivated to obtain immature cladodes that are consumed as vegetables (nopalitos) and to obtain fruits (SIAP, 2016). In Argentina, Bolivia, Chile, Spain, Italy, Peru and Israel it is cultivated to obtain fruits (Githure *et al.*, 1999; Portillo and Viguera, 2008; Silva *et al.*, 2013; Spodek *et al.*, 2014), and in some countries of Africa and in Brazil extensive surfaces are cultivated for fodder (Githure *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 2013). A smaller surface is used to cultivate cochineal (*Dactylopius coccus* Costa) and obtain carminic acid to make carmine (Viguera and Portillo, 2001; SIAP, 2016).

The list of arthropods associated to *O. ficus-indica* includes 167 species (Mann, 1969), of which only 11 insect species are considered as primary pests in a region or season in Mexico (Mann, 1969; Pacheco-Rueda *et al.*, 2011; Cerón-González *et al.*, 2012). Among these insects, *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) (Hemiptera: Dactylopiidae) is a primary pest in Mexico, Brazil, Spain, Turkey, Israel and Morocco (Githure *et al.*, 1999; Portillo and Viguera, 2006; Vanegas-Rico *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2013; Spodek *et al.*, 2014).

Dactylopius opuntiae causes damage from feeding (sap suction) which produces chlorosis and a decrease in the nopal yield; infestation of this insect higher than 75 % on the surface of the cladodes causes the death of the plant (Mann, 1969; Vanegas-Rico *et al.*, 2010). Although there are no exact figures of losses caused by *D. opuntiae*, in Brazil, where it is not native, around 100,000 ha damaged by this insect have been reported (Silva *et al.*, 2013). There are also reports in Lebanon and Israel of the insect as an exotic pest that requires a control program to protect natural areas covered by *O. ficus-indica* (Spodek *et al.*, 2014).

Although *D. opuntiae* is a pest of global importance, the information available about its biology is insufficient. Only one study Flores-

Hernández *et al.*, 2006) donde se describió la biología básica del insecto en *O. megacantha*, especie que tiene relevancia en el norte de México por su uso como forraje y para recolecta de frutos (Flores-Hernández *et al.*, 2006). Pero en la mayoría de los países la especie cultivada es *O. ficus-indica* (Griffith, 2004; Portillo y Viguera, 2008; Silva *et al.*, 2013). La fecundidad en el género *Dactylopius* se evalúa de dos formas: la fecundidad de individuos mantenidos sobre cladodios de *Opuntia* (Moran y Cobby, 1979; Sullivan, 1990) y retirando los insectos de los cladodios (Flores-Hernández *et al.*, 2006; Mathenge *et al.*, 2009).

En Israel y Brasil se iniciaron programas de control biológico clásico de *D. opuntiae* y hasta ahora están caracterizados algunos de sus enemigos naturales (Vanegas-Rico *et al.*, 2010, 2016; Pacheco-Rueda *et al.*, 2011); además, hay algunas ventajas del complejo de enemigos naturales de esta especie en México (Cruz-Rodríguez *et al.*, 2016; Vanegas-Rico *et al.*, 2016). Sin embargo, se desconoce el potencial reproductivo de *D. opuntiae* sobre su principal hospedante en el mundo. Por lo tanto, la hipótesis de este estudio fue que la fecundidad de *D. opuntiae* está influenciada por la disposición de alimento durante la evaluación, y el objetivo fue describir el ciclo de vida de *D. opuntiae* y determinar parámetros biológicos en *O. ficus-indica* en condiciones controladas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico y cría de *D. opuntiae*

Los cladodios de *O. ficus-indica* de 24 meses de edad, sin síntomas de enfermedades, se obtuvieron de la zona productora de nopalitos en Tlalnepantla, estado de Morelos, México, y se dejaron cicatrizar 15 d para prevenir desarrollo de patógenos. Los cladodios se establecieron en macetas de 20 cm de diámetro con una mezcla de arena de tezontle y turba (Premier, Quebec, Canadá) en proporción 2:1.

La cría de *D. opuntiae* se estableció con ejemplares recolectados del mismo sitio (Tlalnepantla) y colocados en cajas Petri, las cuales se transportaron al Colegio de Postgraduados en Montecillo, Estado de México. Las hembras grávidas se identificaron por la presencia de una gota color amarillo-ámbar en la parte posterior del abdomen (Marín y Cisneros, 1977). El método de infestación y cría se realizó de acuerdo con Portillo y Viguera (2008): 12 hembras grávidas se colocaron dentro de sobres de papel (5×5 cm) que permanecieron dos semanas fijas al clado-

Hernández *et al.* (2006) was found, where the basic biology of the insect was described on *O. megacantha*, a species that is important in northern México due to its use as fodder and fruit collection (Flores-Hernández *et al.*, 2006). However, in most countries the species cultivated is *O. ficus-indica* (Griffith, 2004; Portillo and Viguera, 2008; Silva *et al.*, 2013). The fecundity of the genus *Dactylopius* is evaluated in two ways: fecundity of individuals feeding on *Opuntia* cladodes (Moran and Cobby, 1979; Sullivan, 1990) and by removing the insects from the cladodes (Flores-Hernández *et al.*, 2006; Mathenge *et al.*, 2009).

Programs of classic biological control of *D. opuntiae* were initiated in Israel and Brazil, and until now some of its natural enemies have been characterized (Vanegas-Rico *et al.*, 2010, 2016; Pacheco-Rueda *et al.*, 2011); also, there are some advantages of the complex of natural enemies of this species in Mexico (Cruz-Rodríguez *et al.*, 2016; Vanegas-Rico *et al.*, 2016). However, the reproductive potential of *D. opuntiae* on its main host in the world is unknown. Therefore, the hypothesis of this study was that the availability of food during the evaluation influences the fecundity of *D. opuntiae*, and the objective was to describe the life cycle of *D. opuntiae* and to determine biological parameters in *O. ficus-indica* under controlled conditions.

MATERIALS AND METHODS

Biological material and *D. opuntiae* rearing

The *O. ficus-indica* cladodes of 24 months of age, without symptoms of diseases, were obtained from the nopalitos producing zone in Tlalnepantla, state of Morelos, Mexico, and they were left to heal for 15 d to prevent the development of pathogens. The cladodes were planted in pots of 20 cm diameter with a mixture of tezontle sand and peat moss (Premier, Quebec, Canada) in a proportion of 2:1.

The rearing of *D. opuntiae* was established with specimens collected from the same region (Tlalnepantla) and placed in Petri dishes, which were transported to Colegio de Postgraduados in Montecillo, Estado de Mexico. The gravid females were identified by the presence of a yellow-amber drop on the dorsal section of the abdomen (Marín and Cisneros, 1977). The infestation and rearing method was performed according to Portillo and Viguera (2008): 12 gravid females were placed inside paper envelopes (5×5 cm) that stayed attached to the cladode for two weeks.

dio. Este material se mantuvo en condiciones de invernadero (23 ± 7 °C y 60 ± 20 % de humedad relativa). El seguimiento de ciclo de vida y el experimento de fecundidad se realizaron en cámara de cría (25 ± 1 °C y 40 ± 10 % de humedad relativa).

Biología y ciclo de vida

La incubación se evaluó en cinco grupos de 20 huevos (cada grupo se consideró una repetición) en un diseño experimental completamente aleatorio. Cada grupo de 20 huevos, menores a 30 min de edad, se colocó en una caja Petri de 9 cm de diámetro con algodón húmedo en el fondo, encima de éste se colocó una malla metálica y papel filtro seco. Los huevos se colocaron sobre el papel filtro seco y se realizaron observaciones cada 15 min hasta eclosión (Mathenge *et al.*, 2009).

Para determinar el ciclo de vida se colocaron cinco cladodios dentro de una cámara de cría; cada cladodio se desenraizó un día antes de iniciar el experimento y sobre cada uno se colocaron 10 hembras grávidas. Las hembras se mantuvieron allí 12 h para obtener ninfas I, después se retiraron las hembras y sólo se mantuvieron las ninfas I. Los cladodios se observaron cada 12 h hasta que se fijaron 30 ninfas I por cladodio y las ninfas restantes se eliminaron. El sitio de establecimiento al cladodio de cada ninfa se marcó con tinta indeleble y las observaciones para el resto del ciclo se realizaron cada 24 h. El cambio de instar se determinó con la presencia de muda en ninfa I y ninfa II en hembras, muda de ninfa I y desarrollo de pupa en machos. Además, se registró el periodo de preoviposición, oviposición y proporción sexual. Para estimar el tiempo de desarrollo se consideró la evaluación de 150 individuos (30 por cladodio) y cada individuo se consideró una repetición, pero sólo se incluyeron los datos de los individuos que alcanzaron el estado adulto.

Para describir la biología básica de *D. opuntiae* en *O. ficus-indica* se observaron la forma, el color y la producción de cera en 50 individuos, 2 min por individuo, en cada estado de desarrollo (huevos, ninfas I, ninfas II, hembras adultas en madurez sexual, pupas y machos adultos).

Fecundidad y longevidad

La preoviposición de *D. opuntiae* se midió con 80 hembras establecidas en cinco cladodios, 16 hembras por cladodio, desprendidos de la planta y confinados en cámara de cría. Para asegurar apareamiento se colocaron dos machos por hembra en los cladodios. El final de preoviposición se determinó observando diariamente cada hembra, levantando ligeramente a ésta, en busca de huevos o ninfas.

La fecundidad se evaluó con dos metodologías: acceso a alimento manteniendo a las hembras fijas a los cladodios ($n=40$)

This material was kept under greenhouse conditions (23 ± 7 °C and 60 ± 20 % relative humidity). Monitoring the life cycle and fecundity experiment was done in a growth chamber (25 ± 1 °C and 40 ± 10 % relative humidity).

Biology and life cycle

Incubation was evaluated in five groups of 20 eggs (each group was considered one repetition) in a completely random experimental design. Each group of 20 eggs, less than 30 min of age, was placed in a Petri dish of 9 cm diameter with moist cotton at the bottom, and on top of it a metallic mesh and dry filter paper were placed. The eggs were placed on the dry filter paper and observations were made every 15 min until hatching (Mathenge *et al.*, 2009).

In order to determine the life cycle, five cladodes were placed inside a growth chamber; each cladode was uprooted one day before beginning the experiment and 10 gravid females were placed on each one. The females were kept there 12 h to obtain nymphs I, then the females were removed and only nymphs I were kept. The cladodes were observed every 12 h until 30 nymphs I per cladode were attached and the remaining nymphs were eliminated. The site of establishment on the cladode of each nymph was marked with indelible ink and the observations for the rest of the cycle were carried out every 24 h. The change in instar was determined by the presence of molt in nymph I and nymph II in females, molt in nymph I and pupa development in males. In addition, the periods of pre-oviposition, oviposition, and sex ratio were recorded. To estimate the development time, 150 individuals (30 per cladode) were evaluated and each individual was considered a repetition, but only data from the individuals that reached the adult state were included.

To describe the basic biology of *D. opuntiae* on *O. ficus-indica*, qualitative observations of shape, color, and wax production were performed on 50 individuals, 2 min per individual, in each development stage (eggs, nymphs I, nymphs II, adult females in sexual maturity, pupas and adult males).

Fecundity and longevity

The pre-oviposition of *D. opuntiae* was measured with 80 females established on five cladodes, 16 females per cladode, detached from the plant and confined to a growth chamber. To ensure mating, two males per female were placed on the cladodes. The end of the pre-oviposition was determined by observing each female daily, lifting it slightly, in search for eggs or nymphs.

The fecundity was evaluated using two methodologies: access to food keeping the females attached to the cladodes ($n=40$) (Moran and Cobby, 1979; Sullivan, 1990), or without

(Moran y Cobby, 1979; Sullivan, 1990) o sin alimento; y retirándolas de los cladodios y colocándolas individualmente en cajas Petri (n=40) (Flores-Hernández *et al.*, 2006; Mathenge *et al.*, 2009). Las hembras fijas al cladodio se aislaron individualmente con un dispositivo removible de fomi (polímero termoplástico) y tela organza (tela ligera de algodón color blanco) para evitar el escape de las ninfas y favorecer ventilación. Ambos grupos se observaron cada 24 h para contar ninfas y huevos retirándolos en cada observación. Para registrar supervivencia en hembras, estas permanecieron en observación desde el retiro de los cladodios (sin alimento) o se dejaron en ellos (con alimento) hasta finalizar el periodo de oviposición. Para los machos se registró su longevidad sobre los cladodios. La fecundidad y supervivencia se evaluaron por tratamiento en hembras individuales, 40 hembras para cada tratamiento, es decir 40 repeticiones, distribuidas de manera aleatoria en los cladodios y en las cajas Petri. Con los datos de supervivencia de *D. opuntiae*, así como con la fecundidad y proporción sexual se construyó una tabla de vida y fertilidad para obtener los parámetros poblacionales.

Análisis de datos

Los valores promedio y las desviaciones estándar se calcularon para la duración de cada estado de desarrollo (huevo, ninfa, pupa y total), para la fecundidad y para la supervivencia. El tiempo de desarrollo de hembras y machos se comparó para cada instar mediante la prueba t de Student (SAS Institute, 2000). La misma prueba estadística se utilizó para comparar la fecundidad entre hembras con alimento o sin él. La supervivencia de hembras por tratamiento se comparó con la prueba de Logrank (Vera *et al.*, 2002). Los valores de fecundidad de edad específica por hembra se utilizaron para elaborar una tabla de vida y fertilidad.

Los parámetros de la tabla de vida y fertilidad de *D. opuntiae* se estimaron mediante el método de Birch (1948). La tasa neta de reproducción (R_0), el tiempo de generación (T), la tasa intrínseca de incremento natural (r_m) y la tasa finita de incremento (λ) se obtuvieron mediante el programa de Maia *et al.* (2000) en el programa Lifetable SAS (SAS Institute, 2000), el cual incluye prueba de Jackknife para estimar intervalos de confianza para todos los parámetros. Además, realiza pruebas t de Student para grupos apareados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Biología y ciclo de vida

Los huevos presentaron forma oval y tonalidad rojo brillante característica de especies de la familia Dactylopiidae (Moran y Cobby, 1979; Mathenge *et al.*,

food by removing the females from the cladodes and placing them individually in Petri dishes (n=40) (Flores-Hernández *et al.*, 2006; Mathenge *et al.*, 2009). The females attached to the cladode were isolated individually with a removable device made of "fomi" (thermoplastic polymer made up of repetitive units of ethylene and vinyl acetate) and organza fabric (light white cotton fabric) to prevent the escape of the nymphs and favor ventilation. Both groups were checked every 24 h to count nymphs and eggs by removing them during each observation. To record female survival, these remained under observation since the time of removing from the cladodes (without food) or when they were left on them (with food) until the end of the oviposition period. For males, their longevity on the cladodes was recorded. The fecundity and survival were evaluated per treatment in individual females, 40 females for each treatment, that is 40 repetitions, distributed randomly on the cladodes and in the Petri dishes. Using data about *D. opuntiae* survival, as well as fecundity and sex ratio, a life and fertility table was built to obtain the population parameters.

Data analysis

The average values and standard deviations were calculated for the duration of each stage of development (egg, nymph, pupa and total), for the fecundity and for the survival. The development time of females and males was compared for each instar through the Student t-test (SAS Institute, 2000). The same statistical test was used to compare the fecundity between females with or without food. The survival of females per treatment was compared with the Logrank test (Vera *et al.*, 2002). The fecundity values of specific age per female were used to elaborate a life and fertility table.

The parameters of the life and fertility table of *D. opuntiae* were estimated through the Birch method (1948). The net reproduction rate (R_0), the generation time (T), the intrinsic rate of natural increase (r_m) and the finite rate of increase (λ) were obtained through the program by Maia *et al.* (2000) in the Lifetable SAS software (SAS Institute, 2000), which includes the Jackknife test to estimate confidence intervals for all the parameters. It also performs Student t-tests for the paired groups.

RESULTS AND DISCUSSION

Biology and life cycle

The eggs presented an oval shape and bright red color characteristic of species of the Dactylopiidae family (Moran and Cobby, 1979; Mathenge *et al.*,

al., 2009). La oviposición puede ser individual o en grupo, unidos en forma de cadena. Es común que los huevos se alternen en distinto estado de desarrollo e inclusive con ninfas I completamente desarrolladas. El 78 % de los huevos eclosionaron y su periodo de incubación fue 61.78 ± 24 min, lo que representó menos de 3 % del total del ciclo. La variación en el periodo de incubación se atribuye en parte a la metodología, que es similar para las especies de *Dactylopius*, donde no es posible determinar el grado de desarrollo de los embriones cuando se recolectan los huevos porque los insectos dactilópodos presentan ovoviviparidad (Marín y Cisneros, 1977; Gilreath y Smith, 1987; Mathenge *et al.*, 2009). El periodo de incubación de *D. coccus* es de 15 a 20 min (Marín y Cisneros, 1977) lo que representa un tercio de lo observado en este estudio; en contraste, Mathenge *et al.* (2009) reportan un periodo de incubación de 17 d en *D. tomentosus*. En los casos de *D. opuntiae* y *D. coccus* es probable que los tiempos de incubación estén subestimados; sin embargo, no se han desarrollado metodologías para estimar el tiempo real de incubación en otras especies de dactilópodos. Esta acción se debe realizar para establecer con más precisión este periodo.

Las ninfas I comenzaron a producir cera inmediatamente después de fijarse al cladodio y no fue posible diferenciar sexos por medio de características morfológicas, solo hasta después del segundo ínstar. El primer ínstar ninfal tuvo una duración de 8.59 ± 1.54 d en machos, fue más largo que en hembras ($t=2.68$, $p \leq 0.01$), pero la diferencia fue menor a 24 h (Cuadro 1). Esta duración contrasta con lo reportado para el mismo ínstar en *D. coccus* (20-23 d) (Marín y Cisneros, 1977) y *D. tomentosus* (18 d) (Mathenge *et al.*, 2009). El segundo ínstar presentó una duración mayor en hembras que en machos ($t=5.32$, $p \leq 0.0001$), con una diferencia de 1.5 d

2009). Oviposition can be individual or in group, linked in a chain shape. It is common for the eggs to alternate in different stages of development and even with completely developed nymphs I; 78 % of the eggs hatched and their incubation period was 61.78 ± 24 min, representing less than 3 % of the total cycle. The variation in incubation period is attributed in part to the methodology, which is similar for the species of *Dactylopius*, where it is not possible to determine the degree of development of the embryos when the eggs are collected because the Dactylopiidae insects present ovoviviparity (Marín and Cisneros, 1977; Gilreath and Smith, 1987; Mathenge *et al.*, 2009). The incubation period of *D. coccus* is 15 to 20 min (Marín and Cisneros, 1977), which represents one third of what was observed in this study; in contrast, Mathenge *et al.* (2009) report an incubation period of 17 d in *D. tomentosus*. In the cases of *D. opuntiae* and *D. coccus*, it is likely that the incubation times are underestimated; however, until now new methodologies have not been developed to estimate the real incubation time in other species of Dactylopiidae. This action must be carried out to establish with greater precision this period.

The nymphs I began to produce wax immediately after attaching to the cladode and it was not possible to differentiate the sex through morphological characteristics until after the second instar. The first instar nymph lasted 8.59 ± 1.54 d in males, which was longer than in females ($t=2.68$, $p \leq 0.01$), although the difference was less than 24 h (Table 1). This duration contrasts with reports for the same instar in *D. coccus* (20-23 d) (Marín and Cisneros, 1977) and *D. tomentosus* (18 d) (Mathenge *et al.*, 2009). The second instar presented a longer duration in females than in males ($t=5.32$, $p \leq 0.0001$), with a difference of 1.5 d (Table 1). *Dactylopius ceylonicus* has a similar development period for the same instar (7 d at 26

Cuadro 1. Tiempo de desarrollo en días (\pm desviación estándar) de *Dactylopius opuntiae* sobre *Opuntia ficus-indica* a 25 ± 1 °C y 40 ± 10 % de humedad relativa.

Table 1. Development time in days (\pm standard deviation) of *Dactylopius opuntiae* on *Opuntia ficus-indica* at 25 ± 1 °C and 40 ± 10 % of relative humidity.

Sexo	n	Ninfa I*	Ninfa II*	Pupa	Total*
Hembra	103	7.68 ± 1.49	9.07 ± 1.98		16.78 ± 2.69
Macho	27	8.59 ± 1.54	7.74 ± 0.79	8.18 ± 1.05	24.48 ± 2.23

Los tiempos de desarrollo entre sexos indicados con * son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.01$). ♦ The development times between sexes indicated with * are statistically different ($p \leq 0.01$).

(Cuadro 1). *Dactylopius ceylonicus* tiene un tiempo similar de desarrollo para el mismo ínstar (7 d a 26 °C) según Sullivan (1990), pero otras especies como *D. coccus* requieren hasta 18 d para ese mismo estado de desarrollo (Marín y Cisneros, 1977).

Después del segundo ínstar solo los machos pueden retraer el aparato bucal, tener movilidad y buscar un sitio para desarrollar la pupa; en contraste, la hembra permanece inmóvil toda su vida con el aparato bucal inserto en el cladodio. El tiempo de desarrollo de la pupa fue menor a 10 d (Cuadro 1). Por lo tanto, el ciclo de las hembras fue menor que el de los machos ($t=15.12$, $p\leq 0.0001$) (Cuadro 1). La duración del tiempo de desarrollo en ambos sexos difiere alrededor de 15 d para hembras, respecto a la duración reportada por Flores-Hernández *et al.* (2006) para la misma especie.

Es probable que el tiempo de desarrollo menor en nuestro estudio se relacione con el hospedante (*O. ficus-indica*) y con la temperatura constante (25±1 °C), ya que la investigación de Flores-Hernández *et al.* (2006) se desarrolló en *O. megacantha* y con variaciones mayores en temperatura (19-23 °C); pero no se descartan otros factores como las condiciones nutricionales de la especie sobre la que se desarrollaron. Una concentración mayor de cristales de oxalato de calcio que de potasio dificulta que las ninfas inserten sus estiletes y se establezcan en los cladodios (Tovar y Pando, 2010). Otro factor no considerado en este estudio fue la población de *D. opuntiae*, porque las poblaciones de insectos en cada localidad pudieran estar adaptadas a la especie y variedad de nopal sobre la que se desarrollaron las investigaciones de manera independiente. Volchansky (1999) indicó que esas diferencias en poblaciones ocasionan variación en el tiempo de desarrollo.

En estado adulto, las hembras producen cera de aspecto algodonoso que aumenta en volumen hasta cubrirlas por completo. Las hembras maduras sexualmente se aparearon y aumentaron el volumen de su cuerpo, probablemente por la acumulación de huevos en las ovarias. El aspecto de las hembras adultas es similar al mencionado por Sullivan (1990), Flores-Hernández *et al.* (2006) y Mathenge *et al.* (2009). Durante el periodo de preoviposición, 17.49±2.73 d, fue evidente una gota de una sustancia, presente en la parte dorsal, que aparece cristalina y después cambia a amarillo claro y ámbar. Esta sustancia es similar a la descrita en *D. coccus* (Marín y Cisneros,

°C) according to Sullivan (1990), but other species such as *D. coccus* require up to 18 d for this same development stage (Marín and Cisneros, 1977).

After the second instar, only the males can retract the mouthparts, have mobility and seek for a site to develop the pupa; in contrast, the females remain motionless throughout her life with the mouthparts inserted in the cladode. The development time of the pupa was less than 10 d (Table 1). Therefore, the female cycle was shorter than the males' ($t=15.12$, $p\leq 0.0001$) (Table 1). The duration of the development time in both sexes differs around 15 d for females, compared to the duration reported by Flores-Hernández *et al.* (2006) for the same species.

It is likely that the shorter development time in this study is due to the host (*O. ficus-indica*) and the constant temperature (25±1 °C), since the study by Flores-Hernández *et al.* (2006) was done using *O. megacantha* and greater variations in temperature (19-23 °C); nevertheless, other factors such as the nutritional conditions of the species on which they develop are not dismissed. A higher concentration of calcium oxalate crystals than potassium makes difficult for nymphs to insert their stylets and establish themselves on the cladodes (Tovar and Pando, 2010). Another factor that was not taken into account in this study was the population of *D. opuntiae*, because the insect populations in each locality could be adapted to the species and variety of nopal on which the studies were carried out independently. Volchansky (1999) indicated that these differences in population cause variation in the development time.

In the adult stage, the females produce wax with cotton aspect that increases in volume until covering them completely. The adult females matured sexually, they mated and increased the volume of their body, probably because of accumulation of eggs in the ovaries. The aspect of the adult females is similar to the one described by Sullivan (1990), Flores-Hernández *et al.* (2006) and Mathenge *et al.* (2009). During the pre-oviposition period, 17.49±2.73 d, a drop of a substance was evident, on the dorsal part, which appears crystalline and then changes to light yellow and amber. This substance is similar to that described in *D. coccus* (Marín and Cisneros, 1977) and could have a sexual attractant in this species (Rodríguez *et al.*, 2005), but there is no information about this characteristic in other species of the Dactylopiidae family.

1977) y podría tener un atrayente sexual en esa especie (Rodríguez *et al.*, 2005), pero no existe información de esta característica en otras especies de la familia Dactylopiidae.

En este estudio, la proporción sexual fue de 3.7:1 (hembras: machos) y fue diferente de la proporción 1:1 reportada por Flores-Hernández *et al.* (2006) para la misma especie. De acuerdo con Nur *et al.* (1987), el sexo en escamas de la familia Pseudococcidae puede modificarse por factores fisiológicos del huevo y condiciones ambientales. Los autores del presente estudio han observado que en campo, la proporción sexual de esta especie varía en ciertas temporadas del año, aunque no existe registro formal de esos cambios.

Fecundidad y supervivencia de hembras

La fecundidad en hembras de *D. opuntiae* (huevos y ninfas) tuvo una respuesta relacionada con el alimento y con la edad. Las hembras con alimento fueron más fecundas (567.58 ± 164.67) que sin alimento (351.25 ± 131.98) ($t=6.48$, $p \leq 0.005$). Además, la mayor parte de las hembras comenzaron a poner huevos o ninfas después de la segunda semana como adultas y la oviposición se extendió siete o nueve semanas dependiendo de la disponibilidad de alimento (Figura 1).

Ambos grupos de hembras produjeron mayor número de huevos y ninfas en la cuarta semana, en la cual se acumuló el 52 % de la fecundidad total en hembras sin alimento y 39.92 % en hembras con alimento. Las hembras sin alimento colocaron la mayor cantidad de huevos y ninfas de la semana dos a la semana seis (98 % acumulado). Las hembras con alimento necesitaron dos semanas más para colocar el 98 % del total de huevos y ninfas (Figura 1).

La fecundidad difiere de lo reportado por Flores-Hernández *et al.* (2006) para la misma especie, quienes mencionan un promedio de 131 individuos por hembra sin alimento (retiradas de los cladodios). Esta diferencia se atribuye a un hospedante diferente antes de retirar las hembras del cladodio, pero existen situaciones como calidad, nutrición y estrés de los cladodios antes de retirar las hembras.

Otras dos especies de dactilópidos evaluados con hembras fijas a los cladodios tuvieron mayor fecundidad, en *D. austrinus* la descendencia fue 1,145 individuos hembra⁻¹ (Moran y Cobby, 1979) y en *D. ce-*

In this study, the sex ratio was 3.7:1 (females: males) and was different from the 1:1 ratio reported by Flores-Hernández *et al.* (2006) for the same species. According to Nur *et al.* (1987), the sex of scale insects of Pseudococcidae family can be modified by physiological factors of the egg and by environmental conditions. The authors of this study have observed that in the field, the sex ratio of this species is different in specific seasons of the year, although there is no formal record of these changes.

Fecundity and survival in females

The fecundity in females of *D. opuntiae* (eggs and nymphs) had a response related to the food and the age. The females with food were more fertile (567.58 ± 164.67) than without food (351.25 ± 131.98) ($t=6.48$, $p \leq 0.005$). Additionally, most females began to lay eggs or nymphs after the second week as adults and the oviposition lasted six or nine weeks depending on the availability of food (Figure 1).

Both groups of females produced a higher number of eggs and nymphs in the fourth week, during which 52 % of the total fecundity in females without food was accumulated, and 39.92 % in females with food. The females without food laid the highest number of eggs and nymphs from week two to week six (98 % accumulated). The females with food needed two more weeks to lay 98 % of the total eggs and nymphs (Figure 1).

The fecundity differs from what Flores-Hernández *et al.* (2006) reported for the same species, who mention an average of 131 individuals per female without food (removed from the cladodes). This difference is attributed to a different host before removing the females from the cladode, although there are situations such as quality, nutrition and stress of the cladodes before withdrawing the females. Two other species of Dactylopiidae evaluated with females attached to the cladodes had higher fecundity; in *D. austrinus* the progeny was 1,145 individuals female⁻¹ (Moran and Cobby, 1979) and in *D. ceylonicus* 1,200 individuals female⁻¹ (Sullivan, 1990). The reproductive capacity between species of *Dactylopius* that developed on the *Opuntia* genus, and the possible differences between the insect-host relationships require further study to understand how the reproductive potential in each species is manifested.

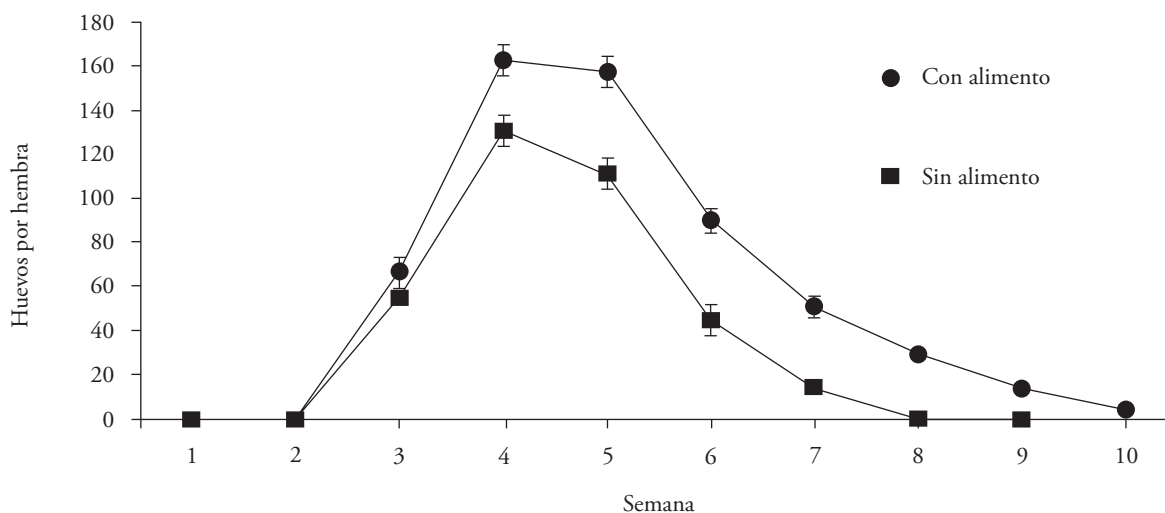


Figura 1. Fecundidad semanal de *D. opuntiae* (Media \pm error estándar) con o sin alimento (fijas o retiradas de los cladodios de *O. ficus-indica*) a 25 ± 1 °C y 40 ± 10 % de humedad relativa.

Figure 1. Weekly fecundity of *D. opuntiae* (mean \pm standard error) with or without food (attached or removed from the *O. ficus-indica* cladodes) at 25 ± 1 °C and 40 ± 10 % of relative humidity.

ylonicus 1,200 individuos hembra⁻¹ (Sullivan, 1990). La capacidad reproductiva entre especies de *Dactylopius* que se desarrollan en el género *Opuntia*, y las diferencias posibles entre la relación insecto-hospedera, requieren más estudios para entender cómo se manifiesta el potencial reproductivo en cada especie.

Las hembras con alimento tuvieron una supervivencia mayor (53.97 ± 5.19 d) respecto a las hembras sin alimento (36.55 ± 2.78 d) ($X^2=41.29$, $p \leq 0.001$). Esta diferencia en supervivencia de cada grupo de hembras puede relacionarse con la disponibilidad de alimento, pero probablemente también con la demanda fisiológica que representó la fecundidad.

Tabla de vida y fertilidad

La supervivencia de huevo a adulto de *D. opuntiae* fue 64.7 %, del cual, 17 % de mortalidad sucedió en huevo y 17.5 % en ninfa I; con estos valores más la fecundidad y proporción sexual, se establecieron los parámetros poblacionales de la especie (Cuadro 2). El potencial reproductivo de *D. opuntiae* sobre *O. ficus indica* fue mayor al reportado sobre *O. megacantha* (Flores-Hernández *et al.*, 2006), pero los experimentos se desarrollaron en condiciones diferentes.

Con los parámetros poblacionales se estableció el potencial reproductivo de *D. opuntiae* en su principal hospedera en el mundo. Las hembras con alimento

The females with food had a higher survival rate (53.97 ± 5.19 d) compared to the females without food (36.55 ± 2.78 d) ($X^2=41.29$, $p \leq 0.001$). This difference in survival of each group of females can be related to the availability of food, but probably also to the physiological demand that the fecundity represented.

Life and fertility table

The survival from egg to adult of *D. opuntiae* was 64.7 %, of which 17 % of the mortality took place in the egg stage and 17.5 % in nymph I; the population parameters of the species were established with these values plus fecundity and sex ratio (Table 2). The reproductive potential of *D. opuntiae* on *O. ficus indica* was higher than the one reported on *O. megacantha* (Flores-Hernández *et al.*, 2006), but the experiments were developed under different conditions.

With the population parameters, the reproductive potential of *D. opuntiae* in its principal host in the world was established. The females with food had a net reproductive rate (females' progeny) and a generation time bigger than the females without food ($p \leq 0.0001$), but this did not make their intrinsic rate of increase different (Table 2). This apparent contradiction in the reproductive potential can be

Cuadro 2. Parámetros poblacionales e intervalos de confianza (95 %) de *D. opuntiae* con alimento o sin él (cladodios de *O. ficus-indica*) a 25 ± 1 °C y 40 ± 10 % de humedad relativa.**Table 2. Population parameters and confidence intervals (95 %) of *D. opuntiae* with or without food (*O. ficus-indica* cladodes) at 25 ± 1 °C and 40 ± 10 % of relative humidity.**

Parámetros	Hembras con alimento	Hembras sin alimento	Diferencia
Tasa neta de reproducción (R_0)	290.105 (263.188-317.021)	179.534 (157.959-201.110)	**
Tasa intrínseca de crecimiento (r_m)	0.1385 (0.1362-0.1408)	0.1378 (0.1352-0.1403)	ns
Tiempo de generación (T) (día)	40.9442 (40.4030-41.4854)	37.6881 (37.1004-38.2759)	**
Tiempo de duplicación (DT) (día)	5.0039 (4.9214-5.0865)	5.0309 (4.9391-5.1228)	ns
Tasa finita de incremento (λ) (día)	1.1486 (1.1459-1.1512)	1.1477 (1.1448-1.1506)	ns

** $p \leq 0.0001$; ns=no significativa. ❖ ** $p \leq 0.0001$; ns=non-significant.

tuvieron una tasa neta reproductiva (descendencia de hembras) y un tiempo de generación mayor ($p \leq 0.0001$) que las hembras sin alimento, pero eso no hizo diferente su tasa intrínseca de crecimiento (Cuadro 2). Esta contradicción aparente en el potencial reproductivo puede explicarse porque las hembras sin alimento colocaron en un tiempo menor la totalidad de huevos y ninfas. Esto es, la disponibilidad de alimento favoreció la tasa neta de reproducción pero aumentó el tiempo de generación (Cuadro 2). Estos valores serán un referente para compararlos con sus enemigos naturales *Hyperaspis trifurcata* Schaeffer (Coleoptera: Coccinellidae) y *Leucopis bellula* Williston (Diptera: Chamaemyiidae). Pero en estudios de ecología de poblaciones, el potencial reproductivo de los depredadores tendrá otros parámetros que podrían influenciar la respuesta total del enemigo natural; por ejemplo, se debe adicionar la capacidad depredadora, voracidad y capacidad de búsqueda para estimar su potencial como agentes de control biológico de *D. opuntiae* (Vanegas-Rico *et al.*, 2016).

CONCLUSIONES

La fecundidad de *D. opuntiae* está influenciada por la disponibilidad de alimento y fue mayor cuando las hembras se mantuvieron fijas a los cladodios de nopal. El potencial reproductivo de *D. opuntiae* en *O. ficus-indica* es mayor a lo que se conocía en la literatura. Además, representa el potencial que podría suceder en cultivos de nopal en campo, ya que *O.*

explained because the females without food laid the totality of the eggs and nymphs in a shorter time. That is, the availability of food favored the net reproductive rate but increased the generation time (Table 2). These values will be a reference to compare them with its natural enemies, *Hyperaspis trifurcata* Schaeffer (Coleoptera: Coccinellidae) and *Leucopis bellula* Williston (Diptera: Chamaemyiidae). However, in population ecology studies, the reproductive potential of the predators will have other parameters that may influence the total response of the natural enemy; for example, the predatory capacity, voracity and searching ability should be added in order to estimate their potential as biological control agents of *D. opuntiae* (Vanegas-Rico *et al.*, 2016).

CONCLUSIONS

The fecundity of *D. opuntiae* is influenced by the availability of food and it was higher when the females were attached to the nopal cladodes. The reproductive potential of *D. opuntiae* in *O. ficus-indica* is higher than what was reported in the literature. It also represents the potential that could be present in nopal crops in the field, since *O. ficus-indica* is the principal host grown in the world.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the National Science and Technology Council (*Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología*, CONACYT) for the scholarship granted to carry

ficus-indica es el principal hospedero cultivado en el mundo.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para realizar este trabajo y al Colegio de Postgraduados por brindar la oportunidad para realizar la investigación.

LITERATURA CITADA

Birch, L. C. 1948. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *J. Anim. Ecol.* 17: 15-26.

Cerón-González, C., E. Rodríguez-Leyva, J. R. Lomeli-Flores, R. Peña, and G. Mora Aguilera. 2012. Evaluation of synthetic insecticides on *Metamasius spinolae* (Coleoptera: Curculionidae) from Tlalnepantla, Morelos. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 3: 217-229.

Cruz-Rodríguez, J. A., E. González-Machorro, A. A. Villegas G., M. L. Rodríguez R., and F. Mejía L. 2016. Autonomous biological control of *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae) in a prickly pear plantation with ecological management. *Environ. Entomol.* 45: 642-648.

Flores-Hernández, A., B. Murillo-Amador, E. Rueda-Puente, J. Salazar-Torres, J. García-Hernández, y E. Troyo-Dieguez. 2006. Reproducción de cochinilla silvestre *Dactylopius opuntiae* (Homoptera: Dactylopiidae). *Rev. Mex. Biodiv.* 77: 97-102.

Gilreath, M. E., and J. W. Smith. 1987. Bionomics of *Dactylopius confusus* (Homoptera: Dactylopiidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 80: 768-774.

Githure, C. W., H. G. Zimmermann, and J. H. Hoffmann. 1999. Host specificity of biotypes of *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) (Hemiptera: Dactylopiidae): prospects for biological control of *Opuntia stricta* (Haworth) (Cactaceae) in Africa. *Afr. Entomol.* 7: 43-48.

Griffith, M. P. 2004. The origins of an important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): New molecular evidence. *Am. J. Bot.* 91: 1915-1921.

SAS Institute. 2000. User's Guide Version 9. SAS Institute. Cary, USA.

Kiesling, R. 1998. Origen, domesticación y distribución de *Opuntia ficus-indica*. *JPACD.* 3: 1-9.

Maia, A. H. N., A. J. B. Luiz, and C. Campanhola. 2000. Statistical inference on associate fertility life table parameters using Jackknife technique: computational aspects. *J. Econ. Entomol.* 93: 511-518.

Mann, J. 1969. Cactus-feeding insects and mites. *U. S. Natl. Mus. Bull.* 256: 1-158.

Marín L., R., y F. Cisneros V. 1977. Biología y morfología de la cochinilla del carmín, *Dactylopius coccus* Costa (Homoptera: Dactylopiidae). *Rev. Per. Ent.* 20: 115-120.

Moran, V., and B. Cobby. 1979. On the life-history and fecundity of the cochineal insect, *Dactylopius austrinus* De Lotto (Homoptera: Dactylopiidae), a biological control agent for the cactus *Opuntia aurantiaca*. *B. Entomol. Res.* 69: 629-636.

out this study and Colegio de Postgraduados for providing the opportunity to perform the research.

—End of the English version—

-----*-----

Mathenge, C., P. Holford, J. Hoffmann, R. Spooner-Hart, G. Beattie, and H. Zimmermann. 2009. The biology of *Dactylopius tomentosus* (Hemiptera: Dactylopiidae). *B. Entomol. Res.* 99: 551-559.

Nur, U. S., W. Brown, and J. W. Bardsley. 1987. Evolution of chromosome number in mealybugs (Pseudococcidae: Homoptera). *Genetica* 71: 53-60.

Pacheco-Rueda, I., J. R. Lomeli-Flores, E. Rodríguez-Leyva, y M. Ramírez-Delgado. 2011. Ciclo de vida y parámetros poblacionales de *Sympherobius barberi* Banks (Neuroptera: Hemerobiidae) criado con *Dactylopius opuntiae* Cockerell (Hemiptera: Dactylopiidae). *Acta Zool. Mex. (n.s.)* 27: 325-340.

Portillo, L., and A. Viguera. 2006. A review on the cochineal species in Mexico, host and natural enemies. *Acta. Hort.* 728: 249-256.

Portillo, L., y A. Viguera. 2008. Cría de Grana Cochinilla. Universidad de Guadalajara. México. 18 p.

Rodríguez, L. C., E. H. Faúndez, and H. M. Niemeyer. 2005. Mate searching in the scale insect, *Dactylopius coccus* (Hemiptera: Coccoidea: Dactylopiidae). *Eur. J. Entomol.* 102: 305-306.

SIAP. 2016. Superficie cultivada de nopal verdura. <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado> (Consulta: abril de 2017).

Silva, D. M. P., A. C. do E. S. Mergulhão, L. V. De Medeiros, M. V. B. Figueiredo, and H. A. Burity. 2013. Genetic variability of *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae) on forage cactus in northeast Brazil. *GMR.* 12: 5236-5246.

Spodek, M., Y. Ben-Dov, A. Protasov, C. J. Carvalho, and Z. Mendel. 2014. First record of *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) (Hemiptera: Coccoidea: Dactylopiidae) from Israel. *Phytoparasitica* 42: 377-379.

Sullivan, P. 1990. Population growth potential of *Dactylopius ceylonicus* Green (Hemiptera: Dactylopiidae) on *Opuntia vulgaria* Miller. *J. Aust. Ent. Soc.* 29: 123-129.

Tovar P., A., y M. Pando M. 2010. Factores físicos y químicos del nopal que inciden en la producción de grana fina (*Dactylopius coccus* Costa) (Homoptera: Dactylopiidae). *In:* Portillo, L., y A. L. Viguera (eds). Conocimiento y Aprovechamiento de la Grana Cochinilla. Universidad de Guadalajara, México. pp: 113-122.

Vanegas-Rico, J. M., J. R. Lomeli-Flores, E. Rodríguez-Leyva, G. Mora-Aguilera y J. M. Valdez. 2010. Enemigos naturales de *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) en *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller en el centro de México. *Acta Zool. Mex. (n.s.)* 26: 415-433.

- Vanegas-Rico, J. M., E. Rodríguez-Leyva, J. R. Lomeli-Flores, H. González-Hernández, A. Pérez-Panduro, and G. Mora-Aguilera. 2016. Biology and life history of *Hyperaspis trifurcata* feeding on *Dactylopius opuntiae*. *BioControl* 61: 691/701. doi: 10.1007/s10526-016-9753-0.
- Vera, G. J., V. M. Pinto, J. López, y R. Reyna. 2002. *Ecología de Poblaciones de Insectos*. 2ª ed. Colegio de Postgraduados, México. 137 p.
- Viguera G., A. L. and L. Portillo. 2001. Uses of *Opuntia* species and the potential impact of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) in Mexico. *Fla. Entomol.* 84: 493-498.
- Volchansky, C. R, J. H. Hoffmann and H. G. Zimmermann. 1999. Host plant affinities of two biotypes of *Dactylopius opuntiae* (Homoptera: Dactylopiidae): enhanced prospects for biological control of *Opuntia stricta* (Cactaceae) in South Africa. *J. Appl. Ecol.* 36: 85-91.